



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS
POSTGRADO EN QUÍMICA ANALÍTICA
MÉRIDA-VENEZUELA.

**NIVELES DE Fe, Cu, Zn y Mg EN MUESTRAS BIOLÓGICAS DE
EMBARAZADAS Y RECIÉN NACIDOS.**

www.bdigital.ula.ve
TESIS DE GRADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE
DOCTOR EN QUÍMICA ANALÍTICA

POR:
MSc. JAURI VILLARROEL DE PAREDES.

TUTOR:
Dr. PABLO CARRERO MOLINA.

CO-TUTOR:
Dr. OSCAR ALARCÓN.

Mérida, Febrero 2005.

DEDICATORIA.

A mi madre

El mejor ejemplo de amor, comprensión y sacrificio; siendo un pilar fundamental en mi formación.

A Dilzo Paredes, mi esposo

Por ser mi compañero y amigo incondicional quien siempre confío en mi en esta etapa de mi vida.

A mis hijos:

Dilzo Jami, Christian, Joselyn, Yaulie mir Gabriela y Diego Emilio por ser lo más valioso de mi vida y representen mi inspiración.

A toda mi familia.

Quienes siempre estuvieron conmigo dándome su apoyo.

NUNCA TENDRÉ COMO RETRIBUIRLES LO QUE ME HAN DADO

ESTE TRIUNFO LES PERTENECE.

AGRADECIMIENTOS.

A DIOS TODOPODEROSO, por haberme iluminado y permitido alcanzar esta meta Junto a mis seres queridos.

A la ULA, por abrirme sus puertas para realizar estos estudios.

A la CRUZ ROJA, por haberme aprobado llevar a cabo esta investigación.

Al Dr. PABLO CARRERO, quien con sus conocimientos me guío, orientó y encaminó para llegar a esta meta; así como al jurado examinador.

A los Doctores: Marcela Burguera. Carlos Rondón, Marino Alarcón, Rosario Brunetto, Maximi Galignani, Yaneira de Peña, José Luis Burguera, José Miguel Ortega y Maribel Várelo; junto a todo el personal del Laboratorio de Espectroscopia Molecular, por el apoyo oportuno y colaboración prestada durante mi formación.

Al MSc. Dilzo Paredes, Médico Pediatra, quien siempre estuvo a mi lado ofreciéndome sus conocimientos para la culminación de esta valiosa investigación.

A la Dra. María Luisa Di Bernardo, quien me asesoró en todo lo concerniente al tratamiento estadístico.

A mi MADRE, ESPOSO E HIJOS que vivieron mis desvelos, esfuerzos y tenacidad; quienes fueron mi mano derecha brindándome su apoyo y ayuda en todo momento. Este triunfo es de ustedes.

A los profesores Victoria y Ángel Villarroel. Quienes son mis mentores y paradigmas.

A todos mis compañeros y amigos, por ese entusiasmo y consejo certero.

A todas aquellas personas que de una u otra forma me permitieron llegar a la meta.

MIL GRACIAS A TODOS. Los quiero mucho.

CONTENIDO.

CAPÍTULO 1. ELEMENTOS BIOGENÉSICOS QUE INTERVIENEN EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL RECIÉN NACIDO.

11. Introducción	7
1.1.1. Clasificación de los elementos biogénicos	8
1.1.2. Funciones de elementos biogénicos	9
1.2. Elementos traza	12
1.2.1. Clasificación	14
1.2.2. Homeostasis	17
1.3. Elementos biogénicos: Zn, Cu, Fe y Mg	19
1.3.1. Zinc	19
1.3.1.1. Contenido y distribución corporal	19
1.3.1.2. Ingreso al organismo y fuentes dietéticas	20
1.3.1.3. Absorción	21
1.3.1.4. Ingreso a la célula intestinal	23
1.3.1.5. Transporte	24
1.3.1.6. Distribución a la célula	25
1.3.1.7. Factores que modifican la absorción	25
1.3.1.8. Excreción	26
1.3.1.9. Enzimas	27
1.3.1.10. Funciones	29
1.3.1.11. Carencia	31
1.3.1.12. Toxicidad	32
1.3.2. Cobre	34
1.3.2.1. Contenido y distribución corporal	34
1.3.2.2. Ingreso al organismo y fuentes dietéticas	35
1.3.2.3. Absorción	36
1.3.2.4. Ingreso a la célula intestinal	37
1.3.2.5. Transporte	37
1.3.2.6. Distribución a la célula	38
1.3.2.7. Factores que modifican la absorción	39
1.3.2.8. Excreción	39
1.3.2.9. Enzimas	41
1.3.2.10. Funciones	41
1.3.2.11. Carencia	43
1.3.2.12. Toxicidad	44
1.3.3. Hierro	46
1.3.3.1. Contenido y distribución corporal	47
1.3.3.2. Ingreso al organismo y fuentes dietéticas	47
1.3.3.3. Absorción	49
1.3.3.4. Ingreso a la célula intestinal	50
1.3.3.5. Transporte	52
1.3.3.6. Factores que modifican la absorción	53
1.3.3.7. Excreción	54
1.3.3.8. Enzimas	55

1.3.3.9. Funciones	55
1.3.3.10. Carencia	58
1.3.3.11. Toxicidad	58
1.3.4. Magnesio	61
1.3.4.1. Contenido y distribución corporal	61
1.3.4.2. Ingreso al organismo y fuentes dietéticas.	62
1.3.4.3. Absorción	63
1.3.4.4. Ingreso a la célula intestinal	64
1.3.4.5. Transporte	64
1.3.4.6. Distribución a la célula	65
1.3.4.7. Factores que modifican la absorción	65
1.3.4.8. Excreción	65
1.3.4.9. Enzimas	66
1.3.4.10. Funciones	67
1.3.4.11. Carencia	69
1.3.4.12. Toxicidad	70
1.4 Elementos biogénicos; Zn, Cu, Fe y Mg en la mujer gestante, en el recién nacido y en la leche materna.	71
1.4.1. Elementos biogénicos en la mujer gestante	71
1.4.1.1. El cinc	73
1.4.1.2. El cobre	74
1.4.1.3. El hierro	75
1.4.1.4. El magnesio	76
1.4.1.5. Valores normales de Fe, Cu, Zn y Mg	77
1.4.2. Elementos biogénicos en el recién nacido	78
1.4.2.1. El cinc	79
1.4.2.2. El cobre	80
1.4.2.3. El hierro	81
1.4.2.4. El magnesio	81
1.4.2.5. Valores normales de Fe, Cu, Zn y Mg	82
1.4.3. Elementos biogénicos en la leche humana	82
1.4.3.1. El cinc	83
1.4.3.2. El cobre	84
1.4.3.3. El hierro	85
1.4.3.4. El magnesio	86
1.4.3.5. Valores normales de Fe, Cu, Zn y Mg	86
1.4.4. Factores que modifican la concentración de los elementos biogénicos en la leche humana	87
1.4.5. Requerimientos dietéticos recomendados	89
1.5. Bibliografía	92

CAPÍTULO 2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE Zn, Cu, Fe y Mg.

2.1. Introducción	102
2.2. Definición de muestras biológicas	105
2.2.1. Clasificación de muestras biológicas	105
2.3. Digestión de muestras biológicas	106
2.3.1. Digestión por vía seca	107
2.3.2. Digestión por vía húmeda	109
2.3.3. Digestión húmeda utilizando microondas	110
2.4. Pelo y uñas	115
2.4.1. Recolección y conservación de las muestras de pelo y uñas	118
2.4.2. Tratamiento de muestras de pelo y uñas	119
2.5. Sangre y leche humano	134
2.5.1. Recolección y conservación de las muestras de sangre y leche humana	135
2.5.2. Tratamiento para las muestras sangre y leche humana	136
2.6. Conclusiones	144
2.7. Bibliografía	145

CAPÍTULO 3. DETERMINACIÓN DE LOS ELEMENTOS BIOGENESICOS QUE INTERVIENEN EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL NEONATO

3.1. Introducción	152
3.1.1. Importancia de la determinación de los elementos biogénicos en las matrices: pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humano	152
3.1.2. Métodos utilizados para la determinación del Zn, Cu, Fe y Mg en pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humano	157
3.2. Justificación	160
3.3. Objetivos	160
3.4. Hipótesis	162
3.5. Definición de variables	162
3.6. Metodología	165
3.6.1. Determinación de los elementos biogénicos	165
3.6.2. Instrumentación	165
3.6.3. Materiales y reactivos	166
3.6.4. Procedimientos	169
3.6.4.1. Muestreo, almacenamiento y conservación de las muestras	169
3.6.4.2. Limpieza del material de vidrio	170
3.6.4.3. Determinación de Zn, Cu, Fe y Mg en suero sanguíneo, pelo, uña y leche humana	171
3.6.4.3.1. Determinación muestras de pelo	171
3.6.4.3.2. Determinación muestras de uñas	172

3.6.4.3.3. Determinación muestras de suero sanguíneo	172
3.6.4.3.4. Determinación muestras de leche humana	172
3.6.5. Verificación de condiciones analíticas	173
3.6.6. Características analíticas	173
3.6.6.1. Parámetros analíticos	173
3.6.6.2. Intervalo de trabajo	175
3.6.6.3. Técnicas de calibración	175
3.5.6.4. Exactitud	177
3.7. Análisis estadístico	179
3.8. Resultados y discusión	180
3.9. Conclusiones	208
3.10. Bibliografía	210
ANEXOS	216
PUBLICACIÓN	220

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO 1

**ELEMENTOS BIOGENÉSICOS Zn, Cu, Fe y Mg QUE INTERVIENEN EN EL
CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL RECIÉN NACIDO.**

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO 1.

1.1. INTRODUCCIÓN.

Todos los seres vivos están constituidos, cualitativa y cuantitativamente por elementos químicos. Estos componentes se encuentran en la corteza terrestre y forman parte de los seres vivos. Esto indica que la vida se ha desarrollado a partir de elementos que poseen propiedades físico-químicas acorde con los procesos químicos que están llevando a cabo en los seres vivos¹.

Los elementos biogénicos o bioelementos (del griego: bios, vida, y génesis, origen) son los elementos químicos que entran a formar parte de la materia viviente¹. En la Figura 1.1. se muestra la cantidad en gramos de los minerales en el ser humano.

www.bdigital.ula.ve

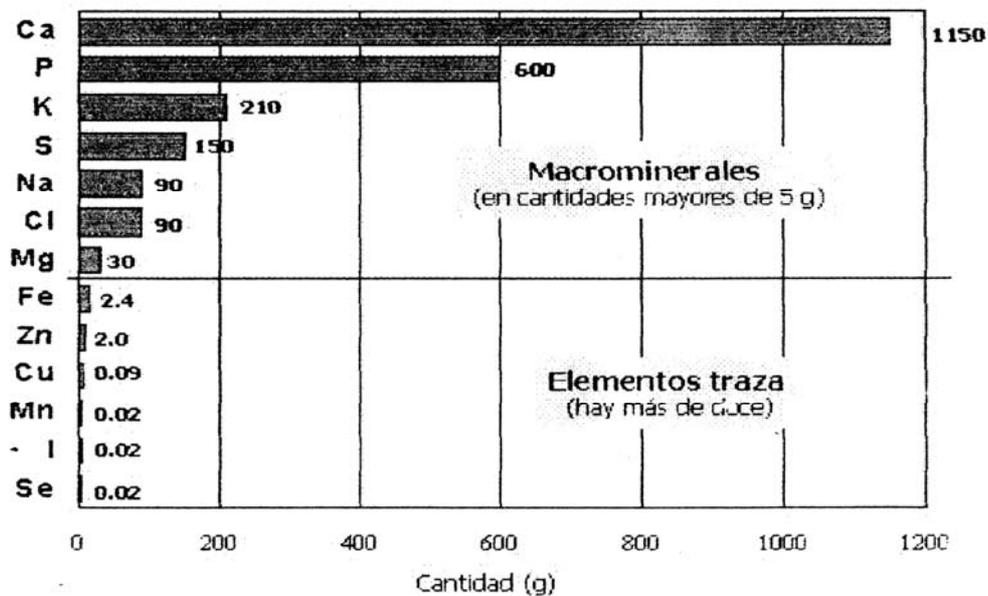


Figura 1.1. Contenido de minerales en un adulto humano.

1.1.1. Clasificación de los elementos biogénicos.

1.1.1.1. De acuerdo a su abundancia:

1.1.1.1.a. Bioelementos primarios o principales: son los elementos mayoritarios y constituyen el 95% de la masa total de los seres vivos y son : C, H, O, N.¹

1.1.1.1.b. Bioelementos secundarios: que se encuentran en una proporción del 4,5% formando parte de todos los seres vivos y son; S, P, Mg, Ca, Na, K, Cl.¹

1.1.1.1.c. Oligoelementos o elementos traza: son un conjunto de elementos químicos que están en el organismo en cantidades muy pequeñas. y son indispensables para el desarrollo del ser humano. En la actualidad los oligoelementos también se conocen como elementos traza o micronutrientes inorgánicos,¹⁻³ que serán estudiados posteriormente.

www.bdigital.ula.ve

1.1.1.2. De acuerdo a su función.

1.1.1.2.a. Elementos plásticos: se encargan de la forma del organismo, también pueden cumplir funciones estructurales en cuanto a proteínas, entran en la composición de la materia orgánica e inorgánica (carbono, hidrógeno, calcio, fósforo).¹

1.1.1.2.b. Elementos oligosinérgicos: indispensables para el normal funcionamiento del organismo. Dentro de ellos se encuentran, elementos que actúan como electrolitos disueltos en solución acuosa y fluidos corporales en forma ionizada (aniones y cationes) y elementos que actúan como activadores enzimáticos que intervienen en diversos procesos, bien acelerando o retardando diferentes reacciones, ejemplo, el magnesio en la enzima magnesio-ATPasa, el hierro en las catalasas, etc.¹ (ver Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Algunas sustancias y elementos oligosinérgicos.

CATIONES	ANIONES	ACTIVADORES ENZIMÁTICOS
Sodio	Bicarbonato	Mg en la magnesio ATPasa
Potasio	Fosfato	Fe en las catalasas y peroxidasas
Magnesio	Cloruro	Cobre en la tirosinasa
Calcio	Sulfato	Yodo en los triyodotironina y tetrayodotironina.

1.1.2. Funciones de elementos biogénicos.

Para muchos elementos esenciales se han establecido funciones diversas y específicas para otros el conocimiento es parcial e incompleto. De acuerdo a esto se pueden clasificar las funciones de los elementos biogénicos en estructurales, electroquímicas, catalíticas y misceláneas que incluyen los de función desconocida.¹

1.1.2.1. Funciones estructurales:

Sus funciones son equivalentes a las de los elementos plásticos, ya comentadas. Son muy conocidas las funciones estructurales de los elementos nitrógeno, fósforo y azufre, especialmente en proteínas, ácidos nucleicos, derivados glucídicos y fosfolípidos.¹

A esta categoría pertenecen; O, C, H, N, Ba, Ca, Fe, Mg, P, S, Si, Sr.¹

1.1.2.2. Funciones electroquímicas:

Se corresponden en parte con las de los elementos oligosinérgicos que actúan como electrólitos. Se presentan en las células como iones libres, en concentraciones diferentes a los del medio interno. Son funciones; a) la más

importante es su disponibilidad como fuente de energía durante la estimulación celular; b) son necesarios para estabilizar las emulsiones de las partículas coloidales muy cargadas presentes en las células; y c) los cationes sirven para promover la estructura del agua líquida. Por ejemplo, el sodio incrementa la regularidad del ordenamiento de las moléculas del agua, el potasio tiene relativamente poco efecto, mientras que el calcio iónico tiende a destruirlo.¹

Los elementos con funciones electroquímicas incluyen cationes y aniones. Es un hecho bien conocido que las células son ricas en potasio y magnesio y pobres en sodio y calcio, en comparación con el medio donde viven. El mantenimiento de la estabilidad de las soluciones coloidales es una función vital de los iones, que ha sido descuidada y olvidada por los investigadores. Los cationes univalentes (como el sodio y el potasio) estabilizan las emulsiones aceite en agua mientras que los divalentes (como el calcio y el magnesio) estabilizan las emulsiones agua en aceite. Algunas proteínas celulares, como las globulinas, son insolubles en agua pura pero solubles en soluciones salinas diluidas. La concentración de los iones metálicos es muy importante para mantener la solubilidad de las diversas proteínas corporales.¹

En esta categoría están: Ca, Cl, K, Mg, N, Na, P, S.¹

1.1.2.3. Catalíticas:

Casi todos los elementos esenciales, tanto macro como microminerales, desempeñan a nivel celular una o más funciones catalíticas por su interrelación con los catalizadores celulares: las enzimas. En base a la afinidad del metal por la enzima, esa interrelación se puede clasificar en dos categorías: las enzimas metalactivadas (en las que el metal activador se une laxamente a la proteína y se pierde fácilmente durante el proceso de purificación de las misma), por ejemplo, el metal activador magnesio, durante la reacción química, actúa como un vínculo temporal entre la enzima y el sustrato, tal como sucede con las enzimas; fosfotransferasas, Descarboxilasas, aciltransferasas) y las

metaloenzimas (en las que el ion metálico se encuentra firmemente adherido a la molécula proteica, desempeñando el metal un papel muy importante en la función y/o en la estructura de la enzima), tal como sucede con la Zn-metaloenzima intestinal y hepática o en la Cu-metaloenzima intestinal.¹

En esta categoría están: Ca, Cl, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P, S, Zn.¹

1.1.2.4. Misceláneas:

Compuestos orgánicos de cobalto y de hierro y complejos de cinc se han observado en materiales obtenidos de plantas, mientras que compuestos orgánicos de manganeso y complejos de cinc se han aislado de moluscos. El magnesio entra a formar parte de la porfirina que es constituyente de la clorofila, el pigmento verde de los vegetales, indispensable para el proceso de la fotosíntesis. El selenio es esencial en la nutrición de ciertos animales, al igual que el cobre, el cinc y el manganeso, entre otros. El yodo y el bromo se acumulan en algas marinas, en celentéreos y otros organismos vivos. El silicio, es un componente fundamental de diatomeas y radiolarios. El boro es esencial para el crecimiento de las plantas y el vanadio para el de algunas algas, siendo además un componente importante de una proteína presente en los tunicados, un grupo de invertebrados marinos. Aunque otros elementos como el aluminio, el estroncio, el bario, el cadmio, el arsénico y el estaño están presentes en el hombre y en otros seres vivos se discute todavía su carácter de esenciales para éstos.¹

En esta categoría están: B, Br, Cd, Cl, Cu, Fe, I, Se, V, Zn.¹

1.2. LOS OLIGOELEMENTOS O ELEMENTOS TRAZA.

El interés por los elementos traza en los organismos vivos comenzó el siglo pasado cuando se descubrieron ciertos compuestos de suma importancia en la fisiología animal.^{4,5}

Desde la década de los 70 se incrementó la importancia de los elementos traza en los sistemas biológicos, considerándose de gran importancia en el hombre.^{3,6}

Actualmente 26 de los 90 ó más elementos presentes en la naturaleza se consideran esenciales para la vida animal. De estos, 11 pertenecen al grupo de bioelementos primarios o secundarios y 15 a los aceptados generalmente como oligoelementos, a saber; el hierro, el cinc, el cobre, el manganeso, el níquel, el cobalto, el molibdeno, el selenio, el cromo, el yodo, el flúor, el silicio, el vanadio y el arsénico.¹

Los elementos traza son esenciales para mantener la vida, el crecimiento y la reproducción normal de las especies; de ellos, el cinc, el cobre y el hierro son reconocidos desde hace muchos años como nutrientes esenciales involucrados en el metabolismo humano y en el normal crecimiento y desarrollo. Además, todos los animales en crecimiento son susceptibles al déficit de esos micronutrientes, de ahí el interés del conocimiento de las funciones que desempeñan en la nutrición y la salud. El crecimiento del niño es un proceso dinámico, y la participación de los oligoelementos en el crecimiento esta sujeta a constantes variaciones. Las interacciones entre elementos traza esenciales pueden ocurrir por diferentes mecanismos, por lo que la suficiencia o deficiencia de un mineral puede determinar la absorción eficiente de otro. Por lo que antes de considerar la suplementación de algunos de ellos, se debe conocer su metabolismo y las múltiples interacciones que ocurren entre los micronutrientes con los macronutrientes, porque la corrección de un problema nutricional puede generar otro.⁷ Los elementos traza también se han implicado como factores causantes de cierto número de enfermedades, como la acumulación progresiva de cobre en el hígado en la Enfermedad de Wilson, cambios en el metabolismo del hierro en ciertos estados mórbidos, como la enfermedad de Alzheimer, el mercurio en la Enfermedad de mínima, etc.⁸

1.2.1. Clasificación de los elementos traza.

Los elementos traza se clasifican de acuerdo a la frecuencia con que se encuentran en el organismo y por su significado biológico. En relación a la frecuencia pueden ser invariables (Zn, Cu, Fe, Mn, I y Se entre otros); es decir, presentes en todos los seres vivos en concentraciones sumamente bajas, menos del 0,005% del peso corporal y los variables (el litio, el rubidio, el germanio y el estaño entre otros), que se detectan en unos organismos y en otros no, sus funciones todavía no son bien conocidas.¹ Por su significado biológico los elementos traza pueden ser esenciales, posibles esenciales, no esenciales y tóxicos.⁵

Un elemento traza esencial es aquel necesario para mantener la vida; su ausencia o carencia pueden determina la muerte del organismo. Sin embargo, es muy difícil que un elemento determine la muerte, especialmente si éste se requiere en concentraciones muy pequeñas.¹ Mertz⁹ señaló, que un elemento es esencial cuando su ingreso deficiente determina invariablemente la disminución de una función de óptima a subóptima y cuando su administración (y no la de otro elemento) en cantidades fisiológicas y/o a lecuadris previene o cura esta alteración.

Cotizas¹⁰ indicó, que para ser considerado un elemento traza esencial, éste debe cumplir con los siguientes criterios:

- * Estar presente en todos los tejidos sanos de todos los organismos vivos.¹⁰
- * Su concentración tisular debe ser relativamente constante.¹⁰
- * Su carencia debe producir alteraciones ultraestructurales y fisiológicas iguales (y/o reproducibles) en las diferentes especies; es decir, que las alteraciones determinadas por lo carencia del metal son independientes de la especie estudiada.¹⁰
- * Su administración en cantidades adecuadas, debe curar y/o prevenir estas alteraciones.¹⁰
- * Las alteraciones o lesiones producidas por la carencia se deben acompañar de cambios bioquímicos pertinentes y específicos. Los cambios bioquímicos se

deben prevenir o curar cuando esta carencia se previene o se trata.¹⁰

Los elementos traza que en la actualidad se consideran esenciales para el hombre son; el cobre, el cromo, el cobalto, el flúor, el iodo, el hierro, el molibdeno, el selenio, el vanadio, el cinc, el manganeso, el níquel y el silicio. Dentro de los oligoelementos tóxicos se encuentran el plomo, el cadmio y el mercurio potencialmente tóxicos a concentraciones relativamente bajas. Esta clasificación, sin embargo, todos los elementos traza son tóxicos o potencialmente tóxicos si se ingieren o inhalan en cantidades elevadas durante períodos de tiempo.¹⁻² Este efecto de DOSIS-DEPENDENCIA, conocido desde hace años, se presenta en forma de una curva de dos máximos. La primera parte de la curva que se incrementa, al aumentar concentraciones del elemento traza, hasta alcanzar una meseta, donde se expresa la **Acción Biológica** del elemento. La meseta demuestra la suplementación óptima y la función normal y su ancho determina la capacidad homeostática del animal o del sistema. Al aumentar la dosis se produce la **Acción Farmacológica** del elemento traza. En esta etapa, él actúa como una droga al organismo o es imitando una reacción química. A dosis más elevadas aparecen signos y los síntomas de la toxicidad, expresión de la **Acción Toxicológica** del micronutriente¹

La dosis a la cual estas diferentes etapas de acción se hacen aparentes, así como el ancho de la meseta, varía ampliamente entre los diferentes micronutrientes y están influenciadas de una manera muy marcada por la presencia de otros elementos y/o compuestos en el organismo y por la dieta que se consume. Es importante resaltar que: 1°) para cada elemento existe un rango de seguridad y de exposición adecuada, dentro del cual él o los mecanismos homeostáticos son capaces de mantener sus concentraciones tisulares óptimas y las funciones normales, 2°) cualquier elemento traza es potencialmente tóxico cuando este rango se sobrepasa, y 3°) el rango de ingreso seguro y adecuado está bien definido para el caso del hierro, iodo y cinc. Los rangos se han estimado para el flúor, cromo, manganeso, cobre, selenio y molibdeno, pero se desconocen para otros elementos traza.¹

1.2.2. Homeostasis de los elementos traza.

Los homeostasis representa el conjunto de mecanismos fisiológicos y bioquímicos que mantienen la constancia del medio interno; el organismo tiende a mantener las concentraciones adecuadas de los elementos traza, en primer lugar, en los sitios de acción fisiológicamente más importantes; en segundo lugar, en aquellos sitios de menor importancia para la supervivencia inmediata y en tercer lugar en los depósitos corporales fisiológicamente importantes.¹ De esta manera las concentraciones de los elementos traza en las estructuras vitales para el organismo se mantienen en los casos de deficiencia moderada cuando otros sitios de menor importancia funcional se agotan. Como paso previo a esta etapa, disminuye la saturación de las proteínas específicas de transporte, a veces el único signo de un ingreso inadecuado de los elementos traza. Esto se sigue del agotamiento del comportamiento tisular específico de depósito. A la inversa, estos compartimientos de depósito representan la primera línea de defensa contra la sobre exposición a un determinado elemento traza; la segunda línea está representada por las proteínas sanguíneas de transporte y por las enzimas de importancia creciente para los procesos vitales. Estos mecanismos de defensa se hacen efectivos una vez que la capacidad reguladora de los mecanismos de absorción y excreción, ya señalados, ha sido vencida.¹

En unión a los mecanismos específicos del medio interno, la cinética de la pérdida corporal de los elementos traza de por sí representa un poderoso mecanismo de control homeostático. La eliminación de la mayor parte de los elementos traza del organismo, se expresa por una serie de reacciones de primer orden, a tal punto que: la pérdida de un elemento traza es una fracción constante de los depósitos corporales disponibles en un momento dado. La excreción fraccionada constante tiene evidentes implicaciones para la homeostasis en el sentido de que la cantidad absoluta de un elemento traza que se pierde por día es mucho mayor cuando los depósitos corporales son elevados. Por lo tanto, el requerimiento absoluto, al igual que el alimenticio,

para mantener el estatus existente, varía con el tamaño del compartimiento de depósito del elemento traza. Este hecho tiene gran significación para la evaluación del estatus nutricional.¹

Los estudios de balance son ampliamente utilizados para determinar los requerimientos del nutriente basados en la lógica de que un ingreso diario menor que la pérdida debe producir una deficiencia. Pero esta conclusión no es completamente cierta, pues incluso con un ingreso menor que el requerido, un nuevo equilibrio se establecerá tan pronto como los depósitos corporales hayan disminuido a un punto donde la tasa de excreción fraccionada iguale al ingreso.¹ Los resultados de los estudios de balance indican la cantidad de un nutriente requerido para mantener el estado existente de los depósitos tisulares pero el requerimiento verdadero. Estas consideraciones enfatizan la importancia del "factor tiempo" en la nutrición de los elementos traza; éste expresa el efecto amortiguador de la regulación homeostática sobre los cambios a corto plazo del ingreso alimentario (o de la biodisponibilidad que pudiera tener la cantidad del elemento realmente disponible al organismo) y es igualmente importante para el diseño y la interpretación de los estudios de balance.¹

1.3. ELEMENTOS BIOGENESICOS: CINCO, COBRE, HIERRO Y MAGNESIO.

1.3.1. El cinc (Zn).

El término cinc proviene del alemán antiguo "cinc" que significa de "origen oscuro". Se trata de un elemento metálico blanco azulado, esencial para el funcionamiento normal del organismo aunque su requerimiento diario sea escaso, además de poseer muchas aplicaciones industriales. El cinc es uno de los elementos de transición del sistema periódico; su número atómico es 30. El cinc se conoce desde hace mucho tiempo, pero no fue reconocido como elemento hasta 1746, cuando el químico alemán Andrés Sigismund Marggraf aisló el metal puro calentando calamina y carbón de leña.^{11,12}

1.3.1.1. Contenido y distribución corporal del cinc.

Un adulto sano (70 kg) contiene un total de 2 g de cinc (1,4 - 2,3 g). Todas las células y todos los compartimientos corporales contienen vestigios del metal y lo almacena el hígado de forma preferencial.¹³

El contenido de cinc de los diferentes órganos depende del método empleado para su valoración y de la manera como se expresen los resultados, sea en μg del metal por g de peso seco o sea en $\mu\text{g/g}$ de tejido fresco. Así tenemos que el contenido de cinc de los órganos humanos varía entre 10 y 200 $\mu\text{g/g}$ de peso seco mientras que la mayoría, incluyendo al páncreas, contiene entre 20 y 55 $\mu\text{g/g}$ de tejido fresco. Contrariamente, a algunas opiniones, el páncreas habitualmente no contiene grandes cantidades del metal. Sin embargo, se considera que el hígado, los riñones, los hueso, la retina, la próstata, el cabello, las uñas y los músculos son ricos en cinc.¹³ El cinc se encuentra en el suero sanguíneo en valores de 0,74 - 0,25 mg/L ¹⁴ y en la leche humana en valores de 0,37 - 0,15 mg/L .¹⁵

1.3.1.2. Ingreso de cinc al organismo y fuentes dietéticas.

El ingreso de cinc al organismo depende una dieta equilibrada o balanceada. Las concentraciones de cinc en los alimentos se expresan como cinc total. Los alimentos y las dietas con un alto contenido en proteínas son ricos en cinc mientras que las dietas constituidas en su mayor parte por carbohidratos poseen menores cantidades del metal.¹⁶

Las mejores fuentes de cinc son las carnes, huevos, leche, mariscos, pescados y legumbres.¹⁷

La refinación de los cereales disminuye su contenido de cinc, y el que se encuentra en productos de trigo integral en gran medida no es aprovechable a causa de la existencia del ácido fítico y la fibra. La fermentación con levadura

como el pan con levadura, mejora mucho la disponibilidad fisiológica del cinc en el pan integral. Este aumento se atribuye al efecto de la levadura que destruye al fitato.^{17,18}

Según el Instituto Nacional de Nutrición (I.N.N.)¹⁹ el valor de referencia para el requerimiento de cinc es de 12 mg/día.

1.3.1.3. Absorción del cinc.

El balance del cinc se mantiene mediante la velocidad de absorción y de excreción desde intestino. El mecanismo de absorción del cinc no está bien entendido, aunque está bajo el control homeostático (ver Figura 1.2),¹⁸ y se afecta por estado nutricional del sujeto, el nivel de cinc en la dieta y la presencia de sustancias interferentes, como fibras, fitatos, el procesamiento de alimentos, así como también el cobre, hierro, calcio y cadmio compiten por la proteína transportadora; además intervienen las metalotioneínas (proteínas citoplasmáticas solubles de bajo peso molecular péptidos monoméricos no enzimáticos intracelulares, constituidos por unos sesenta aminoácidos, de los cuales el 30% corresponde a cisteína) en la regulación del paso del cinc por la célula de la mucosa intestinal; además, se ha demostrado que la cantidad de ese elemento influye en la dirección de su movimiento en dicha célula intestinal. La metalotioneína enlazante del cinc también se ha encontrado en otros tejidos (hígado, riñones); aunque su función en el metabolismo de este mineral todavía no se aclara, es probable que participe en la detoxificación y en el almacenamiento. Estas metalotioneínas Tienen un ritmo rápido de recambio y una alta afinidad por el cinc (además por el cobre, hierro, calcio, cadmio y mercurio).³⁰ La absorción del cinc depende de su concentración y tiene lugar a nivel de intestino delgado, con el yeyuno como sitio de máxima absorción,²¹ en ella interviene un proceso cinético, la captación a nivel del borde en cepillo, y un transporte luminal-vascular por vía transcelular y paracelular.²²⁻²⁴ La biodisponibilidad del cinc es mayor en los alimentos de origen animal, facilitando su absorción sustancias orgánicas solubles de bajo

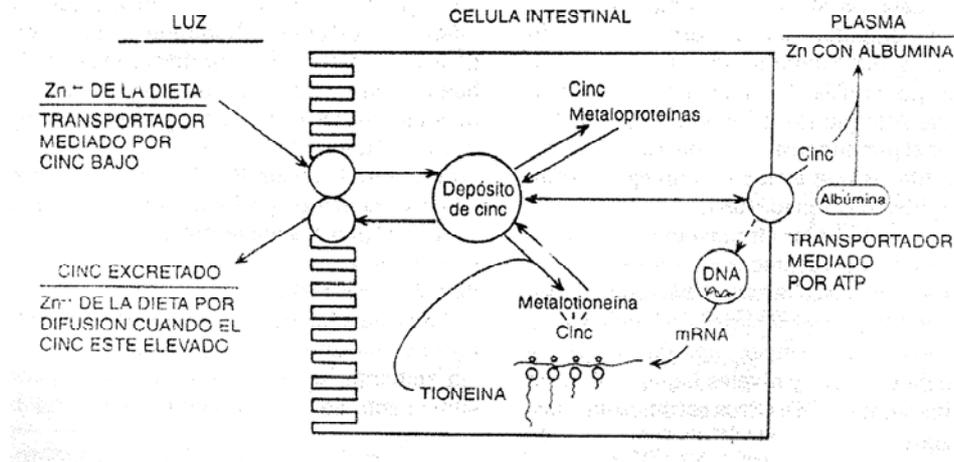


Figura 1.2. Absorción del Cinc.

peso molecular como aminoácidos e hidroxácidos, al actuar como ligandos: también la favorecen los ácidos grasos, el citrato, el picolinato, el glutatión reducido y las prostaglandinas.²⁵ La presencia de ciertos factores dietéticos en la luz intestinal mejora la absorción de cinc, entre ellos cabe citar: los aminoácidos: histidina, cisteína y metionina; la vitamina C y EDTA.²⁶

1.3.1.4. Ingreso del cinc a la célula intestinal.

Aproximadamente el 15% (rango: 20-30%) del cinc ingerido se absorbe por las células mucosas del intestino delgado y pasa luego a la corriente sanguínea para ser distribuido en los diversos órganos y tejidos corporales. La información de como ocurre este proceso es escasa, no precisándose si se realiza por transporte activo, pasivo o facultativo, encontrándose mayor información sobre un tipo de transporte transcelular y paracelular. Una vez en el interior de la célula intestinal, el cinc recién ingresado se equilibra con el cinc intracelular endógeno, luego se transfiere a las metalotioneínas. Si el cinc ingerido aumenta, se incrementan concomitantemente la cincemia y la síntesis de metalotioneínas, lo que aumenta su absorción intestinal. Caso contrario, si disminuye la cantidad del cinc que ingresa con la dieta se produce el fenómeno

inverso.¹ Sin embargo hay estudios en ratas que señalando que la inducción de la síntesis de metalotioneínas estimula la absorción del metal.²⁶ La transcripción del ARNm de la metalotioneína intestinal y la síntesis de la proteína en sí misma están estimuladas por la administración parenteral de cinc. En caso de aportes excesivos y de sobrecarga del organismo, la regulación se efectúa por factores endógenos (que facilitan y controlan su absorción o su excreción) y exógenos (que aumentan o inhiben su biodisponibilidad). De este modo, para aportes elevados de cinc, su transferencia está inversamente correlacionada con la concentración intestinal de metalotioneína, susceptible de secuestrar el cinc en la célula de la mucosa intestinal (entericito).²⁷⁻²⁹ Las concentraciones enterocitarias de la proteína intestinal rica en cisteína (CRIP) no se han visto modificadas con aportes elevados de cinc, situación en la cual el cinc se acumula en la piel y en los cabellos, y tal vez también en los huesos.³⁰

1.3.1.5. Transporte del cinc.

Desde la célula intestinal, el cinc pasa a la circulación portal hasta el hígado mediante la formación de complejos con la transferrina y luego, de la circulación sistémica a las células en un 80 %, transportado en el plasma por la albúmina y el resto está unido covalentemente a la alfa-2 macroglobulina (15%), una fracción ligada a aminoácidos libres como la histidina y cisterna (1%), siendo un transporte pequeño pero activo donde el cinc atraviesa sin dificultad la membrana celular y la barrera hematoencefálica.¹¹ Otra pequeña porción está unida a pequeños péptidos de bajo peso molecular. No se encuentra de forma ionizada.¹²

El transporte transplacentario del cinc se realiza bidireccionalmente (circulación madre ↔ feto), pero el flujo neto está dirigido al feto; dicho flujo es rápido y la magnitud de la transferencia es proporcional a la masa del feto y aumenta con el avance de la gestación.¹²

La captación del cinc por las células periféricas (células hepáticas, fibroblastos

y células acinosas pancreáticas) a la vez las características de los procesos dependientes de un transportador y la de los mecanismos de difusión pasiva no saturables. La liberación de cinc recientemente absorbido y depositado en el hígado es muy eficaz. Pense a que el hígado tiene un protagonismo importante en el control del metabolismo del cinc, no se conoce de que modo se ejerce y de cómo está regulado. Sin embargo, las metalotioneínas desempeñan un papel importante en este proceso.³⁰

1.3.1.6. Distribución del cinc a la célula.

El plasma es el responsable de la distribución del cinc a los tejidos extrahepáticos. En la sangre la concentración de cinc es más elevada en los leucocitos, luego en los eritrocitos y el suero. Está asociado con las isoenzimas de la anhidrasa carbónica y en menor grado con la superóxido dismutasa y las metalotioneínas en el glóbulo rojo (eritrocito).³⁰

El recambio hepático del cinc se produce cada 5 horas aproximadamente. La captación por el hígado se acompaña de entradas simultáneas de aminoácidos, hierro y otros iones metálicos. Así mismo, el páncreas retira cinc de la circulación para producir las metaloenzimas que se requieren para la digestión.³⁰

1.3.1.7. Factores que modifican la absorción del cinc.

Factores inhibidores; las fibras y/o los fitatos disminuyen la absorción a diferencia de otros agentes formadores de complejos (por ejemplo, toninos). El cobre o el cadmio compiten por la proteína transportadora. Existe interés con respecto a que si la ingesta elevada de hierro y calcio reducen la cantidad de cinc que se absorbe, pero la evidencia es poco clara. El ácido fólico puede reducir la absorción cuando la ingesta de cinc es baja. Por otro lado, las dosis elevadas de cinc pueden alterar la absorción del hierro a partir del sulfato ferroso, la forma que por lo general se encuentra en los suplementos de

vitaminas y minerales.^{18,31}

Factores activadores: la absorción del cinc aumenta por el ácido picolínico, la glucosa, la lactosa y por la proteína de soya que se proporciona sola o mezclada con carne. El cinc se absorbe mejor a partir de la leche humana que de la leche de vaca.^{18,31}

1.3.1.8. Excreción del cinc.

El cinc se elimina principalmente por las heces, y su cantidad excretada se relaciona directamente con su contenido en la dieta; el cinc fecal comprende el cinc dietético no absorbido, el cinc de las células mucosas que se descaman y el cinc de los jugos intestinales ricos en el metal, especialmente el Jugo pancreático. En los adultos normales, el contenido del metal en esas secreciones es de aproximadamente 1 µg/mL. Cantidades insignificantes del cinc se excretan por la bilis. La excreción urinaria de cinc (cincuria) es muy constante y no depende del ingreso del micronutriente. La cincuria oscila entre 400 y 600 µg en 24 horas. El mecanismo que rige la excreción renal del cinc no está totalmente aclarado.^{18,23,31,32} Una pequeña fracción del cinc se pierde por la descamación de la piel. La excreción de cinc a través del sudor normalmente alcanza 1.5 mg/día, incrementándose en climas calientes.³³ La cinética del cinc se esquematiza en la Figura 1.3.

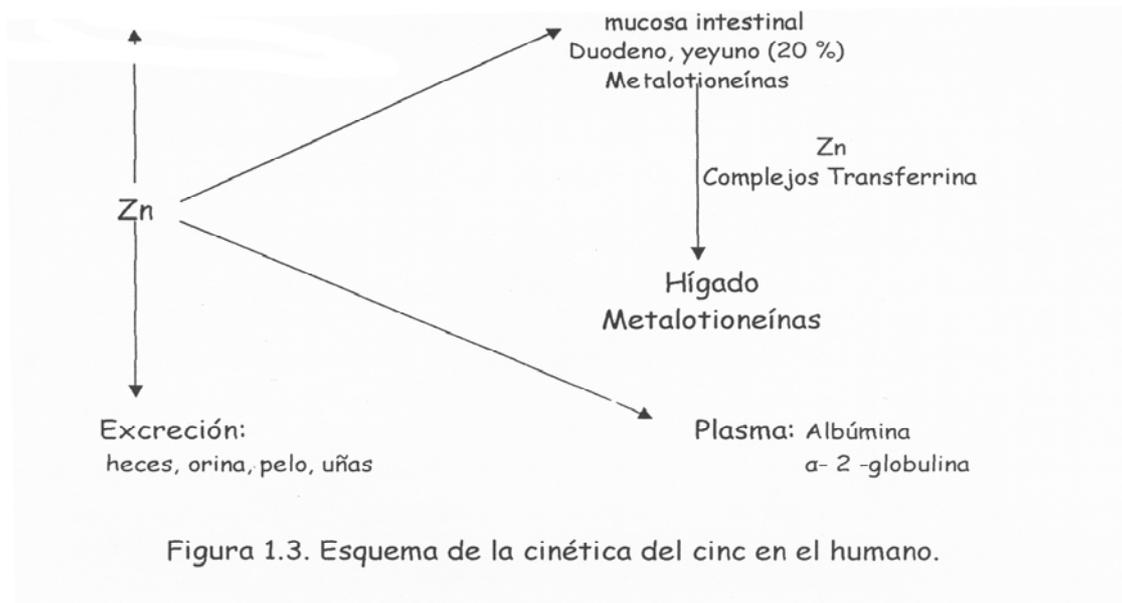


Figura 1.3. Esquema de la cinética del cinc en el humano.

1.3.1.9. Enzimas que contienen cinc.

El cinc desempeña un papel esencial en todas las formas de vida. Esto se debe a sus propiedades generales y reemplazables desde un punto de vista bioquímico. Tiene un solo estado de oxidación y es un buen aceptor de electrones. En segundo lugar, su capacidad para formar complejos estables con el azufre y el nitrógeno es utilizada biológicamente para estabilizar la conformación de las proteínas y facilitar las interacciones entre las proteínas o los péptidos, los esferoides y los ácidos nucleicos. Por este hecho, el cinc desempeña un papel estructural y regulador para numerosas enzimas, a través de la traducción de señales, síntesis de polímeros presecretorios y sistemas de transcripción de genes que son esenciales para el metabolismo, el crecimiento y la reproducción humana (ver Tabla 1.2).^{34,35}

Tabla 1.2. Cinc-Metaloenzimas.^{12,34}

Actividad	Función del cinc*	Comentarios
Alcohol deshidrogenada	C,E	Igual a la retinol deshidrogenasa
Superóxido dismutasa	E	Actividad antioxidante del citosol
Fosfatasa alcalina	C,E	Muchas funciones biológicas asignadas.
Fructosa 1,6-difosfatasa	R,E	Gluconeogénesis
"Aminopeptidasas"	C,(R?)	Hidrólisis de las proteínas
Enzima convertidora de la angiotensina	C	Proteasa específica
Endopeptidasas	C	Modificaciones postraduccionales de las proteínas; encefalinas, regulador de hormonas peptídicas.
Colagenasa	C	
Carboxipeptidasas	C	Probablemente con inclusión de folato desconjugasa para la absorción de los folatos.
Hidrolasa del leucotrieno A ₄	E, (C?)	
Anhidrasa carbónica	C	Transporte del CO ₂
Deshidrasa del ácido γ-aminolevulínico	C	Síntesis del heme
Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa.	C	Enzimas de oxido-reducción dependientes, de los nucleótidos de la piridina; glucólisis
Lactato deshidrogenasa.	C	
Malato deshidrogenasa	C	
Polimerasas de los ácidos nucleicos	E	Síntesis de los ácidos nucleicos
Factores de transcripción	E, (R?)	Regulan de la expresión de los genes "Sandwiches" de cinc, hormonas esteroides y peptídicas, receptores de membrana y nucleares.
Uniones hormonas-receptores	E, (R?)	

* C, Catalítica; R, reguladora; E, estructural.

1.3.1.10. Funciones del cinc.

Las funciones bioquímicas del cinc son muy variadas. El cinc es un componente esencial de más de 300 metaloenzimas que participan en las vías metabólicas principales. Entre las metaloenzimas de mamíferos figuran la anhidrasa carbónica, las carboxipeptidasas A y B, la aminopeptidasa, la fosfatasa alcalina, la vinosa de timidina, y las deshidrogenasas de alcohol, retinol, malato, lactato, glutamato, y gliceraldehído-3-fosfato.³⁶ En las metaloenzimas, el cinc habitualmente se localiza y actúa a nivel del sitio catalítico activo, aunque también puede desempeñar funciones estructurales y/o reguladoras, en cualquiera de los casos forma un complejo con "as proteínas o con las apoenzimas al combinarse con sus átomos ricos en electrones, como el oxígeno, el nitrógeno y el azufre. Es fundamental que los grupos -SH de estas proteínas se mantengan en estado reducido a fin de poder formar complejos estables y unirse a los iones metálicos (en este caso Zn^{2+}). En algunos casos el cinc juega un papel muy importante al impedir la oxidación de estos grupos y, de esta manera, regular la actividad catalítica de las Zn-metaloenzimas clásicos.^{28,37-39}

Por lo tanto, dentro de las funciones del cinc tenemos:

1. El cinc Juega un papel esencial en la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN), del ácido ribonucleico (ARN) y las proteínas.^{1,18}
2. Mantiene una actividad apropiada de las ADN y ARN polimerasas.^{1,18,36,39}
3. Estabiliza las membranas celulares y los polirribosomas durante la síntesis de proteínas.^{18,36,39}
4. Función fisiológica en el sentido del olfato, audición y del gusto (la gustatina es Zn-metaloproteína).³⁶

5. Moviliza la vitamina A del hígado y mantiene las concentraciones normales de esta vitamina en sangre.³⁴
6. Interviene en la cicatrización, en quemaduras y en la síntesis del colágeno³⁶
7. Es esencial para la espermatogénea y la formación de óvulos.³⁶
8. Almacenamiento de insulina en las células β del páncreas.³
9. Interviene en la inmunidad celular³⁶ y humoral.¹
10. Participa en el control sistémico e intracelular.^{12,34}
11. Interviene en las vías metabólicas principales de las proteínas, los hidratos de carbono, los ácidos nucleicos y los lípidos.^{1,12,18,34}
12. El papel del cinc en el metabolismo de los ácidos grasos no es claro, dado que el papel atribuido a la conversión del ácido linoleico en araquidónico y la síntesis de prostaglandinas no ha sido definido de una manera precisa.¹
13. Interviene en la síntesis del heme (el pool proteico más importante del organismo).^{12,34}
14. Participa en la regulación genética, en la síntesis tisular y en la embriogénesis.^{1, 12,18,34}
15. Es esencial para el normal crecimiento y desarrollo y para la diferenciación de todas las especies.¹
16. Con respecto a la hormona de crecimiento se describe una correlación significativa e inversa entre sus niveles séricos y los del cinc.¹

17. En concentraciones fisiológicas suprime la prolactina.¹
18. Posee propiedades microbicidas: antibacteriana y antimicótica.¹
19. Es esencial para mantener la función inmune.¹
20. Interviene en la secreción de las glándulas endocrinas.¹
21. Se relaciona con las alteraciones nerviosas y sensoriales.¹
22. Antagoniza con: cobre, cadmio, calcio y hierro.

1.3.1.11. Carencia de cinc.

La carencia de cinc puede deberse a un ingreso dietético inadecuado (dieta alta en fitato de pan sin levadura y que casi no contenía carne), malabsorción, aumento de las pérdidas corporales, alimentación inadecuada o una combinación de estos factores predisponentes y a una infección concomitante.⁴⁰

La carencia de cinc produce:

- Retardo en el crecimiento³³ y talla baja:⁴¹ es la mayor consecuencia de la carencia de cinc en humanos.^{42,43}
- Disminución del apetito⁴¹
- Trastornos del gusto: hipogeusia y disgeusia²⁵
- Disfunción cerebral²⁵
- Acrodermatitis enteropática: rasgo autonómico recesivo que aparece en los primeros meses de Vida, caracterizado por alopecia (calvicie), lesiones vesicopustulares en cara extremidades y periné, esofagitis, diarrea, etc.⁴⁴
- Inmunosupresión.^{40,42,45-51}
- Esteatorrea y enteropatía perdedora de proteínas.¹⁷

- Defectos del tubo neural, muerte fetal y malformaciones neonatales.⁵²

1.3.1.12. Toxicidad del cinc.

Pueden aparecer signos de intoxicación aguda después del consumo de agua o de otras bebidas que han sido almacenadas para efectuar diálisis renales y de la ingestión de cinc o de aleaciones que contienen cinc; manifestándose por anorexia, náuseas, vómitos, sangramiento de erosiones gástricas, diarrea, vértigos, somnolencia y fiebre.⁵³ Puede interferir con el metabolismo del hierro y del cobre.⁵⁴ En el adulto, estas manifestaciones sobrevienen tras la toma de por lo menos 2g de cinc. La sobredosificación por vía intravenosa puede conducir a una insuficiencia renal aguda y a la muerte.⁵³

La intoxicación crónica dada por aportes excesivos y prolongados de cinc (75-300 mg/día) pueden favorecer la aparición de una carencia de cobre, manifestándose en forma de anemia microcítica y trombocitopenia.⁵⁵

La Tabla 1.3. Muestra el espectro metabólico del status del cinc y pone en evidencia que una carencia o un exceso son ciertos a partir del momento en que un estándar bioquímico o un parámetro fisiológico es anormal.⁵⁶

Las concentraciones de cinc en los tegumentos (cabellos, piel, unas) aumentan con la sobrecarga sistémica. Se puede pensar, por tanto, que debería haber indicadores precoces de los trastornos metabólicos que resultan de este exceso. La interferencia del cinc con el metabolismo del cobre, que testimonia la baja actividad de Cu-Zn superóxido dismutasa, podría ser útil a este propósito.⁷

Tabla 1.3. Espectro del status del cinc y de los fenómenos fisiopatológicos asociados.⁵⁶

Muerte	Exceso de cinc
Toxicidad	Manifestaciones clínicas, bioquímicas y patológicas: homeostasis sobrepasada; metabolismo de otros nutrientes (Cu, Fe) perturbado; actividades reducidas de la Cu-Zn superóxido dismutasa globular.
Homeostasis compensadora	Excreción y secuestro titulares adecuados: ausencia de manifestaciones clínicas; aumento de los contenidos de cinc en el hígado, cabellos, piel y esqueleto.
Exceso inicial	Reducción de la absorción y aumento de las pérdidas intestinales netas a partir de los compartimientos endógenos del cinc.
Adecuación	
Carencia inicial	Aumento de la absorción y conservación renal; reducción de las pérdidas endógenas de cinc.
Fase metabólica compensada	Compartimiento funcionales vitales protegidos; ausencia de modificaciones de las concentraciones tisulares y de los líquidos; movilización de las reservas posibles; ausencia de enfermedad clínica, aunque la homeostasis se vuelve insuficiente; retraso del crecimiento, aumento del aclaramiento plasmático, caída de la concentración de cinc en los leucocitos plasma y suero.
Fase metabólica descompensada	Trastornos funcionales iniciales de modo que el metabolismo de otros nutrientes y el estado de salud quedan perturbados; actividades de la Zn-metaloenzimas disminuidas, defecto funcionales específicos.
Fase clínica evidente	Metabolismo de otros nutrientes (aminoácidos, ácidos grasos, hierro) profundamente perturbados; trastornos funcionales específicos y no específicos extensivos; liberación de cinc que, debido al catabolismo tisular, puede mantener los valores plasmáticos.
Muerte	Carencia de cinc

1.3.2. El cobre (Cu).

La presencia del cobre en plantas y tejido animal fue observada por Bucholz (1816) y Buitigni (1833), y no fue sino hasta 1928 que Me Harge y Hart reconocieron al cobre como un elemento traza esencial en ratas; esta observación fue extendida más tarde a otras especies.⁵⁷

El cobre es un elemento de transición ubicado en el periodo 4, perteneciente al subgrupo IB y número atómico 29. Su valencia puede estar como ion cuproso, Cu^+ o ion cúprico, Cu^{2+} siendo esta última más estable y mucho más frecuente. El cobre es un oligoelemento esencial del organismo y es un constituyente primordial de varias proteínas, metaloenzimas y algunos pigmentos de la naturaleza.⁵⁸

1.3.2.1. Contenido y distribución corporal del cobre.

El adulto humano sano contiene de 70-140 mg de cobre total. Su concentración más elevada se encuentra en hígado, cerebro, riñones, corazón y páncreas. El órgano de depósito más importante es el hígado, donde la mayor proporción se encuentra en el citosol de los hepatocitos unido a la superóxido dismutasa, metalotioneínas y a otras proteínas, sin embargo, por la gran masa corporal que poseen los músculos y los huesos, estos representan el mayor depósito corporal con 70-75%. Su concentración promedio en el suero es 114 $\mu\text{g}/100$ mL, con rango 71-155 $\mu\text{mg}/100$ mL⁵⁹

1.3.2.2. Ingreso del cobre al organismo y fuentes dietéticas.

La ingesta diaria del cobre depende del tipo de dieta, costumbres, tradiciones y acceso a ciertos alimentos. Sin embargo, el cobre se distribuye ampliamente en los alimentos y la mayoría de las dietas equilibradas proporcionan cerca de 2 mg/día. El ingreso se ve influenciado por el tipo de alimento, su riqueza en cobre y la forma cúprica (Cu^{2+}) como este se presenta en estos alimentos.³⁶

El aporte dietético de cobre depende de la calidad y variabilidad de la dieta. Así los mariscos (crustáceos), las vísceras (hígado) y los granos son ricas fuentes de él, estando en menor proporción en nueces, cereales con trigo, frutas secas, aves de corral, pescado, carnes, legumbres, verduras de tubérculo y de hojas.^{36,59} Los factores ambientales (fertilizantes, desperdicios con cobre, insecticidas, agua, etc.) influyen en el contenido de cobre en el suelo y este sobre el contenido de cobre en los alimentos. Los fitatos que se encuentran en cereales integrales forman complejos muy estables con el cobre y reducen la asimilación de este elemento.³⁶

Según el Instituto Nacional de Nutrición (I.N.N.)¹⁹ el valor de referencia para el requerimiento de cobre es de 2,2 mg/día.

1.3.2.3. Absorción del cobre.

Una vez iniciado el proceso de digestión, la mayor parte del cobre se absorbe dependiendo de la cantidad, de la forma del cobre que se ingiere y de la presencia de ciertos compuestos presentes en los alimentos,⁶⁰ ocurriendo principalmente en el duodeno, con una alta eficiencia de absorción en adultos, con cifras entre 55% a 75%.³⁶ Otros autores sostienen que el cobre se absorbe en el estómago, pero la absorción llega a su máximo en el epitelio del intestino delgado, en la parte superior del duodeno, por transporte activo y difusión pasiva, variando su porcentaje de absorción del 25 al 60%.^{18,61,62}

Este oligoelemento en la luz intestinal se une a diversos ligandos, especialmente L-aminoácidos como la histidina, o a los citratos que se unen al cobre y favorece su absorción,³⁶ antes de penetrar en la vellosidad intestinal, en el proceso químico de captación y transporte intracelular compite con otras moléculas, tales como, el cinc, el bicarbonato de calcio, el ácido ascórbico, la fibra, el cadmio, el mercurio, la plata, etc., lo cual va a incidir en la cantidad de cobre que se absorbe.^{1,36}

Diferentes mecanismos hacen posible la absorción en las células del intestino delgado y la subsiguiente transferencia a través de la membrana baso lateral hasta el intersticio y la sangre; en la mucosa de la célula intestinal ocurre probablemente por difusión y en los casos en que hay saturación, sí se utilizan mecanismos dependientes de energía. Estos pasos están regulados por metalotioneínas, cuya síntesis es favorecida por el mismo cobre, y constituyen una reserva de cobre no tóxica para que en caso de disminución del mismo pueda ser liberado para ejercer sus funciones.^{1,36}

Cuando hay inhibición competitiva, el cobre tiende a desplazar a otros iones metálicos de las metalotioneínas y cuando éstas se encuentran en altas concentraciones, inducidas por factores dietéticos tales como el cinc (también el cadmio, el mercurio y la plata) establecen el antagonismo de absorción del cobre por alta ingesta de cinc, pudiendo retardarse su absorción intestinal.^{1,36}

1.3.2.4. Ingreso del cobre a la célula intestinal.

Actualmente se sabe que esta absorción intestinal de cobre corre a cargo de un transportador activo que lo reduce a Cu^{++} y lo introduce a la célula intestinal. A este nivel es captado por la metalotioneína donde queda almacenado para más tarde ser enviado a la sangre por la circulación de la vena porta. En este proceso interfiere el cinc, que estimula la síntesis de metalotioneína, y secundariamente, reduce su paso posterior a la sangre.⁶⁰

1.3.2.5. Transporte del cobre.

El cobre almacenado en la célula intestinal posteriormente es trasladado por la sangre-portal hasta el hígado (órgano que constituye el sitio principal del metabolismo del cobre y de su homeostasis) por medio de la proteína de Menkes.⁶⁰ Una vez dentro de la célula intestinal, el cobre pasa hacia el torrente circulatorio por difusión pasiva, proceso regulado por la metalotioneína, propiedad que le permite unirse al cobre, regulando de esta manera la cantidad

que puede difundir hacia el plasma.¹ Actualmente, se reduce el porcentaje del transporte plasmático de la albúmina y de los aminoácidos. El hígado es el órgano que almacena el cobre en sus células y representa el sitio principal del metabolismo del metal, donde se incorpora a la molécula de aglobulina, formando así la ceruloplasmina, solo en el momento de su síntesis, cuya producción es exclusivamente a nivel hepático, y bajo esta forma firme de unión es como el cobre es transportado por el cuerpo hasta los diferentes órganos, suministrando cobre a los tejidos extrahepáticos y no intercambia su cobre con los otros complejos cúpricos del suero o de los eritrocitos, constituyendo el 93% de la reserva plasmática del metal.^{1,63}

1.3.2.6. Distribución del cobre a la célula.

La entrada de cobre en la célula hepática (hepatocito) también requiere de un transportador activo. Una vez dentro de las células, a nivel citoplasmático el cobre es "secuestrado" por proteínas denominadas "chaperonas del cobre", un amplio grupo de proteínas involucradas en procesos de asistencia en el plegamiento de otras proteínas, las que entregan el metal a enzimas específicas, enviando el cobre a tres lugares que requieren de su presencia: a) Super-óxido-dismutasa (SOD) citoplasmática, b) Citocromo-C-oxidasa mitocondrial y c) Proteína de Wilson, aunque de función no bien conocida, se piensa que actúa a dos niveles: 1° es requerida para que dicho metal pueda unirse a la ceruloplasmina (aparato de Golgi), y a su vez, ésta pueda pasar a la sangre donde ejercerá sus funciones de transporte plasmático de cobre y oxidación del hierro almacenado en tejidos, y 2° para la eliminación del cobre por vía biliar.⁶⁰

Las proteínas transportadoras de Menkes y de Wilson son reguladoras de la entrada del cobre a los diversos tejidos; siendo la proteína de Wilson fundamental para regular la salida hepática del cobre.⁶⁴

1.3.2.7. Factores que modifican la absorción del cobre.

La inhibición de la absorción del cobre se relaciona con la interacción con el cinc y con otros elementos traza como el hierro y el molibdeno, con metales pesados tales como el cadmio y el mercurio y con los fitatos, debido a que elevadas cantidades de estos elementos compiten con el cobre y reducen en forma significativa la actividad de importantes cuproenzimas como; la superóxido dismutasa y la citocromo-C-oxidasa, provocando además una excreción fecal elevada del metal. El ácido ascórbico (vitamina C) en valores de 605 a 1500 mg/día, afecta la actividad de oxidasa de la ceruloplasmina, una proteína con actividad antioxidante.^{61,62}

1.3.2.8. Excreción del cobre.

El cobre se excreta por el tracto gastrointestinal, siendo la bilis la vía más importante de eliminación, que lo excreta en las heces. Las pérdidas fecales de cobre representan, la cantidad del metal ingerido con la dieta y no reabsorbido, más las pequeñas fracciones eliminadas por otras vías como: saliva, jugos gástricos e intestinales orna, sudor y flujo menstrual; aporte de las arterias no se han descritos otras formas de eliminación.⁶²

El cobre parece estar regulado por los mecanismos homeostáticos, que son poco comprendidos. Lo que esta claro es que cuando la ingesta y absorción del cobre es alta, éste es excretado en mayor cantidad, y cuando la ingesta es baja, se conserva, manteniendo de esta forma un pool de cobre apropiado y estable.⁶²

El envejecimiento puede disminuir lo eficiencia del mecanismo de homeostasis y puede resultar en concentraciones plasmáticas más altas en los pacie-ntes ancianos.^{62,65} (ver Figura 1.4.)

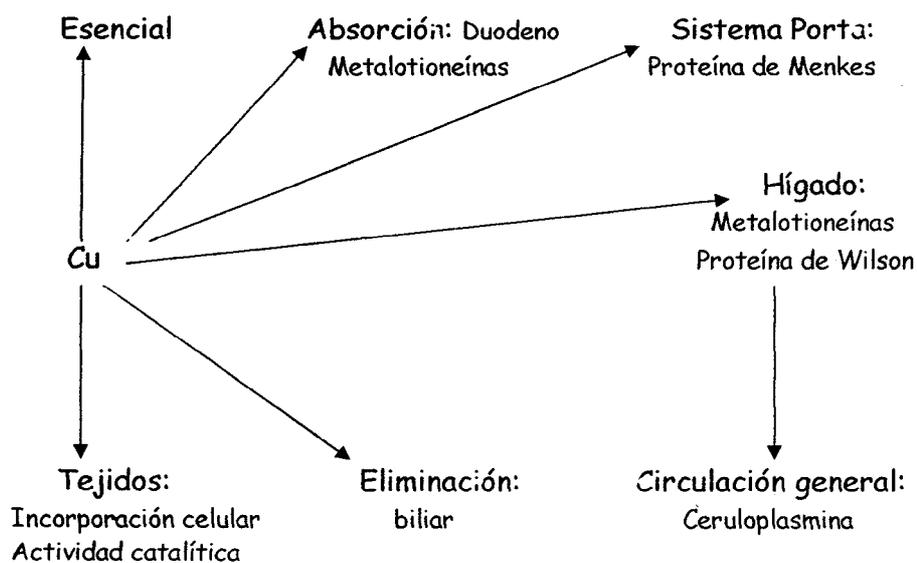


Figura 1.4. Esquema de la cinética del cobre en el ser humano.

1.3.2.9. Enzimas que contienen cobre.

Se designa con el nombre de enzimas de cobre o cuproenzimas, a aquellas enzimas en cuya estructura química participa el cobre, (ver Tabla 1.4.) La ceruloplasmina es una α_2 - glucoproteína que contienen 6 átomos de cobre por molécula, y representa el 90- 95% del valor del cobre plasmático total. Es además una proteína reactante en fase agudo, producida por el hígado y aumenta por hormonas tales como los estrógenos. La Interleucina 1 (factor activador de linfocitos) probablemente puede estimular la síntesis de ceruloplasmina.^{62,66}

1.3.2.10. Funciones del cobre.

El cobre es un elemento traza esencial que participa en diversos procesos fisiológicos y metabólicos como son:

1. El desarrollo y el mantenimiento de la integridad esquelética y cardiovascular, a través de la formación de la elastina aórtica y del colágeno.⁶⁷



2. El mantenimiento de la estructura y función del sistema nervioso central, por su participación en la formación de la mielina. Los cobayos carentes en cobre muestran un marcado subdesarrollo de la mielina de todo el cerebro.⁶⁷

3. El mantenimiento de la función eritropoyética, incluyendo el metabolismo del hierro y la formación de la hemoglobina. El cobre es necesario para prevenir la aparición de un síndrome anémico.^{66,68,69}

4. Interviene en el metabolismo energético, por ser un constituyente de la enzima citocromo-C-oxidasa mitocondrial.³⁶

5. Participa en la conversión de la tirosina en melanina un pigmento de color negro, responsable del oscurecimiento de la piel de los animales superiores por ser parte integrante de la enzima tirosinasa.³⁶

6. Con la reproducción de las especies y con la síntesis de las hormonas de la corteza suprarrenal. La carencia de cobre interfiere con el paso metabólico que representa el primer eslabón en la síntesis de los corticoides suprarrenales.¹

7. Interviene en la biosíntesis de las catecolaminas y por tanto en la función de la médula suprarrenal, a través de la actividad de la dopamina-β-hidroxilasa, una cuproenzima que cataliza la conversión de la dopamina para formar noradrenalina. De esta manera, el cobre está indirectamente en los mecanismos de adaptación de estrés.¹

8. El cobre modula la actividad de los neutrófilos, posee acción bactericida, efectos antiinflamatorios y desempeña un cierto papel en el proceso de inflamación.¹

1.3.2.11. Carencia de cobre.

La deficiencia se nota por una disminución de los niveles séricos del cobre y de la ceruloplasmina, y de la incapacidad para absorber hierro, lo que conduce a una anemia microcítica e hipocrómica (disminución de los valores normales y del tamaño normal de los glóbulos rojos; así como también de su contenido de hemoglobina) seguida de neutropenia (disminución de los valores de los

glóbulos blancos del tipo neutrófilo) y leucopenia (disminución del valor normal del total de los glóbulos blancos), que son los mejores y tempranos indicadores de la deficiencia de cobre en los niños, y junto a las alteraciones óseas son los únicos signos de deficiencia de cobre en los adultos. También se observan hemorragias subperiósticas, despigmentación del cabello y de la piel, formación defectuosa de elastina y desmineralización ósea. Las alteraciones de la eritropoyesis así como la degeneración cerebral y cerebral finalmente conducen a la muerte. El cobre se almacena en el hígado, por lo tanto, la deficiencia se presenta lentamente. La disminución del cobre sérico, de la ceruloplasmina y de la superóxido dismutasa proporcionan evidencias que apoyan el diagnóstico de deficiencia de cobre.^{18,62} (ver Tabla 1.5.)

1.3.2.12. Toxicidad del cobre.

La toxicidad por cobre no es común en el hombre. La ingestión de más de 15 mg de cobre elemental suele producir náuseas, vómitos, diarrea y cólicos intestinales.⁶ Si el depósito de cobre en el hígado se vuelve excesivo se puede presentar cirrosis. La acumulación de cobre en el riñón puede originar daño de los tubos renales, que conduce a una excreción urinaria aumentada de aminoácidos y péptidos y, ocasionalmente, también glucosa.^{70,71} La bilis contiene cantidades sustanciales de cobre; por lo tanto, la retención de cobre es una posibilidad en cualquier forma de hepatopatía crónica que interfiere con la excreción de la bilis. La cirrosis biliar primaria así como la obstrucción mecánica de los conductos biliares provoca una elevación progresiva del cobre hepático.^{18,70}



www.bdigital.ula.ve

La enfermedad de Wilson o degeneración hepatolenticular es una alteración congénita del metabolismo del cobre, por disminución del ritmo de incorporación del metal a la ceruloplasmina, con excreción biliar muy reducida, produciendo acumulación progresiva de cobre en el hígado, presentándose los primeros síntomas a los ocho años de edad como una hepatitis aguda, con ictericia, vómitos, cansancio y pérdida del apetito. Cuando el cuadro clínico se agrava hay graves trastornos de la coagulación, insuficiencia renal y encefalopatía que los lleva a la muerte. Durante esos episodios se produce destrucción de glóbulos rojos (hemolisis) por liberación del cobre a la circulación. Puede confundirse con una cirrosis hepática con un curso lentamente progresivo. Cuando el hígado se satura de cobre, el metal se deposita en el tejido nervioso, cornea y riñones, comenzando así graves alteraciones neurológicas. Otra forma de comienzo menos frecuente es con la presentación de signos psiquiátricos, que combina elementos de demencia, ideas paranoides, cuadros ciclotímicos, esquizofrénicos y maniaco-depresivos.⁷² Se produce por la mutación del gen que codifica la proteína de la enfermedad de Wilson, que se localiza en el cromosoma 14 (gen ATP-7B). Dicha proteína de Wilson se expresa en el hígado, los riñones, la placenta y el cerebro, y su disfunción produce alteraciones metabólicas.⁷⁰

1.3.3. El hierro (Fe).

Fue el primer micronutriente esencial que se reconoció para los animales en 1860.⁹ Su esencialidad para la vida está dada en que participa prácticamente en todos los procesos de oxidación-reducción.⁷³

1.3.3.1. Contenido y distribución corporal del hierro.

El hierro es un componente integral de las proteínas de transporte de oxígeno para la respiración de los tejidos, como la hemoglobina y la mioglobina, así como también, está presente en numerosas enzimas involucradas en el mantenimiento de la integridad celular, tales como las catalasas, peroxidasas y

oxigenasas, lo podemos hallar formando parte esencial de las enzimas del ciclo de Krebs, en la respiración celular y como transportador de electrones en los citocromos.⁷³ En estos compuestos el hierro se incorpora a una porfirina para formar el heme. Existe también cierta cantidad de hierro en forma de ferritina y hemosiderina, complejos proteínicos de almacenamiento del hierro que existen sobre todo en hígado, bazo y médula ósea. La cantidad de hierro en el cuerpo varía según el tamaño y el sexo, siendo para un adulto de 70 kg de aproximadamente 4 g; de esta cantidad, el 75% se encuentra en los eritrocitos en forma de hemoglobina, el 5% como mioglobina, menos de 0.5% en forma de enzimas que contienen heme y menos de 0,1% en la circulación unido a una betaglobulina específica que se llama transferrina. La ferritina y la hemosiderina juntas constituyen cerca del 20% del hierro total corporal.^{55,74,75} (ver Figura 1.5). El hierro se conserva bien en el cuerpo; aproximadamente el 90% se recupera y reutiliza.⁷⁵

1.3.3.2. Ingreso del hierro al organismo y fuentes dietéticas.

www.bdigital.ula.ve

La ingesta dietética recomendada (IDR) proporciona las mejores estimaciones sobre las necesidades nutricionales de los diferentes grupos de la población. Dallman,⁷⁶ señala que los niños pequeños tienen ingestas extremadamente bajas de cinc, hierro, otros micronutrientes y algunas vitaminas tanto en sus hogares como en centros de cuidado infantil, dados por los cambios dietéticos y la influencia económica en estos lugares; siendo la deficiencia de hierro de mayor impacto por los efectos irreversibles a nivel del desarrollo en general y en particular del cerebro, al no haber una adecuada mineralización del sistema nervioso central.

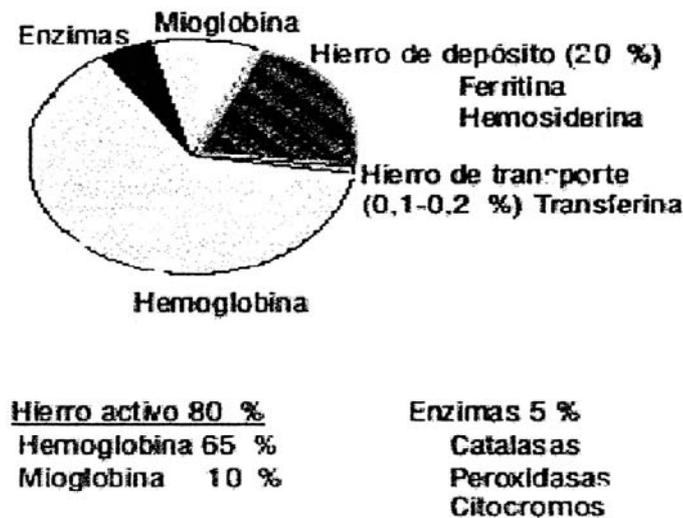


Figura 1.5. Distribución del hierro en el organismo.

En la actualidad se considera que el hierro es obtenido a partir de la dieta diaria.³⁶ El hierro dietético de los alimentos ingresa al organismo bajo dos formas diferentes; hierro hemático (heme) y no hemático (no heme). El hierro hemático sólo existe en los tejidos animales, mientras que en los alimentos vegetales el hierro está presente en forma no hemática aproximadamente en un 80%.⁷⁷

Las mejores fuentes de hierro son las vísceras animales: hígado, corazón, riñón y bazo. Otras buenas fuentes son la yema de los huevos, el trigo integral, el pescado, los ostiones, las almejas, las nueces, los dátiles, los higos, los frijoles, los espárragos, las espinacas, las melazas y la avena.^{1,78}

Según el Instituto Nacional de Nutrición (I.N.N.)¹⁹ el valor de referencia para el requerimiento de hierro es de 14 mg/día.

1.3.3.3. Absorción del hierro.

El hierro se absorbe en la mucosa intestinal.⁷⁴ La absorción del hierro es extremadamente lenta, con una intensidad máxima de solo unos pocos miligramos al día, esto significa que cuando hay cantidades muy grandes de hierro en los alimentos, sólo se pueden absorber porciones pequeñas del mismo. La absorción- depende en primer lugar del tipo de compuesto de hierro presente en la dieta (hemático y no hemático), también del estado de los depósitos corporales del mineral, de las necesidades orgánicas, de la actividad eritropoyética y de una serie de factores lumbinales e intralumbinales que interfieren o faciliten su absorción. El hierro no heme se absorbe más rápido en el estado ferroso (Fe^{2+}), pero la mayor parte del hierro dietético está en forma férrica (Fe^{3+}). En el estómago se absorben solo trazas del hierro, pero el ácido clorhídrico lo disuelve y permite la formación de complejos solubles con el ácido ascórbico y otras sustancias (ciertos aminoácidos y azúcares) que ayudan en su reducción al estado ferroso (Fe^{2+}). Se desconoce el mecanismo preciso por el cual el hierro no heme se absorbe.^{74,79}

Varios autores sostienen que la absorción del hierro se inhibe por el fosfato, el fitato y los antiácidos, incluso la tonina del té y el ácido ascórbico a dosis orales hasta de 1 g. Ciertos aminoácidos y azúcares pueden formar quelatos de hierro de bajo peso molecular y aumentar la absorción del mineral en forma lineal.⁸⁰⁻⁸⁶ Las cifras que aparecen en la Tabla 1.6 permiten calcular el hierro absorbido.

1.3.3.4. Ingreso del hierro a la célula intestinal.

El hierro heme (en forma ferrosa Fe, única forma química soluble capaz de atravesar la membrana de la mucosa intestinal) se absorbe hacia las células de la mucosa intestinal en forma de un complejo intacto de porfirina. La membrana de la mucosa intestinal tiene la facilidad de atrapar el hierro no heme y permitir su paso al interior de la célula, debido a la existencia de un receptor específico para la transferrina en la membrana del bordé, en cepillo, que regula la cantidad de hierro de acuerdo con sus necesidades; ésta

Tabla 1.6. Disponibilidad del hierro alimentario.³⁶

	Porcentaje de absorción del hierro	
	Hierro no heme	Hierro heme
Comida de poca disponibilidad < 30 g de carne, pescado o ave < 25 mg de ácido ascórbico	3	23
Comida de disponibilidad media 30-90 g de carne, ave o pescado o 25-75 mg de ácido ascórbico	5	23
Comida de alta disponibilidad > 90 g de carne, ave o pescado o > 75 mg de ácido ascórbico 30-90 g de carne, ave o pescado Además de 25-75 mg de ácido ascórbico	8	23

transferrina de la mucosa, que se excreta en la bilis, actúa como una proteína transportadora que facilita la absorción del hierro. La apotransferrina del citosol (proteína sin hierro) contribuye a aumentar la velocidad y eficiencia de la absorción del hierro.⁸⁷ En el interior del citosol, la ceruloplasmina (endoxidasa I) oxida el hierro ferroso a férrico para que sea captado por la apotransferrina que se transforma en transferrina.⁸⁰ El hierro que excede la capacidad de transporte intracelular es depositado como ferritina, de la cual una parte puede ser posteriormente liberada a la circulación.⁷³

1.3.3.5. Transporte del hierro.

El hierro es transportado por la transferrina que es una glucoproteína de aproximadamente 80 kDa de peso molecular, sintetizada en el hígado, que

posee 2 dominios homólogos de unión para el hierro férrico (Fe^{3+}).⁸⁸ Esta proteína toma el hierro liberado por los macrófagos producto de la destrucción de los glóbulos rojos o el procedente de la mucosa intestinal, se ocupa de transportarlo y hacerlo disponible a todos los tejidos que lo requieran,⁸⁹ donde se une al receptor de transferrina, libera el hierro hacia dentro de la célula y regresa a la luz por más hierro.^{73,80}

El número de receptores de transferrina en una membrana celular puede ajustarse a las necesidades de la célula individual. Si se necesita hierro, la transferrina se mantiene saturada y se absorbe menos a partir de las células mucosas del epitelio intestinal; la transferrina restante en las células se degrada con las células al final de su vida de dos a tres días. Si se requiere hierro, la transferrina se satura menos cuando llega a las células de la mucosa intestinal, y pasa más hierro desde la célula mucosa hacia la transferrina.^{73,80,89,90} Se le denomina apotransferrina a (a proteína que no contiene hierro, transferrina monoférrica cuando contiene un átomo de hierro y diférrica cuando contiene 2 átomos. Cuando todos los sitios de transporte están ocupados se habla de transferrina saturada y se corresponde con alrededor de 1,41 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de transferrina.⁹⁰ En condiciones fisiológicas, la concentración de transferrina excede la capacidad de unión necesaria, por lo que alrededor de dos tercios de los sitios de unión están desocupados.⁸⁹ En el caso de que toda la transferrina esté saturada, el hierro que se absorbe no es fijado y se deposita en el hígado. La vida media normal de la molécula de transferrina es de 8 a 10 días, aunque el hierro que transporta tiene un ciclo más rápido, con un recambio de 60 a 90 minutos como promedio.⁹¹ Del total de hierro transportado por la transferrina, entre el 70 y el 90 % es captado por las células eritropoyéticas para la síntesis de hemoglobina y el resto es captado por los tejidos para la síntesis de citocromos mioglobina, peroxidasas y otras enzimas y proteínas que lo requieren como cofactor.⁹²

1.3.3.6. Factores que modifican la absorción del hierro.

Las células del epitelio intestinal (enterocito) desempeñan un papel central en la regulación de la absorción de hierro, debido a que los niveles intracelulares adquiridos durante su formación determinan la cantidad del mineral que entra a la célula.⁹³ El hierro del enterocito ingresa a la circulación de acuerdo con las necesidades corporales y el resto permanece en el interior hasta su descamación.^{89,94} La absorción del hierro puede ser afectada por una serie de factores intraluminales como la quilia gástrica, la rapidez del tránsito intestinal y los síndromes de malabsorción.⁷³

La forma química del hierro puede favorecer o inhibir la absorción, así tenemos que el hierro heme proveniente de las carnes y de los pescados es más fácil de absorber que el hierro inorgánico de los vegetales. Además de estos factores, existen sustancias que pueden favorecer o inhibir la absorción.^{94,95}

La absorción de hierro es favorecida por:

- Agentes reductores, especialmente el ácido ascórbico (vitamina C).^{94,95}
- Secreciones gástricas que incluyen el factor intrínseco.^{18,84}

La absorción de hierro es inhibida por:

- Ingesta crónica de sustancias alcalinas, fosfatos, oxalatos, fitatos y toninos (té y café).⁹⁶
- Los fitatos (hexafosfatos de inositol) contenidos en la fibra del arroz, trigo y maíz y la lignina de las paredes de las células vegetales, porque forman quelatos insolubles.⁹⁷
- El aumento de la motilidad intestinal, la esteatorrea (diarrea con alto contenido de grasas).⁸⁴
- Disminución de ácido clorhídrico en el estómago.^{18,84}

1.3.3.7. Excreción del hierro.

El hierro se elimina del cuerpo en, cantidades muy pequeñas que se excretan por las heces, por el sudor, y por la exfoliación normal del cabello y de la piel. La mayor parte del hierro que se pierde en las heces consta del hierro que no se absorbe de los alimentos ingeridos. El restante proviene de la bilis y de las células exfoliadas a partir del epitelio gastrointestinal. Casi no se excreta hierro por la orina.⁸⁹ Las cantidades de hierro di. la dieta que se pierden equivalen a 1 mg en el varón adulto y un poco menos en la mujer que no menstrua. La pérdida de hierro que acompaña a la menstruación promedia cerca de 0.5 mg/día. Sin embargo, existen amplias variaciones entre los individuos y se informaron de pérdidas menstruales de más de 1,4 mg/día de hierro en cerca del 5% de las mujeres normales.^{89,97,98}

1.3.3.8. Enzimas que contienen hierro.

El hierro es un elemento esencial para la vida, puesto que participa prácticamente en todos los procesos de oxidación-reducción. Lo podemos hallar formando parte esencial de las enzimas del ciclo de Krebs, en la respiración celular y como transportador de electrones en los citocromos. El ión hierro no hem se encuentra en la NADH deshidrogenasa y en la succinato deshidrogenasa de la cadena respiratoria. Está presente en numerosas enzimas involucradas en el mantenimiento de la integridad celular, tales como las catalasas, peroxidasas y oxigenasas.^{73,99}

Su elevado potencial redox, junto a su facilidad para promover la formación de compuestos tóxicos altamente reactivos, determina que el metabolismo de hierro sea controlado por un potente sistema regulador.^{73,100}

1.3.3.9. Funciones del hierro.

Las funciones del hierro resultan de sus propiedades físicas y químicas, principalmente su capacidad para participar en las reacciones de oxidación y reducción. Desde un punto de vista químico, el hierro es un elemento muy

reactivo que puede interactuar con el oxígeno para formar intermediarios capaces de dañar las membranas celulares o degradar el ADN.⁹

El hierro participa en el transporte respiratorio de oxígeno y de dióxido de carbono y es parte activa de enzimas que actúan en el proceso de la respiración celular. Los citocromos presentes en las células, actúan en la cadena respiratoria en la transferencia de electrones, alternando la oxidación y la reducción del hierro. La hemoglobina presente en los eritrocitos (glóbulos rojos) se combina con el oxígeno en los pulmones y con el dióxido de carbono en los tejidos. La mioglobina, también una proteína heme, sirve como un reservorio de oxígeno dentro del músculo.^{18,101} La Tabla 1.7. Muestra los compuestos conocidos de hierro en el cuerpo y sus funciones.

Dos proteínas que se unen al hierro, la transferrina y la lactoferrina, parecen proteger contra infecciones al evitar que el hierro sea captado por los microorganismos que lo necesitan para su proliferación.¹⁰²

El hierro es crítico para la función cerebral normal en todas las edades, este participa en la función y síntesis de neurotransmisores y quizás de mielina.¹⁰³

Los efectos a largo plazo de la anemia por deficiencia de hierro temprana en niños persisten por dos años.^{104,105} Se han encontrado diferencias entre la conducta escolar, la competencia sensorio-motriz, la atención, el aprendizaje y la memoria de niños anémicos y de sujetos control.¹⁰⁶ El suplemento de hierro en niños con anemia por deficiencia de hierro aporta

Tabla 1.7. Compuestos de hierro y funciones en el cuerpo humano

Proteínas metabólicas.

Hemoglobina	Proteínas Transporte de oxígeno Pulmones a los tejidos
Mioglobina	Transporta y almacena oxígeno en el músculo Enzimas heme
Citocromos	Transporte de electrones
Citocromo P-450	Degradación oxidativa de fármacos
Catalasa	Convierte el peróxido de hidrógeno para el oxígeno y el agua. Enzimas no heme.
Hierro- azufre y metaloproteínas	Metabolismo oxidativo
Pirrolasas de triptófano	Enzimas dependientes de hierro Oxidación del triptófano

Transporte y almacenamiento de proteínas

Transferrina	Transporte de hierro y otros minerales
Ferritina	Almacenamiento
Hemosiderina	Almacenamiento

beneficios en los procesos de aprendizaje según se mide por el logro de las puntuaciones en los exámenes escolares.¹⁰⁷

Ocurren cambios en el metabolismo del hierro en ciertos estados mórbidos, como la enfermedad de Alzheimer. La distribución del hierro en el cerebro cambia durante el envejecimiento normal.¹⁰⁸

1.3.3.10. Carencia de hierro.

La deficiencia de hierro es la deficiencia nutricional más frecuente, así como la causa más frecuente de anemia en los niños y mujeres durante los años reproductivos en Estados Unidos y a nivel mundial. Los grupos que se consideran en mayor riesgo son lactantes menores de 2 años de edad, niñas adolescentes, embarazadas y los ancianos. Las adolescentes embarazadas con frecuencia se sitúan en un riesgo muy elevado.⁸¹ La etapa final de deficiencia de hierro se manifiesta por anemia microcítica e hipocrómica, que se corrige al proporcionar suplementos en la forma de su sulfato ferroso o gluconato ferroso. Asimismo, es indispensable orientar a los individuos con respecto a una dieta adecuada para evitar una futura deficiencia.¹⁰⁹ Esta deficiencia puede originarse por lesiones, hemorragias o enfermedades (por ejemplo, pérdidas sanguíneas debidas a parasitosis intestinal o enfermedades gastrointestinales que interfieren con la absorción del hierro). La deficiencia también puede agravarse por una dieta mal balanceada que contenga hierro, proteínas, folatos y vitaminas B₂, B₃ y C en cantidades insuficientes. Es factible que se presente una anemia nutricional pura como resultado de una dieta inadecuada o una absorción fallida de hierro.^{110,111}

1.3.3.11. Toxicidad del hierro.

En la dieta normal suele haber de 10-20 mg de hierro, de los cuales solo se absorbe un 10%. Los preparados comerciales de hierro son sales (sulfato, fumarato, gluconato, etc.) que contienen entre un 12% (gluconato) y 33% (fumarato) de hierro metal. La ingestión de una cantidad de hierro, inferior a 20 mg/kg de peso corporal no suele hacer ningún efecto tóxico. Una dosis entre los 20 y 60 mg/kg de peso corporal, produce toxicidad gastrointestinal. Más de 60 mg/kg producen toxicidad sistémica y entre 200 y 300 mg/kg la dosis es letal. La mayoría de estas intoxicaciones es accidental.¹¹²

No existe un mecanismo efectivo para eliminar el exceso de hierro, ya que sólo

se elimina 1 mg/día por las heces (células epiteliales descamadas). Por tanto, una absorción de más de 2 mg/día de hierro lleva a una acumulación en las vísceras.^{112,113}

Al producirse shock y acidosis metabólica, puede presentarse afectación de cualquier órgano, pero especialmente de los riñones, corazón, pulmones ó páncreas, y si la toxicidad del hierro es suficientemente intensa la persona puede fallecer.^{112,113}

El cuadro clínico de la toxicidad aguda por hierro se desarrolla en la siguiente forma:

1. Primer estadio: (primeras 6 horas post-ingesta)

-Síntomas corrosivos sobre la mucosa intestinal, como son, dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarrea que pueden ser sanguinolentos e incluso con restos de tejido necróticos.¹¹²⁻¹¹⁴

- En los casos de intoxicación masiva puede aparecer shock y acidosis severa y el enfermo puede fallecer en pocas horas. Se han comunicado algunos casos de intoxicación letal con mínimos síntomas gastrointestinales.¹¹²⁻¹¹⁴

2. Segundo estadio: (6-12 horas)

- Sí se han corregido los trastornos de la fase inicial, el paciente aparece falsamente estable, con un cuadro clínico solapado.¹¹²⁻¹¹⁴

3. Tercer estadio: (empieza entre 12 y 48 horas post-ingesta)

-Tracto gastrointestinal: desprendimiento de las úlceras necróticas gastrointestinales, hematemesis, melena, perforación.¹¹²⁻¹¹⁴

-Sistema nervioso central: letargia, convulsiones, coma.¹¹²⁻¹¹⁴

- Cardiovascular; shock hipovolémico, edema pulmonar, cianosis.¹¹²⁻¹¹⁴
- Hepatorrenal: insuficiencia hepatorrenal, trastornos de la coagulación.¹¹²⁻¹¹⁴
- Metabolismo: acidosis metabólica severa, fiebre, hipoglicemia.¹¹²⁻¹¹⁴

4. Cuarto estadio: (A partir de la 2ª semana)

- Cicatrización de las lesiones.¹¹²⁻¹¹⁴
- Estenosis pilórica generalmente.¹¹²⁻¹¹⁴
- Infarto gangrenoso del tracto gastrointestinal.¹¹²⁻¹¹⁴
- Cirrosis hepática.¹¹²⁻¹¹⁴

1.3.4. El magnesio (Mg).

El magnesio es un elemento químico de estructura similar al calcio, estroncio, bario, etc. Es un catión divalente con peso molecular de 24,3 (magnesio elemento). Se encuentra presente en el reino mineral, vegetal y animal. Representa el 0,05 % del peso corporal total y es el cuarto catión más abundante del organismo. Es considerado un macroelemento esencial, y el segundo en importancia a nivel intracelular, luego del potasio, encontrándose principalmente en las mitocondrias, que son los centros de energía de las células.¹¹⁵

El magnesio está involucrado en la activación de por lo menos 300 diferentes enzimas y otros agentes químicos corporales, con una participación fundamental en el equilibrio ácido-base y en los fenómenos de oxidación-reducción.¹¹⁵

1.3.4.1. Contenido y distribución corporal del magnesio.

El cuerpo humano adulto contiene aproximadamente 20 a 28 g de magnesio, de los cuales cerca del 60% está en el hueso, el 29% se encuentra en el músculo, y el resto es distribuido a través de los tejidos blandos y líquidos

corporales (el 1% se localiza en el espacio extracelular y hay una gran concentración en el jugo gástrico).¹¹⁶ Sin embargo, Kinast¹¹⁷ sostiene que la reserva global orgánica es de 35 g de los cuales 17,5 g están en el tejido óseo, pero es el hígado, el órgano del cuerpo humano que contiene mayor cantidad de magnesio. El magnesio contenido de los huesos es tanto intercambiable como no intercambiable. Este último es parte de la red cristalina y se deposita al momento de la formación ósea.¹¹⁸ Se mantienen las concentraciones de magnesio sérico dentro de límites relativamente estrechos y son esencialmente los mismo para los recién nacidos, los infantes (lactantes), los niños preescolares y escolares, los Jóvenes y adultos. Los niveles séricos normales están por el rango de 1,5 a 2,1 mEq/L (0,75 a 1,1 mmol/L). Cerca de la mitad del magnesio en el plasma esta libre; aproximadamente una tercera parte se une a la albúmina y el restante forma complejos con citrato, fosfato y otros iones.¹¹⁵ En el compartimiento intracelular el magnesio puede estar en solución, en equilibrio con los niveles plasmáticos de dicho catión, o formando parte de componentes orgánicos.^{119,120}

www.bdigital.ula.ve

1.3.4.2. Ingreso del magnesio al organismo y fuentes dietéticas.

El magnesio es abundante en los alimentos y la dieta ordinaria proporciona cantidades adecuados. Se encuentra en dátiles, remolacha, espinacas, trigo, avena, patata, zanahoria, almendras, nueces, avellanos, maíz, cebada, castañas, judía verde, arroz, cerezas, naranjo, pera, melocotón, albaricoque y polen.¹¹⁵ Buenas fuentes son las semillas, las nueces, los leguminosas, los granos de cereales no molidos, así como las verduras verdes oscuras, en las cuales es un constituyente esencial de la clorofila. Entre los alimentos con pobres cantidades de magnesio tenemos el pescado, la carne, la leche, la mayoría de las frutas comestibles, las dietas ricas en alimento¹ refinados, la carne y los productos lácteos; yo que el mineral se pierde durante la refinación y procesamiento de los alimentos como la harina, el arroz, el azúcar, y no se agrega durante el enriquecimiento.^{18,120,122}

Según el Instituto Nacional de Nutrición (I.N.N.)¹⁹ el valor de referencia para el requerimiento de magnesio es de 320 mg/día.

1.3.4.3. Absorción del magnesio.

Mahan y col.¹⁸ sostienen que usualmente, se absorbe cerca del 40-50% del magnesio que ingerimos, aunque esto puede variar de 25-75%, dependiendo de la acidez gástrica, las necesidades corporales y los hábitos dietéticos, sin embargo, para otro autor, la ingesta total de magnesio tiene una absorción intestinal de 34 a 62% en los adultos, y de 50 a 80% en los neonatos pretérmino.¹¹⁶ El 90% del magnesio ingerido se absorbe a lo largo de todo el intestino delgado y el 10% restante en el estómago e intestino grueso, pero principalmente la absorción ocurre en el yeyuno.^{115,123} La eficacia de la absorción varía con el estado corporal del magnesio, la cantidad de magnesio en la dieta, y la composición de la dieta en su conjunto.^{115,123} El ion magnesio se absorbe en presencia de la piridoxina (Vitamina B6).¹¹⁷

El contenido total del magnesio está regulado por su absorción intestinal y por su manejo renal; a nivel tubular renal, se describen dos componentes: reabsorción y secreción. El 25 % es reabsorbido en el túbulo proximal y el 50-60 % en el asa de Henle.¹²⁴

Los factores que inhiben la absorción del magnesio son: el fosfato, el calcio, los álcalis y el exceso de grasa. La hormona paratiroidea incrementa la absorción de magnesio por el intestino.¹¹⁵

1.3.4.4. Ingreso del magnesio a la célula intestinal.

Actualmente se admite la existencia de dos sistemas de transporte intestinal para el magnesio, uno mediado por un transportador y el otro por difusión simple que se da a altas concentraciones.

Una deficiencia en vitamina B1 y B6 produce un descenso del transporte intestinal del catión. Otro factor muy importante es el equilibrio ácido base, ya que en los casos de acidosis la absorción de magnesio aumenta.¹²⁵

1.3.4.5. Transporte del magnesio.

Casi la mitad del magnesio en sangre esta en forma ionizada libre constituyendo una fracción difusible, y el resto está unido a complejos con proteínas, citrato y fosfato. Una vez absorbido, el magnesio es transportado a los distintos órganos, siendo en el tejido óseo donde se encuentra en mayor proporción. No se ha identificado ningún sistema homeostático de la regulación del magnesio-sérico, pero la concentración es bastante constante, y depende de lo absorción, la excreción y el flujo transmembranoso de cationes en lugar de la regulación hormonal.¹²⁶

1.3.4.6. Distribución del magnesio en la célula.

Ha sido llamado "el bloqueador natural de los canales de calcio". Este concepto se refiere a su propiedad para bloquear la entrada del calcio a las células musculares y cardíacas. Una vez en las células, el magnesio se une principalmente a proteínas y fosfatos ricos en energía.¹²⁷

1.3.4.7. Factores que modifican la absorción del magnesio.

Dificultan la absorción del magnesio; los excesos de lácteos, el calcio, los fosfatos, los álcalis, los diuréticos, los estrógenos, los antibióticos, el tabaco, el flúor, el cortisol, el ácido oxálico y las infecciones intestinales o renales.¹¹⁹ Por el contrario, la vitamina D, presente en los aceites de pescado, yema de huevo, mantequilla e hígado, favorece la absorción del magnesio. Por este motivo se debe tener especial precaución antes de suprimir estos nutrientes de la dieta diaria. Para que el magnesio penetre en las células es indispensable que exista piridoxina (vitamina B6).^{119,128}

La ingesta elevado de calcio, proteínas y alcohol aumentan los requerimientos de magnesio.¹²⁹

1.3.4.8. Excreción del magnesio.

La mayor parte del magnesio que se absorbe se excreta por el tracto gastrointestinal (el magnesio fecal representa en gran medida la fracción no absorbida), al cual contribuyen las vías de eliminación biliar y pancreática. La excreción por la orina es relativamente baja ya que los riñones conservan eficientemente el magnesio, en particular cuando la ingesta es baja (en condiciones normales, entre 60 y 120 mg de magnesio se excretar por día con la orina),¹¹⁵ siendo los riñones los órganos principales que regulan su concentración sérica, modificando su excreción o reabsorción a nivel del Asa de Henle. Para satisfacer las mayores necesidades durante la lactancia, las mujeres tienden a reducir la excreción urinaria de este mineral.¹³⁰

La excreción normal de magnesio está regulada por: las glándulas suprarrenales, las paratiroides, la hipófisis y el equilibrio ácido base. Los corticoides suprarrenales, la aldosterona, la acidosis, y la hiperfunción de las glándulas paratiroides facilitan la excreción tubular distal del magnesio.¹¹⁵

1.3.4.9. Enzimas que son activadas por el magnesio.

El magnesio actúa como activador de numerosas enzimas, siendo las principales,^{115,131}

- * Fosfatasa ácida y alcalina
- * Peptidasa
- * Descarboxilasas
- * Pirofosfotatas.
- * Diversos enzimas glucolíticas
- * Hexoquinasa

- * Fructoquinasa
- * Fosforilasos
- * Fosfoglucomutasa
- * Cofactor esencial para activar la ATPasa de membrana.

1.3.4.10. Funciones del magnesio.

- * La más importante es estabilizar la estructura del ATP en las reacciones enzimáticas dependientes de ATP.^{18,115,132}
- * Cofactor de más de 300 enzimas que participan en el metabolismo de los componentes de los alimentos y en la síntesis de muchos productos.^{18,115}
- * En la síntesis de ácidos grasos y proteínas, fosforilación de la glucosa y sus derivados en la vía glucolítica y las reacciones transacetolasa.¹⁸
- * En la formación de adenosin, monofosfato cíclico (AMPc).¹⁸
- * Participa en la unión del ARN a los ribosomas para la síntesis de proteínas en la conservación de la integridad estructural de las membranas celulares y macromoleculares (entre ellas el ADN y ARN); en la transmisión y actividad neuromuscular.^{115,133}
- * Juega un papel decisivo en las reacciones que producen proteínas específicas, a partir del código genético. Contribuye a la estabilización de la doble hélice de ADN, neutralizando las cargas de los grupos fosfato de los nucleótidos que tienen tendencia a separarse. La selectividad de la replicación de ADN está ligada a la presencia de Mg^{2+} , que permite incorporar en la secuencia de ADN únicamente desoxirribonucleótidos. El magnesio también interviene en la elaboración del ARN y en la actividad de ARN polimerasa. La traducción de la secuencia de bases se encuentra bajo la dependencia de las concentraciones de magnesio y de calcio.¹⁵⁵
- * Participa en el control de la actividad neural.¹¹⁵
- * Participa en la transmisión y actividad neuromuscular. Actúa como relajante muscular. Inhibe la liberación de acetilcolina a nivel de la placa motora.^{18,115}
- * Es antagonista fisiológico de los canales de calcio, ya que compite con el Ca^{+2} en los sitios de unión en la membrana celular y modula la unión y

liberación del Ca^{+2} desde el retículo sarcoplasmático (organela intracelular del músculo). Por eso puede actuar manteniendo bajos los niveles de Ca^{+2} en la célula muscular en reposo y desencadenar la contracción o relajación muscular.^{18,120,133,134} Además, al controlar la permeabilidad de la membrana, puede afectar sus propiedades eléctricas y regular de esta forma los canales de K^+ ubicados en la membrana celular.^{133,134}

* Rol importante en la excitabilidad cardíaca y como protector de las arterias coronarias (el magnesio contribuye a relajar y a dilatar estas arterias); también en el control del tono vasomotor, de la tensión arterial y del flujo sanguíneo periférico.¹³⁴ La reactividad de las células vasculares y de otras células musculares lisas depende de la relación del calcio con el magnesio.^{115,119,134}

* Interviene en la síntesis ósea.¹³²

* Unido a fosfolípidos también forma parte de algunas membranas celulares.¹³²

* Participa en la transmisión del impulso nervioso.^{117,119,132}

* El magnesio incrementa la flora intestinal y permite la absorción de los nutrientes. Neutraliza los elementos químicos de mal olor en las materias fecales y evita el olor corporal, especialmente en las axilas y en los pies actuando como un desodorante natural.¹¹⁵

* Interviene en la transmetilación y en la activación de formiato, Es cofactor en las reacciones de descarboxilación.¹¹⁵

* Disminuye la excitabilidad del sistema nervioso central.^{115,117}

* Posee acción antiinflamatoria y antiinfecciosa. Estimula la fagocitosis y es indispensable para la acción de los anticuerpos.¹¹⁵

* El magnesio es el regulador primario de las actividades eléctricas a nivel de la membrana celular regulando el giro spin de los electrones de dicha membrana e interviene en numerosas reacciones metabólicas. Cuando falta, aparece depresión cansancio y falta de energía.¹¹⁵

1.3.4.11. Carencia de magnesio.

La disminución de magnesio sérico (hipomagnesemia) ocurre cuando la concentración sérica de este metal desciende a menos de 1 mEq/litro.¹¹⁵

La deficiencia de magnesio altera la permeabilidad de la célula que en casos severos puede producir la muerte celular.¹³⁵

Los síntomas de la deficiencia de magnesio se dividen en tres categorías:

1. Los primeros síntomas son, entre otros, la irritabilidad, la hiperacusia (sensibilidad aumentada al sonido), el vértigo, la anorexia, las náuseas los vómitos, la fatiga, el insomnio, los temblores, los espasmos musculares, los espasmos mioclónicos (contracciones bruscas de grupos musculares), las convulsiones, la tetania (contracción muscular generalizada y severa) y los movimientos atetoides (movimientos repetitivos de origen central). Otros síntomas con características más psicológicas son la memoria deficiente, la apatía, la desorientación, la confusión, las alteraciones del nivel de conciencia la deficiente habilidad para el aprendizaje y los cambios de la personalidad.^{18,131,133,136}

2. Los síntomas moderados de deficiencia de magnesio se presentan como cambios cardiovasculares: taquicardia, ataques cardíacos debidos a espasmo de las arterias coronarias, hipertensión arterial, además litiasis renal.^{131,134}

3. Los síntomas de deficiencia severos pueden producir hormigueo, entumecimiento y contracción interrumpido de los músculos. Junto con alucinaciones, delirio, perturbaciones del comportamiento del tipo hiperemotivo: ataques de pánico, depresión, problemas de conducta adjetiva; personalidad violenta y agresiva, y la persona se siente como si estuviera en peligro inminente de muerte, con francas posibilidades suicidas y homicidas. También hipertensión arterial y muerte súbita (consecutiva a arritmias cardíacas).^{131,137,138}

1.3.4.12 Toxicidad del magnesio.

La toxicidad del magnesio se presenta cuando se registran niveles superiores a

5 mg/dL en el suero sanguíneo. Con cifras de 15 mg/dL se produce paro cardíaco.^{117,139} El exceso de magnesio inhibe la calcificación ósea. Grandes dosis de magnesio pueden causar depresión del sistema nervioso central, anestesia e incluso parálisis. Los síntomas tóxicos producidos por el consumo elevado de magnesio no son muy comunes debido a que el organismo elimina las cantidades en exceso, bicho exceso de magnesio se produce casi siempre cuando se suministra como medicamento.¹²⁸

1.4.- ELEMENTOS BIOGENÉSICOS: CINCO, COBRE, HIERRO Y MAGNECIO EN LA MUJER GESTANTE. EN EL RECIÉN NACIDO Y EN LA LECHE MATERNA.

La comprensión de los elementos traza esenciales y de los macroelementos, de sus niveles deficitarios o tóxicos en el curso de la preñez humana es muy importante, dado que hay muchas interrogantes respecto al ciclo biológico de esos elementos en el sistema materno-fetal; siendo el embarazo un periodo de grandes necesidades de nutrientes debido a las necesidades aumentadas del feto y de la madre.^{140,141}

1.4.1. Elementos biogénicos en la mujer gestante.

Hyttén y Leich¹⁴² y Swanson y King¹⁴³ estudiaron los niveles plasmáticos de algunos minerales en los semanas 6 y 7 de gestación, y encontraron una disminución de cinc, de magnesio y de calcio, con aumento del cobre plasmático, porque durante el primer trimestre de gestación hay una expansión gradual del volumen plasmático total, con una disminución gradual de la concentración de las proteínas plasmáticas, una reducción de albúmina y de la relación albúmina/globulinas. Además, a esta edad gestacional hay un aumento de la síntesis y/o secreción de la ceruloplasmina estimulada por el aumento de los estrógenos.

El transporte de los elementos traza esenciales de la madre al feto varía en el

transcurso del embarazo. Perveen y cols,¹⁴⁴ evaluaron la concentración plasmática de cinc, cobre y magnesio en sangre de cordón umbilical y lo relacionaron con la edad gestacional; encontrando que para el cinc y el cobre no hubo diferencias significativas, mientras que para el magnesio hubo una fuerte correlación. Además, la ceruloplasmina disminuye con la edad gestacional, contrario a lo encontrado por Hytten y Leich¹⁴² y Swanson y King.¹⁴³ A medida que avanza el embarazo, se reduce el cinc plasmático del cordón umbilical.

Los elementos traza son indispensables durante el embarazo para mantener la vida tanto de la madre como del feto. Osada y cols,¹⁴⁵ estudiaron mujeres embarazadas sanas en quienes se presentaba retardo del crecimiento intrauterino después de las 34 semanas de gestación; además 30 embarazadas sanas se tomaron de control, en las que determinaron después del nacimiento, 6 elementos esenciales, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn y Se provenientes de sangre materna venosa, sangre venosa y arterial del cordón umbilical y placenta. Hallaron que los casos con retardo de crecimiento intrauterino tenían mayores concentraciones de Mg, Cu y Se en suero arterial de cordón umbilical y elevadas concentraciones de Mg y Se en tejido placentario; lo que podría estar asociado con desarrollo fetal retardado.

1.4.1.1. El cinc.

Antes de 1960 se pensó que la carencia de cinc en el hombre no era posible debido a la omnipresencia del metal en los alimentos y en el agua de bebida.^{18,146} El cinc es un elemento traza muy importante en todos los tejidos de crecimiento rápido porque es un componente de la ADN y ARN polimerasa, así como también modula y tiene acción protectora para el crecimiento de las células normales.¹⁴⁷ La deficiencia de cinc es altamente teratogénica en ratas y favorece una diversidad de malformaciones congénitas.^{18,146} Es de gran importancia que en mujeres embarazadas con acrodermatitis enteropática (una enfermedad genética que involucre al metabolismo del cinc) se encuentren

fetos con malformaciones congénitas, porque sugiere que la carencia de este elemento traza es de hecho teratógena para el hombre.¹⁴⁸ Evidencias procedentes de poblaciones humanas, sugiere que la frecuencia de malformaciones y otros resultados gestacionales pobres pueden elevarse en poblaciones donde se reconoce la deficiencia de cinc.^{18,146}

Las necesidades de cinc aumentan durante el embarazo, debido a que este estado fisiológico es susceptible a la deficiencia de cinc. Se descubrieron niveles bajos de cinc en pelo de un grupo de mujeres embarazadas sanas, pero no es clara la importancia fisiológica de estos niveles bajos durante el embarazo.^{18,149} Los valores de cinc en el corazón, riñones y cerebro permanecen constantes a lo largo de todo el embarazo, pero el de los músculos aumenta de 110 a 160 $\mu\text{g/g}$ peso seco, respectivamente, a las 20 y 40 semanas de edad gestacional.¹⁴⁶ El cinc en sangre comienza a descender al comienzo de la gestación y continúa hasta el parto, alcanzando una concentración un 35% más baja que la de las mujeres no gestantes. La ingesta usual de cinc de las mujeres embarazadas suele ser en promedio 9 / 12 mg/día, por lo que se recomienda que la ingesta de cinc durante la gestación sea de 15 mg/día. Lo cual supondría 3 mg más que en situación de normalidad, para compensar las necesidades fetales.¹⁵⁰

El cinc que se almacena en los huesos maternos no está hasta cierto punto disponible en las mujeres embarazadas porque su deficiencia no favorece su movilización de manera eficaz. En consecuencia, la deficiencia dietética de cinc se refleja rápidamente en el equilibrio mineral materno.¹⁸

1.4.1.2. El cobre.

Respecto al cobre en la mujer gestante, tenemos que el contenido de cobre de muchas dietas de mujeres embarazadas es sólo marginal; sin embargo se desconoce si la deficiencia moderada de cobre en la dieta significa alguna consecuencia para el feto humano en desarrollo. En los animales de

laboratorio, el déficit de cobre materno causa infertilidad, aborto y muerte fetal. Prohaska⁶⁶ sostiene que como se ha encontrado que la deficiencia de cobre es teratogénica en animales, esto también podría comprometer el resultado gestacional en los humanos.

Hurley y cols,⁴² refieren que la deficiencia severa de cobre durante el embarazo causa un desarrollo anormal de la corteza cerebral y del sistema nervioso central del recién nacido. Sin embargo, ésta alteración no es común.

Por ello, Williams⁶² sostiene que en las mujeres embarazadas no se recomienda una ingesta de cobre superior al requerimiento para los adultos normales. En el ser humano existe una alteración por deficiencia de cobre durante el embarazo, un trastorno genético llamado síndrome de Menkes ó "Síndrome del pelo ensortijado", un trastorno con un patrón de herencia recesiva ligada al cromosoma X, con un comienzo muy temprano, determinado por un defecto en el transporte del cobre o través de las membranas, que afecta tanto la absorción intestinal como su posterior distribución dentro de la célula. La mucosa intestinal y los riñones tienen concentraciones elevadas de este metal, mientras el nivel en otros órganos es muy bajo. Hay una degeneración cerebral intensa, disminución del cobre plasmático y de la síntesis de ceruloplasmina. Esto determina que las enzimas y proteínas que contienen cobre en su molécula tengan una actividad deficiente, explicándose así los hallazgos clínicos y bioquímicos, pero por su bajísima incidencia no se considera debida a una ingesta deficiente de cobre.⁷²

1.4.1.3. El hierro.

El hierro en las mujeres embarazadas representa una situación especial ya que lo necesitan para su organismo, para cubrir las necesidades del feto y de la placenta. De ahí la conveniencia de tomar suplementos con hierro o alimentos enriquecidos en hierro en el embarazo.¹⁵¹ Se debe evitar la suplementación excesiva de hierro ya que provoca problemas intestinales e interfiere con la

absorción de otros elementos minerales como el cinc y el cobre que también son esenciales para el desarrollo fetal. Si se utilizan alimentos enriquecidos, éstos deben contener hierro con alta biodisponibilidad y no ingerirse con líquidos que puedan interferir su absorción, como café o té.^{86,111,151,152}

La importancia del hierro para el crecimiento y desarrollo neonatal durante el embarazo la demuestran Sikosky y cols,¹⁴⁰ quienes estudiaron la concentración de los elementos traza en el pelo de mujeres embarazadas a término y los compararon con sus niveles en sangre y en leche, y los relacionaron con parámetros neonatales, obteniendo que sólo el hierro del pelo mostró una correlación significativa con parámetros del recién nacido tales como la talla corporal al nacer y el peso placentario.

1.4.1.4. El magnesio.

En cuanto al magnesio en la mujer gestante, este mineral es fundamental para lograr el embarazo y evitar el aborto. Además previene la toxemia (hipertensión arterial inducida por el embarazo) en la mujer embarazada y la tetania hipomagnesiana en el lactante. Igualmente previene la coleditiasis (formación de cálculos en la vesícula biliar) gravídica.¹⁵³ El magnesio interviene en el crecimiento tisular. El feto acumula 1 g de magnesio durante la gestación.¹⁵⁴

Los efectos del magnesio en el embarazo incluyen una transitoria disminución de las resistencias vasculares uterinas y un aumento en el flujo sanguíneo útero-placentario.¹⁵⁵ La Academia Nacional de Ciencias hace la observación de que el suplemento de magnesio durante el embarazo se relaciona con una menor incidencia de preeclampsia y retardo del crecimiento uterino.¹⁵⁴

1.4.1.5. Valores normales de Fe, Cu, Zn y Mg en uña, pelo y suero sanguíneo de mujeres embarazadas.

Tabla 1.8. Niveles de referencia reportados por la literatura en mujeres embarazadas.

Elemento	Uña($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ^a	Pelo($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Suero($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Fe	13,5 \pm 1,08 ⁸	15,3 \pm 7,3 ¹⁵⁶	1,82 \pm 0,43 ¹⁵⁶
Cu	13,2 \pm 1,6 ¹⁵⁷	9,2 \pm 2,1 ¹⁵⁶	1,21 \pm 0,40 ^{156,158} 1687 \pm 353 $\mu\text{g}/\text{l}$. ¹⁵⁹ 1,71 - 1,79 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ¹⁶⁰ 19,74 \pm 4,65 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ¹⁶¹ 1,37 \pm 0,62 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ¹⁶² 152,42 \pm 2,06 $\mu\text{g}/\text{dL}$ ¹⁶³
Zn	143,3 \pm 4,3 ¹⁵⁷ 90-119 ppm ¹⁶⁴	144 \pm 28,0 ¹⁵⁶ 142,33 \pm 4,39 $\mu\text{g}/\text{g}$ ¹⁶⁵ 182,0 \pm 64,4 $\mu\text{g}/\text{g}$ ¹⁶⁶	1,1 \pm 0,28 ^{156,158} BES:59 \pm 6,9 $\mu\text{g}/\text{dL}$ ¹⁶⁷ AES:70 \pm 5,2 $\mu\text{g}/\text{dL}$ ¹⁶⁷ 69,0 \pm 3,22 $\mu\text{g}/\text{dL}$ ¹⁶⁵ 72,5 \pm 8,8 $\mu\text{g}/\text{dL}$ ¹⁶⁶ 0,47 \pm 0,24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ¹⁶² 9,3 \pm 1,2 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ¹⁶⁸
Mg	183,5 \pm 26,3 ¹⁵⁷	70,43 \pm 77,8 ^{169*}	19,8 \pm 0,50 ^{158,170,171}

*valores de adulto.

BES bajo estrato social

AES alto estrato social.

1.4.2. Elementos biogénicos en el recién nacido.

El período neonatal es el lapso más crítico en cuanto a nutrición infantil se refiere y el estudio de los elementos traza esenciales en esta edad todavía tiene una información limitado.¹⁷²

Durante la etapa de rápido crecimiento en los primeros años de vida y en ciertas situaciones fisiológicas, la ingesta de micronutrientes se debe aumentar o de lo contrario se pueden ver retardos en el crecimiento y enfermedades

carenciales. Durante estos períodos los síntomas de deficiencia son más notorios.^{27,173} Sin embargo, Bhandari y cols,¹⁷⁴ en su estudio de la suplementación de micronutrientes en el crecimiento lineal en niños de 0 a 13 años encontraron que esta suplementación ofrece muy poco o ningún beneficio sobre el crecimiento lineal y el impacto con suplementación de micronutrientes múltiples sobre la talla no es mayor que con un solo micronutriente.

Moro y cols,¹⁷⁵ y Gibson y De Wolfe¹⁷⁶ determinaron las concentraciones de cobre, hierro y cinc en el pelo de neonatos normales y no encontraron diferencias significativas entre estas concentraciones en relación al género edad gestacional y peso corporal. En estos estudios las concentraciones de cobre en el pelo de los neonatos son más bajas que los publicados para niños y adultos.

Sakai y cols,¹⁷⁷ estudiaron los cambios en la concentración de los elementos traza en el pelo de los niños en crecimiento, y encontraron que la concentración promedio de cobre en los varones es significativamente mayor que en las hembras y que la concentración de los elementos traza varía con la edad; la concentración de cinc, hierro y cobre en el pelo disminuye de los seis meses a los catorce años en los varones y de los seis meses a los doce años en las hembras, para luego aumentar gradualmente hasta los veinte años en ambos sexos.

1.4.2.1. El cinc.

El hígado del feto contiene más cinc que el del adulto; de igual manera la cantidad del elemento traza en el pelo del recién nacido es mayor que el materno.¹⁵³ En recién nacido a término, el hígado y el esqueleto contienen respectivamente, el 25 y el 40% del cinc total del organismo, mientras que en el adulto estos depósitos tan solo representan el 10 y el 25%.

Los niños en período de crecimiento rápido son especialmente susceptibles a

la carencia de cinc. Esta se inicia durante la vida intrauterina, ya que el feto normal acumula el cinc a un nivel de 249 y 675 $\mu\text{g}/\text{día}$, respectivamente, a las 26 y 36 semanas de gestación.¹⁷³ Wilhelm y cols,¹⁷⁸ demostraron que los niños menores de dos años tienen bajas concentraciones de cinc, porque los requerimientos de cinc son grandes durante la fase de crecimiento rápido.

Los trastornos del crecimiento por deficiencia de cinc se consideraban únicos de los países menos desarrollados. Sin embargo, un estudio en niños preescolares de familias aparentemente bien nutridas en Denver, mostraron una correlación entre la baja estatura y niveles bajos de cinc en el cabello. Otros estudios han sostenido estos hallazgos.¹⁸⁰

1.4.2.2. El cobre.

El cobre se acumula en el feto principalmente en los últimos tres meses de gestación.⁵²

Las reservas hepáticas de cobre en el neonato a término en general son adecuadas para cubrir las necesidades del lactante de cuatro a seis meses, edad en la cual se introducen otros alimentos en su dieta. Sin embargo, el recién nacido prematuro por no haber alcanzado el final de la gestación, nace con las reservas escasas de cobre.³⁶

Hatano y cols,¹⁸¹ encontraron que el promedio del nivel de cobre plasmático al mes de edad es significativamente menor que en los adultos, para aumentar luego hasta los 10 años y posteriormente disminuir gradualmente con la edad.

La carencia de cobre se puede presentar en niños con bajo peso al momento del nacimiento, pero sin manifestaciones ostensibles de malnutrición. En estos casos la anemia, la neutropenia, los síntomas neurológicos y los cambios óseos constituyen los hallazgos clínicos típicos; los pacientes con bajos niveles de cobre sérico responden satisfactoriamente a la administración por vía oral

de este metal.^{182,183}

Con el cobre no hubo variaciones significativas en los niños menores de dos años, considerando que el ingreso exógeno del metal es muy abundante.¹⁷⁸

1.4.2.3. El hierro.

Los lactantes absorben más hierro de la leche materna que de la leche de vaca o las fórmulas infantiles. No se sabe si es por una mayor absorción de la forma en la que el hierro está presente en la leche materna o por otros factores. Los lactantes normales tienen depósitos adecuados de hierro para el crecimiento hasta duplicar su peso al nacimiento.^{151,184}

1.4.2.4. El magnesio.

Perveen y cols,¹⁸⁵ determinaron que el magnesio sérico del cordón umbilical y de la madre presentan una fuerte correlación al momento del nacimiento, lo cual denota un pase energético de este mineral desde la madre al feto al término de la gestación. Por otra parte Seelig¹⁵⁵ sostiene que el sulfato de magnesio disminuye significativamente el riesgo de parálisis cerebral y de retraso mental, fenómeno que se da principalmente en los recién nacidos de bajo peso.

1.4.2.5. Valores normales de Fe, Cu, Zn y Mg en pelo de recién nacidos.

1.4.3. Elementos biogénicos en la leche humana.

La leche humana es el alimento ideal que ofrece los nutrientes adecuados para el niño, en ella se consigue normalmente el cinc, el cobre, el hierro y el magnesio, minerales esenciales para el normal crecimiento y desarrollo.⁵⁷

Tabla 1.9. Niveles de referencia reportados para pelo por la literatura en recién nacido.

Elemento	Pelo($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Referencia
Fe	71,8 \pm 5,6	175
Cu	19,4 \pm 0,6	176
	8,1 \pm 2,3	186
Zn	112,9 \pm 2,9	176
	212 \pm 63	186
	188,36 \pm 4,12	165
	193,4 \pm 39,2	166
Mg	121 \pm 26**	187

** Valores 7 meses de edad.

La leche humana contiene todos los requerimientos para mantener el crecimiento en los primeros 6 meses de vida en los niños de madres bien nutridas. Las madres desnutridas que lactan ofrecen una leche, con una calidad y cantidad subóptima, ya que su volumen es menor y las concentraciones de grasa, vitaminas hidrosolubles, vitamina A, calcio y proteínas son menores que las de los madres bien nutridas.¹⁵ La leche humana no es adecuada como fuente de alimento único en la nutrición infantil después de los primeros seis meses de vida. Pueden ocurrir deficiencias de cobre y cinc en comunidades donde la alimentación al seno se continúa por varios; años con poca introducción de alimentos adicionales, por que tal deficiencia puede limitar la tasa de ganancia de peso, acentuar lo anemia, los enfermedades óseas y la susceptibilidad a infecciones.¹⁵

Los niños alimentados al pecho son dependientes de un adecuado aporte de elementos traza y minerales para un normal crecimiento y desarrollo. Para la mayoría de estos minerales, la glándula mamaria desarrolla un mecanismo que regulo sus concentraciones, especialmente los del hierro y el cinc en la leche, y actúa en uno de los dos sitios siguientes, (1) en el ingreso de minerales del

suero sanguíneo a la glándula mamaria ó (2) en la síntesis y secreción de la leche en éstas glándulas. Siendo el sitio de la fase de ingreso a la célula del epitelio mamario (1) en donde se cree que: se lleva a cabo esta regulación, porque allí se puede aumentar o disminuir el contenido de minerales. Este mecanismo regulatorio actúa cuando la dieta materna varía considerablemente o las condiciones maternas son afectadas por diferentes cambios.¹⁸⁸

1.4.3.1. El cinc.

El mecanismo para regular al cinc en la leche humana no ha sido bien establecido, en el suero el metal es transportado por la α_2 macroglobulina, la albúmina sérica y algunos aminoácidos, lo que es indicativo de un mecanismo mediado por receptores que liberan cinc a la célula del epitelio mamario a través del ARNm.¹⁸⁸

Los estudios sobre la localización del cinc en las tracciones lácteas o sus componentes han contribuido significativamente a entender alteraciones como la acrodermatitis enterohepática, así como también la biodisponibilidad del cinc. Sin embargo, no hay explicación para los mecanismos involucrados en la disminución de cinc en la leche humana.¹⁸⁹

Sobre el cinc han sido múltiples los estudios para correlacionar el status materno de cinc con la concentración del cinc en la leche materna, debido a que este disminuye durante la lactancia en madres bien alimentadas y en otros casos con suplemento dietético de cinc; y esto no afecta el cinc del calostro o de la leche. El status marginal del cinc materno no afecta la concentración del cinc de la leche, ya que las glándulas mamarias adquieren cinc del pool plasmático. Los procesos infecciosos tampoco afectan la concentración de cinc de la leche.¹⁸⁸

1.4.3.2. El cobre.

Para algunos elementos, este mecanismo regulatorio parece estar ausente o no ser suficiente para poder compensar las condiciones adversas, incluyendo una pobre nutrición.¹⁸⁸

Necesitamos identificar los niños y las mujeres en riesgo por deficiencia de estos nutrientes, ya que se cree generalmente que los niños alimentados al seno materno están protegidos contra la mayoría de las deficiencias nutricionales, puesto que las glándulas mamarias obtienen nutrientes del suero para la leche.¹⁸⁸

Hay pocos estudios de los efectos modernos sobre la concentración del cobre de la leche; sin embargo se conoce que esta concentración no es afectada por la ingesta diaria de cobre, ni tampoco por las infecciones.¹⁸⁸

1.4.3.3. El hierro.

Cuando las condiciones maternas son adversas es común la deficiencia de hierro y la anemia. La mayoría de las células usan receptores de transferrina para regular las concentraciones de hierro celular, por lo que sugieren que estos receptores están involucrados en las glándulas mamarias para los cambios fisiológicos normales durante la lactancia.¹⁸⁸ En estudios realizados por Celada y cols,¹⁹⁰ en mujeres suizas y por Murray y cols¹⁹¹ en mujeres nigerianas, evaluaron el status materno del hierro, midiendo la hemoglobina, la ferritina sérica y la saturación de transferrina, y no encontraron relación con el hierro de la leche; además estas mujeres no presentaron anemia y el status no varió mucho. Igualmente Zabaleta y cols¹⁹² en un estudio sobre mujeres peruanas, les administró suplemento de hierro (100mg/día) en el primer mes post-parto, encontrándose un aumento en la hemoglobina, pero no en la concentración de hierro de la leche.

El hierro de la leche no es afectado por la ingesta de hierro materno o por infección, sugiriendo la presencia de un mecanismo en las glándulas mamarias

que regula lo concentración de hierro de la leche.

Loh y Sinnstury,¹⁹³ encontraron lo contrario en un estudio en mujeres hindúes sobre el hierro de la leche materno, en el que los embarazados anémicos tenían significativamente mayor concentración de hierro en la leche que los mujeres no anémicas.

1.4.3.4. El magnesio.

Poco se conoce del mecanismo responsable del ingreso del calcio y del magnesio a la leche y los factores que lo afectan. El mecanismo por el cual se producen subóptimas concentraciones de magnesio en la leche no es bien conocido. Pero es evidente que existe un mecanismo que regula las concentraciones de elementos traza en la leche materna, tal como para el hierro y el cinc, aunque el transporte de algunos metales no está regulado y su ingreso a la leche materna se realizó por difusión pasiva. Las concentraciones del magnesio serico se regulan por mecanismos homeostáticos y muchos estudios no relacionan la ingesta materna de; magnesio con el magnesio de la leche.¹⁹⁸

1.4.3.5. Valores normales de Fe, Cu, Zn y Mg en la leche humana.

Tabla 1.10. Niveles de referencia reportados por la literatura en la leche humana.

Elemento	Leche Humana ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Fe	0,09-0,17 \pm 0,01 ¹⁷² 0,2 \pm 0,17 ¹⁹⁴ 0,39 \pm 0,15 ¹⁹⁵
Cu	0,24 \pm 0,07 ¹⁹⁴ 0,32 \pm 0,26 ¹⁹⁵
Zn	0,37-0,6 \pm 0,01 ¹⁷² 1,68 \pm 0,78 ¹⁹⁴ 1,51 \pm 1,08 ¹⁹⁵
Mg	3 ¹⁹⁶ 2,3 ng/100 ml ¹⁹⁷ 34,2 \pm 12,3 ¹⁹⁵

1.4.4.- Factores que modifican la concentración de cinc, cobre, hierro y magnesio en la leche humana.

La mayoría de los minerales, mayores y/o traza, ofrecen cambios en sus concentraciones durante la lactancia temprana o prolongada, pero no con la intensidad que se ve con el cinc de la leche materna, tal vez por cambios en los mecanismos regulatorios del cinc secretado en la leche con consecuencias fisiopatológicas en el niño.¹⁸⁹

El cinc de la leche materna se encuentra en glóbulos de grasa, en complejos proteicos de alto peso molecular, en péptidos de bajo peso molecular, en sustancias ultrafiltrables, unido o citrato, a picolinato y a aminoácidos. La fracción grasa de la leche transporta del 10 al 40% del total de cinc en la leche

y principalmente en la capa externa del glóbulo de grasa, con especial diferencia en la concentración de cinc en la grasa obtenida al inicio y al final de la lactada. Las fracciones no grasas tienen gran variabilidad. El cinc está unido a componentes proteicos y no proteicos.¹⁸⁹ Según Michalke y cols,¹⁹⁸ el porcentaje de composición de los ligandos en relación al total proteico está en el siguiente orden; caseína, 44% > lactoferrina, 29,3% > lisosimas, 15,6% > albúmina, 4,4% > metalotioneína, 0,1%, mientras que el índice cinc/ligando ocurre en el siguiente orden, metalotioneína>> albúmina>>> citrato = caseína > lactoferrina > lisosima.

Es conocida la ingesta subóptima de cinc en el mundo y afecta a mujeres y niños, así como también las características raciales y del medio ambiente pueden condicionar los ingresos de cinc en las comidas por diferencias geográficas y culturales. Otros estudios han comparado la leche materna entre razas y regiones, no encontrando diferencias estadísticamente significativas.¹⁵ Brotter y cols,^{199,200} demostraron que las diferencias en las concentraciones de cinc en la leche en diferentes regiones de Venezuela se atribuirían a la ingesta materno natural de selenio. Aunque no hay evidencias convincentes que los suplementos maternos con cinc incrementan las concentraciones de este elemento en la leche materna o que afecta el crecimiento de los niños, sin embargo hay claros beneficios del incremento de la vitamina A y de la disminución de episodios de enfermedades respiratorias y gastrointestinales en los niños alimentados al seno materno.¹⁸⁹ Con respecto al cobre de la leche humana, encontramos que está alrededor de 1,05 mg/L, mientras que la leche de vaca es una fuente pobre de cobre con concentraciones que oscilan entre 0,015- 0,18 mg/L³¹

En cuanto al magnesio, no hay ninguna relación entre la succión láctea del recién nacido y la eliminación urinaria de este mineral, aunque en el período neonatal inmediato la eliminación es baja. Mientras que en los niños a término alimentados con leche materna la eliminación urinaria de este elemento es superior con respecto a niños alimentados con fórmula infantil.¹¹⁶

En los últimos años, el contenido de estos minerales en lo leche humana se ha evaluado para obtener el alimento infantil ideal durante el primer año de vida y de esta forma establecer valores de referencia para las fórmulas infantiles.²⁰¹

1.4.5.- Requerimientos dietéticos recomendados para adultos, mujeres embarazadas y recién nacidos.

Muchos países han publicado normas sobre los requerimientos dietéticos apropiados a sus circunstancias individuales. La Organización de Alimentos y Agricultura de la Organización Mundial de la Salud de las Naciones Unidas, ha establecido estándares en muchas áreas de calidad y seguridad alimentaria. El estándar básico norteamericano son las Raciones Diarias Recomendadas (RDA), establecidas por la Oficina de Alimentos y Nutrición (FNB) del Instituto de Medicina/Academia Nacional de las Ciencias (IOM/NAS), publicado por primera vez en 1941 y revisado por última vez en 1989.²⁰²

Las raciones dietéticas recomendadas son los niveles de ingesta de nutrientes esenciales que evalúa la FNB, basados en el conocimiento científico disponible en ese momento, esperando que sean adecuadas para satisfacer las necesidades conocidas de prácticamente todas las personas sanas, intentando que sean satisfechas con una dieta de alimentos muy variados, estimando las pérdidas obligatorias y los porcentajes de absorción para los adultos sanos. Los requerimientos de la mayoría de los nutrientes se establecen en niveles que exceden los de la mayoría de los individuos, por lo tanto se busca asegurar que las necesidades de casi todos, se satisfagan. Ingesta inferiores a las raciones diarias recomendadas para un nutriente no son necesariamente inadecuadas, pero el riesgo de inadecuación aumenta la posibilidad de que las ingesta caigan en niveles inferiores a los recomendados. Las necesidades especiales de nutrientes surgen a partir de problemas como parto prematuro, enfermedades metabólicas hereditarias, infecciones, enfermedades crónicas, etc.²⁰²

Como se mencionó anteriormente, cada país maneja sus propios requerimientos dietéticos. Para Venezuela¹ los valores de referencia de energía y nutrientes recomendados para la población adulta y sana (nuestra RDA), los comparamos con los valores de nuestros grupos etarios de interés que son: las embarazadas y los recién nacidos, tal como se muestran en la Tabla 1.11.

Numerosos factores interactúan para determinar el progreso y el resultado del embarazo, entre ellos tenemos: los niveles de los elementos biogénicos (Zn, Cu, Fe y Mg) que actúan sobre los parámetros de crecimiento y desarrollo.¹⁵⁴

Tabla 1.11. Recomendaciones diarias de los elementos biogénicos en estudio.

ELEMENTOS mg/día	ADULTOS	EMBARAZADAS	RECIÉN NACIDOS
Cinc	12	15	4
Cobre	2,2	2,2	0,4
Hierro	14	30	10
Magnesio	320	400	30

1.5.- BIBLIOGRAFÍA.

1. Alarcón O. Elementos Biogénicos. 2ª ed. Universidad de los Andes. Venezuela. 2000.
2. Dini E. Vitamina y minerales en el crecimiento. Nutrición en Pediatría. 1999. pp. 147.
3. Herrera E. Bioquímica. 2ª ed. Tomo I. McGraw-Hill Interamericana. Nueva York. 1991.
4. Underwood, E. I. Trace elements in human and animal nutrition. Academy Press, 4ª ed. New York. 1977.
5. Bowen H. Trace Elements in Biochemistry. Academy Press New York. 1966.
6. León N., Burguera J.L., Burguera M, Alarcón O. Revue Roumaine de Chimie 1986; 31(3): 353.
7. Brunetto M., Alarcón O., Dávila E., Galignani M. Rondón C, Burguera J.L., Burguera M., Angarita C. J. Trace Elem Med Biol 1999; 13: 40-50.
8. Vance D., Ehmann W., Markesbery W. Biol Trace Elem Res 1988; 17: 109-121.
9. Mertz W. Science. 1981; 213; 1132-1138,
10. Coitzas G. Importante of trace substances in environmental health as exemplified by manganese. En: Humphill, D.D. (Ed.). Proc. 1st Ann Conf Trace Subst Environ Health. Columbia. 1967; pp. S.
11. Coleman J. Biochem 1992; 61; 897-946.
12. Vallee B., Galdes A. Adv Enzymol 1984; 56: 284-430.
13. Jackson M. Physiology of zinc: General Aspects. En: Zinc in human biology. London: C. F. Milis. Ed. Springer-Verlag. 1989. pp. 1-14.
14. Burguera J.L., Burguera M., Alarcón O. Trace Elem AAed 1992; 9(4); 194-197.
15. Simmer K, Ahmed S, Carisson L, Thompson R. Brit J Nut 1990; 63: 91-96.
16. Toore M. Rodríguez A, Saura F. Crit Rev Food Sci Nutr 1991; 30: 1-22.
17. Moser-Veillon P. J. Am Diet Assoc. 1990; 90-. 1089-1094.
18. Mahan L., Scout-Stump S., Nutrición y Dietoterapia de Krause. Editorial

- McGraw-Hill Interamericana. 9ª ed. México. 1996. pp. 119-123.
19. Instituto Nacional de Nutrición INN. Valores de Referencia de Energía y Nutrientes para la Población Venezolana. Caracas. Mayo 2000.
 20. Lee H., Prasad A., Brewer G., Owyang C. Am J Physiol. 1989; 256-. 687-689.
 21. World Health Organization WHO. Zinc. En: Trace elements in human nutrition and health. Geneva: WHO 1996; pp. 72-104.
 22. Tortolero M. Cinc y otros oligoelementos: un enfoque práctico. En; V Simposio de Nutrición: Venezuela entre el exceso y el déficit; Caracas. Fundación Cavendes 1995; pp. 165-173.
 23. Cousin R., Hempe J., Cinc. En: Brown M.L. Filer L.J, Guthrie H.A, Levander OA, Mc Cormick DB, Olson RE. Eds. Conocimientos actuales sobre nutrición. 6º ed. Washington DC; OPS 1991. pp. 289-298.
 24. Aranda P., Llópiz J., Minerales. En; Aranceta J., Aranda P., Barrinuevo M., Boatella J., Cardona D., Carretero M. Nutrición y Dietética; aspectos sanitarios. Madrid. 1993. pp. 177-240.
 25. Hernández C., Estévez A. Rev Cub Alim Nutr 2000; 14(1) 65-70.
 26. Matseshe J., Philips S, Malageio la J., McCall J. Am J Clin Nutr 1980; 33:1946-1953.
 27. Arroyo .P, Loria A. Rev Invest Clin. 1998; 5; 57-64.
 28. Aggett P.. Clin Endoc Met 1985; 14; 513-543.
 29. Cousins R., Leinart A. FASEB J. 1988; 2: 2884-2890.
 30. Cousins R. Physiol Rev. 1985; 65; 238-249.
 31. Harper H., Rodwell V., Mayes P.. Manual de Química Fisiológica. Editorial Moderno. México, 1980. pp. 644.
 32. Ziegler E., Serfass R., Nelson S. J Nutr 1939; 119: 1647-1653.
 33. Hambidge K., Hambidge C., Jacobs M, Baun D. Pediatr Res 1972; 6: 868-871.
 34. O'Dell B. Nutr Rev. 1992; 50: 48-50.
 35. Chitale M. Ind J Med Science 1988; 52: 78-82.

36. Taylor K., Anthony L. Nutrición Clínica, Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México. 1985. pp. 613-626.
37. Mertz W. Nutr Rev 1993; 51; 2887-2896.
38. Xiu Y. Biomed Environ Science 1996; 9: 130-136.
39. Henkin R. Zinc dependent control of food intake, taste and smell functions, in Trace Element Metabolism in Man and Animals vol 3, M. Kirchgessner (ed), Freising-Weihenstephan. 1978.
40. Prasad A. Deficiency of zinc in man and its toxicity. Trace Elein Hum Health Dis, vol, 1, A. S Prasad and D. Oberleas (eds), Academy, New York. 1976.
41. Hambidge K. Mild zinc deficiency in human subjects. En: Mills CF, ed. Zinc in Human Biology. New York: Springer Verlag 1989; 281-296.
41. Hambidge K. Mild zinc deficiency in human subjects. En: Milis CF, ed. Zinc in Human Biology. New York; Springer Verlag 1989; 281-296.
42. Hambidge K., Wairavens P., Brown R., Webster J, White S., Ross M. Am J Clin Nutr 1976; 29: 734-740..
43. Golden M. The diagnosis of zinc deficiency. En: Zinc in human biology. Mills CF, ed London. Springer Verlag, 1989; pp 323-333.
44. Moynahan H. Lancet. 1974; 2: 399-402.
45. Gibson R., Heywood A., Yaman C., Sohlstrom A., Thompsom L., Heywood P. Am J Clin Nutr 1991; 53: 782-789.
46. Cavan K., Gibson R., Gracioso C., Isalgue A., Ruz M., Solomons N. Am J Clin Nutr 1993; 57; 334-343.
47. Cavan K. Gibson R., Gracioso C., Isalgue A., Ruz M., Solomons N. Am J Clin Nutr 1993; 57: 344-352.
48. Schelesinger L., Arevalo M., Arredondo S, Diaz M, Lönnerdal B., Stekel A. Am J Clin Nutr 1992; 56: 491-498.
49. Gibson R., Vanderkooy P., MacDonald A., Goldman A. Ryan B., Berry M. Am J Clin Nutr 1989; 49: 1266-1273.
50. Wairavens P., Chakar A., Mokni R. Dense J, Lemonnier D. Lancet 1992; 340:683-685..
51. Walravens P., Hambidge K., Koepfer D. Pediatrics 1989; 83: 532-538.

52. Hurley L, Keen C. Nestlé Nutrition Workshop Series 1988; 16 215-230.
53. Fosmire G. Am J Clin Nutr 1990; 51: 225-228.
54. Yardrik M, Itenney M, Winterfeldt E. Am J Clin Nutr 1989; 49; 145-150.
55. Botash A, Nasca J, Dubowy R, Wdinerberger H, Oliphant M. Am J Clin Nutr 1992; 55; 709-711.
56. Aggett P, Favier A. Int J Vit Nutr Res. 1993; 63: 301-307.
57. Burguera M, Burguera J.L., Garabato A, Alarcón O. Quim Anal 1987; 6(4); 427-435.
58. Mertz W. Metabolism and metabolic effects of trace elements. Nestlé Nutrition. Vevey/Raven Press. New York. 1985. pp. 107-119.
59. Anderson Sh., Cockaine S. Química Clínica, Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México, pp. 1995; 174-201, 382-83. 609-14, 663-668.
60. Tanner S. Disorders of copper metabolism. Edt. Blackwell Science 2001; 167-184.
61. Dun M, Green M, Leach R. Am J Physiol 1991; 261: E115-E125.
62. Williams D. Sem Hematol 1983; 20(2); 118-127.
63. Kaller S., Gallo L., Proud V. Natur Genet 1994; 195-202.
64. Loconto J., Papes F., Chang, E. Cell 2003; 112(5); 607-618,
65. Berteismann S. Mineralstoffe und Spurenele. Gütersloh: Verlag Berteisman Stiftung, ed. 1992; pp. 148.
66. Prohaska J. J. Nutr Biochem 1990; 1: 452-461.
67. O'Dell BL Med Clin North Am 1976; 60: 687-704.
68. Mulhern S., Raveche E., Smith H., Lal R. Am J Clin Nutr 1987; 46: 1035-1039.
69. Dunlap W., James G, Hume D. Annals Intern Med 1974; 80; 470-476.
70. Menéndez M. Toxicol 1987; 4; 101-120.
71. Abdel-Mageed A., Oehme F. Vet Hum Toxicol 1990; 32: 230-234.
72. Meneghello J., Fanta E., Paris E., Puga T.. Pediatría Meneghello. 5ª ed.

- Tomo 2. Editorial Panamericana. México 1999. pp. 2076.
73. Andrews N., Bridge K. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. 5^a ed. Philadelphia; W Saunders. 1998. pp. 423-461.
74. Lanzkowski P. Metabolismo del hierro y anemia ferropriva. En: Hematología Pediátrica. 3^a ed. La Habana. 1985. pp. 121-193.
75. Refsun A., Schreiner B. Scand J Gastroenterol 1984; 19; 867-874.
76. Dallman P. Hierro. En: Conocimientos actuales sobre Nutrición. 6^a ed. Washington DC: OPS, ILSI; 1991. pp. 277-288.
77. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Iron metabolism, diagnosis and therapy of anemias. 3^a ed. New York: Springer. 1996.
78. www.medynet-com/elmedico/aula2001/tema1/anemia6.htm - 41k.
79. Monsen E. J. Am Diet Assoc 1988; 88: 786-789.
80. Fairbanks V., Klee G. Biochemical aspects of hematology. En: Textbook of clinical chemistry. Tietz Philadelphia; WB Saunders. 1986.
81. Dallman P., Siimes M. Iron deficiency in infancy and childhood. Report of the International Nutritional Anemia Consultative Group (NACG). Library of Congress. 1985.
82. Muir A., Hopter U. Gastroint Liv Pathol 1985; 11: 6376-6383.
83. Huebers A., Huebers E., Csiba E., Rummel W. Finch C. Blood 1983; 61; 283-288.
84. Uzel C., Conrad M. Semn Hematot 1998; 35: 27-34.
85. Raffin S., Woo C, Roost K, Price D, Schmid R. J Clin Invest 1974; 54:1344-1350.
86. Bothwell T. Nutr Rev 1995; 53: 237-245.
87. Maeyer E. Preventing and controlling iron deficiency anemia through primary health care. World Health Organization WHO. Geneva. 1989.
88. Gillooly M, Bothwell T. Br J Nutr 1984; 51: 37-39.
89. Lee G.R., Herbert V. Nutritional factors in the production and function of erythrocytes. 10^a ed. Baltimore. 1998. pp 228-266.
90. Hallberg L., Rossander L. Skauberg A.B. Am J Clin Nutr 1987; 45: 988-996.

91. Huebers H., Finch C. *Physiol Rev* 1987; 67; 520-526.
92. Haupt H., Baudner S. *Behring Institut Mitteilungen* 1990; 86; 1-66.
93. Hallberg L, Bruñe M, Eriandsson M., Sandberg A., Rossander-Hulthen L. *Am J Clin Nutr* 1991; 53; 112-119.
94. Finch C. *Blood* 1994; 84; 1697-1700.
95. Worwood M. *An Nestlé* 1995; 53. 1-11.
96. Sharma D, Mathur R. *Indian J Physiol Pharmacol* 1995; 39; 403-406.
97. Conrad M. Umbreit J. *Am J Haematol* 1993; 42; 67-69.
98. Brune M., Rossander L. Hallberg L. *Eur J Clin Nutr* 1989; 43; 547-558.
99. Anderson L., Dibble M., Mitchell H., Turkki P. *Nutrición y Dieta. Editorial Interamericana. México, 1990. Cap. 6 y 7, pp. 75-170.*
100. Hentze M. Iron regulatory factor-the conductor of cellular iron regulation. 27 Annual Course. *Advan Haematol* 1993; 36-48.
101. Leberer E., Gilo B. *Ann Rev Nutr* 1992; 12; 341-348.
102. Mietzner T., Morse S. *Ann Rev Nutr* 1994; 14. 471-475.
103. Beard J., Connor J., Jones B. *Nutr Rev* 1993; 51: 157-160.
104. Lozoff B. Has iron deficiency been shown to cause altered behavior infants? In Dobbins (ed); *Brain, behavior and iron in the infant diet. Springer-Verlag. 1990.*
105. Walter T. Iron deficiency in infancy; A critical review. In Dobbins J (ed); *Brain, beahvior and iron in the infant diet. Springer-Verlag. 1990.*
106. Pollit E., Greenfield D., Liebel R.L. *Fed Proc* 1976; 37: 487-493.
107. Soemantri A., Pollit E., Kim I. *Am J Clin Nutr* 1985; 42; 1221-1225.
108. Jhonson M. *FASEB J* 1994; 8: 609-611.
109. Maeyer E. Preventing and controlling iron deficiency anemia through primary health care. Geneva; *World Health Organization. 1989.*
110. Dallman P., Vip R., Oski F. Iron deficiency and related nutritional anemias. En: *Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood, 4^a ed.*

- Philadelphia: WB Saunders. 1993. p 413-450.
111. Lönnerdal B., Dewey K. Ann Nestlé 1995; 53; 12-19.
112. Wong D. Intoxicación por hierro y plomo. Enfermería pediátrica. 4^{ta} ed. Mc Graw Hill. México. 1997. pp. 373-375.
113. www.infomedica.com.ar/info-medica/numero29/oligoelementos.htm-49k-
114. Boletín ICN Farmacéutico, S.A. de C.V. Calz Ermita Iztapa'apa, México D.F. N° 436.
115. www.alimentacionsana.com.ar/informaciones/novedades/minerales2.htm-101k-
116. Calcio, fósforo y Magnesio en Recién Nacido- División of Neonatology, Cedars Sinai Medical Center, Los Angeles, California. En: <http://www.Geocities.com/medicos76/calciofosforomg.html>.
117. Kinast Horacio. Centro de medicina Biológica. Instituto Kinast y Asociados. Boletín sobre electrolitos vitales.
118. Hediger M., Overpeck M., Rúan W., Troendle J. Am J Clin Nut 2000; 72; 159-167.
119. Wacker W., Parisi A. N Eng J Med 1968; 278; 658-663.
120. Wester P. Am J Clin Nutr, 1987, 45; 1305-1312.
121. Guenther T. Magnesium 1986; 5: 53-59.
122. Stevens A., Wolf K Arch Neurol 1950; 63: 749-759.
123. Blanco J: Alteraciones del metabolismo del calcio, fósforo y magnesio. En: Ginestal RJ (ed.). Libro de Texto de Cuidados Intensivos. Ed. Ela-Aran Madrid, 1991. pp. 705-714.
124. Dirks J. Kidney Int 1983, 23: 771-777.
125. www.monografias.com (descripción de vitaminas y minerales).
126. Walker G. Magnesium 1982; 2: 1-16.
127. Smialowicz R., Rogers R., Riddle M., Luebke R., Fogelson L., Rowe D. J Toxicol Environm Health 1987; 20: 67-80.
128. Massry S.G. Hypomagnesemia and hypermagnesemia. En: Suki W.N., Massry S.G. Therapy of renal diseases and related disorders. Mortinus

- Nijhoff Publishers. Bostón. 1984 pp. 101-103.
129. Tansy M. Intestinal absorption of magnesium. In Intestinal Absorption of Metal Ions, Trace Elem Res Eds. S.C. Skoryna, D. Waldron-Edwards. Publ. Pergomon Press. New York. 1970. pp. 193-210.
130. Dengel J., Mangeis A. Moser-Veillon P. Am J Clin Nutr 1994; 59: 990-993.
131. www.biopsicologia.net/fichas/page_1041.html (descripción de los micronutrientes).
132. Larrañaga, I; Carballo, J; Rodríguez, M; Fernandez, J. Dietética y Dietoterapia. McGraw-Hill Interamericana. México. 1997. pp. 92-101.
133. Aikawa J. Magnesium: Its Biologic Significance. CRC Press. Boca Ratón, Florida. 1981.
134. Turlapaty P., Alterura B. Science 1980; 208: 198-200.
135. Fitzgerald M., Fourman P. Clin Science 1965; 15: 635-647.
136. Thoren L. Acta Chir Scand 1962; 124: 134-143.
137. Whang P. Am J Med 1987; 82: 24-27.
138. Miiner S. Magnesium Deficiency in the Pathogenesis of Disease. Early Roots of Cardiovascular, Skeletal, and Renal Abnormalities. Ed. L.V. Avioli, Publ. Plenum Med. Book Co., New York, N.Y. 1980.
139. Seelig, M. Magnesium Bull 1981; 3; 80-84.
140. Sikorski R., Juskiewicz T., Paszkowski T., Radomanski T., Szkoda J., Milart P. Eur J Obst Gynecol 1986; 23: 349-357.
141. Zakrgynska-Fontaine V., Doré J.C., Ojasoo T., Poirier-Duchêne F., Viel C. Biol Trace Elem Res 1998; 61: 151-168.
142. Hytten F., Leitch I. The physiology of human pregnancy. 2^a ed. Blackwell, Oxford. 1971.
143. Swanson C., King J. Obst Gynecol 1983; 62: 313-318.
144. Perveen S., Vohra A., Bautista N., Harper M., Wapnir R. Early Human Develop 2002; 69(Iss 1-2): 15-23.
145. Osada W., Nishimura Y., Seki S. Acta Obstet Gynecol Scand 2002; 81(Iss 10): 931-937.

146. Soltan M., Jenkis M. Br J Obst Gyneacol 1982; 89: 56-60.
147. Wen K., Fan S., Ching Ch., Ren D., Hung J. Biol Trace Elem Res 2002; 89: 1-11.
148. Moynahan E. Lancet 1975; 2: 710-714.
149. Keen C. Lönnerdal D, Golub M. Pediat Res 1989; 26: 470-477.
150. Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo CANIA. Nutrición en Pediatría. Producción general CANIA. Caracas. 1999. pp. 86-88.
151. Bentley D. Clin Haematol 1985; 14: 613-628.
152. Case J., Koeller D., Ramin V., Klousner R., Harford J. EMBO J 1989; 8: 3693 3699.
153. Seelig M. Prenatal and neonatal mineral deficiencies; magnesium, zinc and chromium. In *Clinical Disorders in Pediatric Nutrition* Ed. F. Lifshitz, Publ. Marcel Dekker, Inc. New York. 1982. pp. 167-196.
154. Subcommittee on nutritional status and weight gain during pregnancy and Subcommittee on dietary intake and nutrient supplements during pregnancy: *Nutrition during pregnancy*, parts I and II. Washington, DC. National Academy Press. 1990.
155. Seelig, M. J Am Coll Nutr 1991; 10: 566-568.
156. Ming Huang M, Lou P., Ze Sur, Gung M. Biol Trace Elem Res 1999; 69:111-120.
157. Bank H., Robson J., Bigelow J., Morrison J., Spell L., Kantor R. Clin Chim Acta 1981; 116: 179-190.
158. Di Bernardo M., García M., Burguera M., Burguera J.L., Alarcón O., Nieto E., Salinas J., Burguera E. VI Congreso Venezolano de Química. Soc Ven Quím 2003; 2 87-. 944-947.
159. Schulpis K., Karakonstantakis T. Gavriili S., Chronopoulou G., Karikas G., Vlachos G., Papassotiriou I. Eur J Clin Nutr 2004; 58(9); 1314-1318.
160. Vir S., Love A., Thompson W. Am J Clin Nutr 1981; 34(11): 2382-2388.
161. Ajose A., Fasubaa B., Anetor J., Adelekan D., Makinde N. Niger Postgrad Med J 2001; 8(4): 161-164.
162. Iqbal A., Shahidullah M., Islam M., Akhter S, Banu S. Indian J. Pediatr 2001; 68(6): 523-526.

163. Algerwie M., Khatri P. Indian J. Pediatr 1998; 65(6): 899-903
164. Milunsky A., Morris J.S., Jick H., Rothman K., Ulcickas M., Jick S., Shoukimas P., Willett W. Teratology 1992; 46(4): 341-348.
165. Rathi S., Srinivas M., Grover J., Mitra D., Vats V., Sharma J. Indian J Pediatr 1999; 66(5): 681-684.
166. Çadvor A., Bohceci M., Akar N., Erten J., Bahçeci G., Babacan E., Arcasoy A., Yavuz H. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 1988; 2: 9-14.
167. Aydemir F., Cadvar A., Soyimez F., Cengiz B. Biol Trace Elem Res 2003; 91(3): 193-202.
168. Lao T., Loong E., Chin R., Lam C., Lam Y. Acta Obstet Gynecol Scand 1990; 69(7-8): 609-611.
169. Zakrgynska-Fontaine V., Doré J.C., Ojasoo T., Poirier-Duchêne F., Viel C. Biol Trace Elem Res 1998, 61; 151-168.
170. Burguera J.L., Burguero M., Alarcón O. Trace Elem Med 1986; 3(3): 117-120.
171. Deening S., Weber Ch. Am J Clin Nutr 1974; 31; 1174-1180.
172. Burguera M., Burguera J.L., Garabato A., Alarcón O. Trace Elem Med 1988; 5(2); 60-63.
173. Show J.. Am J Dis 1979; 133: 1260-1268.
174. Bhandari N., Bahl R., Taneja S. Brit J Nutr 2001; d8: 5131-5137.
175. Moro R., Gialanella G., Zhang Y., Perrone L., Di toro R. Electrolytes Health Dis 1992; 6(1): 27-31.
176. Gibson R., DeWolfe M. Pediat Res 1979; 13: 959-962.
177. Sakai T., Woriishi M., Nishiyama K. Biol Trace Elem Res 2000; 77; 43-51.
178. Wilhelm M., Lombeck I., Ohnesorge F.. Science Total Environ 1994; 141: 275-280.
179. Hambidge K. Am J Clin Nutr 1994; 60-573-575.
180. Nakomura T., Nishiyumo S., Futagoishi-Suginohara Y., Matsuda I., Higashi A. J. Pediatr 1993; 123: 65-69.

181. Hatano Sh, Nishi Y., Usui T. Am J Clin Nutr 1982; 35; 120-126.
182. Cordono A., Baertl J., Barcome C. Pediatr 1964; 34; 324-326.
183. al-Othman A., Rosentein F., Lei K. J Nutr 1994; 124; 628-635.
184. Borch-Iohnsen B. Nut-Res 1994; 14; 1643-1646.
185. Perveen S., Altaf W., Vohra N., Rautista M., Harper R., Wapnir R. Early Hum Develop 2002; 69(Iss 1-2); 15-23.
186. Kauf E., Weisner W., Niese S., Plenert W. Acta Paediatr Hung 1984; 25(3); 299-307.
187. Weber Ch, Nelson G., Vasquez de Vaquera M., Pearson P. J Trop Pediat 1990; 36; 230-234.
188. Lönnnerdal B. Nut Rev 2000; 58(8); 223-229.
189. Dorea J. Nut Res 2000; 20(11); 1645-1687.
190. Celada A, Brusset R., Gutiérrez J., Herreros V. Helv Paediat Act 1982; 37: 11-16.
191. Dornelóf M., Lönnnerdal B., Dewey K., Coriel R., Hernell G. Am Soc Clin Nutr 2004; 79; 111-115.
192. Zabaleta N., Nombera J., Rojas R. Nutr Res 1995; 15: 681-690.
193. Loh T., Sinnstury T. Aust J Obst Gyn 1971; 11; 254-258.
194. Picciano M., Guthrie H. Am J Clin Nutr 1976; 29; 242-254.
195. Fransson G., Lönnnerdal B. Am J Clin Nutr 1984; 39; 185-189.
196. Tabla de Composición de Alimentos. INN. 2001.
197. Tarcan A., Gürakan B., Tiker F, Özbek N. Biol Neonate 2004; 86; 22-28.
198. Michalke B., Munch D.C., Schramel P. J Trace Elem Electrol Health Dis 1991; 5(4); 251-258.
199. Bratter P., Negretti de Bratter B., Jaffe W., Mendez Castellano H. J Trace Elem Electrol Health Dis 1991, 5; 269-270.
200. Bratter P., Bratter V., Recknagel S., Brunetto R. J Troce Elem Med Biol 1997; 11(49); 203-209.

www.bdigital.ula.ve

201. Silvestre M., Lagarda M., Farré R., Martinez-Costa C., Brines J. Food Chem 2000;68; 95-99.

202. Food and Nutrition Board, National Research Council, NAS: Recommended Dietary Allowances, 11^a ed. Washington DC, National Academy Press. 1989.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO 2.

**TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS
PARA LA DETERMINACIÓN DE Cu, Fe, Zn y Mg.**

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO 2.

2.1. INTRODUCCIÓN.

El término preparación o tratamiento de muestras significa que la muestra o emplearse con el método de análisis elegido debe ser de tamaño y forma correcta. En la actualidad, la preparación de una muestra es el paso del análisis que consume más tiempo y está más expuesto a errores.¹ Sin importar que tan simples o complejos parezcan los procedimientos, hay principios generales aplicables a todo tipo de preparación de muestras;^{1,2}

1.- La preparación de la muestra debe realizarse sin perder ninguno de los analitos.^{1,2}

2.- La preparación de la muestra debe incluir la transformación del analito a la mejor forma química para el método de análisis que se va a emplear.¹

3.- La preparación de la muestra incluye en ciertos casos la eliminación de algunas interferencias de la matriz. Cuando el método de análisis está menos expuesto a interferencias, se dice que tiene mayor especificidad, por lo tanto, los pasos de la preparación de la muestra se simplifican considerablemente.^{1,2}

4.- La preparación de las muestras debe realizarse sin agregar nuevas interferencias. Se deben elegir las condiciones que eviten adicionar interferencias procedentes de reactivos o recipientes de reacción y evitar la contaminación.^{1,2}

5.- La preparación de las muestras debe incluir, en caso necesario, la dilución o la concentración de los analitos para que sus niveles queden dentro del mejor intervalo para el método que se aplica. La preconcentración mejora la sensibilidad.

La preparación de muestras para análisis depende de la técnica analítica, de la naturaleza de la matriz biológica, de la composición de los elementos, del elemento a ser determinado y su nivel de concentración.^{1,3}

El análisis de los bioelementos en muestras biológicas es de gran ayuda para determinar sus niveles en el organismo. Las muestras biológicas, se caracterizan por poseer cantidades extremadamente pequeños de los elementos a ser determinados y por los enormes excesos de matriz (materia orgánica) que producen una interferencia importante para la determinación de estos constituyentes, por lo que se hace necesario su remoción; sin embargo este análisis nos permite conocer cuales de ellos están en grandes cantidades y cuales en déficit, conduciendo estos dos parámetros a enfermedades o a bondades en los seres vivos.³ Los bioelementos son importantes en el metabolismo humano, ya que todos los animales en crecimiento son más susceptibles a su déficit; de ahí la importancia que sobre la nutrición y lo salud tiene el conocimiento de sus funciones.¹

Para el tratamiento adecuado de las muestras es necesario comenzar con la digestión de los materiales biológicos, ya que en su mayoría son sólidos insolubles en agua o en solventes orgánicos y para el análisis, la forma líquida es la requerida.^{2,3}

La materia orgánica que constituye a los seres vivos contiene cantidades pequeñas de elementos trozas alrededor de ppm (mg/kg o mg/L) y ppb ($\mu\text{g}/\text{Kg}$ o $\mu\text{g}/\text{L}$). Los cuales se encuentran en niveles fisiológicos cumpliendo o ayudando en alguna función vital del organismo; una alteración de estos niveles ocasiona desordenes en los tejidos surgiendo la necesidad de ser determinados por diferentes técnicas de medición; conocer la forma en que está presente el elemento de interés en la muestra, es importante para decidir cual método de digestión del material biológico será aplicado.³

Hasta los momentos actuales se han realizado muchos trabajos en relación a

los elementos traza debido al gran avance de los métodos analíticos que permiten medir con gran precisión y exactitud sus concentraciones en los diversos tejidos y fluidos biológicos.⁴ Los métodos más utilizados para la determinación de cobre, cinc, hierro y magnesio, en muestras biológicas, son la combinación de las técnicas de inyección en flujo y espectroscopia de absorción atómica en llama, así como la espectroscopia atómica con atomización electroterma, y por ello se necesita que las muestras se encuentren en solución y sin interferencia de matriz, siendo necesario el tratamiento de las muestras mediante la digestión.^{3,4,9}

La importancia de determinar los elementos Cu, Fe, Zn y Mg en pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humana (descrito en el capítulo 3).

El objetivo de este capítulo es determinar a través de la literatura los métodos de digestión o tratamientos necesarios, para la determinación de los bioelementos, Cu, Fe, Zn y Mg en muestras biológicas (pelo, uñas, leche humana / suero sanguíneo) por espectroscopia de absorción atómica.

2.2. DEFINICIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS.

Muestra biológica es la parte o fracción elegida de los seres vivos, que se obtiene con el fin de investigar sus propiedades, como los elementos trazos entre otros.¹

2.2.1- Clasificación de muestras biológicas.

Las muestras biológicas se pueden clasificar en;

a-. Muestras sólidas,

Estas muestras sólidas generalmente son heterogéneas y son clasificadas como;

- a.1. Tejido duro; hueso.
- a.2. Tejido semiduro; pelo y uñas.
- a.3. Tejidos suaves; lo mayoría de órganos del cuerpo.
- a.4. Excretas; heces.

Las muestras de órganos, tejidos y fluidos biológicos de los seres humanos se trabajan con rigurosas precauciones y en condiciones estériles; en el caso de los órganos y los tejidos, estos tienen el ventaja de una menor contaminación con respecto a los fluidos biológicos, pero con desventajas de homogeneidad y con la dificultad de obtener verdaderamente muestras representativas.¹

b. Muestras líquidas.

Estas muestras son emulsiones y suspensiones. Las emulsiones son: leche, suero sanguíneo y líquido seminal. Los demás fluidos biológicos son suspensiones y los más estudiados son: líquido cefalorraquídeo, intestinal, pancreático, prostático, biliar, jugo gástrico, líquido sinovial, etc. Para la toma de muestras de pelo, uña, leche materna, saliva, heces y semen, se deben mantener las condiciones higiénicas aunque no necesitan ser tomados en condiciones estériles; ya que se pueden tomar muestras en forma continua o por largos períodos, como a nivel postnatal con las leches calostro, transición y madura. Es importante la edad, dependiendo si se trata de un recién nacido, un niño o un adulto. Debemos considerar las condiciones dietéticas; como ser vegetariano, tener dietas especiales o restricciones nutricionales. El stress, los hábitos del individuo, el alcoholismo, el tabaquismo, etc, todas estas son condiciones o ser evaluadas siempre ya que modifican los niveles corporales.¹

2.3. DIGESTIÓN.

La preparación de muestras es un paso crítico durante cualquier proceso de análisis. La digestión o mineralización es entendida como la disolución de un sólido o un líquido con la destrucción de la materia orgánica, asistida con un

ácido, una base, un agente oxidante o enzimas; siendo este uno de los métodos clásicos para eliminar matrices que interfieren en la determinación del analito, se aplica a algunos fluidos biológicos y a todos los tejidos que se quieren analizar.³

La determinación de elementos traza en materiales biológicos, presentan interferencia de matriz, por lo que varios tratamientos de muestras han sido propuestos para suplir estos problemas, entre estos métodos se encuentran: digestión por vía seca y digestión por vía húmeda.^{4,10}

2.3.1. Digestión por vía seca.

La digestión por vía seca es una de las técnicas más antiguas y consiste en el proceso por el cual la muestra es oxidada por aire a altas temperaturas (400 - 800 °C). Aunque este método requiere largos períodos de tiempo, es atractivo debido a la poca participación del operador, además se pueden emplear grandes tamaños de muestras y no es necesaria la adición de reactivos durante el proceso, disminuyéndose así la posibilidad de contaminación por manipulación, lo que la hace más simple y segura.^{11,12}

La contaminación puede ser un problema debido a que la muestra está en contacto con el aire por extensos períodos y las partículas de polvo provenientes del mismo pueden ser fácilmente atrapadas por la muestra. Por otra parte los elementos provenientes de las paredes del horno de calentamiento constituyen una fuente de contaminación. La materia orgánica contiene apreciables niveles de sustancias que forman residuos de ácidos insolubles durante la descomposición, estos residuos atrapan elementos traza que no son recuperados, lo que origina pérdidas de analito.¹³

Desde hace años, varios investigadores han determinado la pérdida de analito durante estos procesos. Sin embargo, Jorhem¹³ y Koirtyuhann y cols,¹⁴ demostraron que no hubo pérdidas cuando se utilizan temperaturas por debajo

de 600 °C.

Cabe destacar que la digestión por vía seca tiene las siguientes ventajas:

- a) Simplicidad.¹⁵
- b) Poca supervisión.¹⁵
- c) Posibilidad de utilizar muestras grandes.¹⁵
- d) No se añaden reactivos durante el proceso.¹⁵

Como desventajas de la digestión por vía seca tenemos las siguientes:

- a) Tiempos largos de digestión,^{15,17}
- b) Contaminación por contacto con el aire.¹⁵
- c) Retención de analito por las paredes del recipiente.¹⁵
- d) Volatilización de un gran número de elementos.^{15,17}

La utilización de la digestión por vía seca ha disminuido en los últimos años, aunque sigue siendo una alternativa como método de descomposición de muestras biológicas.¹⁵

2.3.2. Digestión por vía húmeda.

La digestión húmeda es un proceso que se realiza en fase líquida donde se destruye u oxida la materia orgánica por calentamiento de la muestra en presencia de un ácido mineral (HNO_3 , H_2SO_4 , HCl) o mezcla de ellos y en algunos casos junto a un oxidante fuerte (H_2O_2 , HClO_4); llevándose a cabo dicho proceso a presión atmosférica, tanto en envases abiertos como cerrados, y a altas presiones en bombas cerradas.^{18,19}

Esta digestión es el método más comúnmente empleado por ser más rápido y eficiente, además de que se disminuye el riesgo de pérdidas de los elementos más volátiles. Sin embargo existe el riesgo de la contaminación y peligro

debido al manejo de ácidos concentrados. A pesar de su eficiencia, este métodos todavía consume mucho tiempo ya que los mismos involucran varias etapas, también están sujetos a contaminación y pérdidas de elementos volátiles, son difíciles de automatizar y son riesgosos tanto para el operador como para el ambiente de trabajo.^{18,19}

La mineralización húmeda utiliza varios mililitros de ácido y varios horas de calentamiento entre 100 - 200 °C son requeridas para la descomposición de alrededor de 1 g de cualquier tipo de muestra mineral.^{18,19}

El proceso de mineralización idealmente debe cumplir los siguientes requisitos:

- 1.- Que varios elementos pueden ser determinados con la misma digestión.^{6,18,19}
- 2.- Que la descomposición de la muestra sea fácil y rápida.⁶
- 3.- Que se use un volumen mínimo de ácido.⁶
- 4.- Que el mismo procedimiento puede ser aplicado a una gran variedad de muestras.^{6,18,19}
- 5.- Que conduzca a una excelente precisión y exactitud en los resultados obtenidos.^{6,18,19}

La necesidad de lograr todas estas ventajas ha conducido a la utilización de la energía de microondas como fuente de calentamiento en los procesos de descomposición de las muestras para propósitos analíticos.²⁰

2.3.3. Digestión por vía húmeda asistido por microondas.

La utilización de las microondas como fuente de energía ha tenido un profundo impacto en el campo de la preparación de las muestras biológicas destinadas al análisis de elementos traza.²¹ La digestión asistida con microondas se basa en la remoción de la materia orgánica de las muestras con mezcla de ácido nítrico, ácido perclórico y ácido fluorhídrico. Este sistema, ofrece una

descomposición rápida de la matriz, con poca pérdida del analito por volatilización, usa poco volumen de ácido, produce poco carbón y con menor fuga de gases de los ácidos.¹⁰

Las variables más importantes a considerar para la digestión ácido de las muestras biológicas por el sistema de calentamiento por microondas son, el poder aplicado, el tiempo de digestión, el número de muestras y el poco volumen de los ácidos utilizados¹⁰

El interés de aplicación de las microondas radica en el ahorro de tiempo, las microondas ofrecen gran velocidad de calentamiento en contraste con los procesos tradicionales que son largos y tediosos. Algunos autores han visto a la digestión con microondas como una alternativa de los métodos de digestión convencionales por lo que han comparado su efectividad tanto con la digestión seca²² como con la humedad.^{23,24}

Desde 1975 se viene utilizando el horno microondas doméstico para la digestión de muestras biológicas y se ha incrementado su aplicación con fines analíticos para descomponer muestras y para aumentar la velocidad del proceso en relación con los métodos convencionales, siendo más seguros, además de que son mínimas las posibilidades de contaminación y se reducen las cantidades de reactivos necesarios para la digestión.²⁵

Las microondas son energía del tipo de radiación por ionizante que causa movimiento molecular tanto por migración de iones como por rotación de dipolos que no causan cambios en la estructura molecular.^{26,27}

La radiación electromagnética es una clase de energía que se transmite por el espacio a enormes velocidades, adoptando diversas formas siendo las más fácilmente reconocibles la luz y el calor radiante; presenta una longitud de ondas entre 1 mm y 1 m, cubriendo un rango de frecuencia desde 300 a 300.000 MHz.^{26,27} Muchas de las propiedades de esta radiación se describen

con un modelo clásico que utiliza parámetros como longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud, el cual se represento como un campo eléctrico y otro magnético que están en fase con oscilaciones sinusoidales en ángulo recto tanto de uno respecto al otro como con la dirección de propagación.^{27,28}

Comúnmente se usa 2 450 MHz en aparatos comerciales diseñados para uso domestico y analítico. La potencia que se genera en un horno de tipo domestico o de tipo analítico cubre un rango de 600 - 700 W, lo cual se traduce en una entrega energética de 8.598 a 10.531 cal/min.²⁷

El calentamiento del microondas es en el centro del producto, por pérdida dieléctrica, creando un gradiente de temperatura que propaga el calor desde el interior hacia el exterior del producto a calentar.³ (ver Figura 2.1)

Si un material no transparente a microondas absorbe este tipo de radiación, este experimenta un aumento considerable de temperatura, resultante de un movimiento molecular del material que también contribuye al calentamiento del mismo. Esto es lo que determina el mecanismo general de interacción de las microondas con el ácido o la mezcla de ácidos utilizados para lograr la digestión de la muestra.²⁷

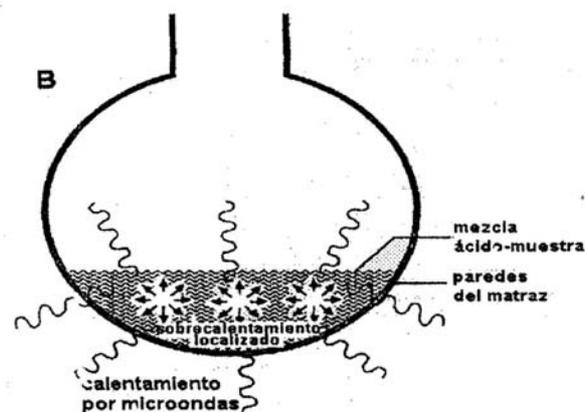


Figura 2.1. Calentamiento por microondas.

La instrumentación de un horno de microondas para digestión con fines analíticos consta fundamentalmente de 6 componentes: magnetrón, guía para los microondas, cavidad, distribuidor de ondas, circulador y bandeja rotatoria. La radiación producida en el magnetrón es conducida por la guía de microondas hacia la cavidad donde es repartida por el distribuidor y el circulador en direcciones específicas que permiten una mayor irradiación de la zona del centro de la cavidad. La bandeja rotatoria permite exponer la muestra a una irradiación más o menos homogénea y reproducible.^{29,30} (ver Figura 2.2)

La potencia de la radiación emitida por el magnetrón se controla mediante la fijación de ciclos de operación en forma discontinua. Estos ciclos de trabajo definen la relación de tiempo en el cual el magnetrón permanece activo o inactivo. Generalmente, en los sistemas diseñados para uso analítico, el ciclo de trabajo del magnetrón tiene como base 1 segundo.^{27,30}

www.bdigital.ula.ve

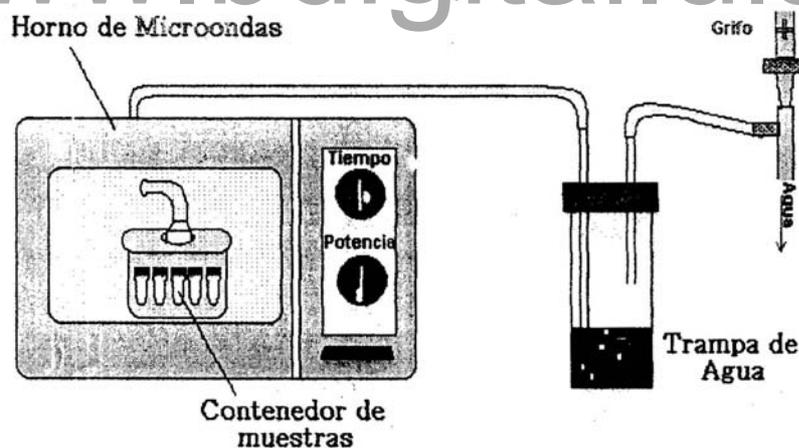


Figura 2.2. Digestión húmeda utilizando microondas

El recipiente para la digestión debe cumplir la condición de no absorber los microondas. Desde el punto de vista de transparencia el teflón PFA y el polietileno son los materiales más apropiados. Sin embargo su estabilidad térmica limita su aplicación a condiciones donde la temperatura no alcance valores

superiores a los 270 °C durante la digestión.^{29,30}

La digestión por vía húmeda utilizando microondas es más rápido, eficiente y seguro siendo una alternativa para el tratamiento de muestras biológicas en el análisis de elementos traza, por tal razón se utilizará en el tratamiento de las muestras semiduras y líquidas.²⁵

En la digestión utilizando horno microondas existe un procedimiento general para las preparaciones de muestras biológicas y su posterior análisis; se recomienda utilizar envases cerrados con el fin de evitar la pérdida del analito y obtener una recuperación completa.^{7,30,31}

Samra y cols,³² fueron los primeros en utilizar el horno microondas para la digestión de plantas y tejidos de animales usando mezcla de ácidos. Desde entonces, varios autores han aplicado esta técnica para la digestión ácida de muestra de tejidos biológicos y muestras ambientales.

La determinación de los elementos biogénicos en la nutrición humana es un área de gran interés en la investigación, con el fin de identificar su posible rol en los procesos metabólicos y el origen de sus alteraciones. Existe desde muchos años gran interés por el suero sanguíneo³³⁻⁴⁰ y la leche humano,⁴¹⁻⁴³ mientras que en la última década por el pelo y las uñas, por ser matrices de eliminación de sustancias del cuerpo, que reflejan el status corporal de los seres humanos.^{44,45}

2.4. PELO Y UÑAS.

Aunque la persona no esté experimentando un problema severo, los cambios anormales en la química corporal y las deficiencias nutricionales pueden resultar en cambios tempranos y sutiles en el cuerpo, tales como; pelos quebradizos y resecos, escasez o caída del cabello, puntos blancos en las uñas, uñas quebradizas, estrías, falta de crecimiento, cambios de estado de

ánimo, etc. Las personas que requieren un examen mineral del pelo son todos aquellos enfermos en los que no se encuentra una causa aparente a su patología o cuando se conoce la causa pero la terapia utilizada no es completamente efectiva. El análisis del pelo abre una nueva visión para resolver los problemas específicos al reconocer la individualidad bioquímica de los seres humanos. Estos cambios son signos tempranos de alteraciones metabólicas y pueden llevarnos a serios problemas si no se revisan.⁴⁶

Todos estamos acostumbrados a la toma de exámenes de sangre, de orina, radiografías, etc. Pero pocas personas saben que el cabello y los uñas son también unos muestras de nuestro cuerpo que puede ser útil en el diagnóstico y el seguimiento de tratamiento de las enfermedades. El pelo y las uñas pueden ser recolectado sin traumatismo, puede ser almacenadas sin que se deteriore y su contenido ($\mu\text{g/g}$ para: As 0,27; Ca 2151,2; Fe 40,6; Se 0,60; Zn 187,7) se puede analizar fácilmente. Por eso, el pelo es cada vez más usado como muestra de análisis mineral para diagnóstica a las enfermedades.^{46,47}

El pelo como material biológico para la determinación de oligoelementos ha adquirido utilidad en los últimos años. Su aplicación para la evaluación del estado nutricional sustituye en muchos casos a otras muestras tradicionales como la sangre y la orina, debido a sus ventajas.⁸ Sin embargo estos beneficios que presenta el pelo, como indicador, requiere de una buena recolección y preservación de las muestras.

La razón básica radica en que los minerales están involucrados en casi todas las reacciones enzimáticas en el organismo. Sin la actividad enzimática, la vida dejaría de existir. Un análisis mineral del pelo es una medida útil, como herramienta de monitoreo de ciertos elementos traza.⁴⁹

Los elementos traza son retenidos en el pelo, ya que este contiene un 15% de agua, un 80% de proteínas, pequeñas cantidades de lípidos y materiales inorgánicos. La proteína que contiene se llama queratina, la cual es estable y

homogénea; y contiene grupos disulfuros y sulfhídricos que le dan la capacidad para concentrar metales y elementos a nivel de trazas.⁵⁰ El pelo está constituido por la médula, la cual está presente en el cabello, la capa media que es la corteza que proporciona fuerza y textura al cabello, la capa externa llamada cutícula, es fina e incolora, la raíz que se encuentra cubierta por un folículo cuya base es la papila, que se alimenta de la corriente sanguínea que lleva los nutrientes para que se produzca un nuevo pelo.⁴⁷

Pan y cols,⁵¹ refieren que el pelo es una matriz que ofrece numerosas ventajas para la determinación de elementos traza (E.T.) y que es mejor que la sangre para obtener evidencias más directas del metabolismo corporal, puede ser recolectado fácil y rápidamente sin dificultad de contaminantes extraños, con excepción de algunos residuos cosméticos (E.T. exógeno).

Las uñas son derivados duros de la epidermis que aparecen como resultados de la proliferación en capas germinales de la matriz de la uña. Al crecer, las células germinales empujan el cuerpo de la uña distalmente sobre el lecho de éstas. Durante el crecimiento, la actividad mitótica de división celular de la matriz se convierte en láminas duras.⁵² Las uñas están constituidas por células muertas que contienen una proteína fibrosa, la queratina. Cada uña posee una base o raíz, que es la parte que penetra en la piel; un cuerpo, que tiene una cara exterior y otra interior unida a la piel; y el borde, el extremo final libre. La piel que está por debajo de la raíz y del cuerpo se llama matriz de la uña; es delgada y está cubierta de papilas vascularizadas, y debido a que el material corneo es transparente, éstas le confieren a la uña su color característico. Cerca de la base hay menos papilas y están menos vascularizadas; es la parte más blanca y o causa de su forma peculiar se llama lúnula.⁵²

El crecimiento de las uñas se debe a la división de células en la base y en la cara interna del cuerpo de la uña. La composición elemental de la porción distal de la uña refleja la composición de la división celular, así como también de las alteraciones por eventos metabólicos o del medio ambiente. Por la bajo tasa de

crecimiento de la uña y del pelo podrían no ser afectados por los factores que perturban los niveles de minerales en el suero y así ser fiables indicadores de todo el metabolismo mineral.⁵² Las estructuras homólogas en los animales son las pezuñas de los caballos y las garras de los aves y mamíferos.

2.4.1. Recolección y conservación de las muestras de pelo y uñas.

Muestras de Pelo: La toma del pelo debe realizarse aproximadamente en 10 lugares diferentes, recogiendo en cada sitio por lo menos de 5 a 10 hebras de pelo; la región occipital muestra menor variabilidad en el contenido de los elementos traza. El corte se debe realizar con una tijera de acero inoxidable y luego se debe almacenar en bolsitas plásticas hasta el momento del análisis.^{53,56} Si el pelo ha recibido tratamientos artificiales, se recomienda esperar 10 semanas⁴⁸ o 4 meses⁵⁶ para cortar los primeros 2,5 cm, lo más cercano posible al cuero cabelludo, para evitar la contaminación.^{48,56} El peso de la muestra de pelo para la determinación de metales oscila entre 0,5 y 1,0 g en función del elemento que se va a determinar y del procedimiento analítico a utilizar.⁵⁷ aunque otros autores mantienen un rango de 30 a 300 mg para estas muestras.^{52,58,65}

Muestras de uñas. La toma de las uñas debe realizarse corlando las uñas de los dedos de la mano con un corta uñas o tijera de acero inoxidable y se almacenaran en bolsitas plásticas previamente rotulados hasta el momento del análisis.^{62,63} El peso de la muestra de una oscila entre 5 y 10 mg⁶⁶ aunque es tan variable el peso de la uña para procedimientos analíticos que otros estudios^{62,64} reportan un rango desde 1 hasta 50 mg, dependiendo del elemento que se va a determinar

2.4.2. Tratamiento para preparar muestras de pelo y uñas.

Lavado.

El pelo y la uña son dos tipos de matrices que por su condición están

expuestas a diversos factores de contaminación, por lo que antes de iniciarse el proceso de digestión se debe realizar un minucioso proceso de limpieza para remover lípidos, aceites, cosméticos, etc. o para eliminar cualquier residuo que aporte una cantidad adicional del elemento a analizar.¹

Es importante destacar que el lavado de las muestra; de pelo juega un papel muy importante en la determinación de elementos traza en esta matriz, considerándose como un paso crítico; sin embargo no hay un método estándar a seguir la eliminación de la contaminación de la superficie es prioridad para el análisis debido a la posibilidad de contaminación ambiental.^{56,61,65,70}

Varios métodos de lavado del pelo utilizan acetona y agua, con secado al aire,^{51,58,61,62,65,73} además, hoy variantes el método de lavado como, agua, acetona y éter,⁷¹ agua bidestilada y acetona,⁵⁸ acetona y metanol,⁶³ agua desionizada y mezcla de metanol-acetona,⁷⁴ teniendo como desventaja el prolongado tiempo empleado; sin embargo Weber y cols,⁵⁵ sostienen que este método solo remueven el sucio y el polvo, sin evidencias de que remuevan los elementos traza que se encuentran en el pelo. Algunos autores^{55,60,70} utilizan detergentes a diferentes concentraciones, sin ofrecer detalles, solo que producen mucha espuma, lo que hace difícil el lavado. Es necesario conocer el producto a utilizar, ya que puede afectar significativamente los niveles de concentración de algunos oligoelementos, pudiendo obtener falsos resultados.

Hay diferencias sustanciales en la composición de los elementos de la uña humana que se deben tener presente en el pretratamiento de estas, ya que los métodos de lavado son muy variables, Sohler y cols,⁶⁴ utilizaron detergente, agua y acetona; Vance y cols,⁶² usa agua y acetona; mientras que Wilhelm y cols,⁶³ utiliza Tritón-X-100 al 1%, agua destilada, acetona y metano. Muchos otros investigadores⁶³ han usado amplios procedimientos de lavado para minimizar la contaminación ambiental (solventes: a) acetona, benceno, éter, alcohol; b) agua destilada o desionizada; c) detergentes acuosos; y d) agentes oxidantes o reductores incluyendo ácido clorhídrico, Hidróxido de amonio y

ácido barbitúrico amoniacal; en combinación con removedores mecánicos o ultrasonido). Sin embargo, los procedimientos de lavado conllevan al riesgo de extraer elementos unidos a la matriz ungueal.⁵² Para determinar si la variabilidad de la composición elemental de las uñas podría ser explicada por estas "soluciones lavadoras" usadas por los diferentes investigadores.

Bank y cols.⁵² lavaron las uñas con nueve solventes (hexano, ETHO-éter, acetona, H₂O₂, ETHO, H₂O, Tritón-X-100, Tween-80, ácido barbitúrico y 0,6 mol/L HCl) y midieron la composición elemental de sus residuos por espectroscopia de absorción atómica o análisis por dispersión de energía. La variabilidad sustancial se halló al recuperar los elementos específicos después del tratamiento con los nueve solventes usados para limpiar las uñas y cada solvente afectó en forma individual y diferente a los elementos, obteniendo los siguientes resultados:

- 1.- Las uñas tratadas con solventes orgánicos presentaron menor pérdida de elementos que por los detergentes acuosos.⁵²
- 2.- Los ácidos acuosos causaron las mayores pérdidas.⁵
- 3.- Los solventes orgánicos extraen más rápidamente hierro y el magnesio que al calcio, el cobre y el cinc.⁵²
- 4.- Virtualmente todo el magnesio se extrajo por agua destilada o detergentes acuosos.⁵²

Según la literatura consultada,^{51,58,61,68,71,72,76,78} el método mas utilizado en el proceso de limpieza de pelo y una consiste en lavar el material con agua desmineralizada y varias porciones de acetona, y realizar el proceso de secado en estufa; en el que se exponen las ventajas obtenidas con este procedimiento, entre las que resultan la sencillez, la rapidez y la confiabilidad de los resultados. Por lo tanto, el procedimiento para el lavado del pelo y de las uñas más adecuado es el siguiente:

- Las muestras de pelo se deben lavar con tres porciones de agua-acetona (1:1

v/v). Luego recibir un secado en estufa de 105 °C por 1 hora.

- Las muestras de una recibirán el mismo procedimiento pero se secan a temperatura ambiente por unos minutos.

Digestión.

Las muestras de pelo y uñas no son solubles en agua ni en solventes orgánicos. Así, para el análisis de las mismas se impone descomponer la materia orgánica con un tratamiento previo.³

Luego de finalizar la etapa de lavado y secado de las muestras de pelo y uñas, y antes de determinar las concentraciones de los elementos o analizar, es necesario modificar estas muestras de alguna manera, haciéndose necesario una etapa de digestión previa.³

Los procedimientos de digestión deben producir un líquido incoloro, homogéneo y libre de partículas. Realizan los cuidadosamente para evitar la contaminación de las muestras de pelo y de uñas.⁷⁸

Friel y cols,⁶⁹ y Zachwiwja y cols⁷⁹ señalan que la digestión por vía húmeda, es el método de elección para las muestras de pelo y de uñas. En estos procesos se han utilizado el ácido nítrico, el ácido perclórico y al ácido sulfúrico, o mezclas de ellos a determinadas proporciones. Así mismo han utilizado las mezclas de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno. Mientras que Henderson y cols,⁸⁰ utiliza para la digestión húmeda, soluciones de ácido clorhídrico o sulfúrico aproximadamente 0,1 M y el tiempo de incubación necesario para obtener un buen rendimiento de recuperación es de 12 a 18 horas; considerando este método muy eficiente a pesar de que el ácido clorhídrico es muy cáustico y requiere gran precaución en su manejo Junto al prolongado tiempo requerido.

La literatura^{10,56,57,63,77} señala a la digestión húmeda por calentamiento

convencional, donde se utiliza mezclas de ácidos, sin detallar el procedimiento. Otros investigadores^{55,60,73,76} utilizan la digestión húmeda con calentamiento convencional sin mezclas, solo ácido nítrico. Sin embargo Bagliano,⁶⁵ considera que la digestión húmeda tiene muchas ventajas en relación a la seca, porque la pérdida de elementos volátiles esta reducida y usa pocos mL de ácido, además señalo que lo mejor mezcla de ácidos es HNO₃ y HClO₄, siendo menos explosiva en las cantidades utilizadas y ofreciendo menor contaminación.

Por otra parte, Sorenson y cols⁷³ no utilizaron mezcla, solo HNO₃ concentrado para digerir y evitar pérdidas potenciales de los elementos traza de las matrices digeridas; para ello se mantuvo un hervor reducido en la plancha y así controlar la pérdida de los metales en los vapores; también señalaron como ventaja que se podían digerir una cantidad de muestras entre 40 a 50 beakers a la vez. Además, otro de los procedimientos utilizados es la digestión alcalina, que consiste en la incubación de la muestra en una solución de hidróxido de sodio 1M a 100 °C durante una hora; considero que este método es más eficiente para destruir las proteínas de la matriz^{5,70}

Otros estudios^{10,71,74} utilizan la digestión húmeda asistida con horno de microondas, como un método de preparación de muestras rápidas para la determinación de elementos traza en muestras biológicas, ya que la descomposición de la matriz es rápida, se observa poca pérdida de elementos traza debido a la poca volatilización, además, al utilizar pocos volúmenes de ácido hay menos fuga de gases de estos. En cuanto al pelo y la uña, este sistema permite una rápida y completa digestión, al utilizar temperaturas superiores a 150 °C, y luego de la destrucción de la matriz, se liberan las trazas de los metales en el ácido nítrico. Posterior a la digestión, para realizar el análisis de los elementos traza, la muestra es llevada a un volumen apropiado utilizando agua desionizada.

Kojima y cols,¹⁰ consideran que se debe seleccionar bien el procedimiento de

digestión a utilizar, en vista de las múltiples dificultades en la liberación de los elementos traza de la matriz. Ellos sostienen que la digestión ácida de muestras en microondas actualmente tiene mayor demanda y en ella lo más importante es la potencia aplicada, el tiempo de digestión, el número de muestras y el volumen de los ácidos utilizados; además de resaltar las bondades de este tipo de digestión, debidas a su sencillez, seguridad, el corto tiempo empleado, el uso de calor, reduce el valor del blanco, reduce la contaminación cuando el sistema es completamente cerrado, es aplicable a diferentes muestras y es automatizado; contrario a los métodos de calentamiento convencional por conducción, radiación o convección. La radiación por microondas no es absorbida por las paredes de los vasos, solo por las muestras y los ácidos.

Burguera y Burguera,³¹ coinciden grandemente con Kojima y cols,¹⁰ y Sakai y cols,⁷⁴ resaliendo la importancia del proceso de digestión húmeda asistida por microondas que destruye la materia orgánica, convirtiendo a los constituyentes orgánicos en inorgánicos y libera lo que puede interferir en las medidas instrumentales; junto a las ventajas antes señaladas, este método de digestión se aplica a muestras de diferente naturaleza y puede ser acoplado "on line" a diferentes métodos analíticos. Recientemente la digestión ácida asistida con microondas ha tenido gran aceptación como ayuda en la disolución de las muestras biológicas.^{10,20,31,61,81} Por lo antes expuesto se recomienda utilizar la digestión húmeda asistida con microondas para las muestras de pelo y de uñas.

En la Tabla 2.1. se muestran algunos tratamientos aplicados en el análisis de Cu, Fe, Zn y Mg en muestras de pelo.

En la Tabla 2.2. se muestran algunos tratamientos aplicados en el análisis de Cu, Fe, Zn y Mg en muestras de uñas.

Tabla 2.1. Tratamientos aplicados a la digestión de muestras de pelo.

Elementos	Pretratamiento	Método de digestión	Referencia
Cu, Zn, Pb, Cd	Lavado con detergente. Enjuague con agua, acetona y éter Secado con filtros de papel.	Húmeda. Calentamiento convencional 1. HNO ₃ concentrado 10 mL. Toda la noche. 2. Calentamiento en plancha hasta secarse Adición 5 mL HNO ₃ . 3. Se repite el proceso. 4. Residuo llevado a 5 mL con HNO ₃ 10%.	73 (1973)
Fe, Mg, Ca, Cu, Zn	Beaker: 250 mg pelo + detergente al 0,1% sin Zn detectable. Etanol 95% y etil éter.	Húmeda. Calentamiento convencional. 100 °C. Mezcla HNO ₃ y HClO ₄ diluido a un volumen conocido con agua desoinizada.	77 (1978)
Zn, Cd, Cr, Hg, Pb	Beaker: 100 mg pelo + acetona. Agitación por 10 minutos. Luego: 1. Lavado 3 porciones de agua 2. Lavado con acetona. Secado a temperatura ambiente por 1 día.	Húmeda. Calentamiento convencional. Adición 3 mL mezcla (5+1 v/v) HNO ₃ y HClO ₄ . Plancha 110 °C por 45 minutos. Enfriamiento a temperatura ambiente y fue llevado a 100 mL.	65 (1981)
Mg, Cu, Fe, Zn, Ca	Beaker: 200 mg pelo + acetona. Luego: 1. Lavado 3 porciones de agua 2. Lavado con acetona. Secado al aire. Disecadas con P ₂ O ₅ 48 horas.	Húmeda. Calentamiento convencional. 100 °C toda la noche. 2,5 mL HNO ₃ Luego se llevó a 10 mL.	76 (1982)

Elementos	Pretratamiento	Método de digestión	Referencia
Zr	<p>30 mg de pelo de 6 cm de largo, cortados en tijeras de acero inoxidable de la región occipital derecha, cerca del cuero cabelludo (si tenía tinta se esperaba 4 meses).</p> <p>Lavado en recipientes plásticos con solución limpiadora al 7% libre de metales no iónicos en agua desionizada. Se agitó 30 minutos. Lavado 10 veces con agua desionizada y colocada en placas de Petri plásticas. Secadas toda la noche a 70 °C.</p> <p>Transferidas a envases de vidrio lavados con EDTA y tapados con teflón.</p>	Digestión por calentamiento en una mezcla de una parte de HClO ₄ y dos partes de H ₂ O ₂ al 30%	56 (1983)
Fe, Cu, Zn, Pb	<p>Beaker: 300 mg pelo</p> <ol style="list-style-type: none"> Lavado con agua bidestilada Lavado con acetona 4 veces Lavado con agua bidestilada <p>Secado a temperatura ambiente.</p>		58 (1986)
Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn		<p>Húmeda asistida con microondas</p> <p>Mezcla HNO₃, HClO₄ y HCl y HF (2:0.3: 0.1:0.1 mL). Calentamiento medio 15 minutos.</p> <p>Para muestras 100 mg emplear 200 w.</p>	10 (1986)

Elementos	Pretratamiento	Método de digestión	Referencia
17 elementos	Se cortó 1 cm de pelo prelavado Recolectado en viales de polietileno. Lavado 5 veces sucesivas por 10 minutos con acetona-agua-acetona (agua desionizada) y luego secadas al aire. Luego conservados en viales prelavados	10-50 mg de muestra fueron irradiados por 40 horas en el Reactor MURR, a una densidad de flujo de $6 \times 10^{13} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Se utilizaron parámetros nucleares	62 (1988)
Cu, Zn, Fe, Ca, Mg, Mn	Lavado con detergente.	Húmeda. Calentamiento convencional. HNO_3 concentrado 5 mL hasta aclarar y que el ácido se evapore hasta 1 mL. Luego llevado a 10 mL	55 (1990)
Cd, Cu, Pb, Zn	Las muestras de pelo se lavaron 4 veces en acetona/metanol (1:1)	HNO_3 , HClO_4 , H_2SO_4 ; (5:2:2) a 240°C	63 (1991)
Zn, Cu, Fe	Se cortó el pelo del área suboccipital de la cabeza		59 (1992)
Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Br, Pb, Rb, Sr	50 mg de muestras de pelo limpiadas por múltiples lavados con detergentes no iónicos, agua desionizada y EDTA frío como un agente quelante. Luego secado.	HNO_3 de grado analítico al 70% por pocos minutos.	60 (1992)

Elementos	Pretratamiento	Método de digestión	Referencia
Cu, Fe, Zn	Beaker: 100 mg pelo Luego: 1. Lavado 3 porciones agua + acetona (1:1 v/v) 2. Secado en estufa 105 °C por 1 hora.	Húmeda asistida con microondas 2 mL de HNO ₃ y HClO ₄ (1:1 v/v), tapados con teflón por 12 horas a temperatura ambiente Microondas: 1º: 70 w por 5 minutos 2º: 140 w por 2 minutos.	71 (1997)
S, Hg, Se, Zn, Pb, Cd, Ni, Co, Mn, Fe, Cr, Mg, Al, Ca, Cu, Ag	0,5 g de pelo, colocados en tubo plástico y lavado con 20 mL de agua desmineralizada ultrapurificada y acetona por 10 minutos y luego secados a 60 °C por 48 horas	2/3 dilución HNO ₃ 10 N por 4 horas a 65 °C. Llevado a 10 mL.	61 (1998)
Fe, Cu, Zn	0,5-1 g de muestras de pelo. Lavado por inmersión con detergente en solución al 1%. Lavado con agua destilada. El proceso se repite 3 veces. Secado a 80 °C por 4 horas	Calentamiento a 400 °C en una mezcla de HNO ₃ y HClO ₄ (10:1)	57 (1999)
Zn, Cu, Fe Mn	Muestras de pelo lavadas con agua desionizada, mezcla metanol-acetona (1:1) durante 5 veces. Secadas	HNO ₃ en microondas. Luego se redisolvió con HNO ₃ acuoso al 0,5%	74 (2000)
Pb, Cu, Zn, Mg	200 mg lavados con acetona y agua desionizada. Juego por 2 horas. Cortadas en trozos de 3 mm de largo y colocados en viales de polietileno	HCl de 0,1 M: 4 mL	72 (2002)

Elementos	Pretratamiento	Método de digestión	Referencia
Mn, Fe	Cada muestra de pelo se lavo ultrasonicamente con 150 mL de solución dodecil-sulfato de sodio, luego enjuagado con 1 litro de agua desmineralizada. Secado durante toda la noche a 70 °C.	Digestión con 10 mL de nitrato de amonio + 2 mL de ácido hipocloroso, hasta obtener una solución clara.	82 2002
Cd	Aproximadamente 3 g de pelo se cortó de la región occipital, de 1 cm de longitud. Recolectado en bolsas de polietileno. Se pesó 1 g de muestra de pelo, fue lavado por 10 minutos en baño ultrasónico con 100 mL de acetona y agua en forma proporcional (tres veces) y de nuevo acetona. Finalmente, secado durante 24 horas a 110 °C	Determinación por Voltmetría desmontada adsorptiva u ondas cuadradas anódicas	81 2004

Tabla 2.2. Tratamientos aplicados a la digestión de muestras de uñas.

Elementos	Pretratamiento	Tratamiento	Referencia
Zn	Previo lavado con detergente y agua se lavaron con acetona 2 veces, luego secadas a 100°C por 10 minutos.	1 mg de muestras de de uñas se colocaron en tubos Pyrex, se les agregó HNO ₃ concentrado 0,04 mL, se taparon y se calentaron a 65 °C por 1 hora. Luego se le adicionó 0,96 mL de agua desionizada.	64 (1976)
Zn, Cu, Fe Mg	Muestras de uñas: Remoción mecánica del sucio, luego lavadas y secadas a 100 °C por 15 minutos	HNO ₃ concentrado	83 (1980)
17 elementos	Se cortaron las uñas con cortaúñas de acero inoxidable. Lavado 5 veces sucesivas por 10 minutos con acetona-agua-acetona-agua-acetona (agua desionizada). Luego secadas al aire. Luego conservados en viales prelavados	10-50 mg de muestra fueron irradiados por 40 x horas en el Reactor MURR, a una densidad de flujo de 6 10 ¹³ n cm ⁻² s ⁻¹ . Se utilizaron parámetros nucleares	62 (1988)
Zn, Ca, K, Na, Cl, S, Cu, Fe, Mg, Al, P	En RN: Lavado de las manos con agua y jabón y enjuagada unos pocos minutos con agua de grifo. Se secaron y se contaron las uñas. Se cubrieron con cemento conductor de carbón. Las uñas fueron cubiertas por un chisporroteo con carbón y examinadas con un microscopio electrónico Philips 500 PSEM		84 1988

Elementos	Pretratamiento	Tratamiento	Referencia
Ni	<p>Lavado de las manos con agua y jabón, secadas y limpiadas con papel.</p> <p>Las uñas fueron cortadas de la mano dominante, con tijeras de acero inoxidable. Se almacenaron en bolsas plásticas lavadas con ácido hasta su análisis.</p> <p>Se lavaron con procedimientos estandarizados. Tratadas con solución 0,1-0,5 ml de surfactante Tritón X-100 en un baño ultrasónico. Luego secado convencional durante toda la noche a 70 °C</p>	<p>Digestadas con una mezcla de ácido nítrico concentrado y ácido sulfúrico.</p> <p>Determinación por Voltametría de pulso de adsorción diferencial</p>	85 1991
Cd, Cu, Pb, Zn	<p>5-10 mg de muestras de uñas cortadas con tijeras de acero inoxidable.</p> <p>Lavadas en Tritón-X-100 al 1%, agua destilada y acetona/metanol (1:1) por 1 minuto con agitación mecánica. Secado.</p>	<p>5-10 mg de muestras de uñas secas.</p> <p>HNO₃ 65% (p/v) 300 µL.</p> <p>Calentamiento lento a 100 °C y mantenido por 1 hora.</p> <p>A temperatura ambiente la solución se diluyó con 2 mL de agua bidestilada</p>	63 (1991)
Se	<p>Las uñas cortadas fueron tratadas con solución dodecil-sulfato de sodio al 1% por 1 hora, en ultrasonido por 1 minuto, 5 enjuagues con agua purificada y secadas a 60 °C</p>	<p>Digestión ácida fluorométrica usando 2,3-diaminonaftaleno para producir el piaselenole. Método fluorométrico.</p>	86 1992

2.5. SANGRE Y LECHE HUMANA.

La sangre esta compuesta por dos partes, las células que están representadas por los glóbulos rojos, los glóbulos blancos y las plaquetas, y del plasma que es un líquido en el que estas células se hallan suspendidas. El plasma representa el 20% del líquido extracelular y es su componente dinámico, cuyo 10% aproximadamente consiste en varios solutos orgánicos e inorgánicos. Las proteínas plasmáticas representan las tres cuartas partes del total de solutos.^{79,80,83,87,89,92} Los distintos tipos de proteínas del plasma desempeñan funciones importantes, entre ellas la capacidad de transportar importantes nutrientes, tales como lípidos y ácidos grasos, así como trazas de metales, vitaminas y hormonas. El resto de los solutos consiste en nutrientes orgánicos y metabolitos, como productos de desecho y sales inorgánicas.^{87,92}

El plasma intercambia oxígeno, nutrientes, desechos y otros productos metabólicos con el líquido intersticial, al pasar la sangre a través de los vasos capilares del cuerpo. De esta manera se refresca continuamente el líquido intersticial que baña las células.^{87,92} La medición de las concentraciones de componentes específicos del plasma sanguíneo es extraordinariamente importante en medicina, puesto que permite vislumbrar la naturaleza de las alteraciones metabólicas y la efectividad de las medidas terapéuticas.⁹³

La leche humana es la principal fuente de nutrientes en la alimentación de los niños por lo menos hasta los seis primeros meses de edad, etapa de vital importancia en su formación y que posteriormente determinará su desarrollo.

La leche humana es sin duda alguno, el alimento más recomendable para el lactante. Su composición esta diseñada para dar la energía y los nutrientes necesarios en cantidades apropiadas.⁹⁴

El análisis aproximado de la leche humana revela una cantidad de 87% de agua, 1,5 % de proteínas, 3.6 % de grasa, 9.5% de carbohidratos y 0.2 % de

ceniza.^{89,95,96} En la ceniza se encuentran un grupo de elementos que son importantes para el crecimiento y desarrollo del recién nacido; estos elementos se clasifican de acuerdo a la abundancia relativa en el organismo en elementos mayoritarios o macroelementos y elementos traza.⁹⁷ La composición de la leche humana ha despertado el interés de muchos Investigadores desde hace varias décadas, debido a que se encuentra involucrada en la alimentación de los infantes en los primeros meses de vida. Cierta parte de las investigaciones realizadas en la leche, han sido orientadas hacia el análisis de los elementos traza, por la importancia que estos representan en la fisiología humana.³¹ A partir de 1973 el Comité de Elementos Traza en Nutrición Humana de la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó a los investigadores dar mayor prioridad al análisis de la leche humana sobre su contenido de elementos traza, dado que estaba limitada la información que se tenía al respecto.³¹

2.5.1. Recolección y conservación de la muestra de sangre y leche humana.

Las muestras de sangre deben recolectarse entre 7-10 a.m. y tomadas de la vena del antebrazo con jeringas plásticas libres de metales traza y aguja de acero inoxidable, luego ser transferidas a tubos de ensayo de vidrio vacutainer sin anticoagulante, en volumen aproximado de 5 mL. Estas muestras de sangre se dejan en reposo por media hora a temperatura ambiente y luego se centrifugan a 2500 r.p.m. por 15 minutos para obtener el suero sanguíneo. El suero se debe almacenar en tubos rotulados bajo refrigeración a -15 °C hasta el momento de su análisis.^{56,59,98,101}

La leche materna se obtendrá por medio de bomba eléctrica o por presión manual del seno, en los primeros cinco días después del parto. Las muestras serán Tomadas por las mismas madres a las que se les entregó un tubo de ensayo de vidrio y se les pidió que recolectaran un volumen de 10 mL. Estas se almacenan en tubos de ensayo previamente rotulado, en el congelador a

temperatura de 15 a 20 °C, hasta su análisis.^{31,102,105}

2.5.2. Tratamiento de las muestras de sangre y leche humana.

Tratamiento de las muestras de sangre:

La literatura^{89,98,100,106} revisada hace hincapié en la toma de la muestra de sangre, haciendo énfasis en la prevención de la contaminación y del instrumento utilizado para su recolección (jeringa desechable de polietileno, con la punta del embolo de goma y cierta variabilidad en el tipo de aguja: platino o acero inoxidable, tubos de venoject, tubos plásticos con o sin heparina y jeringas desechables con o sin heparina dependiendo si se quiere obtener plasma o suero respectivamente); además no reporta tratamiento para la muestra de suero sanguíneo. Mientras que para el plasma sanguíneo, Domellof y cols¹⁰⁷ utilizaron tubos tratados con heparina y el tratamiento del plasma lo realizaron con ácido nítrico al 1%, manteniéndolos en digestión por dos días, luego se amarró a 20 °C hasta su análisis.

La hora de la toma de la muestra es muy importante en la determinación de elementos traza de nuestro interés para evitar las variaciones en sus concentraciones por el ritmo circadiano del organismo.⁹⁸

Vale la pena resaltar que la cantidad de sangre a ser tomada depende de la edad y de la viabilidad anatómica de la persona, de la cantidad de determinaciones y número de elementos traza a analizar, debido a que si no se consideran estos aspectos podemos lesionar y ocasionar daños a los individuos en estudio.^{58,98,107} La centrifugación juega un papel importante en el tratamiento de las muestras de sangre para la separación del suero, no encontrando uniformidad de criterios en cuanto a las r.p.m. y al tiempo óptimo a ser utilizado.^{56,58,89,98,99,,101,106,108}

Es de interés puntualizar si los elementos traza que se desean analizar,

ameriten estudiarlos en suero o plasma; ya que si utilizamos anticoagulante obtendremos plasma una vez separada la fase líquida del paquete globular.⁸⁷

El suero o el plasma se debe transferir a tubos de plásticos o de vidrio previamente lavado con ácidos para evitar la contaminación.^{98,106,108} Alarcón y cols,⁹⁹ utilizan para el tratamiento de los tubos de plástico, el HCl 6 N. En estas muestras de suero no se debe utilizar anticoagulante durante su recolección. Para el momento del análisis químico, la literatura^{89,98,99,106,108-110} recomienda que los muestras deben ser descongeladas hasta temperatura ambiente y luego sometidas a agitación durante 20 segundos a fin de homogeneizarlas.

En la Tabla 2.3. se muestran los procedimientos aplicados en el análisis de Cu, Fe, Zn y Mg en muestras de sangre

Tratamiento de las muestras de leche humana.

www.bdigital.ula.ve

Existe cierta tendencia de analizar los fluidos biológicos sin un tratamiento previo, esto es, por simple aspiración de la muestra en el espectrofotómetro de absorción atómica, sin embargo otros autores^{31,111} consideran que no es conveniente realizarlo por aspiración directa o diluyendo la muestra, sino realizando un tratamiento previo. Para determinar los elementos traza en Zn, Cu, Fe y Mg en leche humana por espectroscopia de absorción atómica, se hace necesario preparar las muestras para el análisis, siendo prioritaria la destrucción de la materia orgánica mediante la digestión, con el fin de eliminar la matriz interferente, liberar los elementos traza y medir la concentración de los; analitos de interés^{3,31,90,102,104,107,111,112} aunque recientemente Silvestre y cols,¹¹³ determinaron los elementos, cobre, hierro y cinc en leche humana por aspiración directa de la muestra, sin ningún tipo de tratamiento.

Tabla 2.3. Procedimientos aplicados a las muestras de sangre.

Elementos	Pre-tratamiento	Tratamiento	Referencias
Zn	Muestra de sangre venosa tomada con aguja de acero inoxidable y recolectada en tubos plásticos sin anticoagulante. Reposo por 30 minutos. Centrifugada x 1500 g por 10 minutos. El suero se separo y se almacenó en tubos plásticos hasta su análisis.	El suero fue diluido 5 veces con agua desionizada para su análisis.	56 (1983)
Zn, Cu, Fe, Pb	10 mL de sangre colocados en tubos lavados previamente con ácido y agua refrigerados hasta su análisis		58 (1986)
Zn, Cu, Fe	Al nacer se tomó la muestra de sangre del cordón umbilical con jeringa plástica y aguja de acero inoxidable, colocadas en un tubo de vidrio libre de contaminación. Se centrifugó y se congeló el suero		59 (1992)
Z, Cu, Fe	5-7 mL de sangre venosa extraída entre 7-9 a.m. y recolectadas en jeringas plásticas libres de metales traza. Centrifugada a 2000 g a 4 °C por 10 minutos. Almacenada a -20 °C hasta su análisis.		98 (1999)

Elementos	Pretratamiento	Tratamiento	Referencia
Fe, Cu, Zn	Sangre venosa extraída en jeringa desechables y transferidas a tubos plásticos previamente lavados con agua desionizada y secadas. Se separó el suero luego de centrifugar en aproximadamente 2000 g.		57 (1999)
Cu, Zn, Ca, Sr, Mg, P, Fe, Al	Muestras de sangre recolectadas en tubos con anticoagulante. Centrifugadas a 3000 r.p.m. por 5 minutos para extraer el suero. Se refrigeró a -30 °C hasta su análisis.	0,5 mL de suero se descompuso con HNO ₃ y HClO ₄ por calentamiento	100 (2002)
Zn, Cu, Se, Fe	Sangre venosa. Suero obtenido por centrifugación a 1200 r.p.m. por 5 minutos. Dilución del suero con Tritón-X-100 al 0,05% y homogeneizado antes de su análisis.		101 (2002)
Zn, Cu	Sangre venosa: 5 mL, Colectada en un tubo tratado con heparina, luego centrifugado a 1750 r.p.m. x 10 minutos. El plasma se almacenó a -20 °C hasta su análisis.	El plasma fue diluido 1:5 (v/v) en HNO ₃ 1%, manteniéndose en digestión por 2 días	107 (2004)

La literatura^{31,90,102,105,107,111} ofrece información respecto a la digestión de la leche y menciona al HNO_3 como el reactivo a utilizar por excelencia, tanto en la digestión húmeda con calentamiento convencional como en la digestión húmeda asistida con microondas. Mientras Simmer y cols,¹⁰³ utiliza el HCl 1,0 M para una digestión húmeda por calentamiento convencional; sin explicar las razones de su elección, a pesar de ser un ácido que amerita prevención extrema en su manejo. Burguera y cols,³¹ y Picciano y Guthrie¹⁰⁴ emplearon la digestión húmeda con calentamiento convencional, en tanto que Burguera y cols,¹¹¹ Silvestre y cols,¹⁰² y Silva y cols¹⁰⁵ utilizaron digestión húmeda asistida con microondas considerando ciertas ventajas como acortar el tiempo necesario para el análisis, método simple, rápida destrucción de la materia orgánica, mínimo volumen de reactivo y reducción de posibles pérdidas del analito por volatilización, a diferencia del método convencional mencionado anteriormente.

La digestión por microondas da buenos resultados, consume poco tiempo con respecto a los demás procesos de digestión y da un buen porcentaje de recuperación.^{10,31,90}

En vista de las bondades de la digestión húmeda asistida por microondas, se recomienda utilizar la misma que para el tratamiento de las muestras de leche humana.

En la Tabla 2.4. se muestran algunos tratamientos aplicados en el análisis de Cu, Fe, Zn y Mg en muestras de leche.

Tabla 2.4. Tratamientos aplicados en la digestión de muestras de leche humana.

Elementos	Pretratamiento	Tratamiento	Referencia
Cu, Fe, Zn		Húmeda asistida por microondas. HNO ₃ concentrado + leche Materna 2 mL. Se lleva a 10 mL.	104 (1976)
Fe, Cu		Húmeda asistida con microondas. HNO ₃ 1 mL + fórmula infantil 3 mL y llevada a 10 mL c/ agua. Luego colocada 5 minutos a 700 w, se añade sol. Tritan 100 µL y se lleva 5 mL con H ₂ O desionizada.	111 (1987)
Cu, Fe, Zn		Húmeda con calentamiento en baño de María 97 - 100 °C por 3 - 4 h. HNO ₃ y H ₂ SO ₄ concentrados (4:1 v/v) + leche materna, hasta que la solución acure. Llevada a 5 mL con agua desionizada	114 (1988)
Fe, Cu	Recolección manual de 20 mL de 3 muestras de leche humana (antes, durante y después de la alimentación) previo lavado de los utensilios con ácido y enjuagado con agua desionizada doblemente destilada, tomada en la mañana y refrigerada inmediatamente a -20 °C hasta su análisis.	Muestras colocadas en bombas de digestión ácida de Parr, cubiertas con teflón, cada muestra contenía 2 mL de HNO ₃ concentrado. Cada bombas se calentó por 20-30 minutos a 140 °C por calentamiento convencional Enfriamiento a temperatura ambiente y llevado a un volumen de 5 mL con agua desionizada doblemente destilada.	31 (1988)
Cu, Zn		Húmeda con calentamiento convencional. HCl 1.0 M + leche materna 0,5 - 1 mL.	103 (1990)

Elementos	Pretratamiento	Tratamiento	Referencia
Cu, Fe, Zn	Lavado de la glándula mamaria con agua desionizada abundante, Extracción de la muestra de leche con bomba acoplada a un recipiente de polietileno (lavados con HNO ₃ 65%). Se almacenó a -18 °C hasta su análisis	Digestión asistida por microondas. Método de espectroscopia de absorción atómica en llama.	100 (2000)
Ca, Fe, Mg, Mn		Húmeo a asistida con microondas. HNO ₃ concentrado + H ₂ O ₂ 1 mL + 2,5 mL de leche de vaca. Llevado a 10 mL con agua desionizada	92 (2001)
Fe, Zn	Leche de transición colectadas en tubos de polietileno con extracción por bomba y refrigerada a -20 °C hasta su análisis.	Método enzimático de digestión gastrointestinal In Vitro. (simulación de la digestión del neonato)	99 (2002)
Fe, Zn, Cu	10-40 mL por extracción manual o bomba previamente lavados con HNO ₃ al 0,1%. Transferidos a tubos plásticos y refrigerados a -20 °C, hasta su análisis.	HNO ₃ concentrado ultrapuro a temperatura ambiente por 96 horas y luego 4-9 horas a temperatura media.	94 (2004)

2.6. CONCLUSIONES.

La digestión es el proceso en el cual se destruye la materia orgánica y se realiza por vía húmeda utilizando microondas; este proceso consiste en calentar la muestra en presencia de un ácido mineral (HNO_3 , H_2SO_4 , HCl) o mezcla de ellos, junto a un oxidante fuerte como agua oxigenada y ácido perclórico; el calentamiento se realiza con la radiación de microondas. Este proceso proporciona digestiones más rápidas y más seguras que los procedimientos basados en calentamiento convencional, y además, minimiza las posibilidades de contaminación de las muestras, evita pérdida del analito y reduce la cantidad de reactivos necesarios para la disolución de estas muestras biológicas.

Las muestras biológicas en su mayoría requieren de un pretratamiento para la determinación de diferentes analitos con detección espectrométrica. Este tratamiento es una alternativa para el análisis de elementos traza.

Sin embargo para la determinación de los elementos, se escogió la digestión con Lomo microondas, por ser un método simple, seguro, que proporciona una disminución importante en los valores del blanco, reduce los riesgos de contaminación y puede ser usado para la digestión de las matrices en estudio. El tratamiento de muestra asistido por microondas, es una metodología que ha impulsado notablemente la automatización en los procesos analíticos de hoy en día.

2.7. BIBLIOGRAFÍA.

1. Bruno S., Venkatesh I., Sampling and samples preparation methods for analysis of trace elements in biological material 1978.
2. Iyengar G., Sansoni B. Sample preparation of biological materials for trace elements analysis, in Elemental analysis of biological materials, Technical Report Senes, N° 197, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1980. pp. 73-101.
3. Hita L. Nuevas Tecnologías. Product Manager Analítica Instrumental. Química Hoy. Sept. 1995, pp. 151-157.
4. Mortón J., Carolan V., Gardiner P. Anal. Chim. Acta. 2002; 455-464.
5. Puchyr R., Bass D., Gasjewski R., Calvin M., Marquardt W., Urek K, Druyan M., Guig D. Biol Trace Elem Res 1998; 62(3): 167-182.
6. Burguera M., Burguera J.L. Quím Anal 1995; 15: 112-116.
7. Burguera M., Burguera J.L. Anal Chim Acta 1998; 366: 63-80.
8. Burguera M., Burguera J.L., Alarcón O. Anal Chim Acta 1996; 179: 351-355
9. McLeod C., Worsfold P., Cox A. Analyst 1984; 109, 327-334.
10. Kojima I., Kato A., Tida C. Anal Chim Acta 1992; 262: 101-106.
11. Sturgeon R., Willie S., Berman S. J Anal At Spectrom 1986; 1- 115-120.
12. Krysnitsky A. Anal Chem 1993; 59: 1884-1888.
13. Jorhem L. JAOAC. Internat 1993; 7(4): 798-801.
14. Koirtyojann S., Hopteins C. Analyst 1976; 101; 870-874.
15. Bock R. Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry Internat. Text book comp. Ltd London. 1979.
16. Uchida H., Nojiri Y. Haraguch H., Fuwa K. Anal Chim Acta 1981; 123: 57-64.
17. Brzezinska A., Balicki A., Van Loon J. Water soil pollut 1986; 21: 874-879.
18. Goursuch T. The destrution of organic matter. Pergamon. Press, Oxford, 1970.

19. Van Loon J. Selected methods of trace metal analysis; Biological and environmental samples, Wiley interscience New York, 1985.
20. Burguera J.L., Burguera M., Matouseck A., Añez N., Alarcón O. *Atom Spectr* 1992; 13(2): 67-71.
21. Burguera M., Burguera J.L.. *Anal Chem Acta* 1988; 366; 63-80.
22. Ybañez N., Cerrera M., Montero R., De la Guardia M. *Anal Atom Spectr* 1991; 6: 379-382.
23. Lan W., Vong M., Sin Y. *Talanta* 1994. 41; 195-199.
24. Docros V., Ruffieux D., Belin N., Fabier A. *Analyst* 1994. 119; 1715-1721.
25. Alvarado J., León L. *J Anal At Spectrom* 1988; 3: 135-137.
26. Skoog D., Leary J. *Análisis Instrumental*. 4^a ed. McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A. Cap. 5.
27. Kingston H., Jassie L. *Introduction to microwave scruple preparation. Theory and practico*. Am Chem Soc. Washington D.C.
28. Burguera J.L., Burguera M. *Analyst* 1993; 123; 561-569.
29. Bacci M., Bini M. 14^a ed, *Microwave Power Symp*, Monaco, 1979 pp. 42-44
30. Kingston H., Hoswell S. *Microware-Enhanced Chemistry*. Washington. 1997, pp, 10-20.
31. Burguera M., Burguera J.L., Garabato M., Alarcón O. *Trace Elem Med*. 1988; 5(2)- 60-63
32. Samra A., Morris S., Koirtyohann S. *Anal Chem* 1975; 47(8); 1475-1479.
33. Burguera J.L., Burguera M., Alarcón O. *Trace Elem Med* 1986; 3(3); 117-120.
34. Rathi S., Srinivas M., Grover J., Mitra D., Vals V., Sharma J. *Indian J Pediatr* 1999; 66(5); 681-684.
35. Aydemir F, Çadvar A, Soylemez F, Cengiz B. *Biol Trace Elem Res* 2003; 91(3); 193-202.
36. Srivastava S., Mehrotra P., Srivastava S.P., Siddiqui M. *Biol Trace Elem Res* 2002; 36(2); 97-105.
37. Çadvar A., Bahçeci M., Akar N., Erten J., Bahçeci G., Babacan E., Arcasoy

- A., Yavuz H. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 1988; 2; 9-14.
38. Samanta G., Sharma R., Roychowdhury T., Chakraborti D. Scienc Total Environ 2004; 326(1-3); 33-47.
39. Rodushkin I., Axelsson M. Scienc Total Environ 2003; 305(1-3); 23-39.
40. Hinwood A., Sim M., Jolley D., de klerk N., Bastone E, Gerostamoulus J., Drummer O. Environ Health Perspect 2003; 111(2): 187-193.
41. Lech T. Biol Trace Elem Res 2002; 85. 111-126.
42. Picciano M.F., Guthrie H.A. Am J Clin Nutr 1976; 29: 242-254.
43. Silvestre M.D., Lagarda M.J., Farré R., Martinez-Costa C., Brines J., Molina A., Clemente G. Biol Trace Elem Res 2000; 76: 217-227
44. Bermejo-Barrera P., Muñiz-Naveiro O., Moreda-Piñeiro A., Bermejo Barrera A. Foren Scien Internat 2000; 107: 105-120.
45. Wilhelm M., Hafner D., Lombeck I., Ohnesorge F.K. Scienc Total Environ 1991; 103;199-207.
46. Bermejo Barrera P., Muñiz Naveiro O., Moreda Piñeiro A., Bermejo-Barrera A. Foren Science Internat 2000; 107: 105-120.
47. Katz S. Hair Analysis; applications in the biomedical and enviromental Sci. New York: VCH, publishers, Inc. 1988.
48. Curretti H., Navarro R. Rev Cub Invest Biomed, 14(1): 11-18.
49. Wen K.H. Fan Chen S., Ching Wu Ch., Ren Chen D., Hung Lee J. Biol Trace Elem Res 2002; 89; 1-11.
50. Ryder M., Hair. Great Britain by the Camelot press ltd, Southampton. 1973.
51. Pan T., Lin T., Tseng L., Yang M., Huang C. Trace Elem Res. 1993; 39; 117-127
52. Bank H., Robson J., Bigelow J., Morrison J., Spell L., Kantor R. Clin Chim Acta 1981; 116; 179-190.
53. Mc Phillips M., Strang J. Br J Psych 1998; 173; 87-90.
54. Wilhem M., Hafner D., Lombeck I. Scienc Total Environ 1991; 103: 199-207.
55. Weber C. Nelson G., Vasquez M. J Trop Ped 1990; 36; 230-234.

56. Hunt I., Murphy N., Cleaver A., Faraji B Swendseid M., Coulson A., Clark V., Laine N., Davis C., Smith C. *Am J Clin Nut* 1983; 37; 572-582
57. Huang M., Lau P., Ze Sun., Gung M. *Biol Trace Elem Res* 1999; 69; 111-120,
58. Sikorski R. Juskiewicz T., Paszkowski T., Radomanski T., Szkoda J., Milart P. *Eur J Obst Gynecol* 1986; 23: 349-357.
59. Pop-Jordanova N., Bogdanova M. *Acta Paediat* 1992; 81; 700-701.
60. Moro R., Gialonella G., Zhang Y.X., Perrone L., Di toro R. *J Trace Elem Electrol Health Dis* 1992; 6(1); 27-31.
61. Zakrgynska-Fontaine V., Doré J., Ojasoo T., Poirier-Duchêne F. , Viel C. *Biol Trace Elem Res* 1998; 61; 151-168.
62. Vance D., Ehmman W., Markesbery W. *Biol Trace Elem Res* 1988; 17; 109-121.
63. Wilhelm M., Hafner D, Lombeck I., Ohnesorge F.K. *The Science of The Total Environ* 1991; 103; 199-207.
64. Schler A., Nicholl F., Ffiffer C. *Clin Chim Acta* 1973; 70: 391-398.
65. Bagliano G. *Chem Acta* 1931; 123: 49-60.
66. Valkovic V. *Human Hair*. CRC Press, Fl. 1988. Vol. I y II,
67. Baumgartner W., Black C., Jones P., Bland W. *Jaud Med* 1982; 23: 790-792.
68. Wang X., Zhuang Z., Zhi E., Yang Ch., Wan T. *Microchem J* 1995; 5-14.
69. Friel J., Ngyuen Ch. *Clin Chem* 1986; 32(5): 739-742,
70. Hildebrand D., White D. *Clin Chem* 1974; 20(2): 148-151.
71. Dávila E. Estudio nutricional en niños preescolares residenciados en la comunidad de Canaguá. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias. Postgrado en Química Aplicada. ULA. 1997.
72. Lech T. *Biol Trace Elem Res* 2002; 85: 111-126.
73. Sorenson J., Melby E., Nord P., Petering H. *Arch Environ Health* 1973; 27(7): 36-39.
74. Sakai T., Wariishi M., Nishiyama K. *Biol Trace Elem Res* 2000; 77: 43-51.

75. Chyla M., Zyrnicki W. *Biol Trace Elem Res* 2000; 75(1-3): 187-194.
76. De Antonio S., Katz S., Scheiner D. Wood M. *Clin Chem* 1982; 28(12): 2411-2413
77. Deemmg S., Weber C. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 1175-1180,
78. Lombeck I., Wilhelm M., Hafner D., Roloff K., Ohnesorge K. *Eur J Pediatr* 1988; 147: 179-183.
79. Zachwiwja Z., Chiopickg J., Zawadzka M., Zagodki P., Wypchlo., *J Biol Trace Elem Res* 1995; 47; 141-145.
80. Henderson G., Hrkey M., Ruse J. *Internat Res Standors Technol* 1995; (5); 91-120.
81. Arancibia V., Alarcón L., Seguro R. *Anal Chim Acta* 2004; 502: 189-94.
82. Massod A., Faranak G., Mohamad A. *Aren Environ Health* 2002; 57(6): 519-528.
83. Alexiuo D., Koutselinis A., Manolidis C., Boukis D., Papadatos J., Papadatos C., *Dermatológica* 1980; 160: 380-382.
84. Sirota L., Strausberg R., Fishman P., Dulitzky F., Djildotti M. *Pediatr Dermatol* 1933; 5(3) 184-86
85. Gammelgaard B., Peters K., Menné T. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1991; 5(2): 121-23.
86. Alfthan G., Bogye G., Aro A., Feher J. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1992 ;6; 233-238.
87. Gayton A. *Fisiología humana*. Interamericana. 5ª ed. México, 1984.
88. Staunton E., Todd W. *Bioquímica Médica*. Editorial Interamericana. 4ª ed. México. 1979
89. Burguera J.L., Alarcón O., Burguera M. *Trace Elem Med* 1986; 3: 117-120.
90. De La Guardia M., Salvador A., Burguera J.L., Burguera M. *J Flow Inject Anal.* 5(2): 121-131.
91. Rondón C. Estudio de nuevos modificadores en la determinación de elementos traza en matrices biológicas, por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica en horno de grafito. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias: Postgrado Interdisciplinario en Química Aplicada. ULA. 1999.
92. Vander A., Sherman D.S., Luciano D. *Fisiología Humana*. McGraw

- Latinoamericana S.A. Colombia. 1978. pp. 176.
93. Lehinger A. Bioquímica. Ediciones Omega S.A. España. 1982
94. Mahan K., Escott-stump S. Nutrición y Dietoterapia. 9ª ed. 1996.
95. Macy I., Kelly H. Human milk and cow's milk in infant nutrition milk: the mammary gland a its secretion Academic Press, 4ª ed. New York. 1977.
96. Tabla de Composición Alimentos. INN. 1999.
97. Underwood E. Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press. 4ª ed. New York. 1977.
98. Brunetto M., Alarcón O., Dávila E., Contreras Y., Gullignani M., Rondón C., Burguera J.L., Burguera M., Angarita C. J Trace Elem Med Biol 1999; 13; 40-50.
99. Alarcón M., Reinoso-Fuller J., Silva T., Ramírez M., Gamboa J. J Traes Elem Med Biol 1996; 10: 210-213,
100. Wang Y., Tan M., Huang Z., Sheng L., Ge Y., Zhang H., Jiang M., Zhang C. Biol Trece Elem Res 2002; 88; 113-118.
101. Wei K.H., Fan Chen S., Cheng Wu Ch., Ren Chen D., Huang Lee J. Biol Trace Elem Res 2002, 89; 1-11.
102. Silvestre M., Laguardia M., Farré R., Martinez-Costa C., Brines J. Food Chemistry 2000; (68): 95-99.
103. Simmer K., Ahmed S., Carlsson L., Thompson R. Brit J Nutr 1990; (63);91-96.
104. Picciano M., Guthrie H. Am J Clin Nutr 1976; 29(3); 242-254.
105. Silva F., López G., Nóbrega A., Souza G., Nogueira A. Spectrochim Acta. Parte B. 2001; 56; 1909-1916.
106. León N., Burguera J.L., Burguera M. Alarcón O. Revue Roumaine de Chimie 1986; 31(3); 353-360.
107. Domellöf M, Lönnerdal B, Dewey K, Cohen R, Hernell O. Am J Clin Nutr 2004; 79: 111-115.
108. Burguera J.L., Burguera M., Alarcón O. Trece Elem Med 1992; 9(4); 194-197.
109. Mac Donal M., Watson L. Clin Chem Acta 1996; 4; 233-241

110. Hatano S., Yoshikazu N., Usui T. Am J Clin Nut 1982; 35(6); 120-126.
111. Burguera M. Burguera J.L., Garaboto F., Alarcon M. Quím Anal 1987; 6(4); 427-435.
112. Bermejo P., Peña E., Domínguez R., Bermejo A, Cocho J., Fraga J. Food Chem 2002; 77: 361-369.
113. Silvestre M.D., Lagarda M.J., Farré P., Martinez-Costa C., Brines J., Molina A., Clemente G. Biol Trace Elem Res 2000; 76: 217-227.
114. Burguera M., Burguera J.L., Garaboto A., Alarcón O. Trace Elem Med 1988; 5(2): 60-63.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO 3.

DETERMINACIÓN DE LOS ELEMENTOS BIOGENÉSICOS (Zn, Cu, Fe y Mg), EN PELO, UÑAS Y SUERO SANGUÍNEO DE MUJERES GESTANTES, EN PELO Y UÑAS DE RECIÉN NACIDOS, Y EN LA LECHE HUMANA.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO 3.

3.1.- INTRODUCCIÓN.

3.1.1.- Importancia de determinar los bioelementos en pelo, uñas y suero sanguíneo en la mujer gestante, en pelo y uñas de los recién nacidos, y en la leche humana.

La importancia actual de evaluar los elementos biogénicos y su rol ha cambiado en el transcurso del tiempo. Para ello exponemos 3 razones básicas: '

1- La comprensión de las funciones bioquímicas, los defectos patogénicos y los mecanismos patobioquímicos de los elementos traza han sido más profundos y provechosos en las diferentes ramas del conocimiento.¹

2.- La atención de un gran número de disciplinas en las ciencias médicas y naturales (entre ellos, medicina humana y veterinaria, física, química, bioquímica, microbiología, biología molecular, farmacología, agrología, nutrición y dietético, ecología, etc.), han aumentado el enfoque de los elementos biogénicos sobre su esencialidad biológica, y a posible toxicidad que pondría en peligro la vida.¹

3.- Actualmente son muy grandes las dificultades para entender las conexiones entre los elementos traza y los síntomas de las enfermedades. Muchas causas han sido descubiertas o explicadas, a través de muchos pasos y esfuerzos. Los niveles de los conocimientos modernos cambian muy rápidamente. Las concentraciones extremadamente bajas de los elementos traza y su diversidad de implicaciones efectos a nivel molecular son muy específicas, ya que ellos tienen funciones para lo cual su presencia es esencial y no pueden ser sustituidos por ningún otro.¹

Los elementos biogénicos son muy importantes en el transcurso de la preñez humana, debido a que es un período fisiológico, con fundamentales

adaptaciones y grandes necesidades de nutrientes tanto para la madre como para el feto,² El crecimiento y desarrollo del feto y de la placenta ameritan mayor absorción de nutrientes y retención de minerales, que conducen a cambios en la fisiología de la mujer²⁻⁴ por consiguiente, las etapas prenatal y neonatal son las más críticas con respecto a la nutrición, por la influencia que ejercen sobre el producto de la gestación;^{5,6} así tenemos que si los ingresos o depósitos de micronutrientes son inadecuados, pueden causar ciertos efectos en la madre, tales como anemia, hipertensión, complicaciones de esfuerzo e incluso la muerte. Además, el feto puede ser afectado, ya que se ha demostrado experimental y clínicamente que los metales esenciales presentes en concentraciones anormales pueden alterar seriamente el desarrollo prenatal, produciendo prematuridad, retardo del crecimiento intrauterino, malformaciones congénitas, Inmunosupresión, desarrollo orgánico anormal, muerte fetal, etc.^{3,7} En vista de que esta etapa es tan vulnerable,⁵ se hace necesario el estudio del cinc, del cobre, del hierro y del magnesio por ser los elementos que ejercen mayor influencia sobre el crecimiento y desarrollo del feto y del recién nacido.³

La mejor fuente nutricional del recién nacido es la leche materna, mientras que la alimentación por fórmulas infantiles es importante en circunstancias en las cuales no es posible la alimentación al seno materno.⁹ La mal nutrición infantil aumenta la morbilidad y la mortalidad, afectando físicamente el crecimiento y el desarrollo por la deficiencia de nutrientes específicos.¹⁰ La leche humana aporta todos los elementos traza que son requeridos por el recién nacido, por lo que es el alimento ideal para la nutrición del niño en los primeros seis meses de vida.⁹ De gran importancia son las condiciones materno-fetales desde el momento de la concepción, para poder obtener recién nacidos sanos, continuando con una satisfactoria alimentación al seno materno. De lo contrario, hay múltiples factores que se asocian con un crecimiento deficiente, aunque pocos estudios se han dedicado a revisar este tema. El retardo lineal en el crecimiento se inicia inmediatamente luego del nacimiento, mientras que el bajo peso se presenta después de los seis meses de vida.¹¹ Los elementos

biogénicos en la nutrición humana son un área de gran interés en la investigación dentro del campo de los Ciencias Médicas y Nutricionales; que relacionen fehacientemente el comportamiento del cinc, del cobre, del hierro y del magnesio en la mujer embarazada, en la mujer que lacta y en el neonato en las matrices biológicas: pelo, uña, suero sanguíneo y leche humana, así como también, las implicaciones o el impacto de los niveles de estos minerales en la madre con respecto a las características de crecimiento y desarrollo del recién nacido.^{6,12-14}

Existe interés creciente en determinar los elementos traza en los seres humanos, para establecer su posible rol en los procesos metabólicos e identificar el origen de sus alteraciones.¹⁵ Sólo quince elementos trazo conocidos desempeñan funciones esenciales en los seres vivos. Mucho interés se ha centrado en el suero sanguíneo^{16,23} y la leche humana,^{12,24-26} siendo de mas reciente aparición la afección por el estudio de estos elementos en pelo y en uñas humanas por ser excelentes tejidos de excreción de sustancias del cuerpo, son estructuras muertas, con una composición química similar de la misma clase de Tejidos, y a pesar de ser matrices únicas para el monitoreo biológico, no se han atendido especialmente las diferencias entre estas matrices biológicas. Aún faltan estudios comparativos en uñas.^{27,28}

Gammelgaard y cols,²⁹ han resaltado en su estudio las ventajas del análisis de los elementos biogénicos de las uñas sobre los análisis en sangre y orina; debido a que los niveles normales de estos elementos, estén en cantidades mucho más elevadas, al menos tres veces sus valores con respecto a las matrices antes mencionadas. Además, estas pequeñas muestras reducen el riesgo de contaminación durante su recolección, manejo y análisis; siendo un procedimiento simple y sin problemas de almacenamiento. La composición de la uña refleja un modelo a largo plazo del metabolismo mineral porque tiene una baja tasa de crecimiento y evidencia las alteraciones del metabolismo sistémico debido a que afectan la composición de la uña.¹⁰

La composición elemental del pelo y de la uña también es influenciada por la

edad, el sexo, la localización geográfica, las enfermedades, la contaminación del medio ambiente y el tratamiento cosmético local.¹⁰

La determinación de los elementos biogénicos en matrices toles como suero sanguíneo y leche, reflejan la composición de minerales con una variabilidad muy rápida, de horas e incluso de minutos, como en el caso de los cambios de concentración de los elementos en una misma lactada. En el pelo y en las uñas no se presenta el mismo comportamiento en tan corto tiempo, por ser matrices que reflejan el status corporal de los elementos en el curso de semanas o meses, debido a sus velocidades de recambio ("turn-over") muy lentos.^{5,25,26,30-}

³² El pelo desde hace tiempo ha sido considerado de interés como un índice del status metabólico de los elementos traza esenciales y/o tóxicos en el cuerpo.^{33,34} La orina y las heces son muy pobres indicadores de los depósitos corporales de los elementos traza. Las concentraciones de los elementos en sangre (suero o plasma) pueden ser usados en ciertas situaciones, pero están sujetos al control homeostático en cortos periodos de tiempo y a las variaciones circadianas.³³

El pelo y las uñas por su parte representan la historia evolutiva del status mineral de un individuo, ya que las concentraciones de los minerales en ellos no reflejan el status del mineral en el momento de la muestra, sino a largo plazo (meses y/o años). La ventaja de emplear el pelo en estos estudios, es que puede ser recolectado fácilmente, sin dolor o trauma para el paciente, no requiere equipo especial de almacenamiento, y se puede almacenar por muy largo tiempo o hasta que sea conveniente realizar su análisis,³³ aunque se deben considerar los efectos de la contaminación ambiental sobre el pelo,^{2,35-39} a diferencia del vello púbico, donde estos factores poco intervienen.^{40,41} Sin embargo, Ming Huang³⁵ ha cuestionado su precisión. Las correlaciones entre el status de los elementos traza en pelo y en suero son necesarias para la evaluación de la ingesta dietética mineral.

Por lo antes expuesto, es de gran interés el estudio de estos elementos

biogénicos en las matrices, pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humana, con el fin de ampliar los conocimientos sobre estos minerales, que conlleven a una efectiva aplicabilidad en nutrición materno-infantil, contribuyendo a garantizar un normal crecimiento y desarrollo pre y postnatal.

3.1.2. Métodos utilizados para la determinación de Zn, Cu, Fe y Mg en los matrices pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humana.

Existe una serie de métodos para la determinación Zn, Cu, Fe y Mg en una gran variedad de matrices; dentro de las técnicas ampliamente utilizadas para el análisis de estos elementos biogénicos en muestras biológicas tenemos, la Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS),^{17,20,42,44} el Análisis por Activación Neutrónica (NAA)^{40,45-48} la Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-AES),^{15,49,50,51} la Fluorescencia de Rayos X (FR-X)^{5,13,35,52,56} y la Emisión en Plasma de Argón.³⁸ Sin embargo, el Análisis por Activación Neutrónica requiere de un reactor nuclear y origina desechos radiactivos; además, la preparación de las muestras, involucra problemas especiales tales como: 1) evitar el calentamiento innecesario de la muestra durante el proceso de sellado de los portamuestras, 2) irradiar los tejidos húmedos congelados para evitar el peligro de explosión de los portamuestras y 3) enfriar en nitrógeno líquido las muestras que han sido expuestas a mucha radiación de neutrones, antes de abrir las cápsulas para reducir la presión. El NAA es un método muy sensible, pero resulta altamente costoso y los tiempos de análisis son relativamente largos.

La Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-AES)^{15,49,51} y la Fluorescencia de Rayos- X,^{5,13,35,55-56} son técnicas de análisis que presentan algunas ventajas: 1) requieren una pequeña cantidad de muestra; 2) realizan la determinación simultánea de varios elementos; y 3) presentan facilidad para preparar las muestras; sin embargo, necesitan una etapa de preconcentración por su baja sensibilidad y precisión en el análisis y requieren de instrumentación muy costosa.^{57,58}

La literatura indica que la Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS)^{17,20,42-44} es la técnica analítica preferida, en sus dos versiones, atomización en llama (FAAS)^{18,19} y atomización electrotérmica por horno de grafito (ETA-AAS).^{2,12,13,24,28,37,49,59-63} La AAS se considera el método de elección más adecuado y más usado para la determinar elementos traza en tejidos y fluidos biológicos,^{64,67} por tener una gran selectividad, gran reproducibilidad, alta sensibilidad, buena precisión, pocas interferencias y poseen instrumentación de costo moderado.⁶⁸ El escoger un método u otro depende de la cantidad de muestra disponible y fundamentalmente a la concentración del analito en la misma. En este estudio en particular los elementos a determinar se encuentran en concentraciones detectables por FAAS en la matriz unos,^{21-23,40,48,69} pelo,^{17,20-23,40,47,70-72} suero sanguíneo,^{17-20,40,41,42-44,51,63,73-77} y la leche materna.^{12,24-26-78-81}

El Análisis de Inyección en Flujo (FIA) define la inserción secuencial de pequeñas soluciones de muestras a un flujo continuo, con la posterior detección del analito. El FIA emergió en la década de los 80 como un sistema general de manejo de muestras, recolectando datos que pueden ser usado en combinaciones sinérgicas con casi cualquier sistema de detección. El FIA inicialmente no fue el favorito por químicos clínicos, pero su aplicabilidad entusiasmó a químicos estudiosos del medio ambiente, de la agricultura campo industrial. Sin embargo, hoy en día, las determinaciones clínicas son las que tienen mayor número de aplicaciones de FIA con detectores ópticos y electroquímicos, teniendo un gran impacto en muchas áreas de análisis químico ya que ofrece múltiples ventajas analíticas, entre otras: gran previsión procesamiento de gran numero de muestras y utilización de pequeños volúmenes de estas (μL).^{5,13,016,54,82-86}

La combinación de la Espectroscopia de Absorción Atómica con el Análisis de Inyección en Flujo (FIA-AAS)^{13,87} crea un sistema de introducción de muestras líquidas a la llama muy práctico, eficaz, rápido (puede determinar hasta 100

muestras por hora), seguro y que utiliza pequeños volúmenes de muestra (de 30 a 100 μL para cada determinación); además se mejora la sensibilidad y se disminuyen las interferencias.^{13,88}

Por su lado la disolución de las matrices biológicas asistidas por horno microondas ha demostrado ser muy rápida y confiable para la preparación de las muestras, cuya instrumentación es simple y reduce al consumo de reactivos.^{13,15,49,89-92}

3.2.- JUSTIFICACIÓN.

Los elementos biogénicos en la nutrición humana son un área de gran interés en la investigación dentro del campo de las Ciencias Médicas y Nutricionales; la preñez y el período neonatal son unos de los más críticos, en donde se puede afectar seriamente el crecimiento y desarrollo prenatal si se presentan concentraciones anormales de Cu, Zn, Fe y Mg; por lo tanto sería beneficioso que a través de la determinación de ellos en las matrices biológicas: pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humana conocer como parámetro predictivo el peso y la talla del recién nacido, siendo a nivel clínico un indicador de salud perinatal. Además se podría considerar como una alternativa de diagnóstico temprano con el fin de mejorar y evitar alguna alteración.

3.3.- OBJETIVOS.

3.3.1. General.

Determinar como influyen los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo, uñas y suero sanguíneo en la mujer gestante; en pelo y uñas recién nacidos, y en la leche humana; con los parámetros antropométricos del recién nacido.

3.3.2. Específicos.

3.3.2.1. Determinar los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo, uñas y suero sanguíneo en la mujer gestante.

3.3.2. 2. Determinar los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en la leche humana.

3.3.2.3. Determinar los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo y uñas del recién nacido.

3.3.2.4. Correlacionar los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo, uñas y suero sanguíneo en la mujer gestante con peso, talla y circunferencia cefálica del recién nacido.

3.3.2.5. Correlacionar los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo, uñas y suero sanguíneo en la mujer gestante con edad gestacional.

3.3.2.6. Correlacionar los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo y uñas con peso, talla y circunferencia cefálica del recién nacido y edad gestacional.

3.3.2.7. Correlacionar los niveles de cinc, cobre hierro y magnesio en la leche humana con peso, talla y circunferencia cefálica del recién nacido.

3.3.2.8. Correlacionar los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo, uñas y suero sanguíneo en la mujer gestante con los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo y unas del recién nacido.

3.3.2.9. Correlacionar los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en lo leche humana con los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en pelo y uñas del recién nacido.

3.4.- HIPÓTESIS.

En la mujer gestante y en la leche humana las concentraciones del cinc, cobre, hierro y magnesio deben estar relacionadas significativamente ($p < 0.05$) con los niveles de éstos en el recién nacido y sus parámetros antropométricos.

3.5 DEFINICIÓN DE VARIABLES.

Embarazo y/o mujer gestante: Período de gestación del ciclo evolutivo humano.

Período Prenatal: Que se produce antes de nacimiento.

Período Postnatal: Se considera a partir de los 28 días de edad hasta el Primer año cumplido.

Período Perinatal: De las 28 semanas de lo gestación a las 4 semanas después del nacimiento.

Período Neonatal: Los primeros 28 días después del nacimiento.

Recién nacido: Los primeros 28 días después del nacimiento, que puede ser pretermo los primeros 7 días y término del octavo a los 28 días.

Crecimiento: Conjunto de cambios continuos que llevan a un ser viviente desde el comienzo de su existencia hasta la madurez.

Desarrollo: Es la diferenciación y especialización sucesiva de órganos y sistemas. Se refiere al desarrollo de habilidades y destrezas psicomotoras, relaciones afectivas y socialización del niño.

Matriz: Conjunto de los distintos componentes que constituyen una muestra analítica. La matriz incluye, además del analito, todos los demás componentes de la muestra.

Leche Humana: Es una secreción blanca, líquida producida por las glándulas mamarias de las mujeres y cuya función es la de alimentar al lactante. Esta leche contiene todos los nutrientes que el niño necesita para su crecimiento y desarrollo, y proporciona los anticuerpos o sustancias que protegen al niño de las infecciones.

Lactada: Que recibe una toma con leche materna.

Antropometría: Ciencia que estudia la medición del tamaño, peso y proporciones del cuerpo humano a diferentes edades.

Peso: Es la medida mas tradicional para diagnosticar el estado nutricional. Tiene un significado metabólico, ya que determina la tasa metabólica basal, al representar la cuantía de la masa celular. Es la acción de la gravedad sobre la masa corporal.

Talla: Altura de una persona desde los pies a la cabeza.

Circunferencia Cefálica: Es el perímetro de la cabeza.

Edad gestacional: Edad del lactante al nacer, que se establece por la duración del embarazo (el número de semanas desde la última menstruación); también puede determinarse por una evaluación clínica.

Cinc: Metal de símbolo Zn. Es uno de los elementos de transición del sistema periódico; su número atómico es 30; su peso atómico es 65,38; su punto de fusión: 419,57 °C con valencia +2 (Zn^{+2})

Cobre: Metal de símbolo Cu. Es uno de los elementos de transición de la tabla periódica; su número atómico es 29. Su punto de fusión: 1083°C, mientras que su punto de ebullición es de unos 2667°C y tiene una densidad de 8,9 g/cm³. Su masa atómica es 63,546 con valencia +1 y +2. En los líquidos biológicos se encuentran fundamentalmente con valencia +2 (Cu^{+2})

Hierro: De símbolo Fe (del jardín ferrum, hierro), es un elemento metálico, magnético, maleable y de color blanco plateado. Tiene un número atómico 26 y es uno de los elementos de transición del sistema periódico. Tiene un punto de fusión de unos 1535°C, un punto de ebullición de 2750°C y una densidad relativa de 7,86. Su masa atómica es 55,847 puede actuar con valencia +2 y +3. La primera (Fe^{+2}) es la forma más frecuente en los tejidos y en los líquidos biológicos.

Magnesio: Es un catión divalente con peso molecular de 24,3. Se encuentra presente en el reino mineral, vegetal y animal. Representa el 0,05% del peso corporal total y es el cuarto catión más abundante del organismo.

Cincemia: Concentración sérica o plasmático de cinc.

Cupremia: Concentración sérica o plasmático de cobre.

Sideremia o ferrernia: Concentración sérica o plasmático de hierro.

Magnesemia: Concentración sérica o plasmática de magnesio.

3.6. METODOLOGÍA.

3.6.1. Determinación de los elementos biogénicos.

Por las ventajas antes descritas, para la determinación, de los elementos cinc, cobre, hierro y magnesio, en pelo, uñas y suero sanguíneo en la mujer gestante, en pelo y uñas de los recién nacidos, y en la leche humana, se empleó el método analítico: Espectroscopia de Absorción Atómica acoplado a Sistema de Inyección en Flujo (FIA-AAS).

3.6.2. Instrumentación.

Se utilizó un sistema FIA-AAS conformado por un espectrofotómetro Perkin Elmer AAS 3100 con atomizador de llama, acoplado a un sistema de inyección en flujo con una bomba peristáltica Ismatec modelo IPC (ver Figura 3.1). Además, se usó como fuentes de línea, las respectivas lámparas de cátodo hueco de cobre, hierro, cinc y magnesio marca Varían.

Para el tratamiento de las muestras se utilizó un horno microondas, marca Panasonic, modelo EN-7660/6660, con un ciclo de calentamiento desde "warm" hasta "high", equivalente a 70-700 w; una estufa marca Beckman, modelo 1270, una Balanza Electronic Balance AND. Máx= 180g, d=0.1 mg y un agitador Heidolph, tipo Reax, 1/min 2400.

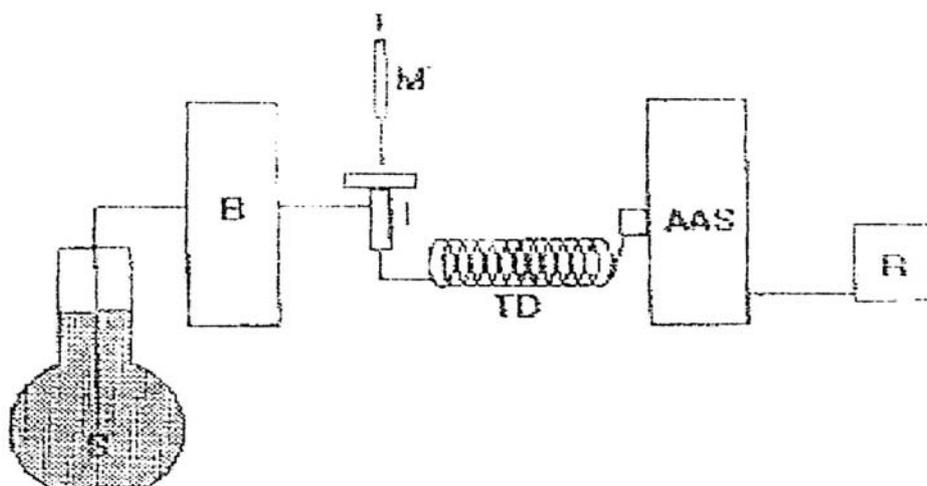


Figura 3.1. Sistema FIA-AAS para la determinación de cinc cobre, hierro y magnesio en pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humana: S, solución transportadora; B, bomba peristáltica; M, jeringa dispensadora de la muestra, marco Hamilton; I, inyector; TD, tubo de dispersión; AAS, espectrómetro de absorción atómica y R, unidad de registro PC.

www.bdigital.ula.ve

3.6.3. Materiales y Reactivos.

3.6.3.1. Reactivos.

- Los reactivos utilizados para el análisis de los elementos traza fueron de grado analítico de la casa Merck. Para la preparación de las soluciones se utilizó agua desionizada de alta pureza Milli-Q ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ de resistividad). Cinc metálico (Zn metal con 99,9 % de pureza), nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, con 99,5 % de pureza de cloruro magnesio (MgCl_2 con 99% de pureza) hierro metálico. (Fe metal con 99% de pureza). Igualmente se utilizó ácido clorhídrico, HCl 37 % (m/m ácido nítrico. HNO_3 65 % (m/m), ácido perclórico, peróxido de hidrógeno al 30%, acetona analítico y Tritón X-100.

Tabla 3.1. Reactivos.

Nombre	Fórmula	Marca	Pureza
Cinc metálico	Zn metal	Merck	99,9%
Nitrato de cobre	cu (NO ₃) ₂ 3H ₂ O	Merck	99,5%
Cloruro de magnesio	MgCl ₂	Merck	99%
Hierro metálico	Fe metal	Merck	99%
Ácido clorhídrico	HCl	Merck	37% (m/m)
Ácido nítrico	HNO ₃	Merck	65% (m/m)
Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂	Merck	30%
Acetona analítica	C ₃ H ₆ O	Merck	-----
Triton X-100	-----	Merck	-----

3.6.3.2. Soluciones.

- Solución patrón de 1000 mg/L de cobre: Se preparó disolviendo 3,7832 g de nitrato de cobre trihidratado al 99,5 % de pureza, en 5 ml de (1:1) ácido nítrico HNO₃ 65% (m/m) para análisis, luego se le adicionó 10 ml de HNO₃ y se aforó a un litro con agua desionizada (dilución a 1 litro con 1% v/v HNO₃).

Las soluciones de trabajo fueron preparadas a partir de esta solución patrón, por dilución apropiada con agua desionizada.

- Solución patrón de 500 mg/L de cinc: Se preparó mediante la disolución de 0,500 g de cinc metálico, con 99.9 % de pureza, en 5 mL de (1+1) ácido clorhídrico HCl 37% (m/m) para análisis, y se mejoró la disolución del sólido por el calor suministrado de la plancha termoline 220 Hot Plate. Luego se adicionó 10 mL de HCl y se aforó a un litro con agua desionizada (dilución o 1 litro con 1 % v/v de HCl). Las soluciones de trabajo fueron preparadas a partir de esta solución patrón, por dilución apropiada con agua desionizada.

- Solución patrón de 1000 mg/L de hierro: Se preparó disolviendo 1 g de gránulos hierro metálico con 99% de pureza, en 50 mL de (1+1) HNO₃ de ácido

clorhídrico HCl 37% (m/m) para análisis y llevada a un volumen de un litro con agua desionizada. Las soluciones de trabajo fueron preparadas a partir de esta solución por dilución apropiada con agua desionizada.

- Solución patrón de 1000 mg/L de magnesio Se preparó disolviendo 8,429 g de cloruro de magnesio $MgCl_2$ con 99% de pureza, en 5 mL de (1+1) ácido clorhídrico HCl 37 % (m/m) para análisis. Luego se adicionó 10 mL de HCl y se aforó a un litro con agua desionizada (dilución a 1 litro con 1 % v/v de HCl). Las soluciones de trabajo fueron preparadas a partir de esta solución patrón, por dilución apropiada con agua desionizada.

- La concentración de Tritón X-100 fue de 0,1% (v/v).

3.6.3.3. Muestras.

Muestras de suero sanguíneo, pelo, uñas y leche humana.

www.bdigital.ula.ve

3.6.4. Procedimientos (descritos en detalle en el Capítulo 2).

3.6.4.1 Muestreo, almacenamiento y conservación de las muestras.

Las muestras fueron tomadas de una población estadísticamente representativa de mujeres embarazadas normales (sin patología), procedentes del Estado Mérida; que asistieron o consulta en La Cruz Roja - Mérida.

La toma de muestras de sangre, pelo, uñas y leche humana se realizó a 62 mujeres embarazadas normales con 38 a 40 semanas de gestación; cuyos límites de edad oscilaban entre 20 y 40 años. A sus respectivos neonatos se les tomaron muestras de pelo, uñas y parámetros antropométricos tales como, peso, talla y circunferencia cefálica (CC) al nacer; los cuales clínicamente sirven para evaluar el crecimiento.⁹³

Se tomaron las muestras de pelo (100mg) en la región occipital (ya que esta área muestra menor variabilidad en el contenido de los elementos) mediante una tijera de acero inoxidable y se almacenaron en bolsitas plásticas hasta el momento del análisis.

Las muestras de uñas se cortaron de los dedos de las monos (aproximadamente 100 mg) con un cortaúñas de acero inoxidable y se almacenaron en bolsitas hasta el momento del análisis.

Las muestras de sangre (5 mL) se extrajeron de la vena del antebrazo de las embarazadas utilizando tubos de ensayo de vidrio vacutainer sin anticoagulante, entre 7 y 10 am., en ayunas. Las muestras de sangre se dejaron media hora en reposo y luego se centrifugaron a 2500 r.p.m. por 15 minutos para obtener el suero sanguíneo, que se almacenó en tubos rotulados, bajo refrigeración a -15 °C hasta el momento de su análisis.

Las muestras de leche materna caprino (5 mL) se tomaron por medio de una bomba eléctrica o por presión manual del seno utilizando tubos de ensayo, en los primeros cinco días después del parto. Estas muestras se almacenaron bajo congelación a -15 °C hasta el análisis.

3.6.4.2. Limpieza del material de vidrio.

El material de vidrio utilizado fue lavado cuidadosamente con detergente líquido y abundante agua, enjuagada con solución de ácido nítrico al 10 % (v/v) y luego enjuagado en forma repetida (3 veces) con agua desionizada, manteniéndose tapados hasta el momento de su utilización. Todos estos cuidados estuvieron siempre presentes con la finalidad de evitar la contaminación de los patrones y la muestra de suero que pudiese alterar los valores reales al realizar la determinación de los elementos traza.

3.6.4.3. Determinación de cobre, hierro, cinc y magnesio en suero

sanguíneo, pelo, uñas y leche materna.

3.6.4.3.1. Determinación en las muestras de pelo.

Se pesaron 100 mg de muestras de pelo que fueron colocados en Tubos calibrado a 5 mL previamente rotulados. Estas muestras se lavaron con tres porciones de agua: acetona (1:1 v:v). Posteriormente se secaron en una estufa a 105 °C por 1 hora. A cada tubo se le adicionó 2 mL de una mezcla de ácido nítrico y ácido perclórico (1:1 v:v). Los tubos se taparon con teflón y se dejaron por 12 horas a temperatura ambiente. La disolución de las muestras se completo utilizando un horno de microondas. El programa utilizado para la disolución de las muestras en el microondas consistió en, 2 ciclos: 70 ω por 5 minutos y 140 w por 2 minutos. Se dejo enfriar cada tubo por 5 minutos y se llevó a un volumen de 5 mL con agua desionizada. Se tomaron 30 μ L de la muestra mediante una jeringa Hamilton y se introdujeron de forma firme constante al sistema de inyección en flujo acoplado al espectrofotómetro de absorción atómica (FIA AAS).

3.6.4.3.2. Determinación en las muestras de uñas.

Se pesaron aproximadamente 100 mg de uñas que se colocaron en tubos calibrados a 2 mL previamente rotulados. Las uñas se lavaron cada una por separado con agua desionizada y acetona, y luego se secaron a temperatura ambiente por vanos minutos. A cada uno de los tubos se les adicionó 400 μ l de ácido nítrico 65% y 60 μ l de peróxido de; hidrógeno al 30%. Los tubos se taparon con teflón y se dejaron a temperatura ambiente por 24 horas. Luego se llevó cada tubo al microondas con el siguiente programa de disolución: 70 ω por 5 minutos y 210 ω por 5 minutos. Se dejaron enfriar las muestras por 5 minutos antes de ser retiradas del horno, a fin de permitir escapar los vapores por medio de la trampa; finalmente las muestras se llevaron a un volumen de 1 ml con agua desionizada, Se tomaron 30 μ l de la muestra mediante una jeringa Hamilton y se introdujeron de forma firme y constante al sistema de inyección

en flujo acoplado al espectrofotómetro de absorción atómica (FIA-AAS).

3.6.4.3.3. Determinación en las muestras de suero sanguíneo.

Las muestras de suero fueron descongeladas a temperatura ambiente y remitida a agitación con un Vortex marca Heidolph, homogeneizandolas durante 20 segundos antes de cada determinación, para su análisis químico. Se tomaron 30 μ L de suero mediante una jeringa Hamilton y se introdujeron de forma firme y constante al sistema de inyección en flujo acoplado al espectrofotómetro de absorción atómica (FIA-AAS).

3.6.4.3.4. Determinación en las muestras de leche humano.

Se tomó 3 mL de leche humana y se le adicionó 1 mL de ácido nítrico. Los tubos se taparon con teflón. Luego se llevó al microondas con el siguiente programa de disolución: 70 ω por 5 minutos y 140 ω por 2 minutos. Se dejó enfriar cada tubo por 5 minutos, luego las muestras se llevaron a un volumen de 5 mL con agua desionizada. Se le adicionó 100 μ L de Tritón con el fin de solubilizar la grasa de la leche. Se tomaron 30 μ L de la muestra mediante una jeringa Hamilton y se introdujeron de forma firme y constante al sistema de inyección en flujo acoplado al espectrofotómetro de absorción atómica (FIA-AA3).

3.6.5. Verificación de las condiciones analíticas.

Las condiciones de trabajo fueron verificadas con un patrón acuoso que correspondía a cada valor fisiológico normal reportado por la literatura para Cu, Fe, Zn y Mg en muestras de suero, pelo, uñas y leche humana; siguiendo las recomendaciones dadas en el manual del instrumento Perkin- Elmer 3100.⁹⁴ En la Tabla 3.2. se presentan las condiciones instrumentales seleccionadas para la determinación de cobre, hierro, cinc y magnesio en pelo, suero y leche humana; en pelo y uñas de recién

nacidos.

3.6.6. Características analíticas.

3.6.6.1 Parámetros analíticos.

Utilizando los parámetros instrumentales óptimos se evaluaron las características analíticas del sistema, para lo cual se construyeron las curvas de calibración con patrones acuosos de cobre entre cero (0) y 3 mg/L, de cinc entre cero (0) y 1 mg/L, de magnesio entre cero (0) y 1.8 mg/L y de hierro entre cero (0) y 2.5 mg/L.

Tabla 3.2. Condiciones instrumentales del sistema FIA-AAS para la determinación de Mg, Cu, Fe y Zn en pelo, uñas, suero sanguíneo de mujeres gestantes; en leche humana y en pelo y uñas de recién nacidos.

Parámetros	Mg	Cu	Fe	Zn
Longitud de onda (nm)	285.2	324.8	248.3	213.9
Corriente de la lámpara (mA)	12	6	10	8
Ancho de rendija (nm)	0.7	0.7	0.7	0.7
Aire/acetileno (psi)	100/30	100/30	100/30	100/30
Altura del mechero (mm)	11	11	11	11
Volumen de muestra (µL)	30	30	30	30
Tubo de dispersión (cm)	30	30	30	30
Flujo de agua (mL/min)	4	6	6	5
Intervalo de trabajo (mg/l.)	0.04-1.60	0.42-2.50	0.46-2.00	0.12-0.80

En la Tabla 3.3. tenemos las características analíticas estudiadas en el sistema, como son: El límite de detección (LOD) calculado por la ecuación $LOD = 3SD_b/m$, el límite de cuantificación (LOQ) determinado por la ecuación $LOQ = 10SD_b/m$ (donde SD_b es la desviación estándar del blanco y m la pendiente de la recta) el límite lineal (LOL) el cual se determina experimentalmente, siendo éste, el último punto antes del cambio de pendiente de la recta y el intervalo lineal que es el intervalo comprendido entre el límite de cuantificación y el límite

de linealidad (LOQ - LOL). También se expresa el porcentaje de desviación estándar relativa $RSD\% = (\text{desviación estándar}/\text{media}) 100$, como criterio estadístico de precisión, encontrándose 2%, siendo adecuado ya que está dentro del intervalo recomendado internacionalmente.⁹⁵

Tabla 3.3. Características analíticas del sistema.

Elemento	LOD	LOQ	LOL	LOQ -LOL	RSD %
Cu	0.13	0.42	2.50	0.42-2.50	1.85
Zn	0.04	0.12	0.80	0.12-0.80	1.20
Mg	0.01	0.04	1.60	0.04-1.60	0.67
Fe	0.14	0.46	2.00	0.46-2.00	1.94

3.6.6.2. Intervalo de trabajo.

El intervalo lineal bajo condiciones óptimas se mantiene hasta 2.50 mg/L para el cobre, hasta 0.80 mg/L para el cinc, hasta 1.60mg/L para el magnesio y hasta 2.00 mg/L para el hierro.

3.6.6.3. Técnicas de calibración.

Las gráficas de calibración para la determinación de cobre, cinc, magnesio y de hierro en las muestras se hicieron graficando la señal de absorbancia Vs. la concentración de los patrones acuosos preparados a partir de las soluciones patrón de 1000 mg/L para el cobre, de 500 mg/L para el cinc, de 1.000 mg/L para el magnesio y de 1.000 mg/L para el hierro. En las gráficas 1, 2, 3 y 4 se muestran la representación gráfica de la absorbancia Vs. La concentración de patrones acuosos. La ecuación de la recta esta dada por lo expresión: $A = b + mc$

donde **A** es la señal de absorbancia del patrón acuoso, **b** es el punto de corte de la recta con el eje y, **m** es la pendiente (cambio de **A** por cada unidad de cambio en c), y **c** es el valor de concentración del patrón acuoso.⁹⁶

En la tabla 3.4. se muestran las curvas de calibración para la determinación de Cu. Zn. Fe y Mg.

Tabla 3.4. Curva de Calibrado.

ELEMENTO	EC. REGRECIION LINEAL	R ²
Mg	A= -0,00284+0,12592 C	0,99882
Cu	A= -0,00105+0,02417 C	0,99908
Zn	A= -0,0,0026+0,1675 C	0,9981
Fe	A= 8E-4+0,0216 C	0,9988

3.6.6.4. Exactitud.

3.6.6.4.1. Estudio de recuperación.

La exactitud del procedimiento para el suero, la leche humana, el pelo y las uñas se evaluaron mediante estudios de recuperación del analito en la muestra.

A una muestra de suero se le agregó una cantidad exactamente conocida de magnesio de cobre, de cinc o de hierro, y se sometió al procedimiento de digestión previamente descrito para las muestras (igual procedimiento se aplicó a las muestras de leche humana, pelo y uñas). En la Tabla 3.5. se muestran los porcentajes de recuperación, los cuales fueron cuantitativos en todos los casos, con el cual se obtuvo una recuperación del $100 \pm 3 \%$, lo cual está dentro de lo propuesto por las normas internacionales.⁹⁵

3.6.6.4.2. Muestras certificadas.

Las muestras de suero certificadas son de la Marca Seronorm™ Trace

Elements. Serum, Lote 704121 y se analizaron para validar la exactitud de la metodología analítica en la determinación de cobre, cinc, hierro y magnesio en muestras de suero por espectroscopia de absorción atómica en llama con inyección en flujo continuo (FIA-AAS). En la Tabla 3.6. se muestra el valor certificado de la muestra de suero y el valor experimental encontrado, concluyendo estadísticamente que no hay diferencias significativos ($p < 0.05$).

Por lo tanto, la metodología analítica es válida para la determinación de cobre, cinc, hierro y magnesio. Obteniéndose un valor porcentual $< 5\%$, lo cual es satisfactorio para la metodología empleada.

Tabla 3.5. Porcentajes de recuperación para el magnesio, cobre, cinc y hierro en suero sanguíneo, leche humana, pelo y uñas.

Matriz	Elementos (mg/L)			
	Mg	Cu	Zn	Fe
Suero sanguíneo				
Valor agregado (mg/L)	20,0	1,26	1,48	0,56
Valor encontrado (mg/L)	20,2	1,28	1,47	0,55
% Recuperado	101	101,5	99	98
Leche humana				
Valor agregado ($\mu\text{g/g}$)	1,19	0,52	0,61	0,73
Valor encontrado ($\mu\text{g/g}$)	1,20	0,53	0,60	0,72
% Recuperado	101	102	98	99
Pelo				
Valor agregado ($\mu\text{g/g}$)	244,0	10,8	63,0	12,73
Valor encontrado ($\mu\text{g/g}$)	245,54	11,20	63,92	12,34
% Recuperado	100	103	101	97
Uñas				
Valor agregado ($\mu\text{g/g}$)	29,2	19,8	25	14,7
Valor encontrado ($\mu\text{g/g}$)	30,3	20,3	25,4	15,1
% Recuperado	103	102	102	103

Tabla 3.6. Estudio de exactitud mediante muestras certificadas.

Elemento	Valor certificado* (mg/L)	Valor experimental* (mg/L)
Cu	1,30 ± 0,05	1,28 ± 0,05
Zn	1,48 ± 0,06	1,47 ± 0,04
Fe	0,66 ± 0,04	0,65 ± 0,06
Mg	21,00 ± 0,06	20,2 ± 0,05

* No hay diferencias significativas $p < 0,05$.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El cálculo estadístico de los datos se realizó con base en el programa Statistix 7.0, Analytical software para for Windows, teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

- * Nivel de confianza del 95 %, alfa 0.05.
- * Frecuencia esperada del efecto en expuestos (madres y recién nacidos) del 80% para un total de población de 12 pacientes, de los cuales todos son denominados casos.
- * Para verificar la normalidad de los datos, se empleó el test de Shapiro Wills.
- * Para los test de significancia se empleó la prueba t de Student.
- * Para el test de correlación se empleó el test de correlación de Pearson.

En las mujeres gestantes se evaluaron 16 variables (Zn, Cu, Fe y Mg en pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humana) y en los recién nacidos 12 variables (Zn, Cu, Fe y Mg en pelo y uñas, además, al momento del nacimiento, el peso, la talla, la circunferencia cefálica y las semanas de gestación); analizadas indistintamente y posteriormente estudiadas y correlacionadas entre sí.

Se tuvieron en cuenta como criterios de inclusión, solo pacientes residenciados en el Estado Mérida con embarazos y partos normales con nacimientos vivos, que firmaron el consentimiento voluntario y por escrito para su participación en el estudio.

Se diseñó una encuesta para recolección de datos y antecedentes personales, que pudieran influir en los resultados analíticos; no se realizó estandarización de edades, solo se tomó en cuenta que fueran mujeres en edad reproductiva. (Anexo1).

Dando cumplimiento a las normas de la Legislación Médica Venezolana, fue necesario realizar una carta compromiso (Anexo 2) entre las pacientes y la responsable del trabajo de investigación.

3.8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Nuestro estudio lo constituyen 124 muestras provenientes de 62 mujeres embarazadas cuyos límites de edad oscilaron entre 20 y 40 años y sus respectivos 62 recién nacidos, procedentes del estado Mérida-Venezuela.

En la Tabla 3.7 se muestran los niveles de concentración de Cu, Fe, Mg y Zn en las uñas, pelo y suero sanguíneo de la mujer gestante y en leche humana.

Los datos analíticos obtenidos observaron tendencia a la distribución normal con w cercanos a 1 y p con tendencia a cero, lo que me permite realizar estadísticas paramétricas a todos los datos obtenidos. Los altos coeficientes de variación (CV) 15-51% en cada caso indican una considerable dispersión en los datos analíticos obtenidos; del mismo modo Bank y cols,³² en su estudio encontraron dispersión de valores en la determinación c/e Mg en unas de mujeres embarazadas; mientras que para Cu y Zn no observaron este comportamiento; asimismo Vance y cols,⁴⁶ lo reportan para el Fe; sin explicar el porqué de estos hallazgos. Mientras que Alexiou y cols,⁶⁰ encontraron dispersión al determinar el contenido de Zn. Cu, Fe y Mg en uñas, en su estudio sobre niños de 6 a 11 años en diversas zonas de Grecia, a pesar que no se corresponde con el grupo etario en referencia; enfatizaron que estos valores estaban dentro de los rangos reportados por la literatura; y

consideraron que esta variación se debía a la composición geográfica de sus diferentes regiones estudiadas. Por otra parte, en nuestro estudio, el amplio intervalo en las edades de las mujeres gestantes (20-40 años) podría explicar este comportamiento, ya que el contenido de los elementos estudiados en estas matrices está directamente influenciado por la edad y por otros parámetros (hábitos alimenticios, estrato social, etc.), como lo señalan tanto Deeming y cols,⁹⁷ en su estudio sobre el Zn, Cu, Mg y Fe en pelo y suero sanguíneo, quienes encontraron que el sexo y la edad influían sobre los niveles de estos minerales en pelo; igualmente Zagkrgynska y cols,³⁸ encontraron iguales resultados, para el Mg en pelo. Pop-Jordanova y cols,³⁷ determinaron que no hubo correlación entre los niveles de elementos traza séricos maternos

Tabla 3.7. Niveles de Cu, Fe, Mg y Zn en uñas, pelo y suero sanguíneo de la mujer gestante y en leche humana.

Elemento	Media ± DE	CV (%)	Mínimo	Máximo	W (Test de Normalidad)	P
Cu	15.00±2.39	15.05	11	2	0.9533	0.0270
Fe	22.77±9.54	42.04	1	4	0.3168	0.0000
Mg	48.27±14.29	29.61	24	72	0.9509	0.0147
Zn	28.06±8.80	31.38	14	46	0.9206	0.0007
Cu ¹	19.51±9.89	50.68	10	39	0.8321	0.0000
Pe ¹	17.4±7.08	40.66	10	32	0.8470	0.0000
Mg ¹	146.39±29.78	20.34	100	210	0.9577	0.0316
Zn ¹	149.73±41.14	27.47	143.5	277	0.9109	0.0003
Cu ²	1.80±0.45	25.47	0,65	2.93	0.9759	0.2618
Fe ²	0.81±0.18	22.56	0.47	1.35	0.9635	0.0621
Mg ²	18.9±0.58	34.03	0.09	1.69	0.9631	0.0595
Zn ²	0.43±0.12	27.99	0.21	0.80	0.9472	0.0098
Cu ³	0.63±0.21	33.70	041	1.53	0.8373	0.0000
Fe ³	0.71±0.15	2i.97	0.47	1.26	0.9483	0.0111
Mg ³	0.20±0.62	28.23	1.11	3.82	0.9675	0.0996
Zn ³	0.82±0.31	38.32	0.22	1.66	0.9807	0.4356

n=62

Uñas (μgg^{-1}). Pelo¹ (μgg^{-1}), Suero² (μgml^{-1}), Leche materna³ (μgml^{-1})

(Cu, Zn y Fe) y su edad durante el embarazo, sin embargo, no son objetivos de

evaluación en este trabajo, pero que pueden explicar algunos resultados. Finalmente la dispersión de los datos obtenidos en la leche humana, tienen un comportamiento similar a lo reportado por Picciano y cols,²⁵ quienes estiman que para el Zn y Fe esto es posible por las interacciones moleculares mineral-mineral y las necesidades individuales de elementos para el crecimiento del niño; diferente a lo reportado por Fransson y Lonnerdal;⁰⁸ quienes consideran que este comportamiento para el Zn, Cu, Fe y Mg está dado por su capacidad de asociación (afinidad) con la capa proteica del glóbulo de grasa de la leche humana. Otras literaturas^{99,101} puntualizan aun más esta unión, al afirmar que el Zn, Cu y Fe se unen principalmente a proteínas de la leche de peso molecular aproximado a 150.000 D.

Para el contenido promedio de minerales (Tabla 1.8.) en las uñas de la mujer gestante, no existen valores de referencia, excepto para el Zn, que lo conseguimos bajo en relación al estudio de Milunsky y cols,⁴⁸ quienes mencionan que los niveles elevados de Zn en uñas de mujeres gestantes están asociados con déficits de hierro fetal. Para el Cu, Fe y Mg, se utilizó una comparación con los niveles que se reportan para adultos^{32,46} (Tabla 1.8. y Gráfica 1). Se aprecia una baja concentración en los elementos Zn y Mg; siendo importante resalta que en este estado fisiológico ocurren una serie de cambios que en mayor intensidad se desarrollan en el tercer trimestre, en donde hay una cierta tendencia a una pérdida mineral interna por intercambio placentario (paso de la madre al feto);¹⁰² lo que conduce a que los niveles de estos elementos estén bajos en las matrices de eliminación uñas y pelo, sin caer en déficit, debido al compromiso materno-fetal en la demanda de nutrientes, para satisfacer las necesidades del nuevo ser en crecimiento.^{35,102-}

104

En cuanto al pelo de la mujer gestante (Tabla 1.8. y Gráficos 2) los valores hallados se encuentran dentro de los reportados en la literatura³⁵ para Fe, Cu y Zn;^{17,20} aunque Rathi y cols,¹⁷ sostienen que hay una disminución significativa del Zn en el pelo en el transcurso de un embarazo normal. A excepción del Mg,

que se encuentra alto en relación a los valores para adulto, posiblemente estos niveles del mineral en los dos primeros trimestres del embarazo se encontraba dentro de los rangos normales en límite superior lo que explicaría, una mayor excreción de este elemento en esta matriz de eliminación lenta, que me indica el estatus corporal del mineral en las últimos meses.^{5,25} Vance y cols,⁴⁶ reportan en su estudio que el lavado del pelo puede alterar la concentración de los elementos minerales, por no estar firmemente unido a proteínas de los tejidos, aun así, no hallan una razón sustentable para utilizar uno u otro procedimiento de lavado.

En lo que respecta al suero sanguíneo de la mujer gestante todos los elementos se encuentran dentro de los límites normales reportados por la literatura^{17,18,20,35,41-44,63,70,97,105} (Tabla 1.8. y Gráficos 3) en donde la expansión gradual del volumen plasmático total y de la masa eritrocitaria explicaría la Mínima disminución del cinc y del magnesio, con aumento del cobre en el suero, esto se produce debido a que los altos niveles de estrógenos durante el embarazo producen elevación de la ceruloplasmina, la proteína que transporta principalmente el Cu en el suero sanguíneo,^{106,107} que fue el comportamiento observado en nuestro estudio.

En la leche humana el contenido promedio de Fe y Cu esta alto respecto a lo reportado por la literatura.^{5,25,98}. Mientras que para el Zn los valores son contradictorios^{5,25,93} respecto a nuestros resultados, ya que el status nutricional materno es un importante factor sobre los niveles de Zn.¹⁸ El Mg se encuentra por debajo de los niveles reportados.^{108,109} (Tabla 1.10. y Gráficos 4).

Sin embargo, debe considerarse la influencia que tiene la variabilidad en lo lactancia temprana o prolongada que tienen los componentes de la leche en breves períodos de tiempo¹¹⁰ la alimentación materna y el nivel de privación nutricional.^{111,112}

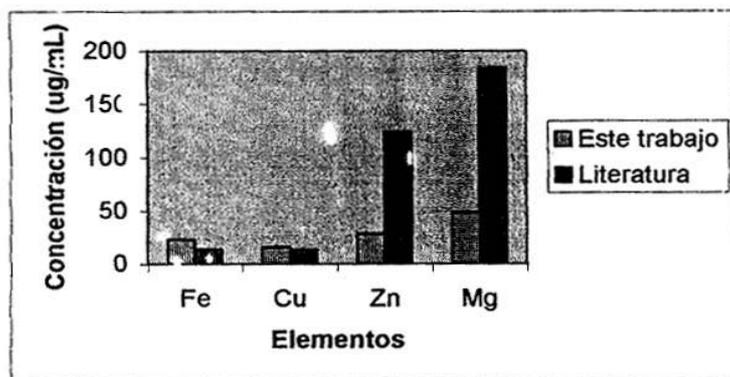


Gráfico 1. Comparación entre el contenido promedio de Fe, Cu, Zn y Mg en uñas de mujeres gestantes encontrados en este trabajo y el reportado en la literatura.^{32,46,48}

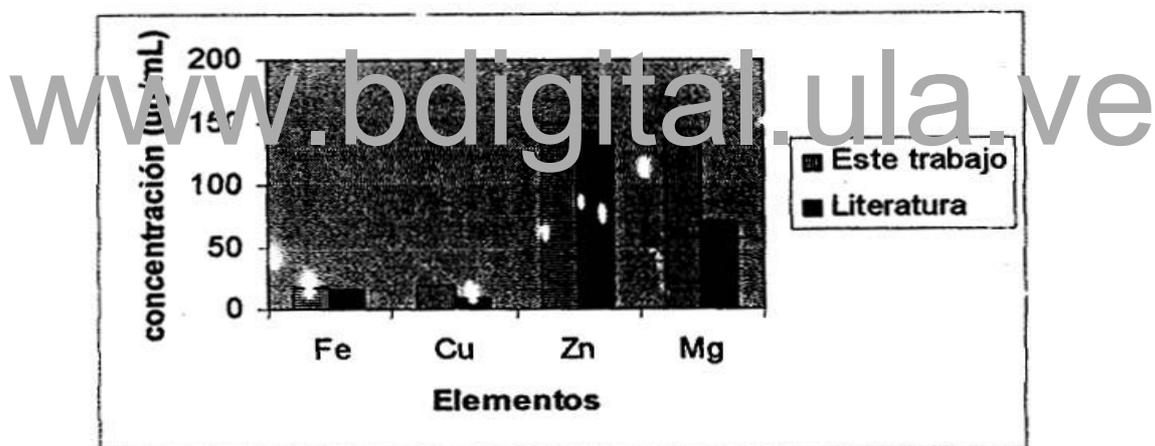


Gráfico 2. Comparación entre el contenido promedio de Fe, Cu, Zn y Mg en pelo de mujeres gestantes encontrados en este trabajo y el reportado en la Literatura,^{35,38,17,20}

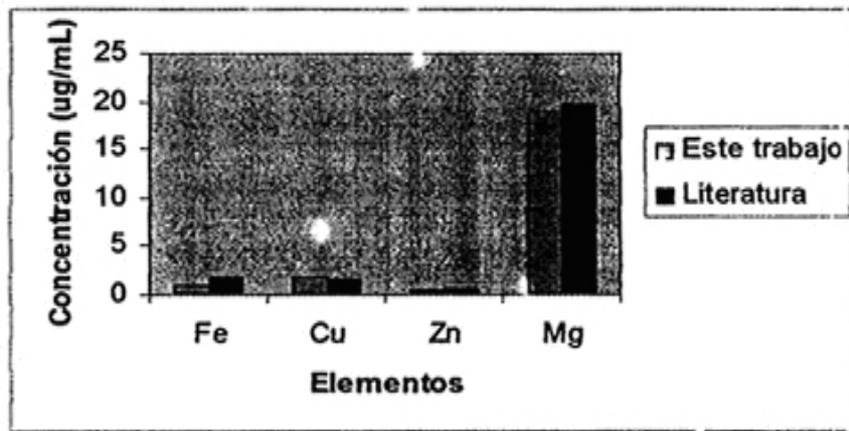


Gráfico 3. Comparación entre el contenido promedio de Fe, Cu, Zn y Mg en suero sanguíneo de mujeres gestantes encontrados en este trabajo y el reportado en la literatura.^{16-18,20,35,41-44,63,70,97,105}

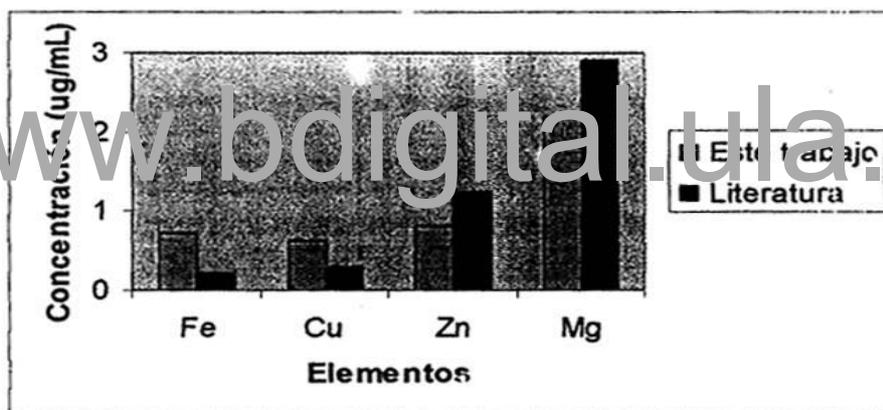


Gráfico 4. Comparación entre el contenido promedio de Fe, Cu, Zn y Mg en leche humana encontrados en este trabajo y el reportado en la literatura.^{5,25,98,108,109}

En las mujeres gestantes no se observó correlación significativa entre el contenido de Cu, Fe, Zn y Mg en pelo, uñas, suero sanguíneo y leche humana, $r = 0,1823$ $p > 0,05$ (Tabla 3.8. y Gráficos del 5 al 7). Asimismo, Sikorski y cols,² en su estudio en embarazadas, no encontraron correlación en los niveles de elementos traza (Cu, Fe y Zn) del pelo y sus niveles en suero sanguíneo y

leche humana; indicando que los depósitos del pelo de esos elementos traza son independientes de las concentraciones en otros tejidos, porque sus depósitos minerales tienen su propia escala en el tiempo, lo que refleja condiciones metabólicas a largo plazo. Respecto al suero sanguíneo y a leche humana, tenemos que Domellöf y cols.¹² confirmando estos hallazgos, no encontraron correlación entre los niveles de elementos traza (Cu, Fe y Zn) en la leche humana con la concentración de estos minerales en el plasma sanguíneo materno; que podría explicarse porque la glándula mamaria presenta efectivos mecanismos de transporte activo para los tres minerales, haciendo que las mamas capten de lo sangre los nutrientes necesarios para sintetizar leche de buena calidad con concentraciones normales de Cu, Fe y Zn. aunque en el suero materno los niveles de estos minerales sean bajos. Igualmente, Lönnerdal¹⁴ reporta en su estudio que no hubo correlación entre los elementos traza entre sí, en leche humana y en el suero sanguíneo materno, por tener metabolismos independientes; de esta forma, considera que la glándula mamaria desarrolle mecanismos que regulan las concentraciones de los nutrientes de la leche, aún cuando la dieta materna varíe considerablemente o las condiciones maternas sean afectadas por diferentes cambios. Contrariamente, Karlinskii⁷² halló una correlación positiva entre el Zn sérico materno y el Zn de la leche materna.

En la Tabla 3.9. se muestran los resultados encontrados para los niveles de Fe, Cu, Zn y Mg en pelo y unas de los recién nacidos, así como el peso, circunferencia cefálica (CC), talla y semanas de gestación (SG) de los mismos. Los datos analíticos obtenidos observaron tendencia a la distribución normal con w cercanos a 1 y p con tendencia a cero, lo que me permite realizar estadísticas paramétricas a todos los datos obtenidos. Se encontraron altos coeficientes de variación (CV) 16-88 % en el contenido de Fe, Cu, Zn y Mg en pelo y uñas, lo que indica una considerable dispersión en los datos analíticos, tal como lo indican Wilhelm y cols.²⁸ y con Alexiou y cols,⁶⁰ para la uña, al relacionarlo con la estación del año, con el sitio de residencia y con la composición de elementos de la región geográfica.

3.8. Análisis de correlación de Pearson.

Elementos	Variables	r	p
Fe	Suero sanguíneo mujer embarazada y leche humana.	0,128	0,31
	Pelo y uñas mujer embarazada.	0,16	0,20
	Unas mujer embarazada y uñas recién nacido.	0,005	0,96
	Leche humana y uñas recién nacido.	0,242	0,057
	Uñas mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0,70</u>	0,002
	Uñas mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0,70</u>	0,0009
	Pelo mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0,73</u>	0,0005
	Pelo mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0,76</u>	0,0000,5
	Suero sanguíneo mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0,73</u>	0,02
	Suero sanguíneo mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0,91</u>	0,0001
	Leche humana y pelo recién nacido.	<u>0,90</u>	0,0001
	Leche humana y talla recién nacido.	<u>0,81</u>	0,0006
Zn	Suero sanguíneo y uñas de mujer embarazada.	0,15	0,22
	Pelo y suero sanguíneo de mujer embarazada.	0,17	0,16
	Pelo mujer embarazada y pelo recién nacido.	0,11	0,36
	Leche humana y uñas de recién nacidos.	0,171	0,1827
	Uñas mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0,81</u>	0,0007

Elementos	Variables	r	p
	Uñas mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0.77</u>	0,001
	Pelo mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0.70</u>	0,0001
	Pelo mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0.75</u>	0.0001
	Suero sanguíneo mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0.84</u>	0.0001
	Suero sanguíneo mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0.87</u>	0,0001
	Leche humana y peso recién nacido.	<u>0.92</u>	0,0001
	Leche humana y talla recién nacido.	<u>0.88</u>	0,0001
Cu	Pelo mujer embarazada y leche humana.	0,366	0,002
	Pelo mujer embarazada y pelo recién nacido.	-0,06	0,60
	Uñas mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0.81</u>	0,0001
	Uñas mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0.70</u>	0,003
	Pelo mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0.858</u>	0,0001
	Pelo mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0.83</u>	0,0001
	Suero sanguíneo mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0.71</u>	0,0006
	Suero sanguíneo mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0.81</u>	0,0001
	Leche humana y peso recién nacido.	<u>0.84</u>	0,0001
	Leche humana y talla recién nacido.	<u>0.90</u>	0,0001
Mg	Uñas y pelo mujer embarazada.	0,12	0,31
	Uñas mujer embarazada y unas recién nacido.	-0,008	0,48

Elementos	Variables	r	P
	Uñas mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0.87</u>	0,0002
	Uñas mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0.84</u>	0,001
	Pelo mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0.939</u>	0,0001
	Pelo mujer embarazada y talla recién nacido.	<u>0.719</u>	0,008
	Suero sanguíneo mujer embarazada y peso recién nacido.	<u>0.83</u>	0,0001
	Suero sanguíneo mujer embarazado y talla recién nacido.	<u>0.87</u>	0,0001
	Leche humana y peso recién nacido.	<u>0.89</u>	0,0001
	Leche humana y talla recién nacido.	<u>0.83</u>	0,0001

$r < 0,40$ = no significativo.

r entre 0,40 y 0,70 = significativo.

$r > 0,70$ = alta significativa.

www.bdigital.ula.ve

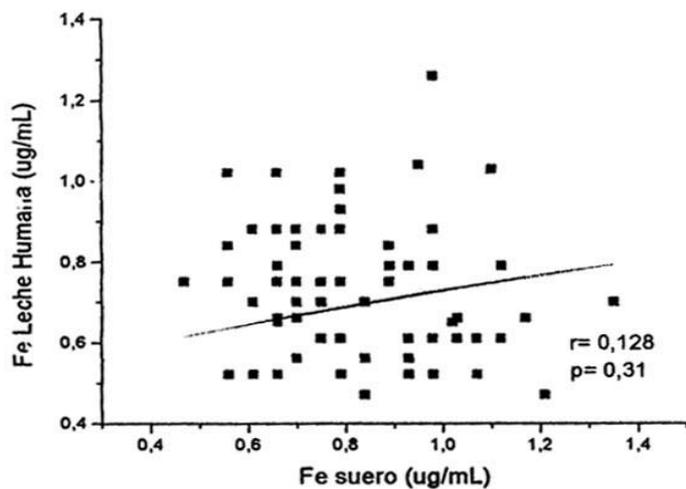


Gráfico 5. Correlación entre el contenido de Hierro (Fe) en suero de mujeres gestantes y el contenido de Fe en leche materna.

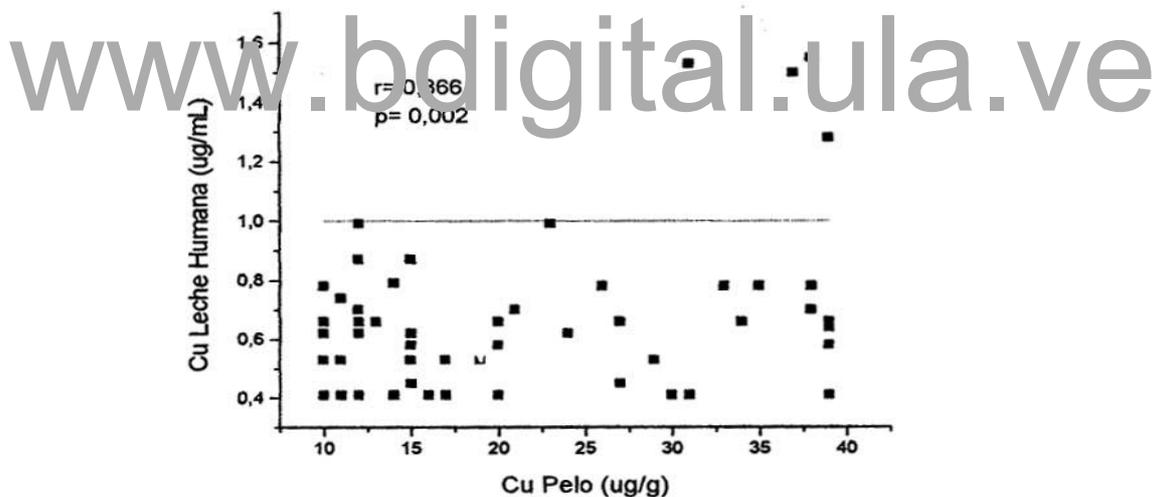


Gráfico 6. Correlación entre el contenido de Cobre (Cu) en pelo de mujeres gestantes y el contenido de Cu en leche materna.

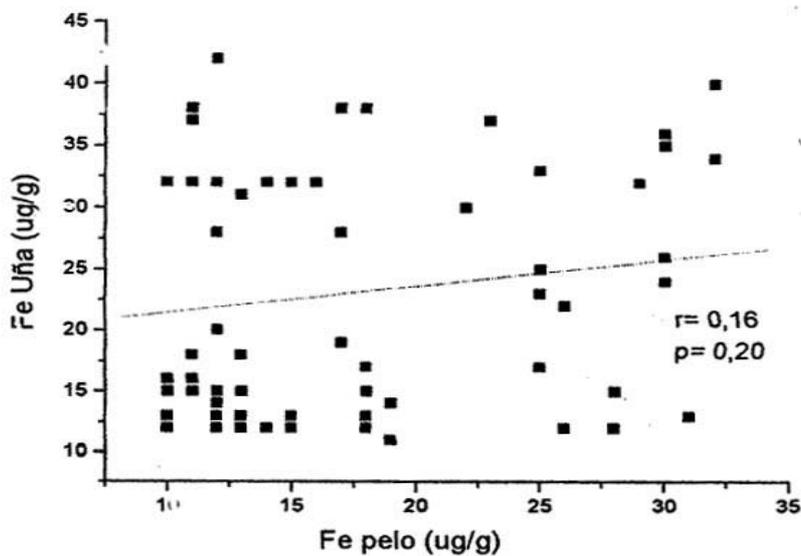


Gráfico 7. Correlación entre el contenido de Hierro (Fe) en pelo y el contenido de Fe uñas de mujeres gestantes.

Se presenta el contenido promedio de los elementos Fe, Cu, Zn y Mg en el pelo de los recién nacidos (Tabla 1.3. y Gráfico 8). El Fe presenta valores bajos en relación a la literatura,⁴⁰ En cuanto al Cu, los valores obtenidos se encuentran elevados en relación a los reportados por Gibson y cols,¹¹³ y Kauf y cols,⁴⁷ contrario a lo encontrado por Moro y cols,³⁹ El Zn se encontró en niveles inferiores a los reportados por la literatura.^{17,20,47,69,113} Es importante la interpretación de los niveles de los elementos traza en el pelo de los recién nacidos, por el notable incremento que tendrán los tres primeros meses.⁴⁷

Tabla 3.9. Contenido de Cu, Fe, Mg y Zn en uñas y pelo de recién nacidos, junto a su respectivo peso, talla, circunferencia cefálica y semanas de gestación.

Elemento	Media \pm DE	CV (%)	Mínimo	Máximo	W(Test de Normalidad)	P
Cu	17.90 \pm 3.53	19.74	10.7	24	0.9478	0.0105
Fe	204.47 \pm 72.18	35.30	100	398	0.9510	0.0150
Mg	116.85 \pm 19.18	16.41	72	154	0.9814	0.4692
Zn	83.00 \pm 40.19	48	36	189	0.8985	0.0001
Cu ¹	128.40 \pm 113.41	88.322	15	544	0.7927	0.0000
Fe ¹	22.53 \pm 5.04	22.37	10	31	0.9612	0.0474
Mg ¹	136.15 \pm 86.38	63.45	15	433	0.8900	0.0000
Zn ¹	66.35 \pm 37.30	56.21	9	166	0.9348	0.0026
Peso	3.18 \pm 0.47	14.75	2.50	4.50	0.9503	0.0137
Talla	49.48 \pm 2.57	5.20	44	55	0.9541	0.0211
CC	34.50 \pm 1.01	2.97	32	36.8	0.9521	0.0179
SG	33.92 \pm 1.20	3.25	33.5	41	0.9422	0.0057

n=62

Uñas (μgg^{-1}). Pelo (μgg^{-1}), Peso (Kg), Talla (cms), Circunferencia cefálica (CC, en cms). Semanas de gestación (SG).

En cuanto al Mg, no existen valores reportados para recién nacidos; al compararlos con los niveles de niños con 7 meses de edad,¹¹⁴ observamos que están ligeramente elevados. Sin embargo, las concentraciones de los elementos biogénicos están relacionadas con la edad, ya que los niveles son altos al nacer y comienzan a disminuir después del primer trimestre. Durante la fase de crecimiento rápido los requerimientos de minerales están elevados y teóricamente sus niveles en pelo y uñas deberían ser bajos.⁶¹ Por otra parte, hay que considerar otros factores que pueden influir en el contenido de estos elementos en las matrices estudiadas, tales como, estación del año al nacer, nivel socioeconómico, diferencias geográficas, contenido de dichos elementos

en el agua y el suelo, etc.¹⁰⁸ Aunque no son objetivos de estudio en el presente trabajo, Kauf y cols⁴⁷ no hallaron diferencias significativas entre el Cu y el Zn del pelo con respecto al sexo del recién nacido.

El contenido promedio de los elementos Fe, Cu, Zn y Mg en las uñas de los recién nacidos no tiene parámetros de referencia (Tabla 3.10). A pesar de que Sirota y cols;⁶⁹ tienen un estudio sobre minerales, Cu, Zn, Fe, Mg, Ca, K, Na, Cl, S, Al y P, en uñas de neonatos, no reportan valores de referencia, aunque recalcan los cambios en la composición de los elementos traza en las uñas con el progreso de la edad durante la etapa neonatal y bajo ciertas condiciones patológicas.

En la población de recién nacidos estudiados no se observó correlación significativa entre el contenido de Zn, Cu, Fe y Mg en pelo y uñas ($r = 0,1242$ $p > 0,05$). Del mismo modo, Moro y cols,³⁹ en su estudio sobre neonatos, no encontraron correlación entre la concentración de los elementos Fe, Cu y Zn en pelo, su pelo y la edad gestacional al nacer. Opuesto a lo reportado por Sikorski y cols.² quienes encontraron una correlación significativa entre los niveles de Fe en pelo y la talla del neonato. Por lo tanto nuestros resultados están en concordancia con los resultados de Moro y cols³⁹

En la Tabla 3.10. se muestra los niveles de los diferentes elementos (Fe, Cu, Zn y Mg) reportados por la literatura^{28,46,61,89,114,119} en pelo y uñas en niños según lo edad, cabe destacar que estas concentraciones no la podemos relacionar con el presente estudio en los recién nacidos por ser de edades superiores, con fuentes nutricionales diferentes y recibir influencia de factores externos (tales como; velocidad de crecimiento, exposición a contaminantes del medio ambiente, usos cosméticos, hábito tabaquito, etc.); resaltando que para los neonatos hay muy pocos estudios sobre estos minerales en pelo e inexistentes en uñas.

Tabla 3.10. Niveles de referencia en pelo y uñas reportados por la literatura según la edad.

Matriz	Edad	Fe (μgg^{-1})	Cu (μgg^{-1})	Zn (μgg^{-1})	Mg (μgg^{-1})	Referencia
Pelo						
	7m - < 4 a	20 \pm 2,6	14,7 \pm 1,2	200 \pm 20	121 \pm 26	114
	1 - < 2 a		14,3	73		61
	3 - 7 a		13,05 \pm 7,65	118 \pm 45		28
	5 - 9 a		19,7 \pm 14,4	126,5 \pm 50,5		61
	21 - 76 a		32,8 \pm 2,6	155 \pm 29,5	132 \pm 11	115
	< 45 a	9,16		150		46
	1 - 3 a		20 \pm 2,4	166 \pm 17		116
	1 - 6 a	20 \pm 2,6	14,7 \pm 1,2	200 \pm 20		114
	1 - 5 a			123 \pm 74		117
	Adultos	227 \pm 3	16,1 \pm 0,4	166 \pm 1	214 \pm 3	89
Uñas						
	3 - 7 a		10,8 \pm 7,3	141,5 \pm 24,5		28
	5 - 9 a		14,95 \pm 11,65	120 \pm 42		61
	Mujeres	0,98 \pm 0,42	0,95 \pm 0,41	1,20 \pm 0,5		118
	30 - 55 a					
	Adultos			106,5 \pm 38,5	74,5 \pm 1,9	119
	< 45 a	16,9		149		46

d: días m: meses a: años

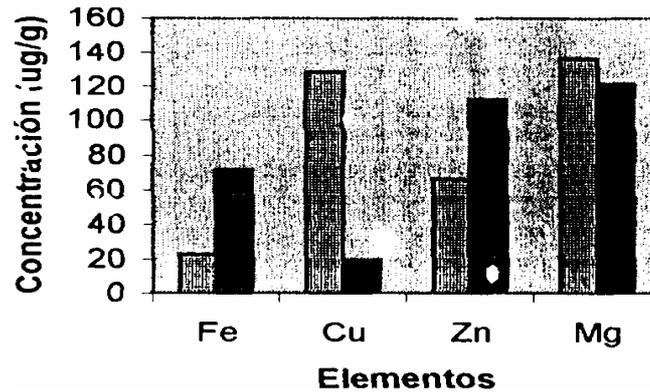


Gráfico 8. Comparación entre el contenido promedio de Fe, Cu, Zn y Mg en pelo de recién nacidos encontrados en este trabajo y el reportado en la literatura.^{17,20,39,47,113,114}

Por otro lado, no se observó correlación alguna ($r=0,0457$ $p > 0,89$) entre el contenido de Fe, Cu, Zn y Mg en pelo, uñas y suero sanguíneo de las mujeres gestantes; y el contenido de dichos elementos en pelo y uñas de sus respectivos hijos (Tabla 3.8.) Del mismo modo, Karlinskii⁷² encontró que no hubo correlación entre el Zn de pelo de la mujer gestante y el Zn del pelo del recién nacido. Asimismo, Pop-Jordanova y cols,³⁷ no obtuvieron correlación entre los niveles de elementos traza séricos maternos, los niveles de elementos traza del pelo de los recién nacidos y las variables maternas: edad y paridad; esto coincide con el estudio de Perveen y cols.¹²⁰ quienes de la misma manera, no encontraron diferencias significativas entre la edad gestacional con respecto al cobre y al cinc del suero materno. Contrariamente, Karlinskii⁷² halló correlación positiva entre el Zn sérico materno y el Zn del pelo de los recién nacidos.

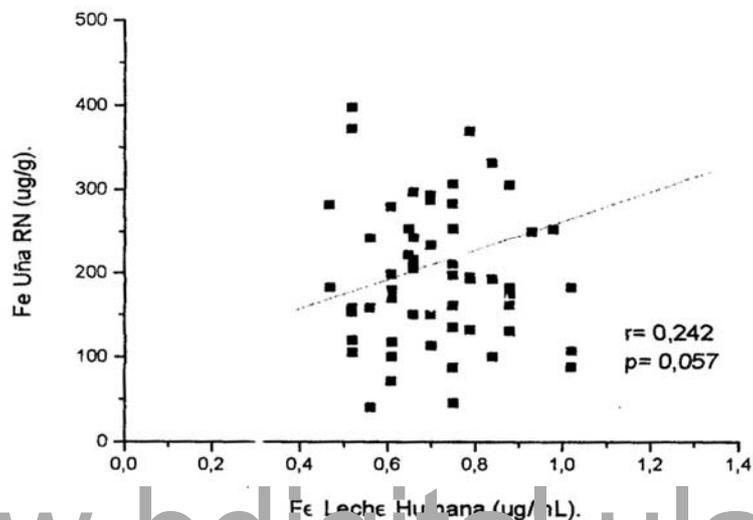
En este caso vale la pena recalcar que mujeres gestantes con bajos niveles de Zn, Cu, Fe y Mg, o cercanos al límite inferior, parieron niños con estos elementos dentro de niveles reportados como normales,^{37,39} (ya que esta eventualidad materna no es indicativa necesariamente de neonatos con déficit en estos minerales),^{37,39} este comportamiento se observa en las Tablas 3.7 y 3.9. Es importante enfatizar que el transporte de elementos traza esenciales de

la madre al feto varía durante todo el embarazo, habiendo una fuerte transferencia de cinc y cobre a nivel placentario en el tercer trimestre; esto podría explicarse debido a que seguramente el organismo por cualquier mecanismo compensa este déficit, tal vez hace uso de las reservas en sus depósitos originales y los traspasa al feto, y/o puede haber un adecuado nivel de proteínas transportadoras a nivel placentario que favorecería el paso de estos nutrientes desde la circulación materna al condón umbilical.¹²⁰ La disminución de la transferencia placentaria de elementos traza esenciales, Zn, Cu y Fe séricos, podría ser uno de los múltiples factores etiológicos del bajo peso al nacer de los recién nacidos.¹⁹

Sanin y cols,¹²¹ sostienen que la dependencia del crecimiento del fetal esta dado por el flujo continuo de oxígeno y nutrientes desde la mujer embarazada a través de la circulación materno-fetal, ya que los fetos con retardo de crecimiento intrauterino tienen restricciones en este flujo sanguíneo. La regulación del crecimiento fetal es compleja y desconocida durante el primer trimestre no están involucrados factores endocrinos y el control del crecimiento depende de la oferta de nutrientes y localmente por factores de crecimiento dependientes de insulina (IGF-I, IGF-II) y de las proteínas ligadoras de estos factores (IGFBP-3). En la mitad del embarazo el crecimiento fetal depende, fundamentalmente de que la simbiosis materno-placentaria pueda aportar suficientes nutrientes al feto. Al final del embarazo, el tamaño y la capacidad funcional de la placenta, capaz de captar nutrientes (entre ellos Cu, Zn, Fe, y Mg) de la circulación materna transportarlos al feto es un factor que esta directamente relacionado con la tasa de crecimiento fetal.^{122,123}

De la misma manera, no se observó correlación ($r=0,2065$ $p > 0,89$) entre el contenido de Fe, Cu, Zn y Mg en la leche humana y el contenido de estos minerales en pelo y uñas de los recién nacidos que la reciben (Tabla 3.8. y Gráficos 9 al 10). Debido a que, los niveles de estos elementos del pelo y las uñas de los recién nacidos son matrices de excreción lenta, tal como se ha detallado anteriormente, y nos reflejan el metabolismo de ellos durante la etapa

intrauterina y no durante la etapa neonatal; mientras que la leche se sintetiza después de nacimiento.^{2,5,25} Sin embargo, Kosielec y cols,¹⁹ encontraron que la concentración de los elementos, Fe, Mg y Zn (excepto el Cu), del pelo de los recién nacidos presentó una correlación positiva con estos elementos en la leche materna.



www.bdigital.ula.ve

Gráfico 9. Correlación entre el contenido de Hierro (Fe) en la leche humana y el contenido de Fe en uñas del recién nacido.

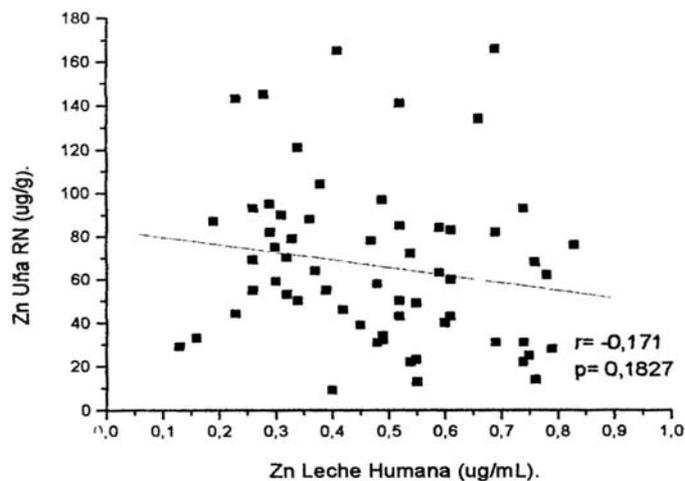


Gráfico 10. Correlación entre el contenido de Cinc (Zn) en la leche humana y el contenido de Zn en uñas del recién nacido.

Al correlacionar los niveles de Zn, Cu, Fe y Mg en pelo, uñas y suero sanguíneo de las mujeres gestantes, con el peso y la talla de los recién nacidos; al igual que al correlacionar los niveles de estos diferentes minerales en la leche humana con el peso y la talla de los recién nacidos, se encontró una alta y significativa correlación positiva, ($r= 0.8147$ $p \leq 0,004$) (Tabla 3.8. y Gráficos del 11 al 18); porque los niños con mayor peso y tallo provienen de mujeres gestantes con niveles de elementos biogénicos en pelo, uñas, y suero sanguíneo y en leche humana, por encima del promedio o cercanos al límite superior reportado como normal.^{5,17,18,25,32,35,41-44,48,58,63,70,98,105,108,109} Asumiendo que evaluar estos niveles en mujeres gestantes podría resultar interesante como parámetro predictivo, solo en peso y talla del recién nacido, más no influye en las concentraciones de los elementos aquí analizados que tendrá al nacer.

Vir y cols,⁷⁰ encontraron resultados similares a nuestro estudio con respecto de los niveles de Cu en el pelo y en suero sanguíneo de la mujer gestante, demostrando una correlación significativa con el peso. Aunque Lao y cols,⁴¹ no hallaron correlación entre en Zn sérico materno y el peso al nacer. Asimismo, Aydemir y cols,¹⁸ no encontraron correlación entre niveles de Zn plasmático materno con parámetros antropométricos del recién nacido, peso y talla al nacer.

La ganancia de peso-talla y C.C. son variables que se hallan relacionadas con la nutrición materna. La composición corporal materna (masa magra, masa grasa y agua corporal total) tiene una asociación significativamente positiva con el peso al nacer del recién nacido, siendo otro un indicador de peso al nacer. A su vez, el peso al nacer es un importante indicador, no solamente de salud perinatal, sino también del crecimiento y desarrollo, porque es sensible a variables relacionadas con la nutrición materna, con condiciones socio-demográficas, con el medio ambiente y con factores gineco-obstetricos.¹²¹

La circunferencia cefálica (C.C) y las semanas de gestación no aportaron

ningún dato relevante al estudio, con $p > 0.09$. Niños con parámetros normales en cuanto al diámetro de CC (32 - 33 cm) y un tiempo de gestación a término (38 y 41 semanas), mostraron igual o mayor peso y talla que niños con mayor diámetro de C.C. y tiempo de gestación. ≥ 42 semanas; probablemente debido a que las gestaciones cronológicamente prolongadas (≥ 42) tienen comprometida la irrigación placentaria (comunicación sanguínea materno-fetal) por envejecimiento de esta, que limitaría el aporte de nutrientes al feto, en vista de que los transportadores proteicos específicos de estos minerales se encuentran disminuidos; aunque el aumento del diámetro cefálico se desarrolle como viene programado genéticamente.^{102,120,124,125} Asimismo. Aydemir y cols,¹⁸ no encontraron correlación entre niveles de Zn plasmático materno con la CC del neonato. Del mismo modo. Ajose y cols,⁴² no hallaron correlación significativa entre la concentración del Zn sérico materno y la edad gestacional.

Iqbal y cols,⁴³ no hallaron correlación significativa entre la concentración del Zn sérico materno y la edad gestacional. Aunque si hallaron correlación significativa entre el Cu sérico materno y la edad gestacional.

Opuesto a estos hallazgos, Vir y cols⁷⁰ demostraron una correlación significativa entre el Cu del pelo y del suero sanguíneo materno con la C.C.

Es importante resaltar, que los hallazgos de Osada y cols,¹²⁶ indican que los niveles de elementos biogénicos (Cu, Zn y Mg) en el suero sanguíneo materno por encima del límite superior reportado por la literatura podrían estar asociados con retardo del crecimiento intrauterino. Asimismo, Negger y cols,⁷³ reportaron en su estudio que el Zn sérico materno tiene una relación inversamente proporcional con el peso al nacer, ya que mujeres embarazadas con niveles altos de Zn sérico tuvieron neonatos pequeños y cuando los niveles de este elemento son inferiores a $0,6 \mu\text{g/mL}$ dan niños grandes.

Çadvar y cols,²⁰ reportan que bajos niveles de Zn en pelo ($< 182 \pm 64,4 \mu\text{g/g}$) y en suero sanguíneo de la mujer embarazada ($0,72 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$) son

responsables de defectos en el tubo neural del feto. Aunque en diferentes matrices, son contradictorios a los resultados de Milunsky y cols,⁴⁸ quienes señalan que los niveles elevados (> 90-119 ppm) de Zn en uñas de la mujer embarazada está asociado con defectos en el desarrollo del tubo neural fetal.

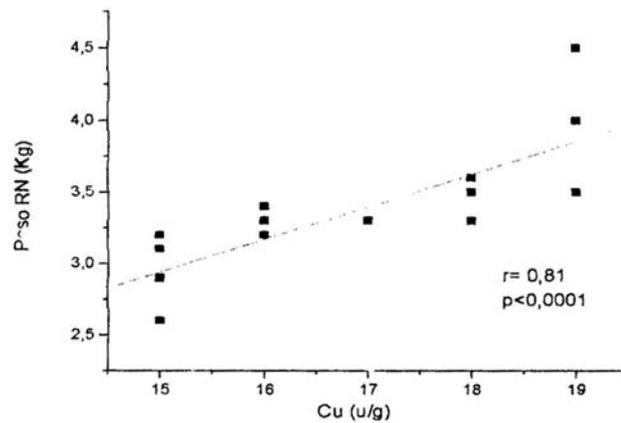


Gráfico 11. Correlación entre el contenido de Cobre (Cu) en uñas de mujeres gestantes y peso del recién nacido.

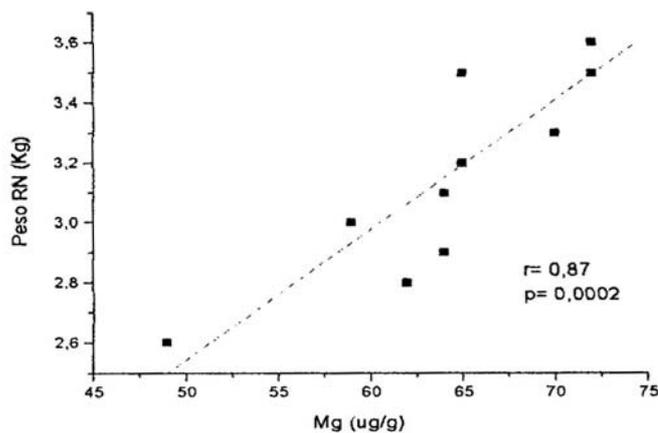


Gráfico 12. Correlación entre el contenido del magnesio (Mg) en uñas de mujeres gestantes y peso del recién nacido.

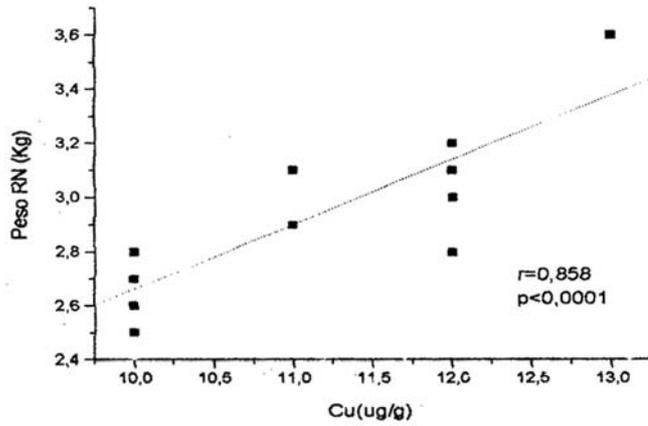


Gráfico 13. Correlación entre el contenido de Cobre (Cu) en pelo de mujeres gestantes y peso del recién nacido.

www.bdigital.ula.ve

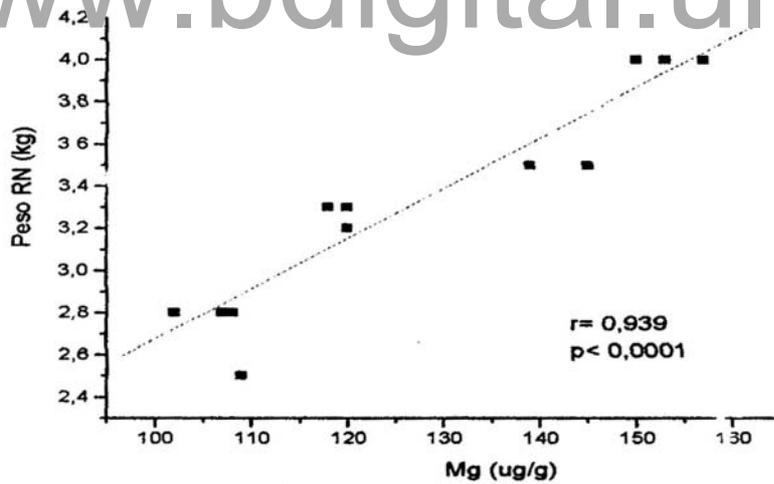


Gráfico 14. Correlación entre el contenido de Magnesio (Mg) en pelo de mujeres gestantes y peso del recién nacido.

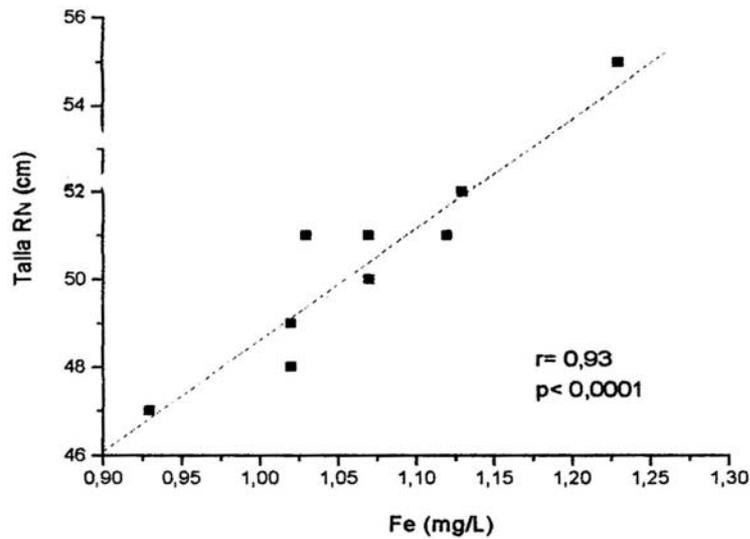


Gráfico 15. Correlación entre el contenido de Hierro (Fe) en suero sanguíneo de mujeres gestantes y talla del recién nacido

www.bdigital.ula.ve

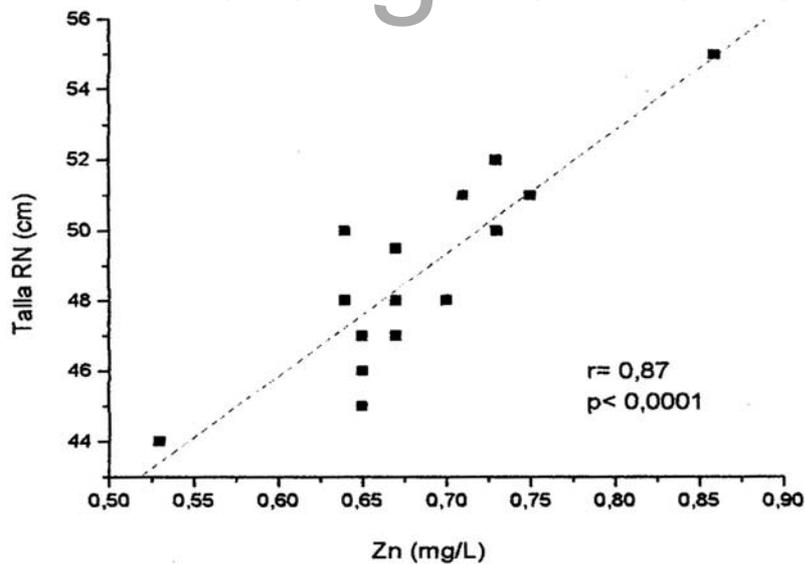


Gráfico 16. Correlación entre el contenido de Cinc (Zn) en suero sanguíneo de mujeres gestantes y talla del recién nacido.

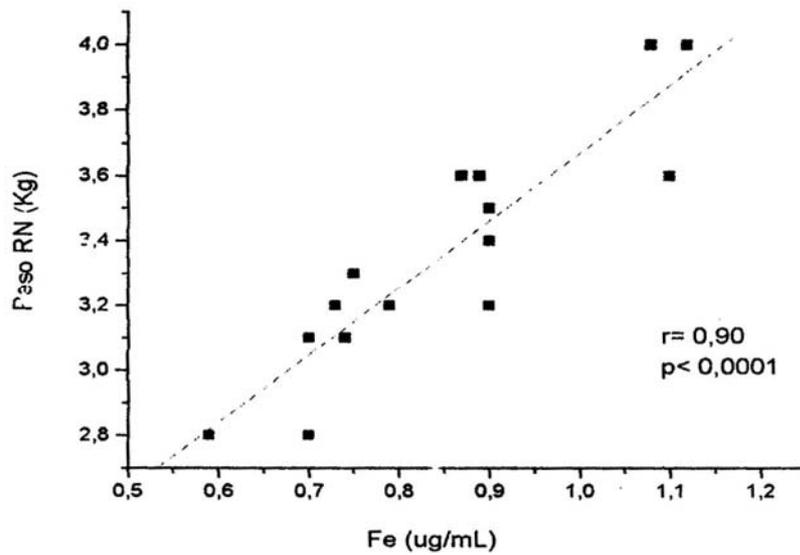


Grafico 17. Correlación entre el contenido de Hierro (Fe) en leche humana y peso del recién nacido.

www.bdigital.ula.ve

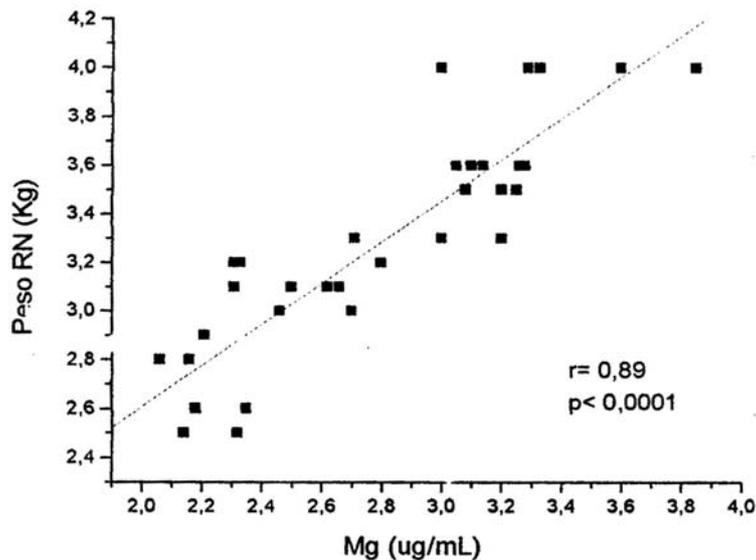


Grafico18. Correlación entre el contenido de magnesio (Mg) el leche humana y peso del recién nacido.

3.9. CONCLUSIONES

Los resultados estadísticos obtenidos nos permiten concluir con un 95 % de probabilidad lo siguiente;

1.- El contenido de los elementos (Cu, Fe, Zn y Mg) en uñas, en pelo y en suero sanguíneo de las mujeres gestantes y en leche humana encontrados en este trabajo; están dentro de los rangos reportados como normales por la literatura.

2.- No existe en este trabajo ninguna relación entre el contenido de los elementos en uñas, en pelo y en suero sanguíneo de las mujeres gestantes y en leche humana con los encontrados en el pelo y las uñas del niño al nacer.

3.- No se encontró correlación entre el contenido de los elementos en la embarazada y leche humana con la edad gestacional y el diámetro de la circunferencia cefálica (C.C)

4.- Se observó una alta y significativa correlación entre los niveles de Zn, Cu, Fe, y Mg en pelo, uñas y suero sanguíneo de las mujeres gestantes y en leche humana con el peso y la talla de los recién nacidos.

5.- Los niños con mayor peso y talla provienen de mujeres gestantes con niveles de elementos biogénicos en pelo, uñas, y suero sanguíneo y en leche humana, que se encuentran en el promedio o cercanos ni límite superior reportado por la literatura como normal, lo que nos permite deducir que al evaluar estos niveles en mujeres gestantes podría resultar interesante como parámetro predictivo, solo en peso y talla del recién nacido, más no influye en las concentraciones de los elementos aquí analizados que tendrá al nacer.

3.10. BIBLIOGRAFÍA.

1. Krause-Jarres JD. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 1987; 1(1): 5-19.
2. Sikorski R, Juskiewicz T, Paszkowski T, Radomanski T, Szkoda J, Milart P. Eur J Obst Gynecol 1986; 23: 349-357.
3. Black R. Brit J Nutr 2001; 85(2); S193-S197.
4. Kalinowski J, Chavez E. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 1990; 4(2); 115-125.
5. Burguera M, Burguera JL, Garabato AM, Alarcón O. Trace Elem in Med 1988; 5(2); 60-63.
6. Loui A, Raab A, Obladen M, Bratter P. Eur J Clin Nutr 2002; 56 (Iss 3): 228-235.
7. Bhandari N, Bahl R, Taneja S. Brit J Nutr 2001; 85(2); S131-S137.
8. Dini E. Vitamina y minerales en el crecimiento. Nutrición en Pediatría. 1999. pp147.
9. Bernerjo P, Peña E, Domínguez R, Bermejo A, Cochón J, Fraga I, Food Chem 2002; 77; 361-369.
10. Bhan M, Sommerfelt H, Strand T. Brit J Nutr 2001; 85(2): S199-S203.
11. Espo M, Kulmala T, Maleta K, Cullinan T, Salin M, Ashorn P. Acta Paediatr 2002; 91: 1364-1370.
12. Domellöf M, Lönnerdal B, Dewey K, Cohen R, Hernell O. Am J Clin Nutr 2004; 79: 111-115.
13. Burguera M, Burguera JL, Garabato A, Alarcón O. Quím Anal 1987; 6(4); 427-435.
14. Lönnerdal B. Nut Rev 2000; 58(8): 223-229.
15. Sahuquillo A, Rubio R, Ribó J, Ros E, Vela M. J Trace Elem 2000; 14: 96-99.
16. Burguera JL, Burguera M, Alarcón O. Trace Elem Med 1986; 3(3): 117-120.
17. Rathi S, Srinivas M, Grover J, Mitra D, Vats V, Sharma J. Indian J Pediatr 1999; 66(5): 681-684.

18. Aydemir F, Çadvar A, Soylemez F, Cengiz B. *Biol Trace Elem Res* 2003; 91(3); 193-202.
19. Srivastava S, Mehrotra P, Srivastava SP, Siddiqui M. *Biol Trace Elem Res* 2002; 86(2); 97-105.
20. Çadvar A, Bahçeci M, Akar N, Erten J, Bahçeci G, Babacan E, Arcasoy A, Yavuz H. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1988; 2: 9-14.
21. Samanta G, Sharma R, Roychowdhury T, Chakraborti D. *Scienc Total Environ* 2004; 326(1-3); 33-47.
22. Rodushkin I, Axelsson M. *Scienc Total Environ* 2003; 305(1-3): 23-39.
23. Hinwood A, Sim M, Jolley D, de klerk N, Bastone E, Gerestamoulus J, Drummer O. *Environ Health Perspect* 2003; 111(2); 187-193.
24. Lech T. *Biol Trace Elem Res* 2002; 85:111-126.
25. Picciano MF, Guthrie HA. *Am J Clin Nutr* 1976; 29: 242-254.
26. Silvestre MD, Lagarda MJ, Forré R, Martinez-Costa C, Brines J, Molina A, Clemente G. *Biol Trace Elem Res* 2000; 76: 217-227.
27. Ferreira-Estrella P, Muñiz-Javeiro O, Morela-Piñero A, De Mejo Farrera A. *Foren Scien Internat* 2000; 107: 105-120.
28. Wilhelm M, Hafner D, Lombeck I, Ohnesorge FK. *Scienc Total Environ* 1991; 103: 199-207.
29. Gammelgaard B, Peters K, Menné T. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1991; 5(2): 121-123.
30. Pan T, Un T, Tseng L, Yan M, Huang C. *Trace Elem Res* 1993; 39: 117-127.
31. Lehinger A. *Bioquímica*. Ediciones Omega S.A. España. 1982.
32. Bank H, Robson J, Bigelow J, Morrison J, Spell L, Kantor R. *Clin Chim Acta* 1981; 116; 179-190.
33. Donma O, Günbey S, Ali Tas M, Donma M. *Biol Trace Elem Res* 1990; 24: 39-47.
34. Arancibia V, Alarcón L, Segura R. *Anal Chim Acta* 2004; 502: 189-194.
35. Ming Huang M, Lau P, Ze Sun, Gung M. *Biol Trace Elem Res* 1999; 69: 111-120.

36. Wang X, Zhuang Z, Zhi E, Yang Ch, Wan T. *Microchem J* 1995; 5-14.
37. Pop-Jordanova N, Bogdanova M. *Acta Paediat* 1992; 81: 700-701.
38. Zakrgynska-Fontaine V, Doré JC, Ojasoo T, Poirier-Duchêne F, Viel C. *Biol Trace Elem Res* 1998; 61: 151-168.
39. Moro R, Gialanella G, Zhang Y, Perrone L, Di toro R. *J Trace Elem. Electrolytes Health Dis* 1992; 6(1): 27-31.
40. Nicolaou G, Pietra R, Sabbioni E, Mosconi G, Cassina G, Seghizzi P. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1987; 1(2): 73-77.
41. Lao T, Loong E, Chin R, Lam C, Lam Y. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1990; 69(7-8): 609-611.
42. Ajose A, Fasubaa B, Anetor J, Adelekan D, Makinde N. *Niger Postgrad Med J* 2001; 8(4): 161-164.
43. Iqbal A, Shahidullah M, Islam M, Akhter S, Banu S. *Indian J Pediatr* 2001; 68(6): 523-526.
44. Aggarwal M, Chatri F. *Indian J Pediatr* 1998; 65(11): 899-903.
45. Shir A. Selenium compounds in nature and Medicine. *Metabolism of selenium by plants and microorganisms* 1973; 763.
46. Vance D, Ehmann W, Markesbery W. *Biol Trace. Elem Res* 1988; 17: 109-121.
47. Kauf E, Weisner W, Niese S, Plenert W. *Acta Paediatr Hung* 1984; 25(3): 299-307.
48. Milunsky A, Morris JS, Jick H, Rothman K, Ulcickas M, Jick S, Shoukimas P, Willett W. *Teratology* 1992; 46(4): 341-348.
49. Sakai T, Wariishi M, Nishiyama K. *Biol Trace Elem Res* 2000; 77: 43-51.
50. Wang Y, Tan M, Huang Z, Sheng L, Ge Y, Zhang H, Jiang M, Zhang G. *Biol Trace Elem Res* 2002; 88: 113-118.
51. Krachler M, Rossipal E, Micetic-Turk D. *Biol Trace Elem Res* 1999; 68(2): 121-135.
52. Fleming G, Waish T. *Proc Ir Acad Sect* 1967; B88: 151-155.

53. Rosenfeld I, Beath O. Selenium: Geobotany, biochemistry, toxicity, and nutrition. Acad Press. New York. 1964.
54. Burguera M, Burguera JL Anal Chim Acta 1998; 366: 63-80
55. Burguera M, Burguera JL, Rondón C, di Bernardo M, Gallignani M, Nieto E, Salinas J. Spectrochim Acta 1999; Part B 54; 805-818.
56. Custodio P, Carvalho M, Nunes F. Anal Bioanal Chem 2003; 375(8): 1101-1106.
57. Sanz A, Díaz R. Chem Rev 1995; 95(1): 231-234.
58. Skoog D, Leary J. Análisis Instrumental. 4^a ed. Mc Graw-Hill Interamericana de España, S.A. 1996. pp. 278-282.
59. Hunt I. Murphy N, Cleaver A, Faraji B, Swendseid M, Coulson A, Clark V, Laine N, Davis C. Smith C. Am J Clin Nutr 1983; 37: 572-582.
60. Alexiuo D, Koutselinis A, Manolidis C, Boukis D. Papadatos J, Papadatos. C. Dermatológica 1980; 160: 380-382.
61. Wilhelm M, Lombeck I, Ohnesorge FK. Scienc Total Environ 1994; 141: 275-280.
62. Wen KH. Fan Chen S, Ching Wu Ch, Ren Chen D, Hung Lee J. Biol Trace Elem Res 2002; 89: 1-11.
63. Schulpis K, Karakonstantakis T, Gavrili S, Chronopoulou G, Karikas G, Vlachos G. Papassotiriou I Eur J Clin Nutr 2004; 58(9): 1314-1318.
64. Rocks B, Sherwood R. Clin. Chem 1982; 28; 440-444.
65. Rocks B, Sherwood R, Bayford L and Riley C. Clin. Bic-chem 1982; 19; 38-342
66. León N, Burguera JL, Burguera M, Alarcón O. Rev Roumaine Chim 1986; 31: 353-360.
67. Mcleod C, Worsfold and Cox A. Analyst 1984; 109; 327-330.
68. Kaller S, Gallo L, Proud V. Nature Genet 1994; 195-202.
69. Sirota L, Straussberg R. Fishman P. Dulitzky F, Djaldetti M. Pediatr Dermatol 1985(3); 184-186.
70. Vir S, Love A, Thompson W. Am J Clin Nutr 1981; 34(11); 2382-2388.

www.bdigital.ula.ve

71. Koziellec T, Durska G, Strecker D, Drybanska-Kalita A. *Pediatr Pol* 1996; 71(5): 405-410.
72. Karlinskii M. *Pediatriia* 1990; 4; 26-29.
73. Neggers Y, Cutter G, Alvarez J, Goldenberg R, Acton R, Go R, Roseman J. *Early Hum Dev* 1991; 25(2); 75-85.
74. Dockmeci F, Engin-Ustun Y, Kavas G, Kocaturk P. *J Reproduct Med* 2004; 49(3); 200-204.
75. Kumru S, Aydin S, Simsek M, Sahin K, Yaman M, Ay G. *Biol Trace Elem Res* 2003; 94(2); 105-112.
76. Wang Y, Tan M, Huang Z, Sheng L, Ge Y, Zhang H, Jiang M, Zhang G. *biol trace Elem res* 2002, 88(2); 113-118.
77. Awadallah S, Abu-Elteen K, Elkarmi A, Qaraein S, Salern N, Mubarak M. *J Trace Elem Experiment Med* 2004; 17(1); 1-8.
78. Simmer K, Ahmed S, Corlsson L, Thompson R. *Brit J Nutr* 1990; (63); 91-96.
79. Silva I, López G, Nóbrega A, Souza G, Nogueira M. *Spectrochim Acta. Parte B.* 2001; 56; 1909-1916.
80. Bermejo P, Peña E, Domínguez R, Bermejo A, Cocho J, Fraga J. *Food Chem* 2002; 77: 361-369.
81. Silvestre MD, Lagarda MJ, Forré R, Martinez-Costa C, Brines J, Molina A, Clemente G. *Biol Trace Elem Res* 2000; 76: 217-227.
82. Burguera JL *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1991; 5(2); 125-137.
83. Brunetto M, Alarcón O, Dávila E, Galignani M, Rondón C, Burguera JL, Burguera M, Angarita C. *J Trace Elem Med Biol* 1999; 13: 40-50.
84. Burguera JL, Burguera M. *Anal Chim Acta* 1984; 161; 375-379.
85. Burguera JL, Burguera M. *J Anal Atom Spect* 1986; 1: 79-83.
86. Alarcón O, Reinoso J, Silva T, Ramirez de Fernandez M, Gamboa J. *J Trace Elem Med Biol* 1996; 10: 210-213.
87. Loconto J, Papes F, Chang, E. *Cell* 2003; 112(5); 607-618.

88. Yudkin J, Kang S, Bruckdorfer K. Brit J Med. 1980; 281; 1396-1399.
89. Kojima I, Kato A, Tida C. Anal Chim Acta 1992; 262:101-106.
90. Dávila E. Estudio nutricional en niños preescolares residenciados en la comunidad de Canaguá. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias. Postgrado en Química Aplicada. ULA. 1997.
91. Kingston H, Haswell S. Microwave-Enhanced Chemistry. Washington. 1997. pp. 65-67.
92. Rondón C, Cañas I, Burguera M, Burguera JL, Carrero P, Petit Y. VI Congreso Venezolano de Química. Soc Ven Quím 2003; 291: 958-961.
93. Henríquez G. Nutrición en pediatría. Cania. 1999. pp. 63-73.
94. Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. Manual Perkin-Elmer. Norwalk, Connecticut; USA, January 1982.
95. Fernández D, Vásquez A, Ocando A, Manzanilla J, García C, Nava M, Martínez J, Hernández M, Granadilla V. VI Congreso Venezolano de Química. Soc Ven Quím 2003; 296: 976-979.
96. Daniels W. Biostatística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores. México. 1999. pp. 454-460.
97. Deeming S, Weber Ch. Am J Clin Nutr 1978; 31: 1175-1180.
98. Fransson G, Lönnerdal B. Am J Clin Nutr 1984; 39:185-189.
99. Mather I, Tamplin C, Irving M. Eur J Biochem 1980; 110: 327-336.
100. Mather I, Sullivan C, Madara P. Biochem J 1982; 202: 317-323.
101. Linden G, Alais C. Ann Biol Anim Biochem Biophys 1978; 18: 749-758.
102. Baja J. Ultrasonografía obstétrica. Editorial Marban Libros S.L. Madrid España. 1998. pp. 31-33.
103. Black R. Brit J Nutr 2001; 85(2); S193-S197.
104. Brown J, Murtaugh M, Jacobs D, Margellos H. Am J Clin Nutr 2002; 76: 205-209.
105. Di Bernardo M, García M, Burguera M, Burguera JL, Alarcón O, Nieto E, Salinas J, Burguera E. VI Congreso Venezolano de Química. Soc Ven Quím. 2003; 287: 944-947.

106. Swanson CA, King JC. *Obst Gynecol* 1983; 62: 313-318.
107. www.greatplainslaboratory.com
108. Tabla de Composición de Alimentos. INN. 2001.
109. Tarcan A, Gürakan B, Tiker F, Özbek N. *Biol Neonate* 2004; 86: 22-28.
110. Dorea JG. *Nut Res* 2000; 20(11); 1645-1687.
111. Whitehead R. *Lancet* 1993; 1: 167-169.
112. Hambraeus L. *Nutrición clínica en la infancia*. Nertec S.A. Vevey. Raveu Press. 1990. pp 290.
113. Gibson R, DeWolfe M. *Pediatr Res* 1979; 13: 959-962.
114. Weber Ch, Nelson G, Vasquez de Vaquera M, Pearson P. *J Trop Pediat* 1990; 36:230-234.
115. Marumo F, Tsukamoto Y, Iwanami S, Kishimoto T Yamagami S. *Nephron* 1984; 38: 267-272.
116. Dogan O, Gunbey S, Mehmet A, Metin M. *Biol Trace Elem Res* 1990; 24: 39-47.
117. Dorea JG. *Hum Nutr Appl* 1982; 36A: 63-66.
118. Garlan M, Morris S, Colditz G, Stampfer M, Spate V, Baskett C, Rosner B, Speizer F, Willett W, Hunter D. *Am J Epid* 1996: 144(7): 653-660.
119. Sohler A, Wolcott P, Pfeiffer C. *Clin Chim Acta* 1976; 70: 391-398.
120. Perveen S, Altaf W, Vohra N, Bautista M, Harper R, Wapnir R. *Early Hum Develop* 2002; 69 (Iss 1-2): 15-23.
121. Sanin L, Reza-López S, Levario-Carrillo M. *Biol Neonate* 2004; 86: 55-62.
122. Duvekot J, Cheriex E, Pieters F, Peeters L. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995; 74(9): 693-697.
123. Decristofaro J, LaGamma E. *Pediatr Res* 1994; 36(6); 719-7L3.
124. Aller J, Pages G. *Obstetricia Moderna*. 3^{ra} ed. Mc Graw-Hill Interamericana. Venezuela. 1999. pp. 39, 228, 279, 282, 203, 501.
125. Meneghello J, Fanta E, Paris E, Puga T. *Pediatría Meneghello*. 5^{ta} ed.

Tomos I y II. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 1999. pp. 446-452,1993-1996.2092, 2093.

126. Osada W, Nishimura Y., Seki S. Acta Obstet Gynecol Scand 2002; 81 (Iss 10): 931-937.

www.bdigital.ula.ve

C.C.Reconocimiento-No Compartir

www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

ANEXO 1.

ENCUESTA.

Datos Personales.

1.- Apellidos y Nombres: _____

2.- Lugar de nacimiento: _____

3.- Dirección de habitación: _____

www.bdigital.ula.ve

4.- Dirección de trabajo: _____

_____ Teléfono: _____

5.- Semanas de gestación: _____ FUR*: _____

6.- FPP** : _____

7.-IDx: _____

RECIÉN NACIDO.

8.- Fecha Nacimiento. _____

9.- Peso al nacer: _____ 10.- Talla al nacer. _____

11.- Circunferencia cefálica: _____

* Fecha última regla.

** Fecha probable de parto.

www.bdigital.ula.ve

ANEXO 2.

Consentimiento del paciente para ser sometida al estudio.

Nombre de la paciente: _____

C.I. _____ Fecha: _____

Yo, _____ autorizo a la MSc. Jauri Villarroel

para realizar estudios de elementos biogénicos (Zn, Cu, Fe y Mg) en mis muestras de sangre, pelo, uñas y leche humana; a mi hijo recién nacido toma de pelo y una así como también peso, talla y circunferencia cefálica.

Se ha discutido previamente conmigo en que consiste el estudio, con el cual estoy completamente de acuerdo y todas mis preguntas han sido contestadas en forma satisfactoria.

EXONERACIÓN:

Al someterme a este estudio estoy consciente que tanto la MSc. Jauri Villarroel como al GRUPO DE INVESTIGACIÓN representado por el Dr. Pablo Carrero, se encuentran exentos de responsabilidad ya que acudo al mismo en forma voluntaria.

Firma de la paciente: _____

PUBLICACIÓN.

1.- Carrero P, Villarroel J, Alarcón O, Paredes D, Rondón C, Burguera M, Burguera JL, Petit Y. Trace elements content (Zn, Cu, Fe and Mg) in fingernails and hair of postpartum Venezuelan women and their full-term neonatos. *Metal Ions Biol Med* 2004; 8: 432-435.

www.bdigital.ula.ve

Trace elements content (Zn, Cu, Fe, and Mg) in fingernails and hair of postpartum Venezuelan women and their full-term neonates

Pablo Carrero, Jauri Villarroel, Oscar Alarcón, Dilzo Paredes, Carlos Rondón, Marcela Burguera, José L. Burguera, Yaneira Petit de Peña

Faculty of Sciences, University of Los Andes, IPOSTEL La Hechicera P.O. Box 68, Mérida 5101-A, Venezuela, e-mail: pcarrero@ula.ve, Fax number: 58-274-2401286

ABSTRACT

It is widely accepted that hair and fingernails analysis is a valuable tool as a general screening method for epidemiological studies on trace elements status. In the present study were determined (flow injection atomic absorption spectrometry previous acid digestion of the samples) the concentrations of Zn, Cu, Fe, and Mg in hair and fingernails of 64 healthy postpartum Venezuelan women of different ages and their neonates. The concentrations ($\mu\text{g/g}$) in hair of Zn, Cu, Fe, and Mg found were: 151 ± 51 ; 18 ± 11 ; 18 ± 9 ; and 142 ± 36 for mothers and 66 ± 27 ; 111 ± 85 ; 23 ± 5 ; and 124 ± 61 for neonates, respectively. Whereas in the case of fingernails the values ($\mu\text{g/g}$) found for the same elements were: 27 ± 12 ; 15 ± 3 ; 26 ± 19 and 50 ± 21 for mothers and 94 ± 50 ; 18 ± 4 ; 214 ± 114 and 117 ± 19 for neonates, respectively. A wide scatter of results in most trace elements determination for both matrices was found.

INTRODUCTION

Among the major and trace elements that have been identified as essential for man zinc, copper, iron and magnesium are the particular importance, specially during periods of rapid growth, such as pregnancy and infancy [1,2]. Zinc is a trace element necessary for cellular growth, division and differentiation [3]. Copper is a component of a number of enzymes and electrontransferring proteins such as tyrosinase and cytosinase oxidase and plays a key role in their activities [2]. Iron has been classified as essential element because it is a fundamental component of the hemoglobin and of several enzymes [2]. Magnesium is also an essential element with various roles concerned with growth [1].

Various biological matrixes such as blood, serum, urine, hair or nails have been used to assess trace element status in the human body. However, hair and nails are considered unique with respect to biological monitoring, in that they are dead structures and belong to the same class of tissue with similar chemical composition [4]. Additionally, hair and nails can provide a history of the mineral status of an individual, are easily collected, readily obtained without pain or trauma for the patient and do not required special equipment or storage [5].

In our best knowledge, there is not available information about the concentration of trace elements in hair and fingernails of postpartum Venezuelan women and their newborns. Therefore, the aim of this work was to determine Zn, Cu, Fe, and Mg contents hair and fingernails of mothers and their neonates from Mérida, Venezuela. Additionally, were established the correlations of each trace element between mothers and sons for both matrixes and the correlations of each element between hair and nails for mothers and sons, respectively.

MATERIALS AND METHODS

Apparatus

The determination of Zn, Cu, Fe, and Mg have been performed using a Perkin-Elmer model 3100 atomic absorption spectrometer equipped with air/acetylene single-slot burners. The corresponding hollow cathode lamps were used as light sources with instrument operated under the optimized conditions indicated in *Table I*. A flow injection system, described elsewhere [6], was connected to the nebulizer for sample introduction.

Table I. Optimized instrumental parameters for the determination of trace elements in hair and nails by FIA-FAAS.

Element	Wavelength (λ) (nm)	Slit width (nm)	Sample volume (μ l)	Carrier flow-rate	Observation height (ml/min)	Lamp current (mA)
Mg	285.5	0.7	30	4.0	11	12
Fe	248.3	0.7	30	6.0	11	10
Cu	324.8	0.7	30	6.0	11	6
Zn	213.9	0.7	30	5.0	11	8

Reagents

The reagents used to prepare the standards (1000 mg element/L) were of the highest available purity: metallic zinc (99.9 %), copper (99.9 %), magnesium (99.5 %), and iron (99.99 %), all from Merck. The daily working standards were prepared in the ranges indicated in *Table II* by successive dilutions from the stock standards. The water used to prepare the solutions and to rinse the laboratory material was doubly deionized in a Millipore Milli-Q plus system which provides a specific resistivity of 18 MW/cm (10 water). Nitric acid, Suprapur® (65 %) from Merck was used at a concentration of 1.2 % to prepare all the standards and for sample digestion. Hydrogen peroxide (30 %) from Piel-ele and perchloric acid (70 %) from Aldrich were used.

Table II. Analytical figures of merit.

Element	Equation*	Working range	r^2	DOL**	RSD*** (%)
Mg	$0.0028+0.1359[\text{Mg}]$	0.2 – 1.60	0.9988	0.013	0.82
Fe	$0.0026+0.0216[\text{Fe}]$	0.5 – 2.0	0.9988	0.14	2.25
Cu	$0.0010+0.0242[\text{Cu}]$	0.50 – 2.50	0.9991	0.13	2.31
Zn	$0.0026+0.1675[\text{Zn}]$	0.20 – 0.80	0.9981	0.036	1.07

* $A = b + m [X]$, where: A = absorbance; b = intercept with X-axis; m = slope of the calibration graph; [X] = concentration of the element in mg/L. ** LOD (3s) is the detection limit, calculated as $3SD/m$. SD is the within-run standard deviation of a blank determination, (n = 10). ***RSD(%) is the relative standard deviation for 0.8, 1.2, 1.5 and 0.5 mg/L of Mg, Fe, Cu and Zn, respectively (n = 10).

Samples

Nail clippings were collected from of 64 healthy postpartum Venezuelan women of different ages and their neonates using stainless steel scissors. Hair samples were taken as close as possi-

ble to the scalp from the occipital regions. The first 2.0 cm in case of mothers and 0.5 to 1.0 cm in case of newborns proximal to the scalp were used for analysis. Both samples were three times successively washed with deionized water and acetone and dried at room temperature. Portions of about 100 mg of each tissue were mineralized following a modified MW oven dissolution program previously developed in our research team [7]. Hair samples were placed in 5 ml calibrated tubes and 2 ml of a mixture (1:1) of nitric and perchloric acids were added. Each tube was covered with a Teflon sheet of 0.05 mm thickness and kept at room temperature for 12 hours. Nail samples were placed in 2 ml calibrated tubes and 450 μ l of nitric acid and 60 μ l of hydrogen peroxide (30%) were added. Each tube was covered with a Teflon sheet of 0.05 mm thickness and kept at room temperature for 24 hours. In order to allow the acid fumes to escape during the digestion process, the tape was bored once with a wooden stick. In both cases the tubes were inserted into the holes (1.2 cm diameter and 1.0 cm depth) of a polystyrene board (18 \times 18 \times 3 cm), which in turn was placed inside a MW Sterilite reheatable container (22 \times 22 \times 10 cm) tightly covered and located on the rotating Pyrex plate inside the MW oven. To remove the corrosive acid fumes generated during the heating process, a hole was drilled into the center of the cover of the container, into which a 0.8 cm i.d. Pyrex tube was inserted and sealed with silicone. This tube was connected to a water jet pump via a ground glass ball joint (size 19/9) through a hole drilled in the rear wall of the MW oven. The entire assembly allows simultaneous digestion of up to 100 samples continually and uniformly exposed to MWs for homogeneous heating. The digestion process consisted in operating the oven in two steps: one at 10 % of its power (70 W) for five min and after cooling (step necessary to prevent foaming or bumping) the second step at 20% (140 W) and 30% (210 W) for two and five min for hair and nails, respectively. After cooling, the contents of the digestion tubes were quantitatively transferred to 5.0 and 1.0 ml volumetric flasks (for hair and nails, respectively) and diluted to the mark with water.

Statistical analysis

The statistical evaluation of the data obtained in this work (concentration means, standard deviation, correlation coefficients, comparison tests, etc.) have been carried out with the Statistical Analysis System (SAS) version 6.12 installed in an IBM RS-6000 parallel computer operating under a UNIX system. To adequately interpret differences within the defined groups, the statistical significance was accepted for a confidence level of 5% ($p < 0.05$). The t-Student test was also applied in order to determine the significant differences between the means.

RESULTS AND DISCUSSION

The means and ranges of concentration of Cu, Fe, Zn and Mg in hair and fingernails of mothers and their sons (μ g/g) are shown in *Table III*. When the mean levels of each element were compared between hair and nails, it was observed that the concentrations of Zn and Mg for neonates were not significant different. Contrarily, in the case of mothers the concentrations of Fe and Cu were not significant different. However, none statistically significant correlation ($r < 0.500$ in all cases) between the concentrations of trace elements in hair and nails for mothers or neonates was found. Only a weak correlation was obtained between the concentration of Mg in hair and nails in neonates ($r = 0.357$). These results are in agreement with those obtained for Cu and Zn in young children [4] and with those reported by Vance DE et. al. [8] for Zn and other essential elements. The fact that the levels of these trace elements do not correlate in hair and nail samples, could indicate that hair and nails do not incorporate internal trace elements in exactly the same way, despite their similarity in chemical composition.

When the mean concentrations of trace elements were compared between mothers and their sons for the same matrix, it was observed that none trace elements concentrations in hair or nails shown statistically significant correlation ($r < 0.500$ in all cases) between mothers and neonates.

Only, in the cases of Fe and Cu was observed a weak correlation ($r = 0.2524$ and 0.2681 for Fe and Cu, respectively) in their concentrations in nails between mothers and sons.

Table III. Concentrations of trace elements in hair and fingernails of mothers and their sons ($\mu\text{g/g}$)

Element		Hair		Nails	
		Mothers	Sons	Mothers	Sons
Fe	*M \pm SD	18 \pm 9	23 \pm 5	26 \pm 19	214 \pm 114
	range	5 - 48	10 - 30	2 - 95	40 - 629
Cu	M \pm SD	18 \pm 11	111 \pm 85	15 \pm 3	18 \pm 4
	range	6 - 56	31 - 364	6 - 21	11 - 23
Zn	M \pm SD	151 \pm 51	66 \pm 37	27 \pm 12	94 \pm 50
	range	64 - 300	9 - 166	4 - 70	29 - 200
Mg	M \pm SD	142 \pm 36	124 \pm 61	50 \pm 21	117 \pm 19
	range	52 - 210	24 - 286	10 - 95	72 - 154

*M = arithmetic means; SD = standard deviation

The mean concentrations of trace elements found in this work were distributed within a wide range either for mothers or their sons. Additionally, it's not easy to do a full comparison between our data and the data reported in literature, because most of them are focus in children and hair. Our Zn and Fe concentrations in hair are within the range of concentration reported by Moro et al. [9] for newborn infants at term. However, the concentration of Cu found in this work was higher than the reported by Moro et al. [9]. The concentration of Mg in hair found in this work was in perfect concordance with that reported by Donma et al. [5] but in children from southeaster Turkey. In the case of the concentrations of trace elements in fingernails of neonates found in this work, with the exception of Mg these fall within the range of those reported by Alexiou et al. [10] for children. Our Mg concentration was higher than that reported in reference [10]. Finally, the concentrations of Fe, Cu and Zn in hair found in this work for mothers are within the range of those reported for pregnant women [2] and for nonindustrialized US control population [8].

REFERENCES

1. Nagra S.A., Anwar T., Farooqi M.I. Longitudinal study in the concentration of serum calcium, copper, magnesium, zinc and hemoglobin during the last trimester of pregnancy in Pakistani women. *Nut Res* 1991; 11: 1341-1348.
2. Huang H.M., Leung P.L., Sun D.Z., Zhu M.G. Hair and serum calcium, iron, copper and zinc levels during normal pregnancy at three trimester. *Biol Trace Elements Res* 1999; 69: 111-120.
3. Elizaga V., Ferreira R.M. Zinc, pregnancy and parturition. *Acta Paediatr Scand* 1985; 319: 150-157.
4. Wilhelm M., Hafner D., Lombeck I., Ohnesorge F.K. Monitoring of cadmium, copper, lead and zinc status in young children using toenails: comparison with scalp hair. *Sci Total Environ* 1991; 103: 199-207.
5. Donma O., Günbey S., Tas M.A., Donma M.M. Zinc, copper and magnesium concentrations in hair of children from southeastern Turkey. *Biol Trace Elements Res* 1990; 24: 39-47.
6. Burguera M., Burguera J.L., Rivas C., Alarcón O.M. Determination of copper, zinc and iron in parotid saliva by flow injection with flame atomic absorption spectrometry. *At Spectrosc* 1986; 7: 79-81.
7. Burguera J.L., Burguera M., Matousek A., Añez N., Alarcón O.M. Microwave-aided micro dissolution of biological samples prior to flow injection atomic absorption spectrometry analysis. *At Spectrosc* 1992; 13: 67-71.
8. Vance D.C., Ehmann W.D., Markesbery W.R. Trace element content in fingernails and hair of nonindustrialized US control population. *Biol Trace Elements Res* 1988; 17: 109-121.
9. Moro R., Gialanella G., Zhang Y.X., Perrone L., Di Toro R. Trace elements in full-term neonate hair. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1992; 6: 27-31.
10. Alexiou D., Koutselinis A., Manolidis C., Boukis D., Papadatos J., Papadatos C. *De. matologica* 1980; 160: 380-382.