

ICBP "VICTORIA DE GIRON"

Estudio de las concentraciones de Zinc y Cobre en pelo y proteínas relacionadas con estos elementos traza en adolescentes con Schistosomiasis

Por:

Dr. FERNANDEZ REGALADO, R.*, Lic. ALATTAS, S. A.**, Dr. MUÑOZ, R.***,
Dr. REYES, C.*** y Aux. Téc. HERNANDEZ, L.****

Fernández Regalado, R. y otros: *Estudio de las concentraciones de Zinc y Cobre en pelo y proteínas relacionadas con estos elementos traza en adolescentes con Schistosomiasis*. Rev Cub Ped 54: 4; 1982.

En esta investigación fueron estudiados 64 adolescentes varones procedentes de Mozambique, divididos en tres subgrupos: grupo control, grupo con schistosomiasis mansoni, grupo con schistosomiasis hematobium. Además de un examen clínico antropométrico, en estos individuos fueron determinadas las concentraciones de zinc y cobre en pelo, ceruloplasmina y fosfatasa alcalina séricas en dos ocasiones, antes de un tratamiento parasitario específico y diez semanas después de dicho tratamiento. Fue demostrado que antes del tratamiento las concentraciones de zinc y cobre en pelo fueron menores en los subgrupos con schistosomiasis elevándose las mismas después del tratamiento. La fosfatasa alcalina no mostró importantes variaciones y la ceruloplasmina se observó aumentada antes del tratamiento en los subgrupos con schistosomiasis.

INTRODUCCION

En la interrelación dialéctica del hombre con su medio ambiente, la nutrición es, sin lugar a dudas, uno de los factores más importantes.

En nuestros días la nutrición ha devenido una ciencia que estudia los componentes esenciales de los alimentos, que proveen al hombre y los animales de la energía necesaria para sus actividades biológicas y mantienen sus organismos en un óptimo estado estructural y funcional. Como parte de las diversas líneas de investigación en este campo, durante algo

* Especialista de I grado en bioquímica clínica, ICBP "Victoria de Girón".

** Licenciado en química. Profesor de la Facultad de Medicina de Adén, República Popular Democrática de Yemen.

*** Especialista de I grado en medicina interna. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri".

**** Auxiliar técnica "A" de laboratorio, ICBP "Victoria de Girón".

más de un siglo, numerosos investigadores se han venido interesando en la función del zinc en la nutrición de microorganismos, plantas, y animales^{1,2} Se ha logrado demostrar que el zinc interviene en importantes sistemas enzimáticos en muchos organismos, tales como el de la RNA polimerasa DNA dependiente, anhidrasa carbónica y fosfatasa alcalina, por citar sólo algunos.^{3,4} La deficiencia de zinc ha sido demostrada en diferentes animales de experimentación,^{5,6} y en la década del sesenta se originaron los primeros informes de un síndrome en adolescentes, caracterizado por anorexia, geofagia, retardo del crecimiento y del desarrollo sexual y anemia, el cual se encontró asociado con bajos niveles de zinc en el suero.^{7,8} Más recientemente, *Ronaghy y colaboradores*⁹ informaron que la administración única de zinc a individuos con este síndrome, hace desaparecer o mejora muchos de los signos clínicos. La causa de este síndrome en el ser humano ha sido atribuida a factores dietéticos principalmente, pero no ha podido ser descartada la infestación parasitaria, la cual, por otra parte, ha estado presente en un buen número de los individuos afectados. La infestación parasitaria afecta principalmente a aquellas poblaciones que viven en países sub-desarrollados o en vías de desarrollo de América Latina, África y el Sudeste Asiático y constituye, sin duda alguna, un problema epidemiológico importante para dichos países. Entre las múltiples formas de parasitismo, la schistosomiasis por su frecuencia y novedad ocupa un lugar preponderante, afectando aproximadamente a 200 millones de habitantes en todo el mundo.¹⁰ Fue nuestro interés en este estudio, conocer el grado de asociación existente entre la schistosomiasis y las reservas de zinc en el organismo de un grupo de adolescentes. Como quiera que en los últimos años se ha planteado que la deficiencia dietética de cobre puede ocurrir también en el ser humano,⁴ consideramos de interés determinar el estado de las reservas de este metal en los individuos de este estudio. Asimismo, por estar muy relacionadas la ceruloplasmina y la fosfatasa alcalina séricas con los elementos traza estudiados por nosotros,⁴ decidimos incluir en esta investigación las determinaciones de ambas proteínas.

MATERIAL Y METODOS

Esta investigación fue llevada a cabo en 64 varones adolescentes, con edades comprendidas entre los 13 y los 18 años de edad y que procedentes de Mozambique realizaban estudios de nivel medio en la ESBE "25 de Septiembre", de la Isla de la Juventud.

Estos sesenta y cuatro adolescentes fueron seleccionados del total de la población de la escuela, basándonos en el resultado del análisis parasitológico de muestras de orina y heces fecales. El grupo objeto de estudio, atendiendo a los resultados de dicho análisis fue clasificado en tres sub-grupos:

- grupo control de sujetos normales: N = 23
- grupo con schistosomiasis mansoni; N = 19
- grupo con schistosomiasis hematobium, N = 22

A cada individuo se le realizó una evaluación de su estado nutricional que incluyó: examen clínico, mediciones antropométricas: peso y talla.

Los valores de peso y talla fueron referidos a las curvas respectivas del estudio nacional de crecimiento y desarrollo de la población cubana.¹¹

De cada individuo fue tomada una muestra de pelo de la región de la nuca, así como una muestra de sangre (utilizando heparina como anticoagulante) de la cual fue el plasma por centrifugación separado a 2 000 rpm durante 10 minutos; estas muestras fueron tomadas en dos ocasiones:

- a) Antes de iniciar un tratamiento antiparasitario específico.
- b) Diez semanas después de dicho tratamiento.

El tratamiento específico fue el siguiente:

- 1) Los pacientes con *S. hematobium* fueron tratados con niridazole en dosis de 25 mg/kg de peso corporal por día durante 7 días.
- 2) *S. mansoni* con niridazole en dosis de 25 mg/kg de peso por día durante 10 días.

La efectividad del tratamiento se pudo comprobar por un nuevo análisis parasitológico de muestras biológicas de estos pacientes.

Las muestras de pelo fueron lavadas consecutivamente con n-hexano, etanol y agua desionizada¹² y secadas a continuación, en una estufa a 90°C durante una hora de cada muestra, aproximadamente 100 mg fueron pesados en una balanza analítica e incinerados en una mufla a 500°C durante cuatro horas. El residuo fue disuelto en 0,5 ml de HNO₃ al 50% y colocado en una hornilla eléctrica hasta evaporación total. A continuación, de nuevo la muestra fue sometida a 500°C durante una hora y el contenido final de las cápsulas de porcelana utilizadas en este proceso de incineración, disuelto en 5,0 ml de HCL para las lecturas de cobre y zinc en un espectrofotómetro de absorción atómica (Pye Unicam SP 191).

Todo el equipo de laboratorio utilizado para estas determinaciones fue lavado con ácido nítrico al 50% (V/V) y después varias veces con agua desionizada.

Las muestras de plasma fueron conservadas a 4°C y todas las determinaciones realizadas en las primeras 48-72 horas.

La ceruloplasmina fue determinada por el método descrito por Henry¹³ y la fosfatasa alcalina, utilizando como sustrato el disodiofenilfosfato.¹⁴ Los valores de fosfatasa alcalina fueron expresados en unidades/litro, considerando esta unidad como el número de micromoles de fenol liberados por minuto a 37°C y expresada por litro de plasma.

Los valores de las concentraciones de los metales Zn y Cu, así como también de la fosfatasa alcalina y ceruloplasmina fueron calculados y las medias comparadas, utilizando el Test "t" de Student¹⁵ y también el test "t" pareado.

RESULTADOS

Todos los adolescentes estudiados por nosotros estuvieron comprendidos en el rango normal de peso y talla, cuando fueron comparados para estas variables con los valores nacionales de nuestro país.¹¹

Con respecto a la primera evaluación, se pudo observar en la segunda que todos los individuos experimentaron un incremento en el peso y la talla. Los valores de las concentraciones de Zn y Cu en pelo aparecen representados en el cuadro y en los gráficos 1 y 2.

Se observó una disminución de los valores de Zn y Cu en los grupos con schistosomiasis, con relación al grupo control, encontrándose una recuperación significativa de esos valores después del tratamiento específico, siendo dicha recuperación más evidente en el grupo de adolescentes con *S. hematobium*.

En el gráfico 3 se muestran los valores de la fosfatasa alcalina, donde se puede apreciar que no hubo importantes diferencias entre los distintos grupos al compararlos entre sí antes del tratamiento y después del tratamiento. Aunque se observó una gran dispersión de los valores, fueron bastante similares dichos valores en cada individuo, antes y después del tratamiento. La concentración de ceruloplasmina en plasma (gráfico 4) resultó más elevada, antes del tratamiento en los grupos con *S. mansoni* y *S. hematobium* (elevación significativa en este último).

Aunque después del tratamiento los valores observados fueron menores en todos los grupos, la reducción más marcada ocurrió en el grupo de adolescentes con *S. hematobium*.

CUADRO

CONCENTRACIONES DE Zn Y Cu EN PELO ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO
(MEDIA \pm DESVIACION ESTANDAR)

		Control		S. Mansoni		S. He- matobium	
		N	X \pm D.S.	N	X \pm D.S.	N	X \pm D.S.
Zn	Antes	12	130 \pm 38	17	116 \pm 57	21	91 \pm 45
	Después		140 \pm 30		148 \pm 50*		124 \pm 53*
Cu	Antes	22	20,5 \pm 10,1	17	16,1 \pm 7,4	21	13,3 \pm 7,3
	Después		22,5 \pm 11,7		24,8 \pm 12,3*		32,8 \pm 15,4*

N = Número de individuos en los que se realizaron las determinaciones en las 2 ocasiones (antes y después del tratamiento).

* Valor significativo (alfa = 0,05) al comparar la primera con la segunda determinación por el test "t" pareado.

Gráfico 1

CONCENTRACION DE Zn EN EL PELO

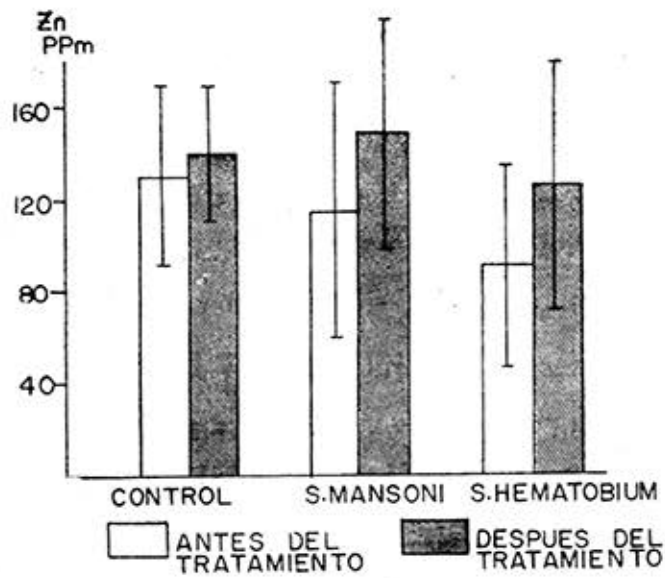


Gráfico 2

CONCENTRACION DE Cu EN EL PELO

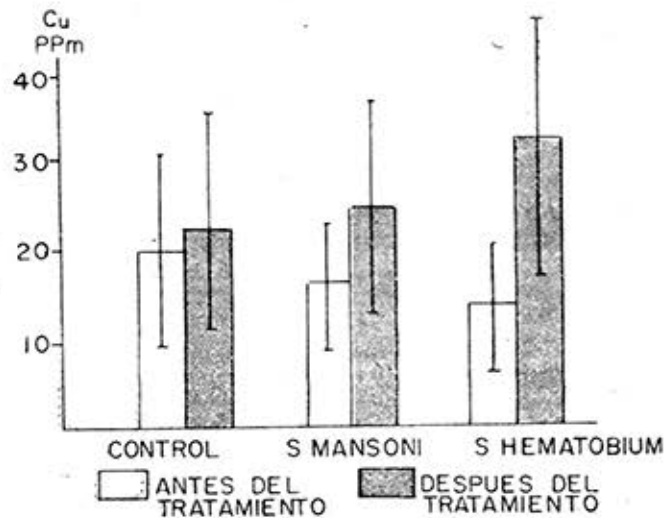


Gráfico 3
FOSFATASA ALCALINA

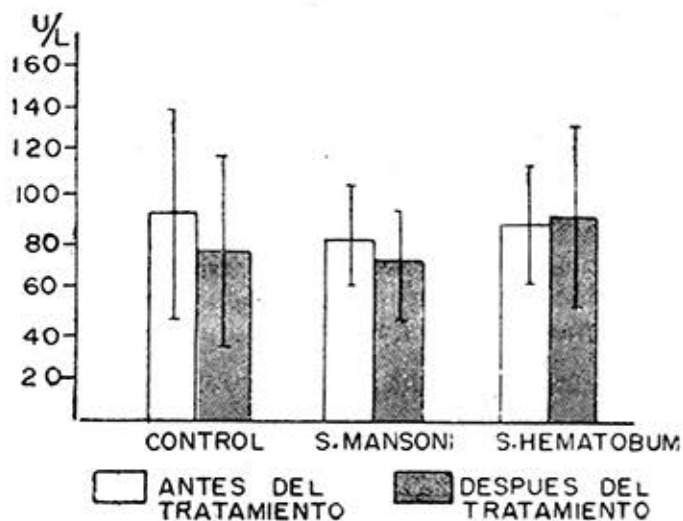
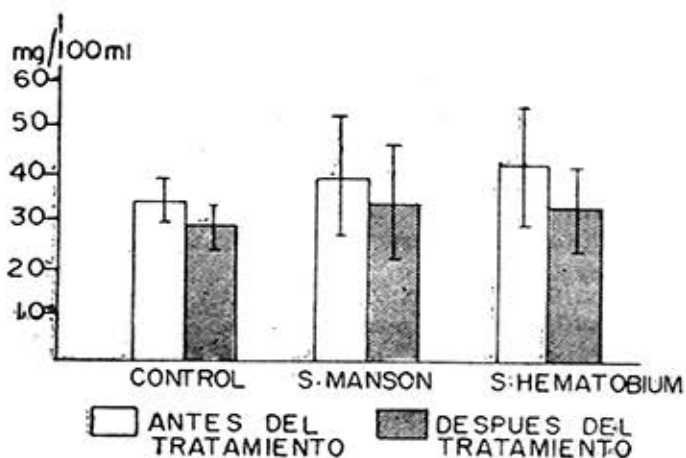


Gráfico 4
CERULOPLASMINA



DISCUSION

Durante los últimos 20 o 30 años un interés creciente en el estudio de las funciones metabólicas de los elementos traza en el ser humano ha venido desarrollándose, basado en el reconocimiento de deficiencias nutricionales o asociadas con diferentes condiciones *patológicas* de dichos elementos. Una de estas condiciones son las infecciones parasitarias, aunque estudios importantes sobre el efecto de estas infecciones sobre el metabolismo mineral del hospedero son escasos en la literatura mundial.¹⁶

Entre estas infecciones la schistosomiasis (o bilharziasis) es una de las más importantes, afectando como se señaló en la introducción, a aproximadamente 200 millones de habitantes en Asia, Africa y América Latina, principalmente.¹⁹ En los primeros informes acerca de la posible deficiencia de zinc en el ser humano^{7,8} fue encontrado que, asociado con bajos niveles de zinc, el pelo y plasma y retardo del crecimiento, aquellos pacientes tenían schistosomiasis o ancylostomiasis.

Sin embargo, en tales estudios es imposible precisar si las alteraciones en el metabolismo del zinc eran debidas a la infección parasitaria o a otras causas como la desnutrición "per se" de esos individuos. En nuestra investigación, la posibilidad de un estado de malnutrición actual fue descartada, ya que los individuos seleccionados para la muestra se encontraban dentro de los rangos normales de peso y talla de los adolescentes cubanos (aunque, claro, las poblaciones no son totalmente comparables) y no tenían signos clínicos ni de este estado *patológico* ni de otro. Asimismo, en el presente estudio fue logrado, por selección de la muestra, que cada individuo parasitado estuviera afectado por un solo tipo de parásito y que además todos los individuos estuvieran bajo las mismas condiciones ambientales y de alimentación en la escuela. Los bajos niveles de Zn y Cu en el pelo, encontrados en los grupos con schistosomiasis, indican con gran probabilidad, por lo tanto, que el metabolismo de dichos metales resultó afectado en esta enfermedad parasitaria.

El pelo es una muestra biológica que es considerada capaz de reflejar las reservas de estos metales en el organismo, mientras que el cobre y el zinc séricos son más susceptibles de variaciones por situaciones fisiológicas o patológicas.^{17,18} Los valores medios de zinc y cobre en el pelo son comparados con los obtenidos en otras poblaciones,¹⁸ lo que resulta interesante, teniendo en cuenta que los hábitos dietéticos y el medio geográfico pueden tener influencia en el diferente ingreso de estos minerales al organismo de individuos de distintas poblaciones.

Ha sido bastante bien establecido,¹⁹ que en la schistosomiasis pueden ocurrir pérdidas sanguíneas, ya sea a través del intestino o de la orina y estas pérdidas pudieran hacer disminuir las reservas de Zn y Cu del organismo y reflejarse esto último por una menor concentración de dichos metales en el pelo. Después del tratamiento se observó un marcado incremento en las concentraciones de Zn y Cu en el pelo de los grupos de adolescentes con *S. hematobium* y *S. mansoni*.

En contraste con lo anterior, en 1975 *Soliman y colaboradores*¹⁹ encontraron un significativo incremento en los niveles de Zn y Cu séricos en pacientes con fibrosis hepática por schistosomiasis.

En nuestro estudio nosotros no investigamos la presencia o no de daño hepático y, por otra parte, algunos autores han señalado la ausencia de correlación entre las concentraciones de estos metales en el pelo y en el suero.^{17,18}

La fosfatasa alcalina (EC 3.1.3.1.),¹³ una enzima que contiene cuatro átomos de zinc por molécula, fue también estudiada por nosotros, teniendo como antecedente que experimentalmente ha sido demostrada una asociación entre la deficiencia de zinc y la reducción de la actividad de esta enzima en el suero de ratas.²⁰

En la literatura existe también el informe de *Mikhail y Mansour*²¹ que encontraron la actividad de la fosfatasa alcalina baja en pacientes con ligera y grave schistosomiasis, así como un notable incremento de dicha actividad después de diez días de tratamiento antiparasitario.

En nuestra investigación no fue determinada la gravedad de la infestación parasitaria, pero consideramos fundamentalmente que la ausencia de importantes diferencias antes del tratamiento de la actividad de la fosfatasa alcalina entre los diferentes grupos, pudiera ser explicada por que el daño hepático (no comprobado por nosotros) puede elevar la actividad de la fosfatasa alcalina sérica,²² mientras que la deficiencia de zinc, por el contrario, parece que tiende a disminuir la actividad de esta enzima y ambos factores en nuestros pacientes pudieran haberse compensado, principalmente en el caso de los pacientes con *S. mansoni*. Una explicación más sencilla pudiera consistir en que los adolescentes estudiados por nosotros hubieran tenido sólo una afectación ligera del metabolismo del zinc.

La ceruloplasmina denominada también ferroxidasa I (E.C.1.16.2.1.) por su función enzimática en el metabolismo del hierro^{4,13} también fue determinada por nosotros y mostró un aumento significativo antes del tratamiento en el grupo de pacientes con *S. hematobium* y una tendencia a aumentar en el grupo de *S. mansoni*. Esta proteína plasmática se conoce que es capaz de unirse al 96% del cobre plasmático y es de interés que *Soliman y colaboradores* informaron un aumento en los niveles de cobre plasmático en un grupo de pacientes con schistosomiasis, aunque estos autores no determinaron la concentración de ceruloplasmina.¹⁹

Antes de concluir esta discusión es necesario destacar que aunque no fue posible confirmar el estado de deficiencia de zinc y cobre en los adolescentes de este estudio, sí se puede concluir que parece tener lugar en estos individuos una alteración significativa del metabolismo de estos metales como consecuencia de la schistosomiasis.

Es evidente que se necesitan nuevos estudios en este campo de la bioquímica clínica, que permitan confirmar los resultados de este y algunos otros trabajos investigativos y que permitan determinar las consecuen-

cias que para la salud del adolescente pueden tener estas alteraciones en el metabolismo del zinc y el cobre.

CONCLUSIONES MAS IMPORTANTES

1. En los pacientes con schistosomiasis hay una reducción en las concentraciones de zinc y cobre en el pelo y después de un tratamiento específico hubo un aumento de la concentración de estos metales.
2. La fosfatasa alcalina no mostró importantes variaciones en los grupos con schistosomiasis, al compararlos con el grupo control.
3. La concentración de ceruloplasmina estuvo más elevada en los adolescentes con schistosomiasis antes del tratamiento.
4. El grupo *S. hematobium* fue el más afectado en todas las variables bioquímicas estudiadas por nosotros.

SUMMARY

Fernández Regalado, R. et al. *Study of zinc and copper concentrations in hair and proteins related to these trace elements in adolescent with schistosomiasis.* Rev Cub Ped 54: 4, 1982.

In this investigation, 64 adolescent boys coming from Mozambique, and clustered into three subgroups: control group, group with *Schistosomiasis mansoni*, and group with *Schistosomiasis hematobium* were studied. In addition to an anthropometric clinical examination, zinc and copper concentrations in hair, ceruloplasmin, and twice in serum alkaline phosphatase were determined in these individuals before a specific parasitary treatment and ten weeks after such treatment. It was demonstrated that before treatment, zinc and copper concentrations in hair were lower within the subgroups with schistosomiasis, being increased after treatment. No important variations were showed by alkaline phosphatase, and increased ceruloplasmin was noted prior to treatment within the subgroups with schistosomiasis.

RÉSUMÉ

Fernández Regalado, R. et al. *Etude des concentrations de zinc et de cuivre dans les cheveux, et protéines qui sont en rapport avec ces éléments indicateurs, chez des adolescents porteurs de schistosomiase.* Rev Cub Ped 54: 4, 1982.

L'étude a porté sur 64 adolescents, du sexe masculin, provenant du Mozambique, divisés en trois sous-groupes: groupe de contrôle, groupe porteur de schistosomiase mansoni et groupe porteur de schistosomiase hematobium. Outre l'examen clinique anthropométrique, on a fait le dosage du zinc et du cuivre dans les cheveux, ainsi que de la céruléoplasmine et de la phosphatase alcaline sériques à deux reprises, avant d'établir un traitement parasitaire spécifique et dix semaines après ce traitement. Il a été démontré qu'avant le traitement les concentrations de zinc et de cuivre dans les cheveux ont été inférieures chez les individus des sous-groupes porteurs de schistosomiase, et que ces concentrations se sont élevées après le traitement. La phosphatase alcaline n'a pas montré de variations importantes, et la céruléoplasmine était augmentée avant le traitement dans les sous-groupes ayant schistosomiase.

РЕЗЮМЕ

Фернандес Регаладо, Р. и др. Изучение концентрации цинка и меди в волосе и белки, связанные с этими элементами у подростков с шистосомиазом. *Rev Cub Ped* 54: 4, 1982.

В настоящем исследовании были изучены 64 мальчика подросткового возраста из Мозамбике, которые были разделены на подгруппы: контрольная группа, группа с шистосомиазом мансона, группа с шистосомиазом гематобиум. Кроме клинического антропометрического обследования, у этих индивидуумов были определены концентрации цинка и меди в волосе, церулоплазмина щелочной фосфатазы в сыворотке в двух случаях, до проведения специального паразитического лечения и после лечения через десять недель. Было выявлено, что до проведения лечения концентрации цинка и меди в волосе были более низкими в подгруппах с шистосомиазом, однако, концентрация возросла после лечения. Щелочная фосфатаза не имела значительных изменений, а церулоплазмин был повышенным до проведения лечения в обеих подгруппах с шистосомиазом.

BIBLIOGRAFIA

1. Sommer, A. L.; C. B. Lipman: Evidence of the indispensable nature of zinc and boron for higher green plants. *Plant Physiol* 1: 23 1926.
2. Prasad, A. S. A century of research on the metabolic role of zinc. *Am J Clin Nutr* 1969, 22: 1215.
3. Parisi, A. F.; B. L. Vallee: Zinc metalloenzymes: characteristics and significance in Biology and Medicine. *Am J Clin Nutr* 22 (9): 1222-1239, 1969.
4. Walravens, A. P. Nutritional importance of copper and Zinc in Neonates and Infants. *Clin Chem* 26 (2): 185-190.
5. Prasad, A. S. et al.: Study of zinc deficiency. Changes in trace elements in tissues of zinc deficiency rats. *J Clin Invest* 46 (1): 54 9, 1967.
6. Helene, S.; L. Hurley: Zinc deficiency in Rhesus and Bonnet monkeys, including effects on reproduction. *J Nutr* 110 (3): 575, 1980.
7. Prasad, A. S. et al.: Syndromes on iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am J Med* 31: 532, 1961.
8. Prasad, A. S. et al.: Zinc metabolism in patients with the syndromes of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypogonadism. *J Lab Clin Med* 61: 537-549, 1963.
9. Ronagly, et al.: Zinc supplementation of malnourished school boys in Iran: increased growth and other effects. *Am J Clin Nutr* 27: 112, 1974.
10. Wilcocks and Manson-Bahr. *Mansoni Tropical Disease*. 17th ed. Ed. Bailliere Tindoll, 1976.
11. Jordán, J. et al.: Instituto de la Infancia. Investigación Nacional de Crecimiento y Desarrollo. *Rev Cub Ped* 49 (4): 367-390, 1977.
12. Assarian, G. S.; D. Oberleas: Effects of washing procedures on trace elements contents of hair. *Clin Chem* 23 (9): 1771, 1977.
13. King, J.: *Enzimología clínica Práctica*. Zaragoza España, Ed. Acribia, 1968.
14. Hansen, P. W. A.: Simplification of Kind and King method for determination of serum alkaline phosphatase. *Scand J Clin Lab Invest* 18-353-356, 1966.

15. *Snedecor, G. W.; M. G. Cochran*: Statistical methods. The Iowa State Univ. Press. Amer. Iowa U.S.A. 1967.
16. *Brand Von, T.*: Biochemistry of Parasites. Academic Press New York, USA, 1976.
17. *Fernández Regalado, R. y Cols.*: Las concentraciones de Zinc en el pelo y los índices de hidroxiprolina en niños con desnutrición proteico-energética. Rev Cub Ped 49 (i): 137-1977.
18. *Klevay, L. M.*: Hair as a biopsy material I. Assessment of zinc nutrition. Am J Clin Nutr 23 (3): 285, 1970.
19. *Soliman, L. y Cols.*: Copper and zinc in the blood serum and urine of Bilharzial hepatic fibrosis. Experimentia 31 (3): 280-1975.
20. *Adeniyi, F. A.; F. W. Heaton*: The effect of zinc deficiency on alkaline phosphatase and its isoenzymes. Br J Nutr 43 (3): 561, 1980.
21. *M.M. Miklail.; M. M. Mansour*: The relationship between Carnitine levels and the nutritional status of patients with Schistosomiasis. Clin Chem Acta 71 (2): 207-1976.
22. *Fishman, W. H.*: Perspectives on Alkaline Phosphatase. Isoenzymes Am J Med 56: 617-1974.

Recibido: 30 de noviembre de 1981.

Aprobado: 22 de diciembre de 1981.

Dr. *Fernández Regalado*

ICBP "Victoria de Girón"

Calle 146 y Ave. 31. Rpto. Cubanacán

Playa. Ciudad de La Habana.