

## Estudio de zinc en suero por el método de inyección en llama en un grupo etario

J.A. Cocho, M. Alvela, J. R. Alonso Fernández y J.M. Fraga

*Se ha determinado el contenido de zinc en suero de un grupo de madres y sus hijos, en el momento del parto, mediante espectrofotometría de absorción atómica con inyección directa en la llama. El volumen de muestra utilizada fue de 50  $\mu$ l y la dilución de la misma 1/5.*

*Por medio de esta técnica se ha determinado la concentración de zinc en muestras de suero procedentes de 23 madres y de 21 recién nacidos. La media aritmética de la concentración de zinc en suero de las madres fue de 8,8 (Desviación estándar 1,8)  $\mu$ mol/l, mientras que en los recién nacidos se obtuvo una media geométrica de 13,5  $\mu$ mol/l.*

*Se concluye la necesidad de control de cincemia en ambos grupos de población para detectar posibles hipocincemias.*

### Introducción

Las concentraciones de zinc en suero o plasma han sido ampliamente investigadas y prueba de ello es el elevado número de trabajos recopilados por Versieck (1), en los que se reflejaba el valor medio de zinc en suero o plasma obtenido por diferentes autores, con 6 técnicas analíticas diferentes, en poblaciones de referencia de muy diferentes zonas. El contenido de zinc oscilaba entre 12,8 y 65,4  $\mu$ mol/l, aunque el 80% de las publicaciones revisadas cifraban los valores entre 12,8 y 21,4  $\mu$ mol/l.

Es interesante constatar como algunos autores (1) han revisado con el tiempo los valores de referencia dados para el zinc en suero. Este hecho nos lleva a considerar como

*Serum zinc levels were determined in a group of 23 mothers and 21 of their children at delivery, using Atomic Absorption Spectrophotometry with direct flame injection. A 50  $\mu$ l serum aliquot diluted 1/5 was used for the assay. We found a mean zinc concentration in mothers of 8,8 (SD 1,8)  $\mu$ mol/l and for children the geometric mean found was 13,5  $\mu$ mol/l.*

*It is outlined that zinc serum levels should be measured in both mothers and children for hypozincemia detection.*

de gran interés la técnica empleada y el control de los factores que puedan afectar a los resultados obtenidos. Estos factores explicarían los valores de referencia discrepantes citados por los primeros autores debidos, principalmente, a problemas de contaminación de las muestras.

Así mismo se han descrito variaciones fisiológicas del nivel de zinc en suero (2) relacionadas con la edad, sexo, ritmos circadianos, etc. Igualmente el embarazo entraña una movilización de zinc hacia el feto y conlleva una disminución de la cinemia, en las madres, del 50% al final del embarazo.

Por todo ello y dado que existe una importante relación entre los niveles de zinc y oligoelementos en general, y los factores de distribución geográfica y nutrición en cada habitat, se consideró como de gran interés el estudio de los niveles de zinc en suero en dos poblaciones de alto riesgo, como son las mujeres embarazadas y los neonatos, dentro de nuestra área de residencia.

Laboratorio de Alteraciones Metabólico-Genéticas y Nutricionales. Departamento de Pediatría. Hospital General de Galicia. Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela. Apartado 149. Santiago de Compostela



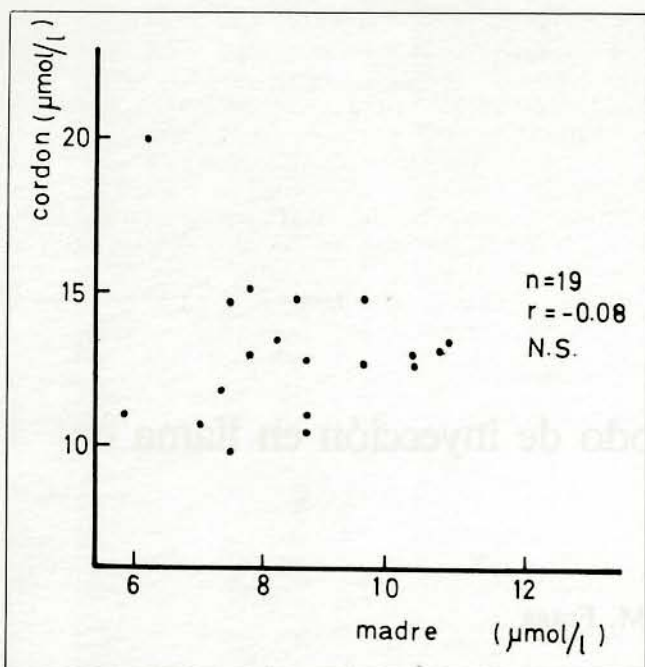


Figura 1. Correlación entre los niveles de zinc en suero en las madres (sangre periférica) y en sus hijos (sangre de cordón)

## Material y métodos

La determinación de zinc se realizó por espectrofotometría de absorción atómica en llama (Perkin Elmer, modelo 460), mediante el método de inyección en llama de cantidades constantes, propuesto anteriormente por nosotros (3,4).

El volumen de suero utilizado fue de 50 µl y la dilución elegida 1/5 (diluidor Microlab M de Hamilton), de modo que el volumen finalmente llevado a la llama fue de 250 µl. La dilución de las muestras se llevó a cabo con agua obtenida por el sistema Milli-Q (Millipore). Las muestras se homogeneizaron con agitador "vortex" antes de ser aspiradas en la llama.

El calibrado se hizo mediante patrones acuosos conteniendo un 5% de glicerina (Merck 4094) para igualar su viscosidad a la del suero y también por el método de adición de patrones a un "pool" de sueros preparados previamente por nosotros de acuerdo al método propuesto por Ekkehard (5).

Para el control de exactitud de los resultados se utilizaron los siguientes sueros control comerciales con zinc valorado: Biotrol 33-plus (Biotrol), Validate-A (General Diagnostics) y Seronorm, Pathonorm L y Pathonorm H (Nyegaard and Co). Se obtuvo una buena correlación ( $r = 0,97$ ) entre valores teóricos y experimentales, y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa entre las medias ( $0,20 < p < 0,25$ ) oscilando los valores encontrados entre  $-6$  y  $+8\%$  de los valores asignados. La diferencia media respecto al valor teórico fue de  $-0,4$  µmol/l, correspondiente a un 2,6%.

Todos los patrones, muestras y controles fueron preparados por cuadruplicado.

Todo el material empleado fue de plástico, preferentemente polietileno, y se trató previamente con ácido nítrico al 10% (Merck 456) durante al menos 48 horas.

Para la determinación de zinc en la madre se utilizó san-

gre venosa extraída inmediatamente antes del parto, y mientras en el recién nacido la muestra se obtuvo de sangre de cordón extraída una vez ligado éste y antes del desprendimiento de la placenta. La sangre fue recogida en recipientes de polietileno y, una vez separado el suero, se congeló a  $-20^{\circ}$  C hasta el momento de su análisis. Las muestras hemolizadas fueron rechazadas.

Las muestras de sangre estudiadas fueron recogidas en el Hospital General de Galicia y corresponden las 23 madres y 21 recién nacidos en el momento del parto, elegidos al azar y sin patología específica conocida.

Las distribuciones de datos fueron normalizadas mediante transformación logarítmica previamente al análisis estadístico. Este se realizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson como medida de asociación y la prueba t de Student para el análisis de las diferencias entre medias.

## Resultados

Los valores de Zn en suero presentan una distribución estadística normal en las madres y log-normal en los recién nacidos.

Los resultados obtenidos (Tabla I) en recién nacidos mostraron una media geométrica de 13,5 µmol/l, con un intervalo de referencia (percentil 95%, intervalo de confianza 95%) de 9,6 a 19,0 µmol/l. En el grupo de las madres el valor medio del Zn fue de 8,8 µmol/l, con una desviación estandar de 1,8 µmol/l y un intervalo de referencia (percentil 95%, intervalo de confianza 95%), de 5,3 a 12,4 µmol/l.

Se observó una correlación negativa ( $r = -0,0880$ ), pero no significativa entre los valores de Zn de las madres y los neonatos. (Figura 1). Sí se observaron diferencia significativas ( $p < 0,0005$ ) entre las medias de Zn de las madres y sus hijos, siendo los valores de estos últimos claramente superiores a los de las madres.

## Discusión

Los resultados obtenidos señalan que el nivel de Zn en suero de los recién nacidos es significativamente superior al de las madres, aunque es similar al de la población adulta en general.

Tabla I

### Valores de Zinc en suero de madres y recién nacidos (cordón)

	N	$\bar{X}$	DE	Intervalo de Referencia
RN	21	13,5	—	9,6-19,0
Madres	23	8,8	1,8	5,3-12,4

Resultados expresados como µmol/l

$\bar{X}$  = Valores medios

DE = Desviación estandar



**Tabla II**

**Niveles de zinc en suero obtenidos en madres y en recién nacido (Cordón)**

Autor	Madre		Recién nacido	
	$\bar{X}$	DE	$\bar{X}$	DE
Hambridge (7)	8,6	1,4	—	—
Henkin (8)	7,3	1,8	12,7	1,8
Jeżerniczki (9)	8,9	0,6	13,0	1,4
En este trabajo	8,8	1,8	13,5	—

Resultados expresados como  $\mu\text{mol/l}$

$\bar{X}$  = Valores medios

DE = Desviación estandar

**Tabla III**

**Evolución de los niveles de zinc en suero con la edad según Kasperej (11) y Ohtake (12)**

Edad	$\bar{X}$ ( $\mu\text{mol/l}$ )	1 DE
Cordón	13,5	3,1
5 días	13,5	1,8
1 mes	10,1	1,2
3 meses	10,4	1,4
5 meses	9,9	0,8
6-12 meses	11,6	1,8
1-5 meses	14,8	2,9
5-12 años	15,5	2,4
20-40 años	18,1	2,4
50 años	14,5	2,9

$\bar{X}$  = Valores medios DE = Desviación estandar

En conjunto se observa una relación Zn neonatos/Zn madre de 3:2. Esta proporción corroboraría la existencia de un transporte activo de Zn a través de la placenta, que ha sido descrita previamente (10). La existencia de un descenso progresivo de los niveles de Zn en el embarazo (Tabla II), (8,14) junto a un aumento concomitante del mismo en el feto en los tres últimos meses de gestación (13) avalarían la existencia de dicha proporción superior en el neonato. No obstante y a pesar de haber obtenido una correlación negativa entre los valores de Zn de las madres y los neonatos, la falta de significación de la misma señala la independencia estadística de ambos valores en el grupo estudiado en el presente trabajo.

Los datos obtenidos por Kasperej (11) y Ohtake (12) (Tabla III) indican que el nivel de zinc en suero sufre, en los 3 primeros meses de vida, una disminución similar a la que se observa en los 3 últimos meses de embarazo. Ello hace que ambos períodos sean sumamente sensibles a la disminución del aporte de Zn por la dieta, pues esta

situación podría desembocar fácilmente en hipocincemia. De la hipocincemia en el embarazo se derivan enfermedades graves en el recién nacido como la acrodermatitis enteropática (15) o retraso en el crecimiento intrauterino y malformaciones congénitas (16,17) y son numerosas las complicaciones que se han asociado a este déficit (18).

Nuestra conclusión final incide en la necesidad de controlar los niveles de zinc en suero durante ambos períodos (3 últimos meses de embarazo, 3 primeros meses de vida) y, en todo caso, en la determinación del zinc sérico en el recién nacido para detectar posibles hipocincemias.

**Agradecimientos:** Al Dr. J.M. Paz del Laboratorio Central del Hospital General de Galicia

**Bibliografía**

1. Versieck J, Cornelis R. Normal levels of trace elements in human blood serum or plasma. *Anal Chim Acta* 1980;116:217-254.
2. Henkin RI. Newer aspects of copper and zinc metabolism. En: Mertz W, Cornatzer WE, eds. *Newer trace elements in Nutrition*. New York, Dekker 1976:256-309.
3. Alonso-Fernandez JR, Cocho JA, Castiñeiras MC, Peña J, Fraga JM. The determination of Copper and Zinc in microsamples of undeproproteinized blood serum using AAS with direct flame injection. *J Inher Metab Dis* 1983; (Suppl 2):91-92.
4. Alonso-Fernandez JR, Cocho JA, Castiñeiras MC, Peña J, Fraga JM. Inyección directa en la llama del EAA de micromuestras de suero sanguíneo sin desproteinizar para la determinación de oligoelementos. *Quím Clín* 1982;1:21. (Resumen).
5. Ekkehard WR, Besch DJ. Detection and elimination of contaminations interfering with the determination of zinc in plasma. *Clin Chem* 1978;24:675-680.
6. Duncan PHL, Harrison RN. Cleaning methods for polythene containers prior to determination of trace elements in freshwater samples. *Anal Chem*. 1981; 53:345-350.
7. Hambridge KM, Droegmueller W. Changes in plasma and hair concentrations of zinc, copper, chromium and manganese during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1974; 44:666-672.
8. Henkin RI, Marshall JR, Meret S. Maternal-fetal metabolism of copper and zinc at term. *Am J Obstet Gynecol* 1971; 110:131-134.
9. Jeżernicky J, Nagy Z, et al. Trace elements in the serum of mothers and their children. *Acta Paediatr Hungaricae* 1976; 17:193-197.
10. Hoeck A, Kasperek K, Scholz HR, Feinedegen LE. Concentrations of zinc, selenium, rubidium, cobalt and iron in maternal serum as well as in the arteria and vena umbilicalis. *Spurenelement Entwickl Mensch Tier, Vernachlässigte Elem, Saenglingsernachr Symp.* 1974:89-95. Ed. Betke K, Bldlingmaierfac Editorial Urban. Munich.
11. Kasperek K, Feinedegen LE, Lombeck I. Serum zinc concentration during childhood. *Europ J Paediatr* 1977;126:199-202.
12. Ohtake M. Serum zinc and copper levels in healthy Japanese children. *Tokoku J Exp Med* 1977;123:265-270.
13. Shaw JCL. Trace elements in the fetus and young infant *Am J Dis Child* 1979;133:1260-1268.
14. Meadows NJ, Smith MF, et al. Zinc and small babies. *Lancet* 1981;2:1135-1136.
15. Mcynahan EJ. Acrodermatitis Enteropathica: a lethal inherited human zinc-deficiency disorder. *Lancet* 1974;2:399-400.
16. Hambridge KM, Neldner KH, Walravens PA. Zinc, acrodermatitis enteropathica, and congenital malformations. *Lancet* 1975;2:577-578.
17. Jameson S. Effects of zinc deficiency in human reproduction. *Acta Med Scand* 1976; (Suppl 593)5-89.
18. Jameson S. Zinc nutrition and pregnancy in humans. *Fourth International Symposium on Trace Elements Metabolism in Man and Animals*. Perth, Western Australia 1981.