

## SPANISH SUMMARY

### *Resumen*

Esta tesis examina la asociación entre deficiencia de zinc, función inmunitaria e infecciones en niños pre-escolares y en adultos mayores del Ecuador. Además explora la potencial relación entre la deficiencia de zinc y de las vitaminas C y E con el síndrome metabólico (MetS) en la población de tercera edad en el Ecuador. Nuestros estudios científicos publicados en revistas indexadas, realizados en las dos últimas décadas tanto en comunidades como en hospitales son el fundamento de las asociaciones propuestas.

La deficiencia de zinc es de alta prevalencia en el Ecuador y en la región Andina. Las áreas rurales andinas son más afectadas que las urbanas debido al limitado acceso a los alimentos animales ricos en zinc biodisponible. En estas áreas la dieta se basa principalmente en cereales que no proveen suficiente zinc para los requerimientos diarios, lo cual se agrava por la práctica tradicional de consumir cereales no refinados con alto contenido de ácido fítico que interfiere la absorción de zinc y de hierro. Hacen falta políticas públicas orientadas a mejorar la provisión de zinc en la dieta. El zinc debe ser proporcionado diariamente ya que no existe almacenamiento tisular de fácil disponibilidad, lo que complica la instauración de estrategias eficientes como el acceso a alimentos o la administración de suplementos con las cuotas suficientes de este mineral.

En niños ecuatorianos pre-escolares la anemia por deficiencia crónica de hierro ha sido otro problema relevante. Sin embargo, la provisión de suplementos de hierro en los centros de salud ha reducido la prevalencia de anemia, especialmente en las zonas urbanas. Esta estrategia enfrenta problemas de aplicación en áreas rurales debido a la baja adhesión de las poblaciones a los suplementos. Sin embargo, se está logrando progreso sostenido. La competencia entre zinc y hierro por los mecanismos de absorción intestinal podría agravar el estatus de zinc.

Puesto que el zinc se relaciona tanto con la inmunidad innata como con la inmunidad adaptativa, las poblaciones que sufren deficiencia crónica de este mineral son vulnerables a infecciones respiratorias y diarreicas. Actualmente hay suficientes evidencias sobre esta asociación. De hecho, se ha demostrado que la deficiencia de zinc afecta la capacidad bactericida de los macrófagos y la inmunidad adaptativa dependiente de células Th1. Sin embargo, en el año 1992, cuando nosotros empezamos los estudios de este mineral, los mecanismos celulares apenas empezaban a develarse. En el año 1996 publicamos un estudio que evaluó el efecto de suplementos diarios de zinc o placebo en la infección respiratoria y en la hipersensibilidad retardada (DTH) en niños con retraso de talla

para la edad. La hipersensibilidad retardada se evalúa mediante la reacción local a la administración cutánea de un antígeno. El estudio mostró reducción de la incidencia de signos respiratorios y mejoramiento de la respuesta DTH en el grupo que recibió zinc. El beneficio revirtió cuando se suspendió la administración del suplemento. Estos hallazgos fueron una de las evidencias de fundamento original al conocimiento de la relación entre deficiencia de zinc, afectación de la respuesta inmunitaria e infecciones.

Más tarde, participamos en un estudio colaborativo con la Universidad de California, Davis, que demostró que la cuota diaria de 3-7 miligramos de zinc es suficiente para reducir la incidencia de diarrea de manera significativa (en términos estadísticos) en niños con baja talla para la edad. Con esas dosis de zinc no se afectó el estatus de cobre evaluado mediante el examen de una batería de enzimas dependientes de cobre.

En el año 2008 publicamos un estudio realizado en adultos residentes en Quito infectados con *H. pylori*, sobre la asociación entre el zinc de la mucosa gástrica y la severidad de la inflamación local. Bajas concentraciones de zinc en la mucosa se encontraron asociadas con alta infiltración de células mononucleares y polimorfonucleares (PMN).

Recientemente, en otro estudio publicado, encontramos que la administración de suplementos diarios de zinc como adyuvantes del tratamiento estándar de neumonía severa en niños hospitalizados, no disminuyó la duración clínica del episodio neumónico. Sin embargo, los niños que ingresaron al estudio con mejor estatus de zinc previo a la suplementación sí tuvieron reducción significativa de la duración de los signos clínicos de neumonía severa.

Basados en los hallazgos descritos, concluimos que la deficiencia crónica de zinc afecta tanto la inmunidad innata como la inmunidad adaptativa. Creciente evidencia permite comprender los mecanismos asociados con dicha afectación. El zinc es requerido para la maduración óptima de los linfocitos T en el timo y para el apoyo eficiente de estos linfocitos a la capacidad bactericida del macrófago para combatir a los patógenos intracelulares. La deficiencia de zinc, por lo tanto, se asocia con baja producción de citocinas inflamatorias dependientes de células Th1, tales como TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6. Paradójicamente, la deficiencia de zinc podría estar relacionada con aumentada inflamación como sugiere la infiltración de la mucosa gástrica por células PMN en adultos infectados con *H. pylori* cuando la concentración de zinc es baja en la mucosa.

La teoría prevalente relaciona la deficiencia de zinc con incrementada inflamación, teoría que parece estar en contradicción con nuestros hallazgos citados y con los de

otros autores, por ejemplo con quienes han encontrado incremento de producción de glucocorticoides en niños con deficiencia de zinc. La teoría prevalente emerge de estudios experimentales en macrófagos activados cultivados tratados con iones de zinc. Estos estudios muestran que los iones de zinc se unen a la enzima IKK y, por lo tanto, impiden la activación del factor NF-κB. Sin embargo, otros estudios muestran que proteínas-zinc, tal como la proteína ZBTB20, promueven la activación del factor NF-κB. Más aún, y para hacer más complejo el escenario de la asociación entre zinc e inflamación, las células T reguladoras dependen de la disponibilidad de zinc. En consecuencia, proponemos un efecto dual de la deficiencia de zinc en la inflamación, efecto que dependería de la duración y grado de esta deficiencia.

En la última década hemos estudiado el estado nutricional, inmunológico y de salud de ancianos ecuatorianos que viven en barrios pobres de Quito. Nuestros estudios han sido los primeros en Ecuador orientados a describir el estado de salud de este grupo de población. El primer estudio fue preliminar en 145 sujetos mayores de 65 años de edad. En ese estudio encontramos alta prevalencia de deficiencia de micronutrientes, infecciones respiratorias, baja respuesta DTH, alto ingreso calórico y sobrepeso. Hallazgos que nos condujeron a profundizar el conocimiento de la función inmune, el estado nutricional, la alimentación y la salud metabólica en los adultos mayores.

En un estudio más grande, con mayor potencia estadística, que incluyó 352 adultos mayores, encontramos bajas concentraciones plasmáticas de micronutrientes, especialmente vitamina C y zinc. La concentración plasmática de vitamina C se asoció positivamente con interferón-γ (IFN $\gamma$ ), mientras la concentración plasmática de zinc se asoció positivamente con IFN $\gamma$  e inter leucina-2 (IL-2). Estas citocinas fueron medidas en el sobrenadante de cultivos de células sanguíneas de adultos mayores. Historia de infección respiratoria se asoció con la deficiencia de cualquier micronutriente. La prueba DTH demostró que una minoría de sujetos respondió al toxoide tetánico y al Trichophyton, mientras más de la mitad respondió a la tuberculina y a Candida. En suma, la respuesta inmune dependiente de células Th-1 parece estar afectada por las deficiencias de micronutrientes más prevalentes en esta población de adultos mayores. Estas deficiencias agravarían la afectada respuesta inmune asociada al envejecimiento (inmune senescencia).

El síndrome metabólico (MetS) fue altamente prevalente en esta población de adultos mayores del Ecuador: 40%, más en mujeres (81%), que en varones (19%), definido conforme a los criterios de la Federación Internacional de Diabetes (IDF). Las concentraciones plasmáticas de vitaminas C y E se asociaron inversamente con MetS. La proteína C reactiva (CRP) se asoció positivamente con MetS. Sorprendentemente, la concentración plasmática

de zinc no se asoció con MetS. Este falta de asociación entre zinc y MetS fue inesperada dado el rol anti-oxidante de este mineral a través de la enzima superóxido dismutasa, dependiente de zinc. Este hallazgo podría depender de la moderada deficiencia de zinc de estos sujetos como sugiere su concentración promedio de zinc y el desvío estándar. Lamentablemente, nosotros no evaluamos la correlación entre zinc plasmático y CRP que nos habría proporcionado una clave sobre el potencial efecto dual de la deficiencia de zinc en la inflamación, como hemos sugerido en líneas anteriores.

La prevalencia de deficiencia de vitamina C fue alta en nuestra población de adultos mayores (60% y 33%, para hombres y mujeres, respectivamente). La vitamina C estuvo negativamente asociada con MetS. Este hallazgo es consistente con el rol anti-oxidante de esta vitamina. La vitamina C se asocia con baja adipogénesis según algunos estudios, aunque otros han encontrado el efecto opuesto. Estos resultados conflictivos podrían estar relacionados con las dosis de vitamina C utilizadas en los diferentes estudios o con el tipo de células utilizado. Sin embargo, la vitamina C se ha encontrado asociada con menor inflamación en sujetos obesos.

La prevalencia de deficiencia de vitamina E fue baja en la población de adultos mayores que estudiábamos en Quito (<15%). Sin embargo, encontramos una relación inversa entre la razón de vitamina E:TAG y MetS ( $OR=0.78$ , 95% CI 0.71, 0.86). Estudios recientes sugieren que el  $\gamma$ -tocotrienol y el  $\alpha$ -tocopherol inhiben la activación del factor NK- $\kappa$ B. Por lo tanto, uno puede especular que individuos adultos mayores de Ecuador con MetS sufren de inflamación moderada gracias a la regular ingesta dietética de diferentes isoformas de vitamina E. De hecho, en Ecuador hay extenso consumo de aceite de palma que contiene seis isoformas de vitamina E. Precisamente, estudios en aorta de ratas han mostrado el efecto beneficioso de extractos de aceite de palma en la reducción del estrés oxidativo y en el mejoramiento de la relajación vascular dependiente del endotelio, aunque hay controversia por su contenido de ácidos grasos saturados.

No pudimos encontrar estudios sobre obesidad central y el estatus de vitamina E. Sin embargo, algunos estudios sugieren que el índice de masa corporal (IBM) y la concentración plasmática de leptina, un marcador de inflamación en MetS, se asocian positivamente con la concentración plasmática de  $\gamma$ -tocopherol. Puesto que no hay asociación directa entre el  $\gamma$ -tocopherol plasmático y el ingreso dietético, las variaciones plasmáticas podrían indicar un balance metabólico con otros micronutrientes, como la vitamina D. Precisamente, los estudios mencionados encontraron que la vitamina D se asocia negativamente con leptina e IBM. Puesto que en nuestro estudio la deficiencia severa de vitamina D (10 ng/ml) afecta < 15% de la población de adultos mayores es posible especular que inflamación moderada

afecta a la población ecuatoriana de adultos mayores con MetS, debido al rol de la vitamina D. Inclusive, si aplicamos el nuevo punto de corte para deficiencia de vitamina D (20 ng/ml), los adultos mayores de Quito con MetS tendrían moderada inflamación. Más aún, es posible proponer como hipótesis que nuestra población tiene bajas concentraciones plasmáticas de  $\gamma$ -tocopherol.

A la luz de las deficiencias de micronutrientes encontradas en nuestros estudios en adultos mayores que residen en Quito, especialmente las deficiencias de vitaminas C, E y zinc, así como su potencial asociación con MetS, más investigación es necesaria para definir asociaciones causales. Son de alta prioridad las intervenciones en la dieta para mejorar el estatus de micronutrientes y examinar su efecto en la ganancia de peso, la obesidad central, la glicemia en ayunas, la resistencia a la insulina, el perfil sérico de lípidos y la inflamación en individuos adultos mayores con MetS. Claramente, se necesitan más estudios para profundizar el conocimiento de los mecanismos moleculares y de los efectos clínicos de intervenciones con micronutrientes, especialmente vitaminas C, D, E y zinc. En relación con los mecanismos moleculares son prioritarios los estudios para evaluar los efectos de la intervención en la adipogénesis, en marcadores de inflamación y en la regulación de la expresión genética a través de micro RNAs (mRNAs). También son cruciales los estudios sobre interacciones moleculares de los micronutrientes.