



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

ESTATUS DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO, FERRITINA,
CREATININA Y TIOLES TOTALES EN VEGETARIANOS, CONSUMIDORES
HABITUALES DE PRODUCTOS DEL MAR Y UN GRUPO CONTROL
(Modalidad: Tesis de Grado)

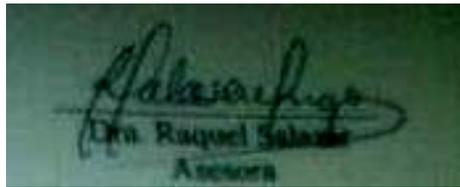
ZAMARA ALEJANDRA YÉPEZ MORANTE

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2012

ESTATUS DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO, FERRITINA,
CREATININA Y TIOLES TOTALES EN VEGETARIANOS, CONSUMIDORES
HABITUALES DE PRODUCTOS DEL MAR Y UN GRUPO CONTROL

APROBADO POR:



Dra. Raquel Salazar
Asesora



Msc. Leída Marcano
Jurado principal



Dra. Mairin Lemus
Jurado principal

DEDICATORIA

A

Quien guía mi camino, Dios.

Quienes son mi orgullo y no desee defraudar, mis madres Mariela Morante y Juana de Morante, con todo el inmenso amor que se merecen, les dedico mi triunfo.

Mi hermano: Víctor Yépez por contagiarme siempre de su infinita alegría y quiero decirle que con constancia se cumplen los sueños.

Mis tíos: Eneas Morante, Yahan Morante y Sor Morante, por brindarme el mejor estímulo para hacer solido este éxito.

José David Ramírez y Raúl Kramer, por siempre ofrecerme su apoyo incondicional.

La memoria de mis inolvidables padres: Eneas Morante y Wilfredo Yépez, quienes siguen estando presente día a día, los quiero.

Los hermanos que me regaló la vida: Uslany Lozada, Asdays Herreriquez, Alba Vargas, Greisis Márquez, Johan Calvo, Lérica Montaña, Armieidys Licett, Marbella Cárdenas, Henry Días, Oliveros Javier, Cecilia Brito, gracias por brindarme su amistad incondicional y estar presente en todos los momentos de mi vida, siempre los recordaré como el mejor de los regalos, los quiero.

AGRADECIMIENTOS

A

Mi asesora académica, Dra. Raquel Salazar, quien me ofreció su dedicación, valiosos conocimientos y consejos en el desarrollo de esta investigación, mil gracias.

La Lcda. Maribel Rosales, Lida. Patricia González, Técnico Superior Henry Astudillo y Dra. Luisa Rojas, por su colaboración en la parte experimental de este proyecto, un agradecimiento especial.

El Prof. Luis Troccoli, por enseñarnos sus excelentes conocimientos estadísticos.

Todas aquellas personas que me apoyaron para alcanzar este triunfo. Millones de gracias.

ÍNDICE

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE TABLAS	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
RESUMEN	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
El organismo se.....	5
METODOLOGÍA.....	8
Población en estudio	8
Normas bioéticas.....	8
Recolección de la muestra	8
Determinación en sangre y orina de cadmio y hierro	9
Determinación sérica y urinaria de creatinina	10
Determinación sérica de ferritina.....	11
Determinación sérica de grupos tiales	11
Análisis estadístico	12
RESULTADOS	13
DISCUSIÓN	20
CONCLUSIONES	25

RECOMENDACIONES.....	26
BIBLIOGRAFÍA	27
APÉNDICES	32
ANEXOS	34

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Niveles séricos de creatinina, ferritina y hierro total en sangre en el grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y dieta mixta.	14
Tabla 2. Niveles urinarios de creatinina, hierro y Cd en el grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y dieta mixta.	16

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Niveles de cadmio en sangre en el grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y dieta mixta. C.D.P.M = Consumidores habituales de productos del mar.....	13
Figura 2. Niveles de cadmio en sangre por género.....	14
Figura 3. Relación entre los niveles de cadmio en sangre y la edad de las mujeres en el grupo de vegetarianos.....	14
Figura 4. Niveles de tioles totales en el grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y de dieta mixta. C.D.P.M = Consumidores habituales de productos del mar.....	15
Figura 5. Relación entre los niveles de cadmio y hierro total en sangre del grupo de vegetarianos, consumidores de productos del mar y dieta mixta.	16
Figura 6. Relación de los niveles de hierro total en sangre con el género del grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y dieta mixta.	16
Figura 7. Relación entre los niveles de cadmio en sangre y hierro en orina de hombres pertenecientes al grupo de vegetarianos.	17
Figura 8. Relación entre los niveles de hierro total en sangre y tioles totales en hombres	18
Figura 9. Relación de los niveles de cadmio en sangre con la hemoglobina en el grupo de vegetarianos (a) y consumidores habituales de productos del mar (b).....	19

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar las concentraciones de cadmio (Cd), hierro total, creatinina, ferritina y tioles totales en 85 personas de ambos sexos, con edades entre 30 y 75 años, la población en estudio se dividió en tres grupos, el primer grupo estaba formado por 25 personas vegetarianas (aquellas que no consumen carnes en su dieta diaria), el segundo grupo, estaba integrado por 30 sujetos consumidores habituales de productos del mar (consumen 3 veces o más a la semana estos productos) y el tercer grupo lo conformaron 30 personas que ingieren una dieta mixta (grupo control). En este trabajo se excluyeron a los fumadores. Los resultados de esta investigación indican que el grupo de vegetarianos son más vulnerables a concentrar Cd ($5-15 \mu\text{g/l}$) que los consumidores habituales de productos del mar ($5-10 \mu\text{g/l}$) y que los que ingieren una dieta mixta ($0-5 \mu\text{g/l}$), los hombres fueron más sensibles que las mujeres a acumular Cd en sangre, obteniendo concentraciones de $5-15 \mu\text{g/l}$ y $5-10 \mu\text{g/l}$, respectivamente. Por su parte, los niveles de hierro total en sangre fueron más alto en los vegetarianos ($206-296 \text{ mg/dl}$), seguidos de los consumidores habituales de productos del mar ($160-250 \text{ mg/dl}$) y los que ingieren una dieta mixta ($130-241 \text{ mg/dl}$), también se halló que los vegetarianos fueron el grupo con mayores niveles de tioles totales ($11-57 \mu\text{mol/l}$) mientras que los consumidores habituales de productos del mar tuvieron las menores concentraciones de tioles totales ($11-27 \mu\text{mol/l}$), sugiriendo que quizás, el consumo de alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados pueden ejercer un efecto protector de membranas celulares, disminuyendo el efecto de los radicales libres; por último, se detectó que los hombres (mayores de 50 años) vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar, concentran el hierro y aumentan los niveles de tioles totales.

INTRODUCCIÓN

El cadmio (Cd) es uno de los principales contaminantes ambientales, este metal representa una grave amenaza para la salud de las personas y animales, debido a su larga vida biológica, la cual es de 10 a 40 años. El hígado y los riñones son los primeros órganos que participan en la eliminación de este metal del organismo, y también son los más sensibles a sus efectos tóxicos (Bergiund y cols., 1994; Peralta y cols., 2009; Villatoro y cols., 2009; Wills y cols., 2009; Katedra y cols., 2010).

La dieta es la principal fuente de exposición al Cd en personas no fumadoras (Charles y cols., 2007; Amzal y cols., 2009; Wills y cols., 2009; Satarug y cols., 2010). La mayoría de los alimentos contienen concentraciones relativamente bajas de Cd; sin embargo, altas concentraciones se pueden encontrar en ciertos hongos y mariscos, en estos últimos organismos se localizan especialmente, en el hepatopáncreas. Otros alimentos que pueden tener altas concentraciones de Cd son los cereales, principalmente el arroz, el trigo y las verduras, cuyas concentraciones suelen ser más elevadas en estos productos que las encontradas en los productos lácteos, carne y pescado; en los países asiáticos y estadounidenses, hasta el 50,0% del Cd ingerido proviene del arroz y sus derivados, la Administración de alimento y droga, informó que la ingesta diaria de Cd en los estadounidenses aumentó un 26,0% entre 1990 y 2003, este aumento se correlacionó con un aumento del consumo de arroz y otros granos (Bergiund y cols., 1994; Hirotaka y cols., 2010; Shimpei y cols., 2011).

La absorción de Cd a nivel gastrointestinal es alrededor del 5,0% en adultos, pero varía considerablemente entre los individuos. Estudios experimentales indican, que la absorción gastrointestinal de Cd puede ser influenciada por la composición de la dieta y los factores nutricionales, por ejemplo, el contenido de la dieta de los componentes de la fibra y la baja ingesta de zinc, calcio y hierro pueden favorecer la absorción de Cd (Bergiund y cols., 1994; Satarug y cols., 2010).

Estudios realizados, muestran que la concentración de Cd en la sangre tiene una correlación inversa con el almacenamiento de hierro y ferritina en el organismo. La

absorción de Cd tiende a aumentar de acuerdo a bajos niveles de almacenamiento de hierro en el cuerpo, debido a que compite con el hierro para su absorción en el intestino, afectando el uso eficiente del hierro para la síntesis de hemoglobina en el cuerpo. Al parecer, las mujeres están en mayor riesgo de exposición a metales tóxicos, especialmente Cd, ya que investigaciones realizadas encontraron mayores concentraciones de metales tóxicos en la orina de mujeres con respecto a los hombres, es probable que el aumento de la absorción gastrointestinal de metales tóxicos se deba a deficiencias de micronutrientes, tales como disminuidas reservas de hierro y de zinc (Murashima y cols., 2004; Horiguchi, 2007; Hwangbo y cols., 2011).

El hierro juega un papel esencial en los procesos biológicos, ya que se encuentra como componente de enzimas y otros complejos moleculares, dentro de sus funciones principales se encuentran, transportar el oxígeno a través de la hemoglobina, síntesis de ADN y transporte de electrones. Un adulto sano contiene un total de 3-4 mg/kg (miligramo de hierro por kilogramo de peso), del cual el 50,0% se encuentra en forma de hemoglobina, 25,0% como reservas hepáticas (ferritina) y el resto está contenido por la mioglobina y proteínas que contienen hierro en su estructura (Kim y cols., 2006; Toxqui y cols., 2010).

Para la absorción del hierro no-hemo o inorgánico, es preciso que éste se encuentre en la forma Fe^{2+} , luego, se absorbe utilizando el transportador de metales divalente (DMT1), que se encuentra en el borde de cepillo de la membrana apical del enterocito y es el encargado de transportarlo a su interior. Por su parte, el hierro hemo u orgánico se absorbe por un sistema diferente; se ha identificado una proteína de la membrana apical de la célula del epitelio intestinal, denominada proteína transportadora de hemo (HCP1) como posible transportador del hierro hemo. Una vez dentro del enterocito, la hemo oxigenasa 1 (HO-1) y sus homólogos son las encargadas de degradar la molécula hemo para liberar el Fe^{2+} , El cual puede almacenarse como Fe^{+3} en forma de gránulos de ferritina que se eliminan por descamación, o bien ser exportado a la circulación por la acción combinada de una reductasa denominada hepaestina (Hp) y la proteína transportadora ferroportina (FPN).

El Fe^{2+} debe ser oxidado a Fe^{3+} , mediante la ceruloplasmina, y así se une a la transferrina (Tf), la cual distribuye el metal por todo el cuerpo para su utilización y almacenamiento (Toxqui y cols., 2010).

El DTM1 y la proteína transportadora de metal 1 (MTP1), se expresan en todos los tejidos; sin embargo, el DMT1 se expresa más en cerebro y riñones, mientras que el MTD1 en hígado y bazo. Kim y cols. (2006), indican que estas proteínas no sólo juegan un papel importante en el mantenimiento de los niveles del hierro, sino que también facilita la acumulación del Cd en el cuerpo.

La hepcidina es una hormona peptídica sintetizada principalmente, por el hígado, presenta un péptido señal de 24 aminoácidos, con ocho residuos de cisteína. Hasta el momento se le conocen dos funciones, regular la homeostasis del hierro y estar involucrada en la respuesta inicial a la invasión de microorganismos patógenos. Algunos autores, reportan que esta hormona reduce la absorción del hierro, porque inhibe significativamente la expresión del receptor de transferrina 1 (TfR1) y DMT1, reduciendo así, el hierro libre y unido a la Tf (conjugado hierro-transferrina); mientras que otros sugieren que actúa uniéndose a la FPN, haciendo que sea internalizada y degradada, pero que sin embargo, poco se sabe acerca de la relación entre la estructura y la actividad de la hepcidina con la FPN. Mutaciones en el gen que codifica la hepcidina en humanos genera enfermedad por sobrecarga severa de hierro; por el contrario, una expresión incrementada induce una anemia por deficiencia en la absorción de hierro a pesar de una dieta normal o rica en hierro (Clark y cols., 2011; Du y cols., 2012; Yu y cols., 2012).

La ferritina es la proteína de almacenamiento de hierro, la cual es ampliamente estudiada en los humanos, debido a su papel central en el metabolismo del hierro; constituye un oligómero con una masa molecular de aproximadamente, 500 000 Mr, compuesta por 24 subunidades de cadenas polipeptídicas (L ligera o de menor masa y H pesada, con mayor masa) que forman una estructura hueca de aproximadamente, 12 nm de diámetro, con simetría cúbica 4/3/2 y el hierro se almacena en los centros de

ferroxidasa ubicado dentro del paquete de 4 hélices de las subunidades H. Se ha observado que, el Cd inhibe la absorción de hierro, ya que compite por el sitio de unión en la ferritina. Estudios realizados, muestran que mujeres con niveles de ferritina por debajo del valor de referencia poseían mayores niveles de Cd en sangre en comparación con mujeres que presentaban un nivel de ferritina normal (Macara y cols., 1973; Lee y Kim, 2011).

En los organismos expuestos a Cd, el riñón constituye el órgano crítico y las nefropatías son el resultado de una exposición prolongada a este metal. La etapa temprana de la interferencia del Cd con la función renal generalmente, se caracteriza por un aumento de la excreción de proteínas de baja masa molecular (por ejemplo, alfa 2-microglobulina, proteína fijadora de retinol, microglobulina) debido a la disfunción tubular; en algunos casos, hay un aumento de la excreción de proteínas de alta masa molecular (por ejemplo, albúmina, transferrina) a causa del aumento de la permeabilidad glomerular. La toxicidad del Cd también puede dar lugar a una disminución brusca de la tasa de filtración glomerular, la cual se relaciona con la edad de los individuos vulnerables, es decir, a mayor edad mayor probabilidad de desarrollar disfunción renal (Roels y cols., 1991; Villatoro y cols., 2009).

Una de las pruebas que se emplea rutinariamente para medir la disfunción renal es la determinación de creatinina, producto final de la conversión espontánea de la creatina, metabolito importante en mantener los niveles de adenosíntrifosfato (ATP) en el músculo. La creatinina es filtrada por los riñones y excretada totalmente por la orina, la pérdida diaria de creatinina se calcula en el orden del 1,7% de la reserva corporal de creatina total o alrededor de 2 g/día en un hombre joven de 70 kg, por ello que, la excreción de creatinina es un indicador temprano de daño glomerular (Noonan y cols., 2002; Amzal y cols., 2009; Robin e Itzhak, 2009).

Datos recientes indican que, una excreción urinaria media de 2,5 µg/g (µg de Cd por g de creatinina) está relacionada con una prevalencia de exceso de daño renal tubular de 4,0%. Una excreción urinaria media de 2,5 µg/g de creatinina se corresponde con una

concentración media de Cd en corteza renal de 50 $\mu\text{g/g}$, lo que sería el resultado de largo plazo (décadas) de la ingesta de 50 μg de Cd por día. En Suecia, la ingesta media de Cd diaria es de aproximadamente, 1,0% en mujeres con bajas reservas de hierro. Por ello, que el Cd urinario se considera un biomarcador válido de la acumulación de toda la vida del riñón a partir de la exposición al Cd en general y por lo tanto, puede utilizarse en la evaluación de los efectos sobre la salud inducidos por el Cd (Godt y cols., 2006; Julin y cols., 2011).

Uno de los mecanismos tóxicos que ejerce el Cd en el organismo es la producción de estrés oxidativo, estado que se caracteriza por la producción de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS) en forma desmedida, sobrepasando las defensas antioxidantes fisiológicas y causando daños en el ADN, los lípidos, proteínas, entre otros. El estrés oxidativo se ha relacionado con varias enfermedades, como las enfermedades neurodegenerativas, enfermedades oftalmológicas, cáncer y cardiovasculares; estas últimas siguen siendo la principal causa de muerte de adultos en los Estados Unidos y Europa (Tapia, 2005; Videan y cols., 2009).

El Cd genera ROS en la forma de superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (HO^\bullet), y los radicales de lípidos (L). Además, el Cd puede causar la sustitución del hierro en algunas enzimas, y las moléculas de hierro acumuladas reaccionan con H_2O_2 para producir HO^\bullet . La detección temprana de la carga del metal es importante para el éxito de la desintoxicación y tratamiento contra metales tóxicos (Wieloch y cols., 2012).

El organismo se defiende contra los metales tóxicos sintetizando moléculas ricas en grupos sulfhidrilos, siendo las más importantes, el tripéptido glutatión en su forma reducida (GSH) y las metalotioninas (Fang y Fallin, 1976). El Cd tiene alta afinidad para el GSH, que es el principal antioxidante intracelular; es importante destacar que, un sólo átomo de Cd se puede enlazar hasta con dos tripéptidos de GSH. Además, se ha demostrado que el GSH permite la eliminación de Cd de la célula, este metal es capaz de inhibir la actividad de dos enzimas claves implicadas en el metabolismo de GSH, GSH

sintetasa y GSH reductasa (Quig, 1998).

Una segunda respuesta adaptativa y de protección a la exposición de metales tóxicos es la inducción de la síntesis de metalotioninas, proteínas citosólicas ricas en cisteína, de baja masa molecular, que se ha demostrado regulan la distribución de metales y tienen funciones protectoras en la desintoxicación de metales pesados. La proteína está presente en la mayoría de los tejidos, incluyendo riñones, placenta e hígado, donde es más abundante; su síntesis es inducida por metales (sobre todo el Cd), y tiene gran afinidad por ellos. Por tanto, el Cd se une a la proteína y de esta forma es transportado hasta el riñón para su excreción, restringiéndose la entrada del metal a la mitocondria y disminuyendo su acumulación en los tejidos (Roesijadi, 1994; Quig, 1998).

Investigaciones realizadas en personas vegetarianas y trabajadores expuestos al Cd, indican que éstos presentan una elevada ingesta de Cd, lo que trae como consecuencia una mayor concentración del metal a nivel urinario (>2 pg/g de creatinina) y sanguíneo; también, encontraron niveles de ferritina sérica menores a 30 g/dl, indicativo de una reducción de los depósitos de hierro. Se ha encontrado que los trabajadores con microproteinuria inducida por Cd, tenían una disminución de la tasa de filtración glomerular, la cual se acelera con la edad; mientras que en los trabajadores sin microproteinuria, no se afecta la capacidad de filtración del riñón (Roels y cols., 1991; Berglund y cols., 1994).

Algunos estudios, señalan al Cd como factor predisponente de enfermedades coronarias y que la contaminación con este metal de suelos cultivables, a través del uso de fertilizantes fosfatados, lodo y agua de riego, es uno de los problemas agrícolas más importantes a escala mundial, trabajos plantean que para disminuir la transferencia de Cd del suelo a las plantas de consumo humano, se debe mantener el pH cercano a la neutralidad (pH-H₂O de 7,5; pH-KCl de 6,5) en los suelos agrícolas. Los alimentos de origen vegetal, especialmente el arroz son la principal fuente de Cd, representando un riesgo potencial para la salud (Charles y cols., 2007; Shimpei y cols., 2009; Takayuki y cols., 2009; Fujimaki y cols., 2010; Nawrton y cols., 2010).

Recientemente, la ingesta promedio de Cd en Japón se estima en 3,0 mg/kg de peso corporal por semana. Este valor es casi el 50,0% de la ingesta mensual tolerable provisional establecida por la Organización Conjunta para la Agricultura, Organización Mundial de la Salud y el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos, y superior a la ingesta semanal tolerable (2,5 mg Cd / kg de peso corporal) establecidos por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (AESA). Una alta ingesta de Cd producto de arroz contaminado ha producido en Japón la enfermedad, itai-itai; ésta provoca daño renal, osteomalacia y osteoporosis (Charles y cols., 2007; Shimpei y cols., 2009; Takayuki y cols., 2009; Fujimaki y cols., 2010; Shimpei y cols., 2011).

En Venezuela, se han reportado concentraciones de Cd en alimentos provenientes del mar, por encima de las recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en alimentos utilizados para el consumo humano (Salazar-Lugo, 2009). La creciente biodisponibilidad de Cd en alimentos de consumo humano, producto del enriquecimiento de ríos y suelos por este metal, así como de su posible biomagnificación, a través de la cadena trófica, puede convertirlo en un factor a considerar en el incremento de algunas patologías humanas en aquellos individuos vulnerables como pudiesen ser los vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar. Por tal razón, se plantea la evaluación del estatus de las concentraciones de Cd, hierro y su relación con las concentraciones de ferritina, creatinina y tioles totales en vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar.

METODOLOGÍA

Población en estudio

El presente estudio se realizó con 85 personas de ambos sexos, con edades entre 30-75 años; la población en estudio se dividió en tres grupos, el primer grupo estaba integrado por 30 sujetos consumidores habituales de productos del mar (consumen 3 veces o más a la semana estos productos), el segundo grupo, estaba formado por 25 personas vegetarianas (aquellas que no consumen carnes en su dieta diaria) y el tercer grupo lo conformaron 30 personas que ingerían una dieta mixta (grupo control). En este trabajo se excluyeron a los fumadores.

Normas bioéticas

La siguiente investigación se realizó observando las normas de ética establecidas por la OMS para trabajos de investigación en humanos y la declaración de Helsinki, ratificada por la vigésima novena Asamblea Mundial, realizada en Tokio en el año 1975 (Oficina Panamericana de la Salud, 1990).

Recolección de la muestra

Una vez que se realizó la encuesta (anexo 1 y 2) y se obtuvo el consentimiento válido (anexo 3), a los tres grupos en estudio se les tomaron muestras de sangre venosa, utilizando jeringas descartables con aguja calibre 21, aplicando la técnica de punción venosa (Bauer, 1986). Las muestras obtenidas se dividieron en dos tubos de ensayos estériles, uno con sal disódica de ácido etilendiaminotetracético (EDTA-Na₂) como anticoagulante para la determinación en sangre de los metales y otro sin anticoagulante para la determinación en el suero de ferritina, creatinina y tioles totales. También, se recolectaron muestras de orina (primera de la mañana) en envases estériles, aplicando la técnica del chorro del medio (Bauer, 1986), previa instrucción al paciente sobre la forma adecuada de recolección de la muestra. Aunque para la determinación de Cd en orina se recomienda una orina de 24 h, no fue posible obtenerla porque los participantes de

la investigación no estuvieron dispuestos a colaborar.

Determinación en sangre y orina de cadmio y hierro

La determinación de las concentraciones de Cd y hierro se realizó por espectroscopía de emisión óptica con plasma (ICP); dicha técnica se fundamenta en la desolvatación, vaporización, atomización, excitación e ionización de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma. La energía que se requiere para estos procesos la suministra un plasma de gas inerte. Por definición, un plasma es una mezcla gaseosa conductora de la electricidad que contiene partículas cargadas y neutras de un gas ionizado: argón durante el proceso, el gas argón es ionizado por efecto de la inducción de un campo magnético generado por una corriente de alta frecuencia. El gas argón es dirigido a través de una antorcha consistente de tres tubos concéntricos hechos de cuarzo. Un espiral de cobre, llamado espiral de carga, rodea el borde superior de la antorcha y está conectado a un generador de radio frecuencia (RF) las muestras se llevaron a la forma de aerosol a través de un dispositivo denominado nebulizador, el cual se introduce al plasma caliente arrastrada por un flujo adicional de argón hasta el quemador donde se produce la desolvatación, vaporización, atomización, excitación y/o de los elementos que constituyen la muestra (Skoog y Leary, 1994).

Para el análisis de las muestras, se agregó 1 ml de orina con 1 ml de ácido nítrico en un Erlenmeyer, se colocó un bulbo de vidrio para tapar el Erlenmeyer y se dejó reposar por 24 horas a temperatura ambiente, pasado ese tiempo, se calentaron las muestras en una plancha a 60, 70, 80, 90 y 100°C por 15 minutos, luego se agregó el contenido a un balón aforado de 10 ml y se enrazó con agua desionizada para luego trasvasar el contenido a un tubo con tapa hasta el momento de su análisis. En el caso de las muestras de sangre, se tomó 1 ml de sangre y se agregó en un tubo de vidrio con tapa, seguidamente se le agregó 1 ml de ácido nítrico, se taparon los tubos y se dejó reposar 24 horas a temperatura ambiente, transcurrido ese tiempo, se le agregó 3 ml de solución diluyente (preparada con 1,0% V/V de ácido nítrico; 1,0% V/V de etanol, 0,5% V/V de Triton X-100 en un volumen final de 100 ml con agua desionizada), se mezcló y se centrifugaron por 15 minutos a 3 000 g, luego se separó el sobrenadante y se colocó en un tubo de ensayo limpio hasta el momento de su análisis. Este tratamiento se hizo para

disminuir el efecto matriz, lograr el perfeccionamiento de la ionización de los elementos y reducir el fondo isobárico (Nixon y cols., 1999). Los resultados reportados por el equipo, fueron expresados en mg/l, los cuales se convirtieron a las unidades correspondientes a los valores de referencia para cada metal. Para verificar el funcionamiento del equipo se utilizó un patrón multielemental de la marca AccuStandard, llamado ICP Quality Control Estándar, el cual utiliza una concentración de Cd y Fe de 100 µg/ml. El valor de referencia del Cd en sangre es 5 µg/l y en orina es 5 µg/g de creatinina. La determinación de hierro total se realizó en sangre, es decir, el hierro contenido en eritrocitos y asociados a proteínas, por lo que no se encontraron valores de referencias bien establecidos.

Determinación sérica y urinaria de creatinina

La determinación de creatinina en suero y orina se realizó por el método de Jaffé, el cual, se fundamenta en que la creatinina presente en la muestra reacciona con el picrato alcalino (formado por la reacción entre el ácido pícrico y el hidróxido de sodio), formándose un tautómero de color rojo, siendo proporcional la intensidad del color a la concentración de creatinina presente en la muestra, contra un blanco reactivo para la muestra (Briceño, 1995). El procedimiento se basó en que a la muestra de orina al azar (primera orina de la mañana) se le realizó una dilución 1:10 (1 ml de orina + 9 ml de agua destilada), luego, se rotularon 4 tubos de ensayo como blanco, estándar, muestra de orina y muestra de suero. A cada uno se le colocaron 2 ml de picrato alcalino, para luego agregarle al blanco 100 µl de agua destilada, al estándar 100 µl del reactivo estándar, al de muestra de orina se le agregaron 100 µl de orina diluida y al de muestra de suero 100 µl de suero. Se mezclaron e incubaron a 37°C por 15 minutos en baño de María, para finalmente determinar su absorbancia en un espectrofotómetro, a 520 nm, contra un blanco reactivo. La concentración de creatinina se expresó en mg/dl. El valor de referencia para la creatinina sérica varía entre 0,50 y 1,50 mg/dl y para la creatinina urinaria de 30 a 150 mg/dl.

Determinación sérica de ferritina

Esta determinación se realizó mediante el método de radioinmunoensayo, el cual emplea cantidades constantes de dos anticuerpos, uno en fase sólida que estuvo covalentemente unido a partículas microscópicas de vidrio y un segundo anticuerpo de ferritina radioactiva (I^{125}) altamente purificada. Una cantidad variable de antígeno fue proporcionada por el paciente, de manera que el anticuerpo ferritina unido a partículas de vidrio se unió a la ferritina presente y formaron un complejo en fase sólida, luego, se añadió el anticuerpo ferritina yodado a la mezcla de reacción. El complejo en fase sólida se separó por centrifugación y se contó la radioactividad del I^{125} . El ensayo se cuantificó en función del anticuerpo ferritina radioactiva unido a una fase sólida de complejo anticuerpo- ferritina. El valor de referencia para la ferritina sérica: es de 20 a 300 ng/ml (Kaplan y Pesce, 1991).

Determinación sérica de grupos tioles

Para la determinación sérica de los grupos tioles, se aplicó el método de Ellman, el cual se fundamenta en la cuantificación de los tioles libres o asociados a proteínas, mediante la reacción del ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB), hasta formar el anión 2-nitro-5-benzoato. Para ello, se preparó una solución amortiguadora compuesta por Tris HCl-EDTA, de concentración 30 y 3 mmol/l, se ajustó el pH a 8,2. El reactivo de trabajo, DTNB, se preparó disolviendo 29,7 mg de DTNB en 25 ml de metanol (Ellman, 1959; Sedlak, 1968). A cada tubo de ensayo se le adicionó 40 μ l de suero sanguíneo, 150 μ l de la solución amortiguadora, 800 μ l de metanol y 50 μ l de DTNB, se mezcló y se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente. Trascurrido este tiempo, se centrifugaron las muestras a 3 000 rpm durante 5 minutos. Finalmente, se tomó el sobrenadante para la determinación de los grupos tioles, leyendo la absorbancia a 412 nm.

La concentración sérica de los grupos tioles se calculó por medio de una curva de calibración preparada con GSH como estándar. Para ello, se preparó una solución patrón de GSH 100 μ mol/l en agua destilada, a partir de la cual se prepararon patrones de 10, 20 y 40 μ mol/l. El análisis de cada muestra se realizó por duplicado. No hay

valores de referencias bien determinados, por lo tanto los valores de referencia se establecieron con el grupo control.

Análisis estadístico

Las diferencias en los parámetros (Cd, creatinina, ferritina, hierro total y tioles totales) con los diferentes grupos evaluados se cuantificaron mediante la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis la cual utiliza un nivel de significación de $p < 0,05$. Como representación gráfica se utilizó la caja y bigote.

Las concentraciones de Cd fueron relacionadas con los valores de creatinina, hierro y tioles totales, aplicando las correlaciones de Spearman. Estos coeficientes de correlación muestran el rango -1 y +1 y miden la fuerza de la asociación entre las variables también muestra el valor de p que pone a prueba la significación estadística de la estimación de correlaciones (Boyer y cols., 1997).

RESULTADOS

El análisis estadístico empleado para la comparación de los diferentes grupos estudiados, mostró diferencias significativas en los niveles de Cd ($p < 0,001$), donde se observó que el grupo de vegetarianos fue el grupo con mayor concentración (5-15 $\mu\text{g/l}$) y número de personas (14/25) con Cd; por su parte sólo 6 de 30 personas en el grupo de los consumidores habituales de productos del mar (C.D.P.M) presentaron Cd en sangre con concentraciones que van de 5-10 $\mu\text{g/l}$ y en los de dieta mixta sólo 1 de 30 personas mostró concentraciones de Cd (Figura 1).

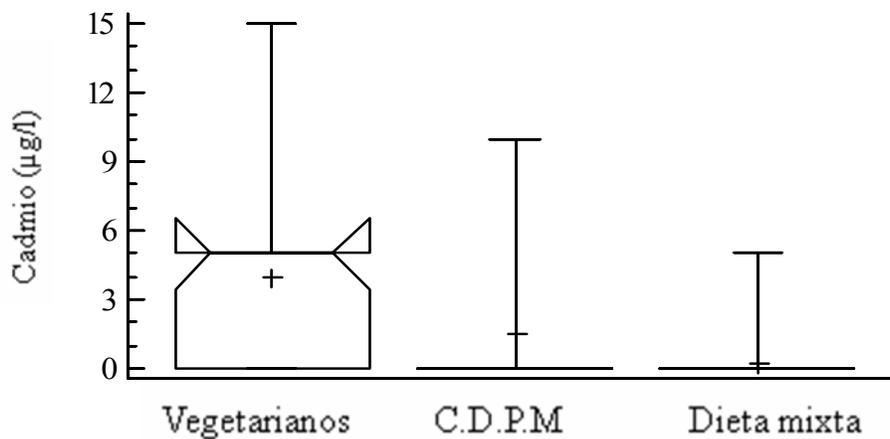


Figura 1. Niveles de cadmio en sangre en el grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y dieta mixta. C.D.P.M = Consumidores habituales de productos del mar.

El análisis estadístico reveló que los hombres fueron más vulnerables a concentrar Cd que las mujeres ($p < 0,02$), las cuales obtuvieron concentraciones 5-10 $\mu\text{g/l}$ de Cd, por su parte los hombres alcanzaron concentraciones hasta de 15 $\mu\text{g/l}$ (Figura 2).

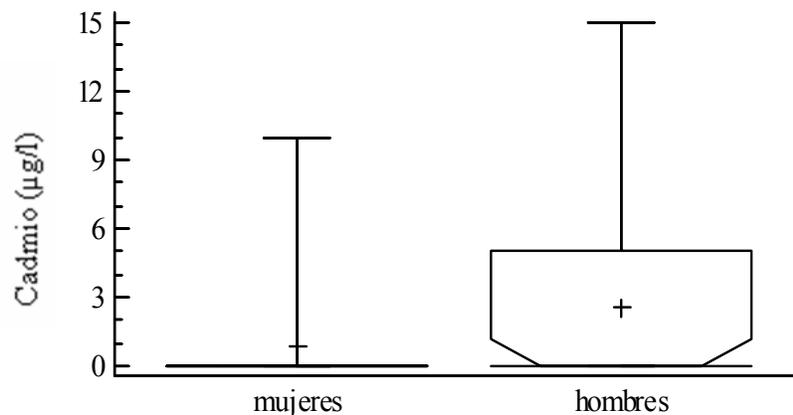


Figura 2. Niveles de cadmio en sangre por género.

Se encontraron correlaciones positivas ($r=0,53$) entre las edades de las mujeres del grupo de vegetarianos y la concentración de Cd, observándose que la mayoría de las mujeres con Cd en sangre poseen edades comprendidas entre 50 y 55 años (Figura 3); aunque, en los hombres no se observó esta relación ($r=0,07$), la acumulación de Cd se encontraba en individuos con edades entre 30-65 años.

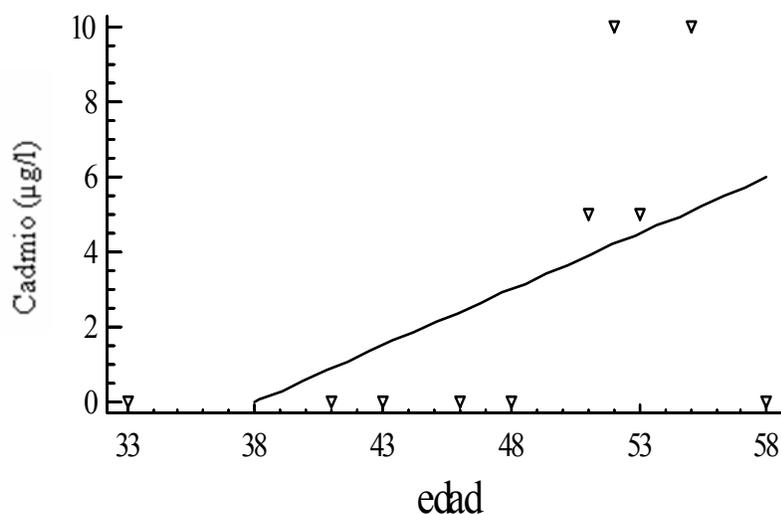


Figura 3. Relación entre los niveles de cadmio en sangre y la edad de las mujeres en el grupo de vegetarianos.

Tabla 1. Niveles séricos de creatinina, ferritina y hierro total en sangre en el grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y dieta mixta.

Parámetros	Vegetarianos	Consumidores habituales de productos del mar	Dieta mixta
Creatinina (mg/dl)	0,5-7,8	0,5-1,5	0,6-1,2
Ferritina (ng/ml)	5,8-268,0	10,8-473,0	10,8-322,0
Hierro total (mg/l)	206,0-296,0	160,0-250,0	130,0-241,0

Aunque las concentraciones de creatinina y el hierro total fueron más altos en los vegetarianos (0,5-7,8 mg/dl y 206,0-296,0 mg/l respectivamente) y las concentraciones de ferritina más alta en los consumidores habituales de productos del mar (10,8-473,0

ng/ml), el análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$); tampoco se encontró diferencia significativa al relacionar la creatinina y la ferritina con el Cd ($r < 0,50$).

Se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) al comparar las concentraciones de tioles totales con los grupos evaluados, observándose los valores más altos de tioles en los vegetarianos (8,4-57,4 $\mu\text{mol/l}$), y los más bajos en los consumidores habituales de productos del mar (10,9-27 $\mu\text{mol/l}$). Cuando se relacionaron las concentraciones de Cd y tioles en cada grupo por separado no se encontró relación estadísticamente significativa (Figura 4).

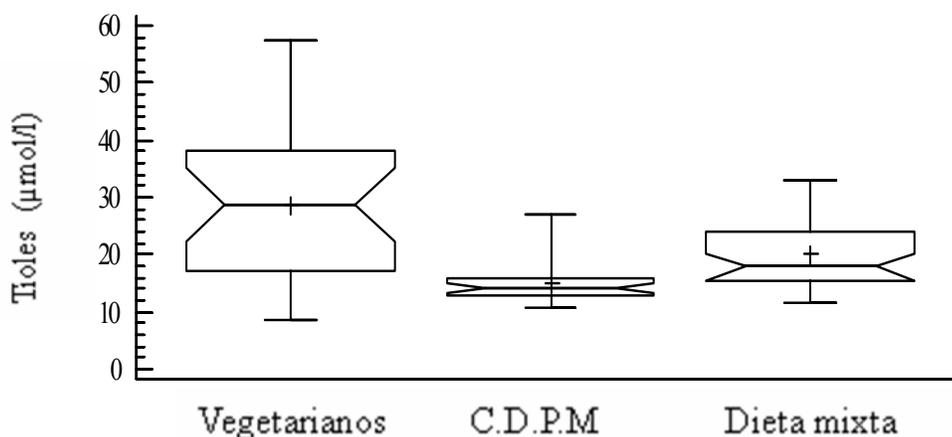


Figura 4. Niveles de tioles totales en el grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y de dieta mixta. C.D.P.M = Consumidores habituales de productos del mar

El análisis estadístico de correlación indicó que los niveles de hierro total fueron proporcionales a los niveles de Cd en los grupos estudiados; es decir, que a mayor concentración de Cd mayor concentración de hierro en las personas ($r = 0,65$) (Figura 5).

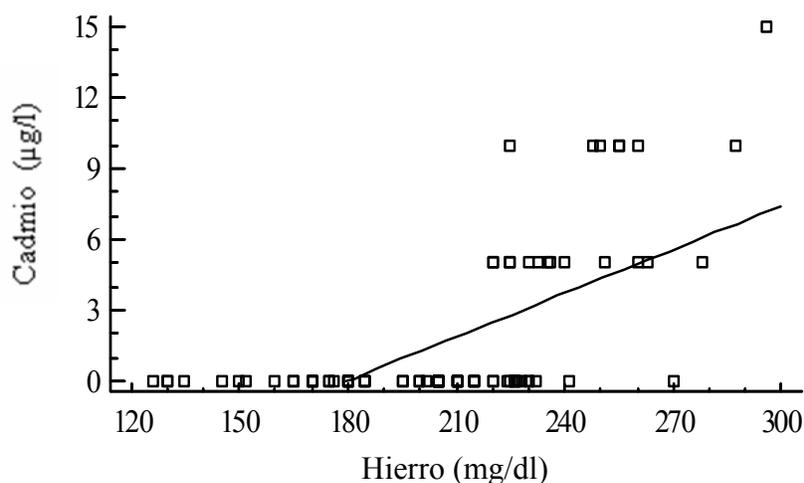


Figura 5. Relación entre los niveles de cadmio y hierro total en sangre del grupo de vegetarianos, consumidores de productos del mar y dieta mixta.

El análisis estadístico indicó que las mujeres presentaron menores concentraciones de hierro total en sangre (126-296 mg/dl) que los hombres (130-287 mg/dl) ($p < 0,042$) (Figura 6).

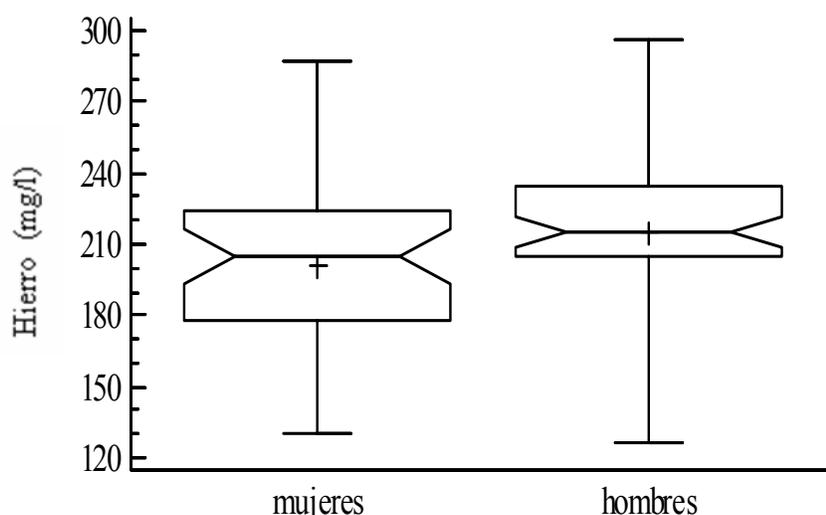


Figura 6. Relación de los niveles de hierro total en sangre con el género del grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y dieta mixta.

Tabla 2. Niveles urinarios de creatinina, hierro y Cd en el grupo de vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y dieta mixta.

Parámetros	Vegetarianos	Consumidores habituales de productos del mar	Dieta mixta
Creatinina (mg/dl)	27,8-361,0	15,8-351,0	28,0-293,0
Cadmio ($\mu\text{g/g}$ de creatinina)	ND	ND	ND
Hierro (mg/l)	0,8-2,9	0,3-3,1	0,3-3,3

ND = Concentraciones no detectadas

No se detectaron concentraciones de Cd en la orina de ninguno de los grupos estudiados. Las determinaciones de creatinina y el hierro en orina no presentaron diferencias

significativas ($p < 0,05$) al evaluarlos por grupo ni al relacionarlos con el Cd en sangre.

Al evaluar los niveles de Cd en sangre con los niveles de hierro en orina por grupo y sexo, se encontró correlación en el grupo de los hombres vegetarianos, los cuales obtuvieron un coeficiente de correlación de 0,64 (Figura 7).

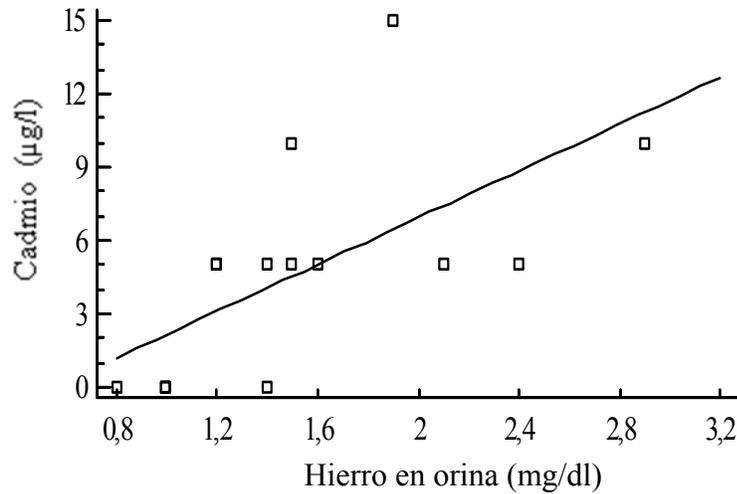


Figura 7. Relación entre los niveles de cadmio en sangre y hierro en orina de hombres pertenecientes al grupo de vegetarianos.

Se indicó una correlación positiva ($r = 0,66$) entre las concentraciones de hierro total y los tioles totales en hombres pertenecientes al grupo de vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar mayores de 50 años, las mujeres del grupo de vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar mayores de 50 no presentaron esta correlación ($r = 0,40$). Las mujeres tampoco presentaron correlación de la edad y la concentración de tioles totales con los niveles de hierro total (Figura 8).

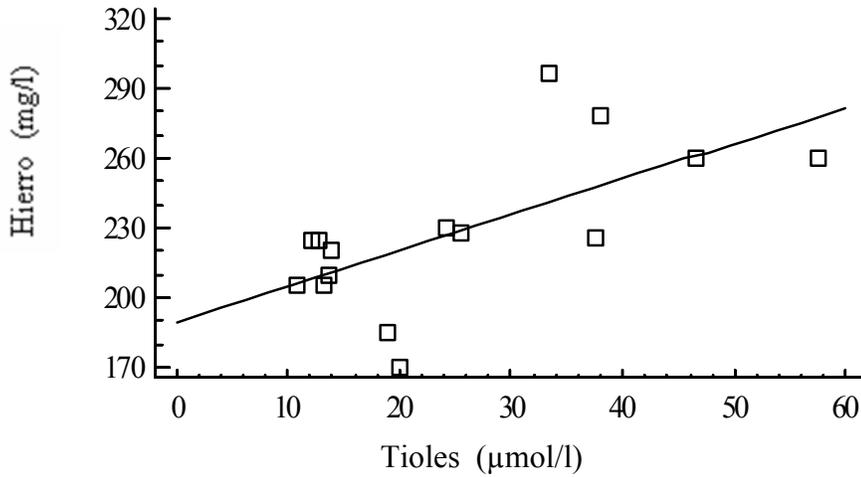
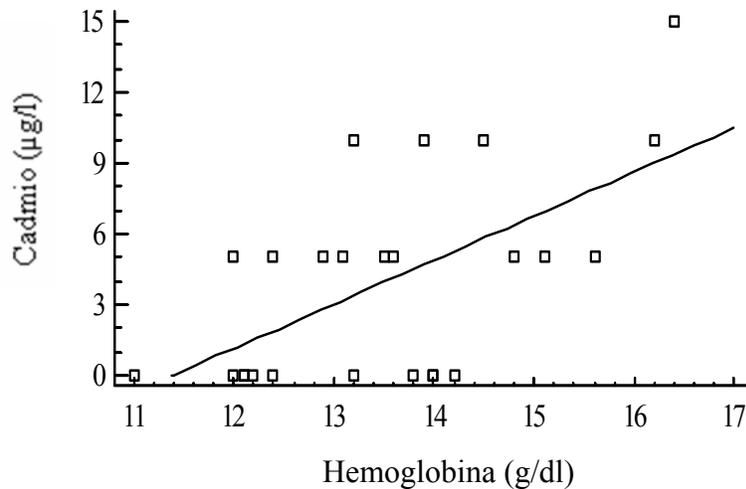


Figura 8. Relación entre los niveles de hierro total en sangre y tioles totales en hombres pertenecientes al grupo de vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar mayores de 50 años.

Tanto en el grupo de vegetarianos (figura 9a), como en los consumidores habituales de productos del mar (figura 9b) se correlacionaron los niveles de Cd en sangre con los de hemoglobina ($r = 0,60$ y $r = 0,50$ respectivamente), es decir, a mayor cantidad de Cd en sangre mayores son los niveles de hemoglobina.

a-



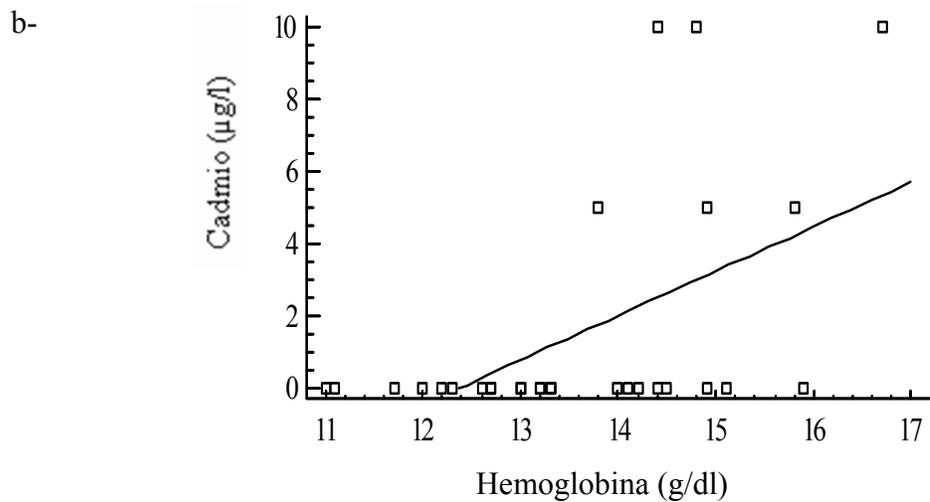


Figura 9. Relación de los niveles de cadmio en sangre con la hemoglobina en el grupo de vegetarianos (a) y consumidores habituales de productos del mar (b).

DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación indican que los integrantes de grupo de vegetarianos son más vulnerables a concentrar Cd en sangre (56,0%) que los del grupo de consumidores habituales de productos del mar (20,0%) y aquellos que ingieren una dieta mixta (3,3%), coincidiendo con Srikumar y cols. (1992), quienes encontraron altas concentraciones de Cd en vegetarianos y sugieren que esto se debe a que consumen grandes cantidades de granos enteros y cereales brotados. Se ha reportado que estos alimentos tienden a acumular Cd en las capas externas de los granos y en las semillas germinadas (Krajcovicoya y cols., 2006).

Los valores de Cd en sangre en el grupo de vegetarianos se encontraron relacionados con la edad en las mujeres; la bibliografía reporta que el contenido de Cd en sangre está directamente influenciado por la edad; sin embargo, se ha reportado una relación con el tiempo que tienen las personas ingiriendo una dieta vegetariana (Krajcovicoya y cols., 1999). Este último aspecto difiere de los resultados de esta investigación, donde no se encontró relación entre las concentraciones de Cd en sangre y el tiempo que tienen, tanto hombres como mujeres con la ingesta de dieta vegetariana.

En general, los hombres fueron más sensibles que las mujeres a acumular Cd en sangre. Probablemente, los hombres sienten menos saciedad que las mujeres, llevándolos a consumir diariamente mayor cantidad de alimentos de origen vegetal, lo cual contradice los trabajos de Berglund y cols. (2011) y Hwangbo y cols. (2011) quienes evaluaron el contenido de Cd en hombres y mujeres con edades entre 20-88 años y encontraron que las mujeres parecen estar en mayor riesgo de exposición a metales tóxicos (especialmente Cd) que los hombres y, al mismo tiempo, más vulnerables a la deficiencia de micronutrientes.

Los niveles de creatinina en suero y orina no estuvieron relacionados entre sí en ninguno de los grupos estudiados ni con los niveles de Cd en sangre (exposición a corto plazo); puede ser explicado quizás por el hecho de que los organismos no contienen suficientes concentraciones de Cd como para mostrar variaciones significativas en la creatinina. Cabe destacar que, el análisis de Cd en orina se realizó con una orina parcial

sabiendo que lo recomendado es una orina de 24 horas, tal vez por esta razón, no se detectó Cd en la orina (exposición a largo plazo) de los grupos estudiados; Weaver y cols. (2011) señalan que el Cd en orina se asocia con mayores niveles de creatinina y que la creatinina urinaria se asocia con la creatinina sérica.

Aunque las concentraciones séricas de ferritina no se asociaron significativamente con el Cd en sangre, se observó que el intervalo de los niveles séricos de ferritina en el grupo de vegetarianos fue menor que en el resto de los grupos, lo cual sugiere que existe una tendencia a disminuir la ferritina en aquellas personas con mayores niveles de Cd, probablemente, porque ocurre una reducción de las reservas de hierro del cuerpo asociado con más concentraciones de Cd; sólo que los niveles de ferritina no fueron suficientemente bajos o que el número de muestras procesadas no fueron suficientes como para mostrar una significancia estadística. La hipótesis planteada en relación a que el Cd influye en la reducción de los niveles de ferritina está sustentada por Lee y cols. (2011) los cuales, demostraron que el Cd en sangre fue significativamente mayor en el grupo de mujeres y hombres con valores bajos de ferritina en comparación con los del grupo dieta mixta, en este mismo sentido estos autores, encontraron una asociación entre la ferritina sérica y el Cd en sangre de los participantes no fumadores, aspecto que no fueron observados en la presente investigación.

En cuanto a los niveles de hierro total en sangre, se observó que, para los tres grupos evaluados, fueron más altos en los hombres que en las mujeres. Coincidiendo con Ball y cols. (1999), quienes concluyeron que la ingesta diaria de hierro en las mujeres tanto vegetarianas como omnívoras, se encontraban por debajo de las recomendadas, por lo que debían buscar dietas que les permitieran mejorar la absorción del hierro.

El intervalo de hierro total en sangre fue más alto en el grupo de vegetarianos, seguidos de los consumidores de productos del mar, y por último, los que ingieren una dieta mixta, así mismo en ese orden, se observaron también las mayores concentraciones de Cd. Chen y cols. (2008), en un estudio realizado con el pez Pseudosciaena crocea, observaron que después de la exposición a Cd los peces mostraban un aumento del número de eritrocitos y del hierro sérico, alcanzando los niveles más altos a las 24 horas,

para luego disminuir a los valores de referencia a las 72 horas. Quizás en humanos, también el Cd ejerce este efecto lo que explica los resultados aquí obtenidos.

Por otro lado, se podría resaltar que los alimentos de origen vegetal sólo presentan hierro orgánico el cual, se absorbe en menor grado que el hierro inorgánico (presente en la carne) debido a que se unen a fitatos, taninos y fosfatos además, las dietas vegetarianas proporcionan cantidades abundantes de vitamina C, que mejora la absorción de hierro (Haddad y cols., 1999). Los resultados encontrados en este estudio, sumado a la literatura sugieren que existen al menos dos factores que inciden sobre la concentración de hierro total en sangre, en primer lugar la elevada concentración de Cd y en segundo lugar la calidad de los vegetales consumidos; ambos factores ligados al tipo de alimentación.

Además, recientemente se ha demostrado la presencia de una hormona peptídica rica en cisteína llamada hepcidina, la cual es producida principalmente por el hígado, pero también, por el tejido adiposo (Means, 2012). Se ha reportado que, esta hormona tiene un efecto inhibitorio directo sobre la gran mayoría de las proteínas que transportan el hierro; la síntesis de esta hormona es estimulada por las reservas y los niveles plasmáticos de hierro. Por el contrario, la expresión de la hepcidina es inhibida por la actividad eritropoyética, para asegurar que las concentraciones de hierro plasmático extracelular y las reservas se mantengan estables, a la vez, que la demanda eritropoyética de hierro se encuentre cubierta (Toxqui y cols., 2010; Clark y cols., 2011). El Cd tiene afinidad por los grupos sulfhídricos (presentes en la cisteína) por lo que, puede unirse a esta hormona impidiéndole cumplir su función y de este modo, el hierro orgánico ayudado por la vitamina C, se absorbe en mayor proporción en aquellas personas con elevados niveles de Cd. Adicional a esto, el Cd compite con el hierro por el sitio de unión a la ferritina disminuyendo las reservas de hierro, quedándose este metal en sangre periférica tomando así, la vía para la síntesis de grupos hemos, este proceso puede explicar el aumento de los niveles de hemoglobina en las personas con mayores niveles de Cd (Clark y cols., 2012; Yanan y cols., 2012).

En cuanto al hierro urinario, se encontró que en los hombres del grupo de vegetarianos,

valores que se correlacionaron con las concentraciones de Cd en sangre, lo más probable es que esta relación se diera únicamente en este grupo de personas porque fueron los que arrojaron los mayores niveles de Cd en sangre.

El grupo de vegetarianos, además de poseer las mayores concentraciones de Cd y hierro total en sangre, también presentaron los niveles más altos de tioles totales, demostrando que las personas vulnerables a concentrar Cd tienen una producción aumentada de moléculas ricas en estos grupos. Siendo las más importantes el glutatión (GSH) y las metalotioninas (MT); la primera, es el principal antioxidante intracelular y de conjugación con agentes tóxicos; un solo átomo de Cd se puede unir hasta con dos tripéptidos de GSH, este conjugado metal-GSH es deseable ya que da lugar a la excreción del metal tóxico por la bilis (Roesijadi, 1994).

Una segunda respuesta adaptativa y protectora a la exposición a metales tóxicos es la inducción de la síntesis de metalotionina. Las metalotioninas son un grupo de proteínas de baja masa molar, cuya función es mantener la homeostasis de metales esenciales tales como, el cobre (Cu) y el zinc (Zn), también de metales tóxicos como Cd, plomo (Pb), mercurio (Hg); son ricas en cisteína (~ 30,0%) y tiene alta afinidad por el Cd, el cual se une a la metalotioneína, y de esta forma se restringe la entrada del metal a la mitocondrias. Los efectos pro-oxidativos que ejercen los metales en el organismo, se agrava por el hecho de que los metales inhiben las enzimas antioxidantes y agotan el glutatión intracelular, también, tienen el potencial de alterar el metabolismo de las actividades biológicas de muchas proteínas debido a su alta afinidad por grupos sulfhídricos libres (Roesijadi, 1994; Quig, 1998).

Los resultados de este estudio demostraron que el grupo de consumidores habituales de productos del mar tuvieron menos concentraciones de tioles totales que los vegetarianos y dieta mixta, sugiriendo que estas personas, quizás por la ingesta de alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados como el omega 3 y 6, los cuales son esenciales para funciones básicas del organismo, pueden ejercer un efecto protector de membranas celulares disminuyendo así el efecto que los radicales libres ejercen sobre estas; por consiguiente se disminuye indirectamente la producción de tioles totales. La Asociación

Americana del Corazón ha recomendado recientemente, el uso de suplementos de pescado y/o pescado para todos los pacientes con o sin enfermedad cardiovascular (Silverberg y Schwartz, 2012).

Otros aspectos relevantes en esta investigación, se relacionan con los niveles de hierro total y tioles totales, donde se detectó que los hombres del grupo de vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar mayores de 50 años, concentran el hierro y aumentan los niveles de tioles totales. Estos hallazgos, sugieren que el Fe el cual es un metal activo redox, induce a la producción de estrés oxidativo, mediante la formación de O_2 a partir de la reducción del oxígeno y de $\cdot OH$ a partir del peróxido de hidrogeno, al aumentar el estrés oxidativo aumenta la síntesis de grupos tioles por parte del organismo.

CONCLUSIONES

De los tres grupos estudiados, los vegetarianos presentaron 56% de cadmio en sangre, 20% los consumidores habituales de productos del mar y 3,3% el grupo de dieta mixta

No se hallaron concentraciones de cadmio en la orina de ninguno de los grupos estudiados.

Las mayores concentraciones de hierro total se observaron en el grupo de vegetarianos.

La concentración de creatinina en suero y orina no se relacionaron con los niveles de cadmio en sangre.

El menor rango de ferritina sérica se observó en el grupo de vegetarianos.

Las mayores concentraciones de tioles totales se observaron en el grupo de vegetarianos, y las menores concentraciones en los consumidores habituales de productos del mar.

RECOMENDACIONES

Hacer una encuesta validada de alimentación que permita dilucidar el metabolismo del hierro en estas personas.

Hacer una encuesta que permita saber el tipo de productos del mar que están consumiendo.

Aumentar el número de muestras de vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar.

BIBLIOGRAFÍA

Amzal, B.; Julin, B.; Vahter, M.; Wolk, A.; Johanson, G. y Akesso, A. 2009. Development of alternative models, toxicokinetic, bayesian inference cadmium, variability of the population, evaluation of risks, toxicokinetic, urinary cadmium models. Environmental Health Perspectives, 117:1293-1301.

Ball, M. y Bartlett, M. 1999. Dietary intake and iron status of Australian vegetarian women. American Journal of Clinical Nutrition, 70(3):353-358.

Bauer, J. 1986. Análisis clínicos: Métodos e interpretación. Novena Edición. Editorial Reverté, España.

Bergiund, M.; Akesson, A.; Nermell, B. y Vahter, M. 1994. Intestinal absorption of dietary cadmium in women depends on body iron stores and fiber intake. Environmental Health Perspectives, 102:1058-1066.

Berglund, M.; Lindberg, A.; Rahman, M.; Yunus, M.; Grandér, M.; Lönnerdal, B. y Vahter, M. 2011. Gender and age differences in mixed metal exposure and urinary excretion. Environmental Medicine, 111(8):1271-1279.

Boyer, J.; Fourqurean, J. y Jones, R. 1997. Spatial characterization of water quality in florida bay and whitewater y multivariate analyses: Zones of similar influence. Southeast Environmental Research Program and Department of Biological Sciences, 20(4):743-758.

Briceño, A. 1995. Manual práctico de laboratorio clínico de rutina. Editorial Coacusa. Caracas-Venezuela.

Charles, J.; Everett, I. y Frithsen, L. 2007. Association of urinary cadmium and myocardial infarction. Experimental Eye Research, 10:284-286.

Chen, J.; Shi, Y. y Li, M. 2008. Changes in transferrin and hepcidin genes expression in the liver of the fish Pseudosciaena crocea following exposure to cadmium. Archives of Toxicology, 82(8):525-300.

Clark, R.; Tan, C.; Preza, G.; Nemeth, E.; Ganz, T. y Craik, D. 2011. Understanding the structure/activity relationships of the iron regulatory peptide hepcidin. Chemistry and Biology, 18(3):336-343

Du, F.; Qian, Z.; Gong, Q.; Zhu, Z.; Lu, L. y Ke, Y. 2012. The iron regulatory hormone hepcidin inhibits expression of iron release as well as iron uptake proteins in J774 cells. The Journal of Nutritional Biochemistry. En prensa

Ellman, G. 1959. Cuantitative determination of peptides by sulfhydryl (-SH) groups. Archives Biochemistry and Biophysics, 82:70-72.

Fang, S. y Fallin, E. 1976. The binding of various mercurial compounds to serum proteins. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 15(1):110-117.

Fujimaki, S.; Suzui, N.; Ishioka, S.; Kawaci, N.; Ito, S.; Chino, M. y Nakamura, S. 2010. Tracing cadmium from culture to spikelet: noninvasive imaging and quantitative characterization of absorption, transport, and accumulation of cadmium in an intact rice plant. Plant Physiology, 152(4):1796-1806

Godt, J.; Scheidig, F.; Grosse-Siestrup, C.; Esche, V.; Brandenburg, P.; Reich, A. y Groneberg, D. 2006. La toxicidad del cadmio y los riesgos resultantes para la salud humana. Journal of Occupational Medicine and Toxicology, 1:22-23.

Haddad, E.; Berk, L.; Kettering, J.; Hubbard, R. y Peters, W. 1999. Dietary intake and biochemical, hematologic, and immune status of vegans compared with non-vegetarians. The American Journal of Clinical Nutrition, 70(3):586-593.

Hirota, Y.; Hiroyuki, F.; Arao, T.; Ohyama, A.; Nunome, T.; Miyatake, K. y Negoro, S. 2010. Gene expression analysis in cadmium-stressed roots of a low cadmium-accumulating solanaceous plant, *Solanum torvum*. Journal of Experimental Botany, 61(2): 423-437.

Horiguchi, H. 2007. Induced anaemia by cadmium poisoning. Nippon Zasshi Eiseigaku, 62(3):888-904.

Hwangbo, Y.; Weaver, V.; Tellez-Plaza, V.; Guallar, E.; Lee, B.; y Navas-Acien, A. 2011. Blood cadmium and estimated glomerular filtration rate in Korean adults. Environmental Health Perspectives, 119(12):1800-1805.

Julin, B.; Vahter, M.; Amzal, B.; Wolk, A.; Berglund, M. y Åkesson, A. 2011. Relation between dietary cadmium intake and biomarkers of cadmium exposure. Environmental Health Perspectives, 10:105.

Kaplan, L. y Pesce, A. 1991. Química Clínica. Primera Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Katedra, Z.; Wydział, L.; Lekarski, W.; Uniwersytet, M.; Warszawski, U. y S. Banacha 1, 02-097 Warszawa. Banacha, S. 2010. Cadmium element completely unnecessary for the organism. Postepy Higieny, 64:38-49.

Kim, D.; Kim, K.; Choi, B.; Youn, P.; Ryu, D.; Klaassen, C. y Park, J. 2006. Regulation of metal transporters by dietary iron, and the relationship between body iron levels and cadmium uptake. Archives of Toxicology, 81(5):327-340.

Krajcovicoya, M.; Ursinyova, M.; Hladicova, V.; Simoncic, R.; Bederova, A.; Magalova, A. y Grancicova, E. 1999. Cadmium blood levels in vegetarians. Hygiene, 44(1):30-35.

Krajcovicoya, M.; Ursinyova, M.; Masanova, V.; Bederova, A. y Valachovicova, M. 2006. Cadmium blood concentrations in relation to nutrition. Central European Journal of Public Health, 14(3):126-129.

Lee, B. y Kim, Y. 2011. Iron deficiency is associated with increased levels of blood cadmium in the Korean general population: Analysis of 2008–2009 Korean national health and nutrition examination survey data. Environmental Medicine, 10:336-745.

Macara, G.; Terence, G. y Pauline, M. 1973. The formation of ferritin from apoferritin. Department of Biochemistry, 135:785-789.

Means, R. 2012. Hepcidin and Iron Regulation in Health and Disease. American Journal Sciences. En prensa

Murashima, M.; Kikuchi, Y.; Kumagai, T.; Ōmae, K. y Watanabe, S. 2004. Intake and excretion of cadmium and iron balance and the influence of eating habits among young women. Nippon Eiseigaku Zasshi, 59(1):31-7.

Nawrton, T.; Staessen, J.; Roels, H.; Munters, E.; Cuypers, A.; Richart, T. y Ruttens, A. 2010. Cadmium exposure in the population from health risks to strategies of prevention. Biochemistry Metals, 23(5):769-782.

Ninxon, D.; Moyer, T. y Burrit, M. 1999. The determination of selenium in serum and urine by inductively coupled plasma mass spectrometry. Spectrochimica Acta, 54:931-942.

Noonan, C.; Sarasua, S.; Campagna, D.; Kathman, S.; Lybarger, J. y Mueller, P. 2002. Effects of exposure to low levels of environmental cadmium on renal biomarkers. Environmental Health Perspectives, 110(2):151–155.

Oficina Panamericana de la Salud: Bioética. Boletín de la Oficina Panamericana de la Salud. 1990.

Peralta, J.; López, M.; Narayan, M.; Saupe, G. y Gardea, J. 2009. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 41(8-9):1665-1677.

Quig, D. 1998. Cysteine metabolism and metal toxicity. Alternative Medicine Review, 3(4):262-270.

Robin, P. y Itzhak, N. 2009. Creatine synthesis: hepatic metabolism of guanidinoacetate

and creatine in the rat in vitro and in vivo. American Journal Physiology Endocrinology Metabolism, 296(2):256–261.

Roels, H.; Lauwerys, R.; Bernard, A.; Buchet, P.; Vos, A. y Oversteyns, M. 1991. Assessment of the filtration reserve capacity of the kidney in workers exposed to cadmium. British Journal of Industrial Medicine, 48:365-374.

Roesijadi, G. 1994. Metallothionein induction as a measure of response to metal exposure in aquatic animals. Environmental Health Perspectives, 12:91-95.

Salazar-Lugo, R. 2009. Estado de conocimiento de las concentraciones de cadmio, mercurio y plomo en organismos acuáticos de Venezuela. Revista Electrónica de Veterinaria, 11(10):1-15.

Satarug, S.; Garrett, S.; Sens, M. y Sens, D. 2010. Cadmium, environmental exposure and health outcomes. Environmental Health Perspectives, 118(2):182–190.

Sedlak, L. 1968. Determination of total sulfhydryl groups in biological samples using DTNB. Analytical Biochemistry, 25:192-205.

Shimpei, U.; Shinsuke, M.; Masato, K.; Akira, K.; Tomohito, A. y Satoru, I. 2009. Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. Journal of Experimental Botany, 60(9): 2677–2688.

Shimpei, U.; Takehiro, K.; Takuya, S.; Koji, K.; Yutaka, S.; Yoshiaki, N.; Akiko, Y.; Junko, K.; Satoru, I. y Tor, F. 2011. Low-affinity cation transporter (OsLCT1) regulates cadmium transport into rice grains. Biotechnology Research Center, 8113-8657.

Silverberg, D. y Schwartz, D. 2012. The role of iron, omega-3 fatty acids, and vitamins in heart failure. Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine. En prensa.

Skoog, D. y Leary, J. 1994. Análisis instrumental. Cuarta edición. McGraw–Hill Interamericana, México.

Sokal, R. y Rohlf, F. 1979. Introducción a la Bioestadística. Editorial Reverté. A. Barcelona.

Srikumar, T.; Ockerman, P. y Akesson, B. 1992. Trace element status in vegetarians from southern India. Nutrition Research, 12(2):187-198.

Takayuki, K.; Kumiko, S.; Naoki, H. y Ken, I. 2009. Evidence for separate translocation pathways in determining cadmium accumulation in grain and aerial plant parts in rice. BMC Plant Biology, 9:8.

Tapia, A. 2005. Estrés oxidativo y depresión. ¿Un posible rol etiológico? Oxidative stress and depression. A possible etiologic role?. Revista Chilena de Neuro-Psiquiatría, 43(4):329-336.

Toxqui, L.; De Piero, A.; Courtois, V.; Bastida, S.; Sánchez, F. y Vaquero, M. 2010. Iron deficiency and overload. Implications in oxidative stress and cardiovascular health.

Nutrición Hospitalaria, 25(3):432-439.

Videan, E.; Heward, C.; Chowdhury, K.; Plummer, J.; Su, Y. y Cutler, R. 2009. Comparison of biomarkers of oxidative stress and cardiovascular disease in humans and chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Comparative medicine*, 59(3):287-296.

Villatoro, M.; Font, R.; De Haro, I.; Romero, M.; Anter, J.; De Haro, A.; Alonso, A. y Del Río, M. 2009. Modulation of genotoxicity and cytotoxicity by radish grown in metal-contaminated soils. *Mutagenesis*, 24(1):51-57.

Weaver, V.; Kim, N.; Lee, B.; Parsons, P.; Spector, J.; Fadrowski, J.; Jaar, B.; Steuerwald, A.; Todd, A.; Simon, D. y Schwartz, B. 2011. Differences in urine cadmium associations with kidney outcomes based on serum creatinine and cystatin C. *Environmental Health Research*, 111(8):123-142.

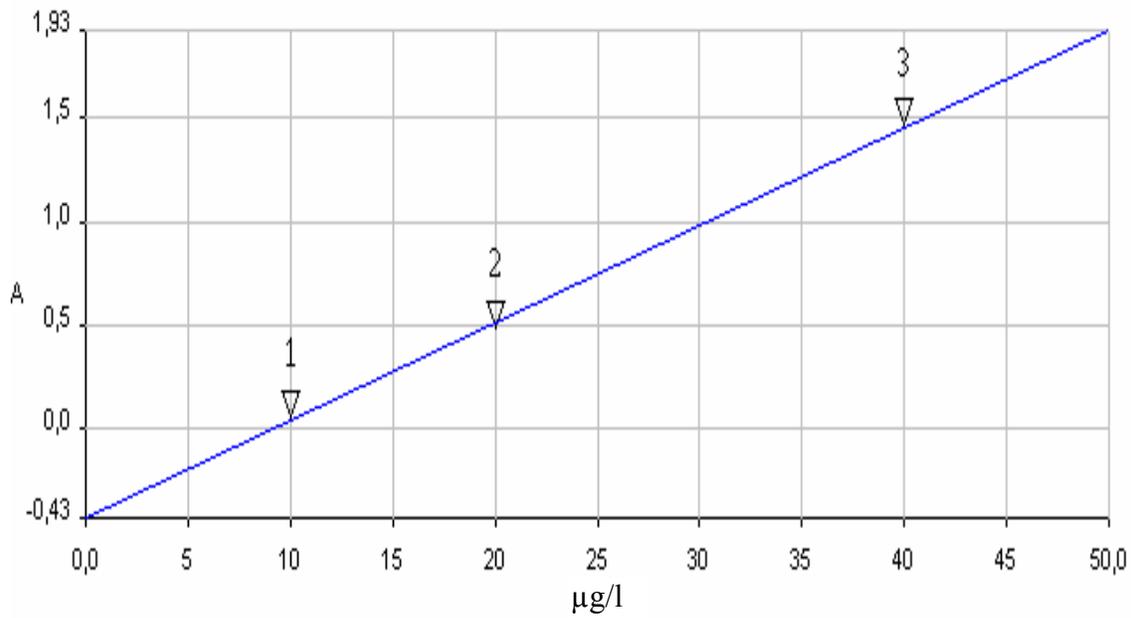
Wieloch, M.; Kamiński, P.; Ossowska, A.; Koim-Puchowska, B.; Stuczyński, T.; Kuligowska-Prusińska, M.; Dymek, G.; Mańkowska, A. y Odrowąż-Sypniewska, G. 2012. Do toxic heavy metals affect antioxidant defense mechanisms in humans. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78:178-195.

Wills, L.; Kalariya, N.; Sadagopa, V.; Lewis, R. y Haji, S. 2009. Human retinal cadmium accumulation as a factor in the etiology of age-related macular degeneration. *Experimental Eye Research*, 79-87.

Yanan, W.; Xudong, L.; Liman, M.; Yan, Y.; Haiyang, Y.; Shafi, M.; Guannan, C.; Linlin, M. y Quanqi, Z. 2012. Identification and characterization of a hepcidin from half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. En prensa.

Yu, Y.; Yu, H.; Mohammed, S.; Chu, G.; Mu, L. y Zhang, Q. 2012. Identification and characterization of a hepcidin from half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *The Journal of Nutrition Biochemistry*. En prensa.

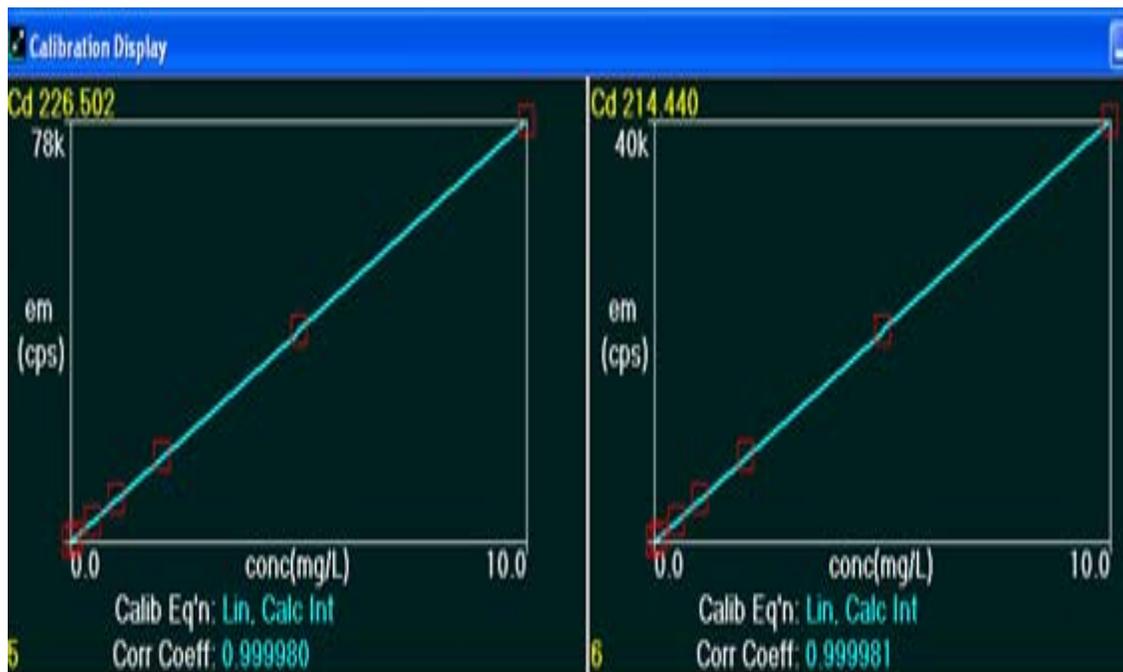
APÉNDICES



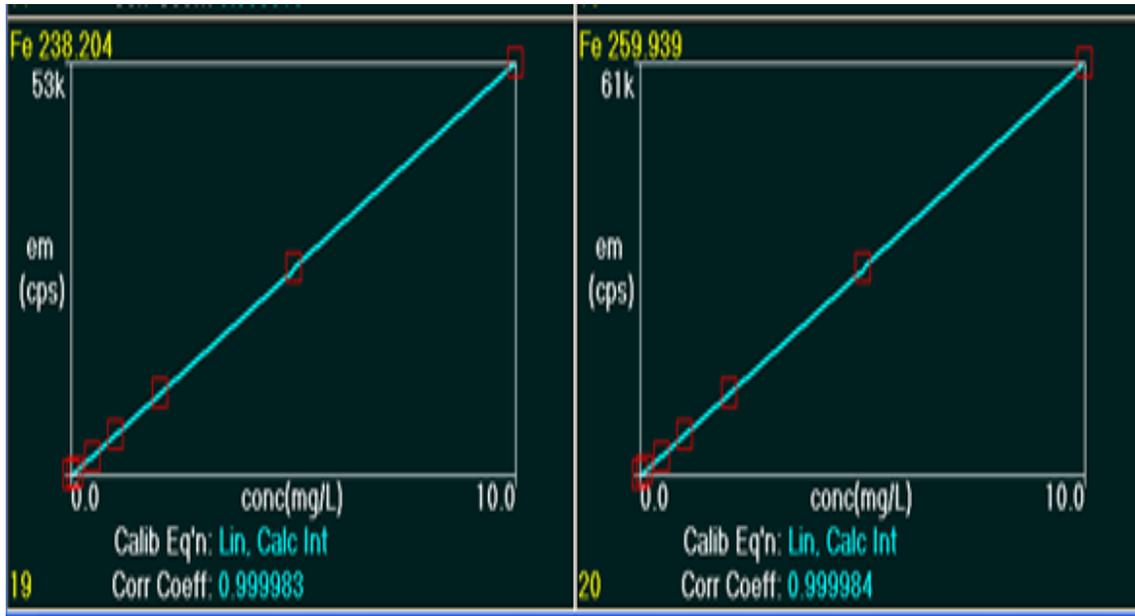
[oncl](#)

$$y = -4.328800e-01 + 4.719529e-02 * x$$

Apéndice A- Curva de calibración para tiores totales.



Apéndice B- Curva de calibración para el cadmio.



Apéndice C- Curva de calibración para el hierro

ANEXOS

ANEXO 1

Encuesta realizada a los vegetarianos

Proyecto de Grado: Estatus de las concentraciones de cadmio, hierro, ferritina, creatinina y tioles totales en vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y un grupo control.

Nombre: _____

Edad _____

Sexo _____

Residencia _____

Nivel de Instrucción

Vegetariano

Si

No

Menopausia

Si

No

¿Consume alcohol?

Si

No

¿Cuántas veces por semana?

Actividad física

Si

No

¿Cuál?

Diabetes

Si

No

Hipertenso

Si

No

¿Toma Antihipertensivos? Si No

Tiempo

¿Cuál?

Problemas renales

Si

No

¿Cuáles?

Fuma

Si

No

ANEXO 2

Encuesta realizada a los consumidores habituales de productos del mar.

Proyecto de Grado: Estatus de las concentraciones de cadmio, hierro, ferritina, creatinina y tioles totales en vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y un grupo control.

Nombre: _____

Edad _____ Sexo _____

Residencia _____

Nivel de instrucción

¿Cuántas veces a la semana consume productos del mar?

Menopausia Si No

¿Consume alcohol? Si No ¿Cuántas veces por semana?

Actividad física Si No ¿Cuál?

Diabetes Si No

Hipertenso Si No ¿Toma Antihipertensivo? Si No | Tiempo

¿Cuál?

Problemas renales Si No ¿Cuáles?

Fuma Si No

ANEXO 3

Consentimiento valido

Bajo la coordinación de la Dra. Raquel Salazar, profesora de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, se está realizando el proyecto de investigación intitulado ESTATUS DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO, FERRITINA, CREATININA Y TIOLES TOTALES EN VEGETARIANOS, CONSUMIDORES HABITUALES DE PRODUCTOS DEL MAR Y UN GRUPO CONTROL.

Yo: _____

C.I.: _____

Nacionalidad: _____

Estado civil: _____

Domiciliado en: _____

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades y sin que medie coacción ni violencia alguna en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio médico declaro mediante la presente:

1.- Haber sido informado (a) de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigación de este proyecto de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación.

2.- Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es: ESTATUS DE LAS CONCENTRACIONES DE CADMIO, HIERRO, FERRITINA, CREATININA Y TIOLES TOTALES EN VEGETARIANOS, CONSUMIDORES HABITUALES DE PRODUCTOS DEL MAR.

3.- Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: donar de manera voluntaria una muestra de sangre y una de orina.

4.- Que la muestra que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para los estudios antes mencionados.

5.- Que el equipo de personas que realizan esta investigación coordinada por la Dra. Raquel Salazar me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.

6.- Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.

7.- Que mi participación en dicho estudio no implica riesgos e inconveniente alguno para mi salud o la de mi representado.

8.- Que cualquier pregunta que tenga en relación a este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo antes mencionado, con quienes me puedo comunicar por los teléfonos: (0414) 7890206 con la Br. Zamara Yépez.

9.- Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que pueda producirse en el referido proyecto de investigación.

HOJA DE METADATOS

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 1/6

Título	Estatus De Las Concentraciones De Cadmio, Hierro, Ferritina, Creatinina Y Tioles Totales En Vegetarianos, Consumidores Habituales De Productos Del Mar Y Un Grupo Control
---------------	---

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
YÉPEZ MORANTE ZAMARA ALEJANDRA	CVLAC	18 099 204
	e-mail	thelimpbazz@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Cadmio, hierro, vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar, tioles totales, creatinina, ferritina

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Este estudio tuvo como objetivo evaluar las concentraciones de cadmio (Cd), hierro total, creatinina, ferritina y tioles totales en 85 personas de ambos sexos, con edades entre 30 y 75 años, la población en estudio se dividió en tres grupos, el primer grupo estaba formado por 25 personas vegetarianas (aquellas que no consumen carnes en su dieta diaria), el segundo grupo, estaba integrado por 30 sujetos consumidores habituales de productos del mar (consumen 3 veces o más a la semana estos productos) y el tercer grupo lo conformaron 30 personas que ingieren una dieta mixta (grupo control). En este trabajo se excluyeron a los fumadores. Los resultados de esta investigación indican que el grupo de vegetarianos son más vulnerables a concentrar Cd (5-15 $\mu\text{g/l}$) que los consumidores habituales de productos del mar (5-10 $\mu\text{g/l}$) y que los que ingieren una dieta mixta (0-5 $\mu\text{g/l}$), los hombres fueron más sensibles que las mujeres a acumular Cd en sangre, obteniendo concentraciones de 5-15 $\mu\text{g/l}$ y 5-10 $\mu\text{g/l}$, respectivamente. Por su parte, los niveles de hierro total en sangre fueron más alto en los vegetarianos (206-296 mg/dl), seguidos de los consumidores habituales de productos del mar (160-250 mg/dl) y los que ingieren una dieta mixta (130-241 mg/dl), también se halló que los vegetarianos fueron el grupo con mayores niveles de tioles totales (11-57 $\mu\text{mol/l}$) mientras que los consumidores habituales de productos del mar tuvieron las menores concentraciones de tioles totales (11-27 $\mu\text{mol/l}$), sugiriendo que quizás, el consumo de alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados pueden ejercer un efecto protector de membranas celulares, disminuyendo el efecto de los radicales libres; por último, se detectó que los hombres (mayores de 50 años) vegetarianos y consumidores habituales de productos del mar, concentran el hierro y aumentan los niveles de tioles totales.

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
SALAZAR LUGO, RAQUEL	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	colocar Nro de cedula del Asesor 5 855 836
	e-mail	colocar e-mail del Asesor
	e-mail	rsalazarlugo50@gmail.com
LEMUS, MAIRIN	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	colocar Nro de cedula del Jurado 6 429 405
	e-mail	colocar e-mail del Jurado
	e-mail	mlemus88@gmail.com
MARCANO, LEIDA	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	colocar Nro de cedula del Jurado 8 219 437
	e-mail	colocar e-mail del Jurado
	e-mail	leimar0501@gmail.com

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

12	11	30
----	----	----

Lenguaje: SPA

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-YepeZ.doc	Application/word

Alcance:

Espacial: Internacional

Temporal: Temporal

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado (a) en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado (a)

Área de Estudio:

Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *[Firma]*
FECHA 5/8/09 HORA 5:30

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

[Firma]
JUAN A. BOLANOS CUNPEL
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

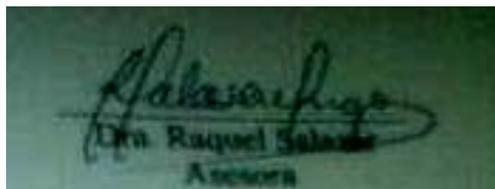
JABC/YGC/manuja

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



Autor 1



Dra. Raquel Salazar
Ascorta