

ESTADO DEL SE, CU Y ZN
Y SU RELACION CON EL PERFIL LIPIDICO
SÉRICO EN SUJETOS PORTUGUESES
DE LISBOA Y EL ARCHIPIÉLAGO
DE LAS AZORES

P. A. LOPES*, L. VICENTE*, V. O. RODRIGUES**, V. C. SANTOS***,
P. NAPOLEÃO*, V. L. PAVÃO****, J. NÈVE*****,
A. V. VIEGAS-CRESPO*

INTRODUCCIÓN

El selenio (Se), el cobre (Cu) y el cinc (Zn) son oligoelementos esenciales para los mamíferos con funciones biológicas bien demostradas en los seres humanos (Nève y Palmieri, 2000; Viegas-Crespo y cols., 2000). Aparte de otras funciones metabólicas relevantes, desempeñan papeles importantes en la regulación del equilibrio redox celular y ex-

* Centro de Biología Ambiental y Departamento de Biología Animal, Faculdade de Ciências, Universidad de Lisboa (Portugal).

** Centro de Biopatología, Química Clínica, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Lisboa (Portugal).

*** Centro de Estudios de Bioquímica y Fisiología y Departamento Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidad de Lisboa (Portugal).

**** CIRN, Universidade dos Açores. Ponta Delgada (Portugal).

***** Instituto de Farmacia, Universidad Libre de Bruselas. Bruselas (Bélgica).

tracelular actuando junto con las defensas antioxidantes (Yu, 1994). Varios estudios epidemiológicos han demostrado que las concentraciones de oligoelementos esenciales dependen de factores como la edad, el sexo y las situaciones fisiológicas y patológicas (Versieck y Cornelis, 1989). Además, la localización geográfica también parece ser un factor importante en la determinación de las concentraciones sanguíneas de oligoelementos, ya que puede relacionarse con las influencias de características geoquímicas, el aporte de alimentos y agua, las condiciones sociales y ambientales, el estilo de vida y otros factores (Robberecht y Deelstra, 1994; Viegas-Crespo y cols., 2000; Pavão y cols., en prensa). Varios estudios clínicos prospectivos han indicado que existe una relación entre las concentraciones de estos elementos y el perfil lipídico sérico (Salonen y cols., 1991; Crespo y cols., 1994; Pavão y cols., en prensa). Asimismo, se cree que la deficiencia de estos oligoelementos puede relacionarse con la aparición de enfermedades degenerativas asociadas a aterosclerosis y lesión vascular (Nève, 1996; Mahalingam y cols., 1997).

Este estudio forma parte de un proyecto dirigido a analizar el equilibrio oxidante/antioxidante en varias poblaciones portuguesas con diferentes perfiles socioculturales y hábitos alimentarios. En el presente trabajo se describe el estado de los oligoelementos (concentraciones séricas de Se, Cu y Zn) en los habitantes de seis comunidades de zonas urbanas, rurales y pescadoras localizadas en el continente (población de Lisboa) y en el Archipiélago de las Azores —isla de S. Miguel. Se comentan las diferencias en estos estados de oligoelementos entre las poblaciones y también se analiza su relación con el sexo, la edad y el perfil lipídico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos

Los grupos estudiados constaron de 648 portugueses voluntarios (215 mujeres y 433 varones) de las siguientes localidades: Lisboa (población urbana: 136 mujeres y 47 varones), Ponta Delgada (región urbana: 70 mujeres y 64 varones), Rabo de Peixe (comunidad rural: 44 mujeres y 28 varones), Água Retorta (región rural: 71 mujeres y 28 varones), Rabo de Peixe (comunidad pescadora: 49 mujeres y 26 varones) y Ribeira Quente (región pescadora: 63 mujeres y 26 varones) con edades comprendidas entre 20 y 60 años.

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada donante antes de extraer la sangre. Todos los sujetos se evaluaron para determinar su admisibilidad, lo que conllevó la realización de un informe clínico en el que aparecía toda la información pertinente para el estudio. Se obtuvo información sobre el consumo de medicación (anticonceptivos orales, tratamiento hormonal sustitutivo y otros), el hábito tabáquico y el estado clínico general. El grupo de estudio comenzó siendo mucho mayor, pero, dado que el objetivo principal de este proyecto era determinar los valores de referencia en una población de referencia sana, se consideró que enfermedades como la diabetes, la infección por el VIH u otros trastornos crónicos no debían incluirse.

Obtención de la sangre

Se obtuvieron muestras de sangre periférica humana mediante venopunción empleando jeringas heparinizadas y se colocaron en tubos de polipropileno. La venopunción tuvo lugar por la mañana en condiciones de ayunas durante 12 horas. El suero se extrajo después de una centrifugación a 1.500 g durante diez minutos a 4 °C y se separaron partes

alícuotas para la separación lipoproteica, el análisis de lípidos y el análisis de oligoelementos.

Determinación de Se, Cu y Zn séricos

El Se sérico se determinó mediante espectrometría de absorción atómica electrotérmica directa con corrección de fondo de Zeeman (Nève y cols., 1987).

El Cu y el Zn séricos se determinaron con un método de espectrometría de absorción atómica de llama (Nève y cols., 1983).

La precisión de los métodos se comprobó con materiales de referencia convencionales (suero humano liofilizado, Seronorm de Nycomed) y la participación en análisis de comparación interlaboratorios.

Separación de HDL y determinación de colesterol y triglicéridos

La separación de las lipoproteínas HDL se obtuvo añadiendo polietilenglicol a las muestras frescas para precipitar otras lipoproteínas (Ballantyne y cols., 1982). El colesterol total sérico, el colesterol HDL y los triglicéridos se determinaron mediante técnicas enzimáticas con los estuches CHOD-PAP para colesterol y GPO-PAP para triglicéridos de Roche, respectivamente.

Estadística

Respecto a la comparación entre las muestras, realizamos una prueba de la «t» para comparar las medias de las dos muestras, suponiendo unas varianzas iguales y una distribución normal. De no ser así, se usó la prueba de la U de Mann-Whitney.

Se aplicó el coeficiente de correlación de Pearson para evaluar la posible relación causal entre los tres elementos, así como entre cada elemento y la edad.

El error alfa convencional, aunque arbitrario, fue 0,05. El programa informático empleado para el análisis estadístico

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentraciones séricas de Se, Cu y Zn

Las concentraciones séricas de Se, Cu y Zn en las poblaciones estudiadas se muestran en la Tabla I.

Se observaron diferencias entre sexos en los tres oligoelementos estudiados en varias regiones. Se comprobaron diferencias significativas entre sexos en las concentraciones de Se en las poblaciones urbanas y pescadoras, pero no en las rurales. En lo que respecta al Cu, salvo los sujetos de Ribeira Quente y Água Retorta, registramos unas cifras séricas mayores de este oligoelemento en las mujeres que en los varones, mientras que se apreció lo contrario para las concentraciones de Zn.

Cuando las concentraciones de oligoelementos se compararon entre las regiones, los valores más altos de Se se registraron en las poblaciones pescadoras, sobre todo en los varones. En cuanto a las concentraciones séricas de Cu, los valores más altos se constataron en las poblaciones de Água Retorta y Ribeira Quente. Los valores más altos de Zn se detectaron en Ribeira Quente, siendo significativamente diferentes de los observados en las otras poblaciones, donde fueron similares.

Las concentraciones séricas de estos tres oligoelementos se encuentran en el intervalo normal cuando se comparan con las de otras poblaciones europeas (Oldfield, 1999; Pavão y cols., 1999; Viegas-Crespo y cols., 2000). Las diferencias de

TABLA I
Concentraciones séricas de selenio, cobre y cinc en poblaciones urbanas, rurales y pescadoras de Portugal: continente (Lisboa) ¹ e isla de S. Miguel - Archipiélago de las Azores ²

	Selenio (µg/l)		Cobre (mg/dl)		Cinc (g/dl)	
	V	M	V	M	V	M
Lisboa (L) (población urbana)	88 ± 15** (64-127)	81 ± 14 (36-123)	103 ± 38** (40-260)	132 ± 50 (42-375)	105 ± 18** (61-150)	99 ± 17 (65-192)
Ponta Delgada (PD) (población urbana)	90 ± 14* (51-126)	86 ± 11 (60-113)	102 ± 39** (12-232)	167 ± 72 (36-394)	101 ± 16* (63-136)	95 ± 14 (55-136)
Rabo de Peixe (RPP) (comunidad rural)	84 ± 22 (49-150)	78 ± 18 (38-122)	127 ± 26* (80-160)	157 ± 48 (100-320)	108 ± 18** (75-160)	97 ± 15 (63-139)
Água Retorta (RA) (comunidad rural)	91 ± 20 (61-153)	82 ± 17 (48-135)	190 ± 72 (91-352)	215 ± 74 (83-381)	133 ± 40 (53-370)	125 ± 40 (53-329)
Rabo de Peixe (RPP) (comunidad pescadora)	110 ± 25** (81-164)	90 ± 21 (70-134)	135 ± 42** (80-160)	157 ± 54 (80-280)	111 ± 17** (75-139)	99 ± 16 (63-126)
Ribeira Quente (RQ) (población pescadora)	108 ± 16** (56-129)	96 ± 23 (52-139)	171 ± 53 (78-288)	191 ± 63 (86-316)	129 ± 29 (70-167)	130 ± 29 (64-210)

¹ Lisboa (47 varones y 136 mujeres); ² Isla de S. Miguel; Ponta Delgada (60 varones y 70 mujeres), Rabo de Peixe-comunidad rural (28 varones y 44 mujeres), Água Retorta (28 varones y 71 mujeres), Rabo de Peixe-comunidad pescadora (26 varones y 49 mujeres) y Ribeira Quente (26 varones y 63 mujeres).
 Los valores representan medias ± DE (intervalo). Los asteriscos denotan diferencias significativas (prueba de t de Student) entre los varones (V) y las mujeres (M) dentro de la misma población (**p* < 0,01; ***p* < 0,05).

los oligoelementos en función del sexo probablemente están relacionadas con el estado hormonal, en particular las concentraciones de Cu, ya que, en grupos de mujeres, el uso de anticonceptivos orales o el embarazo puede asociarse a una mayor concentración de este oligoelemento (Martín-Lagos, 1999). Además, otros factores, como diferencias concretas en los hábitos alimentarios entre los dos sexos, pueden influir en estos resultados (Robberecht y Deelstra, 1994).

En las poblaciones de otros países europeos se observan discrepancias en los resultados de los oligoelementos en función del sexo. Por tanto, este hecho puede explicarse por la interacción con otros factores que pueden tener influencia en el estado del oligoelemento (Versieck y Cornelis, 1989).

Los resultados de las concentraciones de oligoelementos entre las poblaciones, en especial para las pescadoras y rurales, probablemente están relacionados con características culturales específicas, en las que el régimen alimentario puede desempeñar una función central. En realidad, no hay ningún estudio científico sobre la dieta de estas poblaciones, aunque suele comentarse que la subsistencia de las poblaciones pescadoras y rurales depende principalmente de la pesca y los productos agrícolas, respectivamente (Pavão y cols., 1999). Las diferencias en los valores medios de Se entre las comunidades pescadora y rural de Rabo de Peixe son especialmente interesantes, ya que pertenecen al mismo pueblo, pero viven alejadas entre sí, con diferentes modos de vida. Estos resultados también están en conformidad con los datos observados en las poblaciones de la isla de Madeira, donde las concentraciones séricas de selenio fueron mayores en la población pescadora que en la rural, lo que podría relacionarse con el conocido consumo deficiente de proteínas de origen animal y el consumo elevado de hortalizas en la última población (Viegas-Crespo y cols., 1999). Por último, los valores séricos más altos de Cu y Zn en los sujetos de Água Retorta y Ribeira Quente podrían deberse a

una región hidrológica muy rica en la que se localizan estos dos pueblos (Pavão y cols., 1999).

Correlación entre oligoelementos y edad

La correlación positiva estadística más interesante se observó con el coeficiente de correlación de Pearson para la edad y el Se ($r = 0,25$; $p < 0,05$), considerando todos los individuos de la población de Lisboa.

Ya se han constatado resultados similares en otros grupos portugueses de Ponta Delgada del Archipiélago de las Azores (Viegas-Crespo y cols., 2000) y la isla de Madeira (datos inéditos). Otros autores de varios países también observaron la misma tendencia general, si bien las conclusiones acerca de la dependencia de la edad son más cuestionables debido al empleo de un grupo de estudio a veces

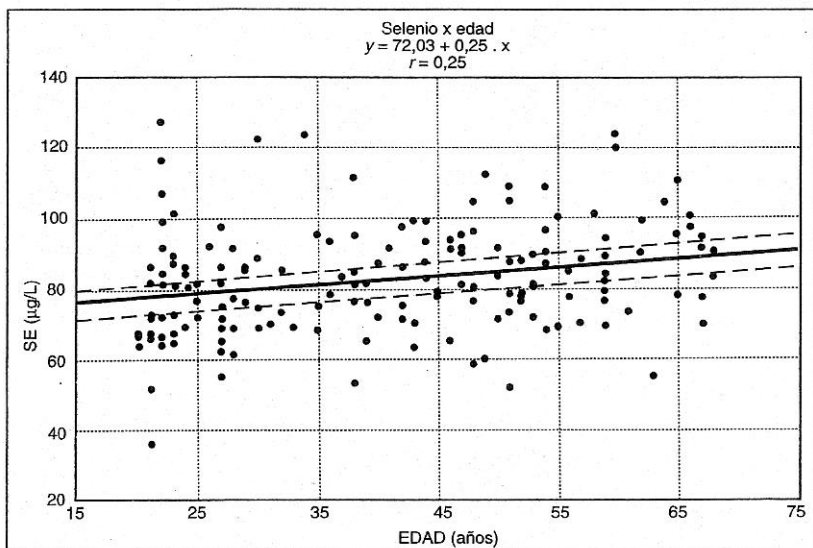


Fig. 1. Relación lineal entre la edad y el selenio en una muestra de la población de Lisboa.

mal definido, en el que el intervalo de edad es demasiado pequeño o demasiado grande (Robberecht y Deelstra, 1994).

Perfil lipídico sérico y su relación con los oligoelementos

El perfil lipídico sérico de las poblaciones estudiadas se presenta en la Figura 2 en función del sexo.

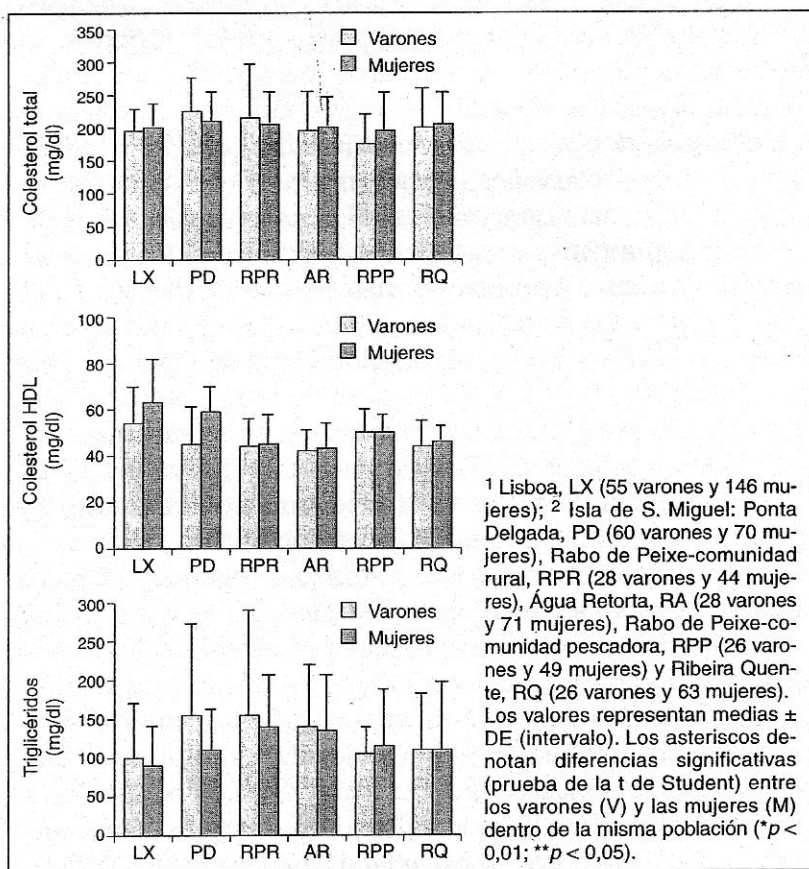


Fig. 2. Perfil lipídico sérico (colesterol, colesterol HDL y triglicéridos) en poblaciones urbanas, rurales y pescadoras de Portugal: continente (Lisboa) ¹ e isla de S. Miguel - Archipiélago de las Azores ².

El perfil lipídico generalmente fue equiparable en todas las poblaciones estudiadas y las diferencias entre los sexos están en consonancia con los datos de la bibliografía. Sin embargo, la composición de lípidos séricos en la población pescadora de Rabo de Peixe pareció mejor que la del resto de poblaciones de las Azores. Curiosamente, esta población presentó el estado de Se más alto. Se obtuvieron resultados similares en un estudio sobre la población pescadora y rural de la isla de Madeira (Viegas Crespo y cols., 1998). Estos resultados pudieron estar relacionados con un mayor consumo de pescados ricos en ácidos grasos poliinsaturados, lo que se sabe que reduce la colesterolemia y la trigliceridemia. Además, un estado elevado de Se (un cofactor de enzimas que eliminan radicales libres) podría influir en el perfil lipídico de estas poblaciones pescadoras.

Puede afirmarse que, en general, se apreciaron pocas diferencias significativas en las concentraciones de oligoelementos entre los subgrupos normales e hiperlipidémicos para el mismo sexo de todas las poblaciones (no mostrado). Sin embargo, los varones hiperlipidémicos de Ponta Delgada y las mujeres hiperlipidémicas, respectivamente, de Água Retorta y Ribeira Quente presentaron cifras séricas mayores de Se que los sujetos normolipidémicos del mismo sexo. Es más, cuando ambos sexos se consideraron en conjunto, se observó un aumento de las concentraciones de Se en las personas hiperlipidémicas de las mismas regiones en comparación con las normolipidémicas (Fig. 3).

La interpretación de este resultado basado en los datos de la bibliografía podría explicarse parcialmente debido a que cerca del 3% del Se plasmático total está unido a lipoproteínas, principalmente a la fracción LDL en los seres humanos sanos. Asimismo, la asociación de estos resultados a parámetros relacionados con el equilibrio prooxidante/antioxidante podría contribuir a aclarar la cuestión.

El otro resultado interesante se observó en las poblaciones rurales y pescadoras de la isla de S. Miguel. Teniendo en

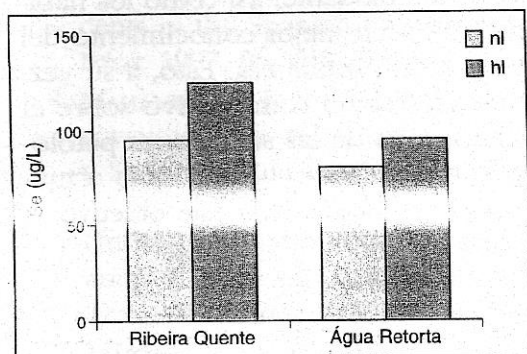


Fig. 3. Concentraciones séricas de selenio en sujetos normolipidémicos e hiperlipidémicos (varones + mujeres) de Ribeira Quente y Água Retorta.

cuenta la totalidad de los individuos normo e hiperlipidémicos de las cuatro poblaciones pescadoras y rurales de las Azores, se apreció una diferencia significativa en la concentración de Cu (sujetos normolipidémicos $—163 \pm 67$ mg/dl—, sujetos hiperlipidémicos $—192 \pm 64$ mg/dl—, $p < 0,001$). La razón de las cifras de Cu mayores en los sujetos hiperlipidémicos no está clara, pero puede tener que ver con una concentración mayor de ceruloplasmina sérica. Según Klipstein-Grobusch y cols. (1999) y Salonen y cols. (1991), las concentraciones séricas elevadas de ceruloplasmina y Cu podrían ser factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares al actuar mediante la modificación oxidativa de las LDL. Además, se constataron otras asociaciones entre las cifras elevadas de Cu sérico y un perfil lipídico desfavorable en niños y adolescentes españoles (López y cols, 1997).

Comentario final

El presente estudio recoge por primera vez la evaluación del estado de los oligoelementos en personas de diferentes regiones portuguesas de una manera sistemática. También permite obtener valores de referencia para nuestra población. La relación entre los oligoelementos y el sexo, la edad,

el perfil lipídico y el estado antioxidante, así como los hábitos de vida, puede contribuir a un mejor conocimiento del estado de salud de la población portuguesa. Esto, a su vez, admitirá la posibilidad de un trabajo comparativo sobre el conocimiento y la caracterización de las situaciones patológicas, como las enfermedades cardiovasculares. En la actualidad, se encuentra en curso un estudio con este objetivo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto «Blood parameters associated with antioxidant function in human populations from Portuguese regions». Está financiado por PRAXIS XXI/PSAU/66/96, CBA (Centro Biológico Ambiental) y Paula Alexandra Lopes disfruta de una beca, PRAXIS XXI/BD/21444/99.

BIBLIOGRAFÍA

1. BALLANTYNE, F. C.; CLARCK, R. S.; SIMPSON, H. S., y BALLANTYNE, D.: «HDL and LDL subfractions in myocardial infarction in control subjects». *Metabolism*, 1982; 31: 433-437.
2. KLIPSTEIN-GROBUSCH, K.; GROBBEE, D. E.; KOSTER, J. F.; LINDEMANS, J.; BOEING, H.; HOFMAN, A., y WITTEMAN, J. C. M.: «Serum caeruloplasmin as a coronary risk factor in elderly: the Rotterdam Study British». *J. Nutrition*, 1999; 81: 139-144.
3. LÓPEZ, E.; VILLA ELIZAGA, I.; GOST GARDE, J. I.; ELCARTE LÓPEZ, R.; MARTÍN PÉREZ, A.; NAVASCUES PUJADA, J.; NAVARRO BLASCO, I., y APARICIO MADRE, M. I.: «Cardiovascular risk factors in relation to the serum concentrations of copper and zinc: epidemiological study on children and adoles-

- cents in the Spanish province of Navarra». *Acta Paediatrica*, 1997; 86: 248-253.
5. MAHALINGAM, T. R.; VIAJAYALAKSHMI, S.; PRABHU, R. K.; THIRUVENGADASAMI, A.; MURTHY, K. S.; SEN, D.; MATHEWS, C. K., y SHANMUGASUNDARAM, K. R.: «Studies on some trace and minor elements in blood. A survey of the Malpakkham (India) population. Part II: reference values for plasma and red cells and correlation with coronary index». *Biol. Trace Elem. Res.*, 1997; 57: 207-221.
 6. MARTÍN-LAGOS, F.; NAVARRO-ALARCÓN; TERRÉS-MARTOS, C.; LÓPEZ-GARCÍA DE LA SERRANA, H.; PÉREZ-VALERO, y LÓPEZ-MARTÍNEZ, M. C.: «Zinc and copper concentrations in serum from Spanish women during pregnancy». *Biol. Trace Elem. Res.*, 1998; 61: 61-70.
 7. NÈVE, J.: «Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases». *J. Cardiovascular Risk*, 1996; 3: 42-47.
 8. NÈVE, J.; CHAMART, S., y MOLLE, L.: «Optimization of a direct procedure for determination of selenium in plasma and erythrocytes using Zeeman-effect atomic absorption spectroscopy». En: P. Bratter, P. Schramel (eds.), *Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology*. Berlin-New York: Walter de Gruyter, 1987; vol. 4, pp. 349-358.
 9. NÈVE, J.; MOLLE, L.; HANOCQ, M.; SINET, P. M., y VAN GEFTEL, R.: «Erythrocytes and plasma trace element levels in clinical assessments». *Biol. Trace Elem. Res.*, 1983; 5: 75-79.
 10. NÈVE, J., y PALMIERI, Y.: «First Symposium on Human Health Related Aspects of Selenium Research in Europe». *J. Trace Elements Med. Biol.*, 2000; 14: 116-121.
 11. OLDFIELD, J. E.: *Selenium World Atlas*. Grimbergen, Bélgica: Selenium-Tellurium Development Association (STDA) Publishers, 1999; p. 83.
 12. PAVÃO, M. L.; SANTOS, V.; COSTA, A.; BORGES, G.; SANTOS, M. C.; NÈVE, J., y VIEGAS-CRESPO, A. M.: «Selenium, copper

- and zinc in some Azorean populations». En: M. Abdulla, M. Bost, S. Gamon, P. Arnaud, G. Chazoq (eds.), *New Aspects of Trace Element Research*. Smith-Gordon, U.K., 1999; cap. 9, pp. 42-44.
13. PAVÃO, M. L.; CORDEIRO, C.; COSTA, A.; RAPOSO, J. A.; SANTOS, M. C.; NEVE, J. y VIEGAS CRESPO, A. M.: «Comparison of whole blood glutathione peroxidase activity, levels of selenium and lipid peroxidation in subjects of the fishing and rural communities of Rabo de Peixe village (S. Miguel Island, The Azores Archipelago, Portugal)». *Biological Trace Element Res.*, en prensa.
 14. ROBBERECHT, H., y DEELSTRA, H.: «Factors influencing blood selenium concentration values: a literature review». *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 1994; 8: 129-143.
 15. SALONEN, J. T.; SALONEN, R.; KORPELA, H.; SUNTIOINEN, S., y TUOMILEHTO, J.: «Serum copper and the risk of acute myocardial infarction: a prospective population study in men in eastern Finland». *Am. J. Epidemiol.*, 1991; 134 (3): 268-276.
 16. SALONEN, J. T.; SALONEN, R.; SEPPANEN, K.; KANTOLA, M.; SUNTIOINEN, S., y KORPELA, H.: «Interactions of serum copper, selenium, and low density lipoprotein cholesterol in atherogenesis» *BJM*, 1991; 302: 756-760.
 17. VERSIECK, J., y CORNELIS, R.: *Trace elements in Human Plasma or Serum*. Boca Raton, Florida, U.S.A.: C.R.C. Press, Inc., 1989.
 18. VIEGAS-CRESPO, A. M.; NEVE, J.; MONTEIRO, M. L.; AMORIM, M. F.; PAULO, O. S., y HALPERN, M. J.: «Selenium and lipid parameters in plasma of Portuguese subjects». *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 1994; 8 (2): 119-122.
 19. VIEGAS-CRESPO, A. M.; PAVÃO, M. L.; PAULO, O.; SANTOS, V.; SANTOS, M. C., y NEVE, J.: «Trace element status (Se, Cu, Zn) and serum lipid profile in Portuguese subjects of San Miguel Island from Azores' archipelago». *J. Trace Elements Med. Biol.*, 2000; 14: 1-5.

20. VIEGAS-CRESPO, A. M.; TORRES, I.; MIRA, M. L., y NÈVE, J.: «1999 Selenium status in two populations from Madeira island with different dietary habits». En: M. Abdulla, M. Bost, Ss. Gamon, P. Arnaud, G. Chazoq (eds.), *New Aspects of Trace Element Research*. Smith-Gordon, U.K., 1999; cap. 19. pp. 89-91.
21. YU, B. P.: «Cellular defenses against damage from reactive oxygen species». *Physiological Rev.*, 1994; 74: 139-162.