

**ACADEMIA DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS, QUIMICAS
Y NATURALES DE ZARAGOZA**

**QUÍMICA CLÍNICA DE ELEMENTOS TRAZA EN
NUESTRA COMUNIDAD; EL SELENIO**

DISCURSO DE INGRESO LEIDO POR EL ACADEMICO ELECTO

Ilmo. Sr. D. ÁNGEL GARCÍA DE JALÓN

*EN EL ACTO DE SU RECEPCION SOLEMNE
CELEBRADO EL DIA 29 DE NOVIEMBRE DEL AÑO 2.001*

Y

DISCURSO DE CONTESTACION POR EL

Ilmo. Sr. D. LUIS ORO GIRAL

ACADEMICO NUMERARIO



ZARAGOZA

2.001

**QUÍMICA CLÍNICA DE ELEMENTOS TRAZA EN
NUESTRA COMUNIDAD; EL SELENIO**

POR EL

Ilmo. Sr. D. ÁNGEL GARCÍA DE JALÓN COMET

Excelentísimo Señor Presidente de la Academia
Excelentísimos e Ilustrísimos Señores Académicos
Señoras y Señores:

Sentiría no saber transmitir el profundo y emocionado sentimiento de agradecimiento a la Academia por mi elección. Será para mi un gran honor, sin duda inmerecido, obtener el ingreso a esta docta institución formada por ilustres científicos y, entre ellos, profesores y compañeros de la Facultad de Ciencias.

Quiero expresar mi especial reconocimiento al Profesor Luis A. Oro Giral, quien presentó mi candidatura y a quienes tan benévolamente la apoyaron y al Profesor don Horacio Marco Moll, Presidente de la Academia, por su acogida, ánimo y ayuda. Espero no defraudarles.

Hace ya demasiados años que terminé mi formación en esta Facultad. Desde entonces mi relación con ella se ha basado en determinadas colaboraciones de trabajo y sobre todo en la amistad con mis antiguos compañeros. Recuerdo con gratitud a los que fueron mis maestros a ellos debo en primer lugar el hecho de encontrarme hoy aquí. De aquel ilustre claustro que incluía a los Profesores Bernal Nieva, Cabrera Felipe, Gómez Aranda, Martín Sauras, Íñiguez Almech y Tomeo Lacrué, aprendí mucho más que química. Al Profesor y Académico don José María Savirón, que representó entonces la renovación generacional, le debo además de su amistad, haberme enseñado a descubrir, en los conceptos de la termodinámica, una filosofía de vida. Entre otras cosas, él me enseñó a considerar la variación de la entropía como criterio relevante en la elección de la mejor solución a diversos problemas: es decir, la termodinámica aplicada a la toma de decisiones. Como ustedes saben, mi amigo Pepe acaba de fallecer. Descanse en paz.

Realicé mi tesis doctoral en la Estación Experimental de Aula Dei del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Fue mi director don Francisco Alberto Jiménez Investigador del CSIC. Él me inició en la metodología de la investigación científica y en definitiva con la tesis aprendí a trabajar. Siempre he admirado del Dr. Alberto el lujo de imaginación y conocimientos científicos aplicados al desarrollo de los proyectos de investigación. Durante

la realización de la tesis tuve, también, el inestimable apoyo y ayuda del Profesor D. Rafael Usón Lacal, como Catedrático Ponente, de quien aprendí a ser exigente con el trabajo propio.

Tampoco estaría hoy aquí sin la necesaria ayuda de mis compañeros del Hospital Universitario Miguel Servet. Al Dr. Don Mariano Sánchez Agreda, quien durante casi veinticinco años fue mi Jefe de Servicio y quien me introdujo en la Química Clínica, en él encontré consejo, enseñanza y paciencia. Igualmente quiero expresar mi gratitud a mis compañeros Andrés Cabeza Sánchez y María Luisa Calvo Ruata, con quienes he trabajado desde mi ingreso en el Hospital y en general a todos los compañeros del Servicio de Bioquímica Clínica. Sinceramente considero que esta distinción de la Academia va dirigida al grupo de Bioquímicos Clínicos del Miguel Servet y a todos los compañeros del Hospital que compaginan una ejemplar tarea asistencial con la investigación. Mi agradecimiento también a la Dirección del centro por el apoyo y la gestión de recursos que hacen posible nuestro trabajo.

Mi especial reconocimiento a quienes se atrevieron a realizar su tesis doctoral en Bioquímica Clínica bajo mi dirección. Por orden cronológico son los Doctores Teresa Abadía Bayona, Manuel González Enguita, Dolores Zapatero González y Rosa Pérez Beriaín. A ellos debo no solo su valiosa colaboración en el estudio de los elementos traza, sino el aliciente que supone trabajar con personas jóvenes, inteligentes e ilusionadas.

Quisiera finalmente saber expresar mi agradecimiento a quienes más y mejores cosas me enseñaron: mi mujer Lola y mis hijos Angel, María y Paloma. A ellos y a mis padres, por la educación que me proporcionaron, va dedicada esta memoria.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El Barón de Tamarit: mi antecesor en la medalla número 30 de la Academia

Es tradición en la Academia que el académico electo glose en su discurso de ingreso la personalidad de quien con anterioridad ostentó la misma medalla. Lo hago con sumo placer.

El Excelentísimo Señor Don Francisco Pascual de Quinto y Martínez de Andosilla, Barón de Tamarit, nació en Zaragoza el 24 de mayo de 1881. Perteneció a la cuadragésimo tercera promoción, año 1905, de Ingenieros Agrónomos alcanzando el título de Doctor Ingeniero por la Escuela de Agrónomos de Madrid.

En sus primeros destinos, como Jefe del Servicio Agronómico de Logroño y Director del Servicio Vitícola de la Diputación de aquella provincia, realizó una meritoria labor para la repoblación del viñedo riojano, arruinado en aquella época a consecuencia de la epidemia de filoxera.

Fue profesor de viticultura, elayotecnia, fruticultura y arboricultura de la Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid.

En 1928 es nombrado Ingeniero Jefe de los Servicios Agronómicos de la Confederación Hidrográfica del Ebro, cargo que desempeñó hasta su jubilación en 1959. En este periodo impulsó la creación de las granjas experimentales agrícolas de Ejea de los Caballeros, Almudévar y La Melusa. Como consecuencia de la actividad de esta última se introdujo en Aragón el cultivo del arroz como procedimiento económicamente rentable para corregir la salinidad excesiva de determinados suelos de cultivo.

Simultáneamente promovió, en la provincia de Huesca, el Vivero Frutal de Monzón y la Estación de Riegos de Binéfar.

La Diputación de Zaragoza premió, en 1915, su trabajo “Memoria relativa al cultivo de frutales en la provincia de Zaragoza”. Igualmente su trabajo “Cultivo de la soja” mereció en 1936 el premio de investigación del Instituto Catalán de San Isidro.

Fue distinguido con la gran cruz de la Orden Civil del Mérito Agrícola. Con ocasión de los centenarios de los Sitios de Zaragoza y Gerona le fueron concedidas las respectivas medallas conmemorativas.

Ingresó como Académico en 1945, ostentando la medalla número 30. En 1947 fue elegido Presidente, hasta su renuncia en 1976 por imperativo de la edad a los 95 años. La Academia le nombró, en reconocimiento a su meritoria labor, Presidente de Honor.

Falleció, siendo ya centenario, en Zaragoza el 2 de septiembre de 1981.

2. QUÍMICA CLÍNICA DE LOS ELEMENTOS TRAZA; SU ESTUDIO EN LA POBLACIÓN DE ZARAGOZA

2.1 *Introducción histórica a la Química Clínica*

Antes de exponer propiamente el tema del discurso, parece oportuno ubicar a la Química Clínica en el lugar que le corresponde en el árbol de la ciencia, estableciendo las relaciones históricas y científicas con otras disciplinas que se integran en el área del conocimiento de la Bioquímica y de la Fisiología Humana.

Algunos alquimistas como Avicena (979 - 1037) primero y Paracelso (1493 - 1591) quinientos años después desplazaron el interés de la alquimia desde la transmutación metálica al estudio del fenómeno vital. Desgraciadamente la quimera de la piedra filosofal perduraría todavía en los siglos siguientes retrasando el desarrollo de la química con respecto a otras ciencias.

Durante el siglo XVII, la alquimia entró en franca decadencia aunque, paradójicamente, ilustres científicos en otras disciplinas persistían en el mito de la piedra filosofal. El propio Isaac Newton, buscaba formulas para fabricar oro por transmutación, mientras investigaba los fundamentos de la física y de la astronomía, desarrollando para ello el cálculo infinitesimal.

Simultáneamente la química, se consolidaba como ciencia, cuando su objetivo era explicar el fenómeno vital. Un médico flamenco, Van Helmont (1577- 1644) fue el primero en aplicar métodos de medida en la resolución de problemas de química y biología: estudió el crecimiento de un árbol en condiciones tales que podía controlar los pesos del agua aportada y el incremento del peso del propio árbol, igualmente fue capaz de diferenciar entre el aire y determinados vapores producidos por el mismo.

A finales del siglo XVII, Robert Boyle publicó su libro *El Químico escéptico* en el que por primera vez se suprime el prefijo al del término alquimia (alchemist versus chemist). Desde ese momento la ciencia se denominó química.

Realmente fue en el XVIII cuando se sistematizó la química como ciencia. A este siglo pertenecen Lavoisier, Rutherford, Cavendish, Priestley etc. cuyas obras son absolutamente conocidas y forman parte de la historia de la ciencia y en consecuencia resulta innecesario y sería prolijo y tedioso, por ya conocido, su recuerdo ahora.

Sin embargo permítanme citar al químico escocés Joseph Black quien para graduarse, precisamente en medicina, desarrolló una tesis cuyos resultados publicó en 1756 en los que demostró que tras calentar fuertemente piedra caliza se libera un gas y se obtiene óxido de calcio. Black midió la pérdida de peso implicada en la reacción. Por otra parte como el dióxido de carbono formado podía formarse de igual manera calentando un mineral, que

sometiendo a combustión a un resto orgánico, como la madera, parecía evidente alguna conexión entre el reino animado e inanimado. Fue profesor de Rutherford.

A partir del siglo XIX, el desarrollo de la química y la medicina es simultáneo y sinérgico, incluso con frecuencia tienen idénticos protagonistas. No solamente se busca primero en la química remedios empíricos para la enfermedad, sino y sobre todo, el conocimiento de los fenómenos fisicoquímicos que permiten la vida. En este sentido es paradigmática la figura de Louis Pasteur al demostrar que la fermentación está provocada por microorganismos desautorizando la hipótesis de la generación espontánea. Con su ingente labor revolucionó la medicina y la microbiología del XIX.

Coetáneo y compatriota de Pasteur, el médico Claude Bernard, en una comunicación presentada a la Académie des Sciences de Paris, explicaba la glucogénesis hepática. Su trabajo se culminaría en 1855 con el descubrimiento del glucógeno como un polímero mediante el cual se almacena la glucosa en el hígado. Bernard, establece las bases metodológicas para el desarrollo de la fisiología y la bioquímica humana.

Richard Bright fue seguramente quien, en 1827, realizó por primera vez una prueba química diagnóstica al detectar la presencia de proteínas en la orina de pacientes con hidropesía (edemas) mediante su coagulación por calor. El azúcar se identificó como glucosa en 1838 y en 1848 se describió para su cuantificación la "prueba de Fehling". Henry Vence-Jones, médico y químico, descubrió en 1848 la proteína que lleva su nombre.

A finales del siglo XIX los principales hospitales eran capaces de determinar en sus laboratorios análisis de orina que incluía: glucosa, proteínas, densidad, hemoglobina, bilirrubina y examen microscópico del sedimento, y en sangre: hemoglobina y recuento microscópico de hematíes y leucocitos.

Aunque como se ha dicho, la aplicación de la Química a la Medicina se remonta como mínimo a tres siglos atrás, puede decirse que la Bioquímica Clínica, como ciencia reconocida, se desarrolla en el siglo XX y más concretamente después de la segunda guerra mundial. Sus precursores fueron, de una parte, los médicos y fisiólogos, y por otra los químicos orgánicos, preocupados por la estructura de los compuestos derivados de la naturaleza animada.

A medida que la bioquímica explica la etiología de las patologías relacionadas con alteraciones las reacciones o simplemente con determinadas moléculas que permiten la vida, aparece la necesidad diagnóstica de disponer de procedimientos precisos, reproducibles y rápidos para conocer la mejor información acerca de los parámetros químicos que condicionan el estado de salud o de enfermedad de un individuo o de una población

Precisamente de esta necesidad nace la Química Clínica como la aplicación de la bioquímica y otras disciplinas al diagnóstico de la salud y enfermedad humana. En 1908,

se publica el primer libro de la especialidad: A manual of Clinical Diagnosis de Todd y Sanford. Es sobre todo en la segunda mitad del siglo XX cuando el desarrollo de técnicas analíticas automatizadas de gran precisión, exactitud y sensibilidad y el conocimiento de los aspectos moleculares de la enfermedad hacen inconcebible la práctica médica sin la Química Clínica como uno de los dos pilares fundamentales del diagnóstico. Lógicamente el otro pilar es el Diagnóstico por la Imagen que también podría llamarse, por similitud, Física Clínica.

La historia de la Química Clínica en nuestra región discurre de forma parecida, en tiempo y contenido, al resto de las sociedades occidentales. A principios del siglo XX era habitual que las cátedras de más prestigio tuviesen sus propios laboratorios. Según el Dr. M. Sánchez Agreda (23), en Aragón, se puede considerar al Laboratorio de la Cátedra de Tología de la Universidad de Zaragoza, como pionero en la especialidad, dirigido por el Prf. D. Pedro Ramón y Cajal. Uno de sus más brillantes discípulos, el Dr. D. Antonio Gota Galligo (1883-1944) fundó en 1916 el primer laboratorio clínico privado de la ciudad siendo nombrado en 1925, Director del Laboratorio de Análisis Clínicos y Bromatológicos del Ayuntamiento de Zaragoza (23). Su equipo de colaboradores incluía a dos químicos: D. Ricardo Jimenez Ruesga y D. Antonio Goded. Casi simultáneamente (1920-1936) se afianzaba otro grupo en torno a los hermanos D. Augusto y D. José María Muniesa Belenguer. El primero como Jefe del Laboratorio de la Facultad de Medicina y el segundo, Profesor Adjunto de la Cátedra de Fisiología que dirigía D. Santiago Pi Suñer, y responsable del Laboratorio del Dispensario de la Caja de Ahorros de Zaragoza. El Dr. D. Vicente Pej Juarrero fue igualmente discípulo del Profesor Pi Suñer completando su magnífica formación en los años 30 en Alemania.

Algunos de los más directos colaboradores y discípulos de estos pioneros de la biopatología, fueron los Doctores Marco A. Galindo Muniesa, Carmen Moraleda, Julio Lázaro Alquezar, amigo, médico, y vecino de mi familia y padre de mi compañero Julio Lázaro Castillo, Teresa Rodríguez, compañera de mi tío el Prf. P. García de Jalón en la Cátedra de Farmacología del Prf. B. Lorenzo Velázquez, y Armando Arquillué, a los que tuve el honor de conocer pero ya no están entre nosotros. Otros, como Mariano Sánchez Agreda, José Muniesa Moraleda y Julián Diez Antoñanzas, aunque disfrutaban de una venturosa y merecida jubilación, siguen siendo nuestros mejores maestros.

Todos ellos hicieron escuela y contribuyeron a consolidar la especialidad en nuestra tierra. Los actuales Bioquímicos Clínicos zaragozanos hemos recibido, directa o indirectamente las enseñanzas de aquellos Biopatólogos.

En 1949 se creó la Asociación Norteamericana de Químicos Clínicos actualmente denominada Asociación Norteamericana de Química Clínica. En 1981 se fundó la Sociedad

Española de Química Clínica actualmente denominada Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC). En 1996 se fundó la Sociedad Aragonesa de Bioquímica Clínica (SABC) de la que el Prf Jesús F. Escanero Marcén fue su primer Presidente.

Aunque algunos autores han denominado a esta disciplina Bioquímica Clínica, personalmente prefiero la denominación de Química Clínica de acuerdo con la Federación Internacional de Química Clínica (FIQC), a pesar de que la especialidad médica se denomina oficialmente "Bioquímica Clínica".

La FIQC define a esta disciplina como "La aplicación de la química, conceptos y técnicas moleculares y celulares para la comprensión y evaluación de enfermedad y salud humanas".

Según González de Buitrago (1) su objetivo es el estudio de los aspectos químicos de la vida humana en la salud y en la enfermedad, con la aplicación de los métodos químicos y bioquímicos para el diagnóstico, el seguimiento, el control del tratamiento, la prevención y la investigación de la enfermedad.

De hecho la Química Clínica trasciende la mera analítica e integra áreas del conocimiento más amplias tales como fisiopatología, biología molecular, química física, estadística etc.

2.2 Los oligoelementos o elementos traza

Un capítulo dentro de la química clínica lo constituyen los oligoelementos o elementos traza. Realmente su estudio ha estado fuertemente ligado al desarrollo de las modernas técnicas analíticas y constituye un punto de encuentro entre Bioquímica, Química inorgánica, Análisis Instrumental, Fisiología, Toxicología, Nutrición etc.

En el siglo XIII, el aragonés, Arnaldo de Villanova (66), nacido en Villa Nueva de San Martín, hoy Villanueva de Jiloca (Zaragoza), médico, químico, alquimista e incluso polémico teólogo, utilizó, empíricamente, calcinado de esponjas en el tratamiento del bocio. La explicación del buen resultado la dio, en 1819, Coindet al deducir que su efecto se debía al yodo que contienen. En 1880 Gabriel Bertrand estableció la necesidad de presencia de manganeso para la vida del *Aspergillus Níger*. También Raulin en 1869 determinó la necesidad de cinc para la vida del mismo hongo. En 1934, Todd estableció la necesidad del cinc en el crecimiento de la rata.

El desarrollo de las modernas técnicas de análisis instrumental ha puesto de manifiesto la existencia de pequeñas cantidades de elementos químicos en los medios biológicos. Algunos forman parte de moléculas orgánicas esenciales: enzimas (Cobre, Cinc, Selenio), hormonas (Yodo), grupos prostéticos (Hierro), vitaminas (Cobalto). Otros tienen interés

por su carácter tóxico (Aluminio, Mercurio, Plomo, Cadmio) o terapéutico (Flúor, Litio). Finalmente se encuentran elementos cuyo significado fisiológico se ignora (Estroncio).

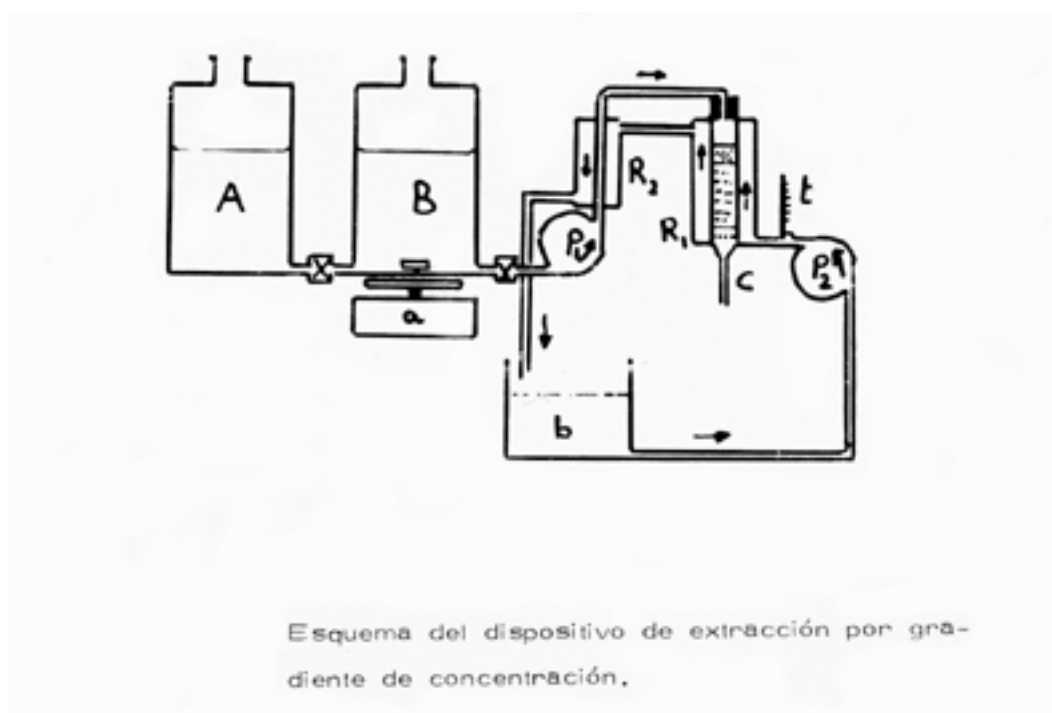


Figura 1.—Esquema del aparato de extracción por gradiente de concentración

El concepto de oligoelemento o elemento traza es puramente cuantitativo. Schoeder (1971) define a los elementos traza como aquellos que representan menos del 0.01% de la masa corporal. Underwood (1977) los clasifica de acuerdo con los requerimientos dietéticos de los animales en esenciales, posiblemente esenciales y no esenciales. Dentro de este último grupo se diferencian los tóxicos de los no tóxicos.

Debo hacer constar que mi primera aproximación al estudio de determinados elementos químicos, por su influencia en la biología no fue precisamente bajo la disciplina de la Química Clínica sino de la Edafología. Se trata de otra ciencia derivada de la biología y de la química que estudia al suelo como sustrato de la vida vegetal y centro de las cadenas tróficas.

El objetivo de aquel primer trabajo para tesis doctoral (37), iniciada en 1968, fue poner a punto un método químico, relativamente sencillo, de fraccionamiento de formas o especiaciones de hierro en suelos. Estos óxidos secundarios de hierro y su disposición en los suelos tienen en Agronomía y en Edafología un especial interés. La diferenciación y cuantificación de sus formas amorfas y cristalinas y la forma y tamaño de los cristales explican algunas de las características y propiedades de los suelos, facilitan su clasificación y posibilitan la comprensión de su génesis.

Bajo un punto de vista exclusivamente biológico el hierro es un elemento esencial para la vida, animal o vegetal. En los cultivos agrícolas, la falta de formas biodisponibles produce, en numerosas especies, trastornos carenciales con el consiguiente descenso del rendimiento e incluso con la muerte de las plantaciones.

Este problema tiene una especial importancia económica en la explotación de frutales, en la depresión media del Ebro. Tal vez sea este el lugar común con mi Ilustre antecesor el Barón de Tamarit.

Con aquel trabajo se lograron fraccionar distintas especies de hierro en los suelos mediante la utilización de un eluyente en gradiente de concentración. Se trata de un método generalizado en cromatografía en columna y en la separación de sales inorgánicas de distinta solubilidad. El procedimiento permite diferenciar un número indeterminado de fracciones al someter la muestra al ataque de un extractante cuya concentración crece de forma continua. Como eluyente se utilizó ácido clorhídrico. El aparato utilizado se esquematiza en la figura 1.

El sistema desarrollado, consta de dos frascos A y B de igual sección transversal situados a idéntica altura y comunicados por su base. El frasco B dispone de un agitador magnético. Un circuito de agua termostatazada mantiene el sistema a temperatura constante durante el proceso. Una bomba peristáltica asegura el flujo constante de la solución extractora. La muestra mezclada con arena de sílice lavada a los ácidos, se dispone en un tubo de Allihn con placa filtrante número 3 y 2 cm de diámetro.

En la figura 2 se representa una gráfica de separación de distintas especies de oxihidróxidos de hierro en función de su distinta reactividad frente al ácido clorhídrico.

Con este método se consiguió diferenciar de forma cuantitativa y reproducible, especies de hierro, aún en concentraciones tan bajas que no eran ni identificables ni cuantificables por otras técnicas físicas tales como espectrometría infrarroja o difracción de RX. Paralelamente, se determinaron las relaciones entre diferentes condiciones ambientales de envejecimiento del gel pardo de oxihidróxido de hierro y el producto final.

Esta tesis, aunque poco tenía que ver con la Química Clínica, me introdujo en el estudio de los oligoelementos, ya fuesen esenciales o tóxicos, en los métodos físico químicos de análisis y sobre todo me enseñó a investigar incluso en las condiciones de precariedad económica que existían entonces en los centros del Consejo Superior de Investigaciones Científicas que, por otra parte, no difieren mucho de las que disponemos actualmente en los hospitales públicos.

Simultáneamente en la Estación Experimental de Aula Dei conviví con un fantástico grupo de investigadores pluridisciplinares que me enseñaron a considerar al ser humano como parte integrante del ecosistema. .

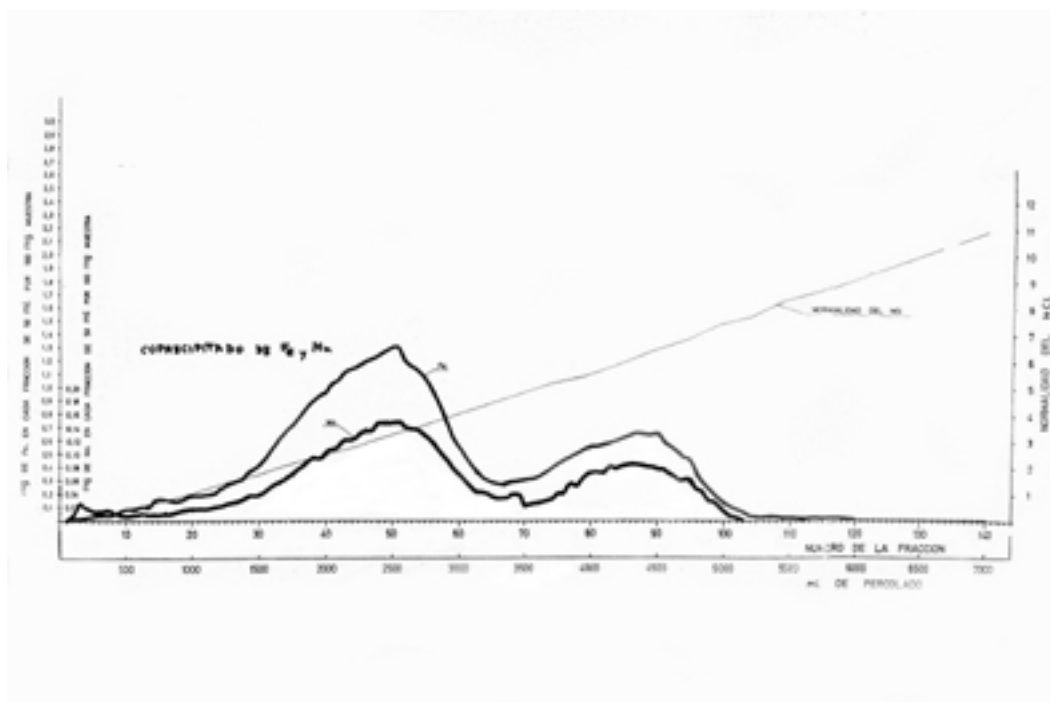


Figura 2.—Gráfica de separación de distintas especies de oxihidróxidos de hierro y manganeso por dilución en ácido clorhídrico en gradiente de concentración.

2.3 Los elementos traza en la población aragonesa

La línea de trabajo que nuestro grupo viene desarrollando, pretende conocer la tasa de determinados elementos traza en la población aragonesa, detectando grupos de riesgo y considerando la influencia del ecosistema en la salud humana.

Las determinaciones de los oligoelementos en suero, plasma aguas u otro tipo de muestras se realizan por espectrofotometría de absorción atómica bien con llama o bien mediante horno de grafito y corrector de fondo por efecto Zeeman. El análisis de proteínas plasmáticas se realiza mediante técnicas nefelométricas Para el control de calidad de los análisis, nuestro laboratorio esta integrado en los programas externos de calidad de la SFBC (Société Francaise de Biologie Clinique) para cobre cinc y selenio; del PICC (Programa Internacional de Control de Calidad) para plomo en sangre total; del programa Worlwide Interlaboratory Quality Control Aluminum para aluminio; y de Bio-Rad Laboratories para hierro y proteínas plasmáticas.

2.3.1 EL HIERRO

Naturalmente el hierro no solo tiene gran relevancia en la fisiología vegetal sino que su deficiencia es la causa más frecuente de anemia humana en el mundo (10). Según la O.M.S. un 30% de la población normal sufre anemia, especialmente debido a deficiencia en hierro bien por dieta inadecuada o excesivamente deficitaria en este metal.

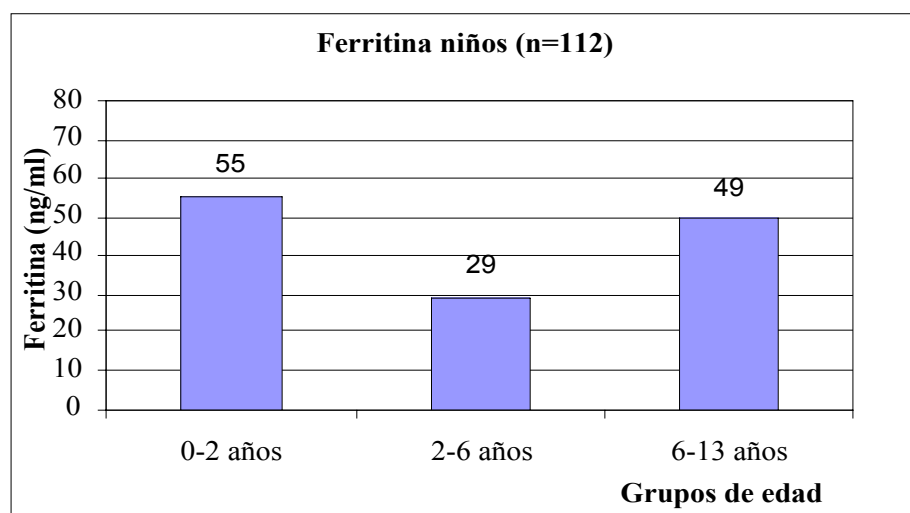
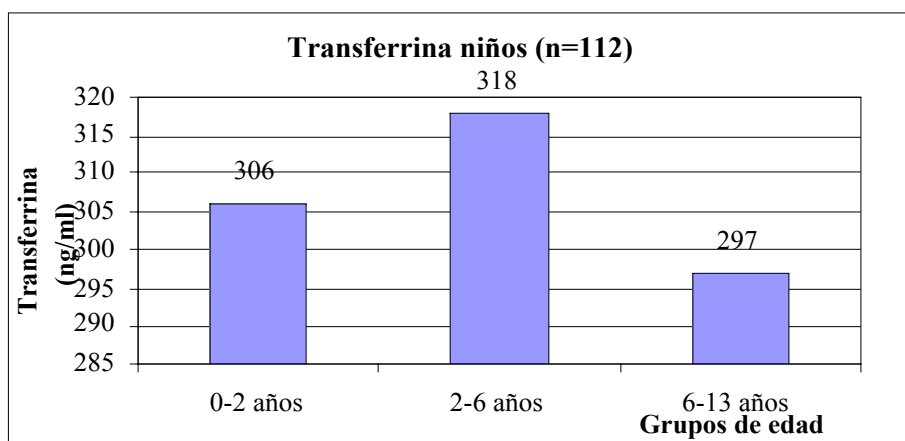
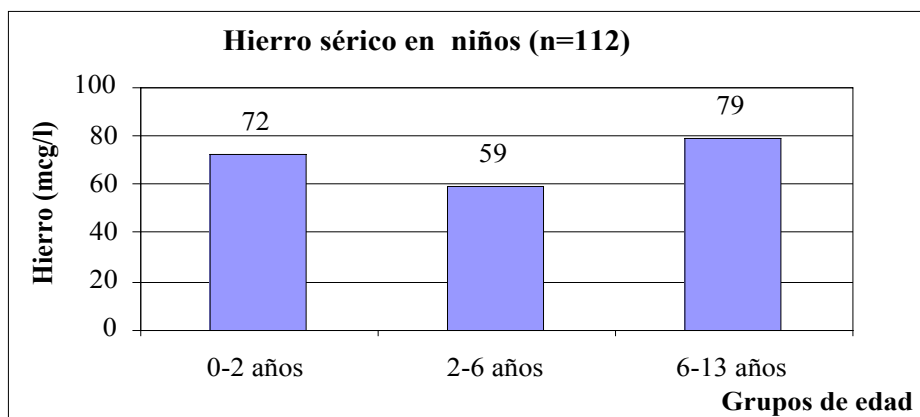


Figura 3.—Hierro sérico, transferrina y ferritina en población infantil.

En 1991, existían relativamente pocos trabajos en España que informasen de la prevalencia de la deficiencia en hierro en la población normal. Por otra parte, tampoco se disponía de cifras reales actualizadas obtenidas de nuestra población.

En consecuencia se estudió la sideremia de nuestra población con relación al sexo y edad (9). La muestra poblacional estaba integrada por 300 individuos sanos de ambos sexos con edades comprendidas entre 0 y 85 años y habitantes de Zaragoza. En todos ellos se determinó la concentración sérica de hierro por colorimetría, de transferrina y ferritina por nefelometría y ferritina por ELISA.

En la figura 3 se representan los resultados de hierro, ferritina y transferrina séricas en la muestra de población infantil diferenciada en tres grupos etáricos: de 0 a 2, de 2 a 6 y de 6 a 13 años. En este rango de edad no existen diferencias en la sideremia relacionadas con el sexo.

Aparece una disminución del hierro sérico en el segundo grupo, de 2 a 6 años. Puede ser debido al cambio que se produce a esa edad en los hábitos dietéticos. Para este mismo grupo la transferrina está aumentada para permitir una mayor absorción del metal y la ferritina, que se relaciona con las reservas de hierro, disminuidas.

Por otra parte, el primer grupo de 0 a 2 años parece evidenciar el suplemento dietético para paliar el déficit de hierro en la leche.

En la figura 4, se expresan los resultados del estudio del metabolismo del hierro en la muestra de la población adulta. Se han diferenciado los sexos y cuatro grupos etáricos: 14-35, 35-45, 45-55 y 55-85 años.

Como era de esperar, se observan diferencias significativas en hierro, transferrina y ferritina con relación al sexo, debido a las pérdidas fisiológicas de la mujer.

Existe una correlación positiva entre la edad y la concentración de ferritina. La edad y la concentración de transferrina correlacionan negativamente.

Clásicamente, en nuestra población se aporta sistemáticamente hierro a la dieta de las mujeres con edades comprendidas entre los 35 y 45 años a las que se considera un grupo de riesgo de siderodeficiencia. Este hecho explica el aumento de los niveles séricos de sideremia y ferritina en el grupo etárico.

En los hombres, el grupo segundo (35-45 años), expresa una disminución de la sideremia con un incremento de los niveles de ferritina y transferrina, lo que sugiere no una deficiencia de hierro sino, tal vez una mala distribución de este elemento.

Si comparamos nuestros resultados con otras referencias bibliográficas (11, 12, 13 y 14) encontramos que en general nuestra población tiene niveles séricos de hierro inferiores a los descritos como normales en otros medios. Las causas no están suficientemente claras pero pueden estar relacionadas con cambios en las costumbres dietéticas y socioculturales.

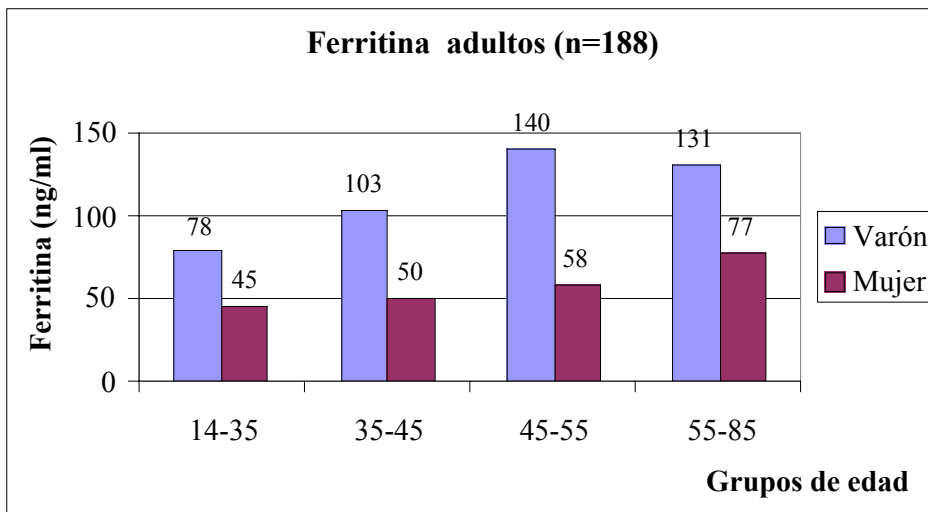
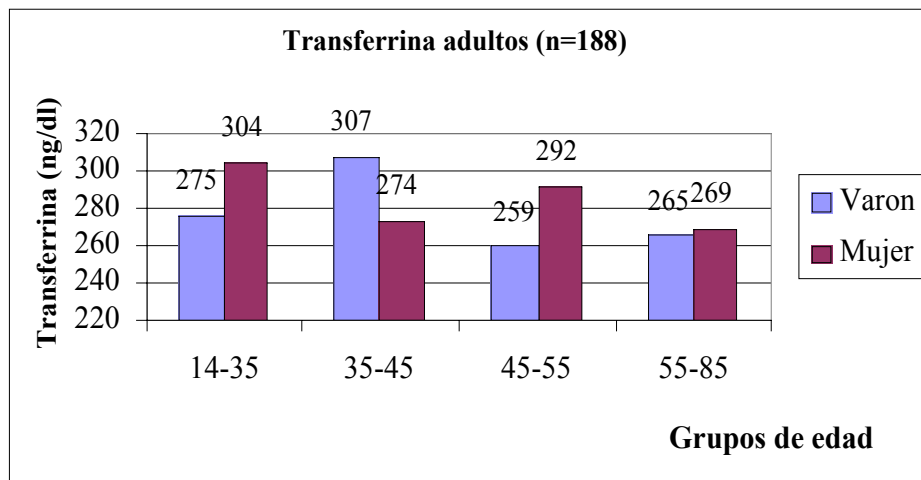
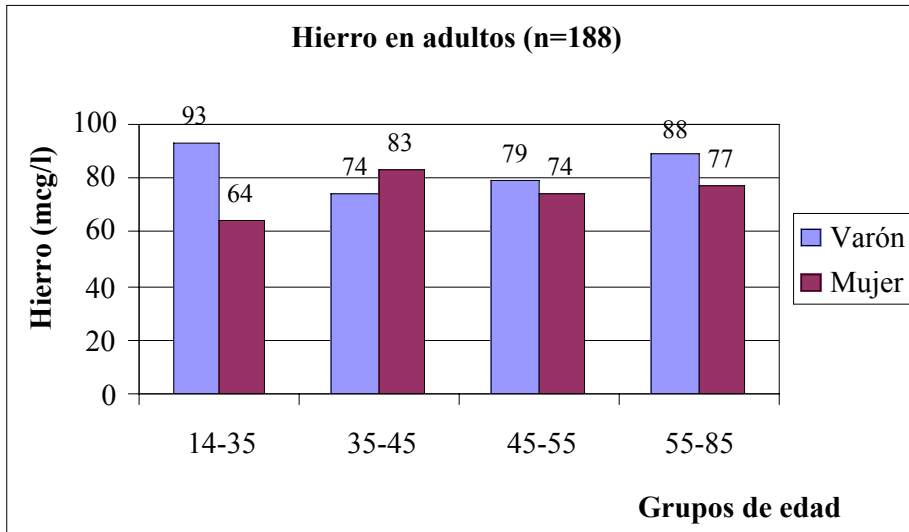


Figura 4.—Hierro sérico, transferrina y ferritina en población adulta.

2.3.2 EL PLOMO

Las Naciones Unidas a través del Programa para el Medio Ambiente (2), consideran que el plomo, junto con el cadmio, el mercurio, el anhídrido carbónico, los óxidos de nitrógeno y los oxidantes fotoquímicos es uno de los seis productos químicos que entrañan más riesgo para el medio ambiente mundial. La Academia Nacional de Ciencias Americana (3) estima que cerca de 600.000 toneladas de plomo llegan cada año al medio ambiente. Su vida media en la ecosfera es muy larga acumulándose tanto en determinados espacios (ríos, suelos etc.) como en organismos vivos (plantas, animales y seres humanos), diseminándose de forma irregular en función de los ciclos biogeoquímicos de cada medio y lugar.

Hace unos 4000 años los egipcios usaban el óxido de plomo en cosmética. Los fenicios explotaron los yacimientos de la Península Ibérica hacia el año 2000 a. de C. Documentos de Hipócrates (370 a. de C.) Dioscórides (100 a. de C.) y Plinio (27 d. de C.) ya describen la intoxicación por plomo. Incluso Nriagu (4) atribuyó la caída del Imperio Romano al saturnismo endémico que padecían sus clases dirigentes. Si bien hasta la Edad Media la intoxicación ocurría principalmente en las clases acomodadas por uso de sales de plomo y recipientes de este metal en uso doméstico, a partir del siglo XIX el saturnismo se convierte en la principal enfermedad laboral de la metalurgia.

Actualmente se considera al saturnismo como una enfermedad pediátrica. Los niños son especialmente sensibles a la neurotoxicidad del plomo debido a la vulnerabilidad de su sistema nervioso central en desarrollo. La Conservation Society (5) advirtió en 1980, de la existencia de una pandemia infantil de intoxicación por plomo a bajos niveles.

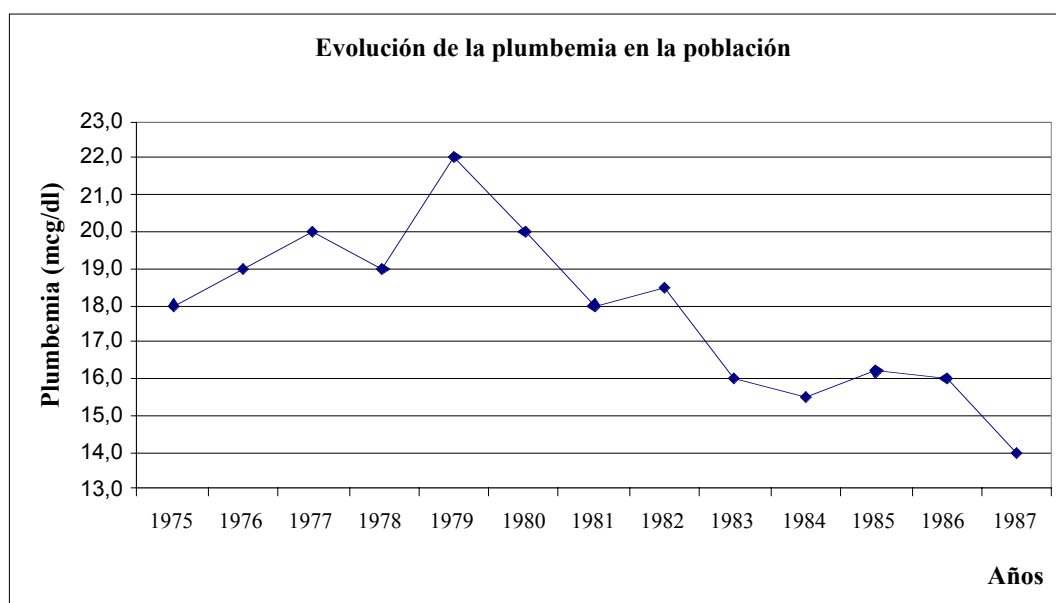


Figura 5.—Evolución de la plumbemia en la población.

Existen pocos datos de plumbemia en la población española, menos por supuesto, en

la aragonesa. Los estudios retrospectivos, realizados en nuestro laboratorio en 1987 y que se incluían en la tesis doctoral de la Dra. Teresa Abadía (6) con una muestra de 500 individuos de la población aragonesa adulta y sana, 284 mujeres y 216 varones, todos mayores de 14 años, determinaron que la plumbemia media en aquel momento era de 13.27 ± 4.47 mcg / dl. Esta cifra es similar a las que se encuentran en la bibliografía europea y americana. Más interesante que la cifra en si misma es considerarla como referencia para el estudio de la tendencia. Entre los años 1975 y 1987 la plumbemia evolucionó como que se indica en la figura 5. Puede apreciarse una disminución a partir del año 1979 que se mantiene hasta la actualidad posiblemente debida a las reducciones de plomo en las pinturas, los alimentos, el agua, el aire y sobre todo en las gasolinias. Igualmente se demostró que en nuestra población la plumbemia de individuos que residen en zona rural es más elevada que la de los habitantes de zonas urbanas de forma estadísticamente significativa, figura n 6 seguramente debido en parte a la persistencia del uso de compuestos de plomo en pinturas y fitosanitarios y también al mayor consumo de vino que se evidenció como uno de los principales vectores alimentarios de plomo en nuestra región. La figura 7 representa la diferencia estadísticamente significativa del consumo habitual de vino con respecto a los valores de plumbemia en varones. Para ello se consideraron dos tipos de categorías: los abstemios y los bebedores habituales de vino con consumo diario en las comidas. Se descartaron los individuos bebedores que declararon ingestas habituales significativas de otras bebidas alcohólicas bien fueran licores o cerveza.

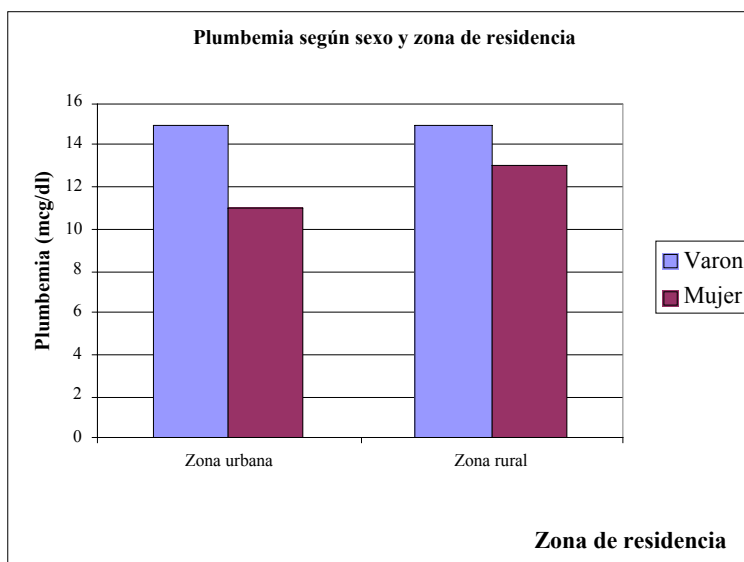


Figura 6.—Plumbemia según sexo y residencia.

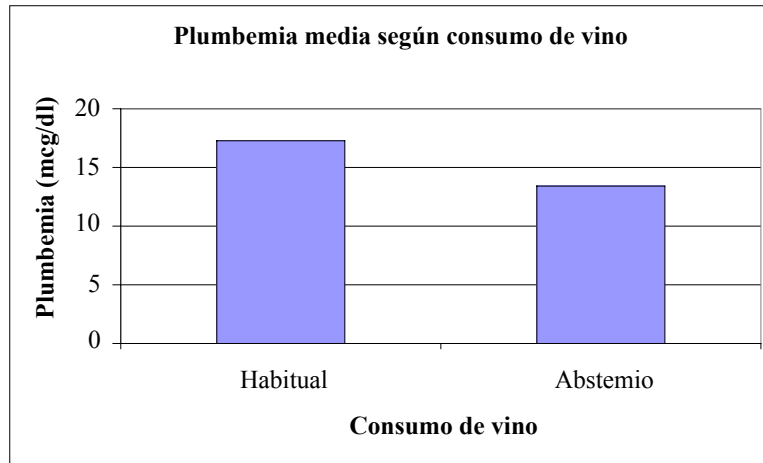


Figura 7.—Niveles de plumbemia en media según consumo de vino ($p < 0.001$).

2.3.3 EL CINCO

En 1934, Todd (29) demostró la necesidad de incluir el cinc en la nutrición animal y humana. Veinte años más tarde se describía el papel de este elemento en determinadas patologías humanas (30, 31). Prasad (32, 33, 34, 35) describió desde la década de los 60 en distintos trabajos, las acciones provocadas por la deficiencia de cinc en distintas patologías.

Como suele ocurrir con otros micronutrientes esenciales, no importa tanto el contenido absoluto de cinc en la dieta sino la biodisponibilidad del compuesto o especie que lo incluye. Es conocido que la posibilidad de absorción de sulfato, acetato o Zn-metionina es muy superior al óxido del metal. Dado que se acepta la escasa probabilidad de la existencia del ión libre en la luz del intestino, su disponibilidad depende fundamentalmente de la estabilidad del complejo formado y por término medio suele ser del 20% de la cantidad ingerida.

Los fitatos contenidos en cereales y leguminosas producen complejos Zn-fitato particularmente estables mientras que los complejos Zn-aminoácidos o Zn-proteínas son fácilmente dissociables, y por lo tanto, presentan la mejor disponibilidad del cinc. Taninos, ácido ascórbico, tiamina, oxalato y los fitatos son los principales factores limitantes de su absorción entérica. Incluso algunos autores (36) consideran la relación molar fitato/Zn como indicador de la disponibilidad de la dieta en cinc. Fracciones iguales o superiores a 20/1 deberían producir patología carencial.



Figura 8. Paciente antes del tratamiento

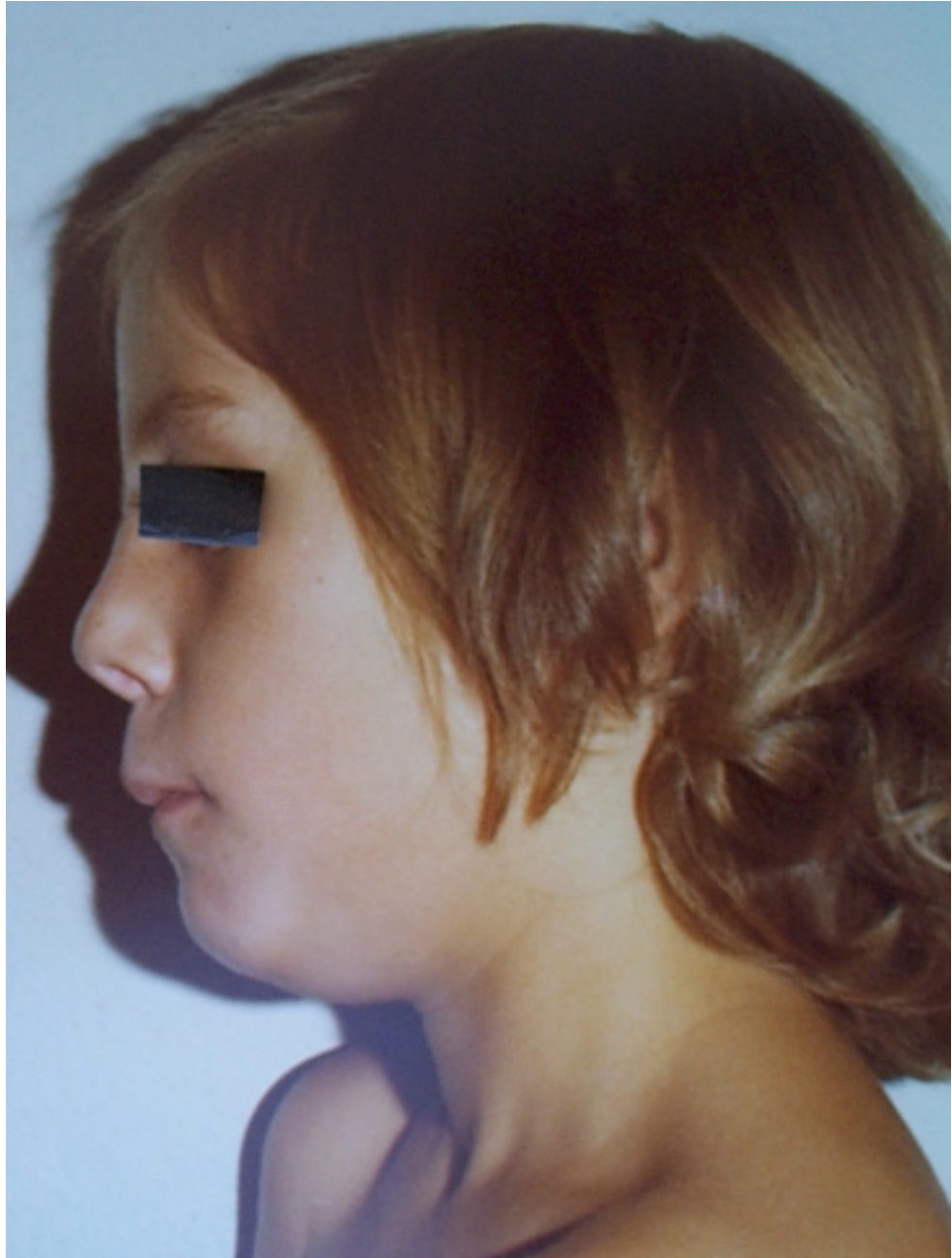


Figura 9. Paciente después del tratamiento



Figura 10. Paciente años después

En 1976, unos meses después de que Moynahan (7) publicase en Lancet que la *acrodermatitis enteropática*, hasta ese momento una enfermedad mortal, tenía como característica patognomónica la hipocinquemia severa, y era susceptible de tratamiento con aportes en la dieta de sulfato de cinc, nuestro laboratorio puso a punto un método analítico de cinc en suero por espectrofotometría de absorción atómica (8) pudiendo demostrar este síndrome en una familia de la provincia de Zaragoza a cuyos niños mi amigo el Dr. Luis Ros Mar, del Servicio de Pediatría, les había hecho el diagnóstico de presunción. Este hecho fue de vital importancia fundamentalmente para los niños afectados por la enfermedad y que fueron diagnosticados, tratados y controlados entonces, pero también demostró la rentabilidad clínica de la espectrometría de absorción atómica. En las figuras 8,9 y 10 se puede apreciar una de las pacientes antes y después del tratamiento con cinc y años después en el día de su boda.

Posteriormente, durante el periodo 1979-1989, se analizó el cinc sérico de 3581 muestras de sangre de niños residentes en Zaragoza con edades comprendidas entre 1 y 14 años sin enfermedades presumiblemente asociadas al metabolismo del cinc.

Se calculó la media anual de la cinquemia de la muestra poblacional en cada uno de los años del periodo a estudio, y se observó una progresiva disminución de la tasa con un mínimo en el año 1985. En los años posteriores los valores muestran un significativo incremento (véase Figura 11).

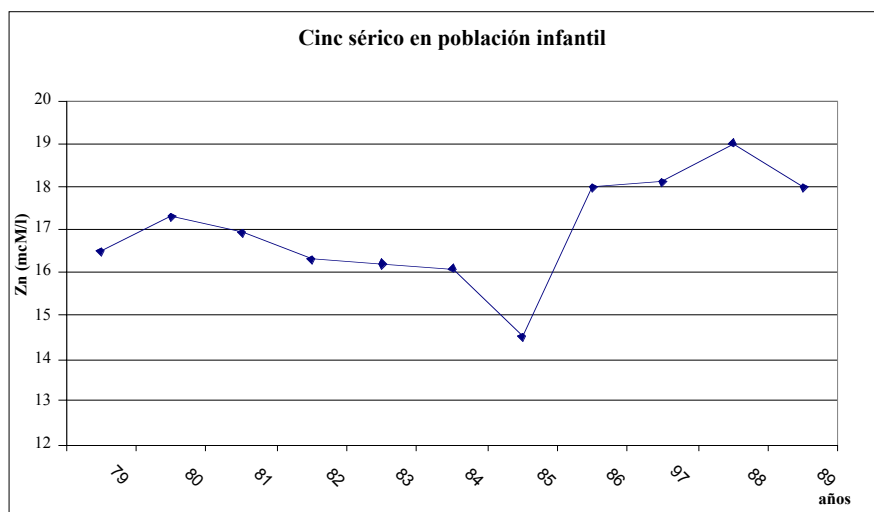


Figura 11.—Evolución anual del cinc sérico en niños.

Se sospechó que estas variaciones en la cinquemia infantil estuviesen relacionadas con el aporte por el agua de consumo. A tal efecto se obtuvo, a través del Instituto Municipal de Higiene y de la Confederación hidrográfica del Ebro, los datos analíticos de cinc,

cloruros, sulfatos y conductividad de las aguas de consumo de la ciudad. Es necesario aclarar que el suministro de agua en Zaragoza se ha realizado, históricamente, a través del Canal Imperial de Aragón, que capta agua del río Ebro a 90 kms aguas arriba de la ciudad. Figura 12 punto A (anales HMS pp 12. Como este suministro es progresivamente insuficiente se complementa con caudales procedentes del propio río desde la Estación de Bombeo de la Almozara situada en el barrio zaragozano del mismo nombre, (Figura 12 punto B) provocando una variación importante en el contenido mineral del agua debido a los aportes salinos, sulfatos y cloruros, que el río recibe de su margen izquierda desde Tudela a Zaragoza.

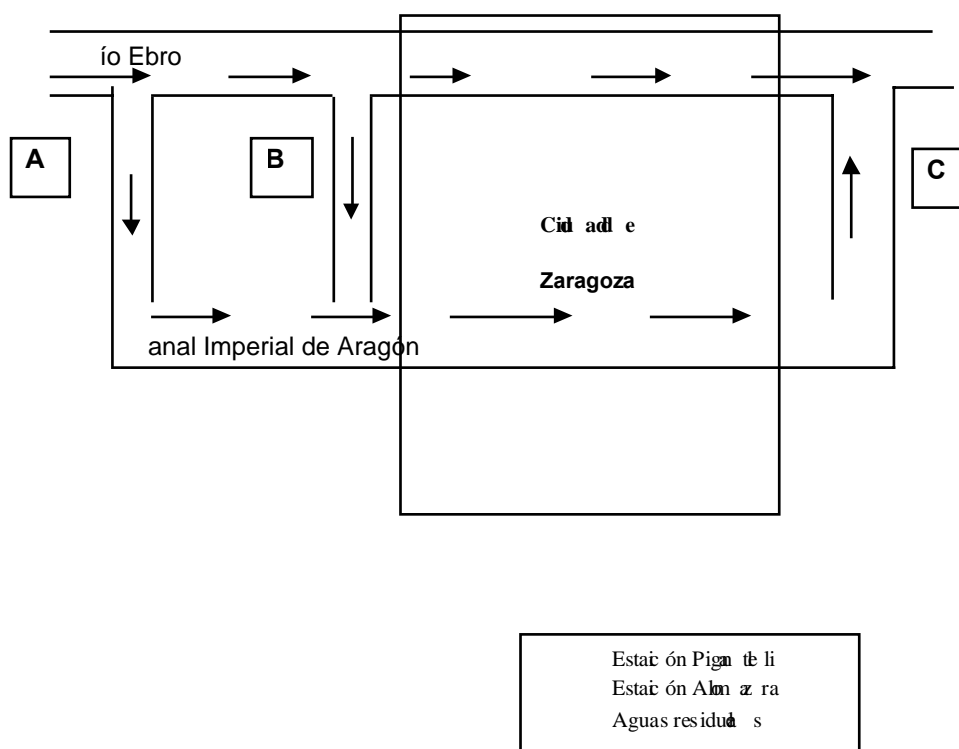


Figura 12.—Esquema de los suministros de agua de la ciudad.

No se detectaron diferencias significativas de cinc en el agua de ambas captaciones, puntos A y B de la figura, siendo en ambas del orden de 10 mcg/l. Paradójicamente la concentración de cinc en las aguas residuales de la ciudad fue del orden de 100 mcg/l. Igualmente hay un importante incremento de la conductividad entre el agua del Canal y la correspondiente al Ebro en la Almozara.

En la figura 13 se representa el número de días al año que fue necesario el suministro de agua a la ciudad desde la Estación de Bombeo de la Almozara. Se observa que a partir de 1984 este aporte aumenta significativamente.

Considerando que el volumen de agua bombeado en un día desde la Almozara es una cantidad constante podemos establecer una recta de regresión entre las variables días

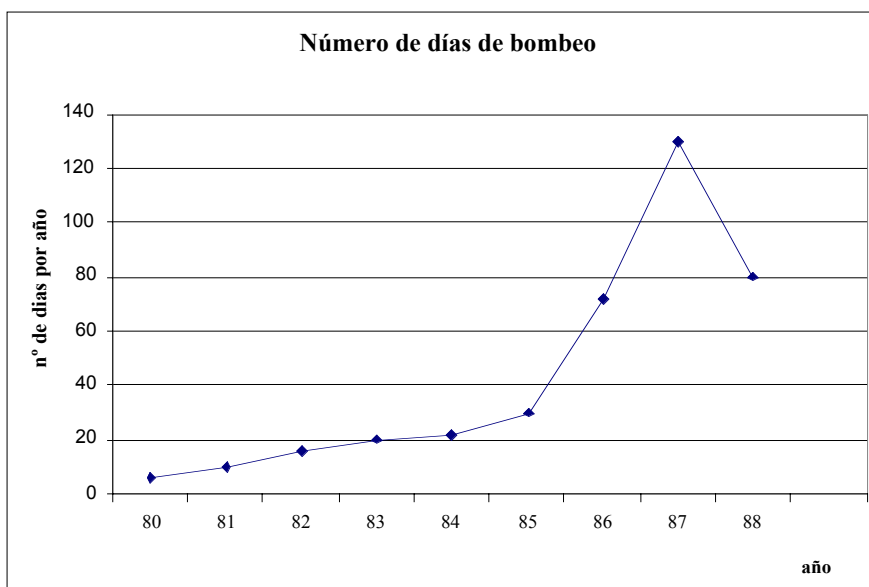


Figura 13.—Días al año de suministro directo de agua desde la estación de la Almozara.

de bombeo/año y conductividad del agua de consumo medida en mcMHOS/cm con una fuerte relación positiva ($r=1$; $F=19$; $P= 0.0046$). El intervalo de confianza del 95% de la pendiente de esta recta de regresión indica que por cada día de bombeo de agua de la Almozara se prevé un incremento medio de conductividad de 1 a 3 mcMHOS/cm. Figura 14.

Al relacionar el cinc sérico de la muestra poblacional infantil expresado en mcM/l con la conductividad de las aguas de consumo se observa una fuerte correlación positiva con la conductividad de las aguas de consumo. ($r=1$; $F=8$; $P= 0.02$).

En consecuencia se dedujo que la variación de la cinquemia en la población infantil estaba relacionada con la salinidad del agua de consumo, la cual claramente depende del punto de captación.

La corrosión del cincado de las tuberías domésticas de hierro galvanizado, fenómeno que se relaciona con la salinidad, puede explicar el aumento de cinc en las aguas de vertido y de la cinquemia en la población.

El estudio puso de manifiesto la importancia de la calidad del agua de consumo como aporte de metales en la dieta y por lo tanto en la salud humana. Si bien los valores de cinquemia en la población infantil de Zaragoza se encuentran en niveles óptimos, hay que valorar que la corrosión no solo puede liberar cinc de las tuberías sino con toda probabilidad otros metales como plomo cadmio cromo etc. Los efectos negativos de la salinidad del agua de consumo en la salud han sido ampliamente tratados en la bibliografía y fundamentalmente se han relacionado con la hipertensión y la litiasis renal. En consecuencia es sanitariamente de enorme interés cualquier esfuerzo para mejorar el agua de consumo

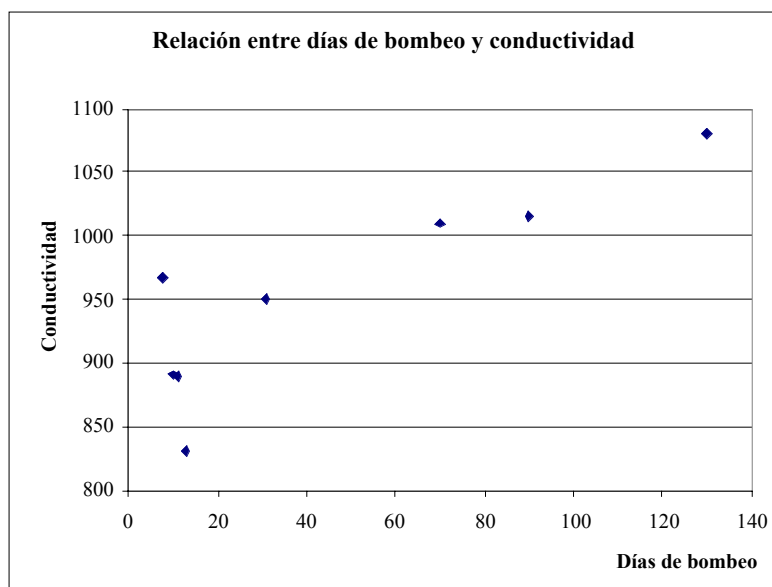


Figura 14.—Relación entre los días de bombeo de agua del Ebro y la conductividad media del agua de consumo en mcMHOs/cm.

de Zaragoza, ciudad donde residen el 50% de los aragoneses.

2.3.4 EL ALUMINIO

Como ya hemos dicho, los elementos traza se caracterizan, unos por ser esenciales para el normal funcionamiento del organismo y otros por su toxicidad a determinados niveles. Hasta hace relativamente poco se consideraba al aluminio como un elemento inerte con relación al hombre. Todavía en la actualidad no se le atribuye ninguna función positiva en la fisiología humana, habiéndose descrito múltiples efectos bioquímicos perjudiciales. Cuando existe acumulación en tejidos, tanto en animales de experimentación como en el hombre, pueden producirse importantes alteraciones clinicopatológicas.

A pesar de la abundancia y ubicuidad de este elemento en el ambiente se encuentra en concentraciones muy pequeñas en diversos tejidos del organismo, lo que demuestra la existencia de barreras fisiológicas de protección a sus efectos. Determinadas circunstancias pueden alterar estas barreras. Uno de los factores que pueden modular la absorción, como posteriormente se demostró en nuestro laboratorio, son los depósitos de hierro en forma de ferritina.

Si bien se utiliza aluminio como antiácido gástrico desde los años 20, fue en 1972, cuando Alfrey (22) describió en cinco pacientes sometidos a hemodiálisis, un síndrome neurológico, exponiendo sus propiedades tóxicas. En aquel momento la epidemia de encefalopatías y osteopatías dialíticas provocadas por aluminio fue de tal magnitud que la Unión Europea, entonces C.E.E., tuvo que legislar acerca del contenido aluminico de las

soluciones utilizadas en el proceso de la hemodiálisis y sobre todo en las aguas de consumo. Esta normativa, de 15 de junio de 1980, establece, para las aguas potables, un nivel guía de 50 mcg/l y una concentración máxima admisible de 200 mcg/l.

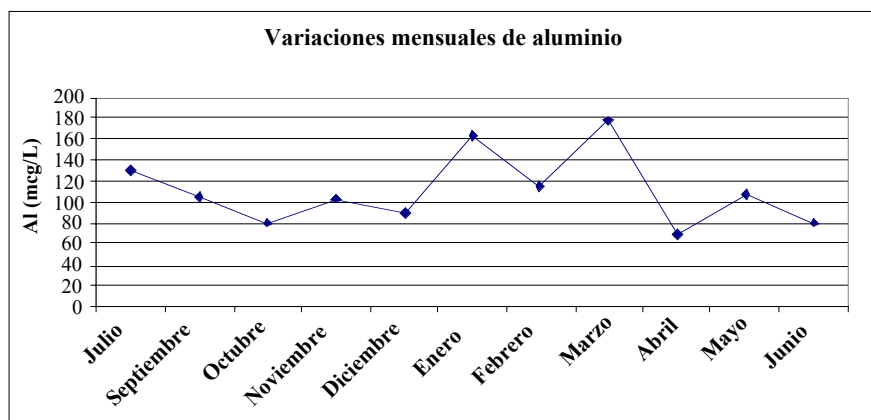


Figura 15.—Variaciones mensuales de aluminio en agua.

En nuestro laboratorio, la Dra. Zapatero, realizó un estudio longitudinal del contenido alumínico del agua de Zaragoza desde julio de 1991 al mismo mes de 1992. La recogida de muestras se realizó con periodicidad semanal, en el mismo punto y a la misma hora durante 48 semanas. La media aritmética de las concentraciones halladas fue de 114 ± 47.1 mcg/dl. Las variaciones mensuales y estacionales, durante el periodo de estudio, se representan en las figuras n 15 y 16 . Puede observarse como durante los meses de invierno se alcanzan los niveles mas altos de aluminio incluso superan, en el mes de marzo, la concentración máxima permisible según la normativa europea. Posiblemente el motivo es la mayor cantidad de alúmina utilizada en la estación depuradora para tratar la turbidez del agua por los aportes de arcilla en el agua en épocas de crecidas del Ebro.

Sin duda alguna el agua de consumo es el factor ambiental que más influye en la impregnación alumínica de la población y les afecta de manera generalizada a los habitantes de cualquier ciudad. En los últimos años distintos estudios epidemiológicos han relacionado el aluminio del agua de consumo urbano con determinadas patologías, especialmente con la enfermedad de Alzheimer. Si bien estos trabajos no demuestran una relación causa efecto, si establecen relación de asociación (24, 25, 26, 27, 28).

Entre los grupos poblacionales con más posibilidad de sufrir patología asociada a la intoxicación alumínica se destacan los lactantes, a causa de la inmadurez de sus barreras fisiológicas; los ancianos, debido al declive fisiológico de la función renal y a la pérdida de eficacia de las barreras gastrointestinal y hematoencefálica; y sobre todo, los pacientes de insuficiencia renal, a los que con frecuencia se trata con hidróxido de aluminio para disminuir la absorción de fósforo.

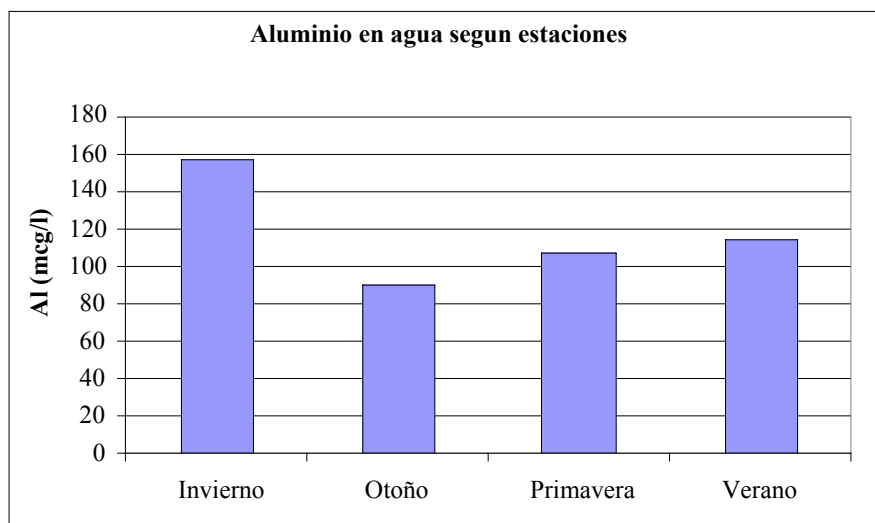


Figura 16.—Variaciones estacionales del aluminio en agua.

Estos antecedentes obligaban a conocer el estado de nuestra población respecto al riesgo potencial de la intoxicación aluminica. En la bibliografía se considera a la concentración de aluminio en plasma sanguíneo como la magnitud de elección para monitorizar la exposición al metal (20). En nuestro Laboratorio se analizan las concentraciones de aluminio en las muestras por espectrofotometría de absorción atómica electrotermica con corrector de fondo mediante efecto Zeeman.

En España el primer trabajo acerca de la impregnación de aluminio en la población sana lo realizaron Fernández et al. en 1989 (15) en una muestra de 75 individuos. En nuestro servicio D. Zapatero (16) estudió la aluminemia en 356 individuos adultos sanos y 110 niños residentes en la ciudad de Zaragoza. Igualmente estudió la influencia que determinados factores tales como sexo, edad y determinados estados patológicos, o algunas condiciones ambientales o dietéticas, fundamentalmente el agua de bebida, ejercen en la impregnación aluminica de la población.

En la figura 17 se representa la distribución de aluminemia hallada en una muestra de la población de Zaragoza. Consideramos como valores habituales en nuestro medio para adultos 7.25 ± 3.3 y para niños 7.25 ± 3.5 mcg/l. No existen diferencias significativas de la aluminemia respecto al sexo, sin embargo la edad la incrementa de forma estadísticamente significativa a partir de los 60 años. Figuras 18 y 19 . Consideramos estos valores como habituales ya que para considerarlos normales deberíamos de poder disponer de una población ideal aislada. Estos niveles de aluminemia deben en consecuencia considerarse como usuales en nuestro medio sin que necesariamente se correspondan con un nivel asociado de buena salud, pero son la referencia para la detección de grupos de riesgo o para

el diagnóstico de las impregnaciones accidentales o laborales.

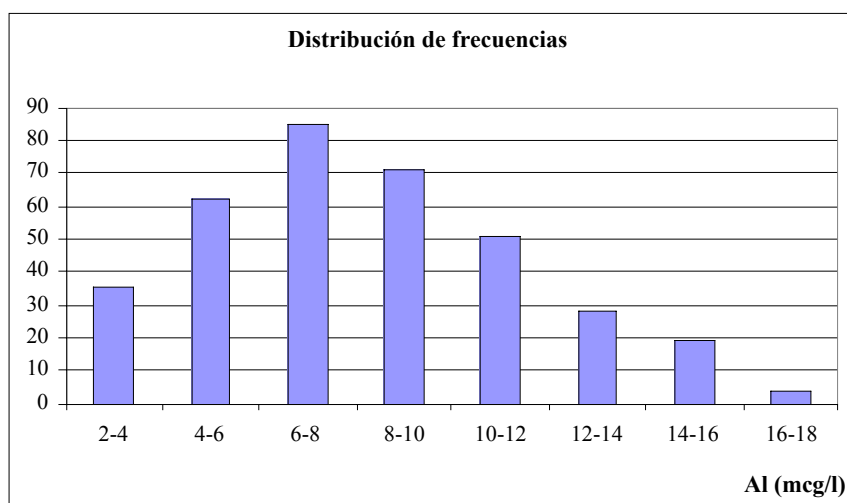


Figura 17.—Distribución de frecuencias del aluminio en suero en población adulta de Zaragoza.

| | n | Media | Desviación estándar | Error estándar |
|-------|----|-------|---------------------|----------------|
| Varón | 60 | 8,6 | 3,9 | 0,5 |
| Mujer | 61 | 8,7 | 3,6 | 0,5 |

Comparación (t de Student) entre grupos no significativa ($p = 0.9$)

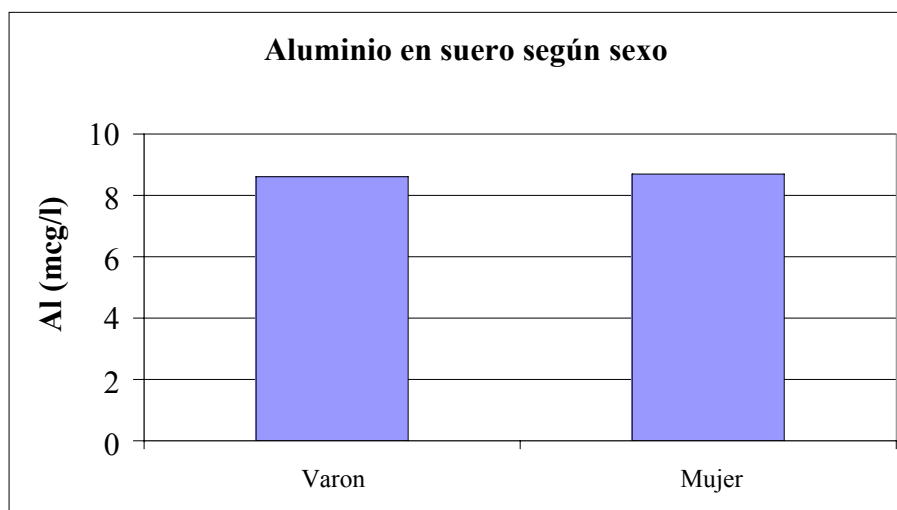


Figura 18.—Comparación del aluminio en suero según sexo.

Los valores de aluminemia de publicados para otras poblaciones, varían ampliamente según los trabajos. Los factores que influyen fundamentalmente en la divergencia de datos son la antigüedad de la publicación, la localización geográfica de la población estudiada, la edad de los individuos de la muestra, su dieta, así como otras variables relacionadas con la sensibilidad y precisión de la técnica analítica empleada.

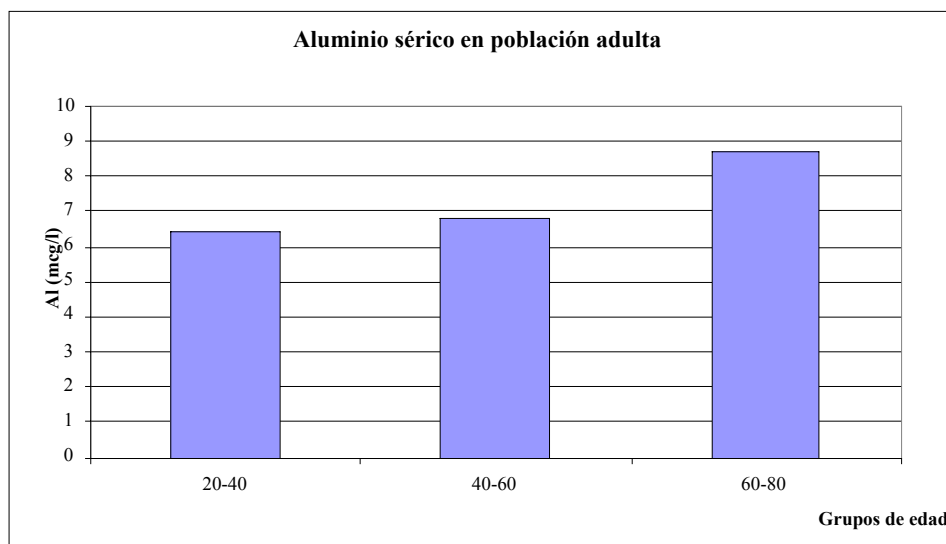


Figura 19.—Comparación del aluminio sérico según grupos de edad.

| | Media | Desviación estándar | Error estándar |
|------------|---------------------------------|-------------------------------------|----------------|
| 20–40 años | 6,4 | 0,3 | 0,3 |
| 40–60 años | 6,8 | 2,8 | 0,3* |
| 60–80 años | 6,7 | 3,7 | 0,3* |
| | Contrastes pruebas de Sheffé | * significativo 95% de confianza | |

Epidemiológicamente tiene interés conocer las características poblacionales que influyen en los valores habituales de aluminemia. Algunas de estas características están relacionadas con el medio ambiente, principalmente el agua de bebida y la alimentación pero también la edad, funcionamiento renal etc. tienen una demostrada influencia en el grado de impregnación aluminica.

En primer lugar se estudio la aluminemia en niños por sus especiales características de inmadurez fisiológica y por su dependencia nutricional de las fórmulas lácteas. nicamente, a partir de la 38 semana de vida, se alcanza una tasa de filtración glomerular similar a la del adulto. Para ello se estudiaron 110 niños lactantes agrupados por su edad:

Grupo 1.– inferior a 3 meses

Grupo 2.– entre 3 y 6 meses

Grupo 3.– superior a 6 meses

El valor de la aluminemia encontrada fue de 9.66 ± 8.69 mcg/l, sin que existan diferencias significativas entre los grupos etários. Estos mismos niños se agruparon según el tipo de formula láctea utilizada en su dieta: leche materna, leche hidrolizada y leche adaptada. Los resultados para cada grupo son los siguientes:

Cuadro 1.—Influencia de la fórmula láctea en la aluminemia del lactante

| fórmula | número | aluminemia |
|-------------------|---------------|----------------------|
| Leche materna | 61 niños | 5.2 ± 1.93 mcg/l |
| Leche adaptada | 27 niños | 6.0 ± 1.54 mcg/l |
| Leche hidrolizada | 10 niños | 8.1 ± 3.83 mcg/l |

Aplicando un análisis de varianza se pudo afirmar que las aluminemias de la población lactante difieren en su conjunto según el tipo de alimentación láctea recibida. El superior contenido de aluminio sérico en niños alimentados con las fórmulas lácteas artificiales se debe en parte al contenido en este metal de los preparados (38, 39) y además al agua utilizada en su preparación.

En 1985, Freundlich et al.(19) publicaron los primeros fallecimientos de niños urémicos a causa de la toxicidad alumínica, provocada por la elevada contaminación de las formulas lácteas utilizadas en su alimentación.

Otro grupo de riesgo lo componen los ancianos. En nuestro medio la aluminemia aumenta con la edad, bien a causa de la impregnación a lo largo de la vida y además por la disminución de la efectividad de las barreras fisiológicas, gastrointestinal y hemoencefálica. A ello se suma el cúmulo del metal producido por la disminución del aclaramiento renal a lo largo de la vida. Combinando estos factores puede decirse que en nuestra población existe un grupo de riesgo de cúmulo de aluminio definido por las personas mayores de 60 años con un deterioro de la función renal definido por valores de creatinina en suero iguales o superiores a 1.2 mg/dl (16).

Entre la población de edad tiene especial interés la posible asociación entre la impregnación alumínica y las demencias seniles. A este interés contribuyen principalmente los trabajos que demuestran una relación de asociación entre la concentración de aluminio en las aguas de consumo y el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer y de otra parte el hecho de que la calidad del agua de la red urbana de Zaragoza sea, como se ha indicado con anterioridad, manifiestamente mejorable. Por estos motivos, en 1994, nuestro laboratorio realizó con una muestra de habitantes de Zaragoza un estudio caso control de la aluminemia en pacientes afectos de síndrome de Alzheimer con respecto a otras demencias seniles y a grupos etarios apareados (40). En el grupo de otras demencias se incluyeron demencias degenerativas primarias, alcohólicas y por multiinfarto. En el grupo de pacientes diagnosticados de Alzheimer probable la aluminemia fue de 13.06 ± 5.9 mcg/l valor significativamente superior no solo a la población normal (9.41 ± 3.92 mcg/l) sino también al correspondiente al grupo de afectos de otras demencias seniles no Alzheimer

(9.10 ± 2.71 mcg/l). En consecuencia solo los pacientes afectados de Alzheimer tienen una aluminemia media superior a los pacientes con otras demencias seniles y su correspondiente grupo etáreo control de edad. Sin embargo, los pacientes con demencia senil no Alzheimer, no se diferencian significativamente de su correspondiente grupo control de edad. Según Naylor (42), los pacientes de Alzheimer pueden padecer una individualizada respuesta cerebral determinada genéticamente a un mantenimiento de niveles de aluminio aumentados.

La absorción gastrointestinal de aluminio puede estar influida, entre otros factores, por el metabolismo del hierro. Ambos elementos parecen compartir una serie de propiedades comunes tales como la utilización conjunta de la transferrina como proteína transportadora plasmática, los depósitos conjuntos de hierro y aluminio en los lisosomas de la médula ósea y la afinidad similar por determinados quelantes. A pesar de ello existen trabajos publicados (16,17) que coinciden en afirmar que la aluminemia no correlaciona con los depósitos de hierro en el organismo medidos mediante la ferritina plasmática en poblaciones sin insuficiencia renal. Sin embargo, la tesis del Dr. Manuel González Enguita (18) y otros trabajos de nuestro grupo (41), demostraron una correlación positiva y significativa cuando se relaciona la ingesta de aluminio en forma de hidróxido, de uso terapéutico, y la aluminemia sérica en una población de pacientes cuya tasa de ferritina plasmática era inferior a 100 ng/ml. Estos pacientes, hiperabsorbedores de aluminio, pueden ser considerados como grupo de riesgo.

Finalmente, y en cumplimiento de la normativa vigente (directiva 86/C184/04 de la U.E.), nuestro servicio controla la impregnación alumínica de los pacientes sometidos a programas de hemodiálisis en todos los hospitales de Aragón que pertenecen a la red pública. Ello nos permite realizar un seguimiento continuo de estos pacientes que suponen el principal grupo de riesgo respecto a la intoxicación alumínica. Encefalopatía, osteopatía y anemia se asocian en la literatura a la impregnación alumínica en insuficientes renales crónicos en diálisis prolongada. La fuente responsable de estas intoxicaciones son principalmente las aguas y líquidos de diálisis pero igualmente contribuye de manera significativa el uso terapéutico de hidróxido de aluminio, para disminuir la absorción de fósforo en el tracto digestivo.

La estricta aplicación de la normativa europea, incluido el obligatorio control bioquímico de los pacientes, ha producido una espectacular reducción de la impregnación alumínica de estos y de la patología que conlleva (43).

En el siguiente cuadro se indican comparativamente los resultados de los controles de aluminemia en 1984 y 1995 de los pacientes sometidos a hemodiálisis en Aragón:

Es decir, en 1995 más del 98% de los pacientes tenían una aluminemia inferior a 100

Cuadro 2.—Evolución de los controles de aluminemia en hemodializados

| Aluminemia (mcg/l) | < 100 | 100–200 | > 200 |
|---------------------|--------|---------|--------|
| % de pacientes 1984 | 74.2 % | 14.0 % | 11.8 % |
| % de pacientes 1995 | 98.4 % | 1.6 % | 0.0 % |

mcg/l y ninguno, en Aragón, alcanzaba los 200 mcg/l. En estos pacientes demostramos posteriormente que su tasa de aluminio sérico depende del tiempo de permanencia en el programa de hemodiálisis y del tipo de quelante utilizado, cuadro 3 (44).

Cuadro 3.—Relación entre tiempo en programa de hemólisis y quelante de fósforo utilizado (de Pérez Beriain y col (44) modificado)

| | < 2 años de diálisis | > 2 años de diálisis | |
|---|--------------------------------------|--------------------------------------|---------|
| Al(OH) ₃ como quelante del fósforo | N=39 Media=27.1 µg/l D.S.=15.7 | N=47 Media=33.5 µg/l D.S.=20.2 | N=86 |
| Otros aquelantes no aluminicos | N=69 Media=13.9 µg/l D.S.=11.7 | N=38 Media=17.6 µg/l D.S.=12.5 | N=107 |
| | N = 108 | N = 85 | N = 193 |

2.4 El selenio

El reconocimiento de la importancia fundamental que el selenio tiene en la salud humana es de absoluta actualidad. Solamente en el MEDLINE, durante el año 2000, aparecen 145 trabajos cuyo título incluye la palabra selenio y 331 que lo relacionan. La revista Lancet le dedica, en su número 9.225 del pasado mes de julio de 2.000, una completa revisión sobre este elemento (21).

Desde su descubrimiento por Berzelius en 1.817, entre los subproductos de la fabricación del ácido sulfúrico, no se le reconoció propiedad biológica alguna hasta que en 1957 Schwartz y Foltz (45) lo identificaron como uno de los oligoelementos esenciales para la nutrición animal. El Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) publicó en 1973 un informe en el que se afirma que “*el selenio es un oligoelemento esencial que no puede ser reemplazado por otros nutrientes*”. En el mismo año, Rotruck et al. (48), demostraron que la enzima glutation-peroxidasa, que junto a la vitamina E son

los principales agentes frente al estrés oxidativo, contiene selenio en su molécula. En 1978 Forstrom et al. (49) describieron la zona de actividad de esta enzima en el hígado de rata como selenocisteína.

Entre 1979 y 1981 dos equipos de investigadores independientes demostraron la reversibilidad de los síntomas clínicos en dos síndromes presumiblemente atribuidos a carencia de selenio: La enfermedad de Keshan (46) y la distrofia muscular aparecida tras periodos prolongados de nutrición parenteral (47).

En efecto, el selenio en forma de selenocisteína es el componente de diversas selenoproteínas algunas de las cuales poseen un importante papel en la fisiología como enzimas (50). Estas enzimas selenodependientes suelen localizar la selenocisteína en su centro activo.

Los últimos cinco años han supuesto una verdadera eclosión de trabajos de investigación sobre el papel de este oligoelemento en la fisiología animal y humana. Como consecuencia, en la actualidad se han identificado alrededor de 35 selenoproteínas en muchas de las cuales se desconoce su función en el metabolismo. En el cuadro 4, extraído de Rayman (21), se indican aquellas selenoproteínas con una acción fisiológica relevante y conocida.

Estos conocimientos permiten explicar con mayor precisión los efectos patológicos de su carencia y han despertado, paralelamente, el interés de los mecanismos que regulan su ingesta en el ser humano con especial interés en el ciclo suelo – planta – animal – hombre.

En suelos con pH alto, predomina el selenio como selenato fácilmente utilizable por plantas que sirven de base para piensos o directamente consumibles por el hombre. A pH ácido el selenio se encuentra a concentraciones inferiores en forma de selenitos cuya biodisponibilidad es mucho menor. Por otra parte los regadíos intensivos, en los que se cultiva alfalfa, maíz, soja y otros componentes de los piensos, provocan un empobrecimiento por lavado del selenio en el suelo, disminuyendo la concentración en los vegetales producidos. No es sorprendente que los primeros efectos de la deficiencia de selenio fuesen descritos, en la década de los años 50, por veterinarios e ingenieros agrónomos. Estas carencias han tenido en distintos países importantes consecuencias no solo para la salud humana sino también económicas.

La deficiencia de selenio en el hombre puede ocasionar la predisposición a determinadas enfermedades y el mantenimiento de condiciones de salud exige su corrección. El estado carencial no solo puede ser la causa inmediata de algunos síndromes, sino también puede favorecer la progresión de otros muchos.

En la actualidad la carencia de selenio en el ser humano está asociada a múltiples patologías y fundamentalmente:

Cuadro 4.—Selenoproteínas con funciones fisiológicas mas conocidas. (De Rayman MP, modificado)

| Selenoproteínas | Funciones |
|---|---|
| Glutation-peroxidasas GPx1, GPx2, GPx4 | Enzimas antioxidantes: Eliminan el peróxido de hidrógeno, modulan la síntesis de eicosanoides modificando la inflamación y disminuyen el daño oxidativo de lípidos, lipoproteínas y DNA. |
| Selenoproteína de la cápsula mitocondrial del esperma | Forma de la GPx4: protege el desarrollo de las células espermáticas de daño oxidativo, así como su madurez y estabilidad. |
| Iodotironina-desiodinasas (tres isoformas) | Producción y regulación del nivel de hormona tiroidea activa T3 a partir de la tiroxina T4. |
| Tioredoxina-reductasas (se suponen tres isoformas) | Reducción de los nucleótidos en la síntesis del DNA; control del estado redox intracelular; reguladoras de la expresión genética por control redox de la unión de factores de transcripción al DNA. |
| ISelenofosfato-sintetasa SPS2 | Necesaria para la síntesis del selenofosfato precursor de la selenocisteína y por tanto de la síntesis de las selenoproteínas. |
| Selenoproteína P | Proteína plasmática que parece tener un efecto protector de las células endoteliales frente al ataque de peroxinitritos. |
| Selenoproteína W | Necesaria para la función muscular. |
| Selenoproteína del epitelio prostático (15kDa) | Localizada en las células epiteliales de la próstata ventral. Parece tener una función redox similar a la GPx4. Quizás posee acción protectora de las células secretoras frente al carcinoma. |
| Selenoproteína unida al DNA de las espermátides (34kDa) | Actividad similar a la glutacion-peroxidasa. Producida en estómago y núcleo de los espermatozoides. Puede proteger el desarrollo del esperma. |
| Selenoproteína de 18 kDa | Producida en riñón y otros órganos. Conservada incluso en los estados de deficiencia en selenio. |

Cáncer:

Hasta la década de los años 60 se consideró al selenio exclusivamente como posible agente cancerígeno. Sin embargo los estudios epidemiológicos realizados a partir de los años 70, paralelamente a la evidencia de su carácter esencial, han demostrado una razón inversa entre la ingesta del elemento y la mortalidad por cáncer. En 1977, Schrauzer et al.(51), demostraron una correlación inversa entre la ingesta de selenio en la dieta de 27 países y su índice de mortalidad por cáncer ajustada a la edad. En animales estos autores demostraron una fuerte relación entre incidencia de cáncer de mama y dieta carente de selenio.

Estudios posteriores en humanos refuerzan los efectos beneficiosos de un alto *status* de selenio en el ser humano. Un estudio caso control realizado en 1998 con 9000 individuos finlandeses demostró la asociación entre riesgo de cáncer de pulmón y baja tasa de selenio en sangre (52). Otros estudios prospectivos refuerzan las asociaciones entre los estados carenciales del oligoelemento y la incidencia de determinados tipos de cáncer como el hepatocelular (53, 54) y fundamentalmente de próstata (55, 59). El US National Cancer Institute ha aprobado la realización de un ensayo SELECT (Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trail) a 12 años con una muestra de 32000 individuos de sexo masculino a los que se suplementa su dieta con 200 mcg/día de selenio como selenometionina y vitamina E estudiando su efecto sobre la incidencia del cáncer de próstata. A este respecto se sospecha que el papel protector del selenio sobre este cáncer implica a la selenoproteína de 15 kDa producida en las células del epitelio glandular de la próstata ventral (56). A pesar de que numerosos datos epidemiológicos y clínicos sugieren que el selenio puede prevenir el cáncer de próstata, el mecanismo de acción no es bien conocido todavía. Algunos trabajos (58) revelan al selenito como un potente inductor de la apoptosis en las células normales y neoplásicas de la próstata, mientras que la selenometionina parece producir la inhibición del crecimiento celular maligno de forma selectiva y dosis-dependiente.

La relación entre bajos niveles de selenio y riesgo de cáncer de próstata, así como los efectos beneficiosos de la suplementación del oligoelemento en la dieta, son tan evidentes que, en la actualidad, ha cobrado enorme fuerza, entre la Urología mundial, preconizar medidas de suplementación en selenio de la dieta en la población como prevención, eficaz y eficiente, del cáncer de próstata (60, 61, 62). Entre estos trabajos, los resultados de un ensayo doble-ciego realizado por Clark et al. (63) en el Arizona Cancer Center parecen sugerentes: suplementando la dieta diaria con 200 mcg de Se frente a placebo en 974 varones con historia previa de carcinoma cutáneo de célula basales o células escamosas durante 10 años, demostraron que el grupo tratado presentó una significativa reducción (63%) de la incidencia de cáncer de próstata así como de la incidencia total de cáncer

y de la mortalidad. Otro estudio prospectivo de cohortes (Harvard-based Health Professionals' Cohort Study, 55), realizado con 34000 varones americanos, en los que se midió la concentración de selenio en uñas del pie, como expresión del status de selenio, demostró igualmente la asociación inversa entre la ingesta de selenio y el cáncer de próstata. En 1998 Giovannucci (64) publicó un comentario en Lancet, basado en los dos trabajos anteriormente citados, en el que explícitamente afirma que la evidencia de los conocimientos sobre cáncer de próstata hace prioritaria para la salud pública la suplementación de selenio en la dieta toda vez que las cantidades empleadas en los ensayos de intervención es inferior a las dosis tóxicas. El Profesor Giovannucci de la Escuela de Salud Pública de la Universidad de Harvard, ha sido invitado a pronunciar la conferencia de apertura del I Congreso de la Federación Europea de Sociedades de Elementos Traza y Minerales (FESTEM), celebrado en Venecia el pasado mes de mayo de 2001, precisamente sobre la prevención del cáncer mediante determinados elementos traza. La importancia del tema lleva incluso a la Urología a plantearse una actitud más preventiva en el ejercicio de la especialidad (65).

Alteraciones de la inmunidad:

Existen numerosos trabajos que sugieren que una depleción de selenio conlleva una disminución de la respuesta inmune. Hay que destacar que las mayores concentraciones de selenio en el organismo se encuentran en órganos directamente relacionados con la inmunidad tales como hígado, bazo y ganglios linfáticos, en consecuencia pueden quedar afectadas tanto la inmunidad mediada por células como la humoral (57).

Por otra parte la suplementación con selenio a individuos con seleniemia normal produce efectos estimulantes en la proliferación de linfocitos T activados y una respuesta acentuada a la estimulación con antígenos (67).

El mecanismo parece estar estrechamente relacionado con un efecto sobrerregulador del selenio en la expresión de receptores de la citosina interleuquina 2 sobre la superficie de linfocitos activados y células *killer* facilitando su interacción con la interleuquina 2.

Los trabajos más recientes (11) sugieren que el papel del selenio en el sistema inmune puede ser mucho más diverso que el que se sospechaba.

Alteraciones en la reproducción:

Es bien conocido el efecto que el déficit de selenio produce sobre la frecuencia de abortos en la práctica veterinaria (68). Otros trabajos encuentran bajas cifras en selenio en mujeres que han sufrido abortos recurrentes durante el primer trimestre de embarazo posiblemente debido a la disminución del efecto antioxidante protector de la glutatión-peroxidasa sobre las membranas biológicas y el DNA (69,70).

También el selenio es esencial para la fertilidad masculina. Son funciones selenode-

pendientes la biosíntesis de la hormona testosterona y la producción y normal desarrollo de los espermatozoides (71).

Hipotiroidismo:

Como ya se ha indicado, la familia de las deiodinasas es selenodependiente. Esta circunstancia puede tener especial relevancia en regiones como Aragón, en las que existe hipotiroidismo endémico.

Miocardopatías:

En 1996 el Prf. J. Neve describió al selenio como un factor de protección frente a la enfermedad cardiovascular (72). Ello se debe al efecto de la GPx disminuyendo la oxidación de los lípidos y la agregación plaquetaria. La GPx4 reduce los hidroperóxidos de los fosfolípidos y los ésteres de colesterol asociados a lipoproteínas disminuyendo la acumulación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas, en la pared arterial.

Numerosos trabajos han intentado, en consecuencia, establecer asociaciones entre bajo *estatus* de selenio y riesgo de enfermedad cardiovascular, pero los resultados no son en general significativos. Sin embargo, el trabajo multicéntrico EURAMIC de Kardinaal (73) y col. desarrollado en 10 zonas distintas, demostró que esta asociación entre riesgo de miocardiopatía y déficit individual en selenio, se produce y es estadísticamente significativo en poblaciones con niveles bajos de este elemento. Por otra parte la disparidad entre los resultados de este tipo de estudios puede ser explicada por el efecto de otros antioxidantes tales como la vitamina E, compensando parcialmente el déficit en selenio.

Conocida la influencia que ejerce el selenio sobre la salud humana era obligado conocer la situación al respecto de la población aragonesa. Los estudios epidemiológicos sobre la seleniemia en la población española son limitados y a veces contradictorios, cuadro 5. Hasta el año 2000 no habían aparecido estudios referidos a Aragón.

Cuadro 5.—Valores de selenio sérico en poblaciones de adultos españoles

| Referencia | Muestra | Valores | Año |
|---------------------------------------|---------|-----------------|------|
| Hospital Clínico (Barcelona) (75) | 150 | 80.7 ± 10 | 1997 |
| Facultad de Veterinaria (Murcia) (76) | ... | 87.0 ± 14 | 1997 |
| Facultad de Farmacia (Valencia) (77) | 287 | 53.03 a 108.96* | 1996 |
| Facultad de Farmacia (Granada) (78) | 130 | 74.9 | 1995 |
| Hospital Germán Trías (Badalona) (79) | 92 | 53.35 a 67.45* | 1990 |

*Para un intervalo de confianza del 95%

Sin embargo, en 1955, un grupo investigador de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza evidenció zonas carenciales de selenio, realizando medidas de la GPx en ganado ovino en

la provincia de Zaragoza (74). Estas zonas corresponden al somontano del Moncayo, la cabecera del Río Jiloca y los regadíos intensivos de la margen izquierda del Río Ebro, figura 20. En esta situación conocer el estado de nuestra población con respecto al selenio no era solo obligado sino también urgente.

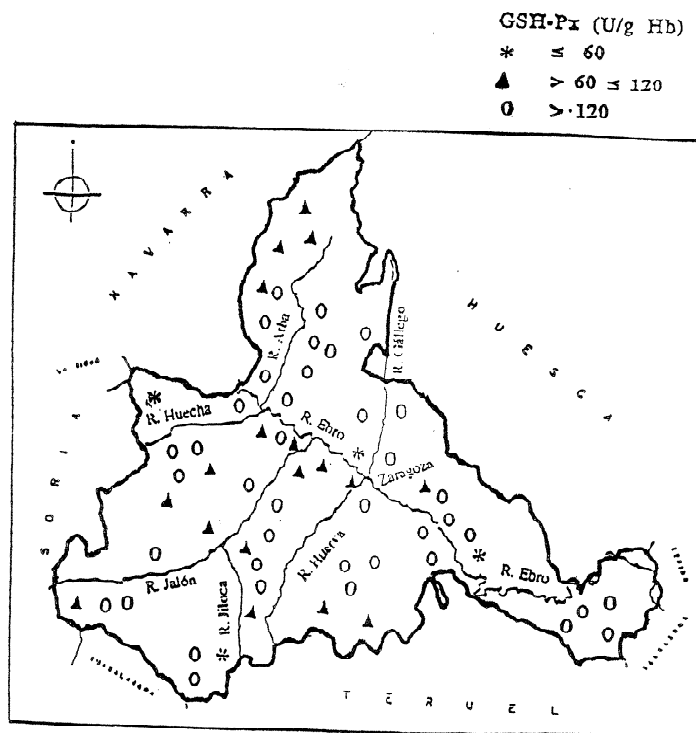


Figura 20.—Distribución de los niveles de Glutathione peroxidasa en los rebaños de la provincia de Zaragoza (de Sáez Gutiérrez et al.).

En consecuencia nuestro grupo viene trabajando para conocer la concentración media de selenio sérico en los aragoneses con especial atención en determinados grupos de riesgo o afectados de patologías que la bibliografía asocia a déficit en este elemento tales como las madres gestantes y los recién nacidos, enfermos con insuficiencia renal, enfermos con hiperplasia benigna o maligna de próstata etc.

Los resultados preliminares del estudio para la población normal (80) se expresan en el cuadro 6, indicando para cada grupo etario los valores medios ± 2 DS, que incluye el 95 % de los individuos analizados. No se disgregan los datos en función del sexo porque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Las determinaciones analíticas se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica con cámara de grafito y corrector de fondo por efecto Zeeman, usando solución de nitrato de paladio como modificador de matriz. Las muestras cumplen los criterios de igualdad y homogeneidad de varianzas. La comparación de las medias con el test de ANOVA muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$).

Cuadro 6.—Valores de selenio sérico en la población normal de Zaragoza

| Muestra | número | selenio (mcg/l) | media \pm 2 DS |
|-----------------------------|---------------|------------------------|------------------------------------|
| Neonatos de 0 a 28 días | 247 | 31.20 | 14.70 a 44.66 |
| niños de 29 días a 1.9 años | 17 | 51.24 | 20.38 a 82.09 |
| niños de 2 a 10 años | 44 | 71.63 | 49.16 a 94.09 |
| de 10 a 20 años | 24 | 78.02 | 54.32 a 101.71 |
| de 21 a 40 años | 86 | 76.44 | 53.60 a 99.27 |
| de 41 a 60 años | 72 | 77.85 | 51.89 a 103.80 |
| de 61 a 80 años | 95 | 73.40 | 42.47 a 104.32 |
| más de 80 años | 20 | 62.94 | 34.55 a 91.32 |

Puede observarse que las concentraciones de selenio varían a lo largo de la vida del individuo, siendo los valores más bajos los correspondientes al nacimiento. Posteriormente, la seleniemia aumenta hasta los 20 años, manteniéndose estable durante la madurez y apreciándose un descenso a partir de los 65 años.

Entre los 247 neonatos estudiados, un 52% presentaron valores inferiores a 30 mcg/l que la bibliografía considera propia de patología carencial. Este hallazgo tiene especial relevancia al considerar que el hipotiroidismo es endémico en determinadas comarcas de nuestra Comunidad Autónoma, situación que puede comprometer el futuro desarrollo intelectual del niño y entre cuyas causas no solo pudiera incluirse la carencia de yodo sino también la insuficiencia de las desiodinasas, enzimas selenodependientes, de las que depende la transformación de la tiroxina T_4 en T_3 .

Dado que la madre es la única fuente de suministro posible de elementos traza en el recién nacido, se analizaron 265 mujeres en el momento del parto con una seleniemia media de 50.70 ± 20.60 mcg/l, cifra sensiblemente inferior a la correspondiente a la población adulta normal. En un 2% de estas madres la concentración sérica de selenio era inferior a 30 mcg/l, y por lo tanto sufrían carencia de este elemento.

Entre las patologías asociadas al déficit de selenio hemos elegido, por su frecuencia en la población, el infarto agudo de miocardio (IAM) y la hiperplasia de próstata.

Existen suficientes evidencias que relacionan el déficit de selenio con un mayor riesgo de enfermedades miocárdicas (73). Incluso se ha publicado que las personas con seleniemia inferior a 45 mcg/l tienen un riesgo 2.9 veces superior a la población normal para sufrir enfermedad coronaria (72). En nuestro medio hemos demostrado que los pacientes que sufren por primera vez un episodio de esta patología presentan, en el momento de su ingreso en el Servicio de Urgencias, una seleniemia media inferior a la normal (59.20 ± 11.1) siendo

la diferencia estadísticamente significativa para $p < 0.001$ (81).

Igualmente hemos comprobado el nivel sérico de selenio en pacientes varones que acuden a consultas de Urología por primera vez, con síntomas derivados de patología prostática. 197 de estos pacientes fueron diagnosticados de hiperplasia benigna y 116 de cáncer de próstata. Los pacientes afectados de neoplasia maligna presentaron una seleniemia estadísticamente inferior a la población normal y al grupo de hiperplasia benigna ($p < 0.05$) (82).

A la vista de estos resultados, Zaragoza, y posiblemente Aragón, es una zona en la que existe cierto riesgo de déficit de selenio, especialmente entre grupos de riesgo tales como madres gestantes, recién nacidos, lactantes, sujetos con edad avanzada etc.

Las ingestas actualmente recomendadas por FAO: 40 y RDA: 55 mcg/día si bien la reciente revisión del Lancet aconseja aumentarla hasta 70 mcg/día.

3. Conclusiones

Con referencia a los metales tóxicos, las medias de plomo y aluminio en nuestra población están dentro de límites considerados como admisibles. Sin embargo conviene mantener la atención sobre el contenido de aluminio en las aguas de consumo de la ciudad de Zaragoza, especialmente cuando las toman determinados grupos de riesgo como lactantes, ancianos y pacientes con insuficiencia renal. Igualmente debe mantenerse la atención respecto al contenido alumínico en las fórmulas lácteas y otros preparados alimenticios dedicados a la nutrición infantil.

Desconocemos la situación poblacional con referencia al cadmio. Su dispersión en el ambiente fundamentalmente motivado por el desarrollo de la electrónica, y sus graves efectos en la fisiología humana hacen imprescindible acometer un estudio epidemiológico con referencia a este elemento.

Respecto a los oligoelementos considerados como nutrientes esenciales, se debe extremar el control de las carencias de hierro y selenio fundamentalmente en madres gestantes y niños. Los efectos asociados de las carencias de yodo y selenio pueden afectar seriamente el desarrollo de nuestra población infantil. Precisamente el yodo es otro elemento esencial cuyo estudio epidemiológico en gestantes y neonatos aragoneses está pendiente de acometer.

Siguiendo las tendencias actuales y los resultados encontrados por nuestro grupo, parece muy aconsejable la suplementación nutricional en selenio, en las dosis aconsejadas en la bibliografía reciente, como prevención de determinadas patologías neoplásicas y degenerativas y en aquellas situaciones patológicas que conlleven un aumento del estrés oxidativo.

En nuestra comunidad no se evidencian carencias nutricionales de cobre y cinc, si bien se han diagnosticado patologías asociadas al metabolismo de estos metales como la Enfermedad de Wilson y la Acrodermatitis Enteropática.

Para terminar, quisiera haber sabido exponer la importancia que determinados elementos traza ejercen en el estado de salud de nuestra población. El mundo de los elementos traza en particular y el de los metales en general es un área del conocimiento en pleno desarrollo por sus implicaciones sobre la fisiopatología del hombre, en gran parte por descubrir.

Quiero igualmente destacar el importante papel que los Bioquímicos Clínicos desarrollan no solo para el diagnóstico rápido y preciso de la enfermedad en el individuo, sino también, en el seguimiento y control de los distintos factores nutricionales y medio-ambientales que condicionan el presente y futuro de la comunidad.

Muchas gracias.

Referencias

- [1] González de Buitrago JM, Arilla Ferreiro E, Rodríguez-Segade S, Sánchez Pozo A. Bioquímica Clínica. Ed McGraw Hill-Interamericana. Madrid 1998.
- [2] Sentinel. Boletín Informativo OMS / OIT / PNUMA. Organización Mundial de la Salud. Ginebra 1985.
- [3] National Academy of Sciences. Committee on Lead in the human Environmental. Lead in the human environmental: Washington, D.C. 1980.
- [4] Nriagu J. O. Saturnine gout among Roman Aristocrats: did lead poisoning contribute to the fall of the Empire? N Engl J Med 1985;308: 660-663
- [5] Bryce-Smith D. Stephens R. Lead or health. A review of contemporary lead pollution and a commentary on the HM Government Working Party report Lead and earth. London: Conservation Society 1980.
- [6] Abadía T. Toxicidad por plomo. Determinación de la plumbemia: Valores de referencia en nuestro medio y estudio de su variación temporal. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza 1989.
- [7] Moynahan E. Acrodermatitis enteropathica: A lethal inherited human zinc deficiency disorder (letter). Lancet II;1976: 399-400.
- [8] García de Jalón A. Sánchez Agreda M. Martínez M.P. Bassecourt M. Aportación a la determinación de oligoelementos en suero por espectrofotometría de absorción atómica. Diag Biol XXI, 359-365 1976.
- [9] Zapatero González M.D. González Ara B. Calvo Ruata M.L. González Enguita M. González Ara B. García de Jalón A. Ruiz Bajos E. Normal values versus real of iron, transferrin and ferritin in Aragonese population (Spain). Metal Ions in Biology and Medicine, vol 2 pp. 428-429. Ed John Libbey Eurotext 1992 Paris.
- [10] De Maeyer E. Adiels-Tegman M. The prevalence of anaemia in the World. World Health Stat Q 38: 302-316. 1985
- [11] Hermosa V. Mazo E. Carril J. Cordobilla JJ. , Luceño A., Zubizarreta A. Estudio prospectivo sobre la prevalencia de ferropenia en la población adulta de Cantabria. Med Clin 87: 135-140. 1986.

- [12] International Nutrition Anaemia Consultive Group. Iron deficiency in infancy and Childhood. Eds Dallman PR. And Simes MA. : The Nutrition WHO Foundation. New York 1979.
- [13] López Gómez L., Gracia JA., and Giral M. Ferropenia hoy y siempre. *Sangre* 35 (4) :299-305. 1990.
- [14] Martín LM. Santolaria F. González G. Et al.: Prevalencia de ferropenia y anemia ferropénica en una población escolar rural entre 4 a 14 años. *An Esp Ped* 30: 159-162. 1989.
- [15] Fernández JL., Macho M., Gómez E., Diaz B., Sanz A., Cannata JB. Aluminio sérico y función renal normal: efecto de la edad y de la exposición ambiental al aluminio. *Rev Clin Esp* ; 185 (8): 388-380. 1989.
- [16] Zapatero González MD. Niveles de aluminio sérico en la población de Zaragoza: estudio Transversal y factores relacionables. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza 1994.
- [17] Abreo K, Brown S, Sella M, Trapp G. Application of an erythrocyte aluminium assay in the diagnosis of aluminium-associated microcytic anemia in patients undergoing dialysis and response to desferoxamine therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 113: 50-57.
- [18] González Enguita M. Alteraciones metabólicas del aluminio y otros elementos traza (Zn, Cu y Fe) en pacientes hemodializados. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza 1992.
- [19] Freundlich M, Silleruelo G, Arbitol C, Strauss J, Faugere M. Malluche HH. Infant formula as a cause of aluminium toxicity in neonatal uremia. *Lancet* 1985; ii: 527-539.
- [20] Van der Voet GB, Marani E, Tio S, Wolff FA. Aluminum neurotoxicity. En: Graumann W, Drukker J. (ed). *Histo and Cytochemistry as a tool in Environmental Toxicology*. Progress in Histo and Cytochemistry, Fischer Verlag, Stuttgart, New York 1991; vol 23: 235-242.
- [21] Raiman M P. The importance of selenium to human health. *Lancet* 2000; 356: 233-241.
- [22] Alfrey AC; Mishell JM, Bueks J. Syndrome of dyspraxia and multifocal seizures associated with chronic haemodialysis. *Trans ASAIO* 1972; 18: 257-261.
- [23] Sánchez Agreda M. Historia de la especialidad de Análisis Clínicos en Zaragoza. *Actas del IX Congreso Nacional de Historia de la Medicina*.1991;2: 779-788.

- [24] Still CN, Kelley P. On the incidence of primary degenerative dementia vs. water fluoride content in South Carolina. *Neurotoxicology* 1980; 4: 125-131.
- [25] Voght T. Water quality and health study of a possible relationship between aluminium in drinking water and dementia. Central Bureau of Statistics of Norway. Oslo 1986; *Sosiale og økonomiske studier* 61.
- [26] Flaten T.P. Geographical associations between aluminium in drinking water and registered death rates with dementia, (including Alzheimers disease, Parkinsons disease and amyotrophic lateral sclerosis) in Norway. *Environ. Geochem health* 1989; 11 (3/4): 245-256.
- [27] Michel P, Commenges D, Dartigues JF. Study of the relationship between aluminium concentration in drinking water and risk of Alzheimers disease. *Neurobiol Aging* 1990; 11: 264.
- [28] Neri L C, Hewit C. Aluminum, Alzheimers disease and drinking water. *Lancet* 1991; 338:390
- [29] Todd WR, Elvehjem CA, Hart EB. Zinc in the nutrition of the rat. *Am J Physiol* 1934; 107: 146-150.
- [30] Vallee BL, Neurath H. Carboxy-peptidase, a zinc metalloprotein. *J Am Chem Soc* 1954; 76: 5006-5011.
- [31] Vallee BL, Wacker WEC, Bartholomay AF, Robin ED. Zinc metabolism in hepatic dysfunction. I. Serum zinc concentrations in Laenecs cirrhosis and their validation by sequential analysis. *New England J Med* 1956; 255: 403-407.
- [32] Prasad AS, Miale A, Farid Z, Sandstead HH, Schulert AR. Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypogonadism. *J Lab Clin Med* 1963a; 61: 537-549.
- [33] Prasad AS, Miale A, Sandstead HH, Schulert AR, Darby WJ. Biochemical studies on dwarfism, hypogonadism and anemia. *Arch Int Med* 1963b; 111:407-428.
- [34] Prasad AS, Oberleas D, Miller ER, Luecke RW. Biochemical effects of zinc deficiency: Changes in activities of zinc dependent enzymes and ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid content of tissues. *J Lab Clin Med* 1971; 77: 144-151.
- [35] Prasad AS. Trace Elements in Human Health and Disease. Prasad AS and Overleas D, eds. New York: Academic Press. 1976. Vol I.

- [36] Overleas D, Prasad A. Factors affecting zinc homeostasis. En: Prasad AS and Overleas D eds. Trace Elements in Human Health and Disease. New York: Academic Press. 1976. Vol I.
- [37] García de Jalón Comet A. Fraccionamiento de los óxidos de hierro en suelos, sedimentos y productos del envejecimiento del gel pardo. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza. 1977.
- [38] Bloodworth BC, Hock CT, Boon TO. Aluminium content in milk powders by inductively coupled argon plasma optical emission spectrometry. Food Addit Contam. 1991;8 (6):749-754.
- [39] Fisher CE, Knowles ME, Massey RC, McWeeny DJ. Levels of aluminium in infant formulae. Lancet 1989; 6: 1024.
- [40] Zapatero MD, García de Jalón A, Pascual F, Calvo ML, Escanero JF, Marro A. Serum aluminium levels in Alzheimers disease and other senile dementias. Biol Trace Elemen Res 1994; 47:235-239.
- [41] González M, García de Jalón A, Calvo ML, Zapatero MD, Escanero J. Serum aluminium: its relation with anemia and iron metabolism in uraemic patients on intermittent haemodialysis program. Metals Ions in Biology and Medicine. Eds. John Libbey 1992; 2: 215-219.
- [42] Naylor GJ, Sheperd B, Treiving A, McHarg A, Smith A, Ward N, Harper M. Tissue concentrations stability over time, relationship to age, and dietary intake. Biol Psychiatry 1990; 27: 884-890.
- [43] Nosti P, Zapatero MD, Calvo ML, García de Jalón A, Escanero J. Prevention of aluminium exposure in hemodiálisis patiens. Results after the application of European Guidelines in Aragon (Spain). In Therapeutic Uses of Trace Elements, ed by Neve et al. Plenum Press, New York, 1996.
- [44] Pérez Beriain RM, García de Jalón Comet, A, Zapatero González MD, Escanero Marcén JF, Calvo Ruata ML, García de Jalón Martínez A. Serum aluminium in haemodialysis patients. Metals Ions in Biology and Medicine; Eds. John Libbey Eurotext, Paris 2000; 6 :160-162.
- [45] Schwartz K, Foltz CM. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. J Am Chem Soc 1957; 79: 3292-3293.

- [46] Keshan Disease Research Group of the Chinese Academy of Medical Sciences. Observations on effect of sodium selenite in prevention of Keshan disease. *Chin Med J* 1979; 92: 471-482
- [47] Robinson MF, Campbell DR, Steward RD, et al. Effect of daily supplements of selenium on patients with muscular complaints in Otago and Canterbury. *NZ Med J* 1981; 93(683): 289-292.
- [48] Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG. Selenium biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 1973; 179: 588-590.
- [49] Forstrom JW, Zakowski JJ, Tappel AL. Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *Biochemistry* 1978; 17: 2639-2644.
- [50] Sunde RA. Selenium. In Odell BL, Sunde RA, eds. *Handbook of nutritional essential mineral elements*. New York: Marcel Dekker Inc. 1997: 493-556.
- [51] Schrauzer GN, White DA, Schneider CJ. Cancer mortality correlation studies. III. Statistical association with dietary selenium intakes. *Bioinorg Chem* 1977; 7: 35-56.
- [52] Knekt P, Marniemi J, Teppo L, Heliovara M, Aromaa A. Is low selenium status a risk factor for lung cancer. *Am J Epidemiol* 1988; 128: 975-982.
- [53] Yu M-W, Horng I-S, Chiang Y-C, Liaw Y-F, Chen C-J. Plasma selenium levels and the risk of hepatocellular carcinoma among men with chronic hepatitis virus infection. *Am J Epidemiol* 1999; 150: 367-374.
- [54] Yu SY, Zhu YJ, Li WG. Protective role of selenium against hepatitis B virus and primary liver cancer in Quidong. *Biol Trace Elem Res* 1997; 56: 117-124.
- [55] Yoshizawa K, Willet WC, Morris SJ, Stampfer MJ, Spiegelman D, Rimm EB, Giovannucci E. Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. *J. Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1219-1224.
- [56] Behne D, Kyriakopoulos A, Kalcklosh M, et al. Two new selenoproteins found in the prostatic glandular epithelium and the spermatid nuclei. *Biomed Environ Sci* 1997; 10: 340-345.
- [57] Spallholz JE, Boylan LM, Larsen HS. Advances in understanding selenium's role in the immune system *Ann NY Acad Sci* 1990; 587: 123-139.

- [58] Menter DG, Sabuchi AL, Lippman SM. Selenium effects on prostate cell growth. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000; 9: 1171-1182.
- [59] Nomura AMY, Grant JL, Stemmermann N, Combs GF. Serum selenium and subsequent risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 883-887.
- [60] Combs GF, Clark LC, Turnbull BW. Reduction of cancer risk with an oral supplement of selenium. *Biomed Environ Sci*. 1997; 10 (2-3): 227-234.
- [61] Combs GF, Clark LC, Turnbull BW. Reduction of cancer mortality and incidence by selenium supplementation. *Med Klin* 1997; 92 Suppl 3: 42-45.
- [62] Thompson IM, Coltman CA, Crowley J. Chemoprevention of prostate cancer: the prostate cancer prevention trial. *Prostate* 1997; 33(3): 217-221.
- [63] Clark LC, Dalkin B, Krongrad A, et al. Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation: results of a double blind cancer prevention trial. *Br J Urol* 1998; 81: 730-734.
- [64] Giovannucci E. Selenium and risk of prostate cancer. *Lancet* 1998; 352: 755-756.
- [65] Roehrborn CG. Acute relief or future prevention: is urology ready for preventive health care?. *Urology*. 2000; 56(5 suppl 1): 12-19.
- [66] Centellas R. Arnaldo de Villanova. Publ. n. 2160 Institución Fernando el Católico. Zaragoza .2000.
- [67] Kiremidjian-Schumacher L, Roy M, Wishe HI, Cohen MW, Stotzky G. Supplementation with selenium and human immune cell functions. *Biol Trace Elem Res* 1994; 41: 115-127.
- [68] Stuart LD, Oehme FW. Environmental factors in bovine and porcine abortion. *Vet Hum Toxicol* 1982; 24: 435-441.
- [69] Barrington JW, Lindsay P, James D, Smith S, Roberts A. Selenium deficiency and miscarriage: a possible link?. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 130-132.
- [70] Barrington JW, Taylor M, Smith S, Bowen. Simpkins P. Selenium and recurrent miscarriage. *J Obstet Gynaecol* 1997; 17: 199-200.
- [71] Ursini F, Heim S, Kiess M, et al. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science* 199; 285: 1393-1396.

- [72] Neve J. Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases. *J Cardiovasc Risk* 1996; 3: 42-47.
- [73] Kardinaal AFM, Kok FJ, Kohlmeier L et al. Association between toenail selenium and risk of myocardial infarction in European men: the EURAMIC Study. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 373-379.
- [74] Sáez Gutiérrez I, Marca Andrés MC, Ramos Antón JJ, Verde Arribas MT, Fernández Casanovas A, Sanz Lorenzo MC. Detección de carencias de selenio en ganado ovino de la provincia de zaragoza mediante la medición de la actividad Glutation peroxidasa seleno-dependiente. *I.T.E.A.* 1995; 91A (1): 5-11.
- [75] Torra M, Rodamilans M, Montero F et al. Serum Selenium Concentration of a Healthy northwest Spanish Population. *Biol Trace Elements Res* 1997; 58: 128-133.
- [76] Ortuño J, Ros G, Periago MJ et al. Importancia nutricional del selenio. *Arch Latinoam Nutr* 1997; 47 (1): 6-13.
- [77] Alegría A, Barberá R, Clemente G et al Selenium and glutathione peroxidase reference values in whole blood and plasma of a reference population living in Valencia, Spain. *J Trace Elem Med Biol* 1996; 10(4): 223-228.
- [78] Navarro M, López H, Ruiz ML, González S, Pérez V, López MC. Determination of selenium in serum by hydride generation atomic absorption spectrometry for calculation of daily dietary intake. *Sci Total Environ* 1995; 175(3): 245-252.
- [79] Fernández-Banarés F, Dolz C, Mingorance MD et al. Low serum selenium concentration in a healthy population resident in Catalunya: a preliminary report. *Eur J Clin Nutr* 1990; 44(3): 119-225.
- [80] Pérez Beriain RM, García de Jalón A, Calvo Ruata ML, Pérez Beriain MT. Selenio: valores de normalidad según grupos etarios. Comunicación presentada al XIX Congreso Nacional de la SEQC. Zaragoza, mayo de 2000.
- [81] Pérez Beriain RM, García de Jalón A, Pérez Beriain T, Calvo Ruata ML, Escanero marcén JF, Cabeza Sánchez A. Serum selenium and acute myocardial infarction (AMI). *Metals Ions and Medicine* 2000; 6: 629-631.
- [82] Pérez Beriain RM, García de Jalón Comet A, Castrillo J, Calvo Ruata ML, García de Jalón Martínez A, Borque A, Allepuz C. Serum selenium concentrations in patients with prostate cancer. Comunicación presentada al I congreso de la FESTEM. Venecia, mayo 2001.