

Instituto Nacional de Angiología y Cirugía Vascular

## **EFECTO DEL SULFATO DE CINCO SOBRE LA INMUNIDAD CELULAR EN DIABÉTICOS**

*Lic. Miriam Mahía Vilas,<sup>1</sup> Dr. Braulio Lima Santana,<sup>2</sup> Lic. Alcides Álvarez Domínguez,<sup>3</sup> Lic. Luisa E. Ramos Morales,<sup>4</sup> Lic. Luisa Pérez Pérez<sup>1</sup> y Dr. Arquímedes Díaz Batista<sup>5</sup>*

**RESUMEN:** El cinc es conocido como un metal traza esencial para el crecimiento en el organismo humano, debido a su participación en diferentes procesos enzimáticos, además de su importancia en la cicatrización de las heridas. Por su parte, los pacientes diabéticos son más susceptibles que otros a desarrollar procesos sépticos y por consiguiente, la cicatrización de sus heridas es muy retardada en el mejor de los casos; otros se ven en la necesidad de perder una extremidad. Este trabajo se realizó con el objetivo de conocer el efecto que podía ejercer la administración de sulfato de cinc sobre la inmunidad celular en pacientes diabéticos, pues los incluidos en este estudio presentaban manifestaciones clínicas de pie diabético, clasificados en pie diabético isquémico y pie diabético neuroinfeccioso. El tratamiento consistió en la administración oral de tabletas de sulfato de cinc de 220 mg tres veces al día durante un período de tiempo de 4 semanas. Se realizaron estudios con anterioridad y después del tratamiento los que incluían: concentración de cinc en suero, pruebas dérmicas de hipersensibilidad retardada, cuantificación de linfocitos T y glicemia. Se encontraron diferencias en los niveles de cinc en suero y en el número de linfocitos T según la prueba de rangos señalados y pares igualados de *Wilcoxon*. Se considera que la deficiencia de cinc actúa disminuyendo la función de los linfocitos T y con suplementos de cinc se superan estas diferencias.

**DeCS:** SULFATO CINCO; INMUNIDAD CELULAR; DIABETES MELLITUS; HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA.

El papel del cinc y su metabolismo en la función inmune ha llamado la atención en los últimos años. Las evidencias indican que el cinc puede ejercer una influencia moduladora sobre aspectos específicos de la respuesta inmune tanto *in vivo* como *in*

*vitro*, además de su conocido papel en la cicatrización de las heridas.

En numerosos estudios reportados en la literatura, han sido encontradas alteraciones en los niveles de cinc en pacientes con diabetes mellitus, las cuales han sido correlacionadas

<sup>1</sup> Licenciada en Bioquímica. Investigadora Auxiliar.

<sup>2</sup> Especialista de II Grado en Angiología.

<sup>3</sup> Licenciado en Biología. Hospital Clínicoquirúrgico «Hermanos Ameijeiras».

<sup>4</sup> Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

<sup>5</sup> Doctor en Ciencias Médicas. Especialista en Bioquímica. Investigador Titular.

con la presencia de las complicaciones diabéticas.<sup>1</sup> Se conoce que la deficiencia de cinc empeora la inmunidad celular tanto en animales de experimentación como en humanos<sup>2,3</sup> y que está relacionada con una pobre cicatrización de las heridas.<sup>4</sup>

Efectos beneficiosos han sido reportados por diferentes autores, quienes han utilizado suplementos de cinc en pacientes deficientes.<sup>5,6</sup>

El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de un tratamiento oral con sulfato de cinc sobre la inmunidad celular en pacientes con complicaciones clínicas de pie diabético, con vistas a disminuir la incrementada susceptibilidad de ellos a la infección y por consiguiente, lograr una mejoría en el estado inmunológico.

## **Métodos**

Se estudiaron 20 pacientes diabéticos con una edad promedio de 59 años y un tiempo de evolución de la enfermedad de 15 años. Recibieron como único medicamento la insulina para el control de su glicemia y tabletas de 220 mg de sulfato de cinc 3 veces al día por un período de tiempo de 4 semanas.

A los pacientes se les realizó un estudio con anterioridad y después del tratamiento para evaluar su efectividad, el cual incluía las pruebas que a continuación se relacionan:

### **CONCENTRACIÓN DE CINCO EN SUERO**

La determinación de la concentración de cinc en suero, fue realizada según una modificación utilizada por *Mahía* y otros<sup>7</sup> de las técnicas de *Paschen*,<sup>8</sup> *Seppo*<sup>9</sup> y *Lewis*,<sup>10</sup> para lo cual fue utilizado un espectrofotómetro de absorción atómica con una longitud de onda de 213 nm, el que está equipado con una llama de acetileno y fue utilizado en todas las determinaciones de cinc.

Se emplearon estándares a diferentes concentraciones con el objetivo de verificar los resultados obtenidos, los cuales fueron expresados en  $\mu\text{mol/L}$ .

### **CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS T**

Para la cuantificación de los linfocitos T, se utilizó la técnica de formación de rosetas por *Mohan*.<sup>11</sup> Se aislaron células mononucleares obtenidas de sangre heparinizada por centrifugación diferencial sobre un gradiente de densidad con Ficoll-Telebrix ( $d=1,077$ ). Estas células se ajustaron a una concentración de  $4 \times 10^6$  cel/mL, las que se enfrentaron a una suspensión estándar de eritrocitos de carnero para formar las denominadas rosetas espontáneas.

Se contaron 200 linfocitos y de ellos cuántos formaron rosetas con los eritrocitos de carnero. Los resultados se expresaron en porcentaje.

### **PRUEBA DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA (PHR)**

Esta técnica fue realizada según el método utilizado por *Mahía* y otros<sup>11,12</sup> en la cual fueron inyectados los siguientes antígenos en el antebrazo de cada paciente: tuberculina PPD-RT23, candidina y tricofitina, ambas diluidas 1:100 y estreptoquinasa 500 U/mL.

La reacción aparece después de varias horas y alcanza un máximo entre las 24 y 48 h. Los resultados se expresaron en anérgico y reactivo.

La reacción positiva se caracteriza por una induración mayor de 5 mm de diámetro que indica un estado de sensibilización y se clasifica al paciente como reactivo. Una reacción negativa o menor de 5 mm demuestra que el individuo no está sensibilizado al antígeno y por consiguiente es clasificado como anérgico.

## DETERMINACIÓN DEL CONTROL GLICÉMICO

La realización de esta técnica fue llevada a cabo por el método de la glucosa oxidasa de la casa comercial *Boehringer Mannheim*. Los resultados se expresaron en mmol/L.

En el análisis estadístico de los resultados se empleó la prueba de rangos señalados y pares igualados de *Wilcoxon*.

### Resultados

En la tabla 1 se muestra el comportamiento seguido por los pacientes ante las pruebas dérmicas de hipersensibilidad retardada realizadas con anterioridad y después de la administración del sulfato de cinc. Como se observa, aquellos pacientes que se encontraban reactivos antes de iniciar el tratamiento se mantenían en ese estado después del mismo. En el caso de los pacientes que fueron anérgicos, antes de iniciar el estudio, resultaron reactivos después del mismo, es decir, que no mantuvieron el estado de anergia. De un total de 20 pacientes estudiados, resultaron anérgicos antes del tratamiento 12 y con posterioridad todos se convirtieron en reactivos, para un 60 % del total.

TABLA 1. Relación entre las PHR con anterioridad y después del tratamiento

PHR	Estudio pretratamiento	Estudio postratamiento
Anérgico	12*	-
Reactivo	8	20
Total	20	20

\* 60 %  $p < 0,01$

Leyenda:

PHR: Prueba de hipersensibilidad retardada.

Por su parte, la tabla 2 muestra los resultados obtenidos en los parámetros estudiados con anterioridad y después del tratamiento. Como se observa, los valores de glicemia para los pacientes disminuyen después del tratamiento, lo cual indica que se acercan a los valores normales establecidos.

Para evaluar el efecto que podía ejercer el sulfato de cinc sobre la inmunidad celular en pacientes diabéticos, se aplicó la prueba de rangos señalados y pares igualados de *Wilcoxon*, y se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para las variables estudiadas.

En la figura 1 se puede observar un aumento de los niveles séricos de cinc después de 4 semanas de tratamiento. Antes del tratamiento, los niveles de cinc eran bajos, los cuales retornaron a la normalidad después de este.

TABLA 2. Parámetros estudiados en los estadios pre y postratamiento

Pruebas	Valores normales (X±DS)	Estudio pretratamiento (X±DS)	Estudio postratamiento (X±DS)
Cinc	13,3 ± 1,2	11,3 ± 1,2	16,2 ± 2,8
Linfocitos T	77,0 ± 10,0	65,9 ± 5,6	74,0 ± 3,8
Glicemia	4,5 ± 1,0	13,6 ± 2,8	10,8 ± 1,2

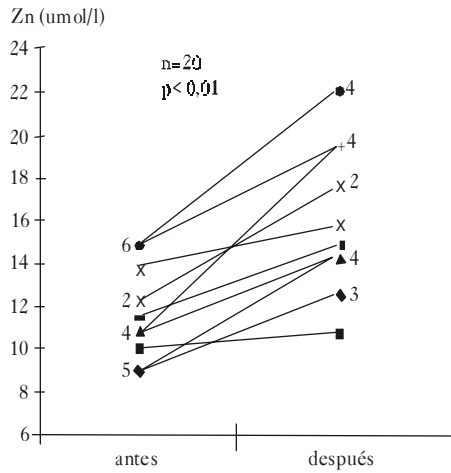


Fig. 1. Efecto del sulfato de cinc sobre el cinc sérico en diabéticos.

La figura 2, por su parte, muestra los valores obtenidos en la cuantificación de linfocitos T. Obsérvese que de 20 pacientes, sólo 4 disminuyen los valores de linfocitos T después del tratamiento, los 16 restantes por el contrario aumentan sus valores.

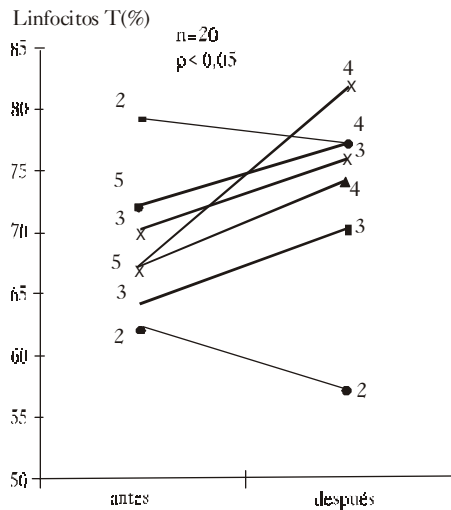


Fig. 2. Efecto del sulfato de cinc sobre los linfocitos T en diabéticos.

## Discusión

En el paciente diabético la mayor causa de morbilidad se relaciona con una disminuida función inmune, la cual conduce a una incrementada susceptibilidad a las infecciones y a la presencia del pie diabético, lo que trae por consecuencia la pérdida de la extremidad.

Los estudios sobre el cinc y la diabetes sugieren que la deficiencia de cinc ocurre en algunos diabéticos,<sup>13-19</sup> aunque el papel de la deficiencia de cinc en la patogénesis de la diabetes mellitus no está probado.

Nosotros encontramos en un estudio anterior, que los pacientes que resultaban anérgicos a las pruebas dérmicas tenían menores concentraciones de cinc en suero que los reactivos y que los del grupo control, esto pudiera estar relacionado con un sistema inmune disminuido.<sup>20</sup>

Asimismo hallamos un aumento de los niveles séricos de cinc y de la función de los linfocitos T, tanto en el número como en la obtención de un cambio favorable en las pruebas dérmicas después de suplementos de sulfato de cinc, por lo que los resultados de estas tienden a normalizarse, ya que todos los pacientes tenían bajas concentraciones de cinc en suero antes del tratamiento.

En el caso del número de linfocitos T ocurre igual y en cuanto a las pruebas dérmicas se logra que los pacientes en estado de anergia antes del tratamiento se tornen reactivos después de él.

De acuerdo con los resultados obtenidos, consideramos que el cinc juega un importante papel en un disminuido número y función de los linfocitos T, por lo que la deficiencia de cinc pudiera estar involucrada en la patogénesis de la diabetes mellitus, o quizás en la enfermedad vascular de estos pacientes, dado por la frecuente aparición de las infecciones en ellos.

**SUMMARY:** Zinc is known as an essential trace metal for growth in the human body due to its participation in different enzymatic processes in addition to its importance in wound healing. The diabetic patients are more susceptible than other to develop septic processes and, therefore, their wounds take a long time to heal at best and some of them have no alternative but to lose one of their extremities. The objective of this paper was to know the effect the administration of zinc sulphate may have on the cellular immunity in diabetic patients, since those included in this study had clinical manifestations of diabetic foot, which was classified into ischemic diabetic foot and neuroinfectious diabetic foot. The treatment consisted in the oral administration of zinc sulphate tablets 200 mg 3 times a day during 4 weeks. Studies conducted before and after treatment included: zinc concentration in serum, dermic tests of delayed hypersensitivity, quantification of lymphocytes T and glycaemia. Differences were found in the levels of zinc in serum and in the number of lymphocytes T according to the test of notable ranks and matched pairs of Wilcoxon. It is considered that the deficiency of zinc causes a decrease of the function of lymphocytes T, which is improved by the administration of zinc supplements.

Subject headings: **ZINC SULPHATE; IMMUNITY, CELLULAR; DIABETES MELLITUS; HYPERSENSITIVITY, DELAYED.**

### **Referencias bibliográficas**

1. Kinlaw WB, Levine AS, Morley JE. Abnormal zinc metabolism in type II diabetes mellitus. *Am J Med* 1983;75:273-7.
2. Denduluri S, Langdon M, Chandra RK. Effect of zinc administration on immune response in mice. *J Trace Elem Exp Med* 1997;10:155-62.
3. Keen CL, Gershwin ME. Zinc deficiency and immune function. *Annu Rev Nutr* 1990;10:415-31.
4. Creat T. Zinc and the system immune. *Ann Med Intern* 1990;141:447-55.
5. Corman LC. Effects of specific nutrients on the immune response. *Med Clin North Am* 1985;69:759-91.
6. Duchateau J, Delepreste G, Vrigens R. Beneficial effects of oral zinc supplementation on the immune response of old people. *Am J Med* 1981;70:1001-4.
7. Mahía VM, Mc Cook MJ, Cazanave MJ, Lima SB, Cardona AM, Álvarez DA. Zinc and copper serum levels and leukocyte function in diabetic patients. *Rev Cubana Med* 1989;28:491-3.
8. Paschen K. Determination in a single serum dilution by atomic absorption spectrophotometry. *Clin Chem Acta* 1971;35:401-4.
9. Seppo S. Improved direct determination of copper and zinc in a single serum dilution by atomic spectrophotometry. *Atomic Spectroscopy* 1984;5:4-7.
10. Lewis AS. Analysis of blood serum for essential metals by simultaneous multielement atomic absorption spectrometry with flame atomization. *Anal Chem* 1984;56:1066-9.
11. Mahía VM, Lima SB, Fernández MJ, Velazco AN. Efecto de la cirugía sobre el sistema inmune. Su relación con la sepsis posquirúrgica. *Rev Cubana Cir* 1988;27:5-12.
12. Alleyne SG. Diabetes un declaration for America. *Bol Of Sanit Panam* 1996;121:461-6.
13. Wautrecht JC. Vascular complications of diabetes. *Rev Med Brux* 1995;16:262-5.
14. Levin ME. Foot lesions in patients with diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996;25:447-62.
15. Mooradian A, Morley J. Micronutrient status in diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 1987;45:877-95.
16. Faustman D. Mechanisms of autoimmunity in type I Diabetes. *J Clin Immunol* 1993;13:1-12.
17. Aggett PJ. Trace elements deficiencies in man. En: Sandstrom B, Walter P, eds. *Role of trace elements for health promotion and disease prevention*. Basel:Karger, 1998:1-7.
18. Kruse-Jarres JD, Rükbauer M. Trace elements in diabetes mellitus. *J Trace Elements Med Biol* 2000;14:21-7.

19. Chausmer AB. Zinc, insulin an diabetes. J Am Coll Nutr 1998;17:109-15.
20. Mahía VM, Álvarez DA, Lima SB, García LL. Delayed hypersensitivity test and serum levels of zinc in diabetics patients. Rev Cubana Med 1995;34:3-7.

Recibido: 2 de marzo del 2001. Aprobado: 28 de marzo del 2001.

Lic. *Miriam Mahía Vilas*. Instituto Nacional de Angiología y Cirugía Vascular. Calzada del Cerro No. 1551 esq. Domínguez, Cerro. Ciudad de La Habana, Cuba.