



Revista Chilena de Nutrición

ISSN: 0716-1549

sochinut@tie.cl

Sociedad Chilena de Nutrición, Bromatología y
Toxicología
Chile

Agudelo O., Gloria Maria; Cardona H., Olga Lucia; Velásquez R., Claudia María; Parra S., Beatriz
Elena; Acosta B., Mireya; Morales M., Gladis E.; Bernal P., Carlos A.; Burgos H., Luís Carlos
CONCENTRACIÓN SÉRICA DE COBRE «LIBRE» Y CERULOPLASMINA EN NIÑOS CON
DESNUTRICIÓN AGUDA GRAVE ANTES DE INICIAR LA TERAPIA NUTRICIONAL Y AL MOMENTO
DE RECUPERAR EL APETITO EN TURBO, ANTIOQUIA, COLOMBIA
Revista Chilena de Nutrición, vol. 33, núm. 2, agosto, 2006
Sociedad Chilena de Nutrición, Bromatología y Toxicología
Santiago, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46914632008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ARTÍCULOS ORIGINALES

**CONCENTRACIÓN SÉRICA DE COBRE «LIBRE» Y
CERULOPLASMINA EN NIÑOS CON DESNUTRICIÓN AGUDA
GRAVE ANTES DE INICIAR LA TERAPIA NUTRICIONAL Y AL
MOMENTO DE RECUPERAR EL APETITO EN TURBO,
ANTIOQUIA, COLOMBIA**

**SERUM CONCENTRATIONS OF FREE COPPER AND CERULOPLASMIN IN
CHILDREN WITH SEVERE ACUTE MALNUTRITION BEFORE
NUTRITIONAL THERAPY AND AFTER CHILDREN HAVE RECOVERED
THE APETITE IN TURBO, ANTIOQUIA, COLOMBIA**

Gloria Maria Agudelo O. (1), Olga Lucia Cardona H. (1), Claudia María Velásquez R. (1), Beatriz Elena Parra S. (1), Mireya Acosta B. (1), Gladis E. Morales M. (1), Carlos A. Bernal P. (2), Luís Carlos Burgos H. (2)

(1) Grupo de Investigación en Nutrición Humana, Escuela de Nutrición y Dietética, Universidad de Antioquia, Colombia.

(2) Unidad Vida Infantil de Turbo, Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia, Colombia.

ABSTRACT

Introduction: copper supplementation therapy has been used in children with acute and severe malnutrition. Scientific evidence has shown that malnourished children with edema have free copper in plasma which could produce oxidative stress. Objective: To compared plasma concentrations of free copper between children with acute and severe malnutrition and a control group. Methodology: Cross sectional study where 66 normal and malnourished children were studied. A longitudinal study (before and after type) design was used including 40 children with severe and acute malnutrition; free copper was merasured by high-resolution capillary electrophoresis; ceruloplasmin and PCR by nephelometry. Results: In the cross sectional study children with marasmus had higher free copper serum concentrations than children with oedematous malnutrition, but the difference was not significant. In the control group this metal was not found. Children with oedema showed significant lower ceruloplasmin concentrations than children with marasmus ($p=0.00$) while the difference in PCR was also no significant for both groups. When the relationship between free copper serum concentrations and the presence of infection was analyzed no significant differences were obtained. However, serum albumin concentration was significantly lower for children with oedematous malnutrition than the marasmic group ($p=0.016$). After children recovered the appetite in the longitudinal study, serum free copper concentration decreased for both groups and ceruloplasmin concentration increased but no significant differences were observed. Conclusion: Copper supplementation could be considered as nutritional therapy for

undernourished children since the beginning of the nutritional treatment, as it is recommended by WHO.

Key Words: *marasmus; oedematous malnutrition; oedema; copper-free ceruloplasmin.*

RESUMEN

Introducción: La recuperación de los niños con desnutrición aguda grave incluye suplementación con cobre desde el inicio de la terapia; existen evidencias que niños edematosos pueden tener cobre «libre» en plasma el cual podría generar estrés oxidativo. **Objetivo:** Comparar concentraciones séricas de cobre «libre» y ceruloplasmina en un grupo de desnutridos agudos graves y un grupo control **Metodología:** estudio transversal al ingreso entre niños con y sin desnutrición en una muestra de 66 sujetos y longitudinal de tipo antes y después en 40 niños desnutridos. Se determinó cobre «libre» por electroforesis capilar de alta resolución; ceruloplasmina y PCR por nefelometría, además de variables clínicas **Resultados:** En el transversal, los marasmáticos presentaron niveles de cobre «libre» mayores que los edematosos sin diferencia significativa; en el grupo control este metal no se detectó. En los edematosos la concentración de ceruloplasmina fue significativamente menor con relación a los marasmáticos ($p=0.00$) y la PCR no presentó diferencia significativa entre ellos. No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de cobre «libre» y presencia o no de infección. La albúmina se encontró más baja en los edematosos con diferencia significativa respecto a los marasmáticos ($p=0.016$). En el longitudinal, al recuperar el apetito el cobre «libre» disminuyó y la ceruloplasmina aumentó en los dos grupos sin diferencia significativa **Conclusión:** el suplemento de cobre como componente de la terapia nutricional puede ser suministrado a los desnutridos desde el inicio como lo propone el protocolo de la OMS.

Palabras claves: marasmo; desnutrición edematosa; cobre «libre»; ceruloplasmina.

INTRODUCCIÓN

En Colombia el problema de desnutrición calórico-proteica en niños menores de cinco años, es considerado de muy alta prioridad por su magnitud, trascendencia y vulnerabilidad (1). La mortalidad por desnutrición en el Departamento de Antioquia, en menores de cinco años, registra una tasa de 20.33 por 100.000 que representa el 4.48% de la mortalidad infantil. En este Departamento, la desnutrición se mantiene entre las diez primeras causas de muerte en los menores de 4 años (2) y en los niños menores de un año, la situación es aun más grave, pues la tasa de mortalidad para 1998 fue de 58.6 por 100.000 (3). En algunas zonas como Urabá, la tasa de mortalidad por desnutrición es una de las más altas del departamento, siendo casi tres veces mayor que el promedio departamental (58.39 por 100.000). Los niños con desnutrición grave de esta localidad se atienden en el Hospital Francisco Valderrama, institución en la cual la Universidad de Antioquia puso en funcionamiento la Unidad Vida Infantil desde el año 2000. Una vez que el niño ingresa a la Unidad, la recuperación nutricional se hace en base al protocolo para el manejo de enfermedades prevalentes de la infancia (4) que busca reducir la mortalidad de estos niños de 30% a 5% (5).

Una de las novedades del protocolo de la OMS es el uso de suplementos de vitaminas y minerales antioxidantes, terapia que se fundamenta en el papel protector de algunos

micronutrientes contra el estrés oxidativo asociado con la etiología del kwashiorkor. Este protocolo recomienda el suplemento de cobre a todos los niños con desnutrición severa desde el inicio del tratamiento, sin embargo, algunos investigadores (6) sugieren evaluar su uso en el kwashiorkor, ya que se evidenció que en estos casos de desnutrición grave pueden existir metales de transición libres en el plasma por una disminución de las proteínas transportadoras (7).

Existe claridad sobre los múltiples factores desencadenantes de la desnutrición pero lo que no está claro y es tema actual de investigación, es porqué unos niños desarrollan marasmo y otros kwashiorkor como expresión extrema de desnutrición. La teoría clásica que explica porqué un niño desnutrido manifiesta alguna de las formas de desnutrición grave, atribuye el marasmo a una deficiencia de energía, y el kwashiorkor a una deficiencia de proteínas. En contraposición con el anterior postulado, Gopalan encontró en una investigación realizada en la India, que los niños con marasmo y kwashiorkor consumían la misma dieta (8). Surgió entonces la pregunta lógica ¿si no hay diferencia en la dieta que los niños consumen porqué unos desarrollan marasmo y otros kwashiorkor?

La teoría que asocia el estrés oxidativo con kwashiorkor propone que un niño severamente desnutrido expuesto a infección y/o a concentraciones altas de metales de transición libre, genera una explosión de especies reactivas del oxígeno que consumen el glutatión, lo cual podría direccionar al niño con desnutrición grave hacia kwashiorkor porque induce una mayor permeabilidad de la membrana plasmática, lo que permite la acumulación de sodio en el espacio intracelular y el arrastre de agua y la salida de potasio al espacio extracelular (9). En 1987 Golden propone que los metales de transición, entre ellos el cobre, son agentes iniciadores de la explosión de especies reactivas del oxígeno en niños desnutridos con una defensa antioxidante disminuida (10). El organismo evita el efecto oxidante de los metales de transición manteniéndolos ligados a proteínas, así el cobre se une a la ceruloplasmina. En el estudio de Ashour se encontró que esta proteína estaba disminuida tanto en los niños con marasmo como con kwashiorkor, situación que podría promover la presencia de cobre «libre» en el plasma, y aumentar las reacciones de oxidación con la consecuente producción de radicales libres (11).

No se conocen estudios entre niños con marasmo y kwashiorkor donde se comparen los valores de cobre «libre» en plasma como promotor de reacciones de oxidación. Los trabajos existentes se refieren a las concentraciones plasmáticas de cobre total, el cual incluye el ligado a las proteínas y no permite conocer la concentración de cobre «libre», término utilizado para designar aquella fracción del metal que no está unida a la proteína sino asociada débilmente a compuestos de bajo peso molecular como citrato, fosfatos y nucleótidos entre otros, por lo tanto, conserva su capacidad para participar en reacciones de óxido reducción (12). Estos trabajos reportan valores más bajos de cobre total en niños desnutridos que en niños sanos, sin diferencias estadísticas significativas entre los niños con kwashiorkor y marasmo (11,13). La investigación comparó las concentraciones séricas de cobre «libre» y ceruloplasmina entre un grupo de niños con desnutrición edematosa, otro grupo con marasmo y un grupo control antes de que los niños con desnutrición iniciaran la terapia de recuperación nutricional. Además evaluó el cambio en las concentraciones séricas de cobre «libre» y ceruloplasmina en los niños con marasmo y con edema, entre el momento de iniciar la terapia de recuperación nutricional (momento 1) y el momento de recuperar el apetito (momento 2). Todo lo anterior, con el fin de evaluar si es adecuado suministrar un suplemento de cobre desde el inicio de la terapia.

MATERIALES Y MÉTODO

Tipo de estudio. Estudio transversal y longitudinal, prospectivo, de tipo antes y después. El análisis transversal comparó las variables bioquímicas entre un grupo de niños con marasmo, otro con desnutrición edematosa y un tercer grupo control sin desnutrición, antes de iniciar la recuperación nutricional. El estudio longitudinal evaluó el cambio de estas variables en los niños desnutridos entre el momento inicial (momento 1) y cuando ellos recuperaron el apetito (momento 2), momento en el cual se alcanzan las condiciones metabólicas y fisiológicas mínimas necesarias para continuar con la siguiente etapa de recuperación nutricional (fase de rehabilitación).

Población de estudio. Niños menores de cinco años con desnutrición grave, atendidos en la Unidad Vida Infantil del Hospital Francisco Valderrama en el Municipio de Turbo (Antioquia-Colombia).

Muestra. Se definió el tamaño de muestra con el programa Primer, teniendo en cuenta los siguientes criterios: 3 grupos a comparar, un error alfa de 0.05, un poder de la muestra de 0.80, una diferencia esperada entre grupos en la concentración sérica de cobre «libre» de 0.05 μM y la DE de 0.05 μM . La diferencia se calculó considerando que un niño sano no debe tener cobre «libre», además no hay estudios que reporten datos sobre la concentración de este mineral en niños desnutridos, por lo cual el valor de 0,05 μM obedece a la cantidad mínima detectable por la técnica con la cual se midió la concentración de este mineral. La aplicación de esta fórmula determinó un número mínimo de 20 niños por grupo a estudiar, en total 60 niños.

Criterios de inclusión. Se incluyeron en el estudio los niños menores de cinco años que ingresaron a la Unidad Vida infantil del Municipio de Turbo (Antioquia) en un periodo de 9 meses con diagnóstico de desnutrición grave con o sin infección, con o sin anemia, con o sin malaria. La desnutrición fue clasificada de acuerdo a los criterios de la OMS así: marasmo, cuando el niño presentó un peso para la longitud inferior a -3 DE y no tuvo edema, y desnutrición edematosa cuando el niño presentó al menos edema maleolar independiente de la relación peso para la talla; el médico determinó la severidad del edema; todos los niños con edema hicieron parte del grupo denominado kwashiorkor. El grupo control estuvo conformado por los niños menores de 5 años que asistieron al programa de vacunación del Hospital Francisco Valderrama del municipio de Turbo con un estado nutricional adecuado; se verificó que estuvieran sanos mediante un examen médico de acuerdo con el protocolo que utiliza la estrategia de Atención Integrada a las Enfermedades Prevalentes de la Infancia (AIEPI) de la OMS.

Criterios de exclusión: Niños con edema secundario a enfermedad renal, cardíaca, endocrina ó hepática. Niños que requirieron transfusión por anemia severa: hemoglobina < 4 g/dL o entre 4-6 g/dL y disfunción respiratoria, niños con deshidratación y con malaria.

El proyecto cumplió con todas las normas éticas exigidas internacionalmente y fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Antioquia; los padres de los niños firmaron un consentimiento informado para participar en el estudio.

De acuerdo con las indicaciones del protocolo, al ingreso se realizaron las siguientes determinaciones: hemoleucograma, gota gruesa, gram de una gota de orina sin centrifugar y radiografía de tórax. Se recolectó una muestra de 5 ml de sangre de la cual se obtuvo el suero necesario para medir el cobre «libre», la ceruloplasmina y la proteína C reactiva. La primera muestra se obtuvo antes de que los niños desnutridos iniciaran la terapia de

recuperación nutricional y recibieran el suplemento de cobre, la segunda muestra se tomó una vez el niño recuperó el apetito. Se diseñó un formulario para la recolección de la información, el cual fue diligenciado por el personal de la Unidad Vida Infantil, entrenado y estandarizado previamente. Cada paciente se evaluó para obtener información relacionada con los siguientes aspectos:

Medidas antropométricas: para la toma del peso los niños estuvieron sin ropa, se utilizó una balanza mecánica Health o Meter®, con sensibilidad de 1 g. Debido a la edad y el estado de salud de los niños, la estatura se midió en decúbito supino en un infantómetro de madera con sensibilidad de 1 mm.

Consumo de fórmulas y suministro de suplementos: el personal de enfermería registró en forma exacta la cantidad de fórmula ingerida por el niño en cada toma. De la historia clínica se obtuvo la información sobre la dosis de vitaminas administradas al niño en el periodo de estudio

Diagnóstico de enfermedades asociadas: El médico realizó el examen físico y la anemia se diagnosticó de acuerdo a los niveles de hemoglobina, la malaria por gota gruesa, la infección de acuerdo al protocolo de la OMS y de acuerdo a los valores de la PRC. Los signos de complicación de la desnutrición como hipoglicemia, hipotermia, diarrea, deshidratación e insuficiencia cardíaca se diagnosticaron de acuerdo al programa Atención Integrada a Enfermedades Prevalentes de la Infancia, el cual está publicado en el protocolo de la OMS (4). Debido a la gravedad del estado nutricional, algunos niños con marasmo o desnutrición edematosa, no manifestaron infección, aunque ésta puede estar presente, por lo tanto, la OMS recomienda que todos estos niños se consideren infectados y se traten con antibióticos. No obstante, en este estudio, se consideraron como variables significativas de infección la concentración sérica de PCR, una temperatura axilar mayor de 38°C, una anomalía en la placa de rayos X consistente con infección y el gram de la gota de orina positivo para bacterias.

Pruebas bioquímicas: El material utilizado para la obtención de la muestra de sangre y suero estuvo libre de cobre para evitar la contaminación por adición exógena del mineral desde los recipientes. Para ello, se utilizaron tubos de poliestireno con tapa rosca y sin anticoagulante y agujas de acero inoxidable para extraer la sangre; las muestras hemolizadas y lipémicas se descartaron. A cada sujeto se le extrajeron 5 mL de sangre venosa con jeringa y ésta se depositó lentamente por las paredes del tubo para evitar la hemólisis. Cada tubo se rotuló con el código del niño en forma clara y visible y la muestra se centrifugó a 3000 RPM (g) durante 30 minutos para obtener el suero, el cual se recolectó en crioviales de poliestireno; dos de ellos se almacenaron a -20°C y fueron utilizados para medir las proteínas; el tercer criovial se almacenó en un tanque con nitrógeno líquido a -190°C para medir posteriormente el cobre «libre».

El traslado aéreo de las muestras de suero a la ciudad de Medellín se realizó en tanques con nitrógeno espumoso y se conservaron a -70 °C hasta el análisis.

La medición del cobre «libre» en plasma, ceruloplasmina y PCR se emplearon las siguientes técnicas:

La cuantificación de cobre «libre» en plasma se realizó por electroforesis capilar de alta resolución (14). El interés de esta investigación fue extraer el cobre «libre» presente en el suero y cuantificarlo por electroforesis capilar de zona, para lo cual se hizo un tratamiento especial de la muestra que permitió precipitar las proteínas, pero evitar su desnaturalización

y la liberación del metal desde la ceruloplasmina. De esta manera solo se cuantificó el cobre no unido a proteínas.

Las separaciones se llevaron a cabo en un equipo de electroforesis capilar (EC) modelo ^{3D}CE, Hewlett Packard; se empleó un capilar de sílica fundida de paso de luz extendida (G1600-61232) de 56 cm y diámetro interno de 50 μ m, en combinación con un detector DAD (arreglo de diodos UV/Vis); se eligió una longitud de onda de cuantificación de 272 nm que corresponde a uno de los máximos de absorbancia del complejo Cu-fenatrolina en la región UV. El procesamiento de los datos se hizo con un «software» comercial de electroforesis capilar integrado al equipo llamado, HP Chem Station.

Preparación del capilar. Antes de iniciar el análisis por CE, se lavó y se acondicionó el capilar con el fin de asegurar las condiciones físicas y químicas óptimas para la interacción del mismo con el analito.

Tratamiento de la muestra. Se eligió el ácido tricloroacético al 20%, 0,1M, que correspondió a la concentración óptima con la cual se precipitaron las proteínas sin desnaturalizarlas y quedaron en el sobrenadante sustancias tales como iones libres. Para garantizar que el cobre libre no fuera liberado desde las proteínas que lo ligan se realizaron una serie de ensayos con diferentes solventes y con dopaje de diversas concentraciones del estándar de cobre que se midieron por triplicado; el porcentaje promedio de recobro del analito en la matriz fue de 103.86% con un coeficiente de variabilidad de 3,2.

Solución «buffer». Se utilizó una solución de corrido para la separación del complejo Cu (I)-o-phe que consistió en ácido cloroacético, 0.01M, pH = 2.5. Para evitar la disociación del complejo formado, garantizar su estabilidad durante la migración y por lo tanto las condiciones óptimas de separación; se adicionó 1,10-fenantrolina en el «buffer» de corrido en una concentración 5×10^{-5} M.

Condiciones de separación. Se practicó una inyección hidrostática de la muestra por 2 segundos a 50 mbar, a una temperatura de 25°C, con un voltaje de 28 kV y con una polaridad positiva.

Cuantificación de proteínas: la hemoglobina se determinó por el método de la cianometahemoglobina (15) en el laboratorio clínico del Hospital Francisco Valderrama de Turbo. El diagnóstico de anemia se realizó con base en el criterio que define la OMS (16): una concentración de hemoglobina < 11 g/dL. El diagnóstico de malaria se realizó con base en el examen de gota gruesa. La cuantificación de la ceruloplasmina y proteína C reactiva se realizó en un nefelómetro Array. La técnica se fundamenta en una reacción antígeno-anticuerpo que produce un complejo insoluble detectado por sus propiedades ópticas. El valor normal de ceruloplasmina sérica se definió entre 204-407mg/L. Se evaluó la presencia de infección con la medición de la proteína C reactiva (PCR) y se definió la presencia de infección cuando la PCR era > 8 mg/L y sin infección cuando era \leq 8 mg/L.

Evaluación de la alimentación y suplementación: de acuerdo con el protocolo de la OMS se inició el tratamiento de recuperación nutricional con la fórmula F75 (4). Desde el primer día se le adicionó a cada 1,000 ml de fórmula para alimentación, 20 ml de la solución de electrolitos y minerales que contenía 0,56 gramos de sulfato de cobre o 2 mmol/l de cobre elemental. A partir de la cantidad de fórmula consumida en el día, se calculó la cantidad de cobre que recibió el niño en ml/Kg/día, Los niños se pesaron diariamente (17) y el médico evaluó diariamente el apetito y la ganancia de peso; se consideró recuperación del apetito, tanto en los niños con marasmo como con edema, cuando éste fue capaz de consumir más o

igual a 130 ml/Kg/día de fórmula F75 durante dos días. Cuando el niño recuperó el apetito y empezó a ganar peso, se registró la ganancia en g/kg/día, la presencia y el grado de edema y los signos de infección, utilizando para el diagnóstico los mismos criterios empleados al ingreso. En este momento se tomó la segunda muestra para determinar cobre libre en plasma, ceruloplasmina y PCR.

Análisis estadístico: se realizó con el programa SPSS 10.0. Se verificó la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilks y la igualdad de varianzas con la prueba de Levene. El análisis entre grupos utilizó ANOVA, postest Scheffe y el coeficiente de correlación de Pearson en las variables paramétricas; en las no paramétricas, se utilizó la prueba de Kruskal Wallis y el coeficiente de correlación de Rho de Spearman. El análisis longitudinal se realizó con prueba T de muestras pareadas en las variables paramétricas, y la prueba de Wilcoxon para variables no paramétricas. El análisis de variables cualitativas se realizó mediante Chi cuadrado y prueba exacta de Fisher. El nivel de significancia definido fue con un $p < 0,05$.

RESULTADOS

Estudio transversal: la muestra final estuvo constituida por 22 niños con marasmo, 24 con edema y 20 controles, en total 66 niños. En la tabla 1 se presentan los datos de la edad, el peso y la estatura de los tres grupos.

TABLA 1			
Distribución de los grupos de estudio por edad, peso y estatura			
VARIABLE	GRUPO CONTROL N=20	MARASMÁTICOS N=22	EDEMATOSOS N=24
Edad (meses)	20.6 ± 15.0	19.9 ± 7.7	16.1 ± 14
Peso (gramos)	10.933 ± 3.051	6.775 ± 908	6.726 ± 2.165
Estatura (centímetros)	82.0 ± 12.8	74.4 ± 4.5	68.0 ± 9.7
Promedio ± desviación estándar.			

Características de los grupos según variables demográficas y de salud. La distribución por sexo de los tres grupos fue similar, en promedio 56% niños y 44% niñas, indicando una homogeneidad en la muestra total por dicha variable. Un porcentaje muy bajo de niños recibió lactancia materna, tanto en los marasmáticos como en los edematosos (9 y 8% respectivamente). La anemia fue una condición presente en el 88% de los niños del estudio; el 100% de los niños con desnutrición edematosa tuvieron anemia, el 73% de los marasmáticos y el 90% de los controles, sin diferencias significativas entre controles y desnutridos. La presencia de casos de diarrea fue similar en los dos grupos con desnutrición, 59% en los niños con marasmo y 63% en los niños con edema. Durante todo el estudio, solo se presentó un caso de muerte en un niño con edema.

Los resultados de las variables bioquímicas estudiadas en los tres grupos antes del inicio de la terapia de recuperación nutricional en los niños desnutridos, se describen en la tabla 2.

TABLA 2

Niveles séricos de cobre «libre» y proteínas en los niños con desnutrición tipo marasmo, edematosa y un grupo control.

VARIABLE	GRUPO CONTROL N=20	MARASMÁTICOS N=22	EDEMATOSOS N=24	P
Cobre «libre» (uM)*	0.00 ^{ab}	6.13 ± 18.22 ^a	2.71 ± 12.55 ^b	0.035
Ceruloplasmina (mg/L)*	405 ± 150 ^a	325 ± 155 ^a	183 ± 86 ^a	0.000
PCR (mg/L)**	1.3 ± 1.2 ^{ab}	23 ± 23.6 ^a	20.6 ± 21.2 ^b	0.000
Albumina (mg/dL)*	-	2.9 ± 1.0 ^a	2.2 ± 1.0 ^a	0.016
Proteínas totales (g/L)**	-	5.8 ± 1.4	4.3 ± 9.0	0.447

Promedio ± desviación estándar.
 * Kruskal Wallis y ** Anova, diferencia significativa igual a $p < 0.05$
 * y *: Las letras en superíndice que coinciden en la fila muestran los grupos entre los cuales se halló la diferencia estadísticamente significativa.

La concentración de cobre «libre» no mostró diferencia estadísticamente significativa entre los niños con marasmo y edema pero sí entre los desnutridos y el grupo control en el cual no se detectó ya que la concentración esperada en sujetos sanos es de $0,5 \times 10^{-16} \mu\text{M}$ y el método empleado tiene un límite de detección de $5,0 \mu\text{M}$ que no permite cuantificar estos valores tan bajos. La concentración sérica de ceruloplasmina fue significativamente menor en los edematosos, encontrándose este grupo por debajo del valor de referencia en el 72%; en el grupo de marasmáticos los valores se encontraron normales, no obstante el 20% de los niños de este grupo tenían la concentración de ceruloplasmina por debajo del valor de referencia. En el grupo control, los niveles de PCR fueron normales indicando la ausencia de infección y significativamente menores respecto al grupo de desnutridos, quienes presentaron una PCR indicativa de infección, pero sin diferencias significativas entre ellos; el 59% de los marasmáticos presentaron uno o varios signos de infección, en comparación con el 42% de los niños con edema. Al comparar por tipo de desnutrición y en el total de desnutridos la concentración sérica de cobre «libre» según los valores de PCR normal ó alta, la presencia o ausencia de signos de infección y la presencia o no de diarrea, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Respecto a los niveles séricos de albúmina se encontraron valores significativamente más bajos en los edematosos respecto a los marasmáticos; ambos grupos presentaron hipoalbuminemia. Las proteínas totales fueron bajas en ambos grupos pero sin diferencia significativa. No hubo correlación entre ninguna de las variables bioquímicas de interés en este estudio.

Estudio longitudinal: para el estudio de seguimiento, la muestra final estuvo constituida por 20 niños con marasmo y 20 con edema para un total de 40 niños; 6 niños no terminaron el estudio por diferentes causas. En la tabla 3 se presentan los resultados de las variables bioquímicas antes de la terapia nutricional (momento 1) y al momento de recuperar el apetito (momento 2) por tipo de desnutrición.

TABLA 3

Cambios en los niveles séricos de cobre «libre», ceruloplasmina y PCR en los niños con marasmo y edema antes de iniciar la terapia nutricional y al momento de recuperar el apetito

VARIABLE	MARASMO		EDEMA		P
	Momento 1	Momento 2	Momento 1	Momento 2	
Cobre «libre» (uM)+	6.74 ± 19.04	5.86 ± 16.55	3.25 ± 13.74	2.20 ± 9.24	*0.138 **0.068
Ceruloplasmina (mg/L)+	341 ± 153 ^a	361 ± 152 ^b	193 ± 90 ^a	260 ± 115 ^b	*0.00 ^b 0.23
PCR(mg/L)+	2.08 ± 2.19 ^a	0.87 ± 1.16 ^a	1.76 ± 1.94 ^b	0.59 ± 0.87 ^b	*0.00 ^b 0.00

Promedio ± desviación estándar

Mann Whitney, diferencia significativa igual a $p < 0.05$ * y ^b: Las letras en superíndice que coinciden en la fila muestran los grupos entre los cuales se halló la diferencia estadísticamente significativa.

* Corresponde al valor de p en los niveles séricos de cobre «libre» en los marasmáticos entre el momento 1 y 2

** Corresponde al valor de p en los niveles séricos de cobre «libre» en los edematosos entre el momento 1 y 2

Los niveles de cobre «libre» en ambos grupos de desnutridos disminuyeron en el segundo momento, sin diferencias significativas al interior de cada grupo como tampoco entre ellos. Las concentraciones séricas de ceruloplasmina aumentaron en ambos grupos sin diferencias significativas; se mantuvo en el momento 2 una concentración significativamente mayor de ceruloplasmina en los marasmáticos respecto a los edematosos. Los niveles de PCR disminuyeron en forma significativa en el segundo momento tanto en los niños con marasmo como con edema ($p < 0.05$).

Durante el tiempo transcurrido entre el momento de iniciar el tratamiento nutricional y la recuperación del apetito, se realizó el seguimiento de variables de interés. El consumo de fórmula F75 fue de 108 ml/Kg/día en los niños con marasmo y 107,3 ml/Kg/día en los niños con edema, sin diferencia significativa entre los grupos. El consumo de suplemento de cobre fue igual en ambos grupo, 0,06 gramos de sulfato de cobre/día o un equivalente a 0,21mmol/L de cobre elemental. El tiempo para recuperar el apetito fue muy similar, 4 días en los marasmáticos y 5 en los edematosos. Al ingreso, el 55% de los niños con marasmo presentaron uno o más signos de infección, versus 40% de los niños edematosos; en el momento 2, sólo el 15% de los marasmáticos y el 5% de los edematosos presentaban infección. Del total de edematosos al ingreso, el 55% presentaba edema leve, el 30% moderado y el 15% severo; en el momento 2, el 45% de los niños había resuelto su edema, sin embargo, en el 40% persistía el edema leve y en el 15% un edema moderado; dos niños con marasmo presentaron edema en el momento 2. El 15% de los niños con marasmo presentaron complicaciones entre el momento 1 y 2, mientras que en los niños con edema éstas se presentaron en el 10%. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar las variables anteriormente descritas intra y entre grupos en los momentos 1 y 2 del estudio; tampoco se halló correlación entre las proteínas evaluadas en el estudio.

DISCUSIÓN

En la zona de Urabá, donde se realizó esta investigación, la tasa de mortalidad por desnutrición es tres veces mayor que el promedio departamental (58,39 por 100.000 (1,2). Los niños con desnutrición grave de la zona son atendidos en la Unidad Vida Infantil de la

Universidad de Antioquia de acuerdo al protocolo de la OMS, que incluye la suplementación con cobre desde el inicio de la terapia de recuperación nutricional. La literatura no reporta publicaciones sobre investigaciones que evidencien la presencia de cobre «libre» en el plasma de niños desnutridos, tampoco estudios sobre el efecto de la suplementación con cobre desde el inicio de la terapia de recuperación nutricional. La razón para iniciar dicha suplementación se basa en la evidencia que la deficiencia de cobre ocurre en niños desnutridos y al hecho de que la suplementación con zinc, también incluido desde el inicio de la terapia, puede inducir deficiencia de cobre (6).

En condiciones normales, dados los mecanismos de regulación del metabolismo del cobre, sus concentraciones en la forma «libre» en el plasma son muy bajas, alrededor de $0,5 \times 10^{-10}$ M o $0,5 \times 10^{-16}$ μ M (18). Los resultados del estudio transversal mostraron la presencia de cobre «libre» en el plasma de los niños con desnutrición respecto a sus controles; la presencia del ion cuproso podría conducir vía la reacción de Haber-Weis, a la producción de especies altamente reactivas que alteran los lípidos, las proteínas y el DNA, comprometiendo el funcionamiento de las células, especialmente en condiciones de desnutrición, donde la defensa antioxidante está disminuida.

En este trabajo no se midió el estado antioxidante ni la presencia de estrés oxidativo de los sujetos, pero los resultados de otros trabajos sugieren que la presencia de cobre «libre» podría ser uno de los factores que contribuye al estrés oxidativo que presentan los niños con desnutrición grave (9, 19, 20-24).

El cobre se une a la ceruloplasmina en el hígado para ser transportado por el plasma hacia los tejidos. En este estudio, los niveles séricos de esta proteína transportadora fueron normales en el grupo control con una diferencia significativa respecto a los desnutridos, y entre éstos últimos, significativamente menor en los edematosos.

Resultados de otros estudios también han mostrado que en niños con desnutrición severa, tanto marasmáticas como edematosas, las concentraciones de ceruloplasmina disminuyen en forma importante (11). Los resultados muestran que tanto los niños con marasmo como con edema presentaron cobre «libre» en plasma y bajos niveles de su proteína transportadora la ceruloplasmina, aunque esta última no estuvo bajo los valores de referencia en los niños marasmáticos pero sí en los niños con edema. Esta situación podría contribuir al estrés oxidativo al que están sometidos los niños desnutridos, como lo han evidenciado muchos estudios (9, 11, 25, 26).

Es importante anotar que la ceruloplasmina es una proteína de fase aguda positiva, por lo tanto sus valores pueden aumentar por la infección, condición presente en ambos grupos de estudio, respaldado por los altos niveles de PCR (18, 27, 28). Así, en los niños con edema esta situación podría estar indicando que además de presentar concentraciones de ceruloplasmina bajo los valores de referencia, los niños con este tipo de desnutrición no son capaces de responder a la fase aguda de la infección, aumentando la síntesis de esta proteína.

De otro lado, un hallazgo muy interesante de este estudio se relaciona con el hecho de no haber encontrado diferencias significativas en los grupos de desnutridos respecto a los niveles séricos de cobre «libre» y la presencia o no de infección, medida ésta por niveles de PCR, presencia o no de signos de infección y presencia o ausencia de diarrea. Así los resultados anteriores sugieren que la presencia de metales de transición como el cobre «libre» en los niños con desnutrición aguda grave podría relacionarse con el deterioro del estado nutricional y no solamente con la presencia de infección.

En el estudio se encontró que además de los bajos niveles de ceruloplasmina, los niveles de albúmina y proteínas totales también estuvieron bajos, tanto en niños edematosos como marasmáticos, siendo significativamente menores en los edematosos. La teoría clásica de la desnutrición atribuye el edema del kwashiorkor a la hipoalbuminemia ocasionada por dietas bajas en proteínas (29). Sin embargo, los estudios de Gopalan contradicen la teoría clásica, ya que él observó que niños que consumían dietas deficientes en calorías y proteínas, desarrollaban diferentes tipos de desnutrición (8). En la década de los 80, Golden ofrece evidencia que permite dudar que la deficiencia de proteínas sea la causa única del edema en niños desnutridos (30) y en 1987, junto con Ramdath, proponen a los radicales libres como los agentes que definen el curso de la malnutrición severa hacia marasmo o kwashiorkor, radicales que son producidos por presencia de infección o por metales de transición como el cobre y el hierro (9).

Aunque los resultados de este estudio no pueden corroborar la teoría clásica, pues ambos grupos de desnutridos tuvieron hipoalbuminemia y proteínas totales bajas, es importante resaltar que los niños con edema sí presentaron una deficiencia severa de albúmina, mientras que en los marasmáticos, ésta fue moderada. Sherbaum y cols, postulan que la hipoalbuminemia no es la única causa de la presencia del edema en los niños desnutridos (6). Tampoco se puede afirmar que la presencia de cobre «libre» en plasma contribuya al edema de los niños con kwashiorkor, pues no hubo diferencia significativa en la concentración del metal entre los dos grupos.

En el estudio longitudinal, los resultados mostraron que luego del inicio de la terapia de recuperación nutricional de acuerdo con el protocolo de la OMS, ambos grupos presentaron mejoría en los parámetros clínicos y bioquímicos. La PCR disminuyó significativamente en ambos grupos, siendo normal en los niños con edema y persistió ligeramente elevada en los niños con marasmo, dando cuenta de una mejoría en los procesos infecciosos presentados por estos niños al inicio. Reid y Cols en un estudio con niños desnutridos marasmáticos y edematosos, encontraron que después de su recuperación disminuyeron los niveles de proteínas de fase aguda, entre ellas la PCR (27).

Respecto al primer momento, los niveles séricos de ceruloplasmina aumentaron en ambos grupos y en los edematosos alcanzaron los valores de referencia; el cobre «libre» disminuyó en ambos grupos, aunque persistió su presencia en el plasma. La disminución de este metal de transición se relacionó con la mejoría en la condición clínica cuando los niños se estabilizaron y fueron metabólicamente capaces de soportar una alta ingesta de nutrientes; además en este momento se controló la infección y aumentó la ceruloplasmina a concentraciones normales que podrían haber facilitado su unión al cobre «libre».

El aumento en la concentración sérica de la ceruloplasmina, podría obedecer, entre otros factores, al aporte de proteínas y calorías suministradas a los niños durante los primeros días de la fase inicial de la recuperación nutricional y no como respuesta a los procesos infecciosos, los cuales ya habían sido superados en la mayoría de los niños, como lo indicó la disminución de la PCR y la mejoría en los signos clínicos (31,32,33).

De acuerdo con el protocolo de la OMS, los niños con desnutrición grave recibieron 2 mmol de cobre por cada litro de fórmula desde el comienzo de la terapia de recuperación nutricional. Los resultados mostraron que a pesar de que en el momento 1 ambos grupos presentaron disminución de los niveles de ceruloplasmina y presencia de cobre «libre» en plasma, el suministro del suplemento de cobre no contribuyó a mayor presencia de este metal libre ni al aumento del grado de edema, de hecho, el 45% lo resolvieron y como se

explicó anteriormente, en el segundo momento, los niveles de cobre «libre» disminuyeron y los de ceruloplasmina aumentaron.

Lo anterior muestra que en este estudio la presencia de cobre «libre» no es una condición que aparezca en el transcurso de la hospitalización, se llega con ella y al dar un suplemento de cobre no empeora, al contrario, en el momento dos aumentó la concentración de la ceruloplasmina en ambos grupos y disminuyó la presencia de cobre «libre» en los sujetos que lo tenían alto al inicio.

Los hallazgos más importantes de esta investigación serían los siguientes: 1) Tanto los niños con marasmo como con kwashiorkor presentaron cobre «libre» en el plasma en el momento 1, lo que no permite asociarlo con la presencia del edema. 2) La presencia de cobre «libre» en los niños con desnutrición aguda grave se relaciona más con el deterioro nutricional que con la infección. 3) Los niveles de ceruloplasmina fueron significativamente más bajos en los niños con kwashiorkor. 4) Tanto los niños con marasmo como con kwashiorkor presentaron hipoalbuminemia, siendo severa su deficiencia en los niños con edema. 5) Luego del inicio de la terapia de recuperación nutricional, en ambos grupos de niños con desnutrición, aumentaron los niveles séricos de ceruloplasmina y disminuyeron los de cobre «libre».

Se puede concluir de este trabajo que el suplemento de cobre como componente de la terapia nutricional puede ser suministrado desde el inicio del tratamiento de recuperación que propone el protocolo de la OMS para la atención de los niños con desnutrición aguda grave con o sin infección, pues éste no contribuyó al aumento del cobre «libre» en el plasma. Los resultados no permiten aclarar el rol del cobre «libre» en la etiología del edema en los niños desnutridos graves y son necesarias futuras investigaciones al respecto. Existe la hipótesis de que las formas edematosas de la desnutrición, podrían deberse a una mezcla de «desadaptaciones», ambientes hostiles y «factores no dietarios» combinados con deficiencias de nutrientes (6). Queda por explorar en futuros trabajos, la ceruloplasmina como ferroxidasa y su rol en la etiología del edema de los niños con desnutrición grave.

BIBLIOGRAFÍA

1. Departamento Nacional de Planeación-Misión Social. Informe de desarrollo humano para Colombia 1999. T.M. Editores. Santa Fe de Bogotá. Mayo 2000. p 1-20.
2. Dirección Seccional de Salud. Diagnóstico de la Situación de Salud en Antioquia. Rev Epidemiol Antioquía 2000; 25(1-3):87-92.
3. Sierra ML, Veles LM, Castañeda AM, Galeano LA, Molina AL, Tabares Zdc, Vargas JH, Botero LH. Análisis de la mortalidad. Boletín Epidemiol Antioquia. 2000; 25:83-165.
4. World Health Organization. Management of the child with serious infection or severe malnutrition. Guidelines for care at the first-referral level in developing countries (WHO/FCH/CAH/00.1). Geneva:WHO, 2000
5. Ashworth A. Treatment of severe malnutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 32:516-8.

6. Scherbaum V, Furst P. New concepts on nutritional management of severe malnutrition: The role of protein. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000;3:31-38.
7. Sive AA, Dempster WS, Malan H, Rosseau S, Heese HdeV. Plasma free iron: a possible cause of edema in kwashiorkor. *Arch Dis Child* 1997; 76:54-56.
8. Gopalan C. Kwashiorkor and marasmus: evolution and distinguishing features. En: *Calorie deficiencies and protein deficiencies*. MCCance RA, Widdowson EM (Editores). London:Churchill; 1968. pp.48.
9. Golden MHN, Ramdath D. Free radicals in the pathogenesis of kwashiorkor. *Proc Nutr Soc*. 1987;46: 53-68
10. Forrester TE, Golden MHN, Brand S, Swales J. Reduction in vitro of red cell glutathione reproduces defects of cellular sodium transport seen in edematous malnutrition. *Eur J Clin Nutr* 1990;44:363-369.
11. Ashour MN, Salem SI, El-Gadban HM, Elwan NM, Basu TK. Antioxidant status in children with protein-energy malnutrition (PEM) living in Cairo, Egypt. *Eur J Clin Nutr* 1999; 52:669-673
12. Stipanuk M and Roy B. Iron in: *Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition*. W.B. Saunders Company. United States of America. 2000. pp 711-740.
13. Sive AA, Subotzky BF, Halan H, Dempster WS. Red blood cell antioxidant enzyme concentration in kwashiorkor and marasmus. *Ann Trop Pediatr* 1993; 13:33-38.
14. Bedia E. F, Akin-Senel K. Determination of metal ions by capillary electrophoresis using pre-column complexation with 1, 10-phenanthroline. *Fresenius. J Anal Chem* 1998; 362:418-421
15. Cook J, Bothwell T, Covell A, Dallman P, Lynch S. Measurements of iron status: a report of the International Nutritional Anemia Consultive Group. Washington D.C: Nutrition Foundation. 1985; 4-22
16. World Health Organization. Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention, and control. A guide for programme managers. Geneva: WHO; 2001
17. Lohman T G, Roche A F, Martorell R. Anthropometric standardization Referente Manual. Champaign. Human Kinetics Books, 1988: pp.171
18. Linder MC. Cobre. En: *Conocimientos actuales de nutrición*. 7º ed. OPS. OMS. ILSIO: Washington; 1997. p. 330
19. Prohaska J and Gybina A. Intracellular copper transport in mammals. *J Nutr* 2004; 1354:1003-1006.
20. Turnlund J, Jacob R, Keen C, Strain J, Kelley D, Domek J, Keyes W, Ensunsa J et al. Long-term high copper intake: effects on indexes of copper status, antioxidant status, and immune function in young me. *A. J Clin Nutr* 2004; 79:10387-1044.

21. Manary MJ, Leeuwenburgh C, Heinecke JW. Increased oxidative stress in kwashiorkor. *J Pediatr* 2000; 137:421-424
22. Gaetke LM, Chow CH. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*. 2003; 189:147-163
23. Harris ED. Copper as a cofactor and regulator of Cu, zinc, superoxide dismutase. *J Nutr* 1992;122: 6366s-640S
24. Peña MM, Lee J and Thiele DJ: A delicate balance: Homeostatic control of copper uptake and distribution. *J Nutr* 1999; 129: 1251-1260
25. Tatli M, Vural H, Koc A, Kosecik M, Atas A. Altered anti-oxidant status and increased lipid peroxidation in marasmic children. *Pediatr Int* 2000; 42(3):289-292.
26. Fechner A, Bohme C, Gromer S, Funk M, Schirmer R, Becker K. Antioxidant status and nitric oxide in the malnutrition syndrome kwashiorkor. *Pediatr Res* 2001; 49:237-243.
27. Reid M, Badaloo A, Forrester T, Morlese JF, Heird W, Jahoor F. The acute-phase protein response to infection in edematous and nonedematous protein-energy malnutrition. *Am J Clin Nutr* 2002;76:1409-15.
28. Beshgetoor D and Hambidge M. Clinical conditions altering copper metabolism in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:1017S-21S.
29. Waterlow JC. Kwashiorkor revisited: the pathogenesis of oedema in kwashiorkor and its significance. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1984; 78:436-41.
30. Golden MH. Protein deficiency, energy deficiency, and the oedema of malnutrition. *Lancet* 1982; 1: 1261-65.
31. Badaloo A, Boyne M, Reid M, Persaud C, Forrester T, Millward D and Jackson A. Dietary Protein, Growth and Urea Kinetics in Severely Malnourished Children and During Recovery. *J Nutr* 1999; 129 (5): 969-79
32. Manary MJBroadhead RL and Yarasheski KE. Whole-body protein kinetics in marasmus and kwashiorkor during acute infection. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:1205-9.
33. Reid M, Badaloo A, Morlese JF, Frazer M, Heird WC, Jahoor F. In vivo rates of erythrocyte glutathione synthesis in children with severe protein-energy malnutrition. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278:E405-412.

Dirigir la correspondencia a:

Profesora
Gloria Maria Agudelo O.
Escuela de Nutrición y Dietética,
Universidad de Antioquia
Ciudadela Robledo
Cra 75 N°. 65-87
Bloque 44 Oficina 113
Medellín - Colombia
Telefono 57(4) 425-92-11
e-mail: gmao@quimbaya.udea.edu.co

Este trabajo fue recibido el 13 de Diciembre de 2005 y aceptado para ser publicado el 12 de Mayo de 2006.