

**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Ciencias Naturales**

**“Asociación de micronutrientes en sangre con  
indicadores de inflamación sistémica y leptina”**

**TESIS**

**Que como parte de los requisitos para obtener el  
grado de:**

**Maestro en Nutrición Humana**

**Presenta:**

**Gerardo Antonio Zavala Gómez**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO, NOVIEMBRE DEL 2011.**



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Programa de Maestría en Nutrición Humana

"ASOCIACION DE MICRONUTRIENTES EN SANGRE CON INDICADORES DE INFLAMACION SISTEMICA Y LEPTINA"

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Nutrición Humana

Presenta:  
Gerardo Zavala Gómez

Dirigida por:  
Dra. Olga Patricia García Obregón

SINODALES


Dra. Olga Patricia García Obregón  
Presidente

Dr. Kurt Long  
Secretario

Dr. Jorge Luis Rosado Loria  
Vocal

M. en C. María del Carmen Caamaño Pérez  
Suplente

Dra. Teresa García Gasca  
Suplente

  
Biól. Jaime Ángeles Ángeles  
Director de la Facultad de Ciencias Naturales

  
Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval  
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario  
Querétaro, Qro  
Noviembre 2011  
MÉXICO

## RESUMEN

La asociación entre micronutrientes con la inflamación crónica causada por la obesidad, se evaluó por medio de un estudio transversal, en 280 mujeres de (36.1±7.5 años) de siete comunidades rurales en México. A cada participante se le tomó su peso, altura y circunferencia por personal estandarizado. Así mismo, se realizó la determinación de composición corporal por medio de DEXA. Las concentraciones de las citocinas IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 e IL-12, y de los micronutrientes zinc y las vitaminas A C y E se determinaron en una muestra de sangre en ayunas. La asociación entre niveles de citocinas (categorizadas) y micronutrientes se analizó utilizando modelos de regresión logística ordenada. La prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en esta población fue cerca del ochenta por ciento. El riesgo de tener niveles elevados de TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 e IL-12 en sangre se reduce significativamente en mujeres con concentraciones elevadas de zinc en sangre (RM=0.63, 95%CI 0.42-0.96, p=0.03; RM=0.57, 95%CI 0.39-0.86, p=0.025; RM=0.63 95%CI 0.41-0.96, p=0.04; RM=0.62 95%CI 0.41-0.95, p=0.03, respectivamente). Concentraciones elevadas de vitamina A se asociaron con un menor riesgo de concentraciones elevadas de IL-1 e IL-12 en sangre (RM=0.97, 95%CI 0.95-0.99, p=0.03; RM=0.97, 95%CI 0.94-0.99, p=0.03, respectivamente). Las mujeres con concentraciones elevadas de vitamina E se relacionaron con un riesgo más elevado de tener altos niveles de IL-6 (RM=1.13, 95%CI 1.01-1.27, p=0.005). No se encontraron asociaciones entre las concentraciones de vitamina C y marcadores de inflamación en sangre. En conclusión, concentraciones elevadas de zinc y vitamina A están asociadas con una reducción en el riesgo de tener una alta concentración de marcadores de inflamación en sangre, mientras altas concentraciones de vitamina E están asociadas con un mayor riesgo de tener altas concentraciones de IL-6.

**(Palabras clave:** Obesidad, Inflamación, micronutrientes)

## Abstract

A cross-sectional study was carried out to evaluate the association of micronutrients with chronic inflammation caused by obesity, in 280 women ( $36.1 \pm 7.5$  y) from seven rural communities in Mexico. Measurements of weight, height, and waist circumference were made on all women and body composition was determined by DEXA. Concentrations of the cytokines IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 and IL-12, and the micronutrients zinc and vitamins A, C, and E were determined in fasting blood samples. Ordered logistic regression models were used to determine associations between categorized cytokine levels and micronutrients. Eighty percent of women were overweight or obese. The risk of higher levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 and IL-12 were reduced significantly among women with higher zinc concentrations (OR=0.63, 95%CI 0.42-0.96,  $p=0.03$ ; OR=0.57, 95%CI 0.39-0.86,  $p=0.025$ ; OR=0.63 95%CI 0.41-0.96,  $p=0.04$ ; OR=0.62 95%CI 0.41-0.95,  $p=0.03$ , respectively). Higher concentrations of vitamin A were associated with reduced risks of higher levels of IL-1 and IL-12 (OR=0.97, 95%CI 0.95-0.99,  $p=0.03$ ; OR=0.97, 95%CI 0.94-0.99,  $p=0.03$ , respectively). Women with higher vitamin E concentration had increased risks of higher levels of IL-6 (OR=1.13, 95%CI 1.01-1.27,  $p=0.005$ ). No associations were found between vitamin C concentrations and inflammatory cytokines. Higher Zn and vitamin A concentrations are associated with reduced risks of higher concentration of inflammation markers while higher concentrations of vitamin E are associated with risk of having higher levels of IL-6. (**Key words:** Inflammation, micronutrients, obesity)

## INDICE

	<b>Página</b>
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes .....	2
2.1 Obesidad; Problema de Salud Pública .....	2
2.2 Índices Antropométricos y Diagnóstico .....	3
2.3 Causas y consecuencias de la obesidad.....	5
2.4 Tejido Adiposo.....	5
2.5 Leptina .....	7
2.6 Zinc.....	10
2.7 Vitamina A .....	11
2.8 Vitamina C .....	12
2.9 Vitamina E .....	12
2.10 Citocinas.....	13
2.10.1 IL-1.....	13
2.10.2 IL-6.....	14
2.10.3 IL-8.....	15
2.10.4 IL-10.....	16
2.10.5 IL-12.....	17
2.10.6 TNF- $\alpha$ .....	17

2.11 Leptina y la respuesta inflamatoria .....	18
3. Justificación.....	19
4. Hipótesis .....	20
5. Objetivo .....	21
5.1 General .....	21
5.2 Específicos .....	21
6. Materiales y métodos .....	22
6.1 Población .....	22
6.2 Tamaño de la Muestra .....	23
6.3 Diseño experimental .....	23
6.4 Métodos .....	23
6.4.1 Evaluación de Antropometría y Composición corporal.....	23
6.4.2 Determinaciones bioquímicas: .....	24
6.4.3 Análisis estadístico.....	26
7. Resultados .....	28
8. Discusión.....	34
9. Conclusiones.....	39
10. Referencias Bibliográficas .....	40

## Índice de Figuras

	<b>Página</b>
Figura 1. Proceso de inflamación mediada por leptina en el adipocito,.....	7
Figura 2 Respuesta tipo T <sub>H</sub> 1 mediada por leptina. ....	8
Figura 3 Respuesta tipo T <sub>H</sub> 2 mediada por adiponectina e IL-10. ....	9
Figura 4 Estructura de la vitamina A .....	11
Figura 5 Transcripción de genes mediado por el sistema JAK-cinasa STAT .....	15
Figura 6 prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población .....	29
Figura 7 Deficiencia de micronutrientes en la población .....	29

## Índice de Tablas

	<b>Página</b>
Tabla 1 Clasificación de Sobrepeso y Obesidad de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud.....	3
Tabla 2 Diagnostico de sobrepeso y obesidad según el porcentaje de grasa corporal para hombres y mujeres.....	4
Tabla 3 Alimentos con alto contenido de zinc .....	10
Tabla 4 Alimentos con alto contenido de Vitamina A (equivalentes de retinol) .....	11
Tabla 5 Principales citocinas, acción y lugar de síntesis .....	13
Tabla 6 Variables Antropométricas y bioquímicas de la población.....	28
Tabla 7 Características de la población de estudio de acuerdo a su Índice de Masa Corporal (N=280).....	30
Tabla 8 Relación entre marcadores de inflamación, e indicadores de composición corporal .....	31
Tabla 9 Relación entre leptina y marcadores de inflamación .....	32
Tabla 10 Relación entre micronutrientes y marcadores de inflamación .....	33





## 1. INTRODUCCIÓN

La obesidad y las enfermedades crónico-degenerativas que se le asocian son la mayor causa de muerte a nivel mundial, y se acentúa en países en vías de desarrollo, como México. La obesidad y sus comorbilidades no solo afectan la calidad y la expectativa de vida de la población sino además representan un problema para la economía del país ya que son enfermedades que causan incapacidad. Actualmente, sector salud invierte cantidades millonarias en el tratamiento de las enfermedades asociadas a la obesidad.

La obesidad está caracterizada por un aumento en el tejido adiposo, que no solo es un tejido de almacenamiento de grasa, sino que tiene la capacidad de segregar una serie de compuestos llamados adipocitocinas, las cuales tienen un gran impacto en el metabolismo, inmunidad y respuesta inflamatoria. Diversos micronutrientes, como el zinc y las vitaminas A, E y C, y hormonas como la leptina, pueden intervenir a través de diferentes mecanismos, en la promoción o inhibición de reacciones inflamatorias. Recientemente se ha reportado que los micronutrientes tienen una acción diferencial en las concentraciones de leptina y, por lo tanto, la leptina puede estar contribuyendo a la inflamación asociada a la obesidad a través de los micronutrientes. Sin embargo, otros autores han reportado que los micronutrientes pueden tener un efecto en la inflamación por diferentes mecanismos desde su interacción directa con linfocitos y otras células del sistema inmune, hasta la regulación de ciertas enzimas que se encuentran en las rutas de transducción de señales y transcripción de genes.

Este estudio transversal en población de mujeres mexicanas pretende dar evidencia de que como pueden estar actuando los micronutrientes para promover o inhibir reacciones inflamatorias, así como evaluar múltiples nutrientes en una misma población, y evaluar el efecto simultáneo que estos tienen en la inflamación sistémica de bajo grado.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Obesidad; Problema de Salud Pública

La obesidad es una enfermedad caracterizada por el aumento en el tamaño y cantidad de adipocitos que producen un exceso de tejido adiposo y porcentaje de grasa corporal.

La obesidad y sus enfermedades asociadas son la mayor causa de muerte a nivel mundial; de éstas, el 80% ocurre en países subdesarrollados o en vías de desarrollo (Finegood 2009).

México ya se encuentra en los primeros lugares de sobrepeso y obesidad. Según datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2006), la prevalencia de sobrepeso en hombres fue de 42.5% y 37.4% en mujeres en el 2006. En cuanto a obesidad, la prevalencia en hombres fue de 24.2% y 34.5% en mujeres. La prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad es de 71.9% en mujeres y 66.7% en hombres mayores de 20 años de edad (Olaiz-Fernández *et al.*, 2006).

Más de 1 billón de adultos en el mundo tienen sobrepeso, y al menos 300 millones son clínicamente obesos. Del 2 al 6% de los gastos totales en salud en el mundo son producto de la obesidad, y esta cifras pueden ser mucho mayores ya que no todas las condiciones relacionadas con la obesidad están incluidas (OMS 2010).

En México esta situación es más crítica ya que se estima se gastan más de 42 mil millones de pesos anuales en la obesidad y sus complicaciones, que corresponde a más del 30% de los gastos totales en el sector salud, superando así a los gastos del tratamiento del VIH y cáncer (Córdova 2010).

## 2.2 Índices Antropométricos y Diagnóstico

El Índice de Masa Corporal (IMC) es el indicador antropométrico elegido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para clasificar la obesidad y el sobrepeso, ya que las mediciones que utiliza de peso y estatura son fáciles de tomar y no son invasivas lo que lo hace muy práctico para estudios epidemiológicos. El IMC es el resultado de dividir el peso entre el cuadrado de la altura y es una herramienta simple para clasificar a la población.

El sobrepeso es definido por la OMS como cualquier persona mayor a 20 años que presenta un IMC igual o mayor a 25 y obesidad cuando este es igual o mayor a 30 (Tabla 1). Sin embargo, hay datos que indican que el riesgo de enfermedad crónica degenerativa va en aumento desde un IMC de 21 (OMS 2010).

**Tabla 1 Clasificación de Sobrepeso y Obesidad de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud**

	<b>Normal</b>	<b>Sobrepeso</b>	<b>Obesidad</b>
<b>IMC</b>	20-25	25-30	Mayor a 30

Modificado (WHO 2010)

Es necesario tener en cuenta el tipo y el número de personas que se pretende evaluar, ya que el IMC define a la población en general, mas no describe casos específicos en los que el peso elevado se deba a una mayor masa muscular, una densidad ósea elevada o alguna patología. Adicionalmente, el IMC no define la distribución del tejido adiposo en el cuerpo. Es por eso que se han desarrollado y aplicado nuevos indicadores antropométricos que pueden ayudar a describir más adecuadamente el parámetro deseado, por ejemplo la proporción de obesidad abdominal en una persona (Velázquez *et al.*, 1999).

Diversos estudios han demostrado que el Índice C y el Índice Cintura-Estatura (ICE) son los índices antropométricos mas adecuados para diagnosticar obesidad abdominal ya que toman en cuenta la circunferencia de cintura (Oviedo *et al.*, 2006; Tosta de Almeida *et al.*, 2008). El índice C se define como:

$$\text{Índice } C = \frac{\text{Circunferencia de cintura (m)}}{0.109 \sqrt{\frac{\text{peso (Kg)}}{\text{Altura(m)}}}}$$

El ICE es un método antropométrico que se determina dividiendo la circunferencia de la cintura por la altura en centímetros. Esta determinación antropométrica presenta grandes ventajas sobre la circunferencia de cintura por sí sola. En población coreana, se demostró que ICE describe mejor a la población ya que en individuos de baja talla la circunferencia de cintura puede estar subestimando la proporción de tejido adiposo abdominal (Sung-Hee *et al.*, 2009).

Otro método utilizado para el diagnóstico de obesidad se basa en cuantificar la cantidad de grasa abdominal o corporal (Tabla 2). Los métodos más efectivos para este propósito son densitometría ósea o (DXA) por sus siglas en inglés y resonancia magnética de imagen. Estos métodos son los más exactos, sin embargo requieren de equipos grandes, costosos y personal altamente capacitado para operarlos. Esto dificulta el uso en los estudios epidemiológicos, por lo que el más utilizado en encuestas, y estudios poblacionales a gran escala es el IMC (Gallagher *et al.*, 2000; Seppanen *et al.*, 2009).

**Tabla 2 Diagnóstico de sobrepeso y obesidad según el porcentaje de grasa corporal para hombres y mujeres**

Sexo	Edad	Adecuado	Sobrepeso	Obesidad
Mujeres	<b>20-40</b>	21-33%	33-39%	Mayor a 39%
	<b>41-60</b>	23-35%	35-40%	Mayor a 40%
	<b>61-79</b>	24-36%	36-42%	Mayor a 42%
Hombres	<b>20-40</b>	8-19%	19-25%	Mayor a 25%
	<b>41-60</b>	22-27%	22-27%	Mayor a 27%
	<b>61-79</b>	25-30%	25-30%	Mayor a 30%

Modificado de (Gallagher *et al.*, 2000)

### 2.3 Causas y consecuencias de la obesidad.

A lo largo del tiempo diversos estudios han explicado las diferentes causas por las que la prevalencia de obesidad ha ido en aumento en las últimas décadas. La gran mayoría concuerdan en que las principales causas son el cambio tecnológico, la disponibilidad de alimento, la comida procesada a costos relativamente bajos, trabajos y vida diaria mas sedentarios (Cutles *et al.*, 2003; Amarasinghe *et al.*, 2009).

Trabajos más recientes han demostrado que existen otros factores que contribuyen al aumento en la prevalencia de obesidad como lo son el tipo de población ya sea rural o urbana, la facilidad para obtener alimento, la inseguridad alimentaria, el estado socioeconómico y la educación individual como familiar (Bennett 1995).

Estudios realizados por Bennett y por Kaisers demostraron que existe una relación inversa entre el IMC y el estado socioeconómico principalmente en mujeres (Bennett 1995; Kaisers *et al.*, 2004).

El sobrepeso, la obesidad y el exceso de grasa abdominal están clasificados como factores de riesgo para una serie de enfermedades como hipertensión, dislipidemia, diabetes mellitus II, enfermedad cardiovascular, osteoartritis, insomnio, algunos tipos de cáncer, depresión, y la reducción de esperanza de vida. (Cutles *et al.*, 2003; Lenz *et al.*, 2009; Waring *et al.*, 2009).

Un metanálisis realizado por Lenz en el 2009 demostró que las personas que padecen de obesidad tienen un 20% más de mortalidad en cualquier enfermedad y personas con obesidad mórbida hasta un 200% más lo que la hace un factor de riesgo para cualquier padecimiento (Lenz *et al.*, 2009).

### 2.4 Tejido Adiposo.

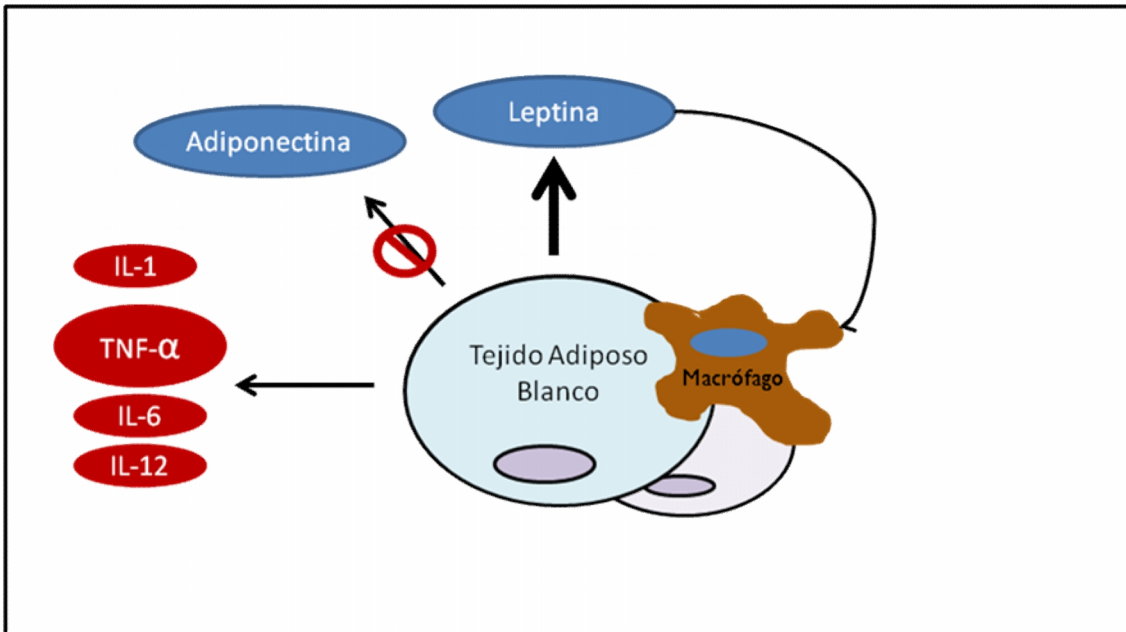
El tejido adiposo está conformado por células llamadas adipocitos que cumplen con la función de almacenar lípidos en su citoplasma, por lo que se considera un órgano de almacenamiento. Sin embargo se han identificado sustancias con

actividad parácrina y autócrina llamadas citocinas segregadas por el tejido adiposo por lo que también se considera un órgano endócrino (Rodríguez *et al.*, 2009).

Cuando el tejido adiposo aumenta, ya sea por falta de actividad física o por un exceso en el consumo calórico, los adipocitos se vuelven hipertróficos e hiperplásticos. Como consecuencia, la lipólisis aumenta y el tejido adiposo segrega cantidades mucho más elevadas de leptina y citocinas mayormente pro-inflamatorias, lo que crea un ambiente inflamatorio. Existe un incremento en especial en el factor de necrosis tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6), resistina, activador del inhibidor de la activación del plasminógeno (PAI-1), fibrinógeno y componentes del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (Rodríguez *et al.*, 2009).

Por lo anterior, las teorías más recientes describen a la obesidad como un estado de inflamación sistémica de bajo grado que provee una relación directa con otros componentes del síndrome metabólico. La vía final común es la aterosclerosis, causante de enfermedad vascular generalizada, conduciendo a hipertensión arterial, enfermedad coronaria y enfermedad vascular periférica (Maffei *et al.*, 2009; Rodríguez *et al.*, 2009).

Se sabe que la cantidad de tejido adiposo blanco está directamente relacionada con la secreción de leptina, hormona que participa en rutas que promueven la sensación de saciedad, así como la liberación y la infiltración de macrófagos en el TAB (Figura 1). La acumulación de monocitos/macrófagos contribuye a la expresión de genes proinflamatorios despididos por el tejido adiposo de los obesos expresando principalmente TNF- $\alpha$  y otras interleucinas, lo que perpetua el estado de inflamación (Rodríguez *et al.*, 2009; Stofkova 2009).



**Figura 1. Proceso de inflamación mediada por leptina en el adipocito, Los macrófagos se infiltran y el adipocito produce una mayor cantidad de: Interleucina 1 (IL-1), Factor de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ ), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-12(IL-12) y leptina**

## 2.5 Leptina

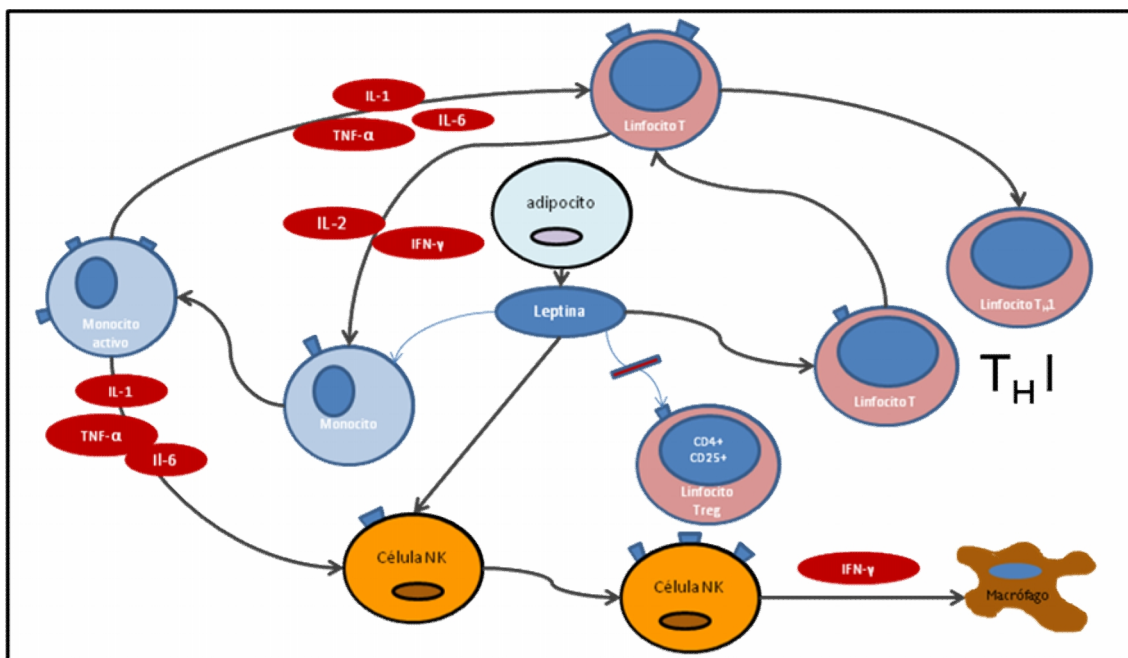
La leptina es una hormona proteica descubierta en 1994 que consiste de 146 aminoácidos y 16kDa. Estructuralmente se clasifica como un miembro de las citocinas helicoidales de cadena larga y fue identificada como parte del gen de la obesidad. Esta hormona es segregada en una relación proporcional a la cantidad y al tamaño de los adipocitos. Actúa por medio de un receptor de membrana en el hipotálamo. Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que existen receptores de leptina en casi todos los tejidos y sus efectos han revelado que la leptina está también involucrada en la regulación de una variedad de funciones biológicas relacionadas con la respuesta inmune y enfermedades inflamatorias (Zhang *et al.*, 1997; Berg *et al.*, 2002; Brandon *et al.*, 2009; Vuolteenaho *et al.*, 2009).

El efecto de la leptina en la inmunidad e inflamación involucra el aumento en la proliferación de macrófagos/monocitos y linfocitos T nativos, la liberación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y de interleucina 2 (IL-2) por las células, lo que promueve la proliferación y activación de células natural killers (NK), que



estimulan la síntesis de leucotrienos por macrófagos alveolares, la producción de óxido nítrico (NO) y hormona del crecimiento por células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) (Stofkova 2009).

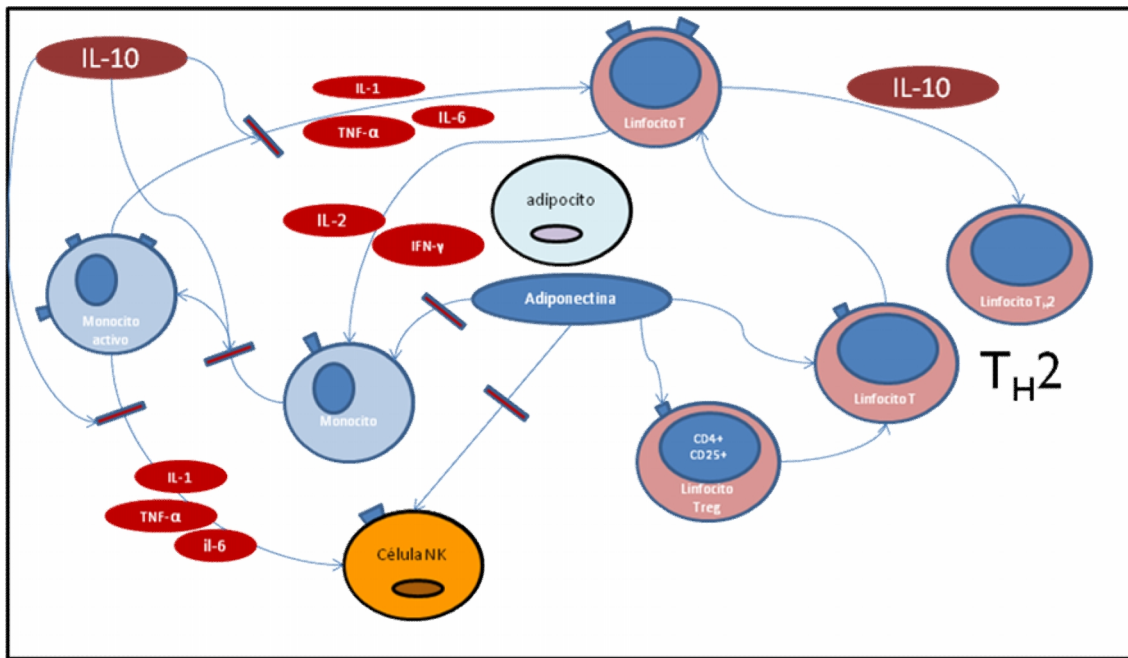
La leptina promueve el cambio de la respuesta inmune de linfocitos T cooperadores a Th1 mediante la secreción de interleucinas pro-inflamatorias como interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y TNF- $\alpha$ . De igual forma, involucra la supresión de linfocitos T reguladores (Treg) de proliferación CD4<sup>+</sup> y CD25<sup>+</sup> para evitar señales que favorezcan el cambio a respuesta Th2 Figura 2 y Figura 3 (Stofkova 2009).



**Figura 2 Respuesta tipo T<sub>H</sub>1 mediada por leptina.** La leptina activa a monocitos, linfocitos y células asesinas (NK) generando que estos produzcan: Interleucina 1(IL-1), Factor de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ ), Interferon Gamma (IFN- $\gamma$ ), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-12(IL-12) y propiciar así la diferenciación de las células a Th1. Modificado de (Fernandez *et al.*, 2010)

Estos efectos inmunomoduladores de la leptina requieren una interacción directa con el receptor OB-Rb funcional que está expresado en monocitos/macrófagos, células NK, linfocitos T y B y en precursores CD34<sup>+</sup> de la médula espinal hematopoiética. (Stofkova 2009).

El receptor de leptina (OB-R), un producto del gen de diabetes, pertenece a la familia de receptores citocina clase I que utiliza a gp130 como un transductor de la señal (Heldin 1995).



**Figura 3 Respuesta tipo  $T_H2$  mediada por adiponectina e IL-10.** La Interleucina 10 (IL-10) inhibe la secreción de Interleucina 1 (IL-1), Factor de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ ), Interferon Gamma (IFN- $\gamma$ ), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-12 (IL-12), por medio de diferentes mecanismos ko que inhibe también la activación de Células Asesinas (NK). Modificado de (Fernandez *et al.*, 2010)

Se han encontrado seis isoformas de OB-R, que contienen el mismo dominio de acoplamiento extracelular, pero difiere en la longitud de sus dominios citosólicos, una isoforma larga (OB-Rb), cuatro isoformas cortas (OB-Ra, OB-Rc, OB-Rd y OB-Rf) y la isoforma soluble (OB-Re). La isoforma OB-Rb es la causante de la mayor parte de la señalización, ya que tiene un dominio intercelular muy grande de aproximadamente 300 residuos citoplásmicos para una activación eficiente de la ruta de señalización de JAK-STAT (Houseknecht *et al.*, 1998; Brandon *et al.*, 2009).

Se sabe que además del tejido adiposo existen otros factores que están involucrados en la secreción de leptina. Uno de estos factores son los micronutrientes, los cuales están involucrados en enzimas señaladoras o en factores de transcripción que promueven la expresión de genes que intervienen en la respuesta inflamatoria (Peretz *et al.*, 1993).

## 2.6 Zinc

El zinc es un elemento esencial que se encuentra en granos enteros, leguminosas, aves, lácteos y productos de soya (Tabla 3 Alimentos con alto contenido de zinc Tabla 3). Aunque su concentración normal en plasma es relativamente baja (12-16  $\mu\text{g}$ ), es cofactor de más de 300 enzimas, y está involucrado en una variedad de funciones celulares, incluyendo transducción, transcripción y replicación (Vallee *et al.*, 1993). El sistema inmune está altamente influenciado por el zinc ya que es uno de los sistemas más proliferativos y requiere de todos estos procesos para lograr que sus células maduren (Hashemipour *et al.*, 2009).

**Tabla 3 Alimentos con alto contenido de zinc**

<b>Alimento</b>	<b><math>\mu\text{g}</math> de zinc /100 g de alimento</b>
<b>Ostiones, Almejas, Ostras</b>	52
<b>Germen de Trigo</b>	12
<b>Hígado de Cerdo</b>	7
<b>Yema de huevo (peso en seco)</b>	6.15
<b>Hígado de Res</b>	4.8
<b>Leche de Vaca en polvo</b>	4.4
<b>Pan Integral, Carne de Res</b>	3.5
<b>Quesos Frescos (Panela Ranchero Oaxaca)</b>	3

Modificado de (Vázquez *et al.*, 2008)

La determinación del estado nutricional de zinc puede llevarse a cabo por medio de indicadores biológicos como zinc en suero, plasma o en orina, así como en cabello, eritrocitos y leucocitos, o la actividad de enzimas dependientes de zinc (Peretz *et al.*, 1993).

Se ha comprobado que existe una relación entre zinc y obesidad en modelos animales y humanos. Diversos estudios epidemiológicos han corroborado que la prevalencia de obesidad está relacionada con un bajo consumo de zinc y con niveles séricos bajos de este mineral; sin embargo, existe controversia ya que estudios aislados demuestran lo contrario (García *et al.*, 2009).

En enfermedades de inflamación crónica y autoinmunes es común encontrar bajas concentraciones de Zn, lo que no necesariamente representa una deficiencia de Zn sino una redistribución de Zn en los tejidos como en el hígado(Wellinghausen *et al.*, 1998).

## 2.7 Vitamina A

La vitamina A es un alcohol polienoico isoprenoide (Figura 4) que solo puede encontrarse como tal en alimentos de origen animal y vegetal (

Tabla 4). Forma parte de una familia conocida como retinoides que comprenden al retinol, ácido retinoico, y retinaldehido. Los carotenoides y compuestos relacionados que se encuentran en plantas son llamados provitamina A ya que fácilmente pueden activarse y transformarse a la forma activa de esta vitamina.

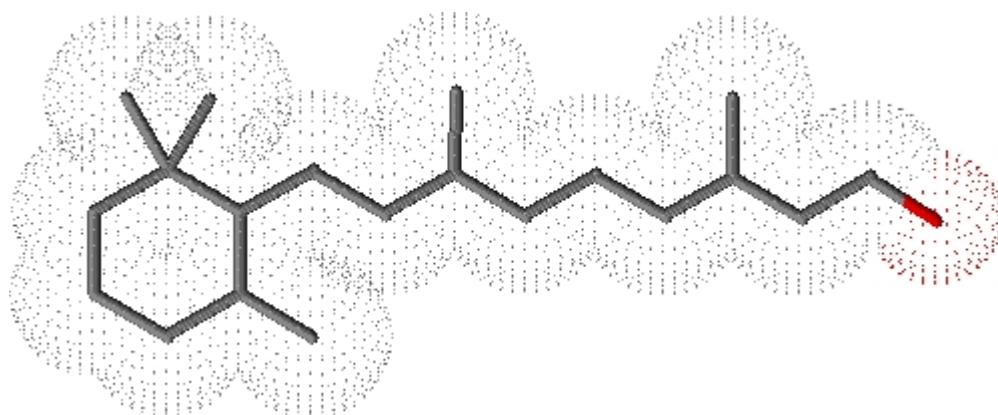


Figura 4 Estructura de la vitamina A

Tabla 4 Alimentos con alto contenido de Vitamina A (equivalentes de retinol)

Alimento	µg de Vitamina A por 100 g de alimento
Hígado	20,000
Aceite de hígado de bacalao	1,800
Zanahoria	1,346
Margarina	900
Huevo	740

<b>Espinacas</b>	542
<b>Quesos Añejos</b>	230
<b>Jitomate</b>	216

Modificado de (Vázquez *et al.*, 2008)

La vitamina A es una vitamina liposoluble esencial para el funcionamiento de vertebrados y está íntimamente ligada con el metabolismo de lípidos; el retinol es un derivado regulador peliotrópico encargado de diversas funciones celulares.

Estudios realizados con ratas demuestran que una dieta deficiente de vitamina A aumenta la expresión de leptina en tejido adiposo blanco y marrón (Kumar *et al.*, 1998; Bonet *et al.*, 2000).

## 2.8 Vitamina C

La vitamina C o ácido ascórbico, está involucrada en una serie de funciones vitales para el ser humano y otras especies, la dosis recomendada es de 60 mg/día para adultos no fumadores, que es suficiente para prevenir escorbuto, sin embargo la vitamina C en concentraciones más altas, ha demostrado ser eficiente tanto preventiva como terapéuticamente en enfermedades como aterosclerosis, algunos tipos de cáncer, infecciones virales e inflamación (Bendich *et al.*, 1995).

## 2.9 Vitamina E

Vitamina liposoluble que se encuentra en forma de tocoferoles y tocotrienoles, sin embargo la forma más común es el  $\alpha$ -tocoferol. Se deposita lentamente en hígado, músculo y principalmente en el tejido adiposo donde puede ser almacenada. Se encuentra principalmente en la yema de huevo, aceites vegetales y en vegetales de hojas verdes y en cereales integrales.

Esta se involucra con el sistema inmune y en la inflamación, principalmente por la regulación de especies reactivas de oxígeno ya que se ha observado una asociación entre la concentración de IL-6, IL-1 y TNF- $\alpha$  con la concentración de radicales libres, y la vitamina E al ser uno de los mejores antioxidantes exógenos ayuda a controlar este efecto (Huey *et al.*, 2008).

La intervención nutricional es una práctica común para modular la función del sistema inmune, dentro de estos la vitamina C y la vitamina E se han considerado como las más efectivas por su efecto en las funciones mediadas por las células T, ya que ha demostrado aumentar su diferenciación tanto en animales como en humanos (Meydani *et al.*, 1986; Meydani *et al.*, 1990).

## 2.10 Citocinas

Las citocinas son proteínas con actividad paracrina o autocrina, responsables de la comunicación intracelular y que generalmente regulan reacciones de inflamación y anti-inflamación. Existen una amplia gama de citocinas con diferentes actividades (Tabla 5 ) (Skov *et al.*, 2008).

**Tabla 5 Principales citocinas, acción y lugar de síntesis**

Citocina	Acción	Lugar de síntesis
IL-1	Pro-inflamatoria	Monocitos Adipocitos
IL-6	Pro-inflamatoria Anti-inflamatoria	Linfocitos T
IL-8	Pro-inflamatoria	Monocitos    Macrófagos Fibroblastos    Células Endoteliales
IL-10	Anti-inflamatoria	Linfocitos B Macrófagos Células NK
IL-12	Pro-inflamatoria	Fagocitos
TNF- $\alpha$	Pro-inflamatoria	Macrófagos Monocitos Linfocitos T Adipocitos

### 2.10.1 IL-1

La interleucina-1 es una familia de citocinas de origen proteico con diferentes efectos en la inmunidad e inflamación. Esta familia contiene 3 miembros, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-1ra, y pueden unirse a dos tipos de receptores tipo I, IL-R1 que tiene un peso de 80-KDa y se encuentra principalmente en linfocitos T y fibroblastos y IL1-R2 que tiene un peso de 68kDa y se encuentra principalmente en células B y neutrófilos (Greenfeder *et al.*, 1995; Osborn *et al.*, 2008).

El receptor IL1-R1 (IL1R1) es un receptor de membrana de gran importancia especialmente para la producción de IL-1 mediada por IL-6 e IL-8 (Greenfeder *et al.*, 1995), que requiere formar un dímero con la proteína de acoplamiento IL-1RAcP para poder adquirir su conformación funcional y así acoplarse a IL-1e iniciar la señalización. El receptor IL-1-R2 es un receptor soluble. La IL-1 se une a su receptor de membrana heterodimérico IL.1r1/IL-1R1AcP que inicia la cascada de señalización y que termina en la traslocación del factor de transcripción nuclear factor-kappa B (NF-κB) en el núcleo. Ahí induce la transcripción de genes pro y anti-inflamatorios incluyendo la sintetasa de óxido nítrico inducible (iNOS), IL-6, IL1-Ra y cicloxigenasa 2 (COX2)(Mengshol *et al.*, 2000; Osborn *et al.*, 2008).

La regulación de esta cadena de señalización se lleva a cabo principalmente por medio de IL-1Ra, que inhibe el acoplamiento de IL-1 con su receptor de membrana, frenando así la reacción inflamatoria (Osborn *et al.*, 2008).

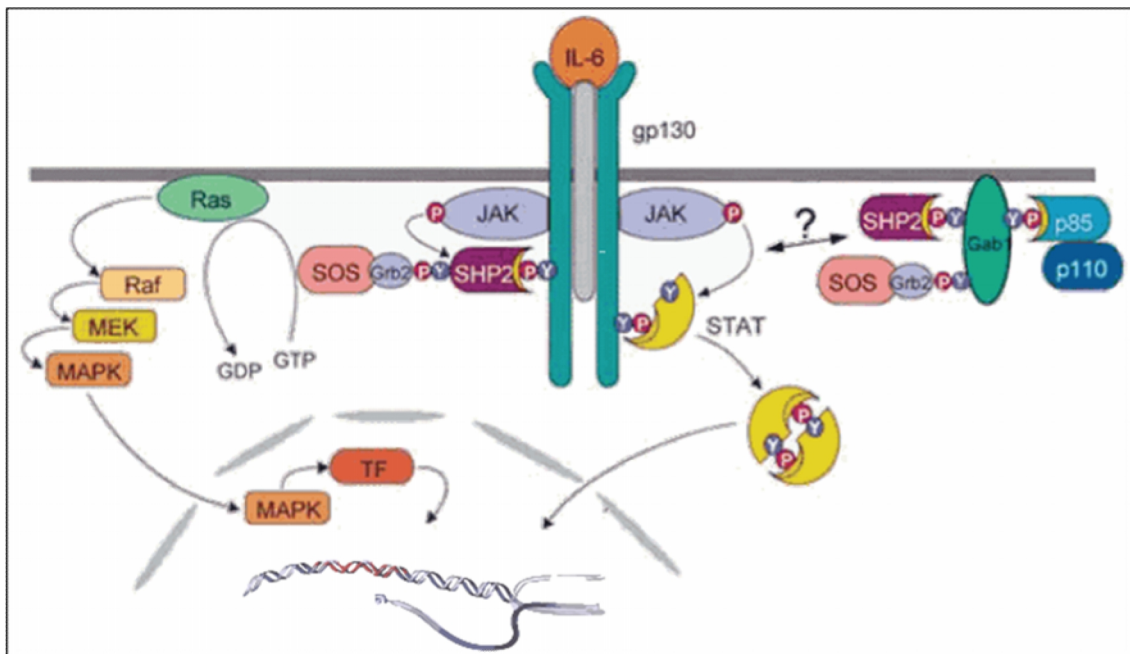
Recientemente se ha demostrado que la IL-1R1 e IL-1R2 son expresadas en linfocitos T reguladores ( $T_{reg}$ ), que a su vez tienen la habilidad de suprimir la respuesta inmune y que receptores de citocinas están expresados en un amplio rango de células periféricas en diferentes tejidos, como páncreas, músculo y tejido adiposo blanco (Bulek *et al.*, 2010).

El tejido adiposo blanco es capaz de producir tanto IL-1 como sus receptores IL.1R1 IL-1R1AcP, lo que indica que el tejido adiposo tiene la capacidad de señalización funcional de IL-1. Se ha demostrado que las personas obesas tienen sobrepresados estos genes, lo que aporta evidencia de una de la señalización desregulada de IL-1(Osborn *et al.*, 2008).

### 2.10.2 IL-6

La familia de IL-6 comprende a IL-6, IL-11, factor inhibidor de leucemia (LIF) entre otras citocinas. Son miembros de la familia de citocinas helicoidales de cadena larga. Activan genes involucrados en la diferenciación y supervivencia, apoptosis y proliferación, tienen propiedades inflamatorias principalmente pero también anti-inflamatorias y son parte importante en la hematopoyesis, así como en la

respuesta inmune e inflamatoria del organismo. Esta familia se acopla a su receptor de membrana gp 130 (glicoproteína 130) y la transducción de su señal involucra a la cinasa de Janus (JAK) y finaliza con la activación de factores de transcripción de los transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT). Sin embargo puede seguir otra ruta de señalización por medio de la proteín-cinasa activada por mitógenos (MAPK) como se muestra en la Figura 5 (Zhang *et al.*, 1997; Heinrich *et al.*, 2003).



**Figura 5 Transcripción de genes mediado por el sistema JAK-cinasa STAT**  
**Ruta alterna mediada por MAP-cinasa .Modificado de (Heinrich *et al.*, 2003)**

A pesar de que IL-6 es una citocina pro-inflamatoria que regula la inmunidad, se ha observado que durante estímulos inflamatorios agudos puede presentar un efecto antiinflamatorio (Gabay 2006).

### 2.10.3 IL-8

IL-8 es un miembro de la familia de citocinas CXC. Es una proteína de defensa multifuncional que promueve la activación de neutrófilos (Zinkernagel *et al.*, 2008). En un inicio fue identificado como un neutrófilo y un factor de activación; sin embargo, se le han atribuido nuevas actividades pro-inflamatorias, incluyendo la activación de células del sistema inmune y la promoción de angiogénesis. Esta



citocina es producida por monocitos y células endoteliales, principalmente, y su activación ocurre cuando IL-8 se une a sus receptores CXCR1 y CXCR2 expresados principalmente en neutrófilos monocitos y células endoteliales (Li *et al.*, 2008) .

#### 2.10.4 IL-10

IL-10 es una citocina de tipo II, y el primer miembro de una familia de citocinas que incluyen IL-19, IL-20, IL-22, IL24, IL-26, IL28, IL-29 e IL-29. Todas estas citocinas tienen una organización genómica muy parecida, se acoplan a receptores de estructuras similares y en muchos casos comparten dominios, y todas activan a JAK-cinasa que es transductora y activadora de la ruta STAT (Mosser *et al.*, 2008). .

La interleucina 10 es expresada principalmente por células del sistema inmune incluyendo Th2, Treg, Tr1, Th3 así como NK, linfocitos B, macrófagos y células dendríticas (DCs), y es la citocina con la respuesta anti-inmune y anti-inflamatoria más potente y más activa de todos los miembros de la familia. Es una proteína clave en la regulación del sistema inmune, limitando inflamación, y evitando el daño de tejidos y células. Es esencial para la homeostasis del sistema inmune (Moore *et al.*, 2001).

Múltiples estudios han confirmado que la ausencia de este mediador causa daños en diferentes tejidos ya que no hay una adecuada regulación de la inflamación. Por otra parte la sobreexpresión de esta citocina se asocia con infecciones crónicas (Couper *et al.*, 2008; Sanjabi *et al.*, 2009).

La IL-10 se une a su receptor de membrana heterodimérico, compuesto de IL-10R $\alpha$  (que es específico para IL-10) e IL-10R $\beta$  (que es compartido con IL-22). Al ligarse con su receptor activa a JAK1 y JAK2 posteriormente STAT3 se fosforila, e induce la expresión de SOCS 3 que regula diversas cadenas de señalización de citocinas incluyendo la de IL-6 (O`Shea *et al.*, 2008).

La concentración de IL-10 regula negativamente la producción de IL-12 (Moore *et al.*, 2001).

#### 2.10.5 IL-12

Es una familia de citocinas proinflamatorias que también incluye a la Interleucina 23 (IL-23) y a la Interleucina-27 (IL-27), es una familia heterodimérica formada por una cadena ligera de alrededor de 35KDa conocida como p35 o IL-12 $\alpha$  y una cadena de pesada de alrededor de 40-Kda conocida como p40 o IL-12 $\beta$ . (Trinchieri 2003).

La IL-12 induce la producción de interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) y favorece la diferenciación de células Th1. Los principales productores de IL-12 son las células dendríticas y los fagocitos. Su producción depende de diferentes mecanismos de la regulación de su expresión (Presky *et al.*, 1996).

El receptor de IL-12 es un heterodímero compuesto de IL-12R $\beta$ 1 e IL-12R $\beta$ 2 (Presky *et al.*, 1996), que activa la cinasa JAK-STAT. Esta citocina se enfoca en la activación de STAT4 principalmente, y sus receptores son expresados principalmente por células T y por células NK (Thierfelder *et al.*, 1996; Trinchieri 2003).

#### 2.10.6 TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$  es una citocina proinflamatoria, aislada en 1975 por Carswell. La mayor parte de los órganos contienen receptores para TNF- $\alpha$ . Esta citocina induce la proliferación de neutrófilos durante el proceso inflamatorio y es producida por diferentes tipos de células, principalmente por macrófagos (Alicato *et al.*, 2010).

A concentraciones pequeñas ayuda a mantener la homeostasis regulando el ritmo cardiaco, promueve el remplazo de tejido dañado gracias a la estimulación del crecimiento de fibroblastos (Popko *et al.*, 2008).

Se cree que TNF- $\alpha$  produce resistencia a la insulina al inducir un defecto en la capacidad de fosforilación de residuos de tirosina en el primer sustrato del

receptor de insulina (IRS-1), necesaria para la progresión de la señal intracelular de la hormona<sup>14,15</sup>, y al disminuir la expresión génica de los transportadores de glucosa sensibles a la insulina GLUT-4 (Rodríguez *et al.*, 2009).

### 2.11 Leptina y la respuesta inflamatoria

El efecto de la leptina en la producción de citocinas es controversial. Algunos estudios muestran una relación de la leptina con citocinas pro-inflamatorias incluyendo TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 y IFN en ratones y humanos (Lofreda *et al.*, 1998; Santos *et al.*, 1999; Zarkesh-Esfahani *et al.*, 2001). En contraste, se ha observado in vivo que inyectando endotoxina a primates reduce TNF- $\alpha$  e IL-6, después de un tratamiento con leptina, indicando el efecto anti-inflamatorio para promover la supervivencia durante sepsis (Vozarova *et al.*, 2001). También se ha observado que la leptina atenúa la pancreatitis en ratas aumentando la citocina anti-inflamatoria IL-4 y disminuyendo la producción de las pro-inflamatorias TNF- $\alpha$  y IL-1 $\beta$  cuando el páncreas es estimulado por medio de caeruleína (Jaworek *et al.*, 2002).

Un aumento en la concentración de leptina promueve la activación de células T de ayuda a CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> (T<sub>H</sub>1) produciendo citocinas pro-inflamatorias como IL-2 e IFN- $\gamma$ . Al disminuir sus niveles disminuye el porcentaje de células T de ayuda 2 (T<sub>H</sub>2) produciendo así IL-4 e IL-10 y promoviendo una reacción anti-inflamatoria (Stofkova 2009).

In vitro, la leptina ha demostrado potenciar la producción de óxido nítrico (NO) inducido por IL-1 e IFN- $\gamma$  en condrocitos. NO es un mediador pro-inflamatorio y destructivo en cartílago, ha demostrado el decremento en la proliferación de condrocitos y aumentar la producción de la citocina IL-1 $\beta$  que promueve la apoptosis y la inflamación del tejido (Vuolteenaho *et al.*, 2009).

### 3. JUSTIFICACIÓN

El sobrepeso y la obesidad son un problema de salud pública en México. Según datos de la ENSANUT 2006, en el ámbito nacional, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en mujeres es mayor al 70%. La Secretaría de Salud publicó que en 2009 más de 42 mil millones de pesos fueron gastados en comorbilidades asociadas al sobrepeso y obesidad, y esta cifra irá en aumento al menos de que se implementen estrategias para contener esta epidemia en el país. Contar con más información de los factores que intervienen en la obesidad y enfermedades asociadas es de vital importancia para su tratamiento y prevención (Olaiz-Fernández *et al.*, 2006; Córdova 2010).

Hoy día se sabe que la obesidad es un estado de inflamación crónica de bajo grado en el que se ven aumentadas las concentraciones de citocinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-6, leptina y TNF- $\alpha$ ) (Rizzo *et al.*, 2004; García *et al.*, 2006). El consumo de micronutrientes como el zinc y las vitaminas A, E y C están directamente implicados en la secreción de estas proteínas incluyendo a la leptina (Peretz *et al.*, 1993; Cristos *et al.*, 1998; García *et al.*, 2009).

Altas concentraciones de leptina perpetúan el estado de inflamación promoviendo la secreción de citocinas pro-inflamatorias. Es de gran interés conocer la relación que tienen los niveles sanguíneos de zinc, vitaminas A C y E con la leptina y citocinas pro inflamatorias y si esta relación es igual en individuos sanos y obesos.

No existen estudios que evalúen el efecto simultáneo de la concentración micronutrientes en marcadores inflamatorios y leptina, y se desconoce si este efecto es diferente en pacientes con obesidad.

#### **4. HIPÓTESIS**

Las vitaminas A, E, C y el zinc afectan los niveles séricos de marcadores de inflamación y leptina.

## **5. OBJETIVO**

### 5.1 General

Evaluar el efecto que tiene la concentración de las vitaminas A, C, E y zinc en la respuesta inflamatoria y niveles de leptina en una población abierta de mujeres en zona rural de México.

### 5.2 Específicos

- Evaluar la asociación entre leptina y las diferentes citocinas
- Determinar la asociación de las citocinas pro y anti inflamatorias con índices antropométricos y medidas de composición corporal
- Evaluar la relación del zinc y las vitaminas A, E, y C con citocinas pro y anti-inflamatorias.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Población

280 mujeres de 25 y 55 años de edad de comunidades rurales cercanas a la ciudad de Querétaro, Qro., fueron invitadas a participar en el estudio. Las comunidades que participaron en el estudio fueron El Blanco, San Idelfonso, San Vicente, Purísima de Cubos, La Esperanza, La Peñuela y México Lindo. Todas las mujeres recibieron información acerca del estudio tanto oral como escrita y firmaron una carta de consentimiento informado. El estudio fue previamente aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales (FCN), de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).

Para poder participar en el estudio, las mujeres cumplieron con los siguientes criterios de inclusión.

- Mujeres de 25 a 65 años
- Que hayan aceptado participar en el estudio y que hayan firmado la carta de consentimiento.
- Aparentemente sanas

Por otra parte los criterios de exclusión fueron:

- Mujeres embarazadas o lactando
- Personas con alguna patología asociada con inflamación o que comprometa al sistema inmune (artritis, cáncer, sida, lupus, etc).
- Mujeres diagnosticadas con diabetes, niveles séricos de glucosa arriba de 110 mg/mL.
- Personas que padezcan de sus facultades mentales.
- Personas que estén bajo algún tratamiento o que estén suplementadas con algún compuesto que pueda interferir en el estudio.
- Personas que estén bajo algún régimen especial de actividad física o dieta.

## 6.2 Tamaño de la Muestra

La muestra de 280 mujeres fue calculada para poder detectar diferencias significativas en la razón de momios de 0.5 a 1.75 entre dos grupos independientes con diferentes niveles de citocinas con un error alpha de 5% y un error beta del 20%, y una prevalencia de deficiencia de micronutrientes de 20% (Dupont *et al.*, 1997).

## 6.3 Diseño experimental

A las mujeres que aceptaron participar en el estudio y que cumplieron con los criterios de inclusión, se les tomó una muestra de sangre en ayunas (12 horas) para la determinación de Leptina, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12. Posteriormente, se les citó para ser transportadas a la Unidad Metabólica de la FCN de la UAQ, donde se llevó a cabo la evaluación antropométrica (talla, peso y circunferencia de cintura). Ese mismo día, se les realizó la evaluación de la composición corporal por medio de DEXA.

## 6.4 Métodos

### 6.4.1 Evaluación de Antropometría y Composición corporal

Se realizaron mediciones antropométricas a la población de estudio, por duplicado por personal previamente estandarizado y certificado, siguiendo los lineamientos de la OMS (Ferro *et al.*, 1993).

#### Talla y peso

La talla se midió con un estadímetro modelo Body Meter 206 (SECA Bradford, MA) de acuerdo al protocolo emitido por la OMS. Las mujeres fueron medidas descalzas, con los pies bien apoyados en una superficie plana, con el peso distribuido parejo en ambos pies, los talones juntos y la cabeza en una posición tal que la línea de visión sea perpendicular al cuerpo. Se llevó a cabo la medición verificando que los brazos colgaran libremente a los costados, y la cabeza, glúteos y talones estuvieran en contacto con la tabla vertical del estadímetro. Se les indicó



que hicieran una respiración profunda y que mantuviera la posición erguida. En ese momento se deslizó la cabeza móvil del estadímetro hasta el vértice del cráneo con una presión suficiente para comprimir el cabello (Ferro *et al.*, 1993).

Se pesó a las personas con una báscula modelo ROBUSTA 813 (SECA Bradford, MA) de acuerdo al protocolo de la OMS. Cada participante permaneció de pie inmóvil en el centro de la plataforma, con el peso del cuerpo distribuido de forma pareja entre ambos pies, sin zapatos (Ferro *et al.*, 1993).

#### Circunferencia de cintura

El sujeto permaneció de pie cómodamente con su peso distribuido sobre ambos pies, separados por una distancia de 25 a 30 cm. La medición de la circunferencia de cintura se realizó a una distancia intermedia entre el borde inferior de la última costilla y la cresta iliaca, en un plano horizontal, se palpó y marcó cada uno de estos puntos y se determinó el punto medio por medio de una cinta métrica (SECA Bradford, MA). El observador se sentó junto al sujeto y colocó la cinta pegada al cuerpo de este, sin apretar tanto para no comprimir los tejidos blandos. (Ferro *et al.*, 1993).

#### 6.4.2 Determinaciones bioquímicas:

##### Citocinas

Las concentraciones séricas de las citocinas inflamatorias TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, e IL-12 y la interleucina antiinflamatoria IL-10 se determinaron en forma simultáneamente por medio de citometría de flujo utilizando un kit para evaluación de inflamación en humanos (Becton Dickinson, San Jose, CA). Las muestras se incubaron 1.5 horas en la obscuridad con la dilución apropiada de cápsulas de captura; estas cápsulas posteriormente fueron lavadas por centrifugación e incubadas nuevamente 1 hora con 30 minutos. Se lavaron nuevamente por centrifugación y fueron cuantificadas por medio de un citómetro de flujo FACSCAN (Becton Dickinson, San José, CA) equipado con un láser a

488nm. Los datos fueron analizados utilizando el software BD CellQuest utilizando controles positivos suministrados por el proveedor.

#### Leptina y proteína C reactiva

La leptina y la proteína C reactiva fueron cuantificadas por duplicado utilizando un kit comercial de ELISA (Kit ELISA para leptina en humanos, Linco Research, St Charles, MO; Kit ELISA de alta sensibilidad para proteína-C Reactiva (CRP), Bioquant, San Diego, CA).

#### Zinc

Se determinó la concentración sérica de zinc por medio de espectrometría de absorción atómica. Para lo anterior, se preparó una curva de calibración a partir de un patrón certificado de Zn (Perkin Elmer, Boston, MA) lote 15-99Zn a concentraciones de 7 a 23  $\mu\text{mol/L}$ , diluyendo con ácido clorhídrico 0.1 molar. La muestra se preparó por triplicado diluyendo 1 parte de suero con 5 de ácido clorhídrico 0.1 molar, y se midió la absorbancia por triplicado con un espectrofotómetro AAlyst 7000 (Perkin Elmer, Boston, MA) utilizando una lámpara de Zn de cátodo hueco a 15mA. Se considero como deficiente de zinc a cualquier individuo con una concentración en sangre menor a  $<70\mu\text{g/dL}$  (Hess *et al.*, 2007).

#### Vitaminas A, C y E

Se determinó la concentración sérica de vitamina A y E simultáneamente por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase reversa, con un cromatógrafo modelo 1525 equipado con una bomba binaria, un detector de fotodiodo 2996, un automuesteador 717 y una columna C18 (WATERS, New Braunfels, TX). La fase móvil consistió de 100% metanol (J.T. Baker) y el flujo de medición fue de 1 mL/min a una temperatura de 40°C, cuantificado a una longitud de onda de 300 nm.

La vitamina C fue medida por medio de un equipo HPLC modelo 1525 equipado con una bomba binaria, un detector de fotodiodo 2996 y un automuesteador 717

(WATERS, New Braunfels, TX) utilizando una columna C18 (WATERS, New Braunfels, TX) con una fase móvil de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.01 M y EDTA 0.2 mM, a un flujo de 0.85 mL/min, y a una longitud de onda de 254 nm.

Los individuos fueron clasificados como deficientes de vitamina A cuando presentaron concentraciones en sangre abajo de 20 $\mu\text{g}/\text{dL}$  (Gibson 2005), deficientes de vitamina E cuando presentaron concentraciones en sangre inferiores a 5  $\mu\text{g}/\text{dL}$  (Gibson 2005) y deficientes de vitamina C con concentraciones en sangre menores a 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Food and Nutrition Board 2000; Gibson 2005).

### Glucosa y Perfil de Lipidos

La concentración de glucosa en ayunas fue determinada por el método enzimático colorimétrico usando un kit comercial Glucose-PAP (Elitech, Francia) con un Equipo Clinical Analyzer Bayer RA-50 (Bayer Diagnostics, Dublin, Ireland). La Concentración de colesterol total y HDL en plasma fue medido con un kit comercial (Cholesterol SL, Triglycerides, Cholesterol HDL SL 2G, Elitech, France) en un analizador Bayer RA-50, la concentración de LDL fue calculada a partir de las mediciones anteriores utilizando el método Friedewald (Friedewald *et al.*, 1972).

### Análisis estadístico.

Se realizó un análisis descriptivo de las variables que incluye medias y desviación estándar y un análisis de varianza con una prueba de Tukey para evaluar si existe diferencia significativa entre las mujeres con peso normal con sobrepeso y con obesidad de la población. Se crearon nuevas variables a partir de las ya obtenidas como lo son el IMC y el índice cintura estatura. Se estratificaron las variables de IMC (normal, sobrepeso y obesidad) y citocinas (no detectables, niveles bajos y niveles altos).

Se realizó una correlación de Pearson y una regresión lineal para evaluar la relación entre leptina e índices antropométricos y de composición corporal. Para evaluar la relación entre los micronutrientes y citocinas se realizó una regresión

logística ordenada y se utilizó la razón de momios para reportar los resultados. Todos los análisis se realizaron usando el paquete estadístico de STATA 11.

## 7. RESULTADOS

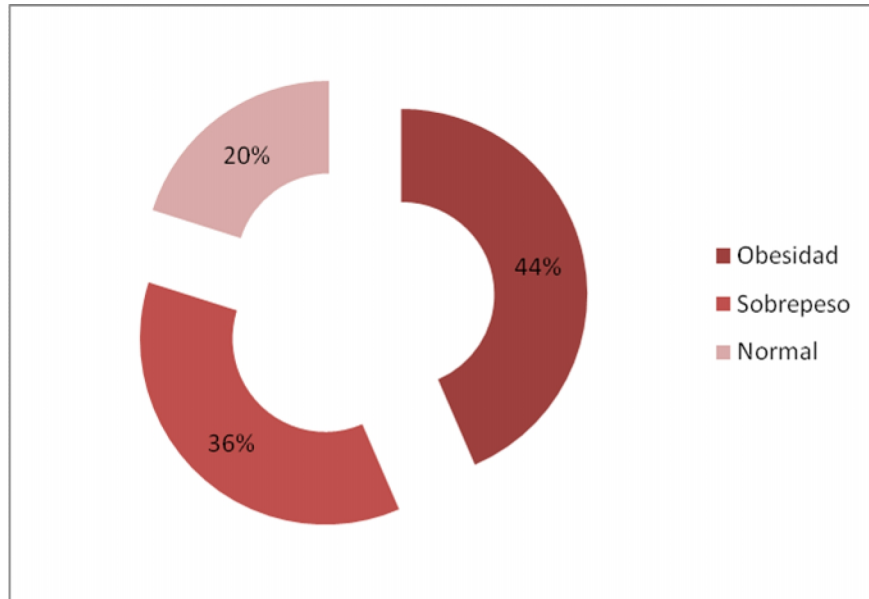
Las medidas antropométricas y metabólicas de la población se resumen en la Tabla 6, donde se puede observar que la media para la edad es de 36 años. En promedio, las mujeres son de baja talla (151.9 cm.  $\pm$  4.9), con un elevado índice de masa corporal y porcentaje de grasa abdominal. El promedio de la concentración de vitaminas A, E y C es adecuado; sin embargo el promedio de la concentración en sangre de zinc es bajo (1.3  $\mu$ g/mL). La concentración promedio de proteína C reactiva indica inflamación sistémica de bajo grado (5.3 mg/mL).

**Tabla 6 Variables Antropométricas y bioquímicas de la población**

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> DS</b>
Edad (Años)	36.2 $\pm$ 7.03
Talla (cm)	151.9 $\pm$ 4.9
Peso (Kg)	68.5 $\pm$ 12.6
Índice de Masa Corporal (Kg/m <sup>2</sup> )	29.9 $\pm$ 5.5
Indice Cintura Estatura	0.6 $\pm$ 0.1
% Grasa abdominal	43.7 $\pm$ 5.8
Vitamina A ( $\mu$ g/dL)	48.3 $\pm$ 11.3
Vitamina E ( $\mu$ g/mL)	7.2 $\pm$ 2.0
Vitamina C ( $\mu$ g/mL)	5.3 $\pm$ 2.2
Zinc ( $\mu$ g/mL)	1.3 $\pm$ 0.7
Proteína C Reactiva (mg/mL)	5.3 $\pm$ 3.8
Leptin (ng/mL)	32.9 $\pm$ 18.8

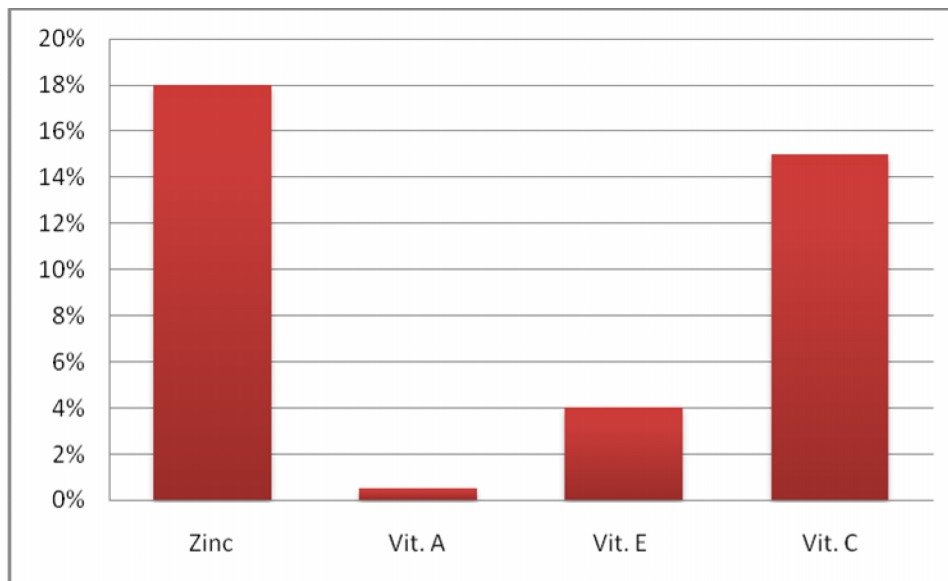
Los valores se presentan como medias  $\pm$  desviación estándar (N=280)

Se observó una alta prevalencia de obesidad y sobrepeso en la población: 43.5% y 36.4%, respectivamente (Figura 6).



**Figura 6** prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población

Las prevalencia de deficiencias de vitamina C fue de 4%, 15% de vitamina E y 18% de zinc. La prevalencia de deficiencia de vitamina A es prácticamente nula (Figura 7).



**Figura 7** Deficiencia de micronutrientes en la población

Se evaluó a la población de estudio de acuerdo a su IMC (Tabla 7). Como era de esperarse, existe una diferencia significativa entre los grupos de peso normal, sobrepeso y obesidad en las variables de peso, ICE, % grasa abdominal, circunferencia de cintura, leptina y proteína C reactiva. La concentración de

vitamina E fue significativamente menor en las mujeres con obesidad comparadas con las mujeres con peso normal y sobrepeso. Las mujeres con peso normal y obesidad tuvieron significativamente más vitamina A que las mujeres con sobrepeso. No hubo diferencias entre grupos de acuerdo a la concentración de zinc y vitamina C.

**Tabla 7 Características de la población de estudio de acuerdo a su Índice de Masa Corporal (N=280)**

<b>Parámetro</b>	<b>Normal</b>	<b>Sobrepeso</b>	<b>Obesidad</b>	<b>Total</b>
<b>Edad (años)</b>	33.9 ± 6.8 <sup>a</sup>	37.2 ± 7.8 <sup>a</sup>	38.2 ± 7.5 <sup>b</sup>	37 ± 7.5 <sup>**</sup>
<b>Peso (Kg)</b>	53.9 ± 4.9 <sup>a</sup>	62.9 ± 5.1 <sup>b</sup>	78.9 ± 10.4 <sup>c</sup>	68.2 ± 12.7 <sup>**</sup>
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	22.9 ± 1.5 <sup>a</sup>	27.5 ± 1.4 <sup>b</sup>	34.5 ± 4.1 <sup>c</sup>	29.7 ± 5.5 <sup>**</sup>
<b>Índice Cintura Estatura</b>	0.4 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.5 ± 0.1 <sup>**</sup>
<b>Grasa Abdominal (%)</b>	36.9 ± 5.1 <sup>a</sup>	42.9 ± 3.7 <sup>b</sup>	47.1 ± 4.1 <sup>c</sup>	43.6 ± 5.6 <sup>**</sup>
<b>Circunferencia de Cintura</b>	76.5 ± 15.1 <sup>a</sup>	86.3 ± 4.9 <sup>b</sup>	99.9 ± 8.9 <sup>c</sup>	90.3 ± 11.5 <sup>**</sup>
<b>Vitamina A (µg/dL)</b>	46.2 ± 10.9 <sup>a</sup>	50.1 ± 7.7 <sup>b</sup>	48.1 ± 11.9 <sup>ab</sup>	48.5 ± 11.4 <sup>*</sup>
<b>Zinc (mg/mL)</b>	1.2 ± 0.5 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.6 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.7 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.6
<b>Vitamina E (µg/mL)</b>	7.6 ± 2.2 <sup>a</sup>	7.6 ± 2.1 <sup>a</sup>	6.7 ± 1.9 <sup>b</sup>	7.4 ± 2.1 <sup>**</sup>
<b>Vitamina C (µg/mL)</b>	5.1 ± 2.2 <sup>a</sup>	5.4 ± 2.2 <sup>a</sup>	5.4 ± 2.2 <sup>a</sup>	5.2 ± 2.2
<b>Leptina (pg/mL)</b>	16.1 ± 9.6 <sup>a</sup>	25.7 ± 11.1	44.6 ± 18.4 <sup>c</sup>	32.2 ± 18.5 <sup>**</sup>
<b>CRP (mg/L)</b>	2.7 ± 3.3 <sup>a</sup>	4.3 ± 3.1 <sup>b</sup>	6.7 ± 3.7 <sup>c</sup>	5.1 ± 3.5 <sup>**</sup>

Análisis de varianza entre los grupos (Normal Sobrepeso y Obesidad) \*p<0.05 \*\*p<0.01

<sup>a b c</sup> Diferencias entre grupos por medio de un prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de confianza de 95%

Se realizaron una serie de regresiones para detectar posibles variables confusoras. Después de estas pruebas, se determinó que las variables CRP y edad, demostraron tener un efecto directo en los marcadores de inflamación y por lo tanto, fueron incluidas en los modelos de regresión logística ordenada.. Se evaluó el riesgo que tienen las mujeres con altos niveles de grasa abdominal, un alto índice cintura estatura y un alto índice de masa corporal de tener altas

concentraciones de marcadores de inflamación (Tabla 8). Las mujeres que tienen alto porcentaje de grasa abdominal, un alto IMC y un alto ICE, presentaron un mayor riesgo de tener altas concentraciones de IL-6. No se encontró ninguna asociación entre las demás citocinas IL-1, IL-8, IL-10, IL-12 y TNF-  $\alpha$  y las variables de composición corporal.

**Tabla 8 Relación entre marcadores de inflamación, e indicadores de composición corporal**

	IL-1(pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL8(pg/ml)	IL-10(pg/ml)	IL-12(pg/ml)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)
% Grasa Abdominal	0.99 (0.95 - 1.03)	1.05 (1.01 - 1.09) *	1.00 (0.96 - 1.03)	1.01 (0.96 - 1.04)	1.01 (0.97 - 1.05)	0.99 (0.95 - 1.03)
Índice de Masa Corporal	0.99 (0.95 - 1.03)	1.03 (1.00- 1.07)*	1.01 (0.96 – 0.04)	1.00 (0.96 - 1.05)	1.00 (0.95 - 1.04)	0.98 (0.94 - 1.03)
Indice Cintura Estatura	0.67 (0.03 – 11.5)	12.89 (0.92-179.5)*	1.75 (0.11 – 26.5)	1.21 (0.063 – 24.3)	1.01 (.055 – 18.3)	0.36 (0.018 – 7.23)

Los valores están presentados como razón de momios (95% IC), que representan la probabilidad de que la concentración de una citocina (categorizadas en 3 niveles no detectable, <mediana, >mediana) sea mayor entre mujeres con un elevado indicador de composición corporal.

Ajustado por proteína C reactiva y edad.

\*p<0.05

\*\*p<0.01

Una regresión logística ordenada se efectuó para evaluar la relación que existe entre los marcadores de inflamación y los niveles séricos de leptina en la población (Tabla 9). En esta población, la concentración de leptina no incrementó ni disminuyó el riesgo de tener mayores niveles de marcadores de inflamación.



**Tabla 9 Relación entre leptina y marcadores de inflamación**

<b>Citocinas</b>	<b>RM (95% IC)*</b>	<b>P</b>
<b>IL-1</b>	0.92 (0.80-1.05)	0.255
<b>IL-6</b>	1.01 (0.89-1.15)	0.781
<b>IL-8</b>	0.95 (0.83-1.08)	0.481
<b>IL-10</b>	0.92 (0.79-1.06)	0.272
<b>IL-12</b>	0.96 (0.83-1.11)	0.616
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	0.91(0.79-1.06)	0.252

Los valores están presentados como razón de momios(95% IC), que representan la probabilidad de que la concentración de una citocina (categorizadas en 3 niveles no detectable, <mediana, >mediana) sea mayor entre mujeres con un elevado indicador de composición corporal.

Ajustado por proteína C reactiva y edad

. \*p<0.05

\*\*p<0.01

Para evaluar el riesgo que tiene la población de tener altos niveles de marcadores de inflamación de acuerdo con diferentes concentraciones de micronutrientes se realizó una regresión logística ordenada (Tabla 10). El riesgo de tener altas concentraciones de los marcadores de inflamación: IL-6, IL,10, IL-12 y TNF-  $\alpha$  se ven significativamente reducidos en individuos que presentan altas concentraciones de zinc. El riesgo de presentar altos niveles de interleucina-1 es menor en las mujeres que presentaron altas concentraciones de vitamina A. Por el contrario, el riesgo de tener altos niveles de IL-6 es mayor en las participantes que presentaron altas concentraciones de vitamina E. La vitamina C en este estudio no se asoció con ninguno de los marcadores de inflamación en sangre.

**Tabla 10 Relación entre micronutrientes y marcadores de inflamación**

<b>Micronutriente</b>	<b>IL-1 pg/mL</b>	<b>IL-6 pg/mL</b>	<b>IL-10 pg/mL</b>	<b>IL-12 pg/mL</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math> pg/mL</b>
<b>Zinc ug/mL</b>	0.81(0.56-1.18)	0.57 (0.39-0.84)*	0.63 (0.41-0.96)*	0.63 (0.41-0.95)*	0.63 (0.42-0.96)*
<b>Vit. A ug/dL</b>	0.97 (0.95-0.99)*	0.98 (0.96-1.00)	0.98 (0.95-1.01)	0.97 (0.94-0.99)*	0.98 (0.95-1.01)
<b>Vit. C ug/mL</b>	1.04 (0.92-1.17)	1.01 (0.90-1.13)	1.08 (0.95-1.21)	1.11 ( 0.98-1.25)	1.08 (0.96-1.22)
<b>Vit. E ug/mL</b>	1.27 (1.03-1.57)	1.23 (1.00-1.5)	1.07 (0.85-1.41)	1.19 (0.96-1.49)	1.15 (0.92-1.44)

Los valores están presentados como razón de momios (95% IC), que representan la probabilidad de que la concentración de una citocina (categorizadas en 3 niveles no detectable, <mediana, >mediana) sea mayor entre mujeres con un elevado indicador de composición corporal.

Se ajusto por proteína C reactiva y edad.

\*p<0.05

\*\*p<0.01

## 8. DISCUSIÓN

Este estudio es el primero en caracterizar la relación entre citocinas inflamatorias y medidas de adiposidad y obesidad central entre mujeres de zona rural en México, además de caracterizar el efecto de las concentraciones sanguíneas de diversos micronutrientes sobre niveles de marcadores de inflamación.

Se observó una relación significativa entre interleucina-6 y las medidas de obesidad y adiposidad central que es consistente con lo que otros autores han reportado (Mohamed-Ali *et al.*, 1997; Fried *et al.*, 1998). Mohamed *et al.* (1997), por ejemplo, reportaron que aproximadamente el 30% de la IL-6 circulante es secretada por el tejido adiposo, y que este porcentaje se incrementa en personas obesas. Vozarova *et al.* (2001) en estudios en una población de indios Pima encontraron que las concentraciones de IL-6 están relacionadas positivamente con el tejido adiposo y negativamente relacionada a la acción de la insulina. Otras interleucinas, como TNF- $\alpha$ , han sido correlacionadas con obesidad y tejido adiposo en estudios realizados tanto en roedores como en humanos (Kern *et al.*, 1995; Kern *et al.*, 2001). Los resultados del presente estudio son similares a los de le Kern y col (2001). Observaron que las concentraciones de IL-6 fueron mucho más elevadas en plasma y en tejido adiposo en sujetos obesos comparado con sujetos con peso adecuado. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre obesos y no obesos en las concentraciones de TNF-  $\alpha$ .

En el presente trabajo, la IL-6 se asoció significativamente con el tejido adiposo. Estos resultado coinciden con lo reportado en otros estudios (Mohamed-Ali *et al.*, 1997; Fried *et al.*, 1998). Así mismo, está comprobado que las personas obesas y con diabetes tienen concentraciones altas de IL-6, y existe una correlación directa entre ésta y el porcentaje de grasa corporal (Vozarova *et al.*, 2001).

La leptina se ha asociado directamente con la producción de citocinas proinflamatorias (Popa *et al.*, 2005). De igual forma, se ha estudiado también el efecto que tienen los micronutrientes en la producción de leptina, por lo que la leptina pudiera ser el mecanismo por el cual los micronutrientes se relacionan con

los procesos de inflamación observados en la obesidad. Los resultados muestran una falta de asociación entre la leptina y los marcadores de inflamación lo que sugiere que, en esta población, el mecanismo por el cual los micronutrientes tienen un efecto en la inflamación sistémica no es por medio de la regulación de leptina. Por consiguiente la leptina se dejó fuera del modelo que se utilizó para evaluar la relación entre micronutrientes e inflamación crónica.

Se observaron diferentes asociaciones entre la concentración de micronutrientes y el riesgo de tener concentraciones elevadas de marcadores de inflamación en sangre. La reducción en el riesgo de tener altas concentraciones de los marcadores de inflamación TNF- $\alpha$ , IL-6 IL-10 e IL-12 entre las mujeres con altas concentraciones de zinc es similar a lo reportado por (Bao *et al.*, 2010), quienes observaron que una suplementación con zinc en personas de la tercera edad reduce citocinas proinflamatorias en plasma..

Han surgido diferentes hipótesis y mecanismos de cómo es que se relaciona el zinc con la obesidad y por consiguiente con la inflamación crónica de bajo grado. Uno de los más sugeridos es por medio de la regulación de la leptina ya que es la hormona encargada de prender rutas de señalización en el hipotálamo, que regula la sensación de saciedad. Un estudio realizado por Gómez *et al.* (2006) demostró que la administración de un suplemento de zinc aumenta la concentración de leptina sérica en hombres obesos. Sin embargo, en este estudio la leptina no relacionó con la inflamación crónica y por consiguiente la regulación que pueda tener el zinc en la secreción de leptina no fue considerada en el modelo.

Otros mecanismos por medio de los cuales el zinc pudiera afectar la inflamación crónica es por medio de enzimas dependientes de zinc que se involucran en la transcripción de proteínas inflamatorias. Una de ellas es la glicoproteína-zinc  $\alpha$ 2 (ZAG) que es una adipocitocina soluble encontrada en plasma. Un análisis de la estructura de esta citocina demostró que forma parte del complejo mayor de histoproteínas (MHC por sus siglas en inglés). A diferencia de las otras proteínas de esta familia, ZAG no es una proteína de membrana y su función parece ser diferente a las otras proteínas. ZAG tiene un rol importante en la transcripción de

TNF- $\alpha$  y al parecer reduce la expresión de este marcador de inflamación (Mracek *et al.*, 2010). Se ha caracterizado a esta citocina como un factor protector en la obesidad, ya que reduce algunos marcadores de inflamación y estimula la lipólisis (Bao *et al.*, 2005). Se ha comprobado que la expresión de ZAG es menor en individuos obesos que en personas con peso normal (Marredes *et al.*, 2008). Sin embargo se requieren más estudios para poder asegurar que este es uno de los mecanismos por los que el zinc es un factor de protección en la inflamación crónica de bajo grado.

Otra de las enzimas en las que el zinc está involucrado es la  $\alpha_2$ -macroglobulina, al modificar su conformación y así tener una mayor influencia sobre la función inmune, principalmente promoviendo su interacción con citocinas y proteasas (Wellinghausen *et al.*, 1998).

Otro mecanismo independiente de leptina en el que el zinc puede estar involucrado es por medio de la secreción de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6 e IL-1 que se promueve por la interacción directa del zinc con monocitos, y puede ser detectado en líneas de este tipo de células (Wellinghausen *et al.*, 1998).

Hasta el día de hoy no existe una teoría que por sí sola explique la relación entre el zinc y la inflamación sistémica. Queda mucho por explorar en esta área y se requieren estudios de cohorte o de intervención para poder aislar variables confusoras y encontrar el verdadero efecto del zinc así como las vías en las que actúa en el proceso de inflamación crónica de bajo grado.

Al igual que el zinc, en esta población altas concentraciones de vitamina A están asociadas con un riesgo reducido de tener concentraciones elevadas de marcadores de inflamación. Esta asociación solo se encontró con las citocinas IL-1 e IL-12 y no fue tan fuerte como en el caso del zinc, probablemente por el hecho de que no hubo deficiencia de vitamina A en las mujeres del estudio. Por consiguiente la parte de la regresión ordenada con valores bajos de vitamina A no está considerada en el modelo.

La vitamina A se asocia con la respuesta inflamatoria ya que se sabe que retinol activa los receptores nucleares RA, que regula la transcripción de genes que contienen el elemento responsivo RA, que tiene que ver con genes del sistema inmune y secreción de interleucinas (Kumar *et al.*, 1999). La vitamina A y sus compuestos retinoicos activos modifican las respuestas inmunes promoviendo la respuesta Th2 y al mismo tiempo inhibiendo las respuestas Th1 en roedores y humanos; sin embargo aun no se ha definido un mecanismo específico. Una de las propuestas es que el ácido retinoico *trans* se une al receptor de ácido retinoico alfa (RAR- $\alpha$ ), el cual inhibe la producción de IFN- $\gamma$  por linfocitos T (Dawson *et al.*, 2009).

Se puede concluir que la vitamina A y el zinc pueden estar actuando por diferentes mecanismos en la inflamación crónica de bajo grado ya que cada uno actúa en diferentes marcadores de inflamación. (Wellinghausen *et al.*, 1998; Dawson *et al.*, 2009; Mracek *et al.*, 2010).

En contraste se encontró que concentraciones elevadas de Vitamina E se asocian con un riesgo elevado de tener mayores concentraciones de citocinas proinflamatorias (IL-6 e IL-12), y la vitamina C no tuvo ningún efecto. Estos hallazgos no son consistentes con los que otros autores han encontrado de las vitaminas antioxidantes, ya que se ha reportado que tienen un efecto antiinflamatorio. (Wannamethee SG *et al.*, 2006), por ejemplo, reportó que la vitamina C tiene efectos antiinflamatorios en hombres sin historial de enfermedad cardiovascular o diabetes. Por otro lado, (Block G *et al.*, 2004) reportaron que la suplementación con vitamina C está asociada a una reducción del 25% en las concentraciones de CRP en plasma.

Existieron algunas limitaciones metodológicas en el estudio, ya que es un estudio transversal y determinar la causalidad entre la composición corporal, los niveles de micronutrientes en sangre y marcadores de inflamación es muy complicado. Es imposible conocer si los micronutrientes están afectando los niveles de citocinas o si las citocinas están contribuyendo a cambiar los niveles de micronutrientes en sangre.

Este estudio proporciona antecedentes para poder realizar nuevos estudios en el área, ya sea estudios de cohorte o estudios de intervención, a partir de los cuales se pueda encontrar los verdaderos efectos de cada micronutriente en la inflamación crónica, y conocer la causalidad sobretodo en micronutrientes como el zinc y las vitaminas A, C y E que están íntimamente ligadas al metabolismo de personas obesas.

## 9. CONCLUSIONES

- En esta población, la ruta por medio de la cual las vitaminas evaluadas y el zinc ejercen su efecto en la inflamación sistémica es independiente de leptina.
- Un aumento en el tejido adiposo, ya sea medido como % de grasa abdominal, índice de masa corporal o índice cintura estatura, aumenta el riesgo de tener una mayor concentración de IL-6 en sangre.
- Altas concentraciones de zinc demostraron ser un factor protector contra la inflamación crónica de bajo grado disminuyendo la probabilidad de tener altos niveles de las citocinas inflamatorias IL-6, IL-10, IL-12 y TNF- $\alpha$ .
- La vitamina A demostró ser un factor protector contra la inflamación crónica disminuyendo la probabilidad de tener altos niveles de IL-1; sin embargo el efecto pudo verse atenuado por la falta de deficiencia de vitamina A en la población.
- Altas concentraciones de vitamina E, demostraron aumentar el riesgo de tener altas concentraciones de IL-6 en sangre sin embargo esta asociación desaparece al ajustar la vitamina E por la concentración de lípidos en sangre.



## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alicato, F., P. Sainaghi, D. Sola, L. Castello and G. C. Avanzi. 2010. "TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-1 expression is inhibited by GAS6 in monocytes/macrophages." *Journal of leukocyte biology* 87: 1-7.

Amarasinghe, A., G. D'Souza, C. Brown, H. Oh and T. Borisova. 2009. "The Influence of Socioeconomic and Environmental Determinants on Health and Obesity: A West Virginia Case Study." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 6: 2271-2287.

Bao, B., S. Prasad, F. Beck, T. Fitzgerald, D. Snell, G. Bao, *et al.*,. 2010. "Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent." *American Journal of Clinical Nutrition* 91: 1634-1641.

Bao, Y., C. Bing, L. Hunter, J. Jenkins, M. Wabitch and P. Trayhurn. 2005. "Zinc- $\alpha$ 2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed and secreted by human (SGBS) adipocytes." *FEBS letters* 579: 41-47.

Bendich, A. and L. Langseth. 1995. "The health effects of vitamin C supplementation: a review." *Journal of The American College of Nutrition* 14 2: 124-136.

Bennett, S. 1995. "Cardiovascular risk factors in Australia: trends in socioeconomic inequalities." *Journal of epidemiology and community health* 49: 363-372.

Berg, J., J. Tymoczko and L. Stryer. 2002. *Biochemistry*. New York, W.H. Freeman.

Block G, Jensen C, Dietrich M, Norkus EP, Hudes M and Packer L. 2004. "Plasma C-reactive protein concentrations in active and passive smokers: influence of antioxidant supplementation." *J Am Coll Nutr* 23: 141-147.

Bonet, M., J. Oliver, C. Pico, F. Felipe, J. Ribot, S. Cinty, *et al.*,. 2000. "Opposite effects of feeding a vitamin A-deficient diet and retinoic acid treatment on brown adipose tissue uncoupling protein 1 (UCP1), UCP2 and leptin expression." *Journal of Endocrinology* 166: 511-517.

Brandon, E. L., J. Gu, L. Cantwell, Z. He, G. Wallace and J. E. Hall. 2009. "Obesity promotes melanoma tumor growth: Role of leptin." *Cancer Biology & Therapy* 8 19: 1871-1879.

Bulek, K., S. Swaidani, J. Quin, Y. Lu, M. Gulen, T. Herjan, *et al.*,. 2010. "The essential role of single Ig IL-1 receptor-related Molecule/Toll IL-1R8 in regulation of Th2 Immune Response." *Journal of Immunology* 182: 2601-2609.

Córdova, J. A. 2010. Conferencia de Prensa "Acuerdo Nacional Para la Salud". Mexico, D.F.

Couper, K., D. Blount and E. Riley. 2008. "The master regulator of immunity to infection." *Journal of Immunology* 180: 5771-5777.

Cristos, S., C. Mantzoros, S. Ananda, A. Prasad, F. Beck and J. Brewer. 1998. "Zinc May Regulate Serum Leptin Concentrations in Humans." *Journal of The American College of Nutrition* 17 3: 270-275.

Cutles, D. M., E. L. Glaeser and J. M. Shapiro. 2003. "Why Have Americans Become More Obese?" *Journal of Economic Perspectives* 17 3: 93-118.

Dawson, H., G. Solana, M. Beal, B. Ethiopia, V. Vangimalla, E. Joenes, *et al.*,. 2009. "Localized Th1-, Th2-, T Regulatory Cell-, and Inflammation-Associated Hepatic and Pulmonary Immune Responses in *Ascaris suum*-Infected Swine Are Increased by Retinoic Acid." *Infection and Immunity* 77 6: 2576-2587.

Dupont, W. and W. Plummer. 1997. "PS power and sample size program available for free on the Internet. *Controlled Clin Trials*." 18-274.

Fernandez, P., S. Najib, J. Santos, C. Martin, A. Perez, C. Gonzalez, *et al.*,. 2010. "Role of Leptin in the activation of Immune Cells." *Mediators of Inflammation* 2010: 1-8.

Ferro, A., C. Garza, J. Haas, J. P. Habicht, A. Pradilla and J. Himes. 1993. "El estado físico: uso e interpretación de la antropometría." OMS, Serie de Informes Tecnicos Ginebra Suiza.

Finegood, D. T. 2009. "Canada in context Challenging our epidemics of obesity and obesity-related chronic diseases." *Health Reports* 20 4: 4-5.

Food and Nutrition Board, I., Ed. (2000). Vitamin E. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington D.C, National Academies Press.

Fried, S., D. Bunkin and A. Greenberg. 1998. "Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid." *Journal of Endocrinology & Metabolism* 83: 847-850.

Friedswald, W. T., R. I. Levy and D. D. Fredrickson. 1972. "Estimation of the concentration of lowdensity lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of preparative centrifuge." *Clinical Chemistry* 18: 499-502.

Gabay, C. 2006. "Interleukin-6 and chronic inflammation." *Arthritis Research & Therapy* 8 2: 1-6.

Gallagher, D., S. Heymsfield, M. Heo, S. Jebb, P. Murgatroyd and Y. Sakamoto. 2000. "Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines

based on body mass index." *The American Journal of Clinical Nutrition* 72: 694-701.

García, O., K. Long and J. Rosado. 2009. "Impact of micronutrient deficiencies on obesity." *Nutrition Reviews* 10: 559-572.

García, S., M. Goicoechea, J. Kanter, M. Puerta, V. Cachofeiro, V. Lachera, *et al.*,. 2006. "Insulin Resistance, Inflammatory Biomarkers, and Adipokines in Patients with Chronic Kidney Disease: Effects of Angiotensin II Blockade." *Journal of the American Society of Nephrology* 17: S206-S212.

Gibson, R. 2005. Assessment of the status of vitamins A, D, and E. In: *Principles of Nutritional Assessment*. New York, New York, Oxford University Press.

Greenfeder, S., P. Nunes, L. Kwee, M. Labow, R. Chizzonite and G. Ju. 1995. "Molecular Cloning and Characterization of a Second Subunit of the interleukin 1 receptor complex." *Journal of Biological Chemistry* 270 23: 13757-13765.

Hashemipour, M., R. Kelishad, J. Shapuri and P. Poursafa. 2009. "Effect of zinc supplementation on insulin resistance and components of the metabolic syndrome in prepubertal obese children." *Hormones* 8 4: 279-285.

Heinrich, P., I. Behrmann, S. Haan, H. Hermanns, G. Muller and F. Schaper. 2003. "Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation." *Biochemical Journal* 374: 1-20.

Heldin, C. 1995. "Dimerization of cell surface receptors in signal transduction." *Cell* 80: 213-223.

Hess, S. Y., J. Peerson, J. King and K. Brown. 2007. "Use of serum zinc concentrations as an indicator of population zinc status." *Food and Nutrition Bulletin* S403-29.

Houseknecht, K., C. Baile, R. Matteri and M. Spurlock. 1998. "The biology of Leptin." *Journal of Animal Science* 76: 1405-1420.

Huey, K., G. Fiscus, A. Richwine, W. Johnson and B. Meador. 2008. "In vivo vitamin E administration attenuates interleukin-6 and interleukin-1 responses to an acute inflammatory insult mouse skeletal and cardiac muscle." *Experimental Physiology* 93: 1263.

Jaworek, J., J. Bonior, P. Pierzchalski, R. Tomaszewska, J. Stachura, R. Sendur, *et al.*,. 2002. "Leptin protects the pancreas from damage induced by caerulein overstimulation by modulating cytokine production." *Pancreatology* 2: 89-99.

Kaises, L., M. Townsend, H. Melgar-Quiñonez, M. Fuji and P. Crawford. 2004. "Choice of instrument influences relations between food insecurity and obesity in Latino women." *American Journal of Clinical Nutrition* 80: 1372-1378.

Kern, P., S. Ranganathan, C. Li, L. Wood and G. Ranganathan. 2001. "Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance " *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 280 4: E745-E751.

Kern, P., M. Saghizadeh, M. Ong, R. Bosch, R. Deem and R. Simsolo. 1995. "Leptin Induces an Inflammatory Phenotype in Lean Wistar Rats." *Journal of Clinical Investigation* 95 5: 2111-2119.

Kumar, M. and P. Scarpace. 1998. "Differential effects of retinoic acid on uncoupling protein-1 and leptin gene expression." *Journal of Endocrinology* 152: 237-243.

Kumar, M., G. Sunvold and P. Scarpace. 1999. "Dietary vitamin A supplementation in rats: suppression of leptin and induction of UCP1 mRNA." *Journal of Lipid Research* 40 824-830.

Lenz, M., T. Richter and I. Muhlhauser. 2009. "The Morbidity and Mortality Associated With Overweight and Obesity in Adulthood." *Deutsches Ärzteblatt International* 106 40: 641-648.

Li, H. and E. Nord. 2008. "IL-8 amplifies CD40/CD154-mediated ICAM-1 production via the CXCR-1 receptor and p38-MAPK pathway in human renal proximal tubule cells." *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 296: F438-F445.

Lofreda, S., S. Q. Yang, S. Lin, L. Karp, L. Brengman, A. Wang, *et al.*, 1998. "Leptin regulates proinflammatory immune responses." *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 12: 57-65.

Maffei, M., M. Funicello, T. Vottari, O. Gamucci, M. Costa, S. Lisa, *et al.*, 2009. "The obesity and inflammatory marker haptoglobin attracts monocytes via interaction with chemokine (C-C motif) receptor 2(CCR2)." *BMC Biology* 7: 1-14.

Marredes, M., J. Martinez and M. Moreno. 2008. "ZAG, a lipid mobilizing adipokine, is downregulated in human obesity." *Journal of Physiology and Biochemistry* 41: 61-66.

Mengshol, J. A., M. Vicenti, C. Coon, A. Barchowsky and C. Brinckerhoff. 2000. "Interleukin-1 induction of collagenase 3 gene expression in chondrocytes requires p38 c-jun n-terminal kinase and nuclear factor kB." *American College of rheumatology* 43 4: 801-811.

Meydani, S., M. Barklund, M. Liu, M. Meydani, R. Miller, J. Cannon, *et al.*, 1990. "Vitamin E supplementation enhances cell-mediated immunity in healthy elderly subjects." *American Journal of Clinical Nutrition* 52 557-563.

Meydani, S., M. Meydani, C. Verdon, A. Shapiro, J. Blumberg and K. Hayes. 1986. "Vitamin E supplementation suppresses prostaglandin E1 synthesis and enhances

the immune response of aged mice." *Mechanisms of Ageing Development* 34: 191-201.

Mohamed-Ali, V., S. Goodrick, A. Rawesh, D. Katz, M. Miles, S. Yudkin, *et al.*,. 1997. "Subcutaneous Adipose Tissue Releases Interleukin-6, But Not Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ,  $\tau\nu$   $\varsigma$   $\tau$   $\omega$ ." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 82 12: 4195-4201.

Moore, K., M. de Waal and A. O'Garra. 2001. "Interleukin-10 and interleukin-10 receptor." *Annual Review of Immunology* 19: 683-765.

Mosser, D. and X. Zang. 2008. "Interleukin-10; new perspectives on an old cytokine." *Immunological Reviews* 226: 205-218.

Mracek, T., D. Gao, T. Tzanavari, Y. Bao, X. Xiao, C. Stocker, *et al.*,. 2010. "Downregulation of zinc- $\alpha$ 2-glycoprotein in adipose tissue and liver of obese ob/ob mice and by tumour necrosis factor- $\alpha$  in adipocytes." *Journal of Endocrinology* 204: 165-172.

O'Shea, J. and P. Murray. 2008. "Cytokine signaling modules in inflammatory responses." *Immunity* 24 4: 477-487.

Olaiz-Fernández, G., J. Rivera-Dommarco, T. Shamah-Levy, R. Rojas, S. Villalpando-Hernández, M. Hernández-Avila, *et al.*,. 2006. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (ENSANUT)*. I. N. d. S. Publica. Cuernavaca, Mexico.

Osborn, O., H. Gram, E. Zorrilla, B. Conti and T. Bartai. 2008. "Insights into the roles of inflammatory mediators IL-1, IL-18 and PGE2 in obesity and insuline resistance." *Swiss medical weekly* 138 45-46: 665-673.

Oviedo, G., A. Moron de Salim and L. Solano. 2006. "Indicadores antropométricos de obesidad y su relación con la enfermedad isquémica coronaria." *Nutricion Hospitalaria* 21 6: 695-698.

Peretz, A., J. Neve, O. Jeghers and P. Francois. 1993. "Zinc distribution in blood components, inflammatory status, and clinical indexes of disease activity during zinc supplementation in inflammatory rheumatic diseases." *The American Journal of Clinical Nutrition* 57: 690-694.

Popa, C., G. Netea, D. Radstake, P. L van Riel, P. Barrera and M. Van der Meer. 2005. "Markers of inflammation are negatively correlated with serum leptin in rheumatoid arthritis." *Annals of the Rheumatic Diseases* 64: 1195-1198.

Popko, K., E. Gorska, O. potapinska, M. Wasik, R. Stoklosa, R. Plywaczewski, *et al.*,. 2008. "Frequency of distribution of inflammatory cytokines IL-1, IL-6 and TNF- $\alpha$  gene polymorphism in patients with obstructive sleep apnea." *Journal of physiology and pharmacology* 59 6: 607-614.

Presky, D., H. Yang, L. Minetti, A. Chua, N. Nabavi and U. Gubler. 1996. "A functional interleukin 12 receptor complex is composed of two  $\beta$ -type cytokine

receptor subunits " Proceedings of the National Academy Sciences 93 24: 14002-14007.

Rizzo, M., G. Paolisso, R. Grella, M. Barbieri, E. Ragno, R. Grella, *et al.*,. 2004. "Is dermolipectomy effective in improving insulin action and lowering inflammatory markers in obese women?" *Clinical Endocrinology* 63 3: 253-258.

Rodriguez, E., J. M. Perea, L. A.M. and O. R.M. 2009. "Obesidad, resistencia a la insulina y aumento de los niveles de adipocinas: importancia de la dieta y el ejercicio físico." *Nutricion Hospitalaria* 24 4: 415-421.

Sanjabi, S., L. Zenewicz, M. Kamanaka and R. Flavell. 2009. "Anti- and Pro-inflammatory Roles of TGF- $\beta$ , IL-10 and IL-22 in Immunity and Autoimmunity." *Current Opinion in Pharmacology* 9 4: 447-453.

Santos, J., R. Goberna and V. Sanchez. 1999. "Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes." *Cellular Immunology* 194 1: 6-11.

Seppanen, E., M. Lahti, S. Mannisto, P. Knekt, H. Rissanen, A. Aromaa, *et al.*,. 2009. "Fat free mass and obesity in relation to educational level." *Public Health* 9:448: 1-10.

Skov, L., F. Beurskens, C. Zachariae, S. Reitamo, J. Teeling, D. Satijn, *et al.*,. 2008. "IL-8 as Antibody Therapeutic Target in Inflammatory Diseases: Reduction of Clinical Activity in Palmoplantar Pustulosis." *Journal of Immunology* 181: 669-679.

Stofkova, A. 2009. "Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity." *Endocrine regulations* 43: 157-168.

Sung-Hee, P., C. Soon-Ja, K.-S. Lee and P. Hyun-Young. 2009. "Waist Circumference and Waist-to-Height Ratio as Predictors of Cardiovascular Disease Risk in Korean Adults." *Epidemiology* 73: 1643-1650.

Thierfelder, W., J. Van Deursen, H. Yamamoto, R. Tripp, S. Sarawar, R. Carson, *et al.*,. 1996. "Requirement for Stat4 in interleukin-12-mediated responses of natural killer and T cells." *Nature* 382 171-174.

Tosta de Almeida, R., M. Guimares and M. Araujo. 2008. "Abdominal Obesity and Cardiovascular Risk: Performance of Anthropometric Indexes in Women." *Arquivos Brasileiros de cardiologia* 92 3: 345-350.

Trinchieri, G. 2003. "Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity." *Nature Reviews Immunology* 3: 133-146.

Vallee, B. L. and K. H. Falchuk. 1993. "The biochemical basis of zinc in physiology." *Physiological Reviews* 73 1: 79-118.

Vázquez, C., A. Francisca and J. Secos (2008). "Alimentos Ricos en Zinc." from <http://www.fisterra.com/material/Dietetica/zinc.asp>.

Velázquez, G., I. Martins, A. M. Centavo, F. N.S., M. Marucci and L. Coelho. 1999. "Relationship between stature, overweight and central obesity in the adult population in São Paulo, Brazil " *International Journal of Obesity* 23: 639-644.

Vozarova, B., C. Weyer, K. Hanson, A. Tataranni, C. Bogardus and R. Pratley. 2001. "Circulating Interleukin-6 in Relation to Adiposity, Insulin Action, and Insulin Secretion." *Obesity Research* 9 7: 414-417.

Vozarova, B., C. Weyer, K. Hanson, P. Tataranni, C. Bogardus and R. Pratley. 2001. "Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action and insulin secretion." *Obesity Research* 9: 414-417.

Vuolteenaho, K., A. Koskinen, M. Kukkonen, R. Nieminen, P. Unto, T. Moilanen, *et al.*,. 2009. "Leptin Enhances Synthesis of Proinflammatory Mediators in Human Osteoarthritic Cartilage—Mediator Role of NO in Leptin-Induced PGE2, IL-6, and IL-8 Production." *Mediators of Inflammation* 2009: 1-10.

Wannamethee SG, Lowe GD, Rumley A, Bruckdorfer KR and Whincup PH. 2006. "Associations of vitamin C status, fruit and vegetable intakes, and markers of inflammation and hemostasis." *Am J Clin Nutr* 83: 567–574.

Waring, M. E., M. B. Roberts, D. R. Parker and C. B. Eaton. 2009. "Documentation and Management of Overweight and Obesity in Primary Care." *The Journal of the American Board of Family Medicine* 22 5: 544.

Wellinghausen, N. and R. Lothar. 1998. "The significance of zinc for leukocyte biology." *Journal of leukocyte biology* 64: 571-578.

WHO (2010). "Obesity and overweight."

Zarkesh-Esfahani, H., G. Pockley, R. A. Metcalfe, M. Bidlingmaier, Z. Wu, A. Ajami, *et al.*,. 2001. "High-Dose Leptin Activates Human Leukocytes Via Receptor Expression on Monocytes." *Journal of Immunology* 167: 4593-4599.

Zhang, F., M. Basinski, J. Beals, S. Briggs, R. DiMarchi, T. Furman, *et al.*,. 1997. "Crystal structure of the obese protein leptin-E 100." *Nature* 387 206-209.

Zinkernagel, A., A. Timmer, M. Pence, J. Locke, J. Buchanan, C. Turner, *et al.*,. 2008. "The IL-8 Protease SpyCEP/ScpC of Group A *Streptococcus* Promotes Resistance to Neutrophil Killing." *Cell Host & Microbe* 14 4: 170-178.