

DCNE
\$500=

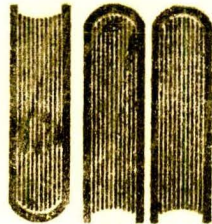
12 FEB. 1985

//

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES
Y EXACTAS

Clasif.
040.54
6643d
1984
C.1



UNIVERSIDAD
DE MONTERREY

folio: 900375

Título:

DETERMINACION CUANTITATIVA DE
VITAMINA C PLASMATICA EN UNA
POBLACION DE FUMADORES

REPORTE DEL PROGRAMA
DE EVALUACION FINAL
PRESENTADO POR

Autor:

SANDRA LUCIA GONZALEZ GALVAN

EN OPCION AL TITULO DE
LICENCIADO EN QUIMICA CON
ESPECIALIDAD EN ANALISIS CLINICOS

BIBLIOTECA
UNIVERSIDAD DE MONTERREY

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1984

Vo. Bo.
[Handwritten signature]

"Cuando Dios cierra todas las puertas..
siempre deja abierta una ventana."

María Agustina Trapp

A TI SEÑOR: Gracias por haberme permitido llegar a
alcanzar uno de mis más grandes anhelos.

A MIS PADRES: Roger y Santitos, les dedico con todo
mi cariño el logro de una de las metas
que me he propuesto en la vida, ya que
sin ustedes no lo hubiese conseguido.

A MIS HERMANOS: Judi, Roger y Paco, por darme todo
su apoyo.

.....a una persona muy especial, quién
ha estado junto a mí, motivándome sin
saberlo, brindándome su confianza y
cariño durante los momentos más difí-
ciles de mi carrera; HOMERO.

Un sincero agradecimiento a la
Srita. Q.F.B. Maricela Ramírez
por su amistad y asesoramiento,
ya que juntas emprendimos este
largo camino que ha llegado a
su culminación.

Finalmente, a mis Maestros,
Amigos y Compañeros, ya que
juntos hemos compartido ex-
periencias inolvidables.

I N D I C E

	<u>Página</u>
Introducción.....	1
Materiales y Métodos.....	22
Resultados.....	31
Discusión y Conclusiones.....	47
Resumen.....	52
Bibliografía.....	54

I N T R O D U C C I O N

Las vitaminas se definen como compuestos orgánicos necesarios para el crecimiento normal y la conservación de la vida del hombre y de los animales, son eficaces en muy pequeña cantidad, no suministran energía, no se utilizan como elementos estructurales del organismo y son esenciales para la transformación de energía y para la regulación del metabolismo (27).

En cuanto a su acción biológica, la especificidad de las vitaminas se puede clasificar en dos tipos: Es-

pecificidad del compuesto y Especificidad de la especie. Por especificidad del compuesto se entiende la diferencia cualitativa en el comportamiento fisiológico de los diferentes compuestos de la misma especie ciertos estudios relacionados con la especificidad de las vitaminas, han hecho posible que se tenga la certeza de si la actividad vitamínica de un compuesto dado se debe o no a la estructura del compuesto entero o a una parte especial de la molécula. La especificidad de especie es la diferencia en la reacción fisiológica de los animales de diferentes especies a uno o varios compuestos. Las necesidades a las diferentes vitaminas varían considerablemente en cuanto a las especies animales, ciertas especies pueden vivir en ausencia de vitaminas que son esenciales para otras (27).

De acuerdo a su solubilidad, las vitaminas se pueden clasificar en liposolubles e hidrosolubles, dentro de éstas últimas, está comprendida la vitamina C o ácido ascórbico (1,2).

Se conoce como vitamina antiescorbútica debido a que previene y cura el escorbuto. Ha sido aislada y estu-

diada desde hace años, desde que la enfermedad se conocía como el azote de los navegantes, ya que afectaba frecuentemente a las personas que emprendían viajes marítimos muy largos. Por otra parte, también se manifestaba en épocas de guerra y en los lugares donde existía la desnutrición (3,4).

Lind publicó durante los años de 1753 - 1759 la primera descripción del padecimiento, en su libro titulado "El tratado del escorbuto", en el cual, basándose en sus experimentos afirma que la causa principal de esta enfermedad se debe a un defecto en la alimentación y específicamente a una baja ingestión de verduras frescas (3,4,5).

Holst y Frolich en 1907, iniciaron estudios específicos concernientes a la vitamina C y comprobaron que los cobayos padecían el estado escorbútico de igual forma que el hombre.

Más tarde, durante los años de 1918 - 1929, Zilva y colaboradores determinaron las propiedades físicas y químicas de la vitamina C, utilizando la vitamina en forma pura obtenida del zumo del limón. En 1933 Waugh

y King dedujeron la fórmula y la configuración moleculares, se desarrolló su síntesis y más tarde, Gyorgy sugirió denominarle ácido ascórbico, para relacionarlo con sus propiedades antiescorbúticas (3,5, 5).

La vitamina C ó ácido ascórbico se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza. Entre los principales alimentos que lo presentan están las frutas cítricas y las verduras en cantidades apreciables. - Las principales frutas cítricas y verduras que la contienen son la naranja, el limón, la piña, el durazno, la toronja, la jícama, los champiñones, la lechuga, los nopales, el apio, el elote, el tomate, la col, el berro, las espinacas, la zanahoria, los chiles poblanos, los chiles serranos, y los chícharos - (4,11).

En cuanto a los alimentos cárnicos, el hígado de res es la única fuente de gran contenido vitamínico. Entre los alimentos procesados figuran como fuente rica en vitamina C el queso de tuna y los ates de guayaba. Por otra parte, la leche materna en el humano es más rica en el contenido de ácido ascórbico que

la leche comercial, debido a que la vitamina natural presente es oxidada por el proceso de pasteurización que finalmente acaba por destruirla (3,4,10).

El ácido ascórbico es una sustancia cristalina, blanca, inodora, soluble en agua, en alcohol etílico e insoluble en varias sustancias orgánicas como benceno, cloroformo, éter, éter de petróleo y grasas. Puede inactivarse al estar en contacto con el aire, el calor, la luz o metales como cobre y hierro. El calor por sí solo y en ausencia de oxígeno no destruye la vitamina fácilmente, pero la oxida si no se incluye el aire y esta reacción aumenta conforme se incrementa la temperatura (4,5,6).

La vitamina C es la más lábil de todas las vitaminas. La mayor parte del contenido vitamínico es eliminado durante el preparado o cocinado de los alimentos que la contienen en forma natural. Además, se atribuye la pérdida de la vitamina a algunas enzimas que son integrantes de los tejidos vegetales, como por ejemplo, la oxidasa del ácido ascórbico (4,7,9).

Además de sus propiedades ácidas, esta vitamina po-

see la propiedad química de transformarse a ácido -
deshidroascórbico por oxidación reversible, la cual
se lleva a cabo en presencia de hidrógeno, yodo,
quinonas y radiaciones UV. Para que ocurra la trans-
formación es necesario que el ácido ascórbico pierda
dos átomos de hidrógeno en los hidroxilos unidos a -
los carbonos que forman un doble enlace, lo que con-
fiere la propiedad de agente reductos. El ácido as-
córbico y el ácido deshidroascórbico son fisiológica-
mente activos, sin embargo la actividad antiescorbú-
tica se pierde cuando el anillo lactónico deshidroas-
córbico se hidroliza para formar ácido dicetogulóni-
co (1,4,5,9).

El ácido ascórbico administrado por vía oral se meta-
boliza rápidamente oxidándose a ácido dehidroascórbi-
co. De estos dos estados tautoméricos el ácido deshi-
droascórbico es el que se encuentra en menor propor-
ción, debido a que, una parte de él sigue su curso -
metabólico irreversible y se transforma en el ácido -
2,3-dicetogulónico, este último se oxida hasta ácido
oxálico y ácido L-trónico. Estos productos metabóli-
cos son excretados en la orina aproximadamente en las
siguientes proporciones: 12 a 24% de ácido L-ascórbi-


co, 12 a 18 % de ácido dicetogulónico, 24 a 63 % de ácido oxálico y pequeñas cantidades de ácido treónico (5,12,13).


Por otra parte, se ha comprobado que en el organismo humano, este ácido tiene una vida media de 16 días. La concentración total, varía en condiciones normales de 1.5 hasta 5.0 g. En relación a esto, se ha demostrado que la mayoría de los animales pueden sintetizar en el hígado el ácido ascórbico. Sin embargo, esto no ocurre en los humanos, los primates y los cobayos debido a una ausencia de la enzima L-gulonolactonasa, la cual convierte el ácido L-gulónico en ácido ascórbico. Esto la hace imprescindible en la dieta del hombre variando las necesidades individuales en base a la velocidad del metabolismo, la energía requerida, la masa corporal, la edad y el estado fisiológico. Por ejemplo, el adulto debe ingerir de 50 a 70 mg diarios, 100 mg diarios durante el embarazo y los lactantes 30 mg diarios con cantidades crecientes hasta 80 mg en el adulto joven (5,6,8,11).

Desde el punto de vista metabólico la vitamina realiza varios papeles vitales; se asocia con algunas en-

zimas y puede actuar como portador de hidrógenos; aunque no se ha demostrado claramente que el ácido ascórbico sea el grupo prostético, se reconoce como cofactor al que se le atribuye la participación en las reacciones como la hidroxilación de la prolina, para formar hidroxiprolina, en la síntesis de colágeno y la hidroxilación de la lisina para formar hidroxilisina.

* El colágeno es una proteína que se encuentra en todos los tejidos fibrosos, como conectivo, cartílago, matriz ósea, dentina, piel y tendones, la falta de colágeno se manifiesta en el retardo de la cicatrización de heridas y en la escasa resistencia a la tracción de las cicatrices resultantes. Se ha demostrado que la vitamina se acumula rápidamente en el tejido cicatrizal y se acepta que se utiliza para la elaboración de la sustancia de "cemento" necesaria para mantener la integridad de la pared capilar. Se cree que el ácido ascórbico participa en la hidroxilación metabólica del colesterol, ya que su deficiencia provoca un descenso en la capacidad del hígado para convertir el colesterol a ácidos biliares (11,13).

Por otra parte hay evidencia de que el ácido ascórbico  participe en la hidroxilación de ciertos esteroides que se sintetizan en la corteza suprarrenal y como reductor específico del ion férrico lo cual favorece su absorción en el intestino y permite que sea transportado por el plasma (11,13).

La capacidad de la vitamina C de tomar y perder hidrógenos le confiere un papel importante en el metabolismo y parece ser indispensable para que se lleve a cabo el funcionamiento normal de todas las unidades celulares y las estructuras subcelulares como ribosomas y las mitocondrias.  Además se cree factible que participa en la síntesis del ácido ribonucleico de transferencia y de la mucina y que actúa como agente protector de la mucosa del estómago y del intestino. Está asociado con la excreción de progesterona y ejerce efectos sobre las reacciones del ácido hialurónico (3,5,13).

→ Respecto a las células sanguíneas y la respuesta inmunológica, los leucocitos polimorfenucleares acumulan la vitamina C en su interior en concentraciones superiores a la plasmática, favoreciendo la quimio-

taxis de la cual depende el mecanismo de la fagocitosis. Se ha encontrado cierta correlación positiva entre los niveles de ascorbato sérico y los títulos de inmunoglobulinas G y M, que pueden explicarse en parte, por la intervención del ácido ascórbico como un sistema que ayuda en la formación de numerosos puentes disulfuro presentes en los anticuerpos (11,17).

→ Se ha demostrado, que la administración de dosis masivas a pacientes con cáncer de estómago y de esófago ha provocado efectos favorables en la supervivencia y mejoramiento del estado general.

En relación a otras funciones específicas que se le atribuyen a la vitamina C, estudios realizados destacan la acción del ácido ascórbico para prevenir tanto "in vivo" como "in vitro" la aparición de nitrosaminas y nitrosamidas que son compuestos carcinógenos formados a partir de los nitritos y nitratos de la dieta, el mecanismo establece que la vitamina interacciona con los nitritos ingeridos antes de que éstos puedan combinarse en el tubo gastrointestinal (11,17).

*La vitamina es bactericida y bacteriostática "in vitro" en concentraciones elevadas (80 mg/lt.) ya que impide el crecimiento de neumococos, estreptococos, estafilococos, Bordetella Pertussis y Clostridium tetani. Sin embargo, "in vivo" la baja concentración de vitamina C en la sangre (12 mg/lt) es insuficiente para que ejerza la acción bactericida (4,16).

*Por último, actúa en la hidroxilación del triptófano a 5-hidroxitriptófano, la conversión de la 3,4-dihidroxifenilalanina a norepinefrina, la hidroxilación de p-hidroxifenilpiruvato a ácido homogentísico, la reducción del glutati6n y la alimentaci6n de la cadena respiratoria a nivel del citocromo (3,5,6,11,13).

La vitamina C una vez ingerida, es absorbida f6cilmente por las c6lulas de la mucosa del intestino delgado. Penetra por difusi6n en la mucosa intestinal y a trav6s del sistema circulatorio llega al sitio de almacenamiento donde su concentraci6n es indispensable para que se lleven a cabo ciertas funciones bioqu6micas y biol6gicas. Los diferentes tejidos y l6quidos org6nicos contienen cantidades variables de 6cido asc6rbico seg6n la actividad metab6lica que se

realice en ellos y se consideran depósitos naturales que satisfacen los requerimientos necesarios (3,9,13).

Se ha demostrado la presencia de esta vitamina en todos los tejidos del cuerpo y se encuentra en mayor concentración en las glándulas suprarrenales, las cuales contienen de 400-500 mg/100 g de tejido. En orden descendiente de concentración se presenta en los fluidos, en la retina y el cristalino del ojo, en donde alcanza niveles 20 veces superiores a los del plasma, en donde circula a una concentración de 0.7 a 1.2 mg/dl. Entre los tejidos donde las concentraciones de vitamina C son menores tenemos el cerebro, la hipófisis, el hígado, el timo y las células sanguíneas (6,11).

Existen numerosas técnicas para cuantificar la vitamina C en líquidos biológicos, entre las cuales se encuentra que utiliza la 2,4-dinitrofenilhidrazina, como reactivo de color. El ácido ascórbico del plasma es oxidado a ácido dehidroascórbico por acción de la Norita y a un pH ácido se transforma rápidamente en ácido dicetogulónico, el cual se une a la 2,4-dinitrofenilhidrazina para formar una hidrazona de co-

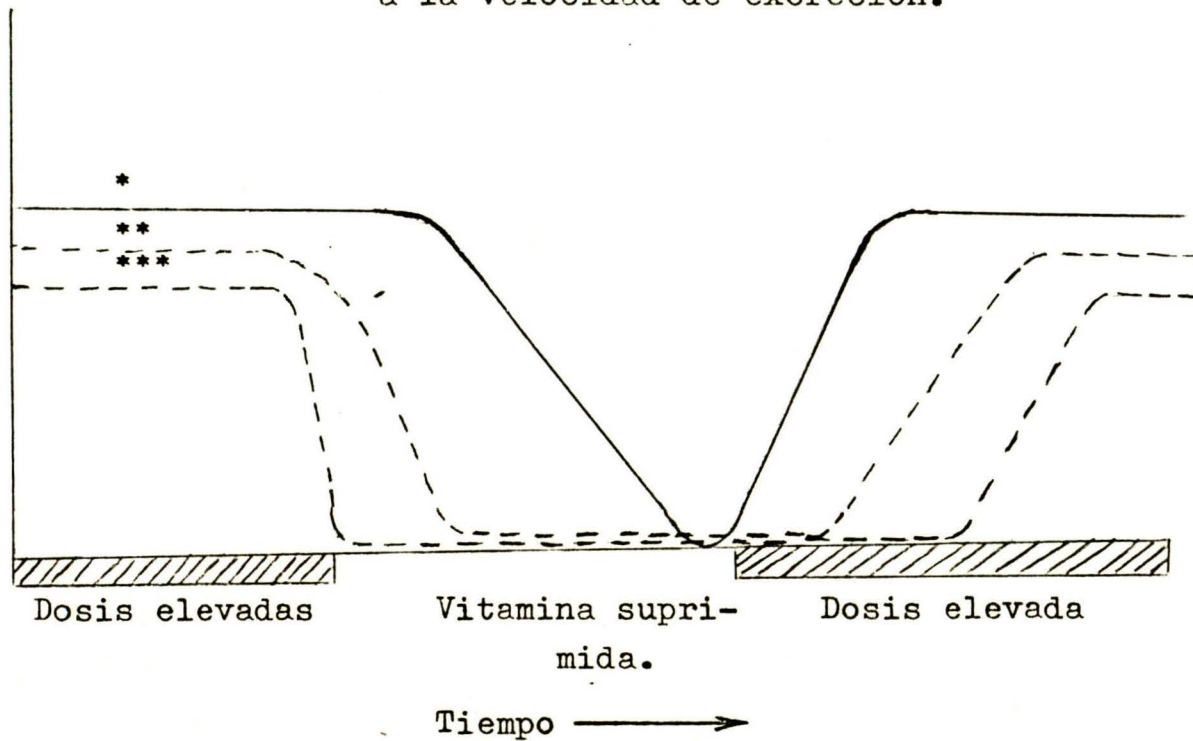
lor pardo; ésta sufre un rearrreglo molecular en presencia de un ácido fuerte, dando un compuesto rojo cuya absorbancia se compara con patrones adecuados de ácido ascórbico sometidos al mismo tratamiento (29)

Algunos estudios realizados establecen que las concentraciones de ácido ascórbico en el plasma son un reflejo de la ingestión, ya que después de 3 semanas de régimen deficiente el ácido ascórbico se hace indetectable en el plasma y solamente se pueden encontrar trazas en los leucocitos, ya que en estas células permanece aproximadamente un mes más que en el plasma sanguíneo (13,19,20).

* Si se administra una vitamina en gran cantidad, la sangre y tejidos quedarían saturados de ella (Fig. 1). El organismo no puede contener más; de esta manera, las cantidades de vitamina ingerida y excretada o destruída diariamente son iguales. Si se retira entonces la vitamina de la dieta, la tasa excretada y los niveles hemáticos caen rápidamente. Al principio, la concentración a nivel tisular permanece cercana al nivel de saturación pero progresivamente la vitamina va siendo destruída o excretada. La concen-

Fig No. 1

Saturación de Vitamina C en sangre y tejidos en relación a la velocidad de excreción.



- * Concentración de tejido
- ** Concentración hemática
- *** Velocidad de excreción

tración tisular se torna cada vez más baja, hasta que al afectarse el metabolismo, se pone eventualmente de manifiesto la sintomatología clínica. No todas las vitaminas se almacenan por igual, ni todas se destruyen con la misma rapidez. Al parecer, estos dos factores también son distintos en cada individuo, lo cual significa que el tiempo de saturación desde el cese de la ingestión de la vitamina hasta la aparición de los síntomas es distinto para cada vitamina y para cada individuo. Al administrar de nuevo la vitamina, la mayor parte de ésta pasa a los tejidos, excretándose en muy pequeñas cantidades. El nivel hemático se eleva lentamente y la cantidad excretada vuelve a ser igual a la cantidad ingerida. El requerimiento óptimo es el nivel que ha de ingerirse para mantener la saturación completa y el requerimiento mínimo es aquel que se necesita solo para impedir la sintomatología clínica. Puesto que las manifestaciones clínicas siguen a los trastornos metabólicos, un individuo que reciba el requerimiento mínimo es probable que sea anormal bioquímicamente. Por otra parte, para conservarse en buen estado de salud, probablemente no es necesario mantener los tejidos completamente saturados. La dosis diaria necesaria para una

buena salud debe estar comprendida entre los requerimientos mínimos y óptimos (28).

* Los signos del escorbuto se empiezan a presentar cuando ya no es detectable la vitamina en los leucocitos y cuando los valores plasmáticos son de 0.1 a 0.2 mg/dl.

En cuanto a su desarrollo, las primeras manifestaciones de esta enfermedad, son la pareciación de petequias perifoliculares, un período de dolores fugaces de las articulaciones, disneas, inflamación de los tobillos y de las muñecas. Poco después se presenta la palidez, hemorragias subcutáneas consecutivas y traumatismo ligero; las encías se vuelven esponjosas y sangran, los dientes se aflojan y se vuelven frágiles, además se observa edema acentuado en las extremidades, las fracturas de costilla en las uniones costostochondriales, fracturas de epífisis e hiperqueratosis. Los síntomas del escorbuto avanzado van acompañados por fragmentación y degradación de los músculos, tumores sanguinolentos en los ojos y los párpados, lesiones cutáneas, alteración del color de la piel, fiebre y debilidad capilar. La hemorragia es una de las

características dominantes de la enfermedad y cuando es interna puede conducir a la muerte. Las manifestaciones hemorrágicas del escorbuto generalmente se han atribuido a una debilidad intrínseca de la pared vascular y a una disminución en la estructura fibrilar del tejido conectivo que lo rodea. Se presenta anemia de tipo normocítica y normocrómica (9,12,13,18, 19,20,21).

La vitamina C es una sustancia con umbral renal y se excreta principalmente por el riñón. La cantidad excretada dependerá del grado de saturación tisular sin embargo, si los tejidos no están saturados a causa de una ingesta baja o por exceso en el metabolismo de la vitamina C, no se excreta a pesar de la administración de dosis muy elevadas. Por otra parte, las dosis magivas de vitamina C pueden producir un aumento en la excreción de oxalatos en la orina, lo cual facilita la formación de cálculos renales y vesicales de oxalato; además se ha observado que la vitamina C, puede aumentar la tasa de excreción del ácido ascórbico en la formación de cálculos de uratos en las vías urinarias (13,16).

El organismo humano posee tres mecanismos específicos que evitan elevaciones marcadas del nivel de ácido ascórbico en la sangre. Un mecanismo protector que consiste en la capacidad limitada del tubo digestivo para absorber el ácido ascórbico, otro que se basa en el umbral renal y que regula los niveles plasmáticos y por último el mecanismo de inducción catalítica que destruye la vitamina C, lo que explica el hallazgo de niveles plasmáticos normales o bajos en personas que ingieren grandes cantidades de vitamina C (16).

Existen varios factores que disminuyen la concentración de vitamina C en el sistema circulatorio y como consecuencia en los tejidos. Entre ellos está el estado de tensión en el cual se presenta una alta actividad de hormonas corticosuprarrenales (14).

Por otra parte, se acepta el hecho de que determinados fármacos pueden causar deficiencia vitamínica con ciertas recuperaciones clínicas, dado que pueden interferir con su disponibilidad y utilización, los fármacos que contienen silicatos, como la aspirina, pueden causar una deficiencia, disminuyendo las re-

servas tisulares. Por ejemplo, ciertos estudios recientes han indicado que los pacientes reumáticos que consumen dosis altas de aspirina, presentan niveles séricos bajos de ácido ascórbico, por lo que a los pacientes con artritis reumatoide se les administra suplementos adecuados de ácido ascórbico (13,17).

Ciertos estudios han relacionado otros factores involucrados en la concentración plasmática de vitamina C como son el sexo y la edad y los resultados han demostrado que los varones tienen niveles séricos significativamente más bajos que las mujeres y una caída significativa de los valores séricos a medida que aumenta la edad (23,24).

El fumar provoca tanto efecto farmacológico como fisiológico, debido a los componentes tóxicos contenidos en el humo del cigarrillo. Entre los más importantes están la nicotina, el alquitrán, y el monóxido de carbono(17).

* Numerosos trabajos realizados a la fecha muestran que el fumador necesita ingerir una cantidad mayor de vitamina C que el no fumador, estos hallazgos, están ba-

sados en evidencias experimentales en las cuales los datos indican que hay una importante relación entre el tabaquismo y la bioutilización de la vitamina C, ya que en los fumadores se encuentran disminuídos los niveles en el plasma, la sangre y los tejidos. Esto lleva a sugerir que los fumadores presentan un riesgo elevado de déficit de vitamina C, en caso de disminuir su ingesta, dado que su estado vitamínico se encuentra en un valor límite. Existen varios factores que explican estas anomalías, tales como, los hábitos dietéticos distintos, las diferentes tasas de absorción o bioutilización de la vitamina, así como también la utilización de la vitamina C como agente desintoxicante de las sustancias presentes en el humo del cigarrillo. Se ha demostrado, con vitamina C marcada, que los fumadores excretan vitamina C en forma de metabolitos en mayor cantidad que los no fumadores, debido a que los fumadores oxidan más ácido ascórbico a dehidroascórbico el cual se convierte en ácido dicetogulónico en el tubo gastrointestinal y como consecuencia los fumadores requieren una ingesta diaria superior a un 40% aproximadamente en relación a los valores indicados anteriormente, para mantener un estado nutricional adecuado

en lo que se refiere a esta vitamina. Tomando en consideración la absorción incompleta y la variabilidad individual, se considera adecuada una ingesta diaria de 140 mg de vitamina C para los fumadores (17,23,25 26).

Por todo lo anteriormente expuesto, el propósito de este estudio es determinar la concentración de la vitamina C en el plasma de personas que fuman cigarrillos, para llegar a establecer una posible relación entre la concentración de esta vitamina y el tabaquismo, así como también, con otros factores como son la edad y el sexo.

M A T E R I A L E S Y M E T O D Ó S

En el presente estudio, se practicó la cuantificación de la vitamina C en el plasma humano, utilizando la técnica 2,4-dinitrofenilhidrazina. El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey en el transcurso de los meses de Agosto a Noviembre de 1984.

Se analizaron 160 muestras de una población de fumadores, tomando como base varios factores involucra-

dos como son: la edad, el sexo y la cantidad de cigarrillos consumidos al día.

Las muestras fueron obtenidas por punción venosa, utilizando como anticoagulante una solución de Oxalato de potasio al 2 %, el plasma se separó por centrifugación a 3,000 r.p.m.

METODOS:

a) Preparación de la curva de calibración:

Para cuantificar la vitamina C en el plasma, se utilizan estándares de concentración conocida y se constituye una gráfica para relacionar la concentración de éstos con las muestras.

Stock de Acido L-ascórbico

Disolver 100 mg de ácido ascórbico con ácido tricloroacético al 4% y aforarlo a 100 ml con este mismo ácido.

Estandar de Trabajo

Tomar 10 ml del stock de ácido L-ascórbico y aforarlo a 100 ml con ácido tricloroacético al 4%.

Tabla No. 1

Preparación de los Estandares

SOLUCION ESTANDAR	ESTANDAR DE TRABAJO (ml)	CONCENTRACION (mg/dl)
1	2.5	0.25
2	5.0	0.50
3	10.0	1.00
4	15.0	1.50
5	20.0	2.00
6	25.0	2.50

Todos los estandares se aforan a 100 ml con ácido tricloroacético al 4%

Tabla No. 2

Preparación de los Estándares para efectuar
la curva de calibración

SOLUCION ESTANDAR	CANTIDAD DEL ESTANDAR (ml)	ACIDO TRICLO- ROACETICO (ml)	VOLUMEN TOTAL(ml)
1	0.25	3.75	4
2	0.50	3.50	4
3	1.00	3.00	4
4	1.50	2.50	4
5	2.00	2.00	4
6	2.50	1.50	4

Añadir 1 gota de tiourea y 1 ml de 2,4-dinitrofenihidrazina y colocarlos en un baño de agua hirviendo por 10 minutos, desarrollar el color.

b) Tratamiento de la muestra:

Una vez tomadas las muestras se prepara un filtrado, colocando 15 ml de una solución de ácido tricloroacético (R.1), 5 ml de plasma, mezclar y dejar reposar por 5 minutos, centrifugar 10 minutos y separar el sobrenadante, añadir 0.5 g de Norita (lavada con ácido) agitar por 1 minuto, filtrar en papel Whatman No. 42.

c) Desarrollo del color:

Tomar 4 ml del filtrado anterior, añadir 1 gota de la solución de tiourea (R.6) y 1 ml de la solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina (R.5). Colocar el tubo en baño de agua hirviendo por un tiempo de 5 minutos. Inmediatamente después colocarlo en baño de hielo y añadir 5 ml de una solución de ácido sulfúrico (R.3) gota a gota y dejar reposar 10 minutos. Leer en ese espectrofotometro contra el blanco de la misma manera, excepto por la omisión de la 2,4 dinitrofenilhidrazina hasta después del (R.3). Colocar el Blanco al 100% con 515 m .

d) Interpretación de resultados:

Los valores normales de la vitamina C en el plas-

ma humano de acuerdo a la técnica utilizada son:
0.7 a 1.2 mg/dl.

e) Métodos estadísticos:

Los resultados se sometieron a un Análisis de Varianza utilizando un diseño factorial de 3 factores fijos: edad, sexo y número de cigarrillos consumidos al día.

Además, se presentan los resultados en un histograma de frecuencia relativa.

REACTIVOS:

(R.1) Acido tricoloacético al 6%

Acido tricoloacético..... 60 g
Agua destilada.....1000 ml

Se disuelve el ácido tricoloacético en el agua destilada.

(R.2) Acido tricloacético al 4%

Acido tricloacetico..... 40 g
Agua destilada.....1000 ml

Se disuelve el ácido tricloroacético en el agua destilada.

(R.3) Acido Sulfúrico al 85%

Acido Sulfúrico.....	900 ml
Agua destilada.....	100 ml

Se agrega el ácido sulfúrico al agua - destilada lentamente.

(R.4) Acido Oxálico al 0,5%

Acido Oxálico.....	500 mg
Agua destilada.....	100 ml

Se disuelve al ácido oxálico en agua - destilada

(R.5) 2,4-Dinitrofenilhidrazina y ácido Sulfúrico (9N)

2,4-dinitrofenilhidrazina.....	2 g
Acido sulfúrico.....	25 ml
Agua destilada.....	75 ml

Se agrega primero el ácido sulfúrico al agua destilada para obtener la normalidad necesaria, (después el ácido sulfúrico (9N) se agrega al 2,4 dinitrofenil hidrazina, se deja reposar toda la noche, se filtra en papel Whatman No. 42

(R.6) Tiourea al 10%

Tiourea.....	10 g
Alcohol Etilico.....	50 ml

Disolver la tiourea en el alcohol y aforar a 100 ml con agua destilada.

(R.7) Norita y Acido Clohídrico a 110%

Norita.....	200 g
Acido Clorhídrico.....	100 ml
Agua destilada.....	900 ml

Primero se prepara el ácido clohídrico al 1 % añadiéndole el ácido al agua, después se le agrega la norita calentando hasta ebullición, filtrar por succión y se pasa la torta de norita a un vaso

grande añadiendo 1000 ml de agua desti-
lada, cuidadosamente se filtra y se se-
ca la torta en una estufa toda la noche
a 100 - 120°C procurando que no se re-
caliente.

(R.8) Oxalato de Potasio al 2%

Oxalato de potasio.....	2 g
Agua destilada.....	100 ml

Se disuelve el oxalato de potasio en a-
gua destilada.

R E S U L T A D O S

Se determinó cuantitativamente la concentración de Vitamina C Plasmática, a 160 personas fumadoras, tomando en cuenta varios factores involucrados como son: sexo, edad y número de cigarrillos consumidos al día.

Se obtuvo la curva de calibración promedio que relaciona la concentración de vitamina C de los estándares preparados y su absorvencia. Como se muestra en la tabla No. 3.

Los resultados generales de dicha determinación se presentan en la tabla No. 4 la cual muestra la concentración de Vitamina C plasmática en relación al número de cigarrillos consumidos por día, edad y sexo. La concentración media de la población total fué de 0,62, la concentración media de la población femenina y masculina fué, 0.68 y 0.52 respectiva.]

Por otra parte en la Tabla No. 5 se presenta la frecuencia de personas con valores de Vitamina C disminuidos en relación a edad y sexo en donde se puede observar que un 81.25% del total de varones estudiosos y un 50% del total de mujeres, presentaron valores plasmáticos menores que los correspondientes al rango normal.]

Sin embargo la tabla No. 6 y No. 7 muestra un panorama general interrelacionando los factores considerados, edad, sexo número de cigarrillos consumidos diariamente y concentración de vitamina C, realizando un análisis de varianza de acuerdo a los datos expuestos.]

Los histogramas indican en qué por ciento varía la concentración de vitamina C plasmática en los varones y

en las mujeres.

Tabla No. 3

Curva de calibración de la Vitamina C plasmática

ESTANDARES	ABSORBANCIA	CONCENTRACION (mg/dl)
1	0.0087	0.25
2	0.0268	0.50
3	0.0757	1.00
4	0.1870	1.50
5	0.3187	2.00
6	0.3979	2.50

Curva de Calibración de la Vitamina C

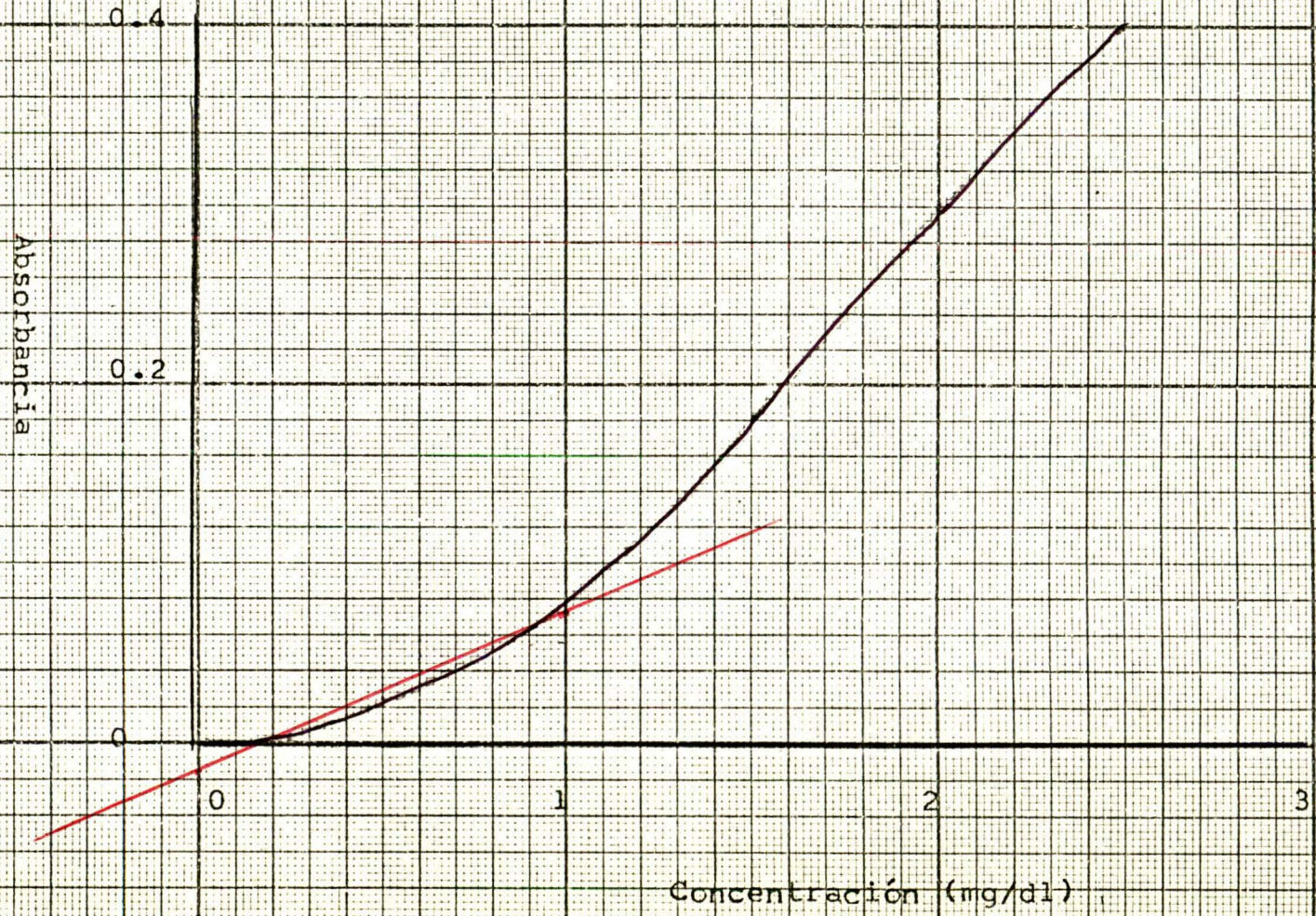


Tabla No. 4

Concentración de Vitamina C plasmática en relación al número de cigarrillos consumidos por día, edad y sexo

EDAD (años)	VARONES	MUJERES	No. DE	CONCENTRA- CION.(mg/dl)
			CIGARRILLOS AL DIA	
	1	-	10	0.30
	2	-	25	0.73
	3	-	17	0.82
	4	-	12	0.65
	5	-	3	0.65
	6	-	4	0.55
	7	-	20	0.45
	8	-	3	0.85
	9	-	16	0.30
19-29	10	-	3	0.48
	11	-	12	0.72
	12	-	11	0.65
	13	-	7	0.85
	14	-	40	0.45
	15	-	9	0.65
	16	-	14	0.70
	17	-	20	0.70
	18	-	10	0.65
	19	-	20	0.65
	20	-	4	0.55

Continuación de la Tabla No. 4

	-	1	5	0.45
	-	2	15	0.65
	-	3	15	0.85
	-	4	12	0.80
	-	5	4	0.98
	-	6	25	0.70
	-	7	8	0.60
	-	8	20	0.85
	-	9	10	1.0
19-29	-	10	15	0.73
	-	11	12	0.95
	-	12	20	0.90
	-	13	1	0.90
	-	14	3	0.95
	-	15	20	0.75
	-	16	10	0.72
	-	17	5	0.48
	-	18	5	0.72
	-	19	8	0.55
	-	20	15	0.55
	1	-	5	0.55
	2	-	3	0.60
	3	-	15	0.65
	4	-	20	0.30
30-40	5	-	2	0.50
	6	-	4	0.43
	7	-	13	0.40
	8	-	15	0.73
	9	-	10	0.53
	10	-	20	0.50

Continuación de la Tabla No. 4

11	-	2	0.70
12	-	3	0.71
13	-	10	0.58
14	-	2	0.40
15	-	20	0.95
16	-	15	0.60
17	-	6	0.50
18	-	10	0.55
19	-	10	0.45
20	-	11	0.65
-	1	10	1.00
-	2	20	0.60
-	3	20	0.95
-	4	22	0.70
-	5	12	0.35
-	6	5	0.85
-	7	2	0.90
-	8	10	0.53
-	9	15	0.54
-	10	11	0.55
-	11	10	0.70
-	12	8	0.93
-	13	5	0.40
30-40	-	14	0.70
-	15	20	0.55
-	16	7	0.55
-	17	20	0.62
-	18	10	0.35

Continuación de la Tabla No. 4

	-	19	20	0.50
	-	20	50	0.45
	1	-	65	0.35
	2	-	20	0.55
	3	-	6	0.65
	4	-	20	0.65
	5	-	15	0.45
	6	-	6	0.45
	7	-	33	0.30
	8	-	6	0.50
	9	-	40	0.30
41-50	10	-	10	0.60
	11	-	50	0.50
	12	-	10	0.45
	13	-	40	0.60
	14	-	2	0.65
	15	-	2	0.62
	16	-	5	0.65
	17	-	10	0.80
	18	-	2	0.75
	19	-	9	0.45
	20	-	15	0.55
	-	1	5	0.60
	-	2	15	0.80
	-	3	6	0.58
	-	4	1	0.78

Continuación de la Tabla No. 4

	-	5	-	0.65
	-	6	3	0.58
	-	7	20	0.58
	-	8	20	0.60
	-	9	6	0.50
	-	10	4	0.62
	-	11	30	0.52
	-	12	2	0.75
	-	13	4	0.72
41-50	-	14	20	0.75
	-	15	6	0.60
	-	16	2	0.65
	-	17	2	0.85
	-	18	7	0.55
	-	19	15	0.62
	-	20	6	0.68
<hr/>				
	1	-	33	0.30
	2	-	20	0.58
	3	-	12	0.65
	4	-	10	0.65
	5	-	2	0.70
	6	-	20	0.50
51-60	7	-	2	0.68
	8	-	2	0.70
	9	-	8	0.55
	10	-	3	0.48
	11	-	10	0.52
	12	-	15	0.48
	13	-	20	0.52
	14	-	10	0.40

Continuación de la Tabla No. 4

	15	-	15	0.45
	16	-	20	0.35
	17	-	10	0.40
	18	-	8	0.60
	19	-	15	0.52
	20	-	12	0.50
	-	1	1	0.95
	-	2	3	0.65
	-	3	1	0.75
	-	4	3	0.45
	-	5	20	0.80
	-	6	10	0.75
	-	7	4	0.90
	-	8	2	0.40
	-	9	4	0.65
51-60	-	10	8	0.60
	-	11	10	0.70
	-	12	12	0.60
	-	13	4	0.80
	-	14	2	0.70
	-	15	5	0.65
	-	16	3	0.70
	-	17	16	0.72
	-	18	4	0.70
	-	19	12	0.60
	-	20	15	0.55

Tabla No. 5

Distribución de personas con valores disminuídos de Vitamina C en relación a rangos de edad y sexo.

EDAD	VARONES	MUJERES	TOTAL
19 - 29	13 (65%)	6 (30%)	19
30 - 40	16 (80%)	12 (60%)	28
41 - 50	18 (90%)	14 (70%)	32
51 - 60	18 (90%)	8 (40%)	26
TOTALES	65 (81.25%)	40 (50%)	105 (65.62%)

Tabla No. 6

Distribución en relación a la concentración de vitamina C plasmática, número de cigarrillos consumidos al día; sexo y edad.

EDAD	CONCENTRACION (mg/dl)				
	VARONES		MUJERES		
	CIGARRILLOS *				
	1-10	> 10	1-10	> 10	
19-29	0.30	0.73	0.45	0.65	
	0.65	0.82	0.98	0.85	
	0.55	0.65	0.70	0.80	
	0.85	0.45	1.00	0.70	
	0.48	0.72	0.90	0.85	
	0.65	0.65	0.95	0.73	
	0.85	0.45	0.72	0.95	
	0.65	0.70	0.48	0.90	
	0.55	0.70	0.72	0.75	
			0.30	0.55	0.55
			0.65		

* Número de cigarrillos consumidos al día por persona.

Continuación de la tabla no. 6

	0.55	0.65	0.85	0.60
	0.60	0.30	1.00	0.95
	0.50	0.40	0.90	0.70
	0.53	0.73	0.53	0.35
	0.53	0.50	0.70	0.65
	0.70	0.95	0.93	0.55
30-40	0.71	0.60	0.40	0.70
	0.58	0.65	0.55	0.55
	0.40		0.35	0.62
	0.50			0.50
	0.50			0.45
	0.45			
	0.65	0.30	0.60	0.80
	0.45	0.55	0.58	0.58
	0.50	0.65	0.78	0.60
	0.60	0.45	0.65	0.52
	0.45	0.30	0.58	0.75
41-50	0.65	0.30	0.50	0.62
	0.62	0.50	0.62	
	0.65	0.60	0.75	
	0.80	0.55	0.72	

Continuación de la Tabla No. 6

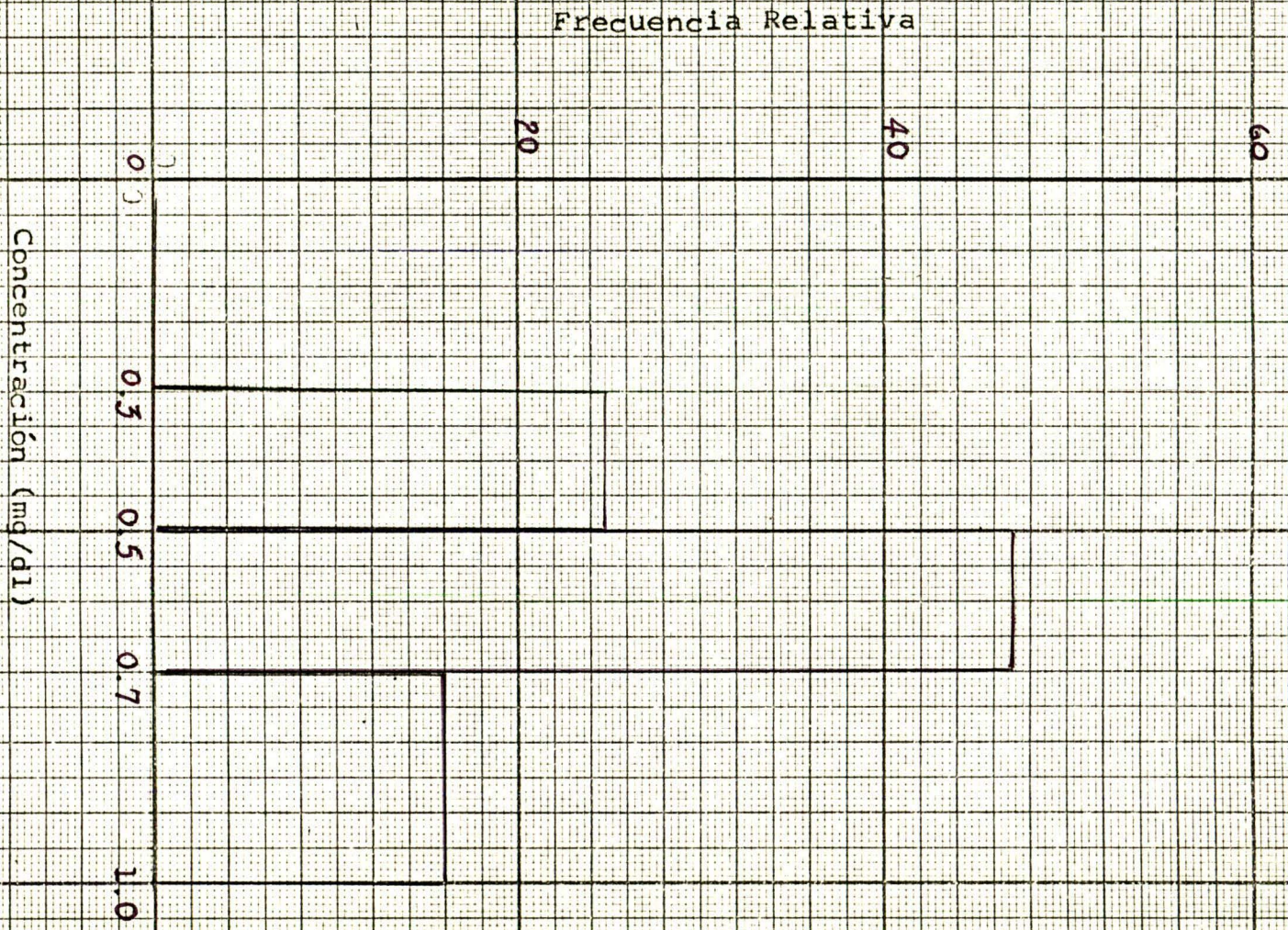
	0.75		0.60	
	0.45		0.65	
			0.85	
			0.55	
			0.68	
	0.70	0.30	0.95	0.80
	0.68	0.58	0.65	0.60
	0.70	0.65	0.75	0.72
	0.55	0.65	0.45	0.60
	0.48	0.50	0.75	0.55
51-60	0.52	0.48	0.90	
	0.40	0.52	0.40	
	0.60	0.45	0.65	
		0.35	0.60	
		0.40	0.70	
		0.52	0.80	
		0.50	0.70	
			0.65	
			0.70	
			0.70	

Tabla No. 7
Análisis de Varianza

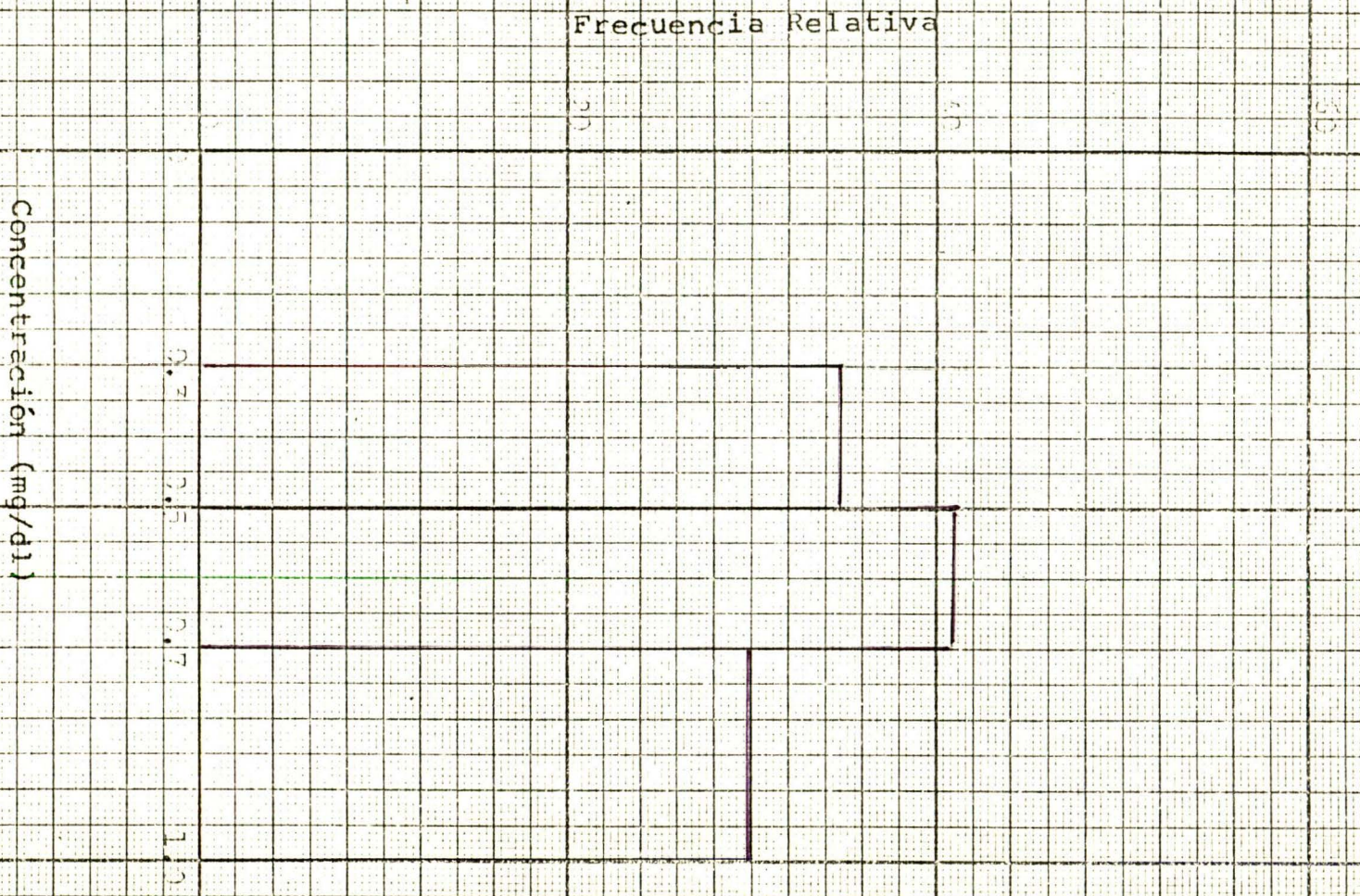
FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	Fo.	F.10	CONCLU- CION.
(A) Edad	0.2165	3	0.072	0.425	2.08	N.A.
(B) Sexo	0.5760	1	0.576	3.392	2.71	S.A.
(C) No.CI- GARRILLOS						
AL DIA	0.048	1	0.048	0.283	2.71	N.A.
AB	0.097	3	0.032	0.192	2.08	N.A.
AC	0.135	1	0.045	0.266	2.08	N.A.
BC	0.031	1	0.031	0.183	2.71	N.A.
ABC	0.085	3	0.028	0.167	2.08	N.A.
ERROR	24.456	144	0.169			
TOTAL	25.646	159	0.161			

N.A. = No afecta, S.A. = sí afecta,
Fo. = valor experimental
F.10 = valor teórico

HISTOGRAMA DE FRECUENCIA
RELATIVA EN LOS HOMBRES.



HISTOGRAMA DE FRECUENCIA
RELATIVA EN LAS MUJERES.



DISCUSION Y CONCLUSIONES

Numerosos estudios realizados por el Dr. Horning, en Suiza demostraron que los fumadores con una ingesta dietética comparable a la de los no fumadores presentan un estado nutricional deficiente en lo que se refiere al ácido ascórbico (17). Esto sugiere que los fumadores presentan un riesgo elevado de déficit de Vitamina C en caso de disminuir su ingesta, ya que su estado Vitamínico se encuentra en los valores límite.

En relación a ésto, algunos estudios recientes reporo

tan que los fumadores son personas más susceptibles a una gran variedad de enfermedades, algunas de las cuales están asociadas con niveles bajos de vitamina C(25).

En base a lo anterior es importante mencionar que en este estudio se pretendió llegar a establecer una posible relación entre la concentración de Vitamina C plasmática en fumadores tomando en cuenta además algunos factores involucrados.

En la Tabla No. 7 se muestran los resultados del análisis de varianza, donde se concluye que el único factor que altera la media de la población es el factor B correspondiente al sexo. Todos los demás factores y el conjunto de interacciones posibles no afecta la concentración media de la vitamina C. En resumen, dado que una persona fuma, la concentración de vitamina C plasmática no se altera con la cantidad de cigarrillos consumidos al día, ni debido a la edad. Por lo que estadísticamente sólo es posible afirmar que la media en los varones se ve más afectada que en las mujeres, lo cual concuerda en parte con lo que establece la bibliografía revisada en

cuanto a que los varones presentan una susceptibilidad mayor que las mujeres de presentar valores más bajos de vitamina C plasmática (23,24); ésto debido probablemente a diferencias fisiológicas propias del sexo como son; la actividad metabólica, de los tejidos, la capacidad de absorción del tubo gastrointestinal, el estado de tensión en el cual se presenta una alta actividad de las hormonas corticoadrenales y por último el mecanismo de inducción catabólica que destruye la vitamina en cuestión (14, 16).

Por otra parte, en base a los resultados se determinó la frecuencia relativa de la población para tres rangos de concentración establecidos convencionalmente, con lo cual se observa que un 47.50% de los corresponden al rango de 0.5 a 0.69 mg/dl de vitamina C plasmática.

En relación a la población total de mujeres estudiadas el valor más alto, corresponde a un 41.25% en el mismo rango citado para los hombres. Estos resultados indican que un porcentaje bastante significativo de fumadores presentaron valores por debajo del rango normal, no habiendo diferencia importante entre los

dos sexos para ese rango de concentración en particular. Sin embargo, es todavía más interesante observar que las frecuencias relativas de las mujeres y de los hombres en relación al rango de concentración superior, 0.7 a 1.0 mg/dl, mostró diferencias muy significativas, ya que correspondían a 30.87% y 16.62% respectivamente.

Morgan y William observaron en un experimento controlado que las mujeres contienen niveles séricos de vitamina C más altos, con una ingestión menor que los varones, lo cual los llevó a concluir que los hombres probablemente tienen requerimientos mayores de Vitamina C que las mujeres. Dobbs sugirió que el inicio de la adolescencia hay una diferencia significativa en relación al sexo en la utilización de Vitamina C. (23).

Se puede concluir de acuerdo a este estudio, que existe evidencia acerca de la posible influencia del sexo en la disminución de la vitamina C plasmática de personas fumadoras, y por otra parte que no es concluyente estadísticamente que la edad y el número

de cigarrillos por día son factores que afectan dicha concentración.

Debido a esto se considera importante recomendar que este estudio sirva como base para efectuar trabajos posteriores que permiten llegar a demostrar de una manera más completa lo establecido en la literatura y además que logren aportar nuevos conceptos. J

R E S U M E N

Se determinó cuantitativamente la concentración de Vitamina C en el plasma de 160 personas fumadoras, las cuales se agruparon en un 50% para cada sexo.

Las muestras se recolectaron en diferentes zonas del área metropolitana de Monterrey, N. L. El método utilizado correspondió a la técnica de la 2,4-dinitrofenilhidrazina.

Para este estudio se tomaron en cuenta los factores sexo, edad y número de cigarrillos consumidos por día

los resultados obtenidos indicaron una influencia significativa del factor sexo en la concentración de vitamina C plasmática.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Albert, L.A. 1980. Bioquímica. 2a. Ed. Editorial Omega, España
- 2.- Solá, E.A. 1979. Manual de Dietoterapia de las enfermedades del adulto. 4a. Ed. Editorial El Ateneo, Buenos Aires.
- 3.- Krause U.M. 1975. Nutrición y Dietética en Clínica. Editorial Interamericana. México.
- 4.- Kirk, R. 1963. Enciclopedia de tecnología quími-

ca. Editorial Ispanoamericana. Tomo II.
México.

5.- West, S.E. 1969. Bioquímica Médica. 4a. Ed. Editorial Interamericana. México.

6.- Wilson, E., K. H. Fisher 1979. Principles of Nutrition. 4a. Ed. Editorial Wiley. U.S.A.

7.- Bender, E.A. 1973. Nutrición y Alimentos dietéticos. Editorial Acriba. México.

8.- Harper, A.H., V. W. Rodwel. 1978. Química fisiológica. 6a. Ed. Editorial El Manual Moderno. México.

9.- Hawk, P.B. 1949. Química Fisiológica Práctica. Editorial Ispanoamericana. México.

10.- Olascoaga, Q.J. 1950. Dietética, 5a. Ed. Editorial Cervantes. México.

- 11.- Alvarez, L.G. 1983. Algunos Aspectos Bioquímicos y Clínicos de la Vitamina C. Boletín de Educación Bioquímica. Vol. II. México 9-17.
- 12.- Searcy L.R. 1969. Diagnostic Biochemistry. Editorial Mc. Graw Hill. U.S.A.
- 13.- Robins, L.S. 1975. Patología estructural y funcional. Ed. Interamericana. México.
- 14.- Baker, M.E. 1967. Vitamin C. Requeriments in Stress. Am. J. Clin. Nut. 20: 583-590.
- 15.- Icaza, J.S. 1972. Nutrición. 2a. Ed. Editorial Interamericana. México.
- 16.- Hodges, E.R., R.A. Adelman. 1980. Nutrición Médica Clínica. Editorial Interamericana. España.
- 17.- Simposio Internacional sobre Vitaminas en Nutrición y Terapia. 1983. En: Diario de las Vitaminas Cartagena.

- 18.- Hodges, E.R., E.M. Baker. 1969. Experimental Scurvy in Man. Am.J. Clin. Nut. 22: 535-548.
- 19.- Srikantia, S.G., M. Mohanram. 1979. Human Requirements of Ascorbic Acid. Am.J. Clin. Nut. 23: 59-62
- 20.- Fomon, S. 1976. Nutrición infantil. 2a. Ed. Editorial Interamericana. México.
- 21.- Kimsman, B.A., J. Hood. 1971. Some behavioral Effects of Ascorbic Acid. Deficiency. Am.J. Clin. Nut. 23: 455-464.
- 22.- Hodges. E.R., J. Hood. 1971. Clinical manifestations of Ascorbic Acid. deficiency in Man. Am.J. Clin. Nut. 23: 432-443
- 23.- Pild, B.M., J.J. Grimshaw. 1971. Vitamic C concentration of plasma and Levcocytes as Related to Smoking Habit, Age and sex of Humans. Am.J. Clin. Nut. 21: 1254-1258.

- 24.- Burr M.L. 1974. Plasma and Leucocytes Ascorbic Acid Levels in the Elderly. Am.J. Clin. Nut. 27: 144-151.
- 25.- Omer, P. 1970. Vitamin C Status of Cigarette Smokers and nosmokers. Am.J. Clin. Nut. 23: 520-521.
- 26.- Omer, P. 1968. Smoking and Vitamin C levels in humans. Am.J. Clin. Nut. 21: 1259-1267.
- 27.- Kirk, R. 1963. Enciclopedia de Tecnología Química. Editorial Hispanoamericana. Tomo IX, México.
- 28.- Horrobin, D.F. 1976. Fisiología y Bioquímica - Médica. Editorial Salvat. España.
- 29.- Schaffert, R.R., G.R. Kingsley. 1955 a Rapia, Simple Method for the determination of reduced Dehydro-, and total Ascorbic Acid in Biological Material. J. Biol. Chem. 212: 59-68.

900375