

Influencia del hábito de fumar

sobre las concentraciones séricas de zinc, cobre y selenio en adultos jóvenes

María Eugenia Vargas^{1b}, Ninfa Martínez^{1a}, Alfonso Bravo^{1a}, Lissette Bohórquez^{1b}, Sylvia Araujo^{1b}, Aida Souki^{1b}, Peggi Paz^{2c}, Ana Cristina Fernández^{1a}, Desireé Ferrer^{1a}

¹ Laboratorio de Investigación y Desarrollo en Nutrición. Escuela de Nutrición y Dietética.

² Escuela de Enfermería. Facultad de Medicina, La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

^a Licenciado

^b Magister

^c Doctor

Responsable de la correspondencia: María Eugenia Vargas. Dirección: Urb. Monte Bello, Calle Ñ, No 13-69, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela, Fax (0261-7597236), teléfono de habitación (0261-7418570), teléfono celular (0416-6620099), correo electrónico: marivar541@yahoo.com

Recibido: 09/02/2007

Aceptado: 02/04/2007

Resumen

Zinc, cobre y selenio son cofactores de enzimas antioxidantes, por lo que una disminución de sus niveles séricos, compromete su papel preventivo de enfermedades degenerativas. En este estudio se planteó evaluar la influencia del hábito de fumar cigarrillo sobre las concentraciones séricas de estos cofactores en adultos jóvenes. La muestra estuvo conformada por 40 individuos sanos del sexo masculino, con edades entre 18 y 25 años, índice de masa corporal normal y consumo de nutrientes acorde con sus requerimientos nutricionales, divididos en grupo control (n=20) y grupo de fumadores crónicos (n=20), a los cuales se les cuantificó los niveles séricos de zinc, cobre, selenio y se les estimó la ingesta de nutrientes a través del recordatorio de 24 horas y la frecuencia de consumo de alimentos. En los fumadores los niveles séricos de zinc se mostraron severamente disminuidos ($0,36 \pm 0,10$ mg/L) y significativamente inferiores a los encontrados en los controles ($0,71 \pm 0,09$ mg/L), mientras que los niveles sérico de cobre y selenio no mostraron diferencia significativa. Los resultados indican que aún cuando el consumo de minerales en los fumadores fue adecuado, la dieta habitual no logró mantener la concentración sérica de zinc en los rangos normales, haciéndolos más susceptibles al estrés oxidativo.

Palabras Claves: Zinc, Cobre, Selenio, antioxidantes, fumadores, radicales libres.

Abstract

Zinc, copper, and selenium are cofactors of antioxidant enzymes. Low serum levels of these minerals can result in health risks, because they play a preventive role in degenerative diseases. The purpose of this study was to determine the influence of cigarette smoking habit on the serum concentrations of these cofactors in young adults. The study was performed on 40 healthy young men between the ages of 18 to 25 years, with normal body mass index, and adequate nutrient intake according to nutritional requirements. Sample was divided in a control group (n=20) and a chronic smokers group (n=20). Zinc, copper, and selenium were quantified in serum sample by atomic absorption spectrometry. Mineral intake was estimated by means of a 24 hours recall and food frequency consumption questionnaires. The serum level of zinc in the smokers ($0,36 \pm 0,10$ mg/L) was significantly lower than in the controls ($0,71 \pm 0,09$ mg/L). There were no significant differences in serum copper and selenium between smokers and controls. Results indicate that even though dietary intake of minerals in smokers was adequate, the habitual diet is not able to maintain the serum zinc concentration in the normal ranges, thus making them more susceptible to oxidative stress.

Key words: Zinc, copper, selenium, antioxidant, smoking, free radicals.

Introducción

El fumar cigarrillo se ha asociado con un alto riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cáncer bucal, cáncer pulmonar y muchas otras enfermedades crónicas¹. Parte de la fisiopatología de dichas enfermedades está dada por el mayor

estrés oxidativo al que están expuestos los fumadores, debido en primer lugar al gran número de radicales libres (RL) y otras especies reactivas del oxígeno (ERO) que se desprenden o son originadas por el humo del cigarrillo y en segundo lugar a un potencial antioxidante insuficiente.

Se ha determinado que el humo del cigarrillo es una mezcla compleja de más de 4700 compuestos químicos, de los cuales los radicales libres y otros oxidantes están presentes en concentraciones elevadas. Así, se estima que por cada bocanada de humo, ingresan al organismo aproximadamente 10^{15} radicales libres, principalmente de tipo peróxido y alquilo, y 500 a 1000 ppm de óxido nítrico². Esta excesiva exposición puede producir daño a proteínas esenciales³, ruptura de cadenas en el ADN⁴ y modificación en sus bases⁵, apoptosis⁶, necrosis⁷, disfunción endotelial⁸ y peroxidación lipídica^{9,10}. Esta última representa una reacción en cadena, ya que produce un suministro continuo de RL que inician posteriores peroxidaciones con efectos potencialmente devastadores¹¹, y se manifiesta por aumento en plasma del malondialdehído^{12,13} y F2-isoprostanos¹⁴, los cuales son indicadores de una afectación profunda de la estructura y función celular en los fumadores.

Por otra parte, a un potencial antioxidante insuficiente puede ser el resultado de la depleción de algunos minerales como zinc¹⁵, cobre¹⁶ y selenio^{12,17,18}, los cuales además de sus funciones en los procesos de respiración celular, replicación de ADN y ARN, participan en el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares, gracias a que actúan como cofactores de importantes enzimas antioxidantes. El Cobre y el Zinc son cofactores de la superóxido dismutasa (SOD), y el selenio de la glutatión peroxidasa (GPx)^{11,19}.

Ambas enzimas forman parte del complejo sistema de defensa antioxidante endógeno, que permite controlar y reducir los efectos oxidativos, constituido por antioxidantes de tipo preventivos, que reducen la velocidad de iniciación de la cadena de peroxidación, como las enzimas catalasa y la GPx, reaccionando con hidroperóxidos lipídicos (ROOH); y antioxidantes interruptores de la cadena de peroxidación, que interfieren con su propagación, en este grupo encontramos a la enzima SOD, que cataliza en la fase acuosa la dismutación de radicales superóxido (O_2^-); la vitamina E, que actúa en la fase lipídica cediendo un hidrógeno completo (H) al radical ROO•, la vitamina C que regenera a la vitamina E autooxidándose, la cual se vuelve a reducir por acción del glutatión y este último es reducido a su vez por el fosfato de dinucleótido de adenina y nicotinamida reducido ($NADPH+H^+$)¹¹.

Si este complejo sistema antioxidante falla, aunado a un consumo deficiente de antioxidantes provenientes de fuentes naturales y a una mayor producción de RL, lo cual es característico en los fumadores, se produce un incremento del daño oxidativo a importantes macromoléculas, contribuyendo a la aparición de enfermedades cardiovasculares y degenerativas. En virtud de las implicaciones a las que conllevan una alteración del sistema oxidación/antioxidación, y debido a que los datos en relación al impacto del hábito de fumar cigarrillo sobre los elementos traza son escasos e inconsistentes, la presente investigación se plantea evaluar la influencia del dicho hábito sobre las concentraciones séricas de zinc, cobre y selenio en adultos jóvenes, con consumo de nutrientes acorde con sus requerimientos nutricionales (variable estrictamente controlada a diferencia de otras investigaciones).

En este estudio se incluyeron individuos del sexo masculino con edades comprendidas entre 18 a 25 años, estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, los cuales manifestaron por escrito su consentimiento para participar. Para la selección de la muestra, se practicó a cada participante, una evaluación clínica completa, a fin de descartar procesos patológicos agudos o crónicos que pudiesen aportar falsos resultados. Además, se les realizó una evaluación nutricional, la cual consistió en determinaciones antropométricas y evaluación dietética, todo esto con la finalidad de incluir aquellos individuos con índice de masa corporal (IMC) normal y con un consumo de nutrientes adecuado a los requerimientos nutricionales específico para su edad. La muestra seleccionada estuvo conformada por 40 individuos, divididos en dos grupos: un grupo control (n=20) y un grupo de fumadores crónicos (n=20) con un consumo de 10 ó más cigarrillos/día por un período de 5 años o más.

En la evaluación antropométrica se midieron el peso y la talla para calcular el IMC, se consideraron como valores normales el rango de 18,5 – 24,9 Kg/m²²⁰. La evaluación dietética se realizó a través del recordatorio de 24 horas (R 24 h), donde se registró el consumo de alimentos de un día habitual y la frecuencia de consumo de alimento (FCA) semanal. Los cuestionarios fueron procesados utilizando el programa computarizado CERES, el cual convierte las cantidades declaradas de alimentos en cantidades de nutrientes, en base a la tabla de composición de alimentos del Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela (INN)²¹. El selenio fue cuantificado con la tabla de Nutrient Database for Standard Reference, Release 17 (USDA)²². La adecuación de nutrientes fue calculada de acuerdo a los valores de referencia de energía y nutrientes para la población venezolana creada por del INN de Venezuela²³.

Para la cuantificación de los niveles séricos de zinc (Zn), cobre (Cu) y selenio (Se), se utilizó material de vidrio y plástico químicamente limpio, obtenido por lavados sucesivos con detergente no iónico (Nonion Wiener Lab, Argentina), ácido nítrico (Fisher Científico Co) al 10% (V/V) y agua desionizada. Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico. Previo ayuno de 12 horas, se tomaron muestras de sangre (5ml) de todos los individuos por punción de la vena braquial, las cuales fueron dispensadas en tubos de vidrio sin anticoagulante; el suero se extrajo por centrifugación a 4000 rpm y se almacenó por congelación a -4°C por 2 meses. Las muestras séricas se sometieron a un proceso de digestión ácida con ácido nítrico concentrado empleando bombas tipo Parr, colocadas en una estufa a temperatura de 110°C, durante 4 horas. Este procedimiento facilitó el análisis mineral, al reducir las posibles interferencias espectrales, dado la complejidad de la matriz a evaluar. Las muestras digeridas fueron diluidas según los límites de detección de cada mineral.

La cuantificación de Zn y Cu se realizó mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, con llama (Perkin-Elmer 3100) y con horno de grafito para Se (Perkin-Elmer 3110), provistos de lámpara de cátodo hueco específica para cada mineral. Todas las muestras se analizaron por triplicado y los valores correspondientes a las concentraciones de los minerales Zn y Cu se expresaron en mg/L (ppm) y para Se en

mg/L (ppb). Se consideraron como rango normal en suero humano los valores de 0,70 – 1,50 mg/L para Zn, 0,70 – 1,40 mg/L para Cu y 80 – 320 mg/L para Se²⁰.

Análisis estadístico

Para verificar la distribución normal de las variables se utilizó la prueba Z de Kolmogorov-Smirnov. Los valores se expresaron como media aritmética \pm desviación estándar. Las diferencias entre promedios se calcularon con la prueba "t" de Student, considerándose significativo aquellos valores de $p < 0,05$.

Resultados

En la tabla 1 se presentan las características generales de los sujetos en estudio, donde la edad, peso y talla no mostraron diferencias significativas entre fumadores y controles; sin embargo, el IMC resultó significativamente superior en el grupo control ($23,48 \pm 0,26 \text{ Kg/m}^2$) al compararlo con el grupo de fumadores ($22,06 \pm 0,33 \text{ Kg/m}^2$).

Tabla 1. Características generales de los sujetos estudiados

	Fumadores (n=20)	Controles (n=20)
Edad (años)	20,95 \pm 0,49	21,05 \pm 0,49
Peso (Kg)	66,75 \pm 1,58	67,55 \pm 1,50
Talla (cm)	1,73 \pm 0,01	1,69 \pm 0,02
IMC (Kg/m ²)	22,06 \pm 0,33*	23,48 \pm 0,26 *

* Diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los resultados del aporte calórico de macronutrientes y micronutrientes, obtenidos a través del recordatorio de 24 horas y de la frecuencia de consumo de alimentos (Tabla 2), demostraron en los fumadores un mayor consumo de proteínas ($102,61 \pm 0,95 \text{ gr/día}$ por R de 24 h y $101,25 \pm 1,25 \text{ gr/día}$ por FCA) al compararlo con el grupo control ($97,37 \pm 1,13 \text{ gr/día}$ por R de 24 h y $89,90 \pm 1,13 \text{ gr/día}$ por FCA) ($p < 0,05$). Al analizar los porcentajes de adecuación, se evidenció para ambos grupos que el aporte calórico y de nutrientes fue adecuado según los requerimientos.

Tabla 2. Aporte diario de energía, macronutrientes y micronutrientes del grupo de fumadores y controles

	Recordatorio de 24 horas		Frecuencia de consumo	
	Fumadores (n=20)	Controles (n=20)	Fumadores (n=20)	Controles (n=20)
Energía (Kcal)	2848,93 \pm 19,55	2871,76 \pm 17,15	2816,31 \pm 27,85	2816,53 \pm 24,82
%ADE	97,27 \pm 0,66	98,05 \pm 0,58	96,16 \pm 0,95	96,16 \pm 0,84
Proteína (g)	102,61 \pm 0,95	97,37 \pm 1,13	101,25 \pm 1,25*	89,90 \pm 1,13*
%ADE	107,81 \pm 0,99*	102,30 \pm 1,18*	106,37 \pm 1,32*	100,32 \pm 1,35*
Grasas (g)	90,49 \pm 1,00	91,43 \pm 0,85	89,35 \pm 1,25	89,90 \pm 1,13
%ADE	99,32 \pm 1,09	100,35 \pm 0,93	98,07 \pm 1,38	98,67 \pm 1,24
Carbohidratos(g)	407,08 \pm 3,90	414,84 \pm 4,19	401,78 \pm 4,45	407,74 \pm 4,86
%ADE	94,23 \pm 0,90	96,03 \pm 0,97	93 \pm 1,03	94,38 \pm 1,25
Zinc (mg)	14,10 \pm 0,14	14,08 \pm 0,09	13,91 \pm 0,15	13,84 \pm 0,14
%ADE	94 \pm 0,94	93,92 \pm 0,63	92,75 \pm 1,06	92,3 \pm 0,94
Cobre (mg)	2,38 \pm 0,02	2,27 \pm 0,05	2,34 \pm 0,02	2,22 \pm 0,05
%ADE	108,20 \pm 0,91	103,29 \pm 2,52	106,61 \pm 1,33	101,22 \pm 2,43
Selenio (mg)	66,38 \pm 0,58	69,51 \pm 0,38	67,11 \pm 0,67	69,90 \pm 0,42
%ADE	102,12 \pm 0,89	106,93 \pm 0,59	103,24 \pm 1,03	107,54 \pm 0,65

* Diferencias significativas ($p < 0,05$).

%ADE indica el porcentaje de adecuación de nutrientes.

Con relación a los niveles séricos de minerales (Tabla 3), se observó en el grupo control valores de zinc ($0,71 \pm 0,09 \text{ mg/L}$) significativamente superiores a los encontrados en los fumadores ($0,36 \pm 0,10 \text{ mg/L}$). Mientras que los niveles séricos de Cu y Se, no mostraron diferencia significativa al hacer comparaciones entre grupos, sin embargo, resultaron ligeramente más elevados los controles ($0,98 \pm 0,06 \text{ mg/L Cu}$ y $277,49 \pm 35,99 \text{ mg/L Se}$), que en los fumadores ($0,96 \pm 0,44 \text{ mg/L Cu}$ y $216,98 \pm 31,30 \text{ mg/L Se}$).

Tabla 3. Niveles séricos de minerales en fumadores y controles

	Fumadores (n=20)	Controles (n=20)
Zinc (mg/L)	0,36 \pm 0,10*	0,71 \pm 0,09*
Cobre (mg/L)	0,96 \pm 0,44	0,98 \pm 0,06
Selenio (mg/L)	216,98 \pm 31,30	277,49 \pm 35,99

* Diferencias significativas ($p < 0,05$).

Discusión

Este estudio evaluó la influencia del hábito de fumar sobre las concentraciones séricas de Zn, Cu y Se en adultos jóvenes. Los resultados mostraron en los fumadores niveles séricos de zinc severamente disminuidos ($0,36 \pm 0,10 \text{ mg/L}$) en relación a los valores normales ($0,70 - 1,50 \text{ mg/L}$) y significativamente bajos en comparación con el grupo control ($0,71 \pm 0,09 \text{ mg/L}$), consistente con otras investigaciones^{15,24,25,26}.

Se ha establecido que los niveles de cofactores en el organismo, dependen de su aporte en la dieta, pero también, de las condiciones metabólicas que pueda presentar el individuo²⁰, de allí, que es importante resaltar que aun cuando el grupo de fumadores estudiados registraron un consumo de micronutrientes adecuado a los requerimientos nutricionales, todos presentaron valores de zinc bajos, lo cual puede ser el resultado de una utilización incrementada de este mineral debido a la condición de estrés oxidativo al cual están sometidos; lo que al final podría desencadenar en una alteración mayor del sistema antioxidante, por disminución de la actividad de la enzima SOD, esto debido a que la actividad de las enzimas antioxidantes cambia dependiendo de las concentraciones séricas de sus cofactores, tal como lo demostró Kocyt y col¹⁸.

Otros investigadores han relacionado esta disminución de zinc con la acumulación sérica de metales pesados como cadmio, cobalto, hierro y sulfuro que están contenidos en el humo del cigarrillo, los cuales son antagonistas e interfieren con la absorción de los metales nutricionalmente esenciales como el zinc y cobre, aunque los mecanismos no son completamente conocidos^{18,25}. Se ha demostrado que particularmente el cadmio es capaz de disminuir el contenido de zinc y cambiar la conformación de la SOD, disminuyendo así su actividad²⁷.

Al evaluar los niveles séricos de cobre y selenio, estos se encontraron en el rango normal y sin mostrar diferencia significativa entre los grupos estudiados, lo cual concuerda con los resultados descritos por Sulochana y col²⁴. Es probable que estos hallazgos se correspondan con el hecho que el estudio se realizó con adultos jóvenes sanos, en los cuales el estrés oxidativo tiende a ser menor, debido a la eficiencia de sus sistemas antioxidantes, cuando se compara con personas mayores de 40 años. Sin embargo, se ha reportado que

en los fumadores crónicos, tan sólo una hora después de fumar uno o dos cigarrillos aumenta la generación de radicales libres e inversamente disminuye la eficiencia de los sistemas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), y la glutatión peroxidasa (GPx)²⁸.

En virtud de lo previamente discutido, se puede afirmar que aun cuando el consumo de micronutrientes esenciales como zinc, cobre y selenio se encontró adecuado a los requerimientos para la población venezolana, éste no cubrió las necesidades nutricionales reales de los fumadores, específicamente para el zinc, cuyas concentraciones séricas se encontraron severamente disminuidas, lo que podría ser un indicador bioquímico de deterioro de su potencial antioxidante, atribuible a una posible alteración de la actividad de la enzima SOD, de la cual es cofactor. Lo que además, plantea la necesidad de suplementación controlada con antioxidantes específicos en este grupo poblacional, a fin de lograr niveles sanguíneos y tisulares realmente eficaces, que ayuden a contrarrestar los efectos deletéreos que desencadena el hábito de fumar. Se sugiere la realización de estudios con intervención nutricional donde se determinen las necesidades reales de consumo de antioxidantes en este grupo poblacional.

Referencias

- Pernas M, Arencibia L. Efectos sobre la salud de la exposición crónica al humo del tabaco en fumadores y no fumadores. *Rev Cubana Med Gen Integr* 1998; 14(2): 180-4.
- Pryor WA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke: radicals hydrogen peroxides peroxyhydrate and peroxyhydrate. *Annals NY Acad Sci* 1993; 686: 12-28.
- Panda K, Chattopadhyay R, Ghosh MK, Chattopadhyay DJ, Chatterjee IB. Vitamin C prevents cigarette smoke induced oxidative damage of proteins and increased proteolysis. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(9-10): 1064-79.
- Tsuda S, Matsusaka N, Ueno S, Susa N., Sasaki Y. The Influence of Antioxidants on Cigarette Smoke-Induced DNA Single-Strand Breaks in Mouse Organs: A Preliminary Study with the Alkaline Single Cell Gel Electrophoresis Assay. *Toxicological Sciences* 2000; 54: 104-109.
- Kodama M, Kaneko M, Aida M, Inoue F, Nakayama T, Akimoto H. Free radical chemistry of cigarette smoke and its implication in human cancer. *Anticancer Res.* 1997; 17(1A): 433-7.
- Dimmeler S, Zeiher AM. Reactive oxygen species and vascular cell apoptosis in response to angiotensin II and pro-atherosclerotic factors. *Regul Pept.* 2000; 90(1-3): 19-25.
- Wickenden JA, Clarke MC, Rossi AG, Rahman I, Faux SP, Donaldson K, MacNee W. Cigarette smoke prevents apoptosis through inhibition of caspase activation and induce necrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29(5): 562-70.
- Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87(10): 840-4.
- Altuntas E, Turgut T, Ilhan N, Deveci F, Muz HM, Celik I. The levels of oxidant and antioxidant in patients with COPD. *Tuberk Toraks* 2003; 51(4): 373-9.
- Miller ER, Appel LJ, Jiang L, Risby TH. Association Between Cigarette Smoking and Lipid Peroxidation in a Controlled Feeding Study *Circulation* 1997; 96: 1097-1101.
- Mayes P. Oxidación Biológica. En: Murria R, Granner D, Mayes P, Rodwell V. *Bioquímica de Harper*. 14a ed. Manual Moderno; 1997. p.143-150.
- Kim SH, Kim JS, Shin HS, Keen CL. Influence of smoking on markers of oxidative stress and serum mineral concentrations in teenage girls in Korea. *Nutrition* 2003; 19(3): 240-3.
- Morrison D, Rahman I, Lanzas S, MacNee W. Epithelial Permeability, Inflammation, and Oxidant Stress in the Air Spaces of Smokers. *Am J Respir. Crit. Care Med* 1999; 159(2): 473-479.
- Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, Strauss WE, et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* 1995; 332(18): 1198-203.
- Sulochana K, Punitham R, Ramakrishnan S. Oral supplementation of zinc promotes erythrocyte superoxide dismutase activity in chronic cigarette smoker: report on a pilot clinical trial. *Indian Journal Pharmacol* 2001; 33:224.
- Faruque MO, Khan MR, Rahman MM, Ahmed F. Relationship between smoking and antioxidant nutrient status. *Br J Nutr* 1995; 73(4): 625-32.
- Galan P, Viteri FE, Bertrais S, Czernichow S, Faure H, Arnaud J, Ruffieux D, Chenal S, Arnault N, Favier A, Roussel AM, Hercberg S. Serum concentrations of beta carotene, vitamins C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59(10): 1181-90.
- Kocygit A, Erel O, Gur S. Effects of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper, iron concentrations and related antioxidative enzyme activity. *Clin Biochem* 2001; 34(8): 629-33.
- Chan S, Gerson B, Subramaniam S. The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. *Clin Lab Med* 1998; 18(4): 673-85.
- Czajka-Narins D. Minerales. En: Mahan K; Wscott-Stump S. *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. 9na ed. McGraw-Hill Interamericana; 1996. p. 321-41.
- Instituto Nacional de Nutrición. *Tabla de Composición de Alimentos para uso práctico*. Venezuela. 54ava ed; 2001.
- Agricultural Research Service. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 17 for selenium*. [Documento en línea] 2004. Se consigue en: http://www.nal.usda.gov/fric/foodcomp/Data/SR17/wtrank/wt_rank.html.
- Instituto Nacional de Nutrición Fundación CAVENDES. *Necesidades de Energía y Nutrientes para la Población Venezolana*. Serie de cuadros azules. Caracas INN; 1993.
- Sulochana K, Punitham R, Ramakrishnan S. Effect of cigarette smoking on cataract: Antioxidant enzymes and constituent minerals in the lens and blood of humans. *Indian Journal of Pharmacology* 2002; 34: 428-31.
- Uz E, Sahin S, Hepsten IF, Var A, Sogut S, Akyol O. The relationship between serum trace element changes and function in heavy smokers. *Acta Ophthalmol Scand* 2003; 81(2): 161-4.
- Bashar SK, Mitra AK. Effect of smoking on vitamin A, vitamin E, and other trace elements in patients with cardiovascular disease in Bangladesh: a cross sectional study. *Nutr J.* 2004; 3: 18
- Huang YH, Shih CM, Huang CJ, Lin CM, Chou CM, Tsai ML, Liu TP, Chiu JF, Chen CT. Effects of cadmium on structure and enzymatic activity of Cu,Zn-SOD and oxidative status in neural cells. *J Cell Biochem.* 2006; 98(3): 577-89.
- Magalova T, Beno I, Brtkova A, Mekinova D, Volkovova K, Staruchova M, Tatara M. Levels of Cu, Zn, Se and their relation to levels of ceruloplasmin and the activity of antioxidative enzymes. *Bratisl Lek Listy.* 1997; 98(1): 8-11.