

Título: Suplementación de Cinc en enfermos de ataxias tipo SCA2.

Autores: Dr.C Luis Velázquez Pérez* (ataxia@cristal.hlg.sld.cu) ; Dr C. Julio César García Rodríguez, MSc Jorge E. Rodríguez Charfrau, Dr. Raúl Aguilera Rodríguez, Dr. Gilberto Sánchez Cruz, Lic. Julio Cesar Rodríguez Díaz, Lic. Roberto Rodríguez Labrada, MSc. Consuelo González Triana, Dr.C Gregorio Martínez Sánchez, Lic. Luis E. Almaguer Mederos, Dra. Yamila Rodríguez Cruz, Lic. Héctor O. Soto Garces, Lic. Dennis Almaguer Gotay, Lic. Nalia Canales Ochoa, Dra. Noemí Rodríguez, Lic. Iverlys Díaz Polanco, Dra. Idania Hidalgo, Lic. Orestes López Hernández.

Centro de procedencia: Centro de Ataxia. Provincia Holguín, Cuba.

Introducción

Las Ataxias constituyen un serio problema de salud en la provincia de Holguín donde se concentra la mayor cantidad de sujetos enfermos y en riesgo de enfermar, estimándose una población de aproximadamente 5 533 individuos involucrados, lo que representa el 0,53% de la población total, es decir que en Holguín existe un sujeto enfermo o con riesgo de enfermar de Ataxia Hereditaria por cada 200 personas. Los resultados del estudio Neuroepidemiológico Nacional demostraron la existencia de más de 8 000 personas, pertenecientes a 168 familias, que se relacionan con estas enfermedades, de las cuales el 75,7% pertenecen a la forma molecular tipo 2 (SCA2); en el país se diagnosticaron 757 enfermos y anualmente nacen 22 niños portadores del gen, enferman 35 nuevos casos y fallecen 15 enfermos (1, 2).

La SCA2 presenta una gran variabilidad en la edad de inicio y en su expresión clínica (3), justificándose el 60% por las características estructurales del gen, específicamente por el número de repeticiones del trinucleótido CAG, presentándose la enfermedad a edades más tempranas y con evolución más desfavorable en personas que tienen mayores repeticiones de CAG; el 40% restante de la variabilidad fenotípica pudiera explicarse por la presencia de otros genes (modificadores), factores no genéticos endógenos y factores medioambientales, cuya identificación podrá conducir al descubrimiento de vías de intervención para el tratamiento de estas enfermedades.

Durante los últimos 10 años las investigaciones que sobre la SCA2 se realizaron permitieron identificar posibles blancos terapéuticos de la enfermedad, así como marcadores para la monitorización de la progresión de la enfermedad y la evaluación de las terapias (4-7). Hasta el momento la única alternativa terapéutica de esta afección lo constituye la neurorrehabilitación que modula o mejora algunos parámetros clínicos y humorales (8,9).

La identificación de una marcada disminución de oligoelementos en el líquido cefalorraquídeo, fundamentalmente del Cinc en enfermos de SCA2 (10), unido al efecto del mismo sobre el sistema nervioso, inmunológico, las defensas antioxidantes y su posible efecto neuroprotector sobre las neuronas de Purkinje llevaron al desarrollo de un ensayo preclínico en el modelo animal transgénico SCA2. Los resultados demostraron su efectividad sobre tareas motoras,

conductuales así como una mayor supervivencia en los animales tratados al ser comparados con los controles no tratados. También se evidenciaron cambios morfológicos a nivel de la capa de células de Purkinje en los transgénicos tratados que sugerían un posible efecto de plasticidad a este nivel (Dr. C Julio Cesar Rodríguez Díaz, comunicación personal).

Estos resultados motivaron el desarrollo de la presente investigación que consistió en la suplementación de cinc por vía oral en enfermos de SCA2, con el objetivo de suplir los bajos niveles detectados en el suero, en muchos, casos inferiores a 10,6 micromoles por litro. Esto conllevará a mejorar el estado de salud originado por la recuperación de los niveles recomendado por la OMS para este microelemento. Este constituye el primer ensayo clínico que se realiza en Cuba para la Ataxia SCA2.

Objetivos

Objetivo General

- Demostrar que la suplementación con Cinc en pacientes con SCA2 permite la recuperación de los niveles fisiológicos de este oligoelemento en el suero y el LCR, lo que influye positivamente sobre parámetros clínicos, electrofisiológicos y humorales.

Objetivos Específicos

- Identificar tipo, frecuencia y severidad de los eventos adversos que se presenten durante el tratamiento.
- Determinar las concentraciones de Cinc en suero y LCR en pacientes con SCA2 tratados y no tratados con Cinc y neurorrehabilitación antes y después del tratamiento.
- Evaluar la influencia del número de repeticiones de CAG sobre los niveles de Cinc en el suero y el LCR antes y después del tratamiento.
- Evaluar los efectos del Cinc y la Neurorrehabilitación sobre los trastornos de la coordinación, la estabilidad postural, las variables electrofisiológicas y las funciones cognitivas en pacientes con SCA2.
- Caracterizar el estado los parámetros relacionados con el equilibrio redox en los pacientes tratados y no tratados con Cinc y neurorrehabilitación asociada.

Diseño metodológico

Diseño del ensayo.

Se realizó un ensayo clínico Fase II, monocéntrico, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego. Para este ensayo se incluyeron en total 36 pacientes, con diagnóstico clínico y molecular de SCA2, que presentaban una afectación motora leve sin implicar compromiso del desempeño de sus actividades fisiológicas y de relación social.

El grupo se dividió en dos subgrupos de 18 pacientes cada uno, a uno se le administró el medicamento a las 10:30 horas y al segundo grupo se le aplicó el

placebo hasta completar 6 meses del tratamiento conjuntamente con un Programa de Rehabilitación que desarrollaron durante igual período.

Sujetos estudiados.

Fueron incluidos 36 pacientes, 18 de los cuales recibieron el tratamiento y el resto recibieron placebo. Cada individuo fue interrogado en busca de síntomas de compromiso del Sistema Nervioso Central o Periférico y posteriormente se le realizó un examen neurológico completo teniendo en cuenta los parámetros utilizados en la clínica Mayo para el examen neurológico .

Estudios realizados.

- ✓ Determinación de cinc en suero y LCR.
- ✓ Escala para la estimación y cuantificación de la Ataxia (SARA)
- ✓ Evaluación Neuropsicológica
 - **Fas fonológico**
 - **Test de clasificación de cartas de Wisconsin**
 - **Test de Memoria verbal evocada**
 - **Test de Hopper.**
- ✓ Evaluación Neurofisiológica
 - **Estudios de conducción nerviosa periférica sensitiva**
 - **Potenciales evocados somatosensoriales de nervio mediano.**
 - **Potenciales Evocados Auditivos de Tallo Cerebral (PEATC)**
 - **Estudio de los movimientos oculares sacádicos**
- ✓ Estudios para la evaluación de los parámetros bioquímicas relacionadas con el sistema tóxico-oxidativo en sangre y líquido cefalorraquídeo
 - **Malonil di-aldehído (MDA)**
 - **Susceptibilidad a la peroxidación lipídica (PP).**
 - **Producto avanzado de la oxidación de proteínas (PAOP).**
 - **Capacidad reductora del plasma (FRAP).**
 - **Glutación Reducido (GSH)**
 - **Actividad de la Superóxido Dismutasa**
 - **Actividad de la Catalasa (CAT)**

Estos estudios realizados antes, durante (a los 3 meses) y al finalizar el tratamiento.

Presentación de datos.

Los resultados de la comparación de medias para la concentración de Cinc, en el suero de los dos grupos de pacientes mostraron un incremento de dicho oligoelemento a partir de los tres meses. Estos valores se mantuvieron

constantes hasta la evaluación final. Sin embargo, este aumento resultó significativamente mayor en el grupo que recibió el medicamento.

En el LCR, se observó un incremento estadísticamente significativo en los valores del mismo en el grupo tratado con sulfato de cinc, pero no en el grupo que recibió placebo, al finalizar el tratamiento.

En ningún estudio se observó correlación significativa entre los niveles de cinc en el suero y LCR con los valores de la escala SARA y el tiempo de evolución. Tampoco observamos correlación entre el incremento de las concentraciones de cinc y ambas variables clínicas.

Los niveles de Cinc en el suero durante el estudio basal, no correlacionaron con el tamaño de la expansión poliglutamínica, el tiempo de evolución ni la escala SARA. Sin embargo, a partir del segundo estudio se observó una correlación de las concentraciones séricas de Cinc solo con el número de repeticiones del CAG ($r=-0,338$, $p=0,042$), la que se incrementa hacia el último estudio ($r=-0,463$, $p=0,007$).

Los estudios de regresión simple entre el incremento de los niveles de Cinc, el número de repeticiones de CAG y el tiempo de evolución, solo mostraron correlación estadísticamente significativa con el tamaño de la expansión poliglutamínica.

En el LCR, no observamos correlación entre los niveles de Cinc de cada estudio y las variables clínicas y moleculares antes mencionadas. Solo encontramos correlación entre el número de repeticiones de CAG y el incremento de las concentraciones de Cinc.

La evaluación final del estado clínico de los enfermos se realizó a través de la escala para la estimación de la ataxia (SARA). En los sujetos, a los que se les suministró el sulfato de Cinc, se observó un incremento significativo del porcentaje de mejoría para la estabilidad postural y adiadococinesia al ser comparados con el grupo que tomó el Placebo. Los trastornos de la marcha, el lenguaje, así como la dismetría de los miembros superiores e inferiores mejoraron entre el 50 y 60% con relación al estudio basal, pero en ambos grupos de estudio.

Para la evaluación cognitiva se analizaron las funciones frontoexecutivas, memoria y habilidades visuoespaciales. De manera general se apreció una mejoría estadísticamente significativa, de todas las funciones, al final del tratamiento, tanto en el grupo tratado con Cinc como en el del placebo. Sin embargo, en los sujetos que tomaron cinc el porcentaje de mejoría presentó una tendencia más favorable que el grupo placebo.

Las variables de los estudios de conducción nerviosa periférica sensitiva del nervio mediano no mostraron cambios significativos al finalizar el tratamiento en ninguno de los dos grupos. Sin embargo, para el nervio sural se demostró una disminución de la latencia y un aumento significativo de la amplitud al final del tratamiento en el grupo tratado con Sulfato de Cinc. Para la latencia sensitiva del nervio sural, de los sujetos tratados con el medicamento, un total de 7 (41,18%) evidenciaron una mejoría entre 0,5 a 2 ms, mientras que para la amplitud 8 sujetos (47,05%) respondieron favorablemente, incrementando el valor de este parámetro electrofisiológico. Ni para los potenciales evocados somatosensoriales, ni auditivos de tallo cerebral, hubo diferencias significativas entre los grupos, ni entre el estado basal y final.

El que recibió el sulfato de cinc presentó una disminución progresiva de la latencia sacádica, resultando estadísticamente significativa al final del

tratamiento. Sin embargo, para la velocidad sacádica y la desviación no se produjeron cambios significativos al final del tratamiento. Para la latencia se constató que en 13 sujetos de los que se les administró el Sulfato de Zinc esta variable disminuyó, lo que representa el 76,5 % del total.

El grupo de pacientes tratados con sulfato de zinc mostró una mejoría significativa de las funciones antioxidantes que protegen contra el daño oxidativo a lípidos, lo que fue demostrado por la disminución de los niveles de MDA en el suero. Aunque los niveles de PP disminuyeron al finalizar el estudio, esta respuesta no fue específica al tratamiento con sulfato de zinc, pues los individuos que tomaron placebo mostraron un comportamiento similar. Sin embargo, no observamos recuperación del daño oxidativo a proteínas, pues los niveles de PAOP y FRAP no evidenciaron cambios significativos. Las concentraciones promedio de GSH se incrementaron en ambos grupos tanto en el suero como en el LCR.

En el grupo de sujetos tratados con el medicamento se observó una tendencia marcada a la recuperación de la actividad del sistema enzimático CAT-SOD en el LCR. Esto se evidenció debido a la disminución del porcentaje de pacientes con ausencia de actividad en este sistema al terminar el tratamiento, a diferencia del que se le administró el placebo en que no se experimentó recuperación de la respuesta para ningún caso. Sin embargo, en el suero no se produjo ninguna respuesta significativa al tratamiento.

Los análisis de seguridad del tratamiento con sulfato de zinc demostraron que los eventos adversos observados eran leves y no estaban relacionados con el medicamento, por lo que no producen cambios sobre el estado general de salud de los pacientes, ni sobre el curso evolutivo de la enfermedad. Esto nos permitió concluir que el Sulfato de Zinc administrado en tabletas de 50 mg con una dosis de 1 tableta por día, es un medicamento tolerable y seguro para los pacientes con SCA2.

Discusión

Una de las principales causas que provocan las deficiencias de Zinc son las alteraciones en su absorción (11). Sin embargo, el incremento de este oligoelemento en el suero y el LCR de los pacientes tratados fue muy brusco, evidenciado que los mecanismos de absorción y transporte de este microelemento están conservados y además que los pacientes presentan un elevada demanda de zinc para el desarrollo de sus respectivas funciones.

Durante el tratamiento, los pacientes llevaron una dieta con alimentos ricos en zinc, lo que justifica el aumento de los niveles séricos de este microelemento en el grupo tratado con placebo. Sin embargo, estos pacientes no incrementaron las concentraciones del mismo en el LCR. Esto indica que una dieta balanceada rica en zinc es suficiente para incrementar significativamente los niveles circulantes en sangre, pero no en el sistema nervioso, donde las concentraciones de zinc solo pueden incrementarse significativamente mediante la suplementación medicamentosa de este microelemento.

Al analizar estos resultados y tomando en consideración la naturaleza neurológica de la SCA2 y las conocidas funciones del zinc en el sistema nervioso (11,12), demostramos la factibilidad del tratamiento medicamentoso con sulfato de zinc para la suplementación significativa de este oligoelemento

en el sistema nervioso de los pacientes, lo que tiene gran importancia para la neuroprotección y la neuromodulación.

La correlación de los niveles séricos de Cinc con el número de repeticiones del CAG en los dos últimos estudios, cuando la mayoría de los pacientes había alcanzado valores normales de Cinc, sugiere la conexión de esta deficiencia con la fisiopatología de la enfermedad y específicamente con la magnitud del daño molecular. Estos resultados sugieren la posible influencia molecular sobre la dishomeostasia del Cinc en pacientes con SCA2, sin embargo, esta alteración se puede restablecer parcialmente mediante la suplementación de este oligoelemento, pero con mayor significación en aquellos individuos de menor daño molecular. Por tanto estos resultados confirman la hipótesis planteada en esta investigación y por ende la efectividad del suministro de este medicamento sobre la homeostasis del cinc.

Los resultados alcanzados con la aplicación de la escala SARA, sugieren la acción directa o indirecta del medicamento sobre la función cerebelosa. Se conoce que la presencia de niveles significativos de cinc y sus transportadores específicos a nivel del cerebelo, específicamente en la sinapsis que se establece entre el terminal de las fibras musgosas con las células de Golgi y granulares y del efecto neuroprotector y neuromodulador a nivel de la capa de neuronas de Purkinje de este oligoelemento (13-17). El efecto de la rehabilitación sobre estas funciones no puede obviarse, teniendo en cuenta el papel del cerebelo en el aprendizaje motor (18-20) y sus potencialidades de plasticidad neuronal (21). Se puede inferir que el cinc modula estos mecanismos, de ahí la importancia de su utilización asociado a la rehabilitación.

Los resultados de esta investigación demostraron una mejoría significativa de las tareas o funciones frontoexecutivas, memoria y las habilidades visuespaciales. A pesar de observarse una tendencia a que esta fue superior en los sujetos tratados, debemos destacar que el grupo placebo tuvo un comportamiento similar, sin reportarse diferencias estadísticamente significativa entre los mismos. La interpretación de estos resultados nos sugiere que la interacción de ambos tratamientos tiene un efecto beneficioso sobre la disfunción neurocognitiva en pacientes con SCA2.

El suplemento con sulfato de cinc no produjo cambios sobre las vías aferentes centrales ni a nivel intraxial en el tallo cerebral. Sin embargo, se evidenció una ligera mejoría en las variables que exploran la conducción nerviosa periférica en el nervio sural, indicando la recuperación parcial del daño mielínico y axonal en este nervio, no ocurriendo lo mismo para el mediano. Este último nervio está sometido a un proceso neurodegenerativo más severo, posiblemente por una mayor vulnerabilidad selectiva a la mutación SCA2 y a procesos compresivos más intensos, lo que puede incidir sobre este resultado. Estos hallazgos sugieren el posible papel del cinc en la modulación de la conducción nerviosa periférica, específicamente sobre la vaina de mielina y corroboran resultados previos obtenidos por otros investigadores (22).

La latencia sacádica expresa el tiempo que tarda el sujeto en responder ante el estímulo sacádico que se presenta. Esta tarea requiere de la integración de varias funciones cognitivas como la atención, la concentración, entre otras. Si a lo anterior se añade que la generación de esta respuesta obedece a estructuras frontales que tienen un papel muy importante sobre las funciones cognitivas (23), podemos argumentar que la disminución significativa de la

latencia sacádica en el grupo tratado puede explicarse por la recuperación de las funciones cognitivas en estos pacientes, el efecto positivo de la rehabilitación y la contribución del cinc en la remielinización de fibras nerviosas. El pobre efecto del tratamiento y la rehabilitación sobre el enlentecimiento sacádico y la dismetría se debe a la severidad de estas alteraciones, las que son el reflejo de una severa pérdida neuronal a nivel del tallo cerebral y el cerebelo (4,5), la que no puede ser recuperada con el tratamiento, además, en el caso de la velocidad sacádica, nuestro grupo demostró su estrecha relación con el tamaño de la expansión poliglutámica, lo que nos permitió sugerir que el cinc no modifica la toxicidad mediada por la poliglutamina en la SCA2, al menos en el tallo cerebral.

En esta investigación demostramos que la recuperación de la función antioxidante en los pacientes tratados con sulfato de cinc fue específica al daño oxidativo de los lípidos, pero no a las proteínas. La disminución de los niveles de MDA en el suero es un indicador directo de esta recuperación teniendo en cuenta que el mismo se obtiene como resultado de la peroxidación lipídica. Estos resultados coinciden con los obtenidos mediante el estudio del potencial de peroxidación, en los que demostramos la disminución significativa de los niveles de peroxidación lipídica en el centro de equilibrio y por tanto la recuperación de la actividad antioxidante que protege a los lípidos, sin embargo, para esta variable no encontramos especificidad de respuesta en el grupo tratado con sulfato de cinc, lo que indica el efecto significativo de la rehabilitación sobre esta variable, aunque observamos una menor variabilidad en la respuestas de los sujetos tratados, sugiriendo un papel modulador de cinc sobre el efecto de la rehabilitación.

La capacidad reductora de la fase hidrosoluble del plasma no mostró cambios en ningún grupo de pacientes, indicando la no recuperación del daño oxidativo total de las proteínas. Para comprobar si el tratamiento protege a las proteínas de la clorinación, se cuantificaron los niveles de PAOP en el suero y el LCR, los que no mostraron diferencias significativas al concluir el estudio, debido a los elevados niveles basales que presentan los pacientes. Estos resultados reflejan la extensión del proceso inflamatorio a que está sometido el SNC en estos pacientes.

La disminución de los niveles de GSH en el suero y el LCR en ambos grupos de pacientes muestra el efecto positivo de la rehabilitación sobre las funciones antioxidantes, lo que ha sido demostrado previamente por otros investigadores, pero nunca para este tipo de enfermedades neurodegenerativas. Tal disminución debe estar relacionada con una mayor utilización de este metabolito en funciones antioxidantes por parte de la enzima Glutación S-transferasa (GST), la que se encarga de catalizar su enlace a las especies reactivas del oxígeno reduciendo el potencial oxidativo de las mismas.

El incremento de la actividad del sistema enzimático de defensa antioxidante CAT-SOD es reflejo de la recuperación de la actividad enzimática de ambas enzimas como resultado del tratamiento. Estas enzimas forman parte de una misma vía de defensa antioxidante contra especies reactivas del oxígeno. La SOD convierte los iones superóxido en H_2O_2 , el que a su vez es convertido por la CAT en agua. El incremento de la actividad enzimática de la SOD se basa en el papel de cofactor de desempeña el cinc en esta enzima. Por su parte, la recuperación de la actividad enzimática de la CAT se relaciona con el aumento

de los niveles de su sustrato, H_2O_2 , producido como resultado del incremento de la actividad de la SOD.

Los análisis de seguridad del tratamiento con sulfato de cinc demostraron que los eventos adversos observados eran leves y no estaban relacionados con el medicamento, por lo que no producen cambios sobre el estado general de salud de los pacientes, ni sobre el curso evolutivo de la enfermedad. Esto nos permitió concluir que el Sulfato de Cinc administrado en tabletas de 50 mg con una dosis de 1 tableta por día, es un medicamento tolerable y seguro para los pacientes con SCA2.

Conclusiones

- El sulfato de cinc administrado en tabletas de 50 mg, mediante dosis de 1 tableta diaria, es un medicamento tolerable y seguro para pacientes con SCA2.
- El suplemento de sulfato de cinc en pacientes con SCA2 permitió el restablecimiento de sus valores hasta la normalidad tanto en suero como en LCR, manteniendo dichas concentraciones estables durante el tratamiento.
- El empleo de una dieta balanceada rica en cinc tiene un efecto positivo sobre los niveles de este microelemento en el suero sanguíneo pero no en el LCR.
- El tamaño de la expansión poliglutamínica influye negativamente sobre el incremento de los niveles de cinc en el suero y el LCR.
- El tratamiento con sulfato de cinc permite la recuperación parcial de la estabilidad postural, la adiadococinesia, la conducción nerviosa periférica, la latencia sacádica y el daño oxidativo a los lípidos y modula el efecto producido por la neurorrehabilitación sobre el síndrome cerebeloso, los trastornos cognitivos y los sistemas antioxidantes enzimáticos.

Referencias bibliográficas

1. Velázquez PL. Ataxia Espinocerebelosa tipo2. Principales aspectos neurofisiológicos para el diagnóstico, pronóstico y evolución de la enfermedad. 2nd ed. Ediciones Holguín: Holguín 2007.
2. Velázquez L, Santos FN, García R, Paneque HM, Medina HE, Hechavarría PR. Las ataxias hereditarias en Cuba. Aspectos históricos, epidemiológicos, clínicos, electrofisiológicos y de neurología cuantitativa. Rev Neurol. 2001;32:71-6.
3. Santos N, Aguiar J, Fernández J, Vázquez M, Auburger J, Gispert S, et al. Molecular diagnosis of a sample of the cuban population with spinocerebellar ataxia type 2. Biotecnología Aplicada. 1999;16:219-21.
4. Velazquez-Perez L, Seifried C, Santos-Falcon N, et al. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. Ann Neurol 2004;56:444-47.

5. Seifried C, Velazquez-Perez L, Santos-Falcon N, et al. Saccade velocity as a surrogate disease marker in spinocerebellar ataxia type 2. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1039:524-27.
6. Velazquez-Perez L, Abele M ; Wirjatijasa F; Rodriguez-Labrada R, et al. Saccade velocity is reduced in presymptomatic Spinocerebellar Ataxia Type 2. *Clin Neurophys* 2009 In press.
7. Velazquez. L, Sánchez G, Canales N, et al. Electrophysiological features in patients and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2. *J. Neurol. Sci.* 2007; 263:158–64
8. Velázquez Pérez L, Rodríguez Díaz J, Sánchez Cruz G, García Rodríguez J, Delgado R, Almaguer Mederos L, Almaguer Gotay D, Hechavarría Pupo R. Evaluación de parámetros clínicos, neurofisiológicos y neuroquímicos en pacientes con SCA2 antes y después de la neurorrehabilitación. *Plast & Rest Neurol* 2005; 4(12): 110.
9. Rodríguez-Díaz J, Velazquez L, Cruz G. Evaluación Neurológica de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. *Rev Neurol* 2009 In press.
10. González Triana C, Sánchez G, González Quevedo A, Delgado R, Velásquez L, García Rodríguez JC, García Somines J1, Mantilla Gattorno N. Serum and Cerebrospinal fluid levels of copper, iron and zinc in patients with Ataxia type SCA-2 from the province of Holguin in Cuba. *Therapeutic Basic. Dialogues in Clinical Neurosciencie* 2005 13 (4) 12-16.
11. Sandstead HH, Lofgren PA. Symposium: dietary zinc and iron. Recent perspectives regarding growth and cognitive development. Introduction. *J Nutr* 2002;130:345-46.
12. Salueiro MJ, Zubillaga M, Lysionek AE, Caro RA, Weill R, Boccio J. The role of zinc in the growth and development of children. *Nutrition* 2002;18:510-19.
13. Kishi R, Ikeda T, Miyake H, Uchino E, Tsuzuki T, Inoue K. Regional distribution of lead, zinc iron and copper in suckling and adult rat brains. *Brain Res.* 1982;251:180–2.
14. Crawford IL, Harris NF. Distribution and accumulation of zinc in whole brain and subcellular fractions of hippocampal homogenates. In: Frederickson CJ, Howell GA, Kasarskis EJ, editors. *The neurobiology of zinc*. New York: Alan R Liss; 1984. pp 157–71.
15. Wang Z, Danscher G, Kim YK, Dahlstrom A, Jo SM. Inhibitory zinc-enriched terminals in the mouse cerebellum: Double-immunohistochemistry for zinc transporter 3 and glutamate decarboxylase. *Neurosci Lett.* 2002;321:37–40.
16. Kambe T, Narita H, Yamaguchi-Iwai Y, Hirose J, Amano T, Sugiura N, Sasaki R, Mori K, Iwanaga T, Nagao M. Cloning and characterisation of a novel mammalian zinc transporter, zinc transporter 5, abundantly expressed in pancreatic beta cells. *J Biol Chem.* 2002;277:19049–55.
17. Haung L, Kirschke CP, Gitschier J. Functional characterization of a novel mammalian zinc transporter ZnT6. *J Biol Chem.* 2002;277:26389–95.
18. Baizer, JS, Glickstein, M. Proceedings: Role of cerebellum in prism adaptation. *Journal of Physiology*, 1974; 236, 34–35.
19. Baizer, J. S., Kralj-Hans, I., & Glickstein, M. Cerebellar lesions and prism adaptation in macaque monkeys. *Journal of Neurophysiology*. 1999 81,1960–1965.

20. Morton, S. M., & Bastian, A. J. Prism adaptation during walking generalizes to reaching and requires the cerebellum. *Journal of Neurophysiology*. 2004; 92, 2497–2509.
21. Cheron G, Servair L and Dan B. G. Cerebellar network plasticity: from genes to fast oscillation. *Neuroscience* 153 (2008) 1–19.
22. Earl C., Chantry A., Mohammad N., Glynn, P. Zinc ions stabilise the association of basic protein with brain myelin membranes. *J. Neurochem*. 1988; 51(3): 718-24
23. Ramat S, Leigh RJ, Zee DS, Optican LM. What clinical disorders tell us about the neural control of saccadic eye movements. *Brain* 2007; 130, 10–35.