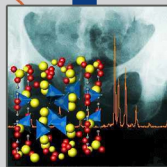
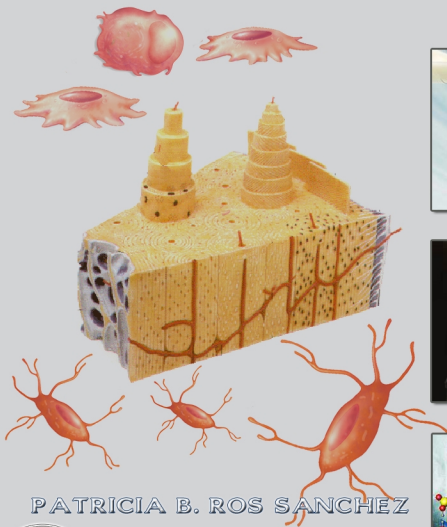


# TESIS DOCTORAL

Efecto de la leche de cabra y vaca  
sobre la utilización mineral y  
destino metabólico, en  
especial sus repercusiones óseas



PATRICIA B. ROS SANCHEZ



UGR

Universidad  
de Granada

**UNIVERSIDAD DE GRANADA  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA  
INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS  
ALIMENTOS**



**“EFECTO DE LA LECHE DE CABRA Y VACA SOBRE LA  
UTILIZACIÓN MINERAL Y DESTINO METABÓLICO, EN  
ESPECIAL SUS REPERCUSIONES ÓSEAS”**

**TESIS DOCTORAL**

**PATRICIA BEGOÑA ROS SÁNCHEZ  
2006**





*Esta memoria de Tesis Doctoral forma parte del Proyecto de Investigación AGL2000-1501, subvencionado por la Dirección General de Investigación Científica y Técnica (DGICYT) del Ministerio de Educación y Ciencia.*

D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Inmaculada López Aliaga. Profesora Titular de Fisiología de la Universidad de Granada.

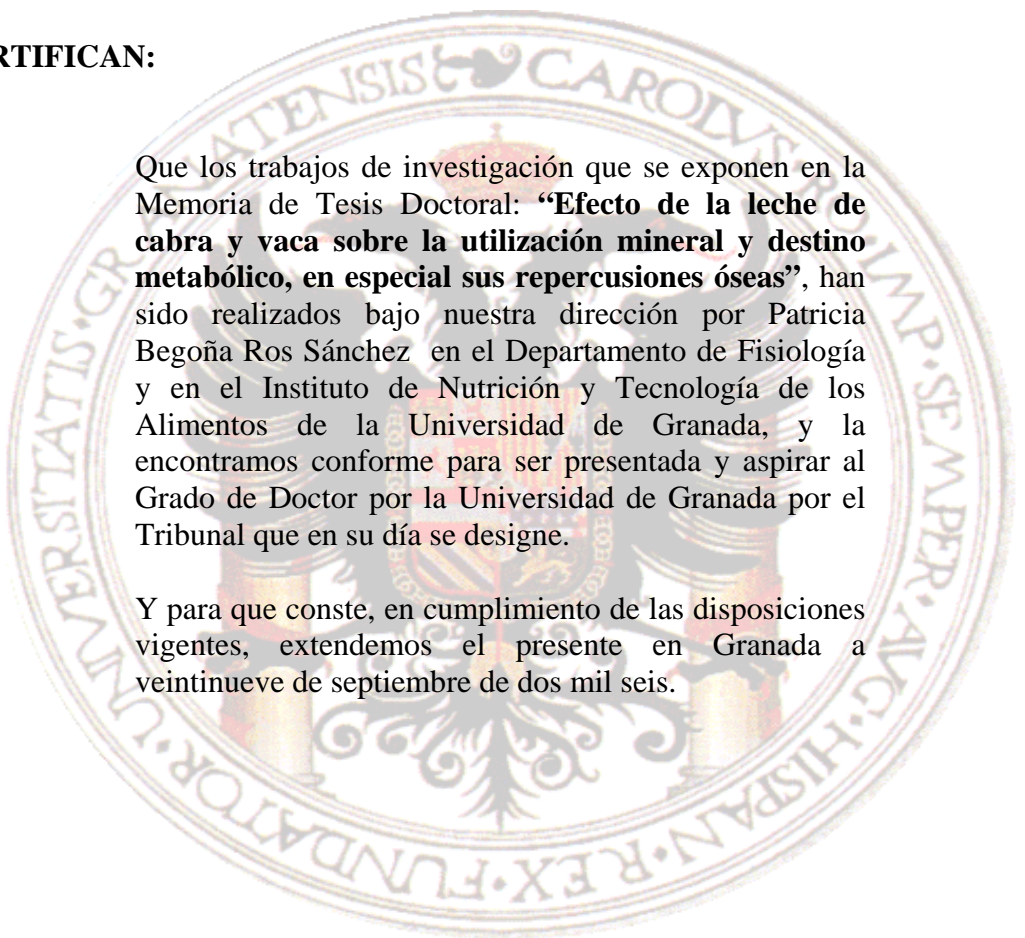
D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> José Muñoz Alférez. Profesora Titular de Fisiología de la Universidad de Granada.

D<sup>a</sup> Margarita Sánchez Campos. Catedrática de Fisiología de la Universidad de Granada.

**CERTIFICAN:**

Que los trabajos de investigación que se exponen en la Memoria de Tesis Doctoral: **“Efecto de la leche de cabra y vaca sobre la utilización mineral y destino metabólico, en especial sus repercusiones óseas”**, han sido realizados bajo nuestra dirección por Patricia Begoña Ros Sánchez en el Departamento de Fisiología y en el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada, y la encontramos conforme para ser presentada y aspirar al Grado de Doctor por la Universidad de Granada por el Tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente en Granada a veintinueve de septiembre de dos mil seis.





**MEMORIA QUE PRESENTA LA LDA. PATRICIA BEGOÑA ROS  
SÁNCHEZ PARA ASPIRAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA Y  
CIRUGÍA POR LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

ESTA TESIS DOCTORAL HA SIDO REALIZADA BAJO LA DIRECCIÓN DE:

Prof. Dra.  
D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Inmaculada López Aliaga

Prof. Dra.  
D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> José Muñoz Alférez

Prof. Dra.  
D<sup>a</sup> Margarita Sánchez Campos

Lda.  
D<sup>a</sup> Patricia Begoña Ros Sánchez

Granada, 2006

*Agradecimientos*

---

Quisiera expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que, de una forma u otra, con su apoyo y colaboración, han hecho posible el desarrollo de este trabajo de investigación, en especial:

A M<sup>a</sup> Inmaculada López Aliaga, M<sup>a</sup> José Muñoz Alférez y Margarita Sánchez Campos, por ser las Directoras de mi Tesis y el verdadero motor de su desarrollo. Sin ellas y sin su dedicación, su apoyo incondicional y su gran esfuerzo, no hubiera sido posible llegar hasta el final de este proyecto. Gracias por vuestra ayuda, por estar ahí día a día en el seguimiento de este trabajo, por haber depositado en mí todo vuestro apoyo y confianza y por todo el cariño e interés que siempre habéis mostrado...

Al Prof. Dr. Miguel Moreno Prieto, Director del Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada, por aceptarme desde el principio en dicho Departamento.

Al Prof. Dr. Emilio Martínez de Victoria, Director del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, por poner a mi disposición las instalaciones de este Instituto donde se ha llevado a cabo la realización de toda la parte experimental.



A Javier Díaz Castro, por su ayuda desinteresada, su entusiasmo y su afán constante de búsqueda y perfección.

A Rosi, por su gran colaboración en toda la parte experimental.

A todos los integrantes del Departamento que me han permitido llevar a cabo esta labor de Investigación aceptándome en su “casa”.

Al Departamento de Reumatología del Hospital Clínico “San Cecilio”, porque la elaboración de este trabajo ha tenido lugar de forma conjunta al desarrollo de mi labor como médico junto a ellos, en este camino paralelo donde se superponen desarrollo profesional y constante aprendizaje.

A mis padres y hermanos, por la confianza que siempre han depositado en mí y por su apoyo incondicional en la tarea más laboriosa a la que estamos destinados...la vida.

A todos los que de una u otra manera me han ayudado a alcanzar la meta de lo que tengo, y soy hoy....

*“Para las personas creyentes, Dios está al principio. Para los científicos está al final de todas sus reflexiones”*

Max Planck

**A mi abuelo**

...por ser la raíz de un gran árbol...

...por dar tanto y merecérselo todo...

...porque fue, es y será siempre... sencillamente especial...

*Índice*

---

	<u>Página</u>
<b>I.- OBJETO .....</b>	<b>9</b>
<b>II.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS .....</b>	<b>15</b>
1.– Características nutricionales de la leche de cabra.....	17
Introducción .....	17
Características organolépticas .....	19
Composición de la leche de cabra .....	20
Proteína de la leche de cabra .....	23
Carbohidratos de la leche de cabra .....	25
Composición lipídica de la leche de cabra .....	27
Composición mineral de la leche de cabra .....	30
Composición vitamínica de la leche de cabra .....	34
Otros componentes minoritarios de la leche de cabra .....	36
2.– El calcio en la nutrición.....	38
Introducción .....	38
Fuentes alimentarias de calcio .....	38
Funciones del calcio .....	40
Beneficios adicionales del calcio.....	42
Peculiaridades y ventajas del calcio en la leche y derivados lácteos .....	44
Enriquecimiento de alimentos con calcio .....	46

---

Utilización nutritiva de calcio.....	49
Requerimientos.....	49
Absorción.....	51
Factores que influyen en la biodisponibilidad del calcio.....	55
Distribución y captación celular.....	63
Depósitos de calcio en el organismo.....	64
Composición del hueso.....	64
Eliminación.....	70
Regulación homeostática del calcio .....	73
Calcemia.....	78
3.– El fósforo en la nutrición.....	80
Introducción .....	80
Fuentes alimentarias de fósforo .....	82
Interacciones con otros nutrientes .....	84
Funciones del fósforo .....	86
Utilización nutritiva del fósforo .....	89
Requerimientos.....	89
Absorción.....	91
Distribución y captación celular.....	92
Depósitos de fósforo en el organismo.....	93
Eliminación.....	94
Regulación homeostática del balance de fósforo .....	95

---

4.El magnesio en la nutrición.....	102
Introducción.....	102
Fuentes alimentarias de magnesio.....	102
Interacciones con otros nutrientes.....	104
Funciones del magnesio.....	105
Utilización nutritiva de magnesio.....	107
Requerimientos.....	107
Absorción.....	108
Distribución y captación celular.....	112
Depósitos de magnesio en el organismo.....	113
Eliminación.....	113
Regulación homeostática del balance de magnesio.....	114
5.El cobre en la nutrición.....	115
Introducción.....	115
Funciones del cobre.....	116
Fuentes alimentarias de cobre y biodisponibilidad.....	122
Utilización nutritiva de cobre.....	124
Requerimientos.....	124
Absorción.....	125
Contenido corporal y distribución.....	137
Eliminación.....	140
Proteínas transportadoras de cobre.....	141
Regulación homeostática del balance de cobre.....	146
Patologías y estatus del cobre.....	147

6.El cinc en la nutrición.....	149
Introducción.....	149
Funciones del cinc.....	151
Fuentes alimentarias de cinc y biodisponibilidad.....	154
Utilización nutritiva de cinc.....	156
Requerimientos.....	156
Absorción.....	160
Eliminación.....	167
Factores que afectan la utilización nutritiva de cinc.....	170
Regulación homeostática del balance de cinc.....	173
Transportadores de cinc.....	177
Aspectos metabólicos del cinc a distintos niveles del organismo.....	177
Contenido de cinc en sangre.....	180
 <b>III.- MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	 <b>183</b>
1. Diseño experimental.....	186
2. Dietas utilizadas.....	189
3. Liofilización.....	195
4. Técnicas analíticas.....	197
Materia seca.....	197
Materia grasa.....	197
Determinación de proteína bruta.....	197
Determinación del contenido mineral.....	197
Calcio, magnesio, hierro, cobre y cinc.....	198



---

Fósforo .....	198
Calcio y fósforo en suero .....	199
Calcio ionizado en suero.....	199
Parathormona (PTH).....	199
Corticosterona .....	199
Fosfatasa alcalina .....	200
5. Índices biológicos .....	200
6. Control de calidad .....	201
7. Tratamiento estadístico.....	202
<b>IV.- RESULTADOS.....</b>	<b>203</b>
<b>V.- DISCUSIÓN .....</b>	<b>247</b>
1. Ingesta y cambios ponderales. Coeficiente de eficacia en crecimiento (CEC) e Índice de transformación alimentario (IT) .....	249
2. Utilización digestiva y metabólica de calcio, fósforo y magnesio .....	252
3. Contenido de calcio, fósforo y magnesio en órganos .....	256
4. Utilización digestiva y metabólica de hierro, cobre y cinc .....	259
CDA y balance de hierro.....	259
CDA y balance de cobre .....	262
CDA y balance de cinc.....	263
5. Contenido de hierro, cobre y cinc en órganos .....	264
6. Concentraciones séricas de Ca (iónico y total), P, PTH, cortisol, fosfatasa alcalina y Mg en sangre total.....	268

**VI.- RESUMEN Y CONCLUSIONES..... 271**

**VII.- BIBLIOGRAFÍA..... 277**

*Objeto*

---

De los productos de origen animal utilizados en la alimentación humana, la leche, a la que hay que sumar el conjunto de los productos derivados, constituye para el hombre uno de los alimentos con mayor valor nutritivo y más equilibrado. Esta es la razón por la que en no pocas ocasiones la leche ha sido definida como el alimento más completo.

La leche es un alimento que forma parte de la dieta humana desde tiempos prehistóricos, bien en forma natural o transformada. En relación a la leche de cabra, aparece ya como alimento desde los tiempos más remotos de la humanidad, así en registros muy antiguos, como los textos bíblicos o los murales egipcios, se habla ya de su consumo.

La leche de cabra es un alimento natural con unas peculiares características nutricionales, es una fuente de proteínas de excelente calidad debido a la adecuada proporción de aminoácidos esenciales que la componen, siendo mucho más digestiva, debido en parte al menor contenido en  $\alpha$ -caseína. Además, contiene un 20% de proteínas solubles (inmunoglobulinas) con funciones de protección local de las membranas del tubo digestivo. En cuanto a los lípidos, la leche de cabra tiene un contenido graso muy similar al de la leche humana y contiene un alto porcentaje de ácidos grasos de cadena media que le confieren importantes aplicaciones terapéuticas, y también proporciona cantidades suficientes de ácidos grasos esenciales tales como linoleico, linolénico y araquidónico. Es, además, rica en calcio, fósforo, magnesio, cobre, selenio y potasio, entre otros minerales, asimismo es

rica en muchas vitaminas, entre las que se encuentran la A, D, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub>, biotina (B<sub>8</sub>), B<sub>12</sub>, C y niacina. Todo lo anteriormente comentado le confiere unas peculiares características que la diferencian de la leche de vaca y convierten a la leche de cabra en un alimento de los denominados funcionales, de tal forma que en la actualidad se integra con determinadas funciones fisiológicas ayudando a mantener un estado de buena salud y previniendo la enfermedad, lo que hace que constituya un objeto de investigación creciente en la tendencia actual de buscar alimentos más saludables en los países desarrollados.

La investigación sobre la leche de cabra, iniciada por nuestro grupo de investigación en 1996, demuestra que el consumo de la leche de cabra tiene un efecto beneficioso en síndromes de malabsorción favoreciendo la absorción de grasa, proteínas y minerales, y en la anemia ferropénica nutricional ayudando a recuperar más eficientemente el estatus de hierro. Por otra parte, el consumo habitual de leche de cabra conduce a una disminución de los niveles séricos de colesterol y triglicéridos y mantiene dentro del rango fisiológico los niveles séricos de transaminasas (GOT y GPT).

El interés del presente trabajo se centra en el estudio comparativo de la leche de cabra respecto a la leche de vaca, que es la comúnmente consumida y la dieta estándar recomendada por el Instituto Americano de Nutrición (IAN, 1993) en ratas macho adultas (raza Wistar albina) sobre la utilización digestiva y metabólica de minerales tales como calcio, fósforo y magnesio, importantes constituyentes del componente mineral del hueso y oligoelementos tales como hierro, cobre y cinc, que forman parte de numerosas

enzimas que intervienen en distintos procesos metabólicos, fundamentales para la vida. Además, con objeto de conocer como la utilización nutritiva de estos minerales puede incidir en la distribución y destino metabólico de los mismos, se ha determinado la concentración de estos minerales a nivel de los distintos órganos implicados en su regulación homeostática.

*Antecedentes bibliográficos*

---

## **1. CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES DE LA LECHE DE CABRA**

### **INTRODUCCIÓN**

En la actualidad se ha considerado a través de pruebas obtenidas por diversos estudios arqueológicos, que hace aproximadamente unos 10000 años, la especie humana dejó la caza y la colección de diversos recursos alimentarios vegetales y animales disponibles en el medio, para paulatinamente iniciar nuevas actividades que favorecían su subsistencia, como la agricultura y la ganadería.

La ganadería lechera, tiene sus orígenes como se ha demostrado, en la transhumancia, que consiste en una forma de vida humana siguiendo a los rebaños de animales de acuerdo con sus emigraciones anuales, obteniendo de las hembras leche y otros recursos. Existen evidencias arqueológicas de la existencia de las cabras en la cultura Natufia que abarcó desde el año 11000 hasta el 9300 A. C. y que se expandió por Palestina y Levante (Vega, 2003).

La adaptabilidad a climas variados y condiciones de manejo, aunado a su docilidad, facilidad para el manejo y la factibilidad de obtener leche diariamente, hacen de la cabra un animal de gran valor actual y futuro para mejorar el nivel de vida de los productores. La cabra fue una de las primeras especies animales introducidas por los españoles en México en el siglo XVI,



y se continuaron importando hasta el siglo pasado, con el propósito de sostener e incrementar sus inventarios (Sánchez, 2004).

La cabra ha sido considerada como uno de los animales domésticos de mayor aprovechamiento, sobre todo por su leche y carne, pero no debe olvidarse la utilidad de su piel y otras partes de su cuerpo (Sánchez, 2004).

La leche de cabra es un alimento con unas características nutricionales altamente beneficiosas, que le confieren un alto interés como alimento y objeto de investigación. A pesar de su bajo consumo, la leche de cabra está adquiriendo un gran interés nutricional en la tendencia actual de buscar alimentos más saludables en los países desarrollados (Chandan y col., 1992).

Muchas de las reacciones adversas que a veces se presentan por el consumo de leche de vaca, concretamente frente a ciertas fracciones proteicas, así como la intolerancia a su lactosa, se pueden evitar en muchas ocasiones por el cambio a la leche de cabra (Park, 1991). Desde hace bastantes años hay indicios evidentes en la literatura científica del beneficio de la leche caprina en problemas de acidez, úlcera de estómago, colitis, problemas hepáticos y biliares, asma, migraña, eccemas y estados de convalecencia. Además puede ser un alimento aconsejable y bien tolerado por niños y ancianos, debido a la elevada digestibilidad de su proteína y grasa (Dostalova, 1994). En 1995, Zoppi y col., demostraron experimentalmente que el consumo de dietas que contienen leche de cabra

reduce los niveles de LDL colesterol y colesterol total Posteriormente (Alferez y col., 2001; López-Aliaga y col, 2005) se demostró que el consumo de leche de cabra, además de reducir los niveles de LDL colesterol y colesterol total, mantiene en el rango fisiológico los niveles de HDL colesterol y transaminasas (GOT y GPT).

### **CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS**

La leche de cabra es más blanca que la de vaca, debido a que no tiene carotenos, que amarillean en parte a la última. Posee un fuerte olor y sabor, como consecuencia de la absorción de compuestos aromáticos durante su manejo. Sin embargo, estas características organolépticas poco atractivas desde el punto de vista del consumo humano, pueden eliminarse en gran parte por un sencillo tratamiento de desodorización al vacío (Borrás, 1968).

El sabor característico de la leche de cabra se debe, según Kim Ha y Lindsay (1991), a los ácidos grasos libres, especialmente a los de cadena ramificada 4-metiloctanoico y 4-etiloctanoico. También contribuyen al fuerte sabor de la leche caprina las mayores concentraciones de ácidos grasos caproico, caprílico y cáprico, de 6, 8 y 10 átomos de carbono respectivamente. Además, su mayor contenido con respecto a otras leches de cloro y minerales, le confieren un sabor ligeramente salobre.

La dieta caprina también constituye un elemento clave en las características organolépticas de la leche. Diversos tipos de alimentos vegetales como especies de los géneros *Brassica sp.*, *Lupinus sp.*, *Verbena sp.*, *Xanthium sp.*, *Digital sp.*, *Eupatorium sp.*, *Capsella sp.*, así como diversas plantas aromáticas o la pulpa de la remolacha, comunican sabores extraños y poco atractivos a la leche (Arbiza, 1986).

El punto de congelación de la leche de cabra está alrededor de  $-0.590^{\circ}\text{C}$ , más bajo que el de vaca ( $-0.540^{\circ}\text{C}$ ), debido a su mayor concentración de solutos.

### **COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE CABRA**

Los componentes de la leche de cabra son sintetizados desde precursores presentes en el plasma sanguíneo (glucosa, acetato, ácidos grasos no esterificados, etc.), que son captados por las células de la glándula mamaria y usados para la síntesis de los componentes de la leche, o como sustrato energético para dicha síntesis, según el estado nutricional del animal (Fehr y col., 1982).

Dependiendo de la raza de las cabras, condicionamientos genéticos, alimentación, factores medioambientales, momento de la lactación, etc., existen variaciones en la composición de la leche. En relación a los componentes mayoritarios de la leche de cabra, según los diversos autores consultados, su composición oscila en el siguiente rango de valores:

**TABLA 1.** Componentes mayoritarios y características de la leche de cabra (Gnan y Erabti, 1985; Espie y Mullan, 1990; Faria y col., 1999):

<i>PARÁMETRO</i>	<i>RANGO DE VALORES</i>
<i>Crioscopía (°C)</i>	(-0.585),(-0.595)
<i>pH</i>	6.41-6.70
<i>Sólidos Totales (%)</i>	11.70-15.21
<i>Lactosa (%)</i>	3.80-5.12
<i>Grasa (%)</i>	3.00-6.63
<i>Proteína (%)</i>	2.90-4.60
<i>Caseína (%)</i>	2.45-2.72
<i>Cenizas (%)</i>	0.69-0.89

Chandan y col. (1992), indican que en un clima templado, la leche a finales de verano contiene menor cantidad de grasa y sólidos totales. Además también tiene una marcada influencia el momento de la lactación, provocando unas fluctuaciones de composición que son más pronunciadas en la cabra que en la vaca (Parkash y Jenness, 1968).

Sin embargo, con total seguridad, es la dieta del animal la que incide en mayor medida sobre la composición de la leche, especialmente en su contenido proteico, graso y vitamínico, además de condicionar las características organolépticas de la misma (Boza, 1992).

Sobre el nivel proteico, los factores que ejercen mayor influencia son las características energéticas y nivel proteico de la dieta. Además también desempeña un papel importante la propia carga genética del animal, siendo la ausencia de degradabilidad proteica en el rumen el factor que modifica principalmente el contenido proteico.

En cuanto al porcentaje de materia grasa y su composición, como ya se ha comentado, depende en gran medida de la dieta y carga genética del animal, así como de la naturaleza y composición de la dieta que recibe, puesto que ésta determina cambios en la fermentación ruminal, modificando la producción de los diferentes ácidos grasos y con ello el contenido graso de la leche. La modificación de la composición láctea en los rumiantes es más difícil que la de los animales monogástricos, debido al proceso de hidrogenación que sufre la grasa de piensos y forrajes en el rumen, incrementando el contenido de ácidos grasos saturados y reduciendo el de los esenciales en la leche. Las grasas “protegidas” suministradas en los piensos, salvan el obstáculo del rumen y parecen una buena estrategia para mejorar la calidad láctea, aumentando el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), con marcados efectos beneficiosos en el metabolismo lipídico humano (Clarke y Jump, 1994; Sanz Sampelayo y col., 2004).

## PROTEÍNA DE LA LECHE DE CABRA

Una característica importante de la leche de cabra es que su composición proteica varía mucho de una raza a otra, debido a la gran variabilidad genética que caracteriza a este animal (Martín, 1996). Si consideramos un genotipo “estándar”, la composición proteica global, así como la cantidad de proteínas es muy similar en las leches caprina y bovina. Sin embargo, y aunque la proporción caseínas/proteínas del lactosuero es también similar (80/20), las caseínas de la leche de cabra son más solubles y por tanto su absorción es mucho más fácil (Boza y Sanz-Sampelayo, 1997). Por tanto, la calidad de la proteína de la leche de cabra es mayor que la de leche de vaca. Esta elevada calidad proteica queda demostrada en un estudio realizado en ratas con resección parcial de intestino delgado, en el que se observó que las ratas que consumieron dieta elaborada a base de leche de cabra tenían un índice de crecimiento superior, con una mejor utilización digestiva y metabólica de la proteína, en comparación a las que consumían dieta estándar o basada en leche de vaca (López-Aliaga y col., 2003).

La leche de cabra contiene alrededor de 5.2 g N/Kg, lo cual representa 33.2 g de proteína. La fracción proteica mayoritaria de la leche caprina, al igual que en la leche de vaca, son las caseínas que precipitan a un pH= 4.6. Las proteínas que permanecen en solución a dicho pH son las del lactosuero:  $\alpha$ -lactoalbúmina,  $\beta$ -lactoglobulina, albúmina, inmunoglobulinas, péptidos y otras proteínas menores, algunas con carácter enzimático.

Como componentes de la proteína láctea, existen seis fracciones genéricas de la glándula mamaria de carácter mayoritario:  $\alpha_1$ -caseína,  $\alpha_2$ -caseína,  $\beta$ -caseína,  $\gamma$ -caseína,  $\beta$ -lactoglobulinas y  $\alpha$ -lactoalbúminas, exhibiendo todas un polimorfismo genérico producto de genes autosómicos alélicos codominantes (Swaisgood, 1992).

La leche caprina tiene menos  $\alpha_1$ -caseína que la leche de vaca (5% del total de proteínas en la cabra, frente al 35% de la vaca) (Martin, 1996). Esta proteína, que no está presente en la leche humana, es considerada uno de los principales alérgenos responsables de la alergia a la proteína de la leche de vaca (Bianca-María y col., 2001).

Quiles y col. (1994), señalaron que a lo largo de la lactación de la cabra, los grupos proteicos y sus fracciones se incrementan, salvo las proteínas del suero que disminuyen. Posteriormente, Brown y col. (1995), observaron cambios en la fracción caseínica de la leche de cabra a lo largo de la lactación, señalando una disminución de  $\alpha_2$ -caseína a medida que progresa la lactación, consecuente con la susceptibilidad a la proteólisis, así como un aumento en la concentración de  $\kappa$ -caseína en dicho curso. Igualmente, indican una correlación entre  $\beta$  y  $\gamma$ -caseína y la producción láctea, marchando paralela con la involución de la glándula mamaria en el transcurso de la lactación.

De acuerdo con Chandan y col. (1992), la concentración enzimática en las leches de cabra y vaca son bastante diferentes. La actividad proteolítica de la leche de cabra fresca es más alta que la de vaca, mientras que la actividad

xantina-oxidasa (XO) es un 10% menor en la leche de cabra. La lipólisis de la leche de cabra es muy diferente a la de vaca, generándose en aquella ácidos grasos libres y productos aromáticos característicos, debidos a la distribución de la lipoprotein-lipasa (LPL) en las distintas fracciones procedentes de la leche.

En la leche de vaca, tras someterse a calentamiento y enfriarse rápidamente, se consigue la separación de la nata, facilitando esta aglomeración las euglobulinas lácteas. Este hecho no se produce con la leche de cabra, lo cual puede ser debido al pequeño volumen de los glóbulos grasos y escaso contenido en euglobulinas y aglutininas que son responsables de la escasa capacidad de la leche de cabra para formar crema (Chandan y col., 1992).

### **CARBOHIDRATOS DE LA LECHE DE CABRA**

Tanto en la leche de vaca como en la de cabra, el hidrato de carbono más importante es la lactosa (4,7-4,8%).

En condiciones fisiológicas, la lactosa de la leche es hidrolizada por la lactasa en la superficie de las células de la mucosa intestinal, pero deficiencias de este enzima pueden producir diarreas, distensión abdominal y flatulencia, debido al aumento en la luz intestinal de este disacárido osmóticamente activo. En casi todos los mamíferos, la actividad lactásica intestinal es alta al nacer, declina en la niñez y permanece baja en la edad adulta; valores bajos de lactasa



se asocian a la intolerancia láctea (Ganong, 2004). La mayor tolerancia a la lactosa de la leche de cabra parece ser debida a su mayor digestibilidad, pudiendo existir una interacción entre calidad y cantidad proteica, de manera que la tasa de liberación de nutrientes desde el estómago al intestino es más ventajosa, optimizando así la utilización digestiva de la lactosa.

Sin embargo, a pesar de que ambos tipos de leche contienen una cantidad de lactosa similar, una diferencia muy importante en la composición glucídica de ambos tipos de leche reside en los oligosacáridos: la leche de vaca solo contiene trazas de estos compuestos, mientras que en la de cabra se encuentran concentraciones 10 veces superiores. Además, los oligosacáridos caprinos se caracterizan por su gran variabilidad estructural, que los hace los más parecidos que existen a la leche humana. Otra característica importante es su elevado contenido en galactosa, muy importante para el desarrollo cerebral en las primeras etapas de vida (Martínez-Férez, 2004).

La similitud de los oligosacáridos de la leche de cabra con los de la leche humana sugiere que estos compuestos podrían tener una bioactividad similar. En este sentido, se ha demostrado *in vitro* que los oligosacáridos de la leche de cabra inducen la maduración del epitelio intestinal, ya que favorecen la diferenciación de células Caco-2 (Martínez-Férez, 2004).

## COMPOSICIÓN LIPÍDICA DE LA LECHE DE CABRA

La cantidad total de materia grasa es similar en las leches de vaca y cabra (3.2-3.8%), también muy parecida a la de la leche humana. El contenido en colesterol (0.3-0.6%) y en fosfolípidos (1%) es también similar en las leches de las tres especies.

La materia grasa de la leche es secretada por las glándulas mamaria en forma de glóbulos grasos, dando lugar a una emulsión lipídica. Estos glóbulos grasos están formados principalmente por un núcleo de triglicéridos, rodeado de una capa externa constituida por lípidos polares (principalmente fosfolípidos) y proteínas. El tamaño de los glóbulos grasos de la leche de cabra es por término medio de 3.5  $\mu\text{m}$ , presentando un elevado porcentaje de glóbulos con un diámetro comprendido entre 1.5 y 3  $\mu\text{m}$ , considerablemente más pequeños a los de la leche de vaca (4.5  $\mu\text{m}$  por término medio). Este menor tamaño de los glóbulos grasos de la leche de cabra da como resultado una emulsión más fina y uniforme, que influye favorablemente en su digestibilidad, puesto que estos pequeños glóbulos son más accesibles para las lipasas que participan en la digestión lipídica (Chilliard, 1996).

Por otra parte, tanto la leche de vaca como la de cabra, contienen cantidades muy importantes del enzima lipoprotein-lipasa (LPL). Este enzima juega un papel crucial en la lipólisis espontánea de la leche (hidrólisis de

triglicéridos, principalmente en posición 3, para producir ácidos grasos libres). En el caso de la leche de vaca, la LPL se encuentra ligada a las moléculas de caseína, mientras que en la leche de cabra está más ligada a los glóbulos de grasa, facilitando la hidrólisis. Esta es la razón por la cual la leche de cabra presenta mayor porcentaje de ácidos grasos libres (0.6% del total de grasa frente al 0.4% en la leche de vaca), lo que también contribuye a su mayor digestibilidad (Chilliard, 1996).

Posiblemente, una de las principales diferencias en la composición lipídica de las leches de cabra y vaca está en el tipo de ácidos grasos que componen los triglicéridos. En la leche de cabra el porcentaje de ácidos grasos de cadena media (C6:0 caproico, C8:0 caprílico, C10:0 cáprico) es superior al de la leche de vaca. Así, la leche de cabra es más rica en triglicéridos de cadena media (TCM). Estos triglicéridos son una fuente de energía rápida, ya que se absorben directamente en el intestino delgado proximal y no necesitan la participación de las sales biliares para su absorción. Además, la oxidación mitocondrial de los ácidos grasos de cadena media es, en parte, independiente de los niveles de carnitina, lo cual supone una ventaja en casos de déficits de esta enzima (Odle, 1997).

Por esta razón, estos triglicéridos podrían tener efectos beneficiosos en situaciones metabólicas desfavorables, tales como enfermedades hepáticas, pacientes inmunodeprimidos o en el recién nacido, cuyo metabolismo es aún inmaduro. Así, los TCM han sido utilizados en nutrición parenteral de

pacientes con enfermedades críticas y en niños prematuros, con mejores resultados que los triglicéridos de cadena larga (TCL) (Chan y col., 1998).

Debido a su rápida absorción, los TCM han sido utilizados en la prevención de la obesidad. Los ácidos grasos derivados de estos triglicéridos son rápidamente oxidados en el hígado, por lo que estimulan la saciedad de forma rápida, disminuyen los depósitos de grasa y facilitan el control de peso, sin modificar el aporte energético (St-Onge y Jones 2002).

Alfárez y col. (2001), estudiaron el efecto de la grasa de las leches de cabra y vaca sobre la utilización digestiva de dicho nutriente y sobre parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo lipídico. En el estudio se emplearon ratas controles (transectadas) y otro grupo con resección intestinal del 50% del intestino delgado distal. La utilización digestiva de la grasa fue mayor en los animales que consumieron dieta elaborada a base de leche de cabra (rica en TCM), con respecto a los que consumían dieta basada en leche de vaca. Además el consumo de leche de cabra produce una reducción de los niveles de LDL-colesterol, manteniendo dentro del rango fisiológico los niveles de triglicéridos, HDL-colesterol y transaminasas (GOT y GPT) (López-Aliaga y col., 2005).

## **COMPOSICIÓN MINERAL DE LA LECHE DE CABRA**

Al analizar la composición mineral de un determinado tipo de leche, no sólo hay que tener en cuenta las cantidades de cada mineral, sino también su biodisponibilidad. En este sentido, existen interacciones entre diferentes minerales y de éstos con otros componentes lácteos, que puede afectar a su absorción.

Así, la composición mineral de las leches de cabra y vaca no presentan grandes diferencias. Es destacable la mayor cantidad de potasio y cloro de la leche de cabra y su menor contenido en sodio. Sin embargo, existen estudios científicos que demuestran que la biodisponibilidad de ciertos minerales si es diferente, siendo mucho más ventajosa en la leche de cabra.

**TABLA 2.** Composición mineral de las leches de cabra y vaca (Gueguen , 1996):

	Leche de vaca	Leche de cabra
<b>Macroelementos</b>	<b>mg/100mL</b>	<b>mg/100mL</b>
<b>Calcio</b>	1200	1260
<b>Fósforo</b>	920	970
<b>Potasio</b>	1500	1900
<b>Sodio</b>	450	380
<b>Magnesio</b>	110	130
<b>Relación Ca:P</b>	1/3	1/3
<b>Microelementos</b>	<b>µg/100mL</b>	<b>µg/100mL</b>
<b>Zinc</b>	3800	3400
<b>Hierro</b>	460	550
<b>Cobre</b>	220	300
<b>Manganeso</b>	60	80
<b>Yodo</b>	70	80
<b>Selenio</b>	30	20

El hierro es un claro ejemplo de cómo las interacciones entre componentes pueden aumentar la biodisponibilidad. La leche de cabra contiene una cantidad de hierro ligeramente superior a la de vaca, sin embargo, la biodisponibilidad de este elemento es mucho mayor en la leche de cabra. López-Aliaga y col., (2000) estudiaron el efecto de las leches de cabra y vaca

sobre la utilización digestiva y metabólica de hierro y calcio, usando como control una dieta estándar (sin leche). La utilización digestiva del hierro y calcio, así como el depósito en órganos diana fue superior en los animales que ingirieron dietas basadas en leche de cabra. Por tanto, la leche de cabra minimiza las interacciones entre hierro y calcio, favoreciendo así su metabolismo.

El efecto beneficioso de la leche de cabra sobre la utilización digestiva de hierro puede deberse a varios factores nutricionales que se encuentran en la leche de cabra en mayor proporción como son: la cisteína y la lisina por la solubilización de Fe ferroso o férrico formando quelatos tridentados, son el principal factor asociado con una mayor absorción del metal (Van Campen, 1973). Por otra parte, el mayor contenido de ácido ascórbico (vitamina C) en la leche de cabra, contribuye a aumentar la absorción de hierro en las ratas alimentadas con dieta elaborada con leche de cabra, ya que es conocido que la vitamina C forma un quelato con este mineral que permanece soluble a un pH más alto del intestino delgado (Czajka-Narins, 1998).

La mayor absorción de calcio en los animales que consumen la dieta con leche de cabra se puede atribuir en parte al alto contenido en Vitamina D de la leche de cabra respecto a la leche de vaca, que favorece la absorción de esta mineral (Alfárez y col., 1996).

Otro factor que puede contribuir a esta mayor absorción de calcio con la dieta elaborada con leche de cabra es su mayor contenido en lisina

respecto a la leche de vaca. El efecto de este aminoácido parece que está relacionado con el transporte de calcio pasivo, ya que no hay diferencias significativas entre los dos estereoisómeros de la lisina.

Además, la leche de cabra tiene un alto contenido en TCM frente a la leche de vaca que, según Tappenden y col. (1997), favorece el transporte de nutrientes a través de la membrana basolateral del enterocito, por una más rápida utilización de la energía disponible a partir de esos triglicéridos de cadena media.

La cantidad de magnesio en la leche de cabra también es ligeramente superior a la de vaca. Un estudio en ratas con resección intestinal demostró que la leche de cabra aumentaba la absorción de magnesio (López-Aliaga y col, 2003). También los TCM parecen responsables de este efecto beneficioso en el metabolismo mineral. Además, Campos y col.,

(2003) demostraron que el consumo de leche de cabra en ratas resacasadas mejoraba la absorción de calcio y fósforo, así como su destino metabólico en los órganos diana implicados en la homeostasis de estos minerales.



## **COMPOSICIÓN VITAMÍNICA DE LA LECHE DE CABRA**

El bajo contenido en ácido fólico (vitamina B<sub>9</sub>) de la leche de cabra es prácticamente el único inconveniente de este tipo de leche en comparación con la de vaca y la humana. Algunos casos descritos de anemia megaloblástica (patología asociada al déficit de esta vitamina) en niños de 3 a 12 meses alimentados exclusivamente con leche de cabra, fue una de las razones del descrédito que sufrió la leche caprina en los años 60 y 70 (Sullivan y col., 1966). Esta carencia se debe a una glicoproteína que presenta la capacidad de unir ácido fólico y que no se encuentra en la leche de vaca (Chandan y col., 1992).

**TABLA 3.** Composición vitamínica de las leches de cabra y vaca (Chandan y col., 1992; O'Connor, 1994; Mataix y col., 1995):

<b>VITAMINAS</b>	<b><i>Leche de cabra</i></b>	<b><i>Leche de vaca</i></b>
<b>A, UI/L</b>	2030.0	1260.0
<b>D, µg/L</b>	0.6	0.3
<b>E, mg/L</b>	0.3	1.0
<b>K, µg/L</b>	12.0	-
<b>B<sub>1</sub>, mg/L</b>	0.5	0.1
<b>B<sub>2</sub>, mg/L</b>	1.4	1.4
<b>Niacina, mg/L</b>	2.7	0.8
<b>Ácido Ascórbico, mg/L</b>	21.0	15.6
<b>Ácido pantoténico, mg/L</b>	3.0	3.0
<b>B<sub>6</sub>, mg/L</b>	0.5	0.7
<b>B<sub>12</sub>, µg/L</b>	0.7	3.5
<b>Ácido fólico, µg/L</b>	6.0	50.0
<b>Colina, mg/L</b>	120.0	120.0
<b>Inositol, mg/L</b>	110.0	110.0

La leche de cabra contiene niveles más altos de vitaminas del grupo B que la leche de vaca, especialmente riboflavina, con la salvedad de que las vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> están en menor cantidad (Jauber y Kalantzopoulos, 1996).

El contenido en vitamina D y ácido nicotínico también es superior en la leche de cabra.

Otra característica destacable de la leche de cabra es su elevado contenido en vitamina A y, a diferencia de la leche de vaca, no contiene precursores de dicha vitamina, sino que se presenta como tal (Devendra y McLeroy, 1986).

### **OTROS COMPONENTES MINORITARIOS DE LA LECHE DE CABRA**

Las poliaminas (espermidina, espermina y putrescina) son compuestos nitrogenados presentes en la leche de diferentes mamíferos y parecen jugar un papel importante en el desarrollo intestinal de los neonatos de distintas especies.

La concentración de estas sustancias en la leche varía en función del periodo de lactancia, probablemente debido a una adaptación de las necesidades del neonato (Ploszaj y col., 1997). En la leche de vaca, la concentración de espermina y espermidina es máxima en el calostro, debido a que la capacidad de síntesis es máxima. Durante el primer mes de lactancia, la concentración de estas sustancias disminuye y permanece baja hasta el final de la lactancia.

Por el contrario, la concentración de poliaminas en la leche de cabra permanece estable durante todo el periodo de lactación (a excepción de la

putrescina que disminuye durante las primeras semanas) y siempre los niveles son superiores a los de la leche de vaca (Ploszaj y col., 1997). Este patrón de secreción es parecido al que ocurre en la leche humana.

La mayor concentración de poliaminas se ha relacionado con la reducción del riesgo de padecer alergias alimentarias, ya que al favorecer la maduración intestinal, dificultan el paso de alérgenos alimentarios. En este sentido, diferentes estudios sugieren que el menor riesgo de padecer este tipo de reacciones alérgicas en niños amamantados podría explicarse, al menos parcialmente, por la mayor concentración de espermina y espermidina en la leche humana, comparada con las fórmulas infantiles disponibles en el mercado (Dandrifosse y col., 2000).

La leche de cabra también es más rica en nucleótidos. Al contrario de lo que ocurre con las poliaminas, el patrón de secreción de nucleótidos es muy similar en las leches caprina y bovina. En el calostro, la concentración es máxima, y a partir de las primeras semanas, disminuye. Sin embargo, el contenido en nucleótidos totales es siempre mayor en la leche de cabra. La leche de vaca solo es más rica en ácido orótico, nucleótido del que solo existen trazas en la leche humana (Jaubert, 1996).

## **2. EL CALCIO EN LA NUTRICIÓN**

### **INTRODUCCIÓN**

El calcio es el mineral más común en el organismo humano y representa entre un 1.5 y un 2% del peso total del cuerpo. Alrededor del 99% del calcio se encuentra en los huesos y dientes, mientras que el 1% restante se encuentra en la sangre y tejidos blandos. Los niveles de calcio en la sangre y fluidos extracelulares deben ser mantenidos en unos rangos muy estrictos de concentración para asegurar un funcionamiento fisiológico normal del organismo. Las funciones fisiológicas del calcio son tan vitales, que el organismo recurre a la desmineralización ósea para mantener los niveles adecuados de calcio en sangre cuando la ingesta no es adecuada. Puesto que el hueso contiene la mayor proporción de calcio, su desarrollo y mantenimiento es el mayor determinante de las necesidades de calcio. Los requerimientos de calcio varían en las distintas etapas de la vida, siendo mayores en los periodos de crecimiento rápido, en el embarazo y lactación y durante la tercera edad (Weaver y Heaney, 1999).

### **FUENTES ALIMENTARIAS DE CALCIO**

Las fuentes de calcio más importantes son la coliflor, repollo, nabo y el brócoli (de estos alimentos puede absorberse hasta el 50% del calcio). También son una fuente importante de este mineral la raspa de la sardina y el salmón

ahumado (se absorbe un 30% del calcio que contienen), las almejas y las ostras. La soja también contiene una importante cantidad de calcio. El ácido oxálico limita bastante la biodisponibilidad de calcio en el ruibarbo, espinacas, y remolacha. Los zumos de naranja enriquecidos pueden llegar a contener tanto calcio como la leche. El Tofú (un producto derivado de la soja) preparado por precipitación de calcio es también una excelente fuente de este mineral. El pan y otros productos de repostería preparados con calcio, proporcionan una buena cantidad de dicho mineral. Por otra parte, la leche y derivados lácteos también proporcionan un buen aporte de calcio (de la leche puede absorberse más del 30% del calcio).

**TABLA 4.** Contenido en calcio de algunos alimentos (modificado de Weaver y col., 1999):

<i>ALIMENTO</i>	<i>PORCIÓN</i>	<i>CALCIO (mg)</i>
<i>Yogur desnatado</i>	1 vaso	300
<i>Leche desnatada</i>	1 vaso	302
<i>Queso cheddar</i>	30g	204
<i>Espinacas</i>	½ taza, cocinadas	138
<i>Tofu</i>	½ taza	115
<i>Naranja</i>	1, mediana	52
<i>Col</i>	½ taza, cocinada	47
<i>Carne de pollo</i>	100g, cocinado	14

## **FUNCIONES DEL CALCIO**

### **• Función estructural**

El calcio es el principal elemento estructural en los huesos y los dientes. El componente mineral del hueso consiste principalmente en cristales de hidroxiapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ], que contienen una gran cantidad de calcio y fósforo (aproximadamente un 40% de calcio y un 60% de fósforo) (Heaney, 2000). El hueso es un tejido dinámico que está sometido a una constante remodelación a lo largo de la vida (es un “turnover” continuo). Las células encargadas de la formación del hueso se denominan osteoblastos, y las células encargadas de la resorción se denominan osteoclastos. Durante un crecimiento normal, la formación ósea supera a la resorción. En las etapas de la vida en las que no hay crecimiento existe en equilibrio entre los procesos de formación y resorción. La osteoporosis puede aparecer como resultado de un equilibrio negativo de ambos procesos, a favor de la resorción (Weaver y Heaney, 1999).

### **• Mensajero celular**

El calcio juega un papel importante como mediador en la constricción y relajación de los vasos sanguíneos (vasoconstricción y vasodilatación), transmisión del impulso nervioso, contracción muscular, y en la secreción de hormonas tales como la insulina. Las células excitables tales como las del músculo esquelético y neuronas, contienen canales de calcio voltaje-dependientes en sus membranas celulares lo cual permite cambios rápidos en las concentraciones de calcio. Cuando una fibra muscular recibe un impulso nervioso que la estimula para contraerse, los canales de calcio de la membrana

celular se abren para permitir la entrada de unos pocos iones de calcio a las células musculares. Estos iones de calcio se unen a proteínas activadoras dentro de la célula que liberan un flujo de iones de calcio desde las vesículas donde está almacenado en el interior celular. La unión del calcio a la proteína troponina-c inicia una serie de reacciones que conducen a la contracción muscular. La unión del calcio a la proteína calmodulina activa enzimas que escinden el glicógeno que produce la energía necesaria para la contracción (Weaver y Heaney, 1999).

- **Cofactor para enzimas y proteínas**

El calcio es necesario para estabilizar o permitir la actividad óptima de un número de proteínas y enzimas. La unión de iones de calcio es requerida para la activación de siete factores de coagulación dependientes de la vitamina K en la cascada de reacciones de la coagulación. El término de cascada de reacciones de la coagulación se refiere a una serie de eventos, dependientes todos entre si, que frena el sangrado a través de la formación de agregados plaquetarios (Brody, 1999).

- **Liberación de neurotransmisor**

El calcio juega un papel fundamental en la liberación de neurotransmisor desde las vesículas en las terminales sinápticas de las células nerviosas, pero muchos detalles acerca de estos mecanismos todavía no son bien conocidos (Agustine, 2001). Los canales de calcio voltaje-dependientes permiten un influjo rápido de calcio a las neuronas en respuesta a la



despolarización y esto inicia la liberación de neurotransmisor. La liberación de neurotransmisor y la excitabilidad de la neurona también está regulada a través de canales de potasio (Gribkoff y col., 2001).

- **Crecimiento y proliferación celular**

El calcio está implicado en la iniciación de la síntesis de DNA, en la agrupación de los cromosomas, regulación de la división y proliferación celular. La estimulación de receptores sensibles al calcio, por ejemplo, promueve la diferenciación de células tales como queratinocitos (Bikle y col., 2001).

- **Sistema Vestibular**

El oído interno contiene un órgano sensorial que percibe el equilibrio y da la información acerca de la posición corporal. Las células sensoriales del sistema vestibular detectan el desplazamiento de una capa de carbonato cálcico incrustada en una matriz gelatinosa (la membrana otolítica).

## **BENEFICIOS ADICIONALES DEL CALCIO**

- **Calcio para prevenir la ganancia de peso**

La ingesta de calcio puede prevenir el incremento de peso que conduce a la obesidad. Davies y col. (2000) demostraron una asociación entre ingesta de calcio y peso corporal en la reevaluación de cinco estudios clínicos de ingesta de calcio. Las participantes eran mujeres de 20, 50 u 80 años. Se encontró una asociación negativa entre ingesta de calcio y peso para los tres grupos de edad.

Las participantes tratadas con calcio mostraron una pérdida de peso significativa en relación a las que recibían placebo. La estimación de la relación indica que una diferencia de 1000 mg en la ingesta de calcio está asociada con una diferencia de peso corporal de 8 Kg, y ese calcio explica aproximadamente el 3% de la varianza del peso corporal. Carruth y Skinner (2001) evaluaron la consumición de comida en niños de edad preescolar de 24 a 60 meses y relacionaron estos hallazgos con la composición corporal a los 70 meses. Los resultados de las investigaciones mostraron que una ingesta más alta de calcio y más productos lácteos al día estaba relacionado con una menor cantidad de grasa corporal.

#### ● **Hipertensión**

La suplementación con calcio puede prevenir la hipertensión esencial arterial y otros desórdenes hipertensivos relacionados con la gestación. Ha sido demostrado que suplementando un gramo de calcio al día durante la gestación puede disminuir la presión arterial máxima, particularmente en mujeres con alto riesgo de hipertensión gestacional (Atallah y col., 2000). Un estudio de la DASH (Dietary Approaches to Stop Hipertension) demostró una espectacular respuesta para disminuir la presión arterial de una dieta rica en frutas y verduras e incluso una reducción aún mayor cuando se servían tres productos lácteos bajos en grasa al día.

- **Cáncer y otros desórdenes**

El incremento de la ingesta de calcio y derivados lácteos reduce el riesgo de sufrir cáncer de colon, posiblemente debido a la disminución de las concentraciones de ácidos biliares y ácidos grasos libres fecales, lo cual implica una menor citotoxicidad. Además, el calcio de la dieta y la vitamina D pueden proteger contra el cáncer de mama y otros tipos de cáncer. Tradicionalmente ha existido una gran preocupación porque se creía que la suplementación con calcio aumentaba el riesgo de sufrir cálculos renales. Estudios recientes indican que ocurre todo lo contrario: la posibilidad de sufrir cálculos renales es mayor en mujeres que ingieren una baja cantidad de calcio y magnesio (Hall y col., 2001). El mecanismo por el que se produce consiste en que el calcio se une al oxalato, un compuesto que se absorbe muy poco, previniendo así que el oxalato forme cálculos (Weaver, 2001). La suplementación con 1200 mg de calcio diario durante 3 meses también ha mostrado que reduce significativamente los síntomas de síndrome premenstrual en un 48%, comparado con un 30% del grupo placebo (Thys-Jacobs, 1998).

## **PECULIARIDADES Y VENTAJAS DEL CALCIO EN LA LECHE Y DERIVADOS LÁCTEOS**

La leche y los derivados lácteos son la principal fuente de calcio en la dieta. La leche de vaca contiene una media de 1.20 g de calcio por litro (la misma cantidad aproximadamente que la de cabra), de los cuales el 20% está unido a caseína como un coloide orgánico insoluble y el 80% restante en forma mineral (45% en el fosfato tricálcico de los fosfocaseinatos, que es también

insoluble y coloidal, y un 35% soluble). El calcio orgánico y mineral unido a la caseína es fácilmente liberado durante la digestión, y su biodisponibilidad es alta. Muchos estudios de solubilidad del calcio usan el calcio de la leche como patrón de referencia. El calcio en las espinacas, presente como un oxalato insoluble, es tomado como el ejemplo extremo de la peor biodisponibilidad. Sin embargo, excepto para los recién nacidos alimentados con leche materna que pueden absorber casi todo el calcio ingerido, el porcentaje de calcio absorbido de la leche, rara vez excede el 40% en condiciones normales.

El calcio en los quesos es fácilmente disponible, a pesar de que estos quesos usualmente contienen grandes cantidades de ácidos grasos saturados de cadena larga y no contienen lactosa (Guéguen, 1992). Estudios en ratas alimentadas con queso cheddar marcado con  $^{47}\text{Ca}$  mostraron que el calcio fue absorbido de la misma forma que en la leche y que el grado de maduración del queso no afectó a la absorción (Buchowski y Miller, 1990).

Sin embargo, hay que tener en cuenta que el calcio de la leche difiere en varios aspectos interesantes del calcio de otros alimentos o suplementos dietéticos. Estos factores pueden ser importantes cuando es necesario asegurar una alta absorción de calcio, bajo ciertas condiciones fisiológicas que no son favorables. Puesto que el calcio de la leche está unido a péptidos y proteínas, es más probable que permanezca en solución cuando el pH es desfavorable, como cuando existe aclorhidia. El calcio de la leche puede absorberse en ausencia de vitamina D, bajo la influencia de la lactosa en el intestino delgado distal a

través de la vía paracelular. Por tanto, la leche proporciona calcio con “absorción asegurada”, que es generalmente insensible a factores externos, excepto a los inhibidores como el ácido oxálico.

La leche y los derivados lácteos no son sólo una excelente fuente de calcio, sino que también proporcionan una gran cantidad de nutrientes beneficiosos en la dieta como proteínas, vitaminas y otros minerales. Este hecho fomenta la absorción de calcio y proporciona un aporte simultáneo de fósforo, esencial para la formación ósea. Estas ventajas no pueden ser proporcionadas por ninguna otra fuente de calcio (Heaney, 1996).

### **ENRIQUECIMIENTO DE ALIMENTOS CON CALCIO**

Las sales más usadas para la fortificación de los alimentos con calcio son: glicerofosfato cálcico, gluconato cálcico y lactato cálcico. El tipo de sal usada parece que no afecta mucho a la biodisponibilidad de este mineral, según un estudio de dos leches infantiles fortificadas con calcio: una con gluconato cálcico y glicerofosfato cálcico y otra con fosfato cálcico tribásico (Schanler y Abrams, 1995). Estudios en fórmulas infantiles fortificadas han obtenido resultados similares y han demostrado que los efectos positivos de los suplementos de sales cálcicas podrían ser atribuidos de forma exclusiva al alto contenido de calcio presente en el alimento (Kaup, 1998).

Otros estudios realizados con ratas a las que se les suministró un suplemento de calcio en forma de carbonato, lactato y fosfato cálcico han demostrado que la suplementación con calcio durante largos periodos de

tiempo producen efectos adversos como hipercalcemia, hipomagnesemia e hipofosfatemia. Los suplementos de fosfato cálcico obtuvieron los mejores resultados para el calcio y el fósforo, sin alterar los depósitos de magnesio. Esto demuestra la importancia de la combinación de calcio y fósforo para obtener una óptima mineralización ósea (Patwardhan y col., 2001).

El uso de lactato cálcico para la fortificación, mejora el balance de calcio en niños con bajo peso al nacer. Sin embargo, esta mejora es más una consecuencia de la alta ingesta de calcio derivada de la adición de la sal que de el efecto del lactato cálcico en si. El posible efecto beneficioso del lactato cálcico debería ser determinado teniendo en cuenta factores tales como la concentración de calcio en el propio suplemento o en el tipo de leche, comparándolo con otros tipos de sales similares como fosfato cálcico, cloruro cálcico o carbonato cálcico y la relación calcio:fósforo.

Las sales de calcio usadas para la fortificación presentan problemas relacionados con la solubilidad y las características organolépticas. El carbonato cálcico y el fosfato cálcico no poseen sabor, porque son insolubles en agua y medios acuosos. El lactato cálcico y el gluconato cálcico son solubles en agua, pero proporcionan al alimento un sabor muy fuerte, que generalmente no gusta al consumidor. Han aparecido otros compuestos alternativos como el gluconato cálcico estabilizado con glicina. Sarabia y col. (1999), usando  $^{45}\text{Ca}$  como marcador, encontraron que la cantidad total de calcio excretado en orina es 10 veces mayor con el gluconato cálcico estabilizado con glicina que con el

gluconato cálcico solo. La alta solubilidad de esta sal en medio alcalino hace que sea fácil de absorber en el intestino y, consecuentemente, altamente biodisponible.

Las tasas de absorción aproximada de varias sales cálcicas después de la ingestión de 250 mg de calcio son las siguientes: carbonato cálcico, entre un 36% y un 42% es absorbido; acetato y lactato cálcico, del 28% al 36%; gluconato cálcico, entre un 24% y un 30%; citrato cálcico, del 27% al 33% (Groff y Cropper, 2000). Otros estudios han demostrado que la absorción de calcio procedente de citrato y carbonato cálcico es igual, con una biodisponibilidad similar (Heaney y col., 2001).

El calcio en los alimentos, particularmente en la leche, es mejor absorbido que en los suplementos (Cadogan y col., 1997). Es interesante resaltar que la biodisponibilidad del calcio en ciertos vegetales como el brócoli es más alta que en los derivados lácteos, aunque las cantidades de calcio son menores en estos vegetales. La razón de este hecho no está clara (Weaver y Heaney, 2001). Cuando se evalúa la ingesta dietaria, es apropiado asumir que la absorción del calcio es similar para la mayoría de derivados lácteos, sales de calcio usadas para fortificar alimentos y suplementos y no hay que centrarse inútilmente en la biodisponibilidad. Pero cuando se incluyen en la dieta alternativas a los derivados lácteos como primera fuente de calcio, es importante asegurarse que otros nutrientes aparte del calcio son proporcionados por la dieta en cantidades adecuadas. Estos nutrientes necesarios son: magnesio, vitamina D, riboflavina y Vitamina B<sub>12</sub> (Weaver, 2001).

## **UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE CALCIO**

### **REQUERIMIENTOS**

Las ingestas adecuadas estimadas por el Food and Nutrition Board (2001) están basadas en estimar los requerimientos de ambos géneros durante las distintas etapas de la vida. Durante varios periodos del ciclo de vida femenino, la ingesta de calcio es crítica: pubertad y adolescencia, postmenopausia, embarazo y lactancia. En un estudio en adolescentes, 1300 mg de calcio o incluso más fueron necesarios para obtener una máxima retención ósea (Yates, 1998). Los hombres también necesitan cantidades adecuadas de calcio durante su ciclo vital, pero se conoce menos acerca de sus requerimientos.



**TABLA 5.** Ingestas diarias recomendadas (RDA) de calcio (modificado de Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, 2001):

<b>Etapa de la Vida</b>	<b>Edad</b>	<b>Hombres (mg/día)</b>	<b>Mujeres (mg/día)</b>
<b>Lactantes</b>	0-6 meses	210	210
<b>Lactantes</b>	7-12 meses	270	270
<b>Niños</b>	1-3 años	500	500
<b>Niños</b>	4-8 años	800	800
<b>Niños</b>	9-13 años	1300	1300
<b>Adolescentes</b>	14-18 años	1300	1300
<b>Adultos</b>	19-30 años	1000	1000
<b>Adultos</b>	31-50 años	1000	1000
<b>Adultos</b>	51-70 años	1200	1200
<b>Adultos</b>	Más de 70 años	1200	1200
<b>Embarazo</b>	Menos de 18 años	-	1300
<b>Embarazo</b>	19-30 años	-	1000
<b>Embarazo</b>	31-50 años	-	1000
<b>Lactancia</b>	Menos de 18 años	-	1300
<b>Lactancia</b>	19-30 años	-	1000
<b>Lactancia</b>	Más de 30 años	-	1000

Las ratas, tanto en fase de crecimiento como en la edad adulta, requieren 5000 mg/Kg de dieta de Ca (Reeves y col., 1993).

## **ABSORCIÓN**

El calcio está presente en los alimentos y suplementos de la dieta como sales relativamente insolubles. Puesto que el calcio solo puede ser absorbido en su forma ionizada ( $\text{Ca}^{2+}$ ), debe ser liberado de estas sales antes de absorberse. Este proceso ocurre a pH ligeramente ácido, de manera que las sales cálcicas se solubilizan en una hora aproximadamente. Sin embargo, el calcio puede formar complejos con otros minerales o constituyentes de la dieta bajo condiciones de alcalinidad, como en el intestino delgado, limitando la biodisponibilidad del calcio ingerido (Groff y Gropper, 2000).

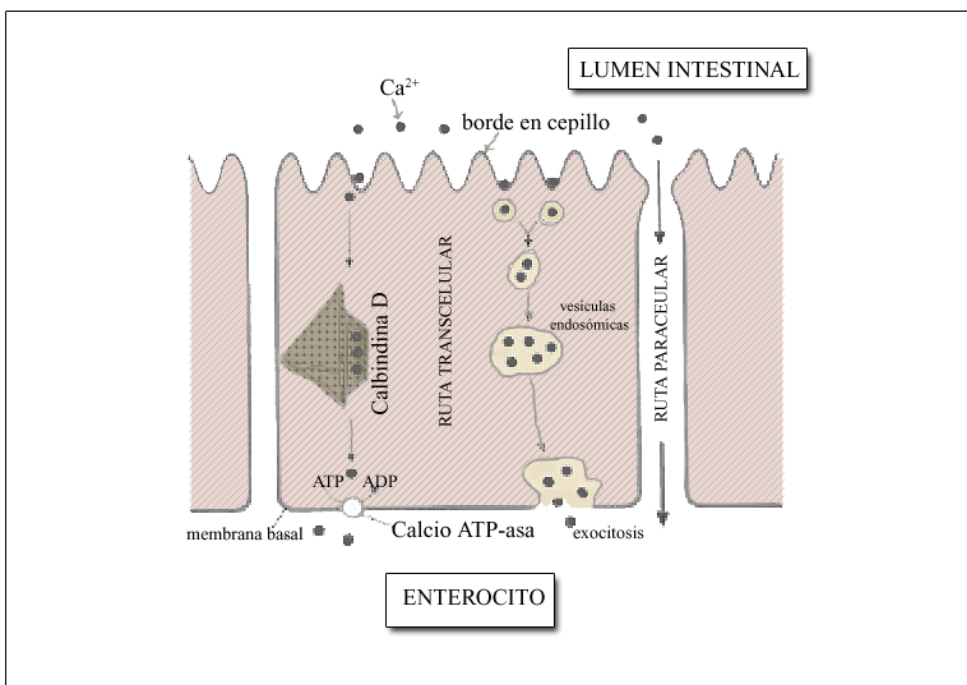
La mayoría del calcio es absorbido en el intestino delgado, específicamente en el íleon, debido al prolongado espacio de tiempo que los alimentos permanecen en esta región intestinal (Groff y Gropper, 2000). La eficiencia de la absorción de calcio está basada en el estado actual del calcio en el organismo. Durante las etapas de crecimiento, embarazo, lactancia y adolescencia donde se produce el pico máximo de acumulación de masa ósea, se puede llegar a absorber hasta un 75% del calcio presente en la dieta. Se ha sugerido que el calcio es un nutriente umbral (Heaney, 1999). La ingesta de calcio por encima del umbral no produce necesariamente un aumento de masa ósea a largo plazo. El aumento de masa ósea puede ser determinado por otros

factores incluyendo factores genéticos y el nivel de ejercicio (estrés mecánico). Puesto que el valor del umbral depende de la edad, existen variaciones en los requerimientos según la edad. Sin embargo, existe mucha controversia acerca de los niveles adecuados de ingesta en hombres y mujeres en función de su edad.

Existen dos procesos principales de transporte responsables de la absorción del calcio. El primer proceso es la denominada ruta transcelular, que tiene lugar en el duodeno y en el yeyuno proximal. Es una transferencia activa que requiere energía y una proteína de unión llamada calbindina (Groff y Gropper, 2000). Este proceso está regulado por el calcitriol o vitamina D,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Weaver y Heaney, 1999). La ingestión de pequeñas cantidades de calcio estimulan el sistema de transporte calcitriol-dependiente, particularmente con ingestas inferiores a 400 mg y bajo condiciones de mayor necesidad como son el embarazo, la lactancia y adolescencia. Conforme disminuyen los niveles de calcio sérico, aumentan los niveles de PTH, causando la liberación de calcitriol. La absorción inducida por calcitriol implica cambios en la membrana lipídica del enterocito e inicia la síntesis de calbindina, una proteína transportadora que actúa como lanzadera de calcio desde el citoplasma del enterocito a la membrana basal. Cuando llega a la membrana basal, el calcio debe ser transportado fuera de la célula al líquido extracelular. Este proceso de extrusión requiere energía en forma de adenosín trifosfato (ATP) y una enzima regulada por la vitamina D (Ca-Mg ATP-asa) que hidroliza el ATP y libera energía para bombear el calcio fuera de la célula, mientras el magnesio y el sodio son bombeados al interior de la célula (Groff y

Gropper, 2000; Weaver, 2001). La absorción regulada por calcitriol decrece con la edad, particularmente en la menopausia. La producción renal de calcitriol se vuelve menos eficiente en respuesta a la PTH, hecho que también se exagera con la edad.

**FIGURA 1.** Modelo de transporte de calcio intestinal (modificado de Stipanuk, 2000). El calcio atraviesa el intestino por dos posibles rutas. Una de ellas está caracterizada por un transporte paracelular no saturable, dependiente de la concentración y que requiere energía, el cual ocurre probablemente entre los enterocitos y no está regulado hormonalmente. El segundo proceso consiste en un transporte transcelular saturable dependiente de energía que tiene una capacidad de transporte limitada y está regulado principalmente por la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  a través de un mecanismo que estimula la producción de calbindina D. La calbindina D es una proteína citosólica que actúa como un transportador intracelular para el calcio a través del compartimento citosólico acuoso. Parte del calcio también puede ser transportado en la célula por vesículas endosómicas y lisosómicas y salir de la célula a través de un proceso de exocitosis:



El segundo proceso por el que se produce la absorción de calcio, llamado difusión paracelular implica la difusión pasiva del calcio entre las células en el yeyuno e íleon. La absorción de calcio por este proceso se incrementa cuando la ingesta de calcio es elevada y tiene lugar en un sistema de intercambio Na-Ca, en donde tres moléculas de  $\text{Na}^+$  se intercambian por una de  $\text{Ca}^{2+}$  (Groff y Gropper, 2000; McCance y Hueter, 1998). Una vez en la sangre, el calcio es transportado en una de estas tres formas: unido a proteínas (aproximadamente el 40%), formando complejos con fosfato, sulfato o citrato (aproximadamente el 10%) y libre o ionizado (el 50% restante) (Groff y Gropper, 2000).

El duodeno y yeyuno proximal son las regiones anatómicas más eficientes para la absorción activa del calcio, debido al pH ligeramente ácido

(6.0) y la presencia de calbindina. Sin embargo, la mayoría de calcio se absorbe en el íleon debido al largo periodo de tiempo que el quimo permanece allí (Weaver y Heaney, 1999). Hay que tener en cuenta que el intestino delgado no es el único sitio donde se absorbe el calcio. Frecuentemente, el calcio se une a otros minerales y especialmente a la fibra. En muchos casos, esto impide la absorción del calcio, pero el intestino grueso contiene bacterias que pueden actuar en algunas fibras (como la pectina), fermentándolas y liberando así el calcio unido a ellas. Entre 5 y 8 mg pueden ser absorbidos diariamente en el colon (Groff y Gropper, 2000).

### **FACTORES QUE INFLUYEN EN LA BIODISPONIBILIDAD DEL CALCIO**

Existen multitud de factores que afectan la biodisponibilidad del calcio. Algunos de estos factores ayudan a lograr un correcto status de calcio para una correcta mineralización ósea. En este sentido, algunos compuestos presentes en la leche, tales como lactosa o caseinofosfopéptidos formados durante la digestión de las caseínas parece que mejoran la absorción del calcio. La proteína tiene un efecto negativo claro en la biodisponibilidad del calcio. Por otra parte, también se ha estudiado el posible efecto inhibidor de la fibra, sin resultados concluyentes entre los estudios *in vivo* e *in vitro*. El papel del ácido fítico como inhibidor de la absorción de calcio podría ser prevenido usando fructooligosacáridos, que no pueden ser digeridos en el intestino delgado y llegan prácticamente intactos al colon, donde son fermentados.

- **Proteína**

Conforme aumenta la ingesta proteica, también se incrementa la excreción urinaria de calcio. Weaver y col. (1999) calcularon que cada gramo de proteína adicional de proteína ingerido con respecto a las recomendaciones, tiene la consecuencia de una pérdida adicional de calcio de 1.75 mg por día. Puesto que solo el 30% del calcio dietario es absorbido, cada gramo de incremento en la ingesta proteica diaria, requiere 5.8 mg de calcio adicionales para compensar la pérdida del mineral.

La biodisponibilidad del calcio en la leche es alta debido a su alto contenido en dicho mineral y que éste se encuentra asociado a caseínas. La caseína forma micelas y contiene fosfato cálcico en estado coloidal, lo cual favorece la absorción de calcio, siendo más importante que el efecto de la proteína sobre la absorción del mineral. Además los caseinofosfopéptidos formados durante la digestión de la caseína, mejoran la absorción del calcio, a través de su unión con el mineral, manteniendo así el catión en una forma soluble, lo cual lo hace biodisponible e inhibe su precipitación en el intestino en forma de fosfato cálcico. El efecto positivo de los caseinofosfopéptidos podría ser resultado no solo del aumento de la solubilidad de calcio en el lumen intestinal, sino también el posible efecto protector de estos compuestos contra las interacciones antagonistas entre el calcio y otros minerales (Erba y Col., 2001).

- **Fósforo**

El fósforo, que es típico de dietas ricas en proteína, tiende a disminuir la excreción de calcio en orina. Sin embargo, los alimentos ricos en fósforo también tienden a incrementar el contenido de calcio en las secreciones digestivas, dando como resultado un aumento de la pérdida de calcio en heces. Así pues, el fósforo no compensa la pérdida neta de calcio asociada a la elevada ingesta proteica (Weaver y col., 1999). El incremento de ingesta de fosfatos, debido a los aditivos alimentarios o ciertas bebidas, han causado preocupación en ciertos investigadores con respecto a la correcta mineralización ósea.

- **Sodio**

Una ingesta elevada de sodio produce un aumento de las pérdidas de calcio en la orina, debido posiblemente a la competencia entre sodio y calcio por la reabsorción renal o por un efecto del sodio en la secreción de PTH. Cada 2.3 g de incremento de sodio (5.8 g de sal, ClNa) excretado por el riñón, se ha observado que se excretan entre 25 y 40 mg de calcio en la orina.

Debido a que las pérdidas urinarias representan aproximadamente la mitad de las diferencias en la retención de calcio entre individuos, el sodio de la dieta tiene una gran influencia en la pérdida de masa ósea. En mujeres adultas, cada gramo extra de sodio consumido al día produce una tasa adicional de pérdida de masa ósea de un 1% al año. Ciertos estudios en animales han revelado que la pérdida de masa ósea es mayor con elevada ingesta de sal y además, estudios clínicos no controlados, han llevado a confirmar la relación



entre ingesta de sal y pérdida de masa ósea en humanos (Weaver y Heaney, 1999; Calvo, 2000). Además, un estudio de dos años en mujeres postmenopáusicas reveló que un aumento en la excreción urinaria de sodio (un indicador de una ingesta elevada de sodio) está asociada con una menor densidad ósea en la cadera (Devine y col., 1995).

### • Carbohidratos

El tipo de carbohidrato (lactosa, sacarosa, polímeros de glucosa, maltodextrinas, etc.) afectan a la biodisponibilidad del calcio de formas diferentes. Moya y col. (1992) compararon dos fórmulas infantiles con dos tipos de carbohidratos: lactosa y policosa (un polímero de la glucosa). Se observaron porcentajes más elevados de absorción de calcio en los niños alimentados con dietas que contenían lactosa. Con respecto a otros carbohidratos, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de calcio, fosfatasa alcalina, ni en el contenido mineral del hueso en los niños alimentados con dos tipos de fórmulas basadas en soja: una contenía exclusivamente polímeros de glucosa y la otra una mezcla de glucosa, fructosa, y polímeros de sacarosa a partes iguales.

Parece que la lactosa mejora la absorción del calcio. Este efecto positivo de la lactosa ha sido observado también en otros minerales como el zinc (Bertolo y col., 2001). Los efectos de la lactosa en la absorción de minerales pueden ser atribuidas a los disacáridos, porque la glucosa y la galactosa no incrementan la absorción de minerales. Sin embargo, el mecanismo de acción, aún no está claro.

---

- **Fibra**

La biodisponibilidad del calcio también puede verse condicionada por la presencia de fibra en los alimentos, la cual parece tener un efecto negativo en la absorción de calcio. Este efecto, sin embargo, debe ser observado minuciosamente en los términos del papel que desempeñan las diferentes fracciones de la fibra que forma complejos con los cationes. Así pues, en ratas alimentadas con dos fuentes de lignina procedente de salvado de trigo y coliflor, no se observaron diferencias significativas en la absorción de  $^{45}\text{Ca}$ , cuando se comparaban con el grupo control, que no recibía fibra (Shen y col., 1998). En un estudio *in vitro* con polisacáridos polianiónicos clasificados como fibra soluble, los polisacáridos con bajo contenido en sulfato y grupos carboxilo (goma guar y agar) presentaron una baja respuesta para formar complejos con cationes, mientras que la capacidad para unir cationes fue elevada en los polisacáridos con un alto contenido en sulfato y grupos carboxilo (pectina, carragenina y xantano). Este efecto puede explicarse por el hecho de que todos esos grupos son desprotonados al pH intestinal y pueden interactuar electrostáticamente con los cationes minerales (Debon y Tester, 2001). Se encontró un comportamiento similar *in vivo* para las condiciones que se experimentan en el intestino delgado cuando, después de neutralizar el jugo gástrico en el duodeno, el pH se incrementa a niveles de entre 6.5 y 7.0. Por tanto, la respuesta de algunos componentes de la fibra para formar complejos con cationes es el resultado de la naturaleza polianiónica de la fibra, aunque muchos componentes de la dieta en condiciones fisiológicas pueden interferir con este proceso.

- **Ácido fítico y fructooligosacáridos**

La reducción de la biodisponibilidad del mineral por el ácido fítico está ampliamente reconocido y se basa en el hecho de que es una molécula cargada con seis grupos fosfato que muestran una gran afinidad para unir cationes como el calcio en el tracto gastrointestinal, evitando así su absorción y también la posterior reabsorción del calcio excretado endógenamente. Sin embargo, el efecto inhibitor del ácido fítico en la absorción mineral puede ser prevenido adicionando fructooligosacáridos a la dieta, los cuales no solo incrementan la absorción del calcio y otros minerales sino que también inhiben los efectos negativos del ácido fítico en la absorción mineral.

Este efecto puede explicarse por el hecho de que los fructooligosacáridos no pueden ser degradados por las enzimas presentes en el intestino delgado y, por tanto, llegan prácticamente intactos al colon donde son fermentados por la flora bacteriana autóctona, produciendo gases, lactosa y ácidos orgánicos tales como acetato, propionato y butirato, que disminuyen el pH y hacen al calcio más soluble, favoreciendo su absorción (López y col., 2001).

- **Cafeína**

La cafeína en grandes cantidades incrementa la excreción urinaria de calcio durante un limitado periodo de tiempo. Sin embargo, ingestas de cafeína de 400 mg por día no cambia significativamente la excreción urinaria del mineral en mujeres premenopáusicas, comparado con el placebo (Barger-Lux y col., 1990). Aunque un estudio de observación encontró una pérdida de masa

ósea acelerada en mujeres que consumieron menos de 744 mg de calcio por día y bebían de 2 a 3 tazas de café al día (Harris y Dawson-Hughes, 1994).

- **Ciertos medicamentos**

Algunos medicamentos como los antibióticos, anticonvulsivantes y corticosteroides interfieren con la absorción del calcio. Dentro de los antibióticos se encuentra la tetraciclina, un compuesto que forma quelatos con minerales, provocando que tanto el principio activo como el mineral no sean disponibles. La minociclina tiene menor capacidad quelante y el efecto de la doxiciclina en la absorción del calcio aún está cargado de controversia (Utermohlen, 2000). Los anticonvulsivantes tales como la fenitoína y fenobarbital, pueden causar hipocalcemia por tres mecanismos diferentes: (a) disminuyen la absorción de calcio, posiblemente a través de la inhibición de proteína transportadora de calcio, (b) estimulan el catabolismo del colecalciferol (Vitamina D<sub>3</sub>) y (c) incrementan el catabolismo de la vitamina K, con la consiguiente reducción de la formación de proteínas dependientes de esta vitamina implicadas en el manejo del calcio por parte de los osteoblastos. Los corticosteroides administrados durante largos periodos incrementan la necesidad de vitamina B<sub>6</sub>, calcio y vitamina D. El uso crónico de anticonvulsivantes y corticosteroides son factores clave en el desarrollo de osteoporosis secundaria en mujeres jóvenes (Utermohlen, 2000).

- **Edad**

La edad puede influenciar la absorción de calcio. Las mujeres ancianas pueden tener una absorción de calcio defectuosa, debido a la falta de respuesta intestinal a la 1,25- dihidroxivitamina D<sub>3</sub> (Pattanaungkul y col., 2000). Con la edad también decrece la cantidad de ácido producido en el estómago (una ligera aclorhidia) que incrementa el pH del estómago, debido a lo cual el calcio no puede disociarse completamente de las sales, provocando una disminución de la absorción. Según Weaver y Heaney (2001) la aclorhidia no debería suponer un problema si el calcio se ingiere con las comidas. Adicionalmente, los complejos de bajo peso molecular como el carbonato cálcico pueden ser absorbidos intactos a través de la ruta paracelular, incluso en personas con aclorhidia (Weaver y Heaney, 1999).

- **Estilo de vida**

El estilo de vida puede afectar a la absorción de calcio. Need y col. (2001) demostraron en mujeres postmenopáusicas que fumar estaba asociado a una reducción de la eficacia de absorción de calcio debido a la supresión del eje PTH-calcitriol. Hasta hace relativamente poco tiempo, se pensaba que el consumo de elevadas cantidades de alcohol durante largos periodos tenía un efecto adverso que afectaba a las hormonas reguladoras del calcio. Un estudio reciente (Wolf y col., 2000) determinó que incluso moderadas cantidades de alcohol en mujeres perimenopáusicas podrían tener un efecto negativo en la absorción de calcio.

## **DISTRIBUCIÓN Y CAPTACIÓN CELULAR**

### **• Circulación sanguínea**

La concentración normal de calcio en sangre oscila entre 2.20 y 2.65 mmol/L. Alrededor del 40% del calcio en sangre está unido a albúmina, 10% unido a citrato, bicarbonato o fosfato y el 50% restante está en forma ionizada. La afinidad del calcio por la albúmina y otras proteínas disminuye conforme desciende el pH (acidosis).

La concentración intracelular (citosólica) de calcio libre es una mínima fracción (alrededor de 0.0001 mmol/L) de la concentración en el fluido extracelular y la sangre. Varias ATPasas transportadoras de calcio bombean calcio al exterior de la célula para mantener este elevado gradiente. Además, los endosomas, lisosomas y otros compartimentos intracelulares retiran calcio con alta especificidad, bajo una estrecha regulación.

### **• Barrera hematoencefálica**

La concentración de calcio es menor en el cerebro que en la sangre. LA ATPasa transportadora de calcio en la luz del endotelio capilar cerebral mantiene este gradiente bombeando calcio a la sangre (Manoonkitiwongsa y col., 2000).

### **• Transferencia materno-fetal**

El enorme tamaño del feto en relación al estrecho canal del parto requiere cierta flexibilidad del cráneo. Este hecho podría explicar la razón por

la cual la mineralización del esqueleto fetal es relativamente débil. Sin embargo, deben transferirse alrededor de 140 mg/día de calcio de la madre al feto durante el tercer trimestre y un total de 30 g de calcio durante toda la gestación. La información acerca de las rutas de transferencia de calcio a través de la placenta está aún incompleta. Parece claro que el calcio difunde desde la madre al sincitiotrofoblasto a través de canales de calcio por difusión pasiva, ya que la concentración de calcio en la sangre materna es mucho mayor que en el feto (Lafond y col., 2001).

### **DEPÓSITOS DE CALCIO EN EL ORGANISMO**

El calcio es el mineral más abundante del cuerpo humano y es necesario en muchas reacciones fundamentales para el organismo. El calcio como ión es capaz de unirse a 12 moléculas de oxígeno, permitiéndole fácilmente unirse a proteínas. En el cuerpo humano, el 99% del calcio está en el esqueleto (Weaver, 2001).

### **COMPOSICION DEL HUESO**

El hueso es un tejido conectivo que consiste esencialmente en una matriz extracelular mineralizada y células especializadas: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos.

El principal componente orgánico de la matriz es el colágeno tipo I, que supone alrededor del 90%; el 10% restante lo componen una serie de proteínas no estructurales de menor tamaño entre las que se encuentran la osteocalcina, osteonectina, algunas fosfoproteínas, sialoproteínas, factores de

crecimiento y proteínas séricas. La fase inorgánica está compuesta por minúsculos cristales de un mineral de carácter alcalino, la *hidroxiapatita*  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ . Estos cristales se incrustan en las fibras de colágeno para formar un material que reúne las características adecuadas de rigidez, flexibilidad y resistencia, permitiendo esta forma de calcio almacenado ser rápidamente liberado en caso de necesidad cuando la ingesta es inadecuada.

#### • Osteoblastos y osteocitos

Los *osteoblastos* o células formadoras de hueso trabajan en grupos para segregar y después mineralizar paquetes de matriz ósea. Estas células expresan abundantemente fosfatasa alcalina, enzima que probablemente contribuye a la mineralización de la matriz liberando fosfato inorgánico. Las superficies óseas quiescentes están recubiertas por una monocapa de osteoblastos aplanados inactivos, que a menudo se denominan “células de revestimiento”. Los osteoblastos o sus precursores, expresan receptores para muchas hormonas, incluyendo la parathormona (PTH), la 1-25-dihidroxitamina D, las hormonas sexuales y los glucocorticoides. También sintetizan una amplia variedad de factores de crecimiento y citocinas, al tiempo que son influidos por ellos. Durante la formación ósea algunos osteoblastos quedan englobados en la matriz, que se va depositando a su alrededor y se diferencian a osteocitos, formando una red de células dispersas interconectadas. Se piensa que los osteocitos intervienen en la respuesta del hueso a los estímulos mecánicos, actuando como mecanoreceptores que se comunican con los osteoblastos y osteoclastos presentes en las superficies óseas (Ehrlich y Lanyon, 2002).



### • Osteoclastos

Los *osteoclastos* son las células encargadas de la destrucción ósea. Son células grandes, móviles y multinucleadas, que reabsorben las superficies óseas formando unas lagunas y surcos de bordes festoneados. Derivan de la fusión de precursores mononucleares de la serie promonocítica, presentes en la sangre circulante y en la médula ósea. Una vez adheridos a la superficie del hueso, segregan hidrogeniones que disuelven la fase mineral de la matriz, y enzimas proteolíticas como la catepsina K, que degradan el colágeno. Estas células expresan gran cantidad de fosfatasa ácida resistente al tartrato, enzima de función incierta. Los osteoclastos inmaduros expresan receptores para calcitonina y prostaglandinas (Ehrlich y Lanyon, 2002).

### • Remodelado del hueso

Durante la vida adulta, el esqueleto experimenta un proceso continuo de reparación y renovación. Ese remodelado del hueso se lleva a cabo en las superficies del mismo. De hecho, el *turnover* del hueso trabecular puede ser hasta diez veces más rápido que el del hueso cortical, dado que la superficie expuesta del primero es mucho mayor. La matriz mineralizada es reabsorbida por los osteoclastos y después sustituida por capas concéntricas o laminillas de hueso nuevo formadas por la acción de grupos de osteoblastos. Esta secuencia de fenómenos está estrechamente coordinada en el tiempo y espacio. En circunstancias normales, en los individuos jóvenes el remodelado mantiene la masa esquelética total prácticamente invariable. Sin embargo, con el envejecimiento, la menopausia o algunas enfermedades, se

---

altera el balance de manera que la resorción predomina sobre la formación y se produce una pérdida neta de hueso que conduce a la osteoporosis. Ello puede deberse a una actividad osteoclástica aumentada o a una disminución de la actividad osteoblástica. El hueso trabecular, es especialmente sensible a las alteraciones del balance óseo, dado su rápido *turnover* (aproximadamente un 25% es renovado cada año). El crecimiento del hueso, su renovación y reparación, implican una elevada actividad celular y requieren un adecuado aporte sanguíneo. Ello contrasta con la situación del cartílago adulto, un tejido avascular, con pocas células y lento *turnover*. La alteración del aporte sanguíneo al hueso, como puede ocurrir en los procesos infecciosos, inflamatorios, tumorales o tras sufrir fracturas, puede provocar hipoxia y acidosis y tener importantes consecuencias negativas (Arnett y col. 2003, Arnett, T, 2004).

**TABLA 6.** Regulación de la actividad de las células óseas (tomado de Arnett, T, 2004).

### 1. Hormonas

- *Hormona paratiroidea (PTH):*

↑ formación y actividad OC; ↑ proliferación y actividad OB → ↑ *turnover*

PTH intermitente: ↑ formación ósea *in vivo*

PTH altas dosis continuadas: ↑ resorción ósea → pérdida de hueso

- *1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamina D:*

↑ formación y actividad OC; ↓ proliferación OB; ↑ diferenciación OB

Necesaria para la mineralización de la matriz: deficiencia → osteomalacia, raquitismo

- *Calcitonina:*

↓ formación y actividad OC

- *Glucocorticoides:*

Necesarios para el desarrollo y función normales del hueso

Exceso → pérdida de hueso/osteoporosis

- *Hormona del crecimiento:*

Necesaria para el crecimiento normal del esqueleto

- *Hormonas sexuales (estrógenos y andrógenos):*

↓ formación y actividad OC ; ↑ actividad OB (posible)

Deficiencia → ↑ *turnover*, osteoporosis

### 2. Factores locales (paracrinos y autocrinos)

- *Factores de crecimiento y citocinas:*

Efectos variables sobre la formación y actividad de los OC y OB

- *Otras moléculas:*

Prostaglandinas: ↑ reclutamiento OC, ↑↓ actividad OC

Leucotrienos: ↑ formación y actividad OC

ATP extracelular: ↑ formación y actividad OC, ↓ actividad OB

Bradiquinina: ↑ formación y actividad OC

CGRP (péptido relacionado con el gen de la calcitonina): ↓ formación y actividad OC

**TABLA 6.** Regulación de la actividad de las células óseas (tomado de Arnett, T, 2004) (Continuación)

### **3. Agentes inorgánicos (locales y sistémicos)**

H<sup>+</sup> extracelulares (pH <7,2): ↑ actividad OC, ↓ actividad OB

PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>: ↓ formación y actividad OC

Ca<sup>2+</sup>: ↓ formación y actividad OC (efecto limitado)

Sr<sup>2+</sup>: ↑ formación ósea

F<sup>-</sup>: ↑ formación ósea

Hipoxia: ↑ formación OC, ↓ función OB

Óxido nítrico: ↑↓ formación y actividad OC, ↑↓ actividad OB; necesario para el remodelado normal, interviene en la respuesta a las cargas mecánicas

### **4. Efectos mecánicos**

Cargas regulares cíclicas: ↑ actividad OB, formación ósea, remodelado adaptativo

Ausencia de carga (encamamiento, ingravidez): ↑ formación y actividad de OC

Grandes cambios en presión hidrostática: ↑ muerte de osteocitos

(↑ = aumento; ↓ = disminución; OB = osteoblastos; OC = osteoclastos)

El calcio no solo está localizado en el hueso, sino también distribuido en los líquidos intracelulares y extracelulares. Las concentraciones de calcio en sangre y fluido extracelular son mantenidas bajo estrecha regulación a 2.5 mmol/L, con aproximadamente la mitad del calcio existente como una molécula cargada positivamente o una forma ionizada (Ca<sup>2+</sup>) en el plasma y en el resto unida o complejada con otras sustancias (Weaver, 2001). El calcio extracelular es la principal fuente de calcio para el desarrollo de los huesos. Intracelularmente, el calcio activa un amplio rango de respuestas fisiológicas,

incluida la contracción muscular, liberación hormonal, liberación de neurotransmisor, metabolismo del glicógeno, visión y diferenciación celular (Weaver y Heaney, 1999).

## **ELIMINACIÓN**

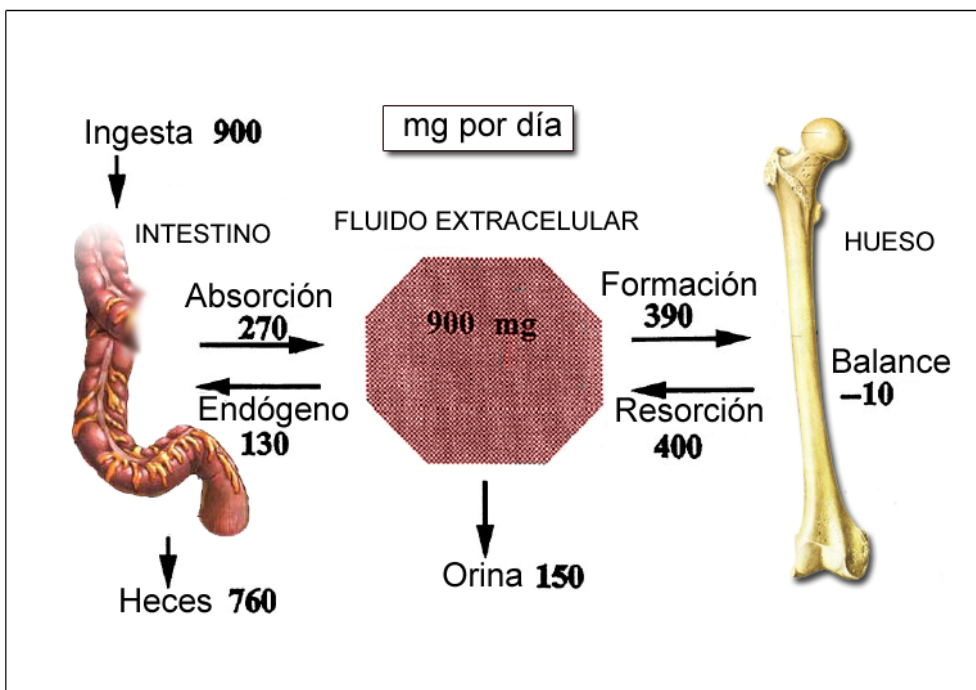
El exceso de calcio que no puede ser absorbido es excretado en las heces, orina y sudor. El balance de calcio en adultos es cero, de manera que el calcio absorbido es excretado por estas rutas, posiblemente después de haber sido incorporado y posteriormente liberado del hueso. Casi todo el calcio reabsorbido por el tracto intestinal proviene de secreciones como la bilis, y el calcio endógeno excretado en las heces es la fracción que no es reabsorbida.

Las pérdidas urinarias resultan de la filtración glomerular (unos 10g de calcio por día) y la reabsorción tubular, que recupera el 98% de la carga filtrada (Broadus, 1993). La reabsorción tubular es un proceso fuertemente regulado por la PTH. Las cantidades de calcio en la orina humana son mucho mayores que en la orina de otros animales. Cambios en la cantidad de calcio excretado en orina pueden tener un gran impacto en el balance de calcio. Ciertos factores dietarios pueden influenciar la reabsorción de calcio y deben ser evaluados cuidadosamente a la hora de evaluar la biodisponibilidad del calcio.

La figura 4 muestra las principales rutas del calcio en humanos adultos. Los adultos pierden aproximadamente un 0.3% de su masa ósea al año. Esto significa que su balance de calcio es ligeramente negativo y pierden unos 10

mg de calcio cada año. Esta pérdida de masa ósea puede ser hasta 10 veces superior en mujeres postmenopáusicas.

**FIGURA 2.** Rutas principales del calcio en adultos. (Modificado de Guéguen y Pointillart, 2000):



El objetivo final de toda la regulación hormonal de la absorción, resorción ósea y reabsorción tubular del calcio es mantener la concentración plasmática de calcio constante, particularmente el 50% del mismo en forma iónica. La PTH y el calcitriol son las hormonas más importantes implicadas en la homeostasis del calcio. Este complejo mecanismo de control también regula

el calcio extracelular (unos 900 mg en el organismo humano). El fluido extracelular contiene unos  $10^{-3}$  M de  $\text{Ca}^{2+}$ , mientras que la concentración en el citosol es más de 1000 veces menor.

- **Factores dietarios que afectan la excreción de calcio en orina**

Excepto la ingesta simultánea de fósforo, que puede ser confundido con el efecto de la comida (casi todos los alimentos son ricos en fósforo), y ciertos constituyentes que elevan el pH (bicarbonatos, sales de potasio), todos los demás factores de la dieta tienen un efecto a nivel renal que provoca un aumento de las pérdidas urinarias de calcio, generalmente por la reducción de la reabsorción tubular del mismo (Lemann, 1993).

El fósforo puede tener un efecto directo incrementando la reabsorción de calcio en la parte distal de la nefrona, o un efecto indirecto, estimulando la secreción de PTH o favoreciendo el depósito de calcio en el hueso. La absorción simultánea de calcio y fósforo incrementa la captación de calcio por el hueso, por tanto disminuye su excreción en orina.

Un exceso de proteína conduce generalmente a un incremento de la pérdida urinaria de calcio, que puede estar enmascarada por el efecto opuesto del exceso de fósforo (de componentes dietarios ricos en proteína y fósforo). Este efecto es especialmente acusado en proteínas con alto contenido en aminoácidos con grupos sulfuro (cisteína, metionina), ya que la ruptura de estos grupos provoca la liberación de sulfato, causando una moderada acidosis e incrementando la eliminación de calcio en orina (Whiting y col., 1997). Los

iones sulfato también se unen al calcio, impidiendo su reabsorción tubular e incluso su incorporación al hueso. Por tanto, no es de extrañar que un exceso de proteína ricas en aminoácidos con grupo sulfuro u otras fuentes de sulfato (como ciertas aguas minerales) provoquen un aumento de las pérdidas urinarias de orina que otros alimentos, tales como los típicos de dietas vegetarianas o con bicarbonatos (Massey, 1998).

La acidosis crónica metabólica debido a excesiva ingesta de sulfato y aniones cloruro conduce a unas mayores pérdidas de calcio en orina. La alcalosis resultante de la ingestión de bicarbonato o citrato potásico tiene el efecto contrario (Massey, 1998).

## REGULACIÓN HOMEOSTÁTICA DE CALCIO

### ● Sensor de calcio

Una red de hormonas y otros efectores regulan cuidadosamente la concentración de calcio en sangre. La proteína G asociada al receptor de calcio responde a las concentraciones extracelulares de calcio en varios puntos clave para la regulación (paratiroides, riñones, células epiteliales intestinales, células óseas, queratinocitos, otros tejidos) y promueve la liberación de varios mediadores y hormonas implicadas en la homeostasis del calcio (Brown y col., 2001). El efecto depende del tipo de célula donde esté localizado el receptor. La estimulación del receptor por una alta concentración iónica de calcio provoca una disminución de la secreción de PTH por parte de las células de la



glándula paratiroidea, aumenta la secreción de calcitonina por las células C del tiroides, promueve la reabsorción renal de calcio o regula los canales de cloruro intestinales (Shimizu y col., 2000).

#### • **Hormona Paratiroidea (PTH)**

Las glándulas paratiroideas están situadas a los lados de la glándula tiroides. Las glándulas paratiroideas secretan PTH en una respuesta muy rápida (segundos) a la disminución de la concentración de calcio ionizado en sangre. La PTH promueve la movilización de calcio desde el hueso, la reabsorción renal de calcio, la síntesis de 1,25-dihidroxi-vitamina D y otras actividades que no están relacionadas directamente con la disposición de calcio. La proteína relacionada con la PTH (PTHrP) es un importante regulador de calcio producido por el feto, placenta y a bajo nivel por algunos tejidos no relacionados con el embarazo en adultos. Esta hormona peptídica también tiene influencia en el transporte de calcio a través de la placenta, desarrollo óseo y funciones como estimulador paracrino de la diferenciación y el crecimiento celular. Las células secretoras de PTH pueden adaptarse muy rápido a diferentes concentraciones extracelulares de calcio cambiando la degradación intracelular de PTH cuando está a punto de ser liberada. Si la síntesis de PTH es superior a la cantidad apropiada para la concentración de calcio circulante, un mayor porcentaje es secretado como fragmentos carboxi-terminales inactivos.

#### • **Calcitonina**

Esta hormona peptídica reguladora del calcio es secretada en las células C de la glándula tiroides, células pituitarias y unas pocas células

neuroendocrinas ampliamente dispersadas. La unión de la calcitonina a su receptor inhibe la acción de los osteoclastos e indirectamente la liberación de calcio.

### • Vitamina D

La vitamina D<sub>3</sub> o colecalciferol se sintetiza en la piel y es la forma fisiológica de la vitamina en los seres humanos. La denominada vitamina D y su metabolito hepático, la 25 hidroxivitamina D, son precursores de la síntesis de la 1-25(OH)<sub>2</sub> Vitamina D o calcitriol, que es el metabolito activo.

La vitamina D en el hígado (y también en otros tejidos) se metaboliza a 25 hidroxivitamina D (25OHD) por acción sobre todo de la enzima mitocondrial (CYP27) y en menor medida de la microsomal (CYP2C11). Es el metabolito circulante más abundante y tiene una prolongada vida media, por lo que se le considera el índice del *status* nutricional en vitamina D.

A partir de la 25OHD se forma 1,25(OH)<sub>2</sub> D por acción de la 25OHD-1 $\alpha$  hidroxilasa (CYP1 $\alpha$ ) en las células tubulares renales principalmente bajo la regulación de la PTH, aunque también en otras. El calcitriol es la forma más activa. Además de regular la expresión genética, también tiene acciones no genómicas que incluyen la capacidad de estimular el paso del calcio a través de la membrana plasmática, aunque los mecanismos implicados no están suficientemente claros. El calcitriol regula el transporte transcelular de calcio en el duodeno proximal, promoviendo el paso a través del borde en cepillo al interior de la célula y su salida a través

de la membrana basocelular. La entrada de calcio ocurre en contra de gradiente, estando controlada por canales específicos de calcio llamados CaT1 y calmodulina unidos a una miosina específica. El transporte de calcio en la célula está regulado por proteínas ligadoras de calcio llamadas calbindinas. La salida de calcio de la célula a través de la membrana basocelular precisa energía, y está mediada por ATP, que precisa una bomba de calcio o CaATPasa. El calcitriol induce tanto las calbindinas como la CaATPasa, pero la regulación de la entrada de calcio no depende tanto de la síntesis proteica. Mecanismos similares modulan la reabsorción de calcio en el túbulo distal del riñón, con proteínas involucradas homólogas aunque no idénticas (Holick, 2002; Bikle, 2006).

La acción del calcitriol sobre el hueso es menos conocida. Los receptores de la vitamina D (VDR), se encuentran en los osteoblastos, donde la 1-25(OH)<sub>2</sub> D promueve su diferenciación y regula la producción de proteínas tales como colágeno, fosfatasa alcalina y osteocalcina. También induce en las membranas celulares el RANKL, regulando de esta manera el calcitriol, tanto la formación como la resorción ósea (Stejskal y col. 2001). En situaciones carenciales de calcio, el calcitriol es esencial para la mineralización del hueso. Una deficiencia severa y prolongada de vitamina D (niveles de 25OHD menores de 10ng/ml) conducen a la inhibición de la mineralización primaria de la matriz ósea y raquitismo u osteomalacia (Quesada y Luque, 2000).

Una reducción menos severa del aporte de vitamina D (niveles de 25OHD menores de 15ng/ml), representa una insuficiencia de vitamina D que induce hiperparatiroidismo secundario, el cual acelera la pérdida de

hueso contribuyendo a la osteoporosis (Quesada Gómez, 2000). La prevalencia de la insuficiencia de vitamina D es alta en grupos de ancianos, niños y emigrantes de color debido a falta de exposición ultravioleta solar y baja ingesta dietética, así como en diversas enfermedades. También es alta en pacientes tratados con fármacos tales como barbitúricos y corticoides (Quesada Gómez, 2000).

Mutaciones en el gen responsable de la enzima 1-alfahidroxilasa (CYP- $\alpha$ ), producen raquitismo/osteomalacia dependiente de vitamina D tipo 1, autosómica dominante, con niveles indetectables de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , hiperparatiroidismo secundario, alteraciones óseas e hipocalcemia severa (Parfitt, 1998).

Mutaciones inactivadoras en el gen receptor de la vitamina D producen el raquitismo-osteomalacia dependiente de vitamina D tipo 2, con niveles muy elevados de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , hiperparatiroidismo secundario, alteraciones óseas y clínica de raquitismo, a veces con alopecia (Parfitt, 1998).

Recientemente se ha descrito que una variante del promotor del gen de la vitamina D, el polimorfismo CDX-2 (transición G/A), se relaciona con una menor masa ósea en cadera y columna y con un mayor riesgo de fractura (Gong y col. 1999; Zmuda y col. 2000).

En general, la regulación homeostática del calcio se puede describir brevemente como sigue: en el caso de que disminuya el calcio ingerido en la

dieta, descendería la absorción de calcio y bajaría la concentración de calcio sérico. Ello estimularía la secreción de PTH, que aumentaría la resorción ósea, la reabsorción renal de calcio y la producción renal de calcitriol. Éste aumentaría la absorción intestinal y reabsorción renal de calcio y, en el hueso, favorecería la acción resortiva de la PTH. El balance entre entradas y salidas del organismo tendería a ser neutro, con estabilidad en los valores plasmáticos pero a expensas de un balance negativo del hueso.

Fisiológicamente hay circunstancias que tienden a un balance general positivo, como ocurre con la formación de tejido óseo y de ahí la necesidad de un incremento en el aporte dietético de calcio. En otras circunstancias hay tendencia a un balance negativo como en el embarazo (por los requerimientos fetales) o en la senectud, en que disminuye la capacidad de absorción intestinal, capacidad de formar vitamina D, y se mantiene la estabilidad a expensas de perder masa ósea.

## CALCEMIA

El calcio total en el suero consiste en tres fracciones distintas:

- Calcio libre o ionizado: 50%.
- Complejos entre calcio y aniones como fosfato, citrato u otros aniones orgánicos: 10%.
- Calcio unido a proteínas, principalmente albúmina: 40%.

El calcio ionizado ( $\text{Ca}^{2+}$ ) se equilibra rápidamente con el calcio unido a proteínas en sangre. El calcio iónico es la fracción biológicamente activa y

puede sufrir variaciones importantes por cambios en el pH: en situaciones de acidosis disminuye su unión a proteínas y en alcalosis aumenta, sin olvidar que cambios en la concentración de proteínas puede inducir a errores en la valoración del calcio plasmático.

La concentración sérica de calcio ionizado es controlada principalmente por la PTH, aunque otras hormonas tienen papeles puntuales en su regulación. Entre esas otras hormonas se incluyen la calcitonina, vitamina D y estrógenos entre otras. El nivel de calcio sérico total es mantenido en un estricto límite de 8.8 a 10.8 mg/dl, siendo el rango del calcio sérico ionizado de 4.4 a 5.2 mg/dl.

El calcio en los huesos está en equilibrio con el calcio en sangre. La PTH desempeña el papel más importante en el mantenimiento de la concentración normal, mientras que el papel fisiológico de la calcitonina, aún no está bien definido. Cuando la concentración de calcio en sangre decae por debajo del nivel fisiológico, la PTH estimula la transferencia de calcio a la sangre. Al mismo tiempo, las PTH promueve la reabsorción tubular de calcio y estimula indirectamente la absorción intestinal de calcio, a través de la forma hormonal de la vitamina D (1,25[OH]<sub>2</sub>D<sub>3</sub>). La vitamina D no solo aumenta la absorción de calcio en el intestino delgado, sino también en el colon (Alfárez y col., 1996).

López-Aliaga y col. (1989) encontraron que el suplemento de vitamina D<sub>3</sub> en la dieta (0,4 mg/kg de dieta) mantiene la calcemia a niveles fisiológicos en las ratas resecadas (11,7 mg Ca/100 ml de suero).

Otras hormonas como los glucocorticoides, hormonas tiroideas, y hormonas sexuales desempeñan un papel también importante en la homeostasis del calcio. Los glucocorticoides pueden impedir la absorción de calcio a través de mecanismos activos y pasivos. Un exceso de glucocorticoides conduce a una pérdida de masa ósea., una condición muy común entre pacientes que reciben terapia crónica con glucocorticoides. Las hormonas tiroideas pueden estimular la resorción ósea. En las mujeres, un balance óseo normal requiere concentraciones de estrógenos séricos normales. La resorción ósea también puede ser inhibida por la testosterona.

### **3.- EL FÓSFORO EN LA NUTRICIÓN**

#### **INTRODUCCIÓN**

El fosfato inorgánico (Pi) es fundamental para el correcto funcionamiento celular y la mineralización ósea. El Pi es suficientemente abundante en una dieta normal y es poco probable desarrollar una deficiencia, excepto bajo condiciones de extrema inanición o como consecuencia de la administración de ciertos agentes terapéuticos que captan el Pi. La ingesta normal de fósforo del humano adulto es de 800 a 1600 mg/día. Aproximadamente del 65 al 75% del Pi ingerido es absorbido en el intestino delgado, independientemente del nivel de ingesta y la regulación hormonal de este proceso desempeña un papel secundario en la homeostasis del Pi. El Pi absorbido es eliminado o reabsorbido en el riñón, incorporado en formas

orgánicas en células proliferativas y depositado como componente mineral del hueso (hidroxiapatita). La deposición mineral se relaciona con un mayor porcentaje de Pi retenido durante el periodo de crecimiento. Sin embargo, incluso en un organismo en crecimiento, sólo un pequeño porcentaje del fósforo dietario es retenido. La mayoría del fósforo absorbido es excretado por vía urinaria. Esto significa que la homeostasis y la concentración plasmática del Pi dependen principalmente de los mecanismos renales que regulan su transporte tubular. El Pi representa aproximadamente el 1% del peso corporal. Aproximadamente el 85% el Pi está en los huesos y dientes, el 15% en tejidos blandos y el resto (<1%) en los fluidos extracelulares. El Pi existe en el plasma en dos formas: una forma orgánica que consiste principalmente en fosfolípidos y ésteres de fosfato y una forma inorgánica. Aproximadamente el 29% del total de la concentración plasmática de Pi está en forma inorgánica y sólo esta forma es determinada en los análisis clínicos de rutina. De esta fracción, entre un 10 y un 15% está unido a proteínas y el resto, que es filtrado fácilmente por el glomérulo renal, existe como iones libres de Pi o como iones complejados con Na, Ca o Mg.

En la medida del Pi plasmático, hay que tener en cuenta que existe una variación diurna con un mínimo entre las 9:30-10:00 AM y un máximo a las 4:00 AM. Esta variación en la concentración plasmática puede ser de hasta 1 mg/dl, lo que representa del 25 al 35% de la concentración plasmática. La concentración de Pi también varía en función de la edad, encontrándose los mayores niveles durante los tres primeros meses de vida. Las ratas tienen un



valor normal de Pi algo superior a los humanos, debido a las diferencias en el metabolismo basal, que es superior en los roedores (Tenenhouse, 2005).

## **FUENTES ALIMENTARIAS DE FÓSFORO**

Es importante reconocer que los alimentos poseen tres tipos muy diferentes de compuestos de fosfato. Los primeros dos tipos, sales inorgánicas de fosfato y organofosfatos incluyendo los fosfolípidos, son fácilmente absorbidos y tienen un profundo impacto en el metabolismo humano. En contraposición a este hecho, los inositoles polifosfato son difícilmente absorbidos no comparten ninguna de las características de las sales de fosfato o de otros organofosfatos y tienen propiedades características. Las tablas alimentarias actuales y otras fuentes de composición de alimentos proporcionan solo un valor único para el fosfato total y pierden por completo su utilidad en el caso de legumbres, frutas y verduras. Muchos de estos alimentos tienen una biodisponibilidad relativamente baja de fosfato, sin embargo esta información está disponible en las tablas de composición de alimentos más usadas (ADA, 1998).

La leche (1.0 mg/g) y los derivados lácteos son las fuentes principales de fosfato. Fuentes particularmente ricas en este nutriente son el queso cheddar (5.1 mg/g) y el queso suizo (6.1 mg/g). En otros tipos de quesos más suaves existen cantidades menores, pero también significativas. Una medida importante es la relación entre fosfato biodisponible y proteína, que alcanza valores elevados en la leche (29.6), queso curado (20), huevo (14.3) y valores

más bajos en el cerdo (11.4), ternera (9.5), pollo (6.7) y pescado (6.1). Esta relación puede ser una valiosa herramienta para personas que necesitan minimizar la ingesta de fosfato, pero manteniendo un adecuado aporte proteico (Calvo y Park, 1996).

El contenido en fosfato de alimentos derivados de vegetales es mucho más difícil de establecer, puesto que una gran cantidad de este nutriente está unido a inositol como fitato (inositol hexafosfato, pentafosfato o tetrafosfato). Este hecho debe ser tenido en cuenta, especialmente en grupos con dietas presumiblemente saludables (ricas en cereales, legumbres, frutas y verduras), en los cuales no es relevante la medida de la ingesta total de fósforo (Calvo y Park, 1996).

Las sociedades industrializadas continúan incrementando el consumo de alimentos que contienen aditivos ricos en fosfato y la ingesta media proveniente exclusivamente de esta fuente puede llegar a proporcionar 500mg/día. La ingesta total diaria de fosfato en varones jóvenes tiende a ser alrededor de 1500 mg, mientras que la de mujeres jóvenes ronda los 1000 mg. Las ingestas varían mucho entre individuos y tienden a descender cuando se llega a la mediana edad (Calvo y Park, 1996).

**TABLA 7.** Contenido en fósforo de algunos alimentos (modificado de Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, 2001):

<i>ALIMENTO</i>	<i>PORCIÓN</i>	<i>FÓSFORO (mg)</i>
<i>Yogur desnatado</i>	240 g	383
<i>Lentejas</i>	½ taza, cocinadas	356
<i>Salmón</i>	90 g, cocinado	252
<i>Leche desnatada</i>	240 g	247
<i>Ternera</i>	90 g, cocinada	173
<i>Pavo</i>	90 g, cocinada	155
<i>Almendras</i>	30 g	139
<i>Queso mozzarella</i>	30 g	131
<i>Huevo</i>	1, cocinado	104
<i>Pan integral</i>	1 rebanada	64
<b>Bebida carbonatada de cola</b>	360 g	44

## INTERACCIÓN CON OTROS NUTRIENTES

### ● Fructosa

Un estudio reciente en 11 hombres adultos concluyó que una dieta rica en fructosa (20% del total de calorías) provocaba un incremento de las pérdidas urinarias de fósforo y un balance negativo (las pérdidas superaban la ingesta diaria). Este efecto era más pronunciado si la dieta también era deficiente en

magnesio. Un mecanismo potencial para este efecto es la falta de inhibición por retroalimentación negativa de la conversión de fructosa en fructosa-1-fosfato en el hígado. En otras palabras, la acumulación incrementada de fructosa-1-fosfato en la célula no inhibe la enzima que fosforila la fructosa, consumiendo grandes cantidades de fosfato. Este fenómeno es conocido como “captura de fosfato”. Este hallazgo es relevante porque el consumo de fructosa en los países industrializados se ha incrementado mucho en los últimos años, debido al elevado consumo de alimentos bajos en calorías que contienen este hidrato de carbono (Milne y Nielsen, 2000).

#### ● **Calcio y Vitamina D**

El fósforo de la dieta es rápidamente absorbido en el intestino delgado y el exceso de fósforo absorbido es excretado por vía renal. La regulación de los niveles plasmáticos de calcio y fósforo está vinculada a las acciones de la hormona paratiroidea (PTH) y la vitamina D. Un leve descenso en los niveles de calcio sanguíneo (por ejemplo cuando hay una ingesta inadecuada) estimula las glándulas paratiroides aumentando por tanto la secreción de PTH. La PTH estimula la conversión de Vitamina D a su forma activa (calcitriol) en los riñones. Los niveles aumentados de calcitriol conducen a un aumento de la absorción intestinal de calcio y fósforo. La PTH y la vitamina D estimulan la resorción ósea, provocando la liberación de calcio y fósforo del hueso hacia la sangre. Aunque la estimulación de la producción de PTH produce una disminución de las pérdidas urinarias de calcio, también produce un aumento de la excreción urinaria de fósforo. Este incremento en las pérdidas renales de

fósforo es una ventaja para elevar los niveles de calcio hacia el rango fisiológico, porque los altos niveles sanguíneos de fosfato inhiben la conversión de vitamina D en los riñones (Bringhurst y col., 1998).

## **FUNCIONES DEL FÓSFORO**

El fósforo es uno de los principales constituyentes del hueso en forma de sales de fosfato cálcico denominado hidroxapatita. Los fosfolípidos son los principales constituyentes de las membranas celulares. Toda la producción y almacenamiento de la energía es dependiente de compuestos fosforilados como el Adenosín trifosfato (ATP) y la creatin-fosfato (CP). Los ácidos nucleicos, responsables del almacenaje y transmisión de la información genética son largas cadenas de moléculas que contiene grupos fosfato. Un número elevado de enzimas, hormonas y mensajeros celulares dependen de la fosforilación para su activación. El fósforo también ayuda a mantener un balance ácido-base adecuado (pH), siendo uno de los tampones más importantes del organismo. El 2,3-difosfoglicerato se une a la hemoglobina en las células rojas sanguíneas y afecta a la liberación de oxígeno en los distintos tejidos (Knochel, 1999).

### **• Ésteres de fosfato ricos en energía**

Muchas de las reacciones de transferencia de energía química en el organismo implican la intervención de ésteres de fosfato. Esto es especialmente cierto para el ATP, que es la principal “moneda energética” de gran parte de reacciones metabólicas, pero también se puede aplicar a más formas especializadas como el GTP, creatinin-fosfato y arginin-fosfato. Estos y otros

nucleótidos adicionales son también las bases para la síntesis del DNA y RNA. Varios nucleótidos como el cAMP también son fundamentales, debido a la función que desempeñan como mensajeros celulares (Kohlmeier, 2003).

- **Organofosfatos**

Un largo espectro de compuestos sintetizados endógenamente, además de los ya mencionados anteriormente, contienen uno o más grupos fosfato formando parte de su estructura. Son necesarias grandes cantidades de varios tipos de fosfolípidos para la formación de membranas celulares, vainas de mielina neuronales, transporte de lípidos con lipoproteínas, facilitar la absorción de lípidos a nivel intestinal, entre otras funciones (Kohlmeier, 2003).

- **Activación de ésteres de fosfato**

El metabolismo de muchos nutrientes transcurre a través de la vía ésteres de fosfato en algún punto para proporcionar la reacción energética necesaria. En este grupo se incluyen los fosfatos de glucosa, fructosa, galactosa y glicerol entre otros. La lista de vitaminas que son activas sólo como ésteres de fosfato incluye: tiamina, riboflavina, piridoxina, niacina y pantotenato. La fosforilación también puede servir para prevenir la salida de dichos nutrientes de la célula y favorecer la absorción por difusión pasiva. Un ejemplo típico de este hecho es la absorción intestinal de vitamina B<sub>6</sub>. La vitamina B<sub>6</sub> libre difunde a través del borde en cepillo del enterocito, participando unos transportadores aún desconocidos y es inmediatamente fosforilada por la piridoxal-quinasa. Puesto que la forma fosforilada no puede retornar y la

concentración intracelular de formas libres es muy baja, la difusión hacia el enterocito continúa mientras existan cantidades significativas en el lumen intestinal (Kohlmeier, 2003).

- **Fosforilación de proteínas**

La actividad de muchas proteínas es regulada a través de la fosforilación y defosforilación. El efecto de un grupo fosfato añadido depende de la proteína en particular. Por ejemplo, la fosforilación inactiva la glicógenosintasa y la defosforilación reactiva el enzima (Kohlmeier, 2003).

- **Capacidad tampón**

Las soluciones acuosas a pH fisiológico (alrededor de 7.4) contienen aproximadamente cuatro quintos del fosfato inorgánico como ión Hidrogenofosfato ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) y casi un quinto como ión dihidrogenofosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ). Esto significa que la cantidad significativa de fosfato inorgánico en las células, fluido extracelular, y sangre actúa como un buffer efectivo, que estabiliza y amortigua los cambios de pH (Kohlmeier, 2003).

- **Polifosfatos**

Algunos tipos de osteoblastos contienen cantidades significativas de polifosfatos (Leyhausen y col., 1998). Estos polifosfatos pueden contener miles de fosfatos unidos a la cadena. La función de estas estructuras no es bien conocida. Se sugiere que podrían actuar almacenando fosfato, inhibiendo la mineralización ósea, quelando iones dibásicos y aminoácidos básicos, en la apoptosis, regulando el pH o protegiendo contra el estrés osmótico, por

ejemplo. Las exopolifosfatasa y en algunos casos las pirofosfatasa liberan iones fosfato de las cadenas de polifosfato (Kohlmeier, 2003).

## **UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE FÓSFORO**

### **REQUERIMIENTOS**

El fósforo se encuentra ampliamente distribuido en los alimentos, especialmente en los que son fuente de proteínas de origen animal (carnes, pescados, huevos, lácteos), en legumbres y frutos secos. Por ello, su deficiencia dietética es prácticamente desconocida. Además, se añaden aditivos ricos en fosfatos a muchos alimentos procesados. Las dietas con una adecuada cantidad de energía y proteína, aportan también cantidades suficientes de fósforo (Calvo y Park, 1996).

Las ingestas diarias recomendadas para el fósforo están basadas en el mantenimiento de un nivel normal de fosfato en el adulto, el cual cubre las necesidades celulares y la formación ósea. La ingesta media de fósforo de un adulto en países industrializados es de 1300 mg/día para el hombre y 1000mg/día para la mujer. La mayoría del fósforo (alrededor del 60%) proviene de la leche, carne, aves, pescado y huevos. Los cereales y las legumbres proporcionan otro 20% y menos del 10% proviene de frutas y zumos. Otras fuentes son té, café y aceites vegetales. La cantidad estimada que proporcionan los aditivos alimentarios es 10% (Calvo y Park, 1996).



**TABLA 8.** Ingestas diarias recomendadas (RDA) de fósforo (modificado de Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, 2001):

<b>Etapa de la Vida</b>	<b>Edad</b>	<b>Hombres (mg/día)</b>	<b>Mujeres (mg/día)</b>
<b>Lactantes</b>	0-6 meses	100	100
<b>Lactantes</b>	7-12 meses	275	275
<b>Niños</b>	1-3 años	460	460
<b>Niños</b>	4-8 años	500	500
<b>Niños</b>	9-13 años	1250	1250
<b>Adolescentes</b>	14-18 años	1250	1250
<b>Adultos</b>	19-30 años	700	700
<b>Adultos</b>	31-50 años	700	700
<b>Adultos</b>	51-70 años	700	700
<b>Adultos</b>	Más de 70 años	700	700
<b>Embarazo</b>	Menos de 18 años	-	1250
<b>Embarazo</b>	19-30 años	-	700
<b>Embarazo</b>	31-50 años	-	700
<b>Lactancia</b>	Menos de 18 años	-	1250
<b>Lactancia</b>	19-30 años	-	700
<b>Lactancia</b>	Más de 30 años	-	700

Los requerimientos de P para la rata son 3000 mg por Kg de dieta, tanto en fase adulta como de crecimiento (Reeves y col., 1993).

## ABSORCIÓN

Se absorben varias formas de fosfatos de la dieta, incluyendo sales de fosfato, nucleótidos y fosfolípidos que son absorbidos con una alta eficiencia (60-70%) en el intestino delgado. Muchas moléculas de organofosfatos son escindidas como paso previo a la absorción del ión fosfato. La fosfatasa alcalina del borde de la membrana en cepillo, por ejemplo, escinde la creatinafosfato. Tanto la fosfatasa inorgánica como la fosfatasa alcalina pueden hidrolizar el pirofosfato.

Los cotransportadores de Na/Pi tipo I y IIb movilizan el Pi y tres iones  $\text{Na}^+$  a través del borde en cepillo (Murer y col., 2001). El transporte debido al transportador tipo I es constante, mientras que la expresión y el transporte del transportador tipo IIb depende de la ingesta de fosfato y la cantidad de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . También existe la posibilidad de que un transportador adicional  $\text{Na}^+$ -independiente opere en la membrana del borde en cepillo.

Se cree que los cotransportadores de sodio tipo III proporcionan un flujo de Pi desde la membrana basolateral para cubrir las propias necesidades del enterocito (Tenenhouse y col., 1998). En relación a los fosfolípidos consumidos con los alimentos, es un hecho conocido que grandes cantidades son secretadas con la bilis y forman micelas con los ácidos biliares, ácidos grasos, colesterol y otro tipo de lípidos. Los fosfolípidos son hidrolizados por la

fosfolipasa A2 del páncreas y la molécula resultante (lisolecitina) es captada desde la micela a través del borde en cepillo de la membrana enterocítica.

En el hígado una proteína específica transportadora de ácidos grasos (L-FABP) colabora para movilizar los lisofosfolípidos a los compartimentos intracelulares. Un ácido graso se une a múltiples lisofosfolípidos y el fosfolípido es exportado con los quilomicrones. Alternativamente, la lisofosfolipasa puede hidrolizar la lisofosfatidilcolina a 3-fosforilcolina, que es exportada y llega al hígado a través de la circulación portal (Murer y col., 2001).

## **DISTRIBUCIÓN Y CAPTACIÓN CELULAR**

### **• Circulación sanguínea**

La mayoría del fosfato circulante está contenido en los fosfolípidos de las lipoproteínas y las membranas de las células sanguíneas. Una menor cantidad circula como ión inorgánico (Pi). La concentración plasmática de fosfato inorgánico es de alrededor de 1 mmol/L si la ingesta es adecuada. El fosfato entra en las células a través del cotransportador de  $\text{Na}^+$ , principalmente a través de los ubicuos cotransportadores de  $\text{Na}^+$  tipo III. Una pequeña diferencia se observa a nivel óseo, donde el cotransportador de  $\text{Na}^+/\text{Pi}$  tipo III bombea fosfato a la matriz extracelular durante la mineralización ósea en las primeras etapas de la vida. El cotransportador de  $\text{Na}^+/\text{Pi}$  tipo III también desempeña un papel importante en la calcificación vascular y de tejidos

blandos que se produce en respuesta a la hiperfosfatemia (Giachelli y col., 2001).

La mayoría del ATP es usado fuera de la mitocondria (por ejemplo proporciona la energía para bombear iones), pero necesita ser reconstituido de nuevo por la fosforilación oxidativa mitocondrial. El transportador de fosfato mitocondrial y los translocadores de adenina son los precursores para la síntesis de ATP en la mitocondria (Giachelli y col., 2001).

- **Barrera hematoencefálica**

El transporte de fosfato a través de la barrera hematoencefálica no es un hecho bien conocido. Es probable que la mayor parte de la transferencia se realice a través de un transporte tipo antiporte que intercambia fosfato por bicarbonato (Lajeunesse y Brunnete, 1988).

- **Transferencia materno-fetal**

El fosfato, que tiene que ser suministrado en grandes cantidades al feto para el crecimiento de sus tejidos y mineralización ósea cruza la placenta a través de un cotransportador de  $\text{Na}^+$  (Lajeunesse y Brunnete, 1988).

## **DEPÓSITOS DE FÓSFORO EN EL ORGANISMO**

El organismo humano adulto contiene entre 0.6 y 1.1% de fósforo (Arunabh y col., 2002), del cual, el 85% se encuentra en el hueso. Los

osteoblastos depositan fosfato en la matriz ósea en forma de cristales de hidroxiapatita. Los cotransportadores Na/Pi tipo III están implicados en la movilización de fosfato a los sitios diana de mineralización extracelulares (Palmer y col., 1999). La liberación de iones fosfato de la fosfoetanolamina y otros ésteres de fosfato por una forma de fosfatasa alcalina tisular no específica (localizada en hígado, riñón y tejido óseo) es un evento muy importante en la mineralización ósea, aunque el mecanismo por el cual se produce no está aún bien dilucidado.

Los osteoclastos disuelven los minerales del hueso creando un microambiente ácido. La ATPasa vacuolar bombea protones generados por la anhidrasa carbónica II a un espacio restringido entre la superficie ósea y el borde sellado por las fibras de actina. Una serie de enzimas hidrolíticas entre las cuales se encuentran fosfatasa ácida tartrato-resistente, proteasas y metaloproteasas, digieren el colágeno y otros elementos de la matriz ósea. Como resultado, los elementos minerales del hueso, incluyendo el fosfato, se liberan y pueden difundir por los capilares sanguíneos cercanos (Palmer y col., 1999).

## ELIMINACIÓN

La mayoría del fosfato se excreta con la orina, pequeñas cantidades se pierden por las heces (descamación de la mucosa intestinal) y la piel. Una filtración glomerular disminuida debido a un fallo renal causa retención de fosfato, debido a la incapacidad de eliminar el exceso.

De los 16 g de fosfato que aproximadamente se filtran por el riñón cada día, la mayoría es reabsorbido. Las pérdidas renales dependen de la cantidad filtrada y de los niveles séricos de Pi. El umbral máximo para el fosfato es una medida de la cantidad máxima de fosfato que puede ser reabsorbida. Todo el fosfato filtrado que sobrepase este umbral es excretado en la orina (Murer y col., 2001).

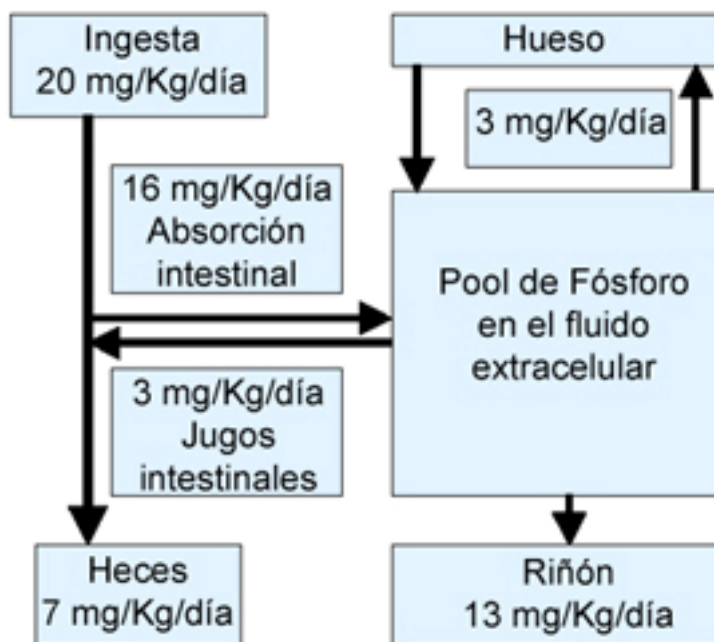
El cotransportador Na/Pi tipo IIa en las células del túbulo proximal renal es el principal responsable de la reabsorción del fosfato. Cantidades mucho menores de fosfato son recuperadas gracias al cotransportador Na/Pi tipo I en el túbulo distal (Murer y col., 2001).

## **REGULACIÓN HOMEOSTÁTICA DEL BALANCE DE FÓSFORO**

El control de las concentraciones de fósforo a través de la absorción intestinal y la conservación renal es crítico para varios procesos biológicos, que incluyen el metabolismo mineral, desarrollo óseo, transferencia de energía, señales celulares y regulación de la función proteica.

La concentración circulante de fosfato depende de la ingesta dietaria de Pi, la absorción intestinal, la filtración y reabsorción renal y del intercambio intracelular y reservorio óseo (Murer y col., 2001).

**FIGURA 3.** Metabolismo del fósforo en humanos (modificado de Schiavi y Kumar, 2004).



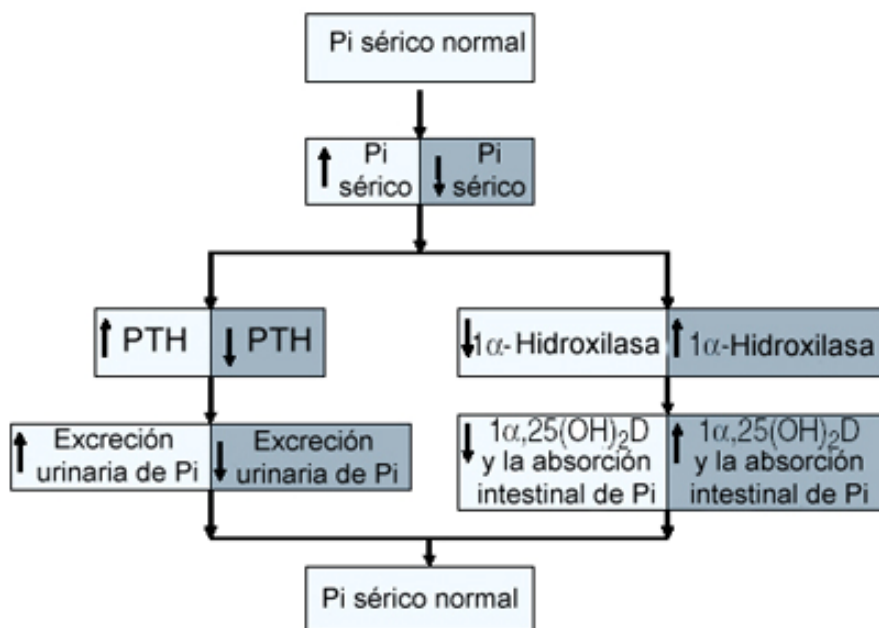
Un adulto normal ingiere aproximadamente entre 1.5 y 2.0 g de Pi por día (20 mg/Kg/día). De esta cantidad, entre 1.0 y 1.2 g (16 mg/Kg/día) es absorbido en el intestino proximal y unos 200 mg (3 mg/Kg/día) son secretados al lumen intestinal, resultando una absorción neta de aproximadamente 1.0 g (13 mg/Kg/día). El fósforo absorbido pasa al fluido extracelular y varía según las necesidades del hueso (3 mg/Kg/día). Aproximadamente 1.0 g se excreta por los riñones de manera que las cantidades absorbidas y eliminadas son

equivalentes. Por tanto, bajo condiciones fisiológicas, la función intestinal y renal actúan manteniendo una homeostasis normal de fósforo y unas concentraciones plasmáticas normales de Pi (entre 2.5 y 4.5 mg/dl).

Las principales hormonas que regulan el metabolismo del fósforo son la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  y la PTH (Murer y col., 2001). La PTH inhibe la reabsorción renal de fosfato y de manera indirecta incrementa la absorción intestinal de fósforo estimulando la síntesis de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . El fósforo tiene un efecto estimulador directo en la secreción de PTH y parece ser que un nivel elevado de Pi en suero es un factor importante que contribuye al hiperparatiroidismo asociado con largos periodos de enfermedad renal crónica (FIGURA 4).



**FIGURA 4.** Influencia del fosfato en la síntesis y actividad de la PTH y la vitamina D (modificado de Schiavi y Kumar, 2004).



La  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  incrementa la absorción intestinal y la reabsorción renal de Pi (Kumar, 2002). La generación de la forma activa de la vitamina  $\text{D}_3$ ,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  es regulada por el Pi de la dieta, concentraciones séricas de Pi y la PTH. El Pi extracelular regula la actividad y síntesis de la  $25(\text{OH})\text{D}_3$   $1\alpha$ -hidroxilasa, de manera que bajas concentraciones de Pi incrementan su síntesis y actividad y altas concentraciones de Pi producen el efecto contrario en la  $25(\text{OH})\text{D}_3$   $1\alpha$ -hidroxilasa.

**TABLA 9.** La regulación de la homeostasis del fosfato en el riñón ocurre principalmente en el túbulo proximal y es controlada por varios factores que pueden incrementar o disminuir la reabsorción de Pi (Murer y col., 2001):

<b><u>Factores que disminuyen la reabsorción de Pi</u></b>	<b><u>Factores que aumentan la reabsorción de Pi</u></b>
Sobrecarga de Pi	Depleción de Pi
Hormona paratiroidea/cAMP	Extirpación del paratiroides
Expansión del Volumen	Contracción del volumen
Hipercalcemia	Hipocalcemia
Inhibidores de la anhidrasa carbónica	1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>
Glucosa y Alanina	Hormona del crecimiento (GH)
Desequilibrios ácido-base	
Incrementos de bicarbonato	
Hipercapnia	
Inhibidores metabólicos	

El fósforo inorgánico plasmático filtra libremente en el glomérulo. Aproximadamente el 80% del fosfato filtrado es reabsorbido junto con el sodio a través de cotransportadores específicos Na-Pi IIa, localizados en el túbulo proximal.

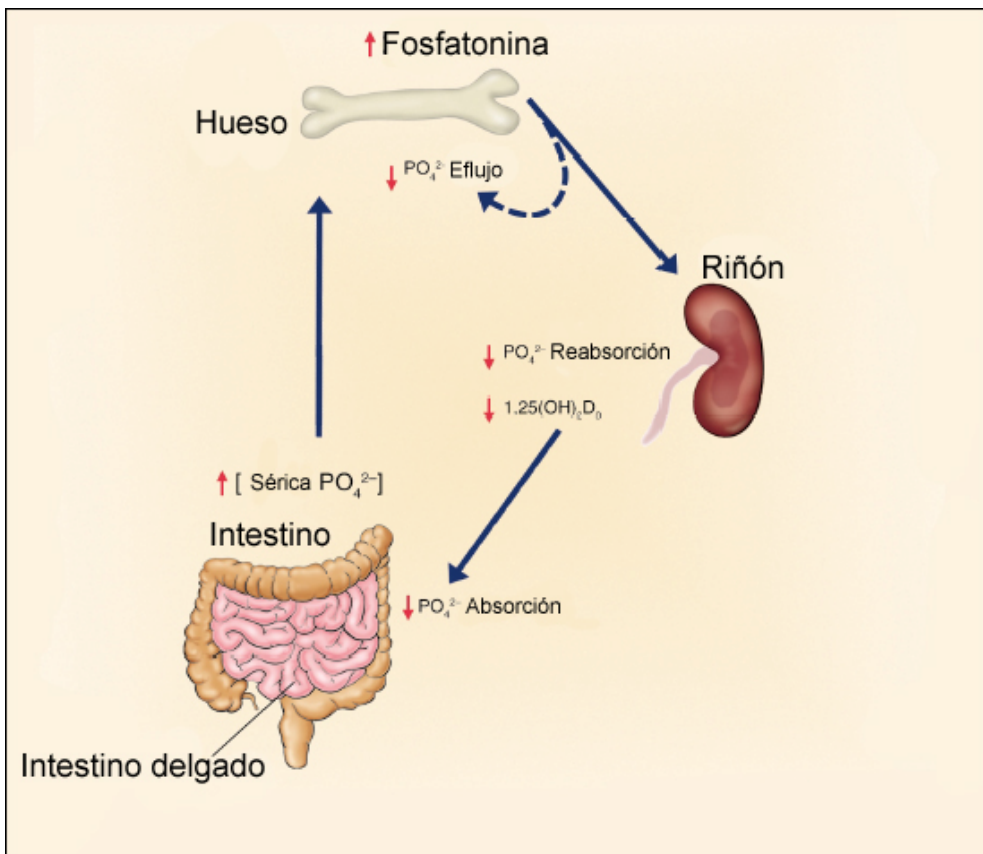
La regulación de la reabsorción de fosfato en el riñón es llevada a cabo controlando el número de cotransportadores Na-Pi Ila presentes en la superficie del borde en cepillo de las membranas proximales. Estudios actuales evidencian que un descenso agudo de Pi presente en la dieta conduce a un reclutamiento de cotransportadores Na-Pi Ila de un pool intracelular (Levi y col., 1996), mientras que cambios crónicos en el Pi dietario regulan los cotransportadores Na-Pi Ila a través de mecanismos de transcripción (Miyamoto e Itho, 2001). La administración crónica de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  y PTH también modula la expresión génica de Na-Pi Ila (Friedlander y col., 2001). Una elevación de los niveles de PTH rápidamente reduce el número de transportadores Na-Pi Ila, retirándolos de la superficie celular y degradando los lisosomas resultantes (Hernando y col., 2001).

La absorción intestinal de fosfato ocurre a través de dos mecanismos: transporte pasivo no regulado y mecanismos de transporte activo regulados. El cotransportador Na-Pi Iib localizado principalmente en el yeyuno actúa como mediador en el transporte activo intestinal de fosfato y parece que está regulado a nivel transcripcional por la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Hernando y col., 2000). Sin embargo, este hecho no conlleva la retirada de cotransportadores en respuesta a la PTH. Los mecanismos que controlan la liberación de calcio y fosfato de los pools intracelular y óseo no están todavía bien dilucidados.

Además de estos mecanismos bien conocidos, en la actualidad existe una clase nueva de proteínas reguladoras de fosfato, que son las denominadas “fosfatonas” (Jan de Beur y Levine, 2002). La fosfatona desempeña un

papel importante, modulando la reabsorción renal de fósforo y la producción de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ .

**FIGURA 5.** Regulación de la reabsorción renal de fósforo y la mineralización ósea a través de la fosfatonina (modificado de Quarles, 2003).



La fosfatonina (una hormona fosfática) estimula la excreción renal de fosfato. Se cree que los osteoblastos son las células encargadas de producir la

fosfatonina. Un incremento en la liberación de fosfatonina conduce a un efecto autocrino para regular la mineralización ósea y una serie de efectos sistémicos que producen fosfaturia.

#### **4.- EL MAGNESIO EN LA NUTRICIÓN**

##### **INTRODUCCIÓN**

El magnesio es un mineral esencial en los humanos, con múltiples funciones bioquímicas y fisiológicas como la activación de enzimas, implicación en múltiples rutas metabólicas, regulación de los canales de membrana y contracción muscular (Schweigel y Martens, 2000).

El magnesio está almacenado principalmente en el hueso y los compartimentos intracelulares de los tejidos blandos. Menos del 1% del magnesio total del organismo está circulando en sangre. En sujetos normales, los niveles séricos se mantienen en un rango estrecho de concentración (0.7-1.1 mmol/l). La homeostasis del magnesio depende del balance entre la absorción intestinal y la excreción renal (Kerstan y Quamme, 2002).

##### **FUENTES ALIMENTARIAS DE MAGNESIO**

Puesto que el magnesio es parte de la clorofila (el pigmento verde de las plantas), los vegetales con hojas verdes son ricos en dicho elemento. Los granos sin refinar (integrales) y los frutos secos también tienen un elevado

contenido de magnesio. La carne, la leche y los derivados lácteos tienen un contenido intermedio y los alimentos refinados tienen muy bajo contenido de magnesio. El agua potable es una fuente variable de magnesio. Las “aguas duras” (con elevado contenido de calcio) usualmente tienen una concentración más elevada de magnesio que las “blandas” (Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, 2001).

**TABLA 10.** Contenido en magnesio de algunos alimentos (modificado de Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, 2001; Sabatier y col., 2002):

<i>ALIMENTO</i>	<i>PORCIÓN</i>	<i>MAGNESIO (mg)</i>
<i>Cereales ricos en fibra</i>	½ taza	129
<i>Arroz integral</i>	1 taza, cocinado	84
<i>Almendras</i>	30 g	82
<i>Espinacas</i>	½ taza, cocinadas	78
<i>Cacahuetes</i>	30g	50
<i>Avellanas</i>	30g	49
<i>Banana</i>	1, mediana	34
<i>Leche</i>	250 ml	34

## INTERACCIÓN CON OTROS NUTRIENTES

### • Cinc

Dosis elevadas de cinc en forma de suplementos, parecen interferir con la absorción de magnesio. Un suplemento de cinc de 142 mg/día en hombres adultos sanos disminuye la absorción y balance de magnesio de forma significativa (Spencer y col., 1994).

### • Fibra

Incrementos elevados en la ingesta de fibra disminuyen la utilización nutritiva de magnesio, como queda demostrado en numerosos estudios experimentales. Sin embargo, no es un hecho claro la magnitud en la cual la fibra de la dieta afecta al status nutricional del magnesio en individuos con una dieta variada (Shils, 1999).

### • Proteína

La cantidad de proteína en la dieta puede afectar a la absorción de magnesio. Un estudio reveló que la absorción fue menor cuando la ingesta proteica era inferior a 30 g/día. Ingestas proteicas más elevadas (93 g/día) se asociaron con una mejor absorción de magnesio en adolescentes (Shils, 1999).

### • Vitamina D y calcio

La forma activa de la vitamina D (calcitriol) puede incrementar ligeramente la absorción intestinal de magnesio (Lisbona y col., 1994). Sin

embargo, la absorción de este elemento parece que no depende del calcitriol como en el caso del calcio y el fosfato. Elevadas ingestas de calcio no afectan a la utilización nutritiva de magnesio, como revelan varios estudios de balance. Unos niveles plasmáticos inadecuados de magnesio se traducen en bajos niveles de calcio plasmáticos, resistencia a la PTH y resistencia a algunos efectos de la vitamina D (Shils, 1999).

## **FUNCIONES DEL MAGNESIO**

El magnesio está involucrado en más de 300 reacciones metabólicas esenciales para el correcto funcionamiento celular (Shils, 1999).

### **• Producción de energía**

El metabolismo de los carbohidratos y grasas para producir energía requiere numerosas reacciones químicas dependientes de magnesio. El magnesio se requiere para la síntesis proteica mitocondrial. El ATP, la molécula que proporciona energía para casi todos los procesos metabólicos, existe de forma primaria como un complejo con magnesio (MgATP) (Higdon, 2003).

### **• Síntesis de biomoléculas esenciales**

El magnesio se requiere en una serie de reacciones durante la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. Un elevado número de enzimas implicadas en la síntesis de carbohidratos y lípidos requieren la presencia de este elemento como



cofactor. El glutatión, un importante antioxidante, también requiere magnesio para su síntesis (Higdon, 2003).

- **Función estructural**

El magnesio desempeña un importante papel estructural en el hueso, la membrana celular y los cromosomas. También es necesario para el transporte activo de iones como el  $K^+$  y el  $Ca^{2+}$  a través de las membranas celulares. Debido a su papel en el transporte iónico, el magnesio afecta a la conducción nerviosa, la contracción muscular y la frecuencia cardíaca (Higdon, 2003).

- **Mensajero celular**

El MgATP es requerido para la fosforilación de proteínas y la formación de mensajeros celulares como el AMPc. El AMPc está implicado en muchos procesos, incluyendo la secreción de la PTH por las glándulas paratiroides (Higdon, 2003).

- **Migración celular**

Los niveles de calcio y magnesio en el líquido extracelular afectan a la migración de ciertos tipos de células. Este efecto en la migración celular puede afectar al proceso de cicatrización de heridas (Higdon, 2003).

## UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE MAGNESIO

### REQUERIMIENTOS

Los requerimientos de magnesio están basados en la cantidad de mineral necesaria para prevenir la deficiencia y mantener un estado de salud óptimo.

**TABLA 11.** Ingestas diarias recomendadas (RDA) de magnesio (modificado de Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, 2001):

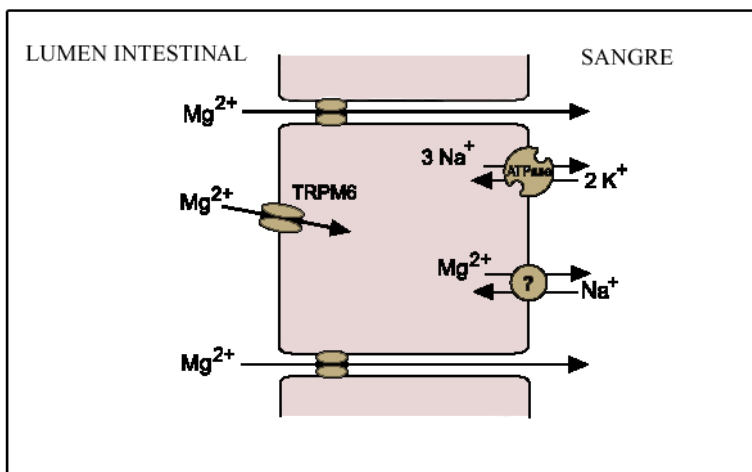
Etapa de la Vida	Edad	Hombres (mg/día)	Mujeres (mg/día)
<b>Lactantes</b>	0-6 meses	30	30
<b>Lactantes</b>	7-12 meses	75	75
<b>Niños</b>	1-3 años	80	80
<b>Niños</b>	4-8 años	130	130
<b>Niños</b>	9-13 años	240	240
<b>Adolescentes</b>	14-18 años	410	360
<b>Adultos</b>	19-30 años	400	310
<b>Adultos</b>	Más de 30 años	420	320
<b>Embarazo</b>	Menos de 18 años	-	400
<b>Embarazo</b>	19-30 años	-	350
<b>Embarazo</b>	Más de 30 años	-	360
<b>Lactancia</b>	Menos de 18 años	-	360
<b>Lactancia</b>	19-30 años	-	310
<b>Lactancia</b>	Más de 30 años	-	320

Los requerimientos de magnesio para la rata son 513 mg/Kg de dieta, en fase de crecimiento y 511 mg/Kg de dieta en fase adulta (Reeves y col., 1993).

## ABSORCIÓN

El principal lugar de absorción de magnesio es el intestino delgado, en particular el íleon. Cantidades menores de magnesio también se absorben en el colon. La absorción intestinal de magnesio ocurre a través de dos rutas principales: un transporte activo transcelular saturable y un transporte pasivo paracelular no saturable (FIGURA 6) (Kerstan y Quanme, 2002; López-Aliaga y col., 2003).

**FIGURA 6.** Modelo de absorción intestinal de magnesio (modificado de Konrad y col., 2004):



- **Transporte transcelular saturable**

El movimiento neto de un ión en ausencia de gradientes electroquímicos y su dependencia de la energía metabólica evidencia la presencia de un mecanismo activo, presumiblemente celular. De acuerdo con este criterio, el transporte de magnesio en dirección a las membranas mucosa y serosa es parcialmente celular en el íleon y colon, mientras que el flujo en dirección inversa es puramente difusivo (Jüttner y Ebel, 1998).

El transporte transcelular intestinal de magnesio se puede considerar como un proceso en tres pasos, consistente en: (a) entrada a la célula epitelial desde el lumen, (b) tránsito a través del citosol y (c) extrusión desde la célula a través de la membrana basolateral.

La entrada de magnesio a la célula intestinal a través del borde en cepillo o membrana apical no requiere energía metabólica, puesto que dicho elemento se mueve gracias al gradiente electroquímico.

La concentración de magnesio en el lumen intestinal es variable, pero se mantiene en un rango de entre 0.5 y 2 mM durante el ayuno y aumenta hasta 45 mM tras ingerir alimentos. Aunque el magnesio celular total es relativamente alto (3-6 mM/mg de peso fresco), la concentración de magnesio intracelular libre se mantiene entre 0.4 y 1 mM debido a estas diferencias de concentración, se crea una diferencia de potencial negativa entre el exterior y el interior de la célula (Schweigel y col., 1999).

En la actualidad no hay datos concluyentes acerca de la extrusión de magnesio a través de la membrana basolateral. Probablemente no exista (o si lo hay es mínimo) un gradiente químico para el magnesio a través de esta membrana. El gradiente eléctrico ascendente para la salida de un catión tal como el magnesio sugeriría la participación de un transporte activo primario (bombeo de  $Mg^{2+}$ ) o secundario (intercambio  $Mg^{2+}/Na^+$ ) (Schweigel y Martens, 2000).

La cinética de saturación del sistema de transporte transcelular se explica por la capacidad limitada del transporte activo. A bajas concentraciones intraluminales el magnesio es absorbido principalmente a través de la ruta transcelular y a concentraciones superiores, se absorbe básicamente a través de la ruta paracelular (Konrad y col., 2004).

- **Transporte paracelular no saturable**

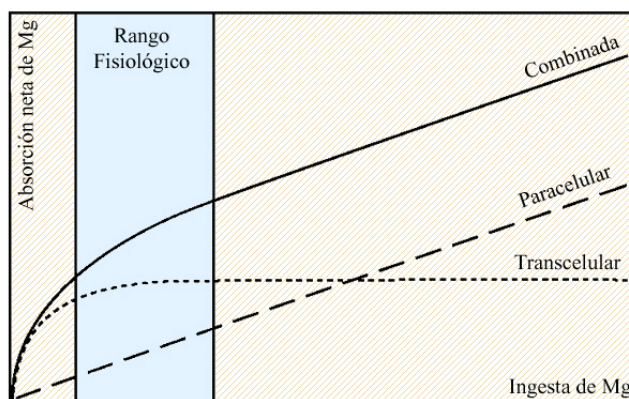
El movimiento pasivo de magnesio es más efectivo en el epitelio de los segmentos proximales del tracto gastrointestinal (intestino delgado), donde solo una pequeña fracción de la conductividad total del tejido puede ser atribuida al flujo transcelular del ión a través de las membranas mucosa y serosa. El resto (al menos el 85%) es una consecuencia del movimiento de iones, principalmente  $Na^+$ ,  $K^+$  y  $Cl^-$  gracias a la alta conductividad y baja resistencia de las rutas extracelulares.

El aumento paralelo de la absorción neta de magnesio con el contenido de dicho elemento en la dieta, sugiere que la absorción de magnesio se realiza

principalmente a través de un proceso de difusión pasiva (Hardwick y col., 1990).

El flujo y dirección del transporte pasivo de magnesio a través de la ruta paracelular está exclusivamente determinado por gradientes electroquímicos. Sin embargo esto no implica que el flujo pasivo de magnesio a través de la ruta paracelular no esté completamente regulado. Existen evidencias de que la absorción de magnesio está relacionada con la concentración luminal del mismo a través de una función curvilínea (FIGURA 7) (Konrad y col., 2004)

**FIGURA 7.** Absorción intestinal de magnesio frente a ingesta. La función curvilínea resulta de la combinación del transporte paracelular y transecelular (modificado por Konrad y col., 2004):



## **DISTRIBUCIÓN Y CAPTACIÓN CELULAR**

### **● Circulación sanguínea**

El 55% del magnesio en plasma (entre 0.7-1.1 mmol/L) está en forma ionizada. Una fracción más pequeña (33%) se encuentra unida a proteínas y el resto (12%) formando complejos con distintos aniones. Las células captan el magnesio a través de un transportador que intercambia sodio. Los nucleótidos forman complejos con la mayoría del magnesio intracelular, manteniendo las concentraciones de magnesio libre ionizado por debajo de 1 mmol/L (Romani y col., 1993).

### **● Barrera hematoencefálica**

Las concentraciones de magnesio en el fluido cerebroespinal y cerebro parecen estar reguladas de forma independiente y no están relacionadas con la concentración sanguínea. Los mecanismos de transporte a través de la barrera hematoencefálica no están aún bien estudiados (Gee y col., 2001).

### **● Transferencia materno-fetal**

Proporcionalmente pasa mucho menos magnesio de la madre al feto que con otros cationes divalentes similares como el calcio, lo cual indica que los mecanismos de transporte no son compartidos. La manera exacta en la que el magnesio atraviesa la barrera placentaria no está claro todavía (Gee y col., 2001).

## DEPÓSITOS DE MAGNESIO EN EL ORGANISMO

El organismo de un adulto contiene unos 25 g de magnesio, almacenado principalmente en el hueso y los compartimentos intracelulares de los tejidos blandos. Menos del 1% del total del organismo está circulando en sangre. En sujetos normales, los niveles séricos se mantienen en un rango estrecho de concentración (0.7-1.1 mmol/l) (Kerstan y Quamme, 2002).

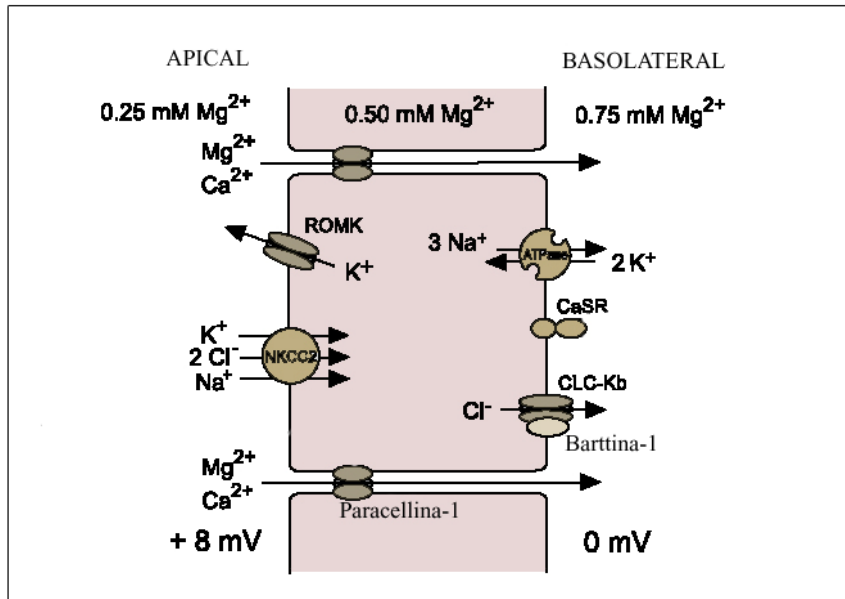
## ELIMINACIÓN

El magnesio libre ionizado ( $Mg^{2+}$ ) y el magnesio complejado con pequeños iones, que constituyen la mayoría (80%) del magnesio circulante son filtrados fácilmente en el glomérulo renal (en condiciones normales más de 2g/día). Los individuos sanos pierden menos del 5% del magnesio filtrado en la orina. Una parte del magnesio luminal es recuperado de los túbulos proximales, una mayor proporción (70%) del asa de Henle ascendente y otra pequeña proporción del túbulo distal (Cole y Quanme, 2000). La reabsorción de magnesio ocurre en una considerable proporción debido al movimiento del elemento entre las células epiteliales.

Determinadas proteínas complejas sellan estos espacios intercelulares. La Claudina 16 (pracellina 1) es una proteína que controla el paso del magnesio a través de la ruta paracelular (Weber y col., 2001).



**FIGURA 8.** Reabsorción de magnesio en el Asa de Henle (Konrad y col., 2004):



## REGULACIÓN HOMEOSTÁTICA DEL BALANCE DE MAGNESIO

La reabsorción renal del filtrado primario es el principal mecanismo de control del contenido de magnesio en el organismo. Las pérdidas urinarias se relacionan estrechamente con las concentraciones sanguíneas de calcio y magnesio así como con la cantidad de magnesio presente en la dieta. La 1,25-dihidroxitamina D estimula la reabsorción de magnesio en el túbulo distal, posiblemente porque la inducción de la calbindina 9K promueve el transporte transcelular (Ritchie y col., 2001). El receptor extracelular de calcio/magnesio

(Castr) en la superficie externa de la membrana basolateral responde a la concentración de iones divalentes modulando la permeabilidad de las uniones intercelulares y el voltaje transepitelial. Puesto que las concentraciones iónicas de calcio y magnesio disminuyen en el espacio pericapilar adyacente a la membrana basolateral (y en el lumen capilar), se incrementa la absorción de ambos iones (Cole y Quamme, 2000).

La PTH, calcitonina, hormona antidiurética y el glucagon también pueden disminuir las pérdidas renales, pero su importancia en el mantenimiento de la homeostasis del magnesio parece ser menor y no está aún bien estudiada. La PTH también puede promover el transporte activo de la absorción intestinal (Rude, 2000).

## **5.- EL COBRE EN LA NUTRICIÓN**

### **INTRODUCCIÓN**

El cobre es el tercer elemento traza más importante del organismo (Johnson, 1990). Es un nutriente esencial para todas las especies animales, y su deficiencia puede provocar graves trastornos del crecimiento y del metabolismo (Davis y Merts, 1987).

Su importancia radica en su participación en numerosos procesos fisiológicos (Danks, 1988) resultado esencial para el normal desarrollo del hueso, sistema nervioso central y tejido conectivo, así como en la prevención

de situaciones patológicas como las enfermedades cardiovasculares (Kopp y col., 1983) y el cáncer (Beach y col., 1982; Greene y col., 1987) entre otros.

Así se ha descubierto que el cobre se localiza en el centro activo de muchas metaloenzimas y proteínas implicadas en distintas vías metabólicas, y que algunas de estas metaloenzimas son esenciales para la correcta utilización del hierro (Davis y Mertz, 1987).

El cobre es uno de los elementos traza más tóxicos para el organismo. Su transporte, almacenamiento y metabolismo, en general, son procesos que se llevan a cabo mediante sistemas que operan con alta especificidad y completa seguridad para proteger a las células contra los posibles efectos tóxicos del cobre (Harris, 1991)

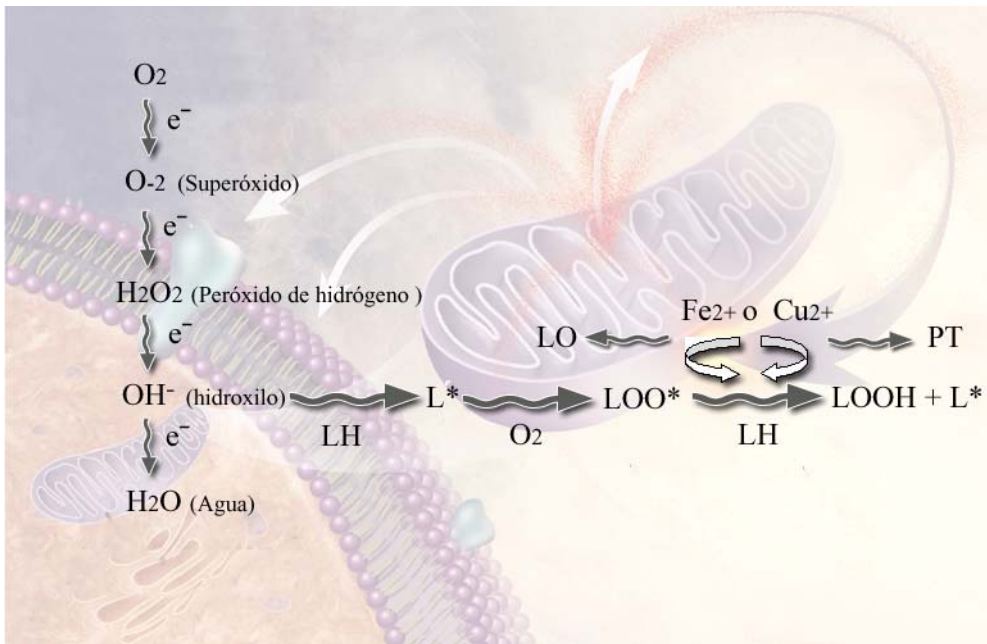
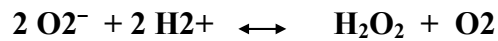
En solución, así como en los organismos vivos el cobre se encuentra casi exclusivamente en estado de valencias +2 y +1, de las que predomina la primera (Linder, 1991).

### **FUNCIONES DEL COBRE**

El cobre es un constituyente esencial de diversos enzimas (oxigenasas) que participan en reacciones en las que el oxígeno molecular o especies similares (radicales superóxido) son consumidos, formándose normalmente peróxido de hidrógeno o agua. Como ejemplo podemos citar la

siguiente reacción catalizada por la superóxido dismutasa (CuZn-SOD).

**FIGURA 10:** Especies reactivas derivadas del oxígeno en los sistemas biológicos. LH, Lípidos, L\* radical lipídico, LOO\* radical peróxido, LO\* radical alcoxi, LOOH hidroperóxidos, PT productos tóxicos (Strain, 1994).



Además, el cobre también forma parte de otras enzimas implicadas en numerosos procesos fisiológicos tan importantes como la mielinización y síntesis de cerebrósidos.

**TABLA 12.** Enzimas dependientes de cobre:

<b>Enzimas dependientes de cobre</b>	<b>Funciones</b>
<b>Ceruloplasmina ( Ferroxidasa I )</b>	<b>Transporte del ión ( <math>Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}</math> )</b>
<b>Ferroxidasa II</b>	<b>Transporte del ión ( <math>Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}</math> )</b>
<b>Tirosinasa</b>	<b>Formación de melanina</b>
<b>Monoaminoxidasa</b>	<b>Oxidorreducción</b>
<b>Lisiloxidasa</b>	<b>Enlace cruzado colágeno-elastina</b>
<b>Citocromo c oxidasa</b>	<b>Fosforilación oxidativa mitocondrial</b>
<b>Dopamina hidroxilasa</b>	<b>Biosíntesis catecolaminas</b>
<b>Superóxido dismutasa</b>	<b>Protección eritrocito de radicales libres</b>

- **Cobre como pro-oxidante**

Las especies reactivas derivadas del oxígeno pueden oxidar la biomolécula conduciendo a la muerte celular y daño tisular. De éstos, el radical hidroxilo es el más reactivo y generalmente es el iniciador de reacciones en cadena mediadas por radicales libres que afectan a la biomolécula.

Aunque la mayor parte de las biomoléculas pueden ser atacadas, los ácidos grasos polinsaturados constituyentes de las membranas celulares, son probablemente los más susceptibles a la iniciación y propagación de las reacciones en cadena. La ruptura de los hidroperóxidos lipídicos para formar otros radicales y productos tóxicos en esa cadena de reacciones parece estar

catalizada por iones metálicos de transición como el hierro y el cobre. El cobre ha sido reconocido como el catalizador más efectivo “in vitro” en las modificaciones oxidativas de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), lo que sugiere una actividad como pro-oxidante y un probable papel en la arteriosclerosis (Esterbauer y col., 1992).

Diversos estudios han asociado incrementos séricos de cobre o ceruloplasmina, la mayor proteína transportadora de cobre en suero, con incrementos en el riesgo de isquemia cardiaca (Kok y col., 1988; Salonen y col., 1991a) .Han concluido que los altos niveles séricos de cobre son un factor independiente de riesgo en la isquemia cardiaca, y que hay evidencia de un efecto sinérgico de cobre, bajas concentraciones de selenio y los niveles de LDL en la aterogénesis (Salonen y col., 1991 b).

- **Cobre como antioxidante**

No debe sorprender que los efectos del cobre sean distintos “in vivo” que “in vitro”. La mayor parte del cobre corporal se encuentra unido a proteínas de almacenamiento y transporte, en formas que no pueden actuar como prooxidantes. Además, actualmente existen muchas evidencia de que se requiere un nivel adecuado de cobre para evitar el estrés oxidativo, y que en animales la deficiencia de cobre tiene un efecto prooxidante (Strain, 1994).

Además de la ceruloplasmina, la deficiencia de cobre afecta a otras enzimas con actividad antioxidante. Las alteraciones de los niveles de cobre pueden dar lugar a cambios en la actividad de diversas cobre-enzimas que

pueden afectar la producción de especies reactivas derivadas del oxígeno tal como la Cu-Zn superóxido-dismutasa (CuZn-SOD). La presencia de esta enzima en los eritrocitos explica el papel del cobre en el proceso eritropoyético.

Los cambios en el estatus del cobre también pueden afectar a otras enzimas con propiedades antioxidantes que no contienen cobre, como la glutathion peroxidasa (GSH-Px) y la Fe-catalasa. La deficiencia de cobre da lugar a una menor concentración de RNAm hepático de la GSH-Px y catalasa; estos resultados sugieren que el estatus en cobre tiene un efecto regulador sobre estas enzimas a nivel molecular que afecta su expresión genética.

Trabajos adicionales han indicado que el déficit de cobre disminuye la actividad y el contenido de CuZn-SOD y del RNAm del enzima en hígado y corazón, mientras que no afecta al cerebro (Lai y col., 1994).

#### ● **Cobre y aterosclerosis**

El incremento de estrés oxidativo ocasionados por la deficiencia de cobre puede ayudar a explicar la hipercolesterolemia presente en situaciones de aterosclerosis. La deficiencia de cobre incrementa la actividad de la 3-hidroxi-3metilglutarilCoA reductasa (Lei, 1991); la disminución de cobre induce a una hipercolesterolemia. (Strain, 1994). Además, el déficit de cobre incrementa la susceptibilidad de las lipoproteínas VLDL a la peroxidación “in vitro” (Rayssiguier y col., 1993); sin embargo, la contribución de la hipercolesterolemia y susceptibilidad al estrés oxidativo a

la aterosclerosis en los animales deficientes en cobre, es controvertido y requiere más investigaciones (Strain, 1994) .Esta relación entre la cantidad de cobre en la dieta y metabolismo del colesterol y lipoproteínas se ha observado en trabajos de ratas

#### • **Cobre como protector cardiaco**

El déficit de cobre produce lesiones cardiacas e hipertrofias que con frecuencia conducen a la muerte. Los incrementos en el tamaño de las miofibrillas y mitocondrias, parecen ser los responsables de la hipertrofia.

Entre los posibles factores iniciadores que pueden conducir a la hipertrofia cardiaca y/o cardiomiopatía debe incluirse el descenso de la actividad de enzimas dependientes de cobre como la lisiloxidasa, CuZn-SOD, citocromo -C-oxidasa y dopamina - $\beta$ hidroxilasa (enzima que convierte la dopamina en noradrenalina). Se ha propuesto que los cambios en las concentraciones, pueden contribuir a desarrollar hipertrofia cardiaca (Strain, 1994).

Los estudios realizados indican que las dietas pobres en cobre, dan lugar a daños estructurales en las mitocondrias cardiacas, los cuales se asocian a un descenso en la actividad de la citocromo-C-oxidasa, pero no se observan diferencias en la capacidad de fosforilación (cantidad de ADP fosforilado por unidad de oxígeno consumido) (Bode y col., 1992) . El descenso de la CuZn-SOD y ceruloplasmina, disminuye la producción antioxidante del tejido y podría estar asociada con la menor actividad de la



citocromo-C-oxidasa (Strain, 1994).

- **Cobre como antitrombótico**

La síntesis de NO (óxido nitroso) en el endotelio vascular, es necesaria para mantener las arterias en una situación activa de vasodilatación, pero también se requiere para la lubricación de la superficie luminal de las paredes vasculares, y de este modo prevenir la adhesión de las plaquetas a dicha superficie, complementando la acción de la prostaciclina.

Las especies reactivas derivadas del oxígeno, pueden interferir con el NO y/o prostaciclina. Los mecanismos más probables para explicar estas interacciones observadas en la deficiencia de cobre, son el incremento de NO por las altas concentraciones de superóxido y la inhibición por hidroperóxidos de la prostaciclina (Strain, 1994). Dichas interferencias podrían explicar la interferencia masiva atrial observadas en ratones deficientes en cobre (Klevay, 1985).

## **FUENTES ALIMENTARIAS DE COBRE Y BIODISPONIBILIDAD**

Se encuentra en altas concentraciones en la porción germinal de las semillas de los cereales integrales; por ello, las personas sometidas a regímenes vegetarianos, no suelen mostrar síntomas de deficiencia. Otras fuentes de cobre, son las nueces, leguminosas, hígado, crustáceos y moluscos. La carne, leche y derivados lácteos, cereales refinados y productos

de panadería son alimentos con contenido relativamente bajo en cobre.

Casi todo el cobre que penetra en el aparato digestivo del hombre, procede de los alimentos sólidos, más que de los líquidos o el agua. Las fuentes alimentarias varían unas 100 veces su contenido en cobre, desde valores tan bajos como 0'3 µg/g en algunas verduras, a tan altos como 37 µg/g en las nueces y en los mariscos (Linder, 1991).

En general, las ostras y los moluscos, alcanzan las mayores concentraciones (12-37 µg/g como promedio); a continuación se encuentran las nueces (3-37 µg/g); los cereales, otras semillas y legumbres (3-8 µg/g); el pescado (2-3 µg/g); las aves (0'5-3 µg/g); las verduras (0'3-3 µg/g); las frutas (0'4-1'5 µg/g) y la carne (0'9-1 µg/g).

De las semillas y otros cereales, el salvado y el germen son los que tienen la mayor parte del elemento, por lo que las harinas refinadas carecen en gran parte del cobre que contenían originalmente. Aunque las cañerías que la transportan sean de cobre, la cantidad de cobre presente en el agua corriente es mínima (Linder y Hazegh-Azam, 1996).

Por vía oral el cobre es poco tóxico. El hombre sano puede llegar a tolerar una ingesta de 200 mg/ día durante un tiempo prolongado. Los efectos tóxicos del cobre, son causados tanto por el propio catión, como por su interferencia en la absorción del hierro y cinc.

## UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE COBRE

### REQUERIMIENTOS

El uso de la técnica del balance no es muy fiable para evaluar los requerimientos de cobre, debido a la alta regulación hemostática de la absorción del metal que puede aumentar o disminuir, en respuesta a la ingesta alta o baja respectivamente (Turnlund y col., 1989). Así, los estudios basados sobre la técnica de balance, estiman los requerimientos en los adultos entre 2'0 y 2'6 mg de cobre por día, cifra que no coincide con trabajos posteriores.

A fin de establecer el estado de cobre corporal, resultan más fiables los índices bioquímicos específicos, y quizá el más representativo es la actividad de la superóxido-dismutasa Cu-Zn, que resulta ser particularmente sensible a los cambios en el estado del cobre (Uauy y col., 1985).

El requerimiento funcional de cobre para adultos y adolescentes, está estimado en 1'0 mg/día, suponiendo que aproximadamente se absorbe el 50% del cobre ingerido, y las recomendaciones para hombres adultos de 20 a 59 años son de 1'25 mg/día (ILSI, Europe, 1990).

Los requerimientos de cobre en ratas se estiman en 6 mg/Kg de dieta (AIN, 1993). La importancia como micronutriente esencial para ratas, la demostraron en 1928, Hart y col.

Estos datos coinciden con los encontrados por Solomons (1988), en sus investigaciones sobre ingestas adecuadas recomendadas para el hombre y los animales.

**TABLA 13.** Ingesta recomendada de cobre (mg/ día):

	<b>Edad ( años )</b>	<b>RDA ( mg/día )</b>
<b>Bebés</b>	0'0-0'5	0'4-0'6
	0'5-1'0	0'6-0'7
<b>Niños</b>	1-3	0'7-1'0
	4-6	1'0-1'5
	7-10	1'0-2'0
<b>Adolescentes</b>	>11	1'5-2'5
<b>Adultos</b>		1'5-3'0

### **ABSORCIÓN**

El cobre es absorbido en la mayor parte de los segmentos del tracto gastrointestinal, aunque la mayor y más rápida absorción de cobre tiene lugar en el estómago y duodeno proximal, más que en secciones distales el intestino, y se piensa que la razón podría estar en el mayor número de transportadores, aunque está sin demostrar.

A diferencia del cinc, la acidez gástrica favorece la disociación de los complejos de cobre dietario facilitando su absorción de forma soluble, como

se confirma con la rápida aparición en la circulación (Solomons, 1988). Sin embargo, la mayor porción del cobre dietario pasa a nivel del duodeno e ileon, donde tiene lugar la mayor absorción. Ya que la alcalinidad del intestino dificulta su solubilidad, el cobre debe formar complejos con aminoácidos, ácidos orgánicos y otros quelantes para mantenerse soluble en esta región del tracto intestinal. El pH es por tanto, un determinante crítico de la eficiencia de la absorción.

Linder (1991) afirma sin embargo, que en el hombre y los animales, la absorción de cobre se produce fundamentalmente en el yeyuno, aunque el resto del intestino delgado (y quizá incluso el cólon) es también capaz de captarlo. No se sabe si existe asimismo una absorción gástrica.

En estudios con ratas, se han descrito tasas de absorción del 30% al 50% (en 24 horas) con ingestas situadas dentro de los límites normales. La eficiencia de la captación cae a plomo hasta menos de 10% en casos de ingesta excesiva. Se ha comprobado que tanto en el hombre como en la rata, la captación responde al menos parcialmente a las necesidades, lo que indica la existencia de algún tipo de regulación endógena de la absorción. Esta se realiza por un proceso de dos pasos en el que intervienen la captación (probablemente de la forma  $\text{Cu}^{2+}$ ) hacia el interior de las células mucosas a través del borde en cepillo, y la transferencia a través de la membrana basolateral para penetrar en la sangre y los tejidos internos.

- **Mecanismos de absorción**

Son dos los mecanismos implicados en la captación celular de cobre:

- **Un transporte activo** del metal en asociación con complejos de aminoácidos. Este componente constituye la menor vía de transporte.

- **Una difusión facilitada** mediante transportador, no dependiente de glucosa (Solomons, 1988); constituye la vía mayoritaria.

Existen datos que indican que la captación por el borde en cepillo se hace por una difusión no mediada, mientras que la transferencia serosa se efectúa principalmente por un transportador saturable dependiente de la energía (Linder, 1991).

La captación hacia las células mucosas no garantiza el posterior paso hacia la sangre, ya que cantidades variables son retenidas y devueltas por las proteínas de estas células, especialmente la metalotioneína.

La concentración de los transportadores basolaterales puede variar según la situación fisiológica e incluso quizás según el estado del cobre, aunque este aspecto está aún por estudiar.

Probablemente el transportador de la membrana basolateral responsable de bombear el cobre hacia la sangre y el líquido intersticial, es la ATP-asa tipo P, recientemente clonada en conexión con la enfermedad de Menkes (Chelly y cols., 1993; Linder y Hazegh-Azam, 1995).

El control máximo de la absorción de cobre, ocurre durante su transferencia a través de las células intestinales al torrente sanguíneo

(Solomons, 1988). La metalotioneína mucosal parece ser un factor determinante del paso de cobre a la circulación, pero no está bien aclarado si la metalotioneína tiene algún papel en la absorción normal de cobre, o su papel está reservado a la prevención de una absorción excesiva de metal. Cuando la cantidad de metalotioneína es alta (como consecuencia de ingestas elevadas de cinc o con niveles altos de estrógenos), la cantidad de cobre que llega a la sangre es menor.

Según algunos autores, los altos niveles de metalotioneína en el intestino, probablemente reflejan un aumento en la concentración de cobre intracelular, con la estimulación de la transcripción del gen responsable de la síntesis de la metaloproteína, más que alguna implicación de la metalotioneína en la regulación homeostática de la absorción de cobre (Bremner y Beattie, 1990).

El cobre se une más fácilmente a la metalotioneína que el cinc, debido a la alta afinidad de la apometioneína al cobre, e incluso puede desplazar al cinc de su sitio de unión en la proteína (Cousins, 1985), aunque el cinc tiene más capacidad para inducir producción de la metalotioneína que el cobre (Cousins, 1985).

Se conocen factores nutricionales que influyen en la absorción del cobre; éstos son los agentes quelantes (aminoácidos y citrato), que potencian su absorción, y los agentes de captación intestinal (bilis y fibras) que la inhiben (Linder, 1991).

Las altas ingestas de ácido ascórbico, reducen la absorción y utilización del cobre. El consumo de 1500 mg/día de ácido ascórbico durante dos meses, reduce los niveles séricos de ceruloplasmina.

Se ha sugerido que la biodisponibilidad del cobre dietético es menor en presencia de glucosa o sus polímeros. Tanto la fructosa como el ácido ascórbico, son reductores que pueden pasar el cobre a estado cuproso, y de este modo, afectar a su absorción y utilización.

- **Factores que afectan a la absorción del cobre**

La utilización nutritiva de cobre se ve afectada por varios factores: unos de origen dietario y otros relacionados con situaciones patológicas.

A pesar de la alta disponibilidad del cobre en la dieta (cosa que no ocurre con el hierro ni el cinc), muchos componentes de la dieta pueden afectar la absorción intestinal del metal, aunque la absorción de cobre por lo menos en humanos, no se ve afectada por estos factores como los demás minerales (Johnson, 1990).

La acidez del estómago y duodeno proximal, permiten la solubilidad del cobre y mejoran su transporte a través de la mucosa gástrica (Cousins, 1985). Además, la absorción de cobre se ve estimulada por unos ligandos de unión presentes en el lumen intestinal. Según algunos autores, la histidina puede tener un papel fundamental en la absorción de cobre en condiciones fisiológicas (Solomons, 1988).



- **Ácido Ascórbico**

El efecto del ácido ascórbico sobre la utilización nutritiva de cobre, ha sido estudiado en varias especies: ratas (Johnson, 1986; Van Den Berg y col., 1990), pollos (Hill y Starcher, 1965), conejos (Hunt y col., 1970), cerdos (Omaye y col., 1986) y humanos (Jacob y col., 1987).

A pesar de que está totalmente aceptado (sobre todo en animales de laboratorio), que el ácido ascórbico condiciona el estado de cobre en el organismo, hay muy poca información acerca del mecanismo y lugar de acción.

En determinadas condiciones, el ácido ascórbico puede reducir la absorción del cobre, si bien este hecho sigue siendo objeto de discusión. La absorción de  $\text{Cu}^+$  puede ser inferior a la de  $\text{Cu}^{2+}$ , fenómeno que podría explicar la disminución del 37% de la captación (a lo largo de tres horas; observada originalmente por Van Campen y Gross, 1968, en segmentos de duodeno de ratas ligados). Sin embargo, en estos estudios se utilizaron dosis no fisiológicas muy altas, y sus resultados no han sido confirmados por otros autores ni en la rata ni en el hombre en condiciones reales (Linder, 1991).

Las altas ingestas de ácido ascórbico reducen la absorción y utilización del cobre. En adultos jóvenes una ingesta de 1500 mg/día de ácido ascórbico durante 52 días, disminuye en un 26% la actividad de la ceruloplasmina sérica, y tiende a disminuir el cobre sérico cuyos niveles se encuentran significativamente elevados 20 días después del suplemento con

ácido ascórbico (Finley y Cerlewski, 1983).

En realidad, el papel exacto del ácido ascórbico sobre la utilización nutritiva de cobre es muy confuso; parece que además de su papel negativo cuando es administrado a altas dosis (Van Den Berg y cols., 1990), el ácido ascórbico a dosis fisiológicas tiene una función reguladora positiva facilitando la utilización de cobre por las células corporales (Harris y Percival, 1991).

Niveles de ácido ascórbico superiores a 5 mol/l en un medio ligeramente ácido, reducen el cobre presente en la ceruloplasmina como se ha demostrado por la pérdida de su color azul (Gunnarsson y col., 1973). Así, la liberación de cobre a partir de la ceruloplasmina para su captación posterior por las células, aumenta hasta diez veces en presencia de ácido ascórbico, a niveles fisiológicos (100 mol/l) (Percival y Harris, 1990). Esto sugiere que el ácido ascórbico a dosis fisiológicas, es un factor positivo en la utilización del cobre a partir de la ceruloplasmina. En cambio, la vitamina C no tiene ningún efecto sobre los iones de cobre libre o sobre el complejo cobre-albúmina, lo que implica que el lugar de su acción es la ceruloplasmina (Harris y Percival, 1991).

La gran similitud entre los síntomas de deficiencia de cobre observados en animales de laboratorio, y los del escorbuto observados en humanos con deficiencia de vitamina C, es otro dato que apoya la sugerencia de que el ácido ascórbico, a nivel fisiológico estimula la utilización nutritiva de cobre (Harris y Percival, 1991).

Ácidos orgánicos como el ascórbico o agentes que formen quelatos de bajo peso molecular, tienen un efecto positivo sobre el total de la absorción de cobre (Wapnir, 1998).

Otros autores han sugerido que el efecto de la vitamina C sobre el cobre es indirecto. La vitamina C estimula la absorción del hierro que posteriormente antagoniza con el cobre y perjudica su estado

- **Proteína**

Altos niveles de proteína en la dieta, generalmente ejercen un efecto positivo sobre la absorción de cobre (Greger y Snedeker, 1980) ya que la digestión proteica proporciona aminoácidos y quelatos pépticos que se unen al cobre mejorando su biodisponibilidad (Cousins, 1985). Kirchgessner y Grassman (1970), encontraron que los complejos cobre-aminoácidos se absorben mucho mejor que el sulfato de cobre.

Según Turnlund y col., (1983), la proteína de origen animal aumenta la absorción de cobre más que la de origen vegetal.

La alta disponibilidad de cobre en la leche humana, se debe a su unión a proteínas que son hidrolizadas fácilmente en el intestino del recién nacido. En la leche humana, el 28% del cobre está unido a la caseína y el 39% a la albúmina, mientras que el 24% restante se encuentra unido a componentes de bajo peso molecular (Lönnerdal y col., 1982).

---

- **Carbohidratos**

En humanos, el ácido fítico o la celulosa no afectan a la absorción del cobre (Turnlund y col., 1985). Sin embargo, el salvado de trigo, en ratas y ratones disminuye la biodisponibilidad del metal (Rockway y col., 1987).

Normalmente los productos de origen animal proporcionan más cobre que los de origen vegetal. Johnson y col. (1988), encontraron en ratas que las distintas fuentes de cobre, no afectan la eficacia de absorción del mismo. En otra experiencia, utilizando diferente fuente de carbohidratos, este mismo autor, tampoco encontró ninguna diferencia en el porcentaje de absorción de cobre, ni en ratas con adecuado nivel de cobre (6 mg/kg de dieta), ni en ratas deficientes de cobre (0'5 mg/kg de dieta).

Sin embargo, otros investigadores han encontrado que la biodisponibilidad del cobre dietético es menor en presencia de sacarosa o fructosa, que cuando el almidón es la fuente de carbohidratos (Fields y col., 1983; Johnson y Gratzek, 1986), lo que probablemente indica que el desorden no está a nivel de la absorción intestinal del metal. Muchos estudios llevados a cabo sobre la relación entre la fructosa y el estado de cobre en el organismo, sugieren que la fructosa actúa aumentando los requerimientos en cobre, más que interfiriendo con su absorción intestinal (Danks, 1988). Así, una alta ingesta de fructosa afecta significativamente a la actividad de la superóxido-dismutasa sin disminuir los niveles de ceruloplasmina y cobre en suero (Reiser y col., 1985).

La fructosa, al igual que el ácido ascórbico, reduce el cobre al estado cuproso, y de este modo puede afectar a su absorción y utilización.

### • Hierro

Los informes sobre el antagonismo de absorción entre el cobre y el hierro son tanto positivos como negativos (Linder, 1993). El más reciente, procedente de un estudio hecho en ratas, demuestra una correlación inversa entre la concentración hepática de cobre e ingestas alimentarias de hierro bajas, normales o muy altas (dietas con 7'40 y 389 mg de hierro por Kg de peso) (Yu y cols., 1994). Con ingestas de hierro excesivas, descendieron tanto la absorción aparente como la excrección biliar de cobre. Las concentraciones plasmáticas de cobre y ceruloplasmina (medida como actividad enzimática) disminuyeron del 30% al 40%, pero la concentración de cobre hepático fue sólo alrededor del 10% inferior al normal. Por tanto, si existe algún efecto constante del hierro sobre la absorción de cobre, es relativamente leve y sólo demostrable en condiciones extremas.

Existen pruebas convincentes de que las enzimas con cobre son asimismo importantes para el metabolismo y funcionamiento normales del hierro en los mamíferos. La SOD Cu/Zn es una enzima necesaria para los eritrocitos (que se encuentran especialmente expuestos al oxígeno), pero además, tanto la ceruloplasmina como otra enzima dependiente del cobre (la ferroxidasa II) podrían desempeñar un papel en el flujo del hierro que mantiene la hematopoyesis.

La vitamina C estimula la absorción de hierro que posteriormente

antagoniza con el cobre y perjudica su estado.

- **Cinc**

Las interacciones cobre-cinc son una de las más importantes interacciones en nutrición. Está demostrado que altas ingestas de cinc en la dieta interfieren con el estado de cobre en muchas especies animales, como roedores, cerdos y ovejas (Hambidge y col., 1986), así como en humanos. Aunque según Turnlund y col., (1988) una pequeña suplementación de cinc en la dieta (de 5'5 a 16'5 mg de Zn/día) no aumenta las pérdidas fecales de cobre ni disminuye su absorción en hombres jóvenes que toman 2'3 mg de Cu/día.

El efecto antagónico entre cinc y cobre parece ser debido a nivel de metalotioneína intestinal. El cinc induce la síntesis de metalotioneína, y el cobre se une a este compuesto más fuertemente que el cinc formando un compuesto no absorbible.

La mayoría de los casos de deficiencia de cobre está causada por una excesiva ingesta de cinc más que por falta de cobre en la dieta, por lo menos en humanos.

Brewer y col. (1983), basándose sobre este antagonismo han propuesto que una toma de 150 mg de cinc/día resulta ser una terapia eficaz para el tratamiento de la enfermedad de Wilson.

Según Johnson (1986), en animales, las interacciones entre cobre y

cinc dependen de la fuente de hidratos de carbono en la dieta. Así por ejemplo, el fitato, que disminuye la biodisponibilidad del cinc, da lugar a un incremento en la absorción y utilización del cobre.

- **Nitriloacetato**

Además de las proteínas y aminoácidos, el nitriloacetato mejora la absorción de cobre, probablemente formando complejos que son transportados intactos a través de la barrera intestinal (Kenn y col., 1980).

- **Secreciones**

Las secreciones endógenas afectan la absorción del metal. La secreción pancreática tiene efecto negativo sobre la absorción de metal (Jamison y col., 1981). La secreción biliar tiene el mismo efecto negativo.

No se conoce la forma bajo la cual existe cobre en bilis (Roseblum y Leach, 1985), pero se sabe que es una forma irrecuperable; la recirculación enterohepática de cobre endógeno es muy limitada. El cobre está más disponible en el jugo gástrico e intestinal que en bilis (Solomons, 1988).

- **Transporte de cobre**

Tras su absorción intestinal, el cobre penetra rápidamente en la circulación sanguínea, y se deposita pronto sobre todo en el hígado. Este patrón es evidente en distintas especies como la rata (Weiss y Linder, 1985) y el hombre (Scott y Turnlund, 1994).

La albúmina posee una localización para captar cobre. Esta proteína

junto con la transcupreína, son los transportadores más específicos de cobre en la sangre.

Una vez que desaparece de la circulación (a las dos horas de penetrar en la sangre) (Weiss y Linder, 1985) el cobre puede encontrarse casi exclusivamente en el hígado, riñones y peroductos derivados del hígado. Estos productos son la bilis y la ceruloplasmina, una importante  $\alpha$ -2 glucoproteína que contiene del 60% al 65% del cobre existente en el plasma y en el suero humanos (Barrow y Tanner, 1986).

### **CONTENIDO CORPORAL Y DISTRIBUCIÓN**

En el adulto de 70 kg de peso, el contenido corporal de cobre oscila entre 50 y 120 mg. En muchos animales la mayor concentración se encuentra en el hígado seguida del cerebro; sin embargo, en el hombre, el hígado contiene un 13% y el cerebro un 9%, mientras que el contenido muscular se acerca al 40%.

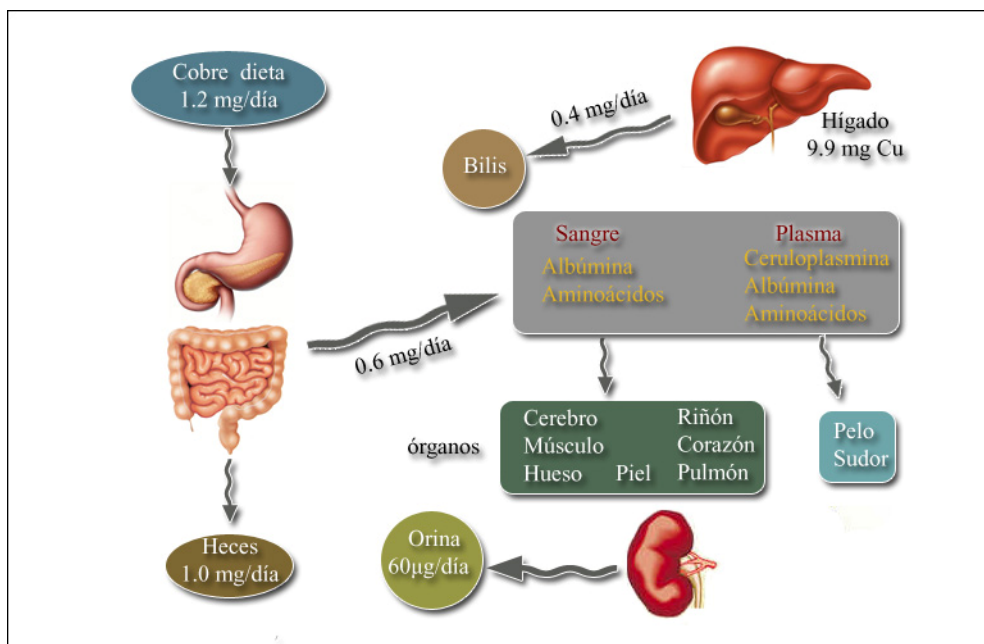
El hígado y el bazo son los órganos que parecen actuar como almacén, aunque la capacidad del organismo es pequeña. Estos datos no coinciden con los encontrados por Linder. Según Linder (1991), las mayores concentraciones de cobre en el adulto, se encuentran en los riñones, a los que siguen el hígado, el encéfalo, el corazón y los huesos.



Debido a su peso y a su volumen, es probable que el músculo y el esqueleto contengan alrededor de 25% y de 42% respectivamente, del cobre orgánico total. A continuación se sitúan el hígado y el encéfalo (9%), y la sangre (5%) (del que el 60% se sitúa en plasma). Las concentraciones en los tejidos animales tienden a ser similares pero ligeramente inferiores a las de los seres humanos, salvo en el plasma, donde tienden a ser las mismas.

La sangre humana total contiene aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  de cobre por cada 100 ml de volumen, distribuidos casi por igual entre los hematíes y el plasma. Más del 90% del cobre del plasma se asocia con la ceruloplasmina, mientras que más del 60% del cobre de los hematíes está asociado a una proteína eritrocitaria con actividad superóxido-dismutasa. Una pequeña cantidad del cobre existente en el plasma se encuentra ligado a aminoácidos como histidina, treonina y glutamina, aparentemente en equilibrio con la parte ligada a la albúmina.

**FIGURA 9.** Distribución de cobre en el organismo (Harris, 2003):



La concentración de cobre en plasma fluctúa con la edad, ejercicio y estado de salud. No se modifica después de la ingesta de alimentos, manteniéndose constante independientemente de las influencias diurnas o estaciones y del almacenamiento hístico.

En comparación con la de los adultos, la concentración de cobre en el suero de recién nacidos es reducida, debido sobre todo a la baja concentración de ceruloplasmina existente en ellos.

Entre los factores que influyen en las concentraciones de cobre en hígado, figuran la dieta, edad, hormonas y embarazo.

## ELIMINACIÓN

El cobre se excreta fundamentalmente por el tracto gastrointestinal, siendo la bilis su principal vía de excrección. Por una técnica de perfusión “in vivo” se reveló que la excreción biliar en humanos es de  $1.7 \pm 0.8$  mg/día (Van Berg y col., 1977), aunque probablemente se eliminan cantidades significativas del catión a través de las secreciones y descamaciones intestinales (Linder, 1988).

El cobre procedente de la bilis se absorbe poco, siendo poco importante la recirculación enterohepática. Sin embargo, el cobre de las secreciones salivares, gástricas e intestinales, es reabsorbido en mayor proporción.

La principal vía de excrección es claramente la bilis. La ligadura de la vía biliar determina una acumulación de cobre en el hígado, y en los casos de reducción genética de la excrección biliar de cobre, las concentraciones hepáticas se elevan y pueden dar lugar a lesiones hísticas (Linder, 1991).

Sólo pequeñas proporciones del ión son excretadas por vías urinarias (menos de  $60 \mu\text{g}/\text{día}$  o lo que es igual, menos del 3%) (Harris, 1991) con una capacidad muy limitada de aumentar la excrección en una ligadura biliar (Solomons, 1988). Cantidades aún más pequeñas se pierden por sudor, crecimiento del pelo, uñas y descamación de la piel.

Es probable que la bilis no sea la única vía importante de excreción del cobre del organismo, ya que la ligadura de la vía biliar sólo reduce el recambio orgánico total del cobre, en alrededor del 50%, al menos en la rata (Linder y Roboz, 1986).

También pasan al aparato gastrointestinal, cantidades sustanciales de cobre procedentes de la saliva y al jugo gástrico, pancreático e intestinal. De hecho, la cantidad total de cobre secretado diariamente al aparato digestivo (unos 5 mg) es tres veces mayor que la existente en la dieta habitual del humano adulto (de aproximadamente 0'6 a 1'6 mg). La mayor parte de este cobre es reabsorbido, ya que la excreción fecal neta (que supone más del 90% de las pérdidas del metal) establece un balance neto con la ingesta (Linder, 1991).

### PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE COBRE

Una vez absorbido el cobre se une principalmente a la **albúmina**, y en menor proporción, a la **transcupreína** que lo conduce al hígado. Una vez captado el cobre por el hepatocito a partir de la albúmina o de la histidina, se une a la **apoceruloplasmina** que se encarga de transportarlo a diversos tejidos del organismo. Se acepta que el cobre plasmático unido a la albúmina o a cualquier otra proteína de bajo peso molecular, no tiene ninguna importancia fisiológica en el sentido de suministrar el elemento a los distintos tejidos corporales (Linder, 1988).

Según Linder (1991), el transporte y la distribución del cobre se produce en dos fases, una primera que afecta a la transferencia desde el intestino hacia el hígado y los riñones, y otra posterior que consiste en la transferencia desde el hígado hacia la mayor parte del resto del organismo. Durante la segunda fase de distribución, la ceruloplasmina es la que habitualmente transporta el cobre, y parece ser el único componente plasmático que lleva cobre de absorción reciente tras el depósito inicial en el hígado y en riñones.

El cobre unido a la ceruloplasmina no forma parte de la reserva plasmática intercambiable, y no es transferido directamente a otros componentes del plasma que lo contienen. Sin embargo, sí está disponible para su captación por la mayoría de las células de los tejidos orgánicos, tal y como se demostró rápidamente en animales y en cultivos de células humanas (Weiss y Linder, 1985; Percival y Harris, 1990; Linder, 1991; Harris, 1991).

Parece que durante la primera fase de distribución, también intervienen otras proteínas. Se sabe que la albúmina (que es la proteína más abundante en el plasma), posee una localización para captar el cobre (Linder, 1991).

Sin embargo, la albúmina no es esencial para el transporte y la distribución normales del cobre incorporado, tal y como se ha demostrado en ratas Nagase analbuminémicas (Vargas y cols., 1994). En la rata (Weiss y Linder, 1985), en el hombre (Barrow y Tanner, 1986) y en algunos otros mamíferos (Montaser y cols., 1992), existe otra proteína mucho mayor

(transcupreína), que transporta una cantidad de cobre similar a la de la albúmina (del 10 al 20% del total). Esta proteína y la albúmina son los principales componentes de la reserva de cobre plasmático intercambiable.

Es probable que la transcupreína sea un transportador más específico para el cobre recién absorbido que la albúmina, y que dirija el cobre fundamentalmente hacia el hígado. La transcupreína intercambia rápidamente el cobre con la albúmina, probablemente mediante interacciones directas entre proteínas (Tsai y cols., 1992).

Cuando no se dispone de ceruloplasmina, el organismo recurre a otras fuentes de cobre. Además, las células no hepáticas captan cobre a partir de la transcupreína (Weiss y Linder, 1985) e incluso de la albúmina (Weiss y Linder, 1985; Harris, 1991; Linder, 1991).

La albúmina puede inhibir la captación celular de cobre a partir del complejo de histidina (McArdle y cols., 1987). Por tanto, parece probable que la albúmina y la transcupreína sean los principales (si no los únicos), transportadores sanguíneos que intervienen en la transferencia del cobre recién absorbido al hígado y los riñones, y que sea la transcupreína más que la albúmina, la que realmente ayude a la captación del cobre por las células hepáticas.

El hígado es el órgano donde se detecta la concentración más alta de cobre y donde se lleva a cabo la mayor regulación homeostática del metal.

Los niveles de cobre hepático se mantienen constantes mediante dos mecanismos: la excrección biliar y la liberación de ceruloplasmina (Harris, 1991), siendo los hepatocitos las únicas células que parecen tener habilidad para la captación por endocitosis del cobre de la ceruloplasmina (Kataoca y Tavassoli, 1985a; Tavassoli y col., 1986). Aunque no está claro que este proceso sea sólo para conseguir el cobre, pudiendo ser un medio de alejar de la circulación las moléculas de ceruloplasmina parcialmente degradadas (Harris, 1991).

Parece que la interleukina I estimula la síntesis de apoceruloplasmina, y que la ceruloplasmina actuaría de donante de cobre a las distintas células del organismo, de manera que en algunos órganos se ha puesto de manifiesto la existencia de sitios de unión específicos para la ceruloplasmina.

Los sitios de alta afinidad para la ceruloplasmina se han localizado en muchos tejidos y células, incluyendo eritrocitos (Barnes y Frieden, 1984), endotelio hepático, linfocitos, monocitos y granulocitos (Kataoca y Tavassoli, 1985b). En general, la unión alcanza la saturación cuando menos de 1 pmol/ml se encuentran en el medio (Barnes y Frieden, 1984).

La concentración de cobre en riñones se relaciona estrechamente con el porcentaje de absorción y excrección endógena, más que con cualquier otro índice bioquímico (Johnson, 1990).

El cobre no se almacena en el organismo, y la capacidad de distintas células para acumularlo es muy limitada. La amplia distribución de la

metalotioneína (proteína de almacenamiento de cobre) en la gran mayoría de los tejidos, probablemente tiene explicación por el poder detoxificante celular contra los efectos nocivos del metal, más que por su posible papel de almacenamiento (Bremner y Beattie, 1990); así, un excesivo suplemento de cobre en la dieta induce a la síntesis de metalotioneína hepática, una vez que los niveles de cobre hepático alcanzan el valor de tolerancia de las células (500 µg/g) (Bemner y col., 1986).

El único caso de acumulación de cobre que se ha observado, es en el hígado fetal, y puede ser debido a una inmadurez de los mecanismos de excrección biliar; los niveles altos de metalotioneína hepática fetal pueden ser una medida de protección contra las altas concentraciones de cobre intracelular (Bremner y Beattie, 1990), más que un depósito destinado a cubrir las demandas del recién nacido. Además, la incorporación de cobre dentro de la ceruloplasmina aumenta rápidamente después del nacimiento, siendo razonable sugerir que la excrección biliar puede aumentar paralelamente (Danks, 1988).

Linder y Munro, 1973 y Linder, 1991, coinciden en que el depósito deliberado del cobre (en metalotioneína) se produce asimismo en el hígado de los fetos de probablemente todos los mamíferos, y parece que este órgano es el que proporciona el cobre necesario para el rápido crecimiento de los lactantes (la leche no es rica en cobre).

Algunas especies de mamíferos tienden a acumular depósitos de



cobre tioneína (complejo formado por cobre y metalotioneína), especialmente en el hígado. Esta tendencia es general en los perros, cuyas concentraciones hepáticas de cobre son muy superiores a las de otras especies (80  $\mu\text{g/g}$ , frente a 5-6  $\mu\text{g/g}$  en el hombre, la rata y el cerdo (Linder, 1991; Montaser y cols., 1992; Kadiiska y cols., 1993).

### **REGULACIÓN HOMEOSTÁTICA DEL BALANCE DE COBRE**

El balance del cobre es homeostáticamente mantenido por una regulación tanto de su absorción como de su excreción. Muchos factores fisiológicos pueden afectar a un nivel u otro del balance de cobre, pero el factor más importante es la cantidad del elemento existente en la dieta, o la forma bajo la cual está proporcionado en la dieta.

Aparentemente, existe algún tipo de regulación de la absorción relacionada con las necesidades, de forma que se absorben cantidades mayores en caso de deficiencia, y menores cuando su estado es adecuado; de este modo podemos decir que la homeostasis del cobre se mantiene fundamentalmente a través de la excreción. Por tanto, cuando se administran cantidades excesivas por vía parenteral (como ocurre cuando es inyectado a ratas), el exceso tiende a desaparecer en pocos días, incluso aunque las dosis administradas hayan sido grandes (Linder y Roboz, 1986). No obstante, las células de la mayor parte de los tejidos están equipadas para secuestrar temporalmente el exceso en forma de cobre tioneína.

La metalotioneína también capta otros iones metálicos divalentes como el  $Zn^{2+}$ , pero el cobre puede desplazar a la mayoría de ellos de la proteína. En las células hepáticas y renales, la entrada del exceso de cobre puede inducir también un aumento de la expresión de dicha proteína (Yagle y Palmiter, 1985).

En un trabajo, se administró a ratas distintas cantidades de cobre reactivo  $Cu^{67}$  en la dieta, y se observó que el porcentaje de cobre absorbido, disminuye al aumentar el suplemento de metal en la dieta (Stuart y Johnson, 1987).

Johnson (1990), concluyó que aparentemente la absorción de cobre disminuye cuando el nivel del metal en la dieta aumenta. Sin embargo, lo que ocurre en realidad es que la absorción neta de cobre no cambia, y está equilibrada por un aumento en la excreción de cobre endógeno. Así, cuando la cantidad de cobre en la dieta cambia bajo cualquier factor, la homeostasis del balance se mantiene más por cambios en la cantidad de cobre endógeno excretado, que mediante variaciones en el porcentaje de cobre absorbido.

## **PATOLOGÍAS Y ESTATUS DEL COBRE**

Muchas situaciones patológicas pueden afectar la utilización nutritiva de cobre, siendo unas de origen genético y otras de origen adquirido.

Desde hace tiempo, se conoce que el metabolismo del cobre se ve

afectado por las enfermedades de Wilson y Menkes, que se deben ambas a alteraciones congénitas que modifican el estatus del cobre de manera contraria.

La absorción del metal se ve alterada en la **Enfermedad de MENKES**, debido a un desorden genético ligado al cromosoma X (Danks y col., 1974) y se manifiesta por la sintomatología típica de la deficiencia de cobre.

La **Enfermedad de WILSON** es otro error genético, que se manifiesta por una absorción excesivamente alta y una excreción anormal de cobre. El cobre no sólo se acumula en el hígado, sino que también se deposita en otros tejidos, de entre ellos el encéfalo (Tanzi y cols., 1993; Yamaguche y cols., 1993). Es probable que el gen defectuoso responsable, sea el que codifica un transportador del cobre que transfiere el metal desde los hepatocitos hacia la bilis. La excreción urinaria del metal, que normalmente es muy limitada, en esta enfermedad se ve muy aumentada. Parece que reemplaza la ruta normal de excreción del cobre (vía biliar) (Sass-Kortsak y Bearn, 1978). Además de una acumulación anormal de cobre en hígado, riñón, cerebro, córnea y sistema nervioso, se caracteriza por una menor biosíntesis de ceruloplasmina (proteína transportadora relacionada con la excreción biliar).

La distribución corporal y metabólica del cobre, también se encuentra alterada en distintos estados cancerosos, apareciendo elevadas concentraciones séricas de cobre y ceruloplasmina. Además, se ha descrito

que si la relación de cobre y cinc en la dieta es baja, existe una mayor incidencia de poder padecer cáncer de estómago.

También pueden presentarse concentraciones elevadas del cobre y ceruloplasmina séricos en los estados inflamatorios, embarazo, enfermedades hepático-biliares, infarto de miocardio y ciertas enfermedades infecciosas como tuberculosis, fiebres tifoideas, bronquitis....

Además, resulta interesante el hecho de que la ingestión de dietas pobres en cobre pueda contribuir a la aparición de hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia. Esto refleja la relación inversa entre los niveles séricos de cobre y colesterol.

## **6.- EL CINCO EN LA NUTRICIÓN**

### **INTRODUCCIÓN**

El papel del cinc como micronutriente esencial está bien establecido para plantas, animales, y humanos (Hambridge y col., 1986). El cinc es un elemento traza ampliamente distribuido por todas las células y tejidos, y está relacionado con la actividad de numerosas enzimas que actúan en todas las áreas del metabolismo (Prasad, 1991; Evans, 1986). Su implicación en el funcionamiento de las enzimas relacionadas con la expresión de los genes explica el efecto inmediato de la deficiencia del metal sobre el crecimiento y reparación de las células. El conocimiento de la función biológica del cinc ha

progresado en gran medida gracias al uso de radioisótopos, isótopos estables y de instrumental analítico, principalmente absorción atómica y emisión de plasma acoplada inductivamente.

Además, a diferencia de lo que ocurre con el hierro, el organismo no dispone de grandes depósitos de cinc, lo que justifica la aparición precoz de signos de deficiencias en los animales de laboratorio.

La cantidad total de cinc en el organismo oscila entre 1.4 y 2.5 mg (Linder, 1988), siendo su distribución la siguiente:

- Hueso: 200  $\mu\text{g/g}$  de órgano.
- Músculo: 50  $\mu\text{g/g}$  de peso fresco.
- Tejido libre de grasa: 30  $\mu\text{g/g}$  de peso fresco.

Los flujos prostáticos (600  $\mu\text{g/g}$ ) y los tejidos oculares con (800 $\mu\text{g/g}$ ) contienen las más altas concentraciones de cinc.

Las concentraciones plasmáticas de cinc se aproximan a 100  $\mu\text{g/}$  100ml (Linder, 1988).

Esta amplia distribución de cinc, se explica por su intervención en numerosos procesos fisiológicos y por el papel que tiene como componente esencial de un considerable número de enzimas (Evans, 1986; Prasad, 1991)

## FUNCIONES DEL CINC

A nivel pancreático el cinc está implicado en las funciones exocrinas y endocrinas (Linder, 1988) de esta glándula. En testículos, el cinc tiene un papel decisivo en el proceso fisiológico de espermatogénesis catalizando la conversión de la testosterona en su derivado hidrogenado, dihidrotestosterona (Linder, 1988).

A nivel del eritrocito, este mineral es uno de los constituyentes de la anhidrasa carbónica, una de las enzimas más importantes del organismo, responsable del mantenimiento del equilibrio ácido-base de los líquidos corporales; otras de sus funciones a este nivel es como estabilizador de la membrana del eritrocito, razón por la cual la deficiencia de cinc disminuye la capacidad del eritrocito para resistir la hemólisis "in vitro" (Bettger y O' Dell 1981).

En el leucocito, el cinc forma parte del centro activo de la fosfatasa alcalina la cual se ha utilizado en muchos trabajos para reflejar el estado del metal en el organismo (Thompson, 1991). Así, en conejos en crecimiento, la actividad de la fosfatasa alcalina en suero y riñones está significativamente relacionada con el estado de deficiencia del metal en estos animales (Schwarz y Pallauf, 1989).

Otras enzimas que requieren cinc para su funcionamiento son las

carboxipeptidasas A y B, de importancia en la digestión de las proteínas, cuya actividad se ve muy afectada por los factores que pueden disminuir la absorción de este mineral como es el tipo de la proteína dietaria (Berger y Scheeman, 1988) y la superóxidodismutasa que se encarga de desintoxicar el organismo de los aniones superóxidos. El cinc también interviene en procesos de desarrollo, división y diferenciación celular.

Además de todas estas funciones, la intervención del metal en la estimulación de la función inmune del organismo ha sido indicada en muchos trabajos (Bogden y col., 1987).

Los animales deficientes en cinc son más susceptibles a infecciones virales y bacterianas (Keen y Gershwin, 1990). La deficiencia de cinc altera las defensas del huésped en el hombre y en los animales por igual, causando un aumento de la morbilidad y mortalidad (Gibson, 2006). A nivel genético, en las situaciones en las cuales se ha detectado el efecto de un elemento traza sobre la regulación de la expresión genética, se ha demostrado que el cinc es uno de los más importantes reguladores de esta expresión genética (Chester, 1991).

Otra función del cinc es la protección frente a diversos agentes nocivos (entre ellos compuestos orgánicos), la radiación X y  $\delta$  y los agentes infecciosos (endotoxinas, etc.)

La función del cinc en la prevención de la peroxidación de los lípidos podría efectuarse a través de la actividad de la SOD Cu/Zn, la MT, la

inhibición del sistema citocromo P<sup>450</sup> o mediante una función biológica aún desconocida (Hambidge y col., 1986; Barch y col., 1992). Se ha demostrado que la MT limpia los radicales hidroxilo (OH) in vitro, por lo que podría actuar como antioxidante inducible (Paimiter 1994; Powell y col., 1994).

Tanto el cinc como el selenio son dos minerales que actúan como cofactores de activación de los mecanismos enzimáticos antioxidantes naturales del cuerpo. Más que cualquier otro factor, la dieta puede afectar directamente el estado antioxidante de manera tanto positiva como negativa. Proporcionando antioxidantes y cofactores de los antioxidantes endógenos. Por el contrario, algunos componentes de la dieta tales como los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y los metales divalentes que no se unen a las proteínas, pueden ser fácilmente oxidadas o actuar como prooxidantes (Lynch y Frei, 1993).

La dieta mediterránea en la que se incluyen alimentos ricos en cinc, así como otros componentes de carácter antioxidante, han sido propuestos, aunque no confirmados aún como los agentes de principio activo para reducir el riesgo a la enfermedad crónica (Papas, 1999).

Los antioxidantes de los nutrientes en la dieta incluyen:

- La vitamina E (tocoferol y tocotrienoles).
- La vitamina C o ácido ascórbico.
- La vitamina A y su precursor beta-caroteno no nutriente.

Nutrientes esenciales para la función normal de los sistemas



antioxidantes endógenos. Por ejemplo, los minerales Cu, Mn, Zn, Se, Fe y la vitamina riboflavina son cofactores importantes de los sistemas antioxidantes.

### **FUENTES ALIMENTARIAS DE CINC Y BIODISPONIBILIDAD**

Los alimentos difieren ampliamente en su contenido de cinc. El intervalo de concentración de cinc varía desde 0,02 mg/100 g de huevo, hasta 75 mg/100g de las ostras.

La principal fuente vegetal está constituida por los cereales, en los que el cinc, al igual que otros macro y micronutrientes tiende a acumularse en la parte externa, es decir, el germen; fracción que es eliminada en los procesos de refinamiento, perdiendo así estos productos un elevado valor nutritivo. No existen leyes establecidas sobre el enriquecimiento de los mismos en cinc, los fabricantes norteamericanos adicionan cinc al producto final en cantidades que oscilan entre un 25 y 100% de lo que marcan las RDA. La mejor fuente de cinc es la carne roja y los mariscos.

La ingesta de cinc está estrechamente relacionada con la ingesta proteica, y la concentración con la fuente de proteína, así, las dietas consistentes primordialmente en leche, huevos, aves y pescado tienen un coeficiente cinc/proteína menor que aquellas consistentes en mariscos, carne vacuna y otras carnes rojas. De forma paralela ocurre con las dietas

vegetarianas: aquellas ricas en legumbres, grano entero, nueces y queso, son a la vez más ricas en cinc que aquellas primordialmente basadas en fruta y verdura.

La calidad de la fuente alimentaria depende de la existencia simultánea de factores que afecten a su biodisponibilidad; aquellos que facilitan la formación de complejos estables o que aumenten su solubilidad (como la cisteína o la histidina) determinan que una fuente sea buena por su contenido en cinc, frente a aquellas que incluyen sustancias formadoras de complejos competidoras con el metal. Por esto las fuentes proteicas animales son consideradas buenas fuentes de cinc; mientras que las vegetales por su alto contenido en fitatos o la fibra disminuyen la disponibilidad del metal. El complejo cinc-ácido fítico es insoluble y se absorbe mal en el aparato gastrointestinal. Algunas formas de preparación de los alimentos, como la acción de la levadura sobre el pan, hacen que la actividad de la fitasa reduzca sustancialmente el contenido de fitato del pan y alimentos similares (Solomons y Cousins, 1984)). Una de las causas de la deficiencia de este mineral es la resección del 50% de intestino delgado distal (IDD), y en general en situaciones de síndrome de malabsorción que reducen significativamente la utilización digestiva y metabólica de este nutriente. Igual le pasa a otros oligoelementos como el selenio (Hartiti y cols., 1994 1995 a y b).

El cinc de origen animal, en carne, hígado, huevos y mariscos, especialmente las ostras, es más disponible que el cinc procedente de

alimentos vegetales (Linder, 1988). También los procesos industriales pueden influir en este aspecto. Por ejemplo, durante la fermentación del pan se reduce la cantidad de ácido fítico contenida que entorpece la absorción del cinc; y durante la extrusión de los cereales de desayuno, se inhibe la degradación del ácido fítico causando menor eficacia en la absorción del metal.

La equivalencia de la cantidad "absoluta" al requerimiento "dietético" (es decir, de la cantidad utilizable del elemento a la cantidad que debe estar presente en la dieta), es determinante de las RDAs. En ellas se aplica un factor de incertidumbre del 10%, la biodisponibilidad de algunos elementos como hierro o cinc, puede variar en torno a ese margen en condiciones dietéticas extremas. La forma química, la valencia del elemento, así como la composición de la dieta son determinantes de la biodisponibilidad.

## **UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE CINCO**

### **REQUERIMIENTOS**

El balance de cinc está sometido a una fuerte regulación homeostática. De tal modo que se logra mantener una situación de equilibrio cuando el aporte de cinc es moderadamente bajo (King y Turlund, 1989).

Debido a esta regulación tan eficaz, el requerimiento de cinc de una persona normal depende sobre todo del estado del nutriente o de las reservas

corporales de cinc movilizable. Como no hay evidencia de un depósito de cinc, el requerimiento fisiológico absoluto es dependiente de la captación del metal y como la biodisponibilidad mínima del cinc a partir de la dieta total es probablemente del 20 al 30%, se recomienda de 8 a 12 mg de cinc/día (ILSI, Europe, 1990).

Los requerimientos de nutrientes están basados normalmente en los siguientes criterios:

- cantidad requerida para proporcionar un balance adecuado al organismo
- cantidad requerida para reponer pérdidas endógenas; o
- cantidad requerida para mantener funciones normales.

Y como la cantidad funcionalmente requerida para el cinc no puede calcularse, son los dos primeros puntos los más críticos para determinar los requerimientos funcionales del cinc.

Por definición, todo elemento traza debe poseer un rango de dosis segura, no tóxica pero suficientemente adecuada, para lograr los requerimientos nutricionales. Este intervalo es parte de la dosis total-curva respuesta, en que sus límites superiores e inferiores están determinados a través de la toxicología y la nutrición, respectivamente. La estrecha colaboración de las actividades para determinar estos límites es necesaria para evitar que las recomendaciones sean poco prácticas (zonas de seguridad muy estrechas), y/o contradictorias (límites superpuestos, por ejemplo, si no

existen zonas de seguridad y dosis adecuadas).

En la conferencia de Herdon que reunió a especialistas toxicólogos y nutriólogos para evaluar los principios y aplicaciones de sus respectivos descubrimientos, los participantes coincidieron en que cada elemento traza esencial posee una zona de seguridad e ingesta adecuada, pero no llegaron a acuerdo alguno para la definición de esencialidad de los "nuevos elementos traza" como el arsénico.

Pueden aparecer signos de intoxicación aguda tras el consumo de agua u otras bebidas que han sido almacenadas en recipientes galvanizados, o tras la utilización de esta agua almacenada para efectuar diálisis renales. La ingestión de cinc o de aleaciones que lo contienen también puede derivar en una intoxicación aguda. Este tipo de intoxicación se manifiesta por anorexia, náuseas, vómitos, sangrado de erosiones gástricas, diarrea, vértigos, somnolencia y fiebre. En adultos estos síntomas sobrevienen tras la toma de al menos 2 gramos.

La toxicidad crónica da lugar a problemas gástricos (Fosmire, 1990), descenso de la función inmunitaria y del colesterol. En ancianos la dosis de 100 mg/día no mejoró la inmunocompetencia ni alteró el colesterol sérico total ni el unido a HDL (Bogden y col. 1987).

**TABLA 14.** Ingestas recomendadas de cinc (mg/día):

<b>Etapa de la Vida</b>	<b>Edad</b>	<b>Hombres (mg/día)</b>	<b>Mujeres (mg/día)</b>
<b>Lactantes</b>	0-5 meses	5	5
<b>Lactantes</b>	5-12 meses	5	5
<b>Niños</b>	1-3 años	10	10
<b>Niños</b>	4-6 años	10	10
<b>Niños</b>	7-10 años	10	10
<b>Adolescentes</b>	11-14 años	15	12
<b>Adolescentes</b>	15-18 años	15	12
<b>Adultos</b>	19-24 años	15	12
<b>Adultos</b>	25-50 años	15	12
<b>Adultos</b>	50 años en adelante	15	12
<b>Embarazo</b>	Todas las edades	-	15
<b>Lactancia materna</b>	Primer semestre	-	19
<b>Lactancia materna</b>	Segundo semestre	-	16

La sobredosificación por vía intravenosa, puede conducir a una insuficiencia renal aguda y a la muerte. Aportes excesivos prolongados de

cinc (75-300 mg/día) pueden favorecer la aparición de una carencia de cobre, manifestándose en forma de anemia microcitaria y trombopénica.

Los requerimientos de cinc en ratas son de 35.0 mg/Kg de dieta (Reeves y col., 1993).

## **ABSORCIÓN**

El lugar exacto en el que se produce la absorción de cinc no está bien definido; parece ser que todos los segmentos intestinales pueden contribuir, hasta un cierto punto, en el proceso de absorción del metal (Solomons y Cousins, 1984)

El concepto de la regulación homeostática de la absorción intestinal de cinc fue desarrollado por primera vez por Cotzias y Papavasiliou (1964). El control homeostático regula la capacidad de absorción intestinal (Hoadley y Cousins, 1988) así como la excreción endógena (Weigand y Kirchgessner, 1980). Así, muchos trabajos, tanto en humanos (King y Turnlund, 1989) como en animales demostraron el mantenimiento de un equilibrio entre la cantidad absorbida y excretada del metal (Cousins, 1985; Solomons y Cousins, 1984).

El lugar exacto de la absorción de cinc tampoco está bien definido, según Davies (1980), el duodeno es el lugar de máxima absorción; Antonson y col. (1979) detectaron la máxima absorción en íleon y yeyuno (Ghishan y

Greene, 1983). Sin embargo, según Solomons y Cousins (1984) todos los segmentos intestinales pueden contribuir hasta un cierto punto en el proceso de absorción del metal. En perros, mediante la técnica de perfusión intestinal, se ha estudiado la absorción de cinc con o sin ligadura del conducto biliar. Los resultados de este trabajo demostraron que el duodeno tiene la más alta capacidad de absorber el cinc seguido por íleon distal y yeyuno proximal y que las secreciones pancreáticas no parecen ser necesarias para una adecuada absorción del cinc (Naveh y cols., 1988). En ratas se absorbe a través del colon (Naveh, y cols., 1993).

En humanos, según Lee y cols., (1989), la absorción de cinc ocurre en todas partes del intestino delgado pero con más intensidad en el yeyuno.

Lo que es cierto, a pesar de esta discrepancia, es que la absorción de cinc a diferencia de la del cobre se limita al intestino delgado (Cousins, 1985), excluyendo así, la posible acción de la acidez gástrica sobre la solubilidad y la disponibilidad del cinc.

#### ● **Mecanismos de absorción**

La absorción de cinc a nivel intestinal parece implicar dos mecanismos:

- **Mecanismo activo**, cuya existencia ha sido demostrada por distintos investigadores (Kowarski y cols., 1974; Lee y cols., 1989). Dicho mecanismo requiere la presencia de un transportador y es saturable; así,



Menard y Cousins (1983a) al estudiar la captación de cinc por vesículas aisladas de la membrana del borde en cepillo de intestino de rata, encontraron que dicha captación es saturable cuando la concentración de cinc extravascular alcanza una concentración de 0.2 Mm. Otra de las características de este proceso es que necesita energía para llevarse a cabo; de hecho, Kowarski y cols. (1974) encontraron, en experiencias de intestino evertido, que el 2,4-dinitrofenol disminuye el flujo de cinc en la dirección serosa-mucosa (secreción), sugiriendo que la absorción y/o secreción, en mucosa yeyunal de rata es un fenómeno dependiente de energía.

▪ **Mecanismo pasivo**, cuya existencia ha sido demostrada también en distintos trabajos (Hoadley y Cousins, 1988; Steel y Cousins, 1985). Este mecanismo no requiere la presencia de un transportador intermediario y no es saturable. La absorción mediante este proceso no está estimulada por el ATP, ni por el sodio (Menard y Cousins, 1983a).

Por otra parte, Lombeck y col., 1975 han descrito la naturaleza bifásica de la captación de cinc. Algunos investigadores (Davies, 1980) han observado dos fases en la absorción de cinc en función de la concentración luminal de este mineral. Una fase rápida a través de la membrana del borde en cepillo, que implica la saturabilidad de los sitios de unión al cinc seguida de una fase más lenta que probablemente, implica el transporte de cinc a través de la membrana basolateral.

Altas concentraciones del metal pueden dañar la membrana, aumentando su permeabilidad y permitiendo la entrada de cinc a la célula, el

cual se une de forma no específica a proteínas y otros ligandos de unión (Cousins, 1985).

Además, el transporte alterado en membrana de borde en cepillo puede explicar la gran cantidad de cinc absorbido a bajas concentraciones de cinc luminal en ratas deficientes (Steel y Cousins, 1985), de forma que tal cantidad puede ser parecida a la observada en altas ingestas de cinc dietario.

Menard y Cousins (1983a) demostraron una alta regulación homeostática en la absorción del metal; la velocidad de captación de cinc por vesículas de membrana de borde en cepillo aumenta significativamente cuando tales vesículas provienen de ratas deficientes en cinc, comparadas con las vesículas procedentes de ratas controles.

- **Ligandos de unión**

- **Ligandos de unión al cinc no específicos**

La importancia fisiológica de los ligandos de unión al cinc, tanto endógeno como exógeno, ha sido objeto de intensas investigaciones. Suso y Edwards (1971, 1972) demostraron que el EDTA es un ligando de alta afinidad por el cinc y que el EDTA-24 atraviesa el intestino intacto a la circulación. Más tarde, Oestreicher y Cousins (1982) en experiencias de perfusión encontraron que la adición de EDTA reduce la cantidad del cinc retenida en células mucosales, aumentando su traspaso a la circulación portal.

Solomons y Cousins (1984) y Greger y Snedeker (1980) encontraron que altos niveles de proteína dietaria estimulan la absorción de cinc y entre los aminoácidos, la histidina (Wapnir y col., 1983) y el ácido glutámico (May y col., 1982) actúan como estimuladores de la absorción.

La glucosa es un estimulador de la absorción de cinc, se ha visto en humanos que la adición de 20Mm a una solución de perfusión (acetato de cinc), aumenta la absorción de cinc desde  $459\pm 39$  hasta  $582\pm 45$  nmol/minuto/ 40 cm (Lee y col., 1989).

Respecto a la acción de los ligandos de unión al cinc de origen endógeno, el debate entre los distintos investigadores se ha centrado particularmente al citrato y picolinato; según Linder (1988) el citrato destaca por su gran importancia como estimulador de la absorción de cinc. Mientras, en experiencias con vesículas aisladas de membrana del borde en cepillo, se ha visto que el citrato disminuye la cinética de captación de cinc (Menard y Cousins, 1983b) e inhibe su absorción en otros trabajos (Seal y Heaton, 1983).

La alta disponibilidad del cinc en la leche humana, en comparación con la leche de vaca, se explica por la presencia en la leche humana de quelatos de bajo peso molecular que son captados más eficientemente por la mucosa intestinal que el cinc de la leche de vaca privada de estos quelatos (Cousins, 1985). Entre ellos se encuentran el citrato y el picolinato (Evans y Johnson., 1980).

Los estudios que apoyan la participación del ácido cítrico y el picolínico en la homeostasis del cinc son muy complejos y se han basado en observaciones en humanos con acrodermatitis enterohepática (alteraciones genéticas) para desarrollar su hipótesis. Dichos pacientes tienen un defecto en el metabolismo del triptófano que forma parte de la vía proximal a la síntesis del ácido picolínico (Evans y Johnson, 1980). La respuesta terapéutica de lactantes con este tipo de enfermedad a la suplementación con picolinato de cinc (Krieger y Evans, 1980) como su presencia en un extracto de enzimas pancreáticas (Krieger, 1980); así como su deficiencia en leche humana (Evans y Johnson, 1980) apoyan el papel del picolinato como estimulador de la absorción del cinc. Aunque, esta hipótesis no está totalmente confirmada.

Parece que la digestión de las proteínas de la leche humana captadoras de cinc es más fácil que la de la caseína, la proteína principal de la leche de vaca (Salomons y Cousins 1984).

Las secreciones endógenas pueden contener factores que influyen sobre la absorción del cinc. Antonson y col., (1979), encontraron que la ligadura del conducto pancreaticobiliar disminuye la absorción de cinc en ratas.

Hurley y cols., (1982), no confirman ningún efecto de las prostaglandinas sobre la absorción de cinc, mientras que Song y Adhams (1979), han propuesto que Pg E2 puede ser un quelato intraluminal endógeno

del cinc que está relacionado con el mecanismo de absorción del cinc. Song y cols. (1988), demostraron que el flujo de cinc en la dirección mucosa-serosa (absorción) aumenta con Pg E2 o Pg F2.

▪ **Proteína intestinal rica en cistina o CRIP.**

El paso más importante en el conocimiento del mecanismo de absorción del cinc se ha dado con la identificación de una proteína de unión al cinc de bajo peso molecular en la fracción soluble de la mucosa intestinal de la rata, a la cual se ha atribuido el papel de transportar el cinc intracelular (Hempe y Cousins, 1991).

Esta proteína no ha sido detectada ni en hígado ni en páncreas, sugiriendo que su papel en el metabolismo del cinc es concretamente a nivel de absorción intestinal (Hempe y Cousins, 1991).

Se trata de una proteína intestinal rica en cistina CRIP, con una secuencia de aminoácidos recientemente identificada, con residuos de histidina y cisteína. Su unión al cinc presenta el carácter saturable como cabe esperar en una proteína transportadora. El gen que codifica la síntesis de esta proteína está poco expresado en el nacimiento, su expresión alcanza los niveles del adulto durante el periodo de lactación (Birkenmeir y Gordon, 1986).

El número de sitios de unión al cinc en la CRIP no está bien determinado pero según la posición de los residuos de histidina y cisteína en la estructura primaria de la proteína, existen tres configuraciones (Vallee y

col., 1991) que permiten a la molécula de CRIP unir por lo menos dos o tres átomos de cinc (Hempe y Cousins, 1992). La secuencia conservada de los residuos de histidina y cisteína llamada "LIH motif " según Hempe y Cousins, (1991), confiere a la CRIP la propiedad de unirse al cinc. Se ha sugerido que este " LIH motif " está implicado en el traspaso de cinc de la CRIP a la proteína transportadora de cinc en la membrana basolateral (Freyd y col., 1990) y la probable interacción entre las dos proteínas.

#### ▪ **Metalotioneína**

Proteína de unión al cinc presente en todas las líneas celulares. Su papel en el metabolismo del cinc es parecido al de la ferritina en el metabolismo del hierro. Regula la homeostasis del cinc y previene de la absorción excesiva del metal (Hoadley y Cousins, 1988) su síntesis está controlada homeostáticamente por los niveles de cinc en la célula (Cousins, 1985).

## **ELIMINACIÓN**

No se ha encontrado ningún lugar específico de almacén de cinc, en las especies estudiadas. Una reducción de cinc en la dieta es rápidamente seguida de una deficiencia del mismo. Aunque sí se ha observado que, algunas fuentes de cinc endógeno, son preferentemente retenidas en ciertos tejidos en respuesta a una disminución de cinc en la dieta. Así, en caso de deficiencia, la captación y concentración de cinc en el hueso disminuye, pero no se detecta el consiguiente aumento de la liberación del cinc desde el

hueso al plasma. Por otra parte, una ingesta reducida prolongada de alimentos y de cinc, conlleva al catabolismo de músculos y liberación del cinc al plasma.

El cinc se excreta en el duodeno tras la ingesta de una comida, y la mayor parte de éste es reabsorbido a través de la circulación enterohepática. El mantenimiento de la circulación enterohepática de forma intacta es crucial para mantener la concentración de cinc en el organismo.

Sin embargo, la influencia de la cantidad ingerida sobre la eliminada por orina, sólo se detecta si la ingesta es muy alta o muy baja. También el estado catabólico del organismo, (quemaduras, cirugía...), causa aumentos clínicamente significativos de las pérdidas urinarias.

La retención de cinc es el resultado de una regulación homeostática altamente eficaz de la absorción y excreción del metal (King y Turnlund, 1989). La principal vía de excreción de cinc es por el tubo digestivo (cinc no disponible de la dieta, cinc contenido en células intestinales descamadas y cinc endógeno).

En humanos, la retención de cinc es normalmente de 10 a 40% pero puede variar de 1% a 90% en casos extremos (Sandstead, 1973), que seguramente están relacionados con el aporte dietario o situaciones patológicas.

Las pérdidas endógenas, calculadas mediante un análisis de regresión,

en varones jóvenes y bien nutridos son de 2.2 mg/día (Baer y King, 1984) diariamente se contabiliza de 4 a 5 mg del catión procedente del material proteolítico del páncreas y en menor proporción de la bilis (Linder, 1988).

La excreción urinaria es una vía secundaria de eliminación de cinc del organismo. Se elimina diariamente por orina de 0.4 a 0.6 mg de cinc. Esta vía de excreción no parece estar afectada por los cambios en el suplemento de cinc dietario, pero sí está muy alterado en situaciones patológicas (Askari y col., 1982).

El cinc urinario pasa a través de los glomérulos renales y una vez filtrado, se excreta principalmente unido a aminoácidos y a porfirinas (Tasman-Jones y col., 1978). La capacidad limitada de excreción de cinc en riñones normales se explica probablemente por su unión a la albúmina sérica (Li y Valle, 1987).

En algunas situaciones por ejemplo en nutrición parenteral total, la toma de altas dosis de cisteína e histidina por niños mantenidos con este tipo de nutrición conlleva una excreción urinaria del metal significativamente alta (Zlotkin, 1989). Muchos casos de deficiencia de cinc se observaron en nutrición parenteral infantil por excesiva excreción urinaria de cinc. L-histidina, treonina y lisina aumentan la filtración del cinc renal (Zlotkin y Buchanan, 1988).

Otras vías de eliminación de cinc son pérdida de pelo, sudor,



descamación de la piel, menstruación, semen, fluido prostático y en situaciones de embarazo y lactancia, cantidades importantes del metal se transfieren diariamente de la madre al feto o al lactante (Linder, 1988).

Las pérdidas por descamación, caída del cabello y sudor son de 1 mg de cinc al día, 1 mg de cinc por eyaculación, y de 0,5 a 1 mg de cinc en el período de menstruación.

### **FACTORES QUE AFECTAN LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DEL CINC**

La utilización nutritiva de cinc se ve afectada por distintos factores:

- **Proteína**

Se ha observado que las alteraciones en la composición y concentración de las proteínas de la dieta, afectan la utilización nutritiva de cinc. Distintos trabajos han demostrado que la proteína dietaria se correlaciona positivamente con la absorción de este mineral (Solomons y Cousins, 1984) y con su excreción urinaria (Colin y col., 1983).

Por el contrario, Hunt y Jhonson (1992), han demostrado que una alta concentración de proteína de huevo en la dieta aumenta los requerimientos de cinc y el depósito de este mineral en la tibia; este último fenómeno se explica más bien por un metabolismo alterado del cinc en el hueso y no por una mejora de la biodisponibilidad del metal.

Respecto a los aminoácidos, la histidina (Wapnir y col., 1983) y el ácido glutámico (May y col., 1982) actúan como estimuladores de la absorción de cinc.

- **Glucosa**

Esta molécula (glucídica) actúa como estimulador de la absorción de cinc. Lee y col. (1989), han demostrado en humanos que la adición de 20 Mm de glucosa de una solución de perfusión conteniendo acetato de cinc, aumenta la absorción de cinc desde  $459 \pm 39$  hasta  $582 \pm 45$  nmol/40 cm.

- **Fibra y fitatos**

Ambos componentes dietarios, cuando están presentes en altas concentraciones, tienen la propiedad de disminuir significativamente la biodisponibilidad del cinc de la dieta. Sin embargo, distintos investigadores han demostrado que si el aporte dietario de fibra y fitatos no excede del valor normal, la utilización del cinc no se ve alterada (Hartwigsen y col., 1988). Por otra parte, al preparar compuestos de inositol fosfato por hidrólisis del fitato sódico se ha observado que un alto grado de fosforilación (inositol penta o hexafosfato) inhibe la absorción de cinc (Lönnerdal y col., 1989) y que una desfosforilación limitada de estos grupos puede tener un efecto positivo sobre la absorción intestinal del mineral. Así, la ingesta de altas cantidades de polifosfatos presentes en la dieta limita marcadamente la absorción de cinc.

Este efecto inhibitorio de los fitatos sobre la utilización nutritiva de cinc se agrava por la presencia en la dieta de altas cantidades de calcio; esto parece deberse a la formación de un complejo calcio-cinc-fitato altamente insoluble, impidiendo así la absorción de cinc (O'Dell, 1989).

### ● **Cobre**

Si bien el cinc tiene importante efecto negativo sobre la utilización nutritiva de cobre, la importancia del efecto inverso es mínima en condiciones fisiológicas. Usando segmentos intestinales de rata se ha demostrado que una alta relación cobre: cinc (50:1) disminuye significativamente la absorción de cinc comparado con relaciones menores y más fisiológicas (Van Campen, 1969). Existen pocos trabajos en animales que estudien el efecto de una alta relación cobre: cinc, si bien se ha demostrado que el exceso de cobre dietario potencia la teratogenicidad de la deficiencia de cinc en la rata (Reinstein y col., 1984).

### ● **Hierro**

El efecto del hierro sobre la disponibilidad del cinc no está totalmente claro. Distintos investigadores han señalado una absorción incrementada de cinc en animales ferodeficientes (Hamilton y col., 1978; Flanagan y col., 1980) y un incremento en la absorción de hierro en ratas con depleción de cinc (Hanh y Evans, 1975).

Solomons y Jacob (1981) han demostrado en humanos, que

utilizando hierro no hemo y cinc inorgánico, cuando la relación hierro: cinc es 1:1, la absorción de cinc está ligeramente inhibida, mientras que cuando dicha relación hierro:cinc es 2:1 ó 3:1 se inhibe sustancialmente la captación de cinc. Sin embargo, estos investigadores no observaron ningún efecto sobre la absorción de cinc al emplear hierro hemo y cinc inorgánico. Estos mismos autores y otros (Valberg y col., 1984) han comprobado que cuando el cinc es administrado en forma orgánica, cinc procedente de ostras, su absorción no se ve afectada por el hierro.

El efecto anteriormente descrito puede explicarse admitiendo la existencia de una competencia entre ambos minerales por un receptor o por un lugar en un transportador (Solomons y col., 1983). Este mecanismo competitivo se expresa cuando se alcanza la cantidad crítica de casi 25 mg de ambos iones, de forma que por debajo de tal cantidad existen sitios suficientes para la absorción de hierro y cinc sin interferencias mutuas en el tracto intestinal del adulto (Solomons, 1986). Por lo tanto, los suplementos de hierro en cantidades razonables es improbable que afecten negativamente la absorción y la utilización de cinc (O'Dell, 1989).

### **REGULACIÓN HOMEOSTÁTICA DEL BALANCE DE CINC**

El contenido total de cinc en el organismo, se controla, en parte, a través de la eficiencia de absorción intestinal, y excreción de las reservas endógenas. Cuando aumenta la concentración intraluminal de cinc disminuye

su absorción, aunque la cantidad real absorbida del metal se incrementa linealmente. Esta regulación de la absorción intestinal, ante una ingesta elevada, proporciona únicamente un "control grosero" del contenido total de cinc. Un aumento de la excreción del endógeno proporciona un "control fino" del total de cinc en el organismo.

El estado fisiológico del organismo influye en la regulación homeostática. Así, en ratas, se ha observado una mayor eficiencia absorptiva durante el embarazo, posiblemente por un incremento del número de receptores específicos, y la lactancia.

La edad del individuo, también influye en la capacidad absorptiva. Así lo demuestran experimentos realizados en este caso con humanos de dos a cinco meses de edad, alimentados con leche materna de durante 24 horas; es decir, consumiendo una cantidad moderada del metal y, posteriormente, examinando muestras fecales y de orina durante ocho días mediante bombardeo atómico, para deducir la fracción diaria total absorbida. La conclusión fue que, la combinación de una alta fracción absorbida y una eficiente conservación endógena, demuestran una adecuada ingestión de cinc para el crecimiento de los individuos. Este mecanismo homeostático funciona de modo similar en las personas mayores en las que, la absorción se ve desfavorecida, compensándose a través de un mejor aprovechamiento.

El destino del cinc una vez captado por el enterocito está altamente regulado. Así, el cinc intestinal puede ser utilizado localmente para procesos nutricionales de la célula; puede continuar a través del enterocito su trayecto,

unido a la CRIP, hacia la circulación, o bien puede ser capturado y unido firmemente a la metalotioneína hasta su eliminación por descamación celular.

Existe una relación inversa entre la eficacia de la absorción intestinal de cinc en ratas y la unión del metal a la metalotioneína intestinal (Cousins, 1985; Menard y col., 1981). En animales deficientes en cinc en los cuales la absorción del metal es altamente eficaz, la concentración de metalotioneína en mucosa intestinal es muy baja. Sin embargo, en animales con sobrecarga de cinc, altos niveles de metalotioneína se detectaron en mucosa intestinal que se une al cinc limitando su absorción.

Hoadley y Cousins (1988), demostraron en ratas con cinc adecuado en la dieta y en ayuno, que la tasa de absorción de cinc está relacionada inversamente con los niveles de metalotioneína intestinal.

Hempe y Cousins (1992), demostraron que en ratas alimentadas con una dieta baja en cinc, la mayor parte del cinc captado por la célula intestinal fue unido a la CRIP (proteína intestinal rica en cistina) y muy poca cantidad se encontraba en la metalotioneína en comparación con ratas normales. Además de esto, estos autores observaron también que cuando los niveles de cinc van aumentando en el lumen intestinal de 5 a 300 mol/l la CRIP transporta cada vez menos cantidad de cinc.

Este cinc que sobra por saturación de la CRIP se une no

específicamente a los demás componentes de la unión al metal (Hempe y Cousins, 1992).

La regulación homeostática del balance de cinc está controlada por la misma concentración del metal. El cinc dietario controla su misma absorción mediante la regulación de la concentración de la metalotioneína intestinal (Cousins, 1985) que a su vez modula competitivamente, la unión del cinc a la CRIP (Hempe y Cousins, 1992). Los niveles plasmáticos del cinc reponen en gran medida a estímulos externos como son las fluctuaciones en la ingesta de cinc, el ayuno y diversos tipos de estrés agudo, por ejemplo las infecciones. (Cousins 1985; 1989). Tras la comida se produce una reducción reproducible del nivel (15%), quizás relacionada con los cambios que los alimentos producen en la insulina y en la glucosa. Se cree que la mayor parte de las reducciones del cinc plasmático reflejan un aumento de la captación hepática del elemento, posiblemente relacionado con el control hormonal. El aumento del cinc plasmático regulado hormonalmente determina la movilización de una parte de la gran reserva de cinc de los músculos (57% del cinc corporal) (Henry y Elmes, 1975).

Los recientes descubrimientos de nutrición y el uso de isótopos estables en humanos, han influido notablemente en el paradigma de toma adecuada y requerimiento. Muchos estudios con diversos elementos han probado que la regulación homeostática es capaz de mantener unos márgenes adecuados dentro de unos márgenes de ingesta, rechazando los excesos o utilizando con mayor eficacia las mínimas ingestas. La FNB, reconociendo esta regulación, pudo reducir las RDAs de varios elementos para

embarazadas y durante la lactancia como muestra la décima edición publicada de las RDAs. La homeostasis es también la base científica del intervalo que establece la ESDDI para los elementos (Mertz, 1978).

### **TRANSPORTADORES DE CINC**

Sólo un pequeño porcentaje de cinc plasmático se encuentra unido a ligandos de bajo peso molecular normalmente histidina y cisteína. Boyett y Sullivan (1970) sugirieron que la transferrina unida al cinc puede constituir un pool de cinc metabolizante cambiante.

Evans y Winter (1975) indicaron que la transferrina es la proteína plasmática responsable del transporte de cinc en la circulación portal, sin embargo, muchos trabajos han demostrado la no validez de esta suposición (Smith y Cousins, 1980).

### **ASPECTOS METABÓLICOS DEL CINC A DISTINTOS NIVELES DEL ORGANISMO**

Las concentraciones plasmáticas de cinc se aproximan a 100 g/100 ml (Linder, 1988).

Estas concentraciones constituyen solamente el 10-20 % del cinc en sangre



total.

La alta concentración de cinc en sangre se explica por su presencia en la enzima leucocitaria fosfatasa alcalina (Schwarz y Pallauf, 1989). El cinc se transfiere desde los eritrocitos principalmente unido a la albúmina.

A nivel hepático, Failla y Cousins (1978) hablaron de una captación bifásica de cinc por los hepatocitos. Una fase rápida de captación que implica la saturación de los sitios específicos de unión inicial al metal, presentes en la superficie de la membrana plasmática del hepatocito. Esta fase requiere un transportador. La segunda fase de captación es más lenta y el metal se acumula según en ritmo mucho más lento. Este modelo bifásico de la captación de cinc por los hepatocitos parece ser un punto de acuerdo entre otros investigadores (Stacey y Klaasen, 1981).

A diferencia del hierro, el cinc no se almacena en el organismo. En el caso de una sobrecarga de cinc producida por administración parenteral de excesiva cantidad del metal, se induce la síntesis de la metalotioneína por el cinc (Fleet y col., 1988).

Pero en situación fisiológica normal, un ligero suplemento de cinc en la dieta no induce la síntesis de la metalotioneína hepática que representa la forma de almacenamiento del metal y consecuentemente no hay depósito del catión a nivel hepático (Bremner y Beattie, 1990).

La captación hepática de cinc puede estar influenciada por factores hormonales. Así, Kuipers y Cousins (1984) demostraron que el glucagón

estimula la captación de cinc y/o su intercambio con las células hepáticas. Henkin y col. (1984), hablaron de unas alteraciones del metabolismo hepático del cinc en pacientes tratados con glucocorticoides.

El flujo saliente de cinc hepático depende de muchos factores, especialmente de factores intracelulares que pueden favorecer la retención del metal en los hepatocitos.

La disponibilidad de los ligandos de unión circulantes que transportan el metal a los tejidos es otro factor que influye sobre la salida del metal del hígado. No es bien conocido el ligando de unión plasmático al cual está unido el cinc a su salida del hígado. Los ligandos más probablemente implicados son albúmina y aminoácidos (Cousins, 1985).

A nivel renal, normalmente el cinc excretado en orina no excede de los 600  $\mu\text{g}/\text{día}$ , pero en situaciones patológicas y traumas que llevan al catabolismo muscular, aumenta la concentración de aminoácidos plasmáticos y consecuentemente su eliminación que conlleva una excesiva excreción de los elementos traza, entre ellos el cinc (Askari y col., 1982).

Se ha visto que una suplementación dietaria de cinc aumenta la concentración de la metalotioneína renal y el contenido en RNAm de metalotioneína en riñones (Blalock y col., 1988).

Los distintos tejidos del organismo captan mayor o menor cantidad

de cinc en función de sus necesidades.

El cinc es un elemento traza ampliamente distribuido por todas las células y tejidos del organismo. Esto se explica por su intervención en la actividad de muchas metaloenzimas implicadas en distintas vías metabólicas (Evans, 1986). En muchos trabajos la actividad de las metaloenzimas dependientes de cinc se considera como medida para informarse sobre el estado del cinc en el organismo (Schwarz y Pallauf, 1989).

### **CONTENIDO DE CINC EN SANGRE**

La concentración plasmática de cinc se aproxima a 100 g/100 ml (Linder, 1988). Esta concentración constituye aproximadamente entre el 10 y el 20 % del cinc en sangre total (Scott y Bradwell, 1983). Esta alta concentración de cinc en sangre se explica por su presencia en las enzimas anhidrasa carbónica y fosfatasa alcalina (Schwarz y Pallauf, 1989).

Casi dos tercios del cinc presente en suero se encuentran unidos a la albúmina, la cual es la principal proteína transportadora de este mineral a partir del intestino (Cousins, 1985; Linder, 1988) y es también la forma más disponible para la captación hepática del metal (Failla y Cousins, 1978). Sólo un pequeño porcentaje de cinc plasmático se encuentra unido a ligandos de bajo peso molecular, normalmente histidina y cisteína.

Boyett y Sullivan (1970) sugirieron que la transferrina unida al cinc puede constituir un pool de cinc metabólicamente cambiante. Evans y Winter

---

(1975) indicaron que la transferrina es la proteína plasmática responsable del transporte de cinc en la circulación portal, sin embargo, muchos trabajos han demostrado la no validez de esta suposición (Chesters y Will, 1981)

## *Material y Métodos*

---

Se estudia el efecto de la leche de cabra en relación a la de vaca sobre metabolismo de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y cinc, así como las interacciones en el metabolismo de estos minerales en ratas adultas.

Las dietas semisintéticas usadas en la ejecución experimental han sido las siguientes:

- Dieta estándar (E): preparada con un 10% de grasa procedente de aceite de oliva virgen y un 20% de proteína (caseína y DL-metionina). Los requerimientos vitamínicos y minerales también han sido ajustados a las directrices del Instituto Americano de Nutrición (IAN) (Reeves y col., 1993).
- Dieta con leche de vaca (V): constituida mayoritariamente por liofilizado de leche de vaca. Está preparada con un 10% de grasa (procedente exclusivamente de leche de vaca) y un 20% de proteína (procedente de leche de vaca y complementada con caseína y DL-metionina, para satisfacer las recomendaciones del IAN, 1993). Asimismo, las cantidades de vitaminas y minerales se han ajustado hasta cubrir los requerimientos del IAN (Reeves y col., 1993).
- Dieta con leche de cabra (C): constituida fundamentalmente por liofilizado de leche de cabra. Está elaborada con un 10% de grasa (procedente en su totalidad de leche de cabra) y un 20% de proteína (procedente de leche de cabra y suplementada con caseína y DL-

metionina hasta satisfacer las exigencias del IAN, 1993). También se han ajustado las cantidades de vitaminas y minerales a la pauta marcada por el IAN (Reeves y col., 1993).

## 1.- DISEÑO EXPERIMENTAL

Se han usado 45 ratas (*Ratus norvegicus*, raza Wistar albina) con un peso inicial aproximado de  $177 \text{ g} \pm 3$ , procedentes del Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Granada y distribuidas en 3 experimentos de 15 ratas por grupo.

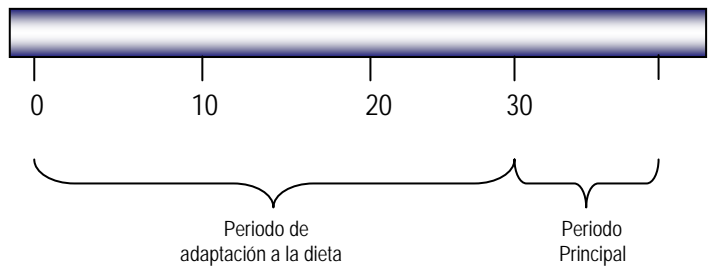
Las ratas se alojaron en células individuales de metabolismo con recogida separada de heces y orina. Estas células se encuentran situadas en una habitación aireada y termorregulada ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ) con fotoperíodo controlado de 12 horas, donde durante 30 días tomarán el agua bidestilada y la dieta “ad libitum”. Durante esta primera fase experimental de adaptación se le suministrará dieta estándar, dieta con leche de vaca o dieta con leche de cabra y a continuación se realiza el período principal de 7 días, según la técnica biológica adaptada de Thomas-Mitchell (1923), en los que los animales tienen acceso al alimento “ad libitum” y diariamente se controla la ingesta, además de recolectar por separado heces y orina que son almacenados en condiciones idóneas para su posterior análisis. En el día 37 del periodo experimental, las ratas son sacrificadas previa anestesia por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (5mg/100g de peso), con el fin de obtener las muestras de órganos y sangre.

Los grupos experimentales quedan definidos de la siguiente manera:

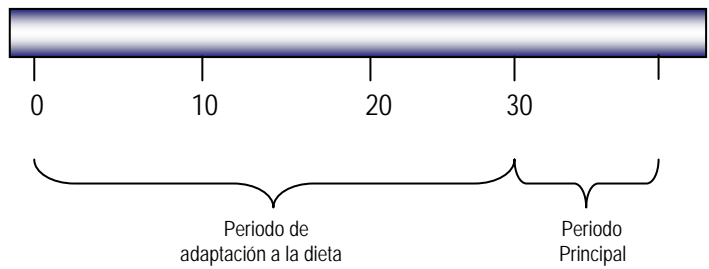
## DISEÑO EXPERIMENTAL



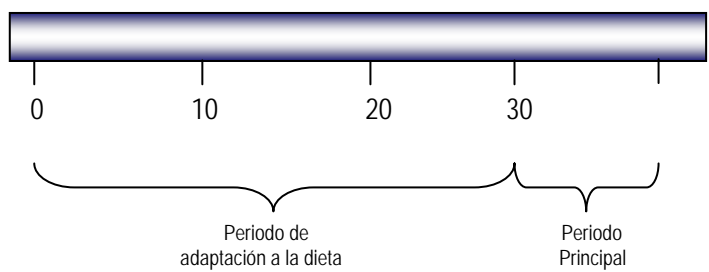
37<sup>†</sup> Día del estudio



37<sup>†</sup> Día del estudio



37<sup>†</sup> Día del estudio



† = Sacrificio y extracción de órganos y sangre.



A lo largo de todo el periodo principal, la orina se recolecta sobre una solución ácida de HCl. El volumen total de diuresis obtenido durante los 7 días se conserva en el frigorífico a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  hasta su posterior análisis. Las heces se recogen durante los 7 días del período principal y se guardan en un congelador a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$  con el fin de ser analizadas con posterioridad.

Tras el período principal, todos los animales son sacrificados (siguiendo el Protocolo del Comité de Ética de la Universidad de Granada). Se anestesia el animal con pentobarbital sódico (5mg/100g de peso por vía intraperitoneal) y se obtiene la sangre total en tubos con anticoagulante (EDTA) para la posterior determinación de hierro, calcio, fósforo y magnesio. La sangre obtenida por este procedimiento se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 10 minutos y con una pipeta pasteur se extrae el suero, que se conservará congelado a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$  hasta ser utilizado para la determinación de los distintos parámetros bioquímicos.

Después se procede a la extracción y congelación de los distintos órganos objeto de estudio: hígado, bazo, corazón, cerebro, testículos, músculo *longissimus dorsi*, riñones, fémur y esternón para determinar el contenido de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y cinc, tras el adecuado procesamiento de la muestra. También se analiza el contenido de dichos minerales en los tres tipos de dieta, heces, orina, suero y/o sangre.

En cada uno de los experimentos se han llevado a cabo las siguientes determinaciones analíticas:

- DIETAS: humedad, Ca, P, Mg, Fe, Cu y Zn.
- HECES: humedad, Ca, P, Mg, Fe, Cu y Zn

- ORINA: Ca, P, Mg, Fe, Cu y Zn.
- SUERO: Ca y P .
- SANGRE TOTAL: Mg.
- FÉMUR, ESTERNÓN, MUSCULO *longísimus dorsi*: Ca, P, Mg, Fe, Cu y Zn.
- RIÑONES: P, Cu y Zn
- BAZO: P y Fe
- HÍGADO: Fe, Cu y Zn
- CEREBRO: P
- TESTÍCULOS: Zn

## **2.- DIETAS UTILIZADAS**

La dieta estándar (E) fue elaborada según las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (Reeves y col., 1993) y para las dietas basadas en leche de vaca y cabra se usó como fuente grasa y proteica liofilizado de leche de vaca y cabra respectivamente. Para asegurar que el liofilizado mantenía constantes las características nutricionales a lo largo de todo el desarrollo experimental, se conservaba envasado al vacío y congelado a  $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la elaboración de la dieta.

Los suplementos vitamínicos y minerales fueron preparados según las directrices del IAN (Reeves y col., 1993), excepto el nivel de grasa en la dieta que fue de un 10% en lugar de un 5%, con lo que se pretendía que el liofilizado de leche constituyera una tercera parte de las dietas basadas en leche y que la procedencia de la grasa fuese en su totalidad proveniente de la leche.

La dieta estándar (E) fue preparada usando aceite de oliva como fuente de grasa (10%) y como fuente proteica (20%) se usó caseína+ D,L-metionina.

Las dietas basadas en leche (dietas V y C), fueron preparadas usando liofilizado de leche de vaca y cabra respectivamente. Se analizó el liofilizado para determinar el contenido graso, proteico, lactosa y composición mineral. De este análisis se derivaron los siguientes datos:

Tipo de Liofilizado	H-C				Fe (mg)	Cu (mg)	Zn (mg)	Ca (mg)	P (mg)	Mg (mg)
	Proteína (g)	Grasa (g)	(Lactosa) (g)	Cenizas (%)						
<b>Leche Vaca (V)*</b>	24.84	28.76	40.75	5.79	0.87	0.14	3.52	1030.5	782.3	85.2
<b>Leche Cabra (C)*</b>	23.36	30.69	39.20	5.81	1.23	0.25	4.15	1319.2	813.3	89.5

\*Datos referidos a composición por 100 g de liofilizado.

Atendiendo principalmente al contenido graso, se determinaron las cantidades adecuadas de liofilizado de vaca o cabra para obtener unas dietas con un **10% de grasa**. Para alcanzar el **20% de contenido proteico** (recomendaciones del IAN, 1993) se suplementó la dieta con caseína y D,L-metionina, ya que la cantidad de proteína aportada por el liofilizado usado en las dietas elaboradas con leche era insuficiente.

- En la dieta elaborada con liofilizado de leche de vaca (V), se emplearon 30g de liofilizado por 100g de dieta para ajustar la grasa al 10%.
- En la dieta preparada con liofilizado de cabra (C), para ajustar el contenido graso a un 10%, se utilizaron 23,37g de dicho liofilizado por 100g de dieta.

Los **Hidratos de Carbono** en la dieta estándar son aportados por azúcar (sacarosa), almidón y fibra (celulosa). En las dietas basadas en leche (dietas V y C), hay un aporte de lactosa proveniente del liofilizado, que tenemos en cuenta al añadir el azúcar y almidón, para así obtener la misma proporción de hidratos de carbono que tiene la dieta estándar.

Las dietas semisintéticas utilizadas (dieta E, dieta V y dieta C), están elaboradas de acuerdo con la siguiente composición porcentual:

<b>DIETA ESTÁNDAR (E)</b>	
	<b>CANTIDAD (g/Kg dieta)</b>
<b>Proteína</b>	
- Caseína	200
<b>Grasa</b>	
- Aceite de oliva	100
<b>Hidratos de Carbono</b>	
- Almidón de maíz	501
- Sacarosa	100
<b>Fibra</b>	
- Celulosa micronizada	50
<b>Corrector Mineral</b>	35
<b>Corrector Vitamínico</b>	10
<b>Cloruro de Colina</b>	2,5
<b>L-Cisteína</b>	1,5

A diferencia de la dieta estándar, en las dietas constituidas con leche (Dietas V y C), hay un aporte de grasa, proteína, Ca, P, Mg, Fe, Cu y Zn (además de otros minerales que no son objeto de este estudio) procedentes de la leche, que han sido tenidos en cuenta al elaborar la dieta y el corrector mineral.

<b>DIETA VACA (V)</b>	
	<b>CANTIDAD (g/Kg dieta)</b>
<b>Proteína</b>	
- Caseína + proteína procedente de liofilizado	200
<b>Grasa</b>	
- Procedente del liofilizado	100
<b>Hidratos de Carbono</b>	
- Almidón de maíz	307
- Lactosa	194
- Sacarosa	100
<b>Fibra</b>	
- Celulosa micronizada	50
<b>Corrector Mineral</b>	35
<b>Corrector Vitamínico</b>	10
<b>Cloruro de Colina</b>	2,5
<b>L-Cisteína</b>	1,5

<b>DIETA CABRA (C)</b>	
	<b>CANTIDAD (g/Kg dieta)</b>
<b>Proteína</b>	
- Caseína + proteína procedente de liofilizado	200
<b>Grasa</b>	
- Procedente del liofilizado	100
<b>Hidratos de Carbono</b>	
- Almidón de maíz	302
- Lactosa	199
- Sacarosa	100
<b>Fibra</b>	
- Celulosa micronizada	50
<b>Corrector Mineral</b>	35
<b>Corrector Vitamínico</b>	10
<b>Cloruro de Colina</b>	2,5
<b>L-Cisteína</b>	1,5

El **corrector vitamínico** utilizado en las tres dietas ha sido elaborado según las directrices del Instituto Americano de Nutrición (Reeves y col., 1993) con la siguiente composición:

<b>CORRECTOR VITAMÍNICO</b>	
	<b>g/Kg de corrector</b>
<i>Clorhidrato de tiamina</i>	0.600
<i>Riboflavina</i>	0.600
<i>Clorhidrato de piridoxina</i>	0.700
<i>Ácido nicotínico</i>	3.000
<i>Pantotenato cálcico</i>	1.600
<i>Ácido fólico</i>	0.200
<i>Biotina</i>	0.025
<i>Cianocobalamina</i>	0.002
<i>Vitamina A (acetato de retinol)</i>	0.800
<i>Vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol)</i>	0.250
<i>Vitamina E (tocoferol)</i>	15.00
<i>Vitamina K (menadiona)</i>	0.075
<i>Sacarosa finamente dividida c.s.p.</i>	1000.00

El **corrector mineral** se preparó de acuerdo a las recomendaciones del IAN (1993) para la dieta estándar (E) y unos correctores específicos diseñados especialmente para las dietas elaboradas con leche (V y C). Los correctores específicos se elaboraron teniendo en cuenta el aporte mineral de los liofilizados de leche empleados. Estos correctores constituían el complemento mineral que les faltaba a las distintas dietas, para alcanzar las cantidades dictadas por el IAN (1993):

- El contenido de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y cinc recomendado para un 3,5% de corrector mineral en la dieta es:

Calcio: 5000 mg/Kg de dieta

Fósforo: 1561 mg/Kg de dieta

Magnesio: 507 mg/Kg de dieta

Hierro: 35 mg/Kg de dieta

Cobre: 6 mg/Kg de dieta

Cinc: 30 mg/Kg de dieta

CORRECTOR MINERAL			
	g/kg de corrector mineral		
	Dieta Estándar (E)	Dieta Leche Vaca (V)	Dieta Leche Cabra (C)
<i>Carbonato cálcico anhidro (40.4% Ca)</i>	357.00	54.66	27.31
<i>Fosfato potásico monobásico (22.76% P; 28.73% K)</i>	250.00	-	137.41
<i>Cloruro Sódico (39.34% Na; 60.66% Cl)</i>	74.00	74.00	74.00
<i>Sulfato potásico (44.87% K; 18.39% S)</i>	46.60	46.60	46.60
<i>Citrato potásico monohidratado (36.16% K)</i>	28.00	28.00	-
<i>Óxido de Magnesio (60.32 % Mg)</i>	24.00	4.62	-
<i>Citrato férrico (16.5% Fe)</i>	6.06	3.27	4.88
<i>Carbonato de cinc (52.14% Zn)</i>	1.65	0.77	1.06
<i>Carbonato de manganeso (47.79% Mn)</i>	0.63	0.63	0.63
<i>Carbonato cúprico (57.47% Cu)</i>	0.30	0.25	0.28
<i>Ioduro potásico (59.3% I)</i>	0.01	0.01	0.01
<i>Selenito sódico anhidro (41.79% Se)</i>	0.01	0.01	0.01
<i>Paramolibdato de amonio tetrahidratado (54.34%Mo)</i>	0.008	0.008	0.008
<i>Sacarosa finamente dividida c.s.p.</i>	1000.00	1000	1000

- Los requerimientos de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y cinc en ratas adultas son:

Calcio: 5000 mg/Kg de dieta

Fósforo: 3000 mg/Kg de dieta

Magnesio: 513 mg/Kg de dieta

Hierro: 45 mg/Kg de dieta

Cobre: 6 mg/Kg de dieta

Cinc: 35 mg/Kg de dieta

Se han determinado las concentraciones de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y cinc en las distintas dietas ensayadas cuya riqueza en mg/kg de dieta, queda reflejada en la siguiente tabla:

DIETAS	Ca	P	Mg	Fe	Cu	Zn
ESTÁNDAR	4878	3851	473	31,1	5,2	34,4
VACA	5089	3945	512	30,0	5,1	31,9
CABRA	5148	4187	525	30,0	5,3	32,7

### 3.- LIOFILIZACIÓN

Para las dietas basadas en leche usamos como componente fundamental liofilizado de leche de vaca o cabra. La liofilización es un proceso que consiste en desecar un producto previamente congelado, lográndose la



sublimación del hielo bajo vacío. Es por lo tanto el paso directo del hielo (sólido) a gas (vapor), sin que en ningún momento aparezca el agua en su estado líquido. Se obtiene una masa seca, esponjosa de más o menos el mismo tamaño que la masa congelada original, mejorando su estabilidad y siendo fácilmente redisuelta en agua. Se realiza a temperaturas inferiores a la de solidificación total, o sea, la leche está congelada a temperaturas entre 10 y 15 °C por debajo de su temperatura eutéctica para evitar la formación de coágulos. El proceso puede esquematizarse en tres etapas:

a) Congelación inicial: es una operación previa y obligatoria. Una congelación adecuada es la base de que el producto liofilizado presente óptimas condiciones de aspectos, conservación de sus propiedades originales y rápida rehidratación.

b) Sublimación o desecación primaria: es la etapa en la que la mayor parte del agua libre pasa a vapor. Los parámetros temperatura, presión y tiempo pueden ser modificados independientemente pero están íntimamente relacionados, no es posible modificar, sin que se afecten los otros, por lo que en todo momento deben ser considerados conjuntamente y analizados sus efectos.

c) Desorción o desecación secundaria: Su misión es eliminar las últimas trazas de vapor de agua, evaporando el agua no congelada ligada al producto. Se lleva a cabo a una temperatura inferior a la de desnaturalización del producto y se logra una humedad final hasta valores inferiores al 1 %.

En nuestro caso, la liofilización es llevada a cabo en un liofilizador FTS System TDS-3D-MP. NY, USA.

#### **4.- TÉCNICAS ANÁLITICAS**

##### **MATERIA SECA**

Es determinada como la parte de sustancia que no desaparece al someter la muestra a una temperatura de  $105 \pm 2^\circ\text{C}$ , hasta que alcance un peso constante. La materia seca se determina en las distintas dietas, heces y órganos objeto de estudio.

##### **MATERIA GRASA**

El contenido graso de los liofilizados y las dietas fue determinado tras hidrólisis hidroclicórica por extracción con éter de petróleo (Fanderson, 1986)

##### **DETERMINACIÓN DE PROTEINA BRUTA**

Calculada a partir de los datos obtenidos en la determinación de nitrógeno por el método de Kjeldahl con selenio como catalizador y empleando 6,25 como factor de conversión de nitrógeno en proteína para la dieta estándar y el factor 6,38 para los liofilizados y las dietas elaboradas con leche.

##### **DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO MINERAL**

Se determina por mineralización total de la muestra por vía húmeda de uno o dos gramos de muestra (en el caso de la dieta, hígado y heces), de la pieza íntegra (en el resto de órganos) o de 0.5 ml (de sangre total). La muestra se coloca en un vaso de precipitado, se añaden 10-12 ml de ácido nítrico

concentrado (riqueza del 69%) y se tapa con un vidrio de reloj. Se coloca en un baño de arena a una temperatura de 70-80°C y se espera la aparición de vapores anaranjados de óxido nítrico. Se añaden 2 ml de nítrico a la muestra, tantas veces como sea necesario hasta la aparición de vapores blanquecinos. En este momento se comienza a añadir 10 ml de mezcla nítrico/perclórico (4:1, v/v) en alícuotas de 2ml cada vez, hasta completar la mineralización. Una vez finalizada la mineralización, se deja enfriar, se filtra en papel Whatman del n° 42, y se enrasa hasta un volumen final de 25 ml en un matraz aforado. Como resultado final obtenemos una solución transparente que emplearemos en la posterior determinación del contenido de los diferentes minerales.

### **CALCIO, MAGNESIO, HIERRO, COBRE y CINCO**

Las concentraciones de calcio, magnesio, hierro, cobre y cinc en dieta, heces, orina y órganos, así como la concentración de magnesio en sangre total se determinan por espectrofotometría de absorción atómica (PERKIN ELMER 1100B. Norwalk, CT, USA) a partir de una muestra adecuada, previamente mineralizada por vía húmeda y diluida convenientemente, comparándose frente a una serie de patrones de concentración conocida.

### **FÓSFORO**

La concentración de fósforo en dieta, heces, orina, fémur, esternón, músculo *longissimus dorsi*, cerebro, bazo y riñones se analiza por espectrofotometría visible mediante la técnica de Fiske-Subbarow (1925).

---

## **CALCIO Y FÓSFORO EN SUERO**

Las concentraciones séricas de estos dos minerales se determinaron por colorimetría utilizando el método de Sarkar & Chauvan (1967) para el calcio y el método de Drewes (1972) para el fósforo.

## **CALCIO IONIZADO EN SUERO**

El calcio iónico fue medido con un autoanalizador utilizando un electrodo selectivo NOVA 7 (Noval Biomedical, Watmam, MA, USA)

## **PARATHORMONA (PTH)**

La PTH fue determinada por radioinmunoensayo de la mitad C-terminal de la molécula de la hormona (Nichols Institute, San Juan Capistrano, CA, USA), medida con un contador Packard (Packard, Meriden, CT, USA)

## **CORTICOSTERONA**

Los niveles séricos de corticosterona fueron determinados con un kit de radioinmunoensayo, (ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA, USA).

## FOSFATASA ALCALINA

La fosfatasa alcalina fue determinada mediante un test de color, monotest optimizado de fosfatasa alcalina, método estándar optimizado (Boehringer Manhein GMBH Diagnostica).

### 5.- ÍNDICES BIOLÓGICOS

La metodología utilizada en el cálculo de los índices empleados es la siguiente:

**\*Coefficiente de Eficacia en Crecimiento (C.E.C.)**

$$C.E.C. = \Delta \text{Peso} / \text{Ingesta de proteína}$$

**\*Índice de Transformación del alimento (I.T.)**

$$I.T. = \text{Ingesta de alimento} / \Delta \text{peso}$$

**\*Coefficiente de Digestibilidad Aparente**

$$C.D.A. = \frac{A}{I} \times 100$$

$$A = I - F$$

**\*Balance**

$$B = I - (F + U)$$

Las siglas empleadas en estas fórmulas, son las indicadas por la FAO/OMS (1966)

A = Absorbido

I = Ingerido

F = Excreción fecal

U = Excreción urinaria

B = Balance

## **6- . CONTROL DE CALIDAD**

Dada la importancia de una exacta determinación de los distintos parámetros estudiados se ha llevado a cabo un control de calidad de estas determinaciones. Este control incluye el análisis de un conjunto de patrones primarios y muestras problemas. Los estándar primarios son de dos tipos: propios de cada determinación y sueros controles liofilizados.

En nuestro caso, tanto la desviación estándar de la media de los patrones primarios entre ellos, como en relación con las muestras problema no fueron significativos en ningún caso a lo largo de todo el tiempo de experimentación en que se ha realizado el trabajo.

---

## 7- . TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Se ha calculado el valor medio ( $\bar{x}$ ) y el error estándar de la media (E.E.M.) para cada parámetro estudiado.

$$E.E.M. = \frac{\sigma_{n-1}}{\sqrt{n}}$$

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de la varianza one- way ANOVA y se utilizó el test de “post hoc” de Bonferroni para comparar las diferentes dietas ensayadas. Las diferencias se han considerado significativas para un valor de  $p < 0.05$ . Todos los análisis estadísticos se han realizado con el paquete estadístico SPSS (SPSS, versión 13.0, 2005; SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

*Resultados*

---



**TABLA I.- INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES**

<b>PARÁMETRO</b>	<b>DIETA ESTÁNDAR</b>	<b>DIETA CON LECHE DE VACA</b>	<b>DIETA CON LECHE DE CABRA</b>
S.S. ingerida (g/día)	18.62 ± 0.59	20.71 ± 0.50	16.24 ± 0.34
Proteína ingerida (g/día)	3.90 ± 0.12	3.95 ± 0.09	3.15 ± 0.07
Peso inicial (g)	328.1 ± 8.2	333.6 ± 8.9	326.7 ± 5.8
Peso final (g)	350.5 ± 9.3	351.2 ± 8.9	345.7 ± 6.1
Peso medio (g)	339.3 ± 8.7	342.4 ± 8.7	326.2 ± 5.9
Δ peso (g/día)	3.21 ± 0.30	2.51 ± 0.57	2.71 ± 0.21
CEC	0.81 ± 0.06	0.63 ± 0.07	0.85 ± 0.05
IT	6.46 ± 0.81	8.21 ± 0.83	6.35 ± 0.41

**TABLA II.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DE CALCIO**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
Ingerido (mg/día)	87.1 ± 2.8	105.4 ± 2.5	83.6 ± 1.7
Fecal (mg/día)	59.2 ± 2.5	73.0 ± 3.1	51.3 ± 0.9
Absorbido (mg/día)	28.0 ± 1.6	32.4 ± 2.2	32.3 ± 1.5
CDA (%)	32.2 ± 1.5	30.8 ± 2.0	38.4 ± 1.3
Urinario (mg/día)	0.91 ± 0.12	1.91 ± 0.12	1.70 ± 0.12
Retenido (mg/día)	26.1 ± 1.6	30.5 ± 2.2	31.6 ± 1.5
R/A (%)	93.2 ± 0.5	93.8 ± 0.7	97.8 ± 0.4
R/I (%)	29.9 ± 1.5	29.0 ± 2.0	37.8 ± 1.3

**TABLA III.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DE FÓSFORO**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
Ingerido (mg/día)	71.7 ± 2.3	81.7 ± 2.0	68.0 ± 1.4
Fecal (mg/día)	31.9 ± 1.7	36.4 ± 1.6	22.9 ± 0.9
Absorbido (mg/día)	39.8 ± 1.5	45.3 ± 1.6	45.1 ± 1.0
CDA (%)	55.6 ± 1.4	55.5 ± 1.5	66.5 ± 1.1
Urinario (mg/día)	25.0 ± 1.4	26.1 ± 1.4	23.1 ± 1.1
Retenido (mg/día)	14.8 ± 1.7	19.2 ± 2.2	22.0 ± 1.2
R/A (%)	37.0 ± 3.5	41.6 ± 4.0	48.7 ± 2.3
R/I (%)	20.8 ± 2.2	23.5 ± 2.7	32.4 ± 1.6

**TABLA IV.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DE MAGNESIO**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
Ingerido (mg/día)	8.8 ± 0.3	10.6 ± 0.3	8.53 ± 0.18
Fecal (mg/día)	3.8 ± 0.3	4.10 ± 0.25	2.77 ± 0.16
Absorbido (mg/día)	5.0 ± 0.3	6.51 ± 0.24	5.76 ± 0.19
CDA (%)	57.0 ± 2.7	61.4 ± 2.0	67.5 ± 1.7
Urinario (mg/día)	1.25 ± 0.31	3.14 ± 0.42	1.98 ± 0.20
Retenido (mg/día)	3.74 ± 0.37	3.37 ± 0.40	3.78 ± 0.22
R/A (%)	74.9 ± 5.8	52.1 ± 5.9	65.5 ± 3.0
R/I (%)	42.0 ± 3.3	31.9 ± 3.8	44.4 ± 2.5

TABLA V.- DEPOSITO DE CALCIO EN ORGANOS

PARAMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
<b>Fémur</b>			
Peso órgano (g SS)	0.5134 ± 0.0150	0.5965 ± 0.0126	0.5960 ± 0.0107
mg Ca/g SS	233.8 ± 0.80	241.8 ± 0.95	250.5 ± 1.57
mg Ca total	120.0 ± 3.38	124.4 ± 3.03	149.3 ± 2.49
<b>Esternón</b>			
Peso órgano (g)	0.1766 ± 0.0123	0.1772 ± 0.0085	0.1737 ± 0.0064
mg Ca/g SS	133.3 ± 2.86	140.5 ± 3.05	147.8 ± 2.70
mg Ca total	23.36 ± 1.42	24.82 ± 1.14	25.52 ± 0.73
<b>Músculo L.D.</b>			
Peso órgano (g)	0.9649 ± 0.0706	1.1525 ± 0.0619	0.9288 ± 0.0382
mg Ca/g SS	5.54 ± 0.16	5.78 ± 0.25	6.94 ± 0.31
mg Ca total	5.34 ± 0.40	6.66 ± 0.42	6.54 ± 0.49

**TABLA VI.- DEPÓSITO DE FÓSFORO EN ÓRGANOS**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
<b><u>Fémur</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.5134 ± 0.015	0.5965 ± 0.013	0.5960 ± 0.011
mg P/g SS	83.11 ± 1.38	87.29 ± 1.92	89.52 ± 2.42
mg P total	42.63 ± 1.33	52.05 ± 1.54	53.48 ± 2.02
<b><u>Esternón</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.1766 ± 0.012	0.1772 ± 0.009	0.1737 ± 0.006
mg P/g SS	43.07 ± 1.46	46.93 ± 0.84	48.77 ± 0.74
mg P total	7.46 ± 0.36	8.32 ± 0.45	8.43 ± 0.25
<b><u>Músculo L.D.</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.9649 ± 0.071	1.1525 ± 0.062	0.9288 ± 0.038
mg P/g SS	5.05 ± 0.30	4.02 ± 0.17	6.35 ± 0.16
mg P total	4.75 ± 0.27	4.61 ± 0.26	5.88 ± 0.25
<b><u>Cerebro</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.3712 ± 0.009	0.4253 ± 0.004	0.4118 ± 0.007
mg P/g SS	8.24 ± 0.097	5.69 ± 0.300	12.3 ± 0.51
mg P total	3.06 ± 0.084	2.42 ± 0.140	5.05 ± 0.205
<b><u>Bazo</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.2256 ± 0.019	0.1832 ± 0.009	0.2157 ± 0.011
mg P/g SS	7.50 ± 0.220	8.89 ± 0.396	10.6 ± 0.27
mg P total	1.68 ± 0.126	1.63 ± 0.101	2.26 ± 0.101
<b><u>Riñones</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.5131 ± 0.010	0.5274 ± 0.014	0.5404 ± 0.009
mg P/g SS	5.91 ± 0.078	5.91 ± 0.238	10.8 ± 0.41
mg P total	3.03 ± 0.056	3.11 ± 0.137	5.82 ± 0.251

TABLA VII.- DEPÓSITO DE MAGNESIO EN ÓRGANOS

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
<b>Fémur</b>			
Peso órgano (g SS)	0.5134 ± 0.0150	0.5965 ± 0.0126	0.5960 ± 0.0107
mg Mg/g SS	5.02 ± 0.11	4.96 ± 0.08	5.31 ± 0.23
mg Mg total	2.58 ± 0.11	2.96 ± 0.06	3.16 ± 0.14
<b>Esternón</b>			
Peso órgano (g)	0.1766 ± 0.0123	0.1772 ± 0.0085	0.1737 ± 0.0064
mg Mg/g SS	2.32 ± 0.04	2.51 ± 0.04	2.49 ± 0.02
mg Mg total	0.406 ± 0.025	0.445 ± 0.020	0.432 ± 0.016
<b>Músculo L.D.</b>			
Peso órgano (g)	0.9649 ± 0.0706	1.1525 ± 0.0619	0.9288 ± 0.0382
mg Mg/g SS	0.735 ± 0.027	0.723 ± 0.020	0.783 ± 0.021
mg Mg total	0.705 ± 0.052	0.840 ± 0.060	0.729 ± 0.040

**TABLA VIII.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DE HIERRO**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
Ingerido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	579.9 $\pm$ 18.5	621.6 $\pm$ 15.0	487.7 $\pm$ 10.2
Fecal ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	451.3 $\pm$ 18.8	509.1 $\pm$ 17.7	357.1 $\pm$ 9.2
Absorbido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	128.7 $\pm$ 5.7	112.5 $\pm$ 13.9	130.6 $\pm$ 9.3
CDA (%)	22.4 $\pm$ 1.1	18.1 $\pm$ 2.2	26.6 $\pm$ 1.7
Urinario ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	2.82 $\pm$ 0.24	7.78 $\pm$ 0.64	3.56 $\pm$ 0.14
Retenido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	125.9 $\pm$ 5.6	104.7 $\pm$ 13.9	127.1 $\pm$ 9.3
R/A (%)	97.8 $\pm$ 0.2	92.4 $\pm$ 0.9	97.0 $\pm$ 0.3
R/I (%)	21.9 $\pm$ 1.1	16.8 $\pm$ 2.2	25.9 $\pm$ 1.7



**TABLA IX.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DE COBRE**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
Ingerido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	$96.6 \pm 3.1$	$105.4 \pm 2.5$	$86.6 \pm 1.8$
Fecal ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	$54.9 \pm 2.8$	$68.5 \pm 2.8$	$48.3 \pm 1.1$
Absorbido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	$41.7 \pm 0.8$	$36.7 \pm 1.9$	$38.3 \pm 1.4$
CDA (%)	$43.4 \pm 1.2$	$35.1 \pm 1.8$	$44.1 \pm 1.0$
Urinario ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	$5.96 \pm 0.29$	$5.89 \pm 0.68$	$5.76 \pm 0.27$
Retenido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	$35.7 \pm 0.9$	$31.0 \pm 1.8$	$32.5 \pm 1.3$
R/A (%)	$85.6 \pm 0.8$	$83.9 \pm 1.6$	$84.8 \pm 0.7$
R/I (%)	$37.2 \pm 1.2$	$29.5 \pm 1.7$	$37.4 \pm 1.1$

**TABLA X.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DE CINC**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
Ingerido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	640.6 $\pm$ 20.5	640.7 $\pm$ 15.4	531.0 $\pm$ 19.4
Fecal ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	526.9 $\pm$ 17.1	529.3 $\pm$ 13.4	356.3 $\pm$ 24.9
Absorbido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	113.7 $\pm$ 4.6	111.7 $\pm$ 4.3	174.7 $\pm$ 10.3
CDA (%)	17.8 $\pm$ 0.5	17.4 $\pm$ 0.6	33.6 $\pm$ 2.6
Urinario ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	2.80 $\pm$ 0.50	4.31 $\pm$ 0.32	5.33 $\pm$ 0.82
Retenido ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	111.0 $\pm$ 4.8	107.5 $\pm$ 4.3	169.4 $\pm$ 10.4
R/A (%)	97.6 $\pm$ 6.2	96.2 $\pm$ 3.4	97.1 $\pm$ 5.8
R/I (%)	17.3 $\pm$ 0.8	16.8 $\pm$ 0.9	31.9 $\pm$ 1.9

**TABLA XI.- DEPÓSITO DE HIERRO EN ÓRGANOS**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
<b><u>Fémur</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.5134 ± 0.015	0.5965 ± 0.013	0.5960 ± 0.011
µg Fe/g SS	50.87 ± 1.44	43.81 ± 0.59	45.61 ± 0.74
µg Fe total	25.98 ± 0.66	26.14 ± 0.69	27.19 ± 0.68
<b><u>Esternón</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.1766 ± 0.012	0.1772 ± 0.008	0.1737 ± 0.006
µg Fe/g SS	73.06 ± 2.41	71.10 ± 0.91	73.97 ± 0.80
µg Fe total	12.84 ± 0.89	12.60 ± 0.62	12.84 ± 0.47
<b><u>Músculo L.D.</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.9649 ± 0.071	1.1525 ± 0.062	0.9288 ± 0.038
µg Fe/g SS	77.05 ± 2.21	71.12 ± 1.80	75.77 ± 0.60
µg Fe total	72.82 ± 5.11	82.05 ± 5.01	70.35 ± 2.90
<b><u>Bazo</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.2256 ± 0.019	0.1832 ± 0.009	0.2157 ± 0.011
µg Fe/g SS	1299 ± 48.9	1102 ± 26.7	1284 ± 28.2
µg Fe total	289.5 ± 20.8	203.8 ± 14.5	275.6 ± 12.8
<b><u>Hígado</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.9287 ± 0.048	0.8920 ± 0.033	0.8899 ± 0.023
µg Fe/g SS	240.3 ± 3.41	198.3 ± 2.42	230.3 ± 6.95
µg Fe total	222.3 ± 10.2	177.2 ± 7.86	204.2 ± 6.55

**TABLA XII.- DEPÓSITO DE COBRE EN ÓRGANOS**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
<b><u>Fémur</u></b>			
Peso órgano (g SS)			
µg Cu/g SS	0.5134 ± 0.015	0.5965 ± 0.013	0.5960 ± 0.011
µg Cu total	7.03 ± 0.19	5.06 ± 0.18	6.06 ± 0.06
	3.59 ± 0.10	3.02 ± 0.11	3.61 ± 0.08
<b><u>Esternón</u></b>			
Peso órgano (g SS)			
µg Cu/g SS	0.1766 ± 0.012	0.1772 ± 0.008	0.1737 ± 0.006
µg Cu total	9.51 ± 0.38	7.25 ± 0.23	7.79 ± 0.60
	1.65 ± 0.10	1.28 ± 0.07	1.34 ± 0.11
<b><u>Músculo L.D.</u></b>			
Peso órgano (g SS)			
µg Cu/g SS	0.9649 ± 0.071	1.1525 ± 0.062	0.9288 ± 0.038
µg Cu total	6.00 ± 0.20	4.79 ± 0.42	6.21 ± 0.68
	5.75 ± 0.39	5.74 ± 0.84	5.77 ± 0.69
<b><u>Riñones</u></b>			
Peso órgano (g SS)			
µg Cu/g SS	0.5131 ± 0.010	0.5595 ± 0.015	0.5532 ± 0.011
µg Cu total	187.4 ± 4.17	161.6 ± 4.08	175.6 ± 7.00
	96.3 ± 3.20	90.1 ± 2.25	97.0 ± 3.90
<b><u>Hígado</u></b>			
Peso órgano (g SS)			
µg Cu/g SS	0.9287 ± 0.048	0.8920 ± 0.033	0.8899 ± 0.023
µg Cu total	240.3 ± 3.41	198.3 ± 2.42	230.3 ± 6.95
	222.3 ± 10.2	177.2 ± 7.86	204.2 ± 6.55

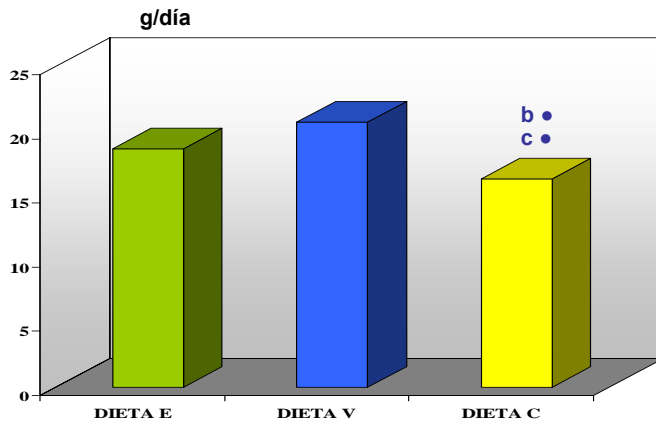
**TABLA XIII.- DEPÓSITO DE CINCO EN ÓRGANOS**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA
<b><u>Fémur</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.5134 ± 0.015	0.5965 ± 0.013	0.5960 ± 0.011
µg Zn/g SS	183.37 ± 2.88	179.12 ± 3.64	192.96 ± 2.89
µg Zn total	94.09 ± 2.92	106.71 ± 2.59	115.00 ± 2.67
<b><u>Esternón</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.1766 ± 0.012	0.1772 ± 0.008	0.1737 ± 0.006
µg Zn/g SS	123.06 ± 1.75	132.36 ± 1.05	134.58 ± 0.69
µg Zn total	21.72 ± 1.56	23.49 ± 1.23	23.36 ± 0.82
<b><u>Músculo L.D.</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.9649 ± 0.071	1.1525 ± 0.062	0.9288 ± 0.038
µg Zn/g SS	59.86 ± 2.21	55.15 ± 1.94	63.15 ± 1.38
µg Zn total	56.82 ± 3.05	63.93 ± 5.32	58.50 ± 2.48
<b><u>Testículos</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.3836 ± 0.017	0.4528 ± 0.013	0.5200 ± 0.020
µg Zn/g SS	178.7 ± 2.17	165.2 ± 3.53	183.3 ± 3.09
µg Zn total	68.6 ± 3.31	74.6 ± 1.83	95.4 ± 2.70
<b><u>Riñones</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.5131 ± 0.010	0.5595 ± 0.015	0.5532 ± 0.011
µg Zn/g SS	92.0 ± 1.95	89.8 ± 2.35	96.4 ± 1.92
µg Zn total	47.2 ± 1.41	49.4 ± 0.91	53.2 ± 1.24
<b><u>Hígado</u></b>			
Peso órgano (g SS)	0.9287 ± 0.048	0.8920 ± 0.033	0.8899 ± 0.023
µg Zn/g SS	110.7 ± 2.34	100.1 ± 1.28	116.0 ± 1.56
µg Zn total	101.8 ± 3.32	94.9 ± 2.42	103.2 ± 2.87

**TABLA XIV.- CONCENTRACIONES SÉRICAS DE Calcio (iónico y total), P, PTH, CORTICOSTERONA, FOSFATASA ALCALINA Y MAGNESIO EN SANGRE TOTAL**

PARÁMETRO	DIETA ESTÁNDAR	DIETA CON LECHE DE VACA	DIETA CON LECHE DE CABRA	
<b>Ca</b>	Iónico (mg/L)	56.1 ± 0.9	55.8 ± 0.8	62.6 ± 0.9
	Total (mg/L)	98.3 ± 1.2	96.3 ± 1.1	109.9 ± 1.7
<b>P</b> (mg/L)	78.3 ± 1.3	72.6 ± 1.2	87.2 ± 1.1	
<b>Mg</b> (mg/L)	83.3 ± 3.1	78.0 ± 2.2	85.8 ± 3.9	
<b>PTH</b> (pg/mL)	115.7 ± 2.4	121.8 ± 4.3	96.8 ± 2.9	
<b>Corticoesterona</b> (pg/mL)	1039 ± 82	1057 ± 67	1034 ± 43	
<b>Fosfatasa Alcalina</b> (U/L)	104.3 ± 3.24	73.1 ± 4.19	102.0 ± 4.09	

**Fig.1.- DIETA INGERIDA**



**Fig.2.-PROTEÍNA INGERIDA**

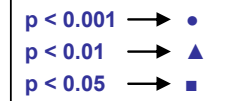
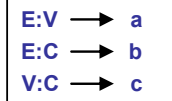
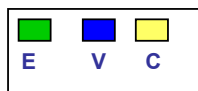
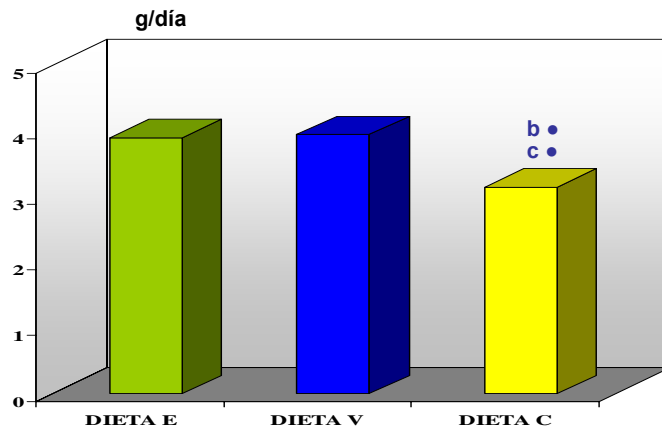


Fig.3.- INCREMENTO DE PESO

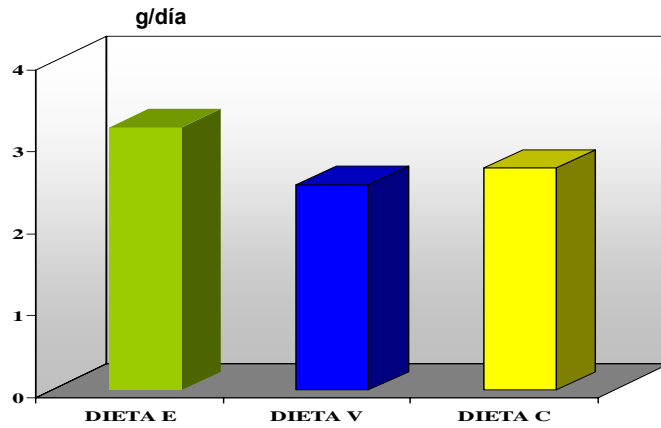
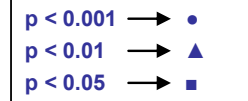
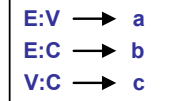
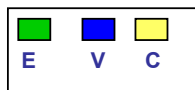
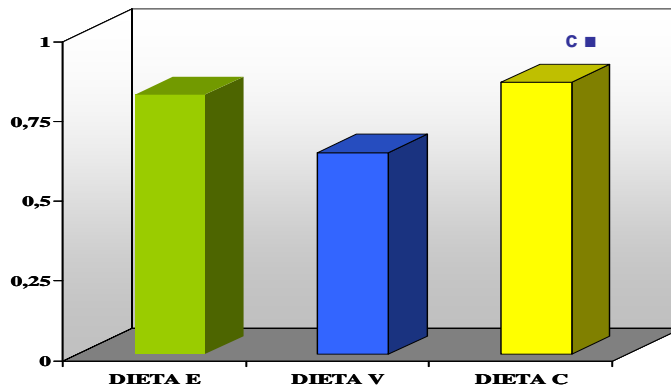
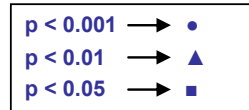
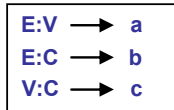
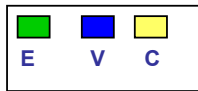
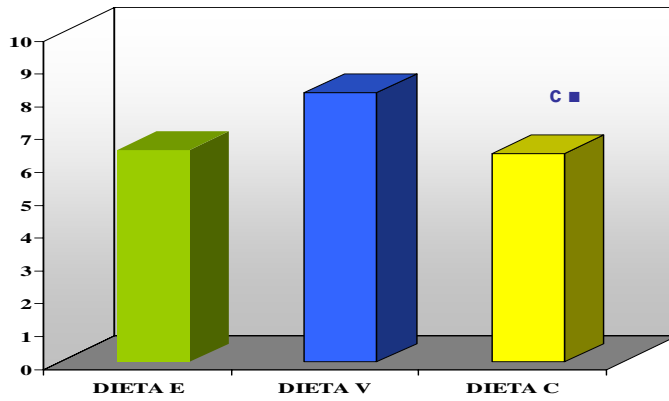


Fig.4.- CEC DE LA PROTEÍNA

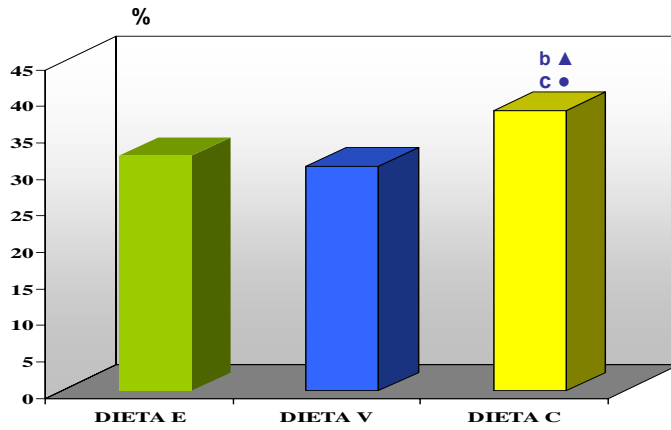




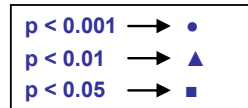
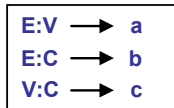
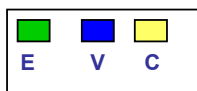
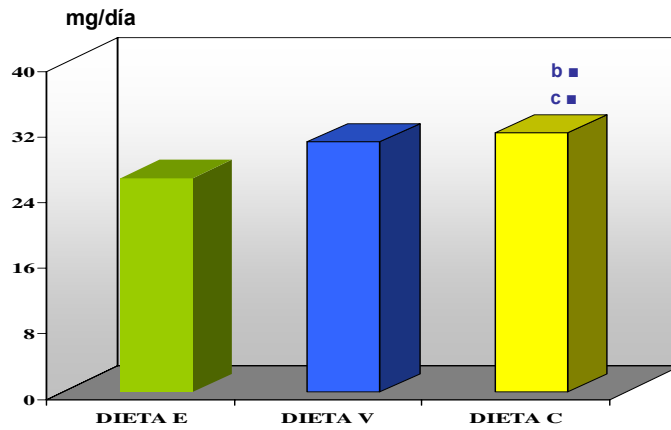
**Fig.5.- IT DEL ALIMENTO**



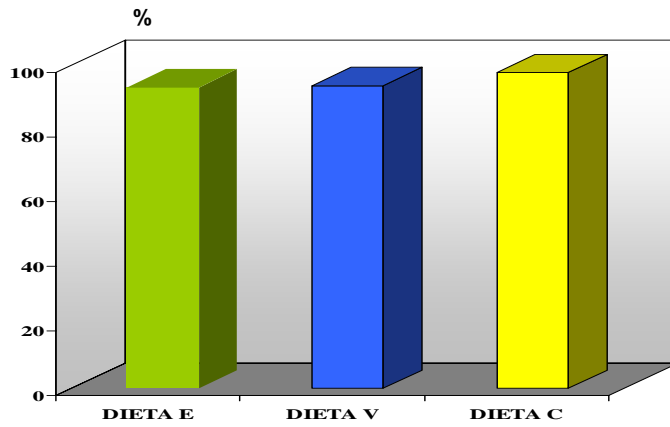
**Fig.6 .- CDA DE CALCIO**



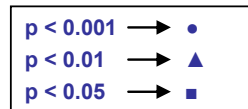
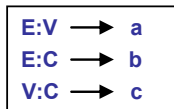
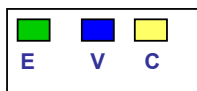
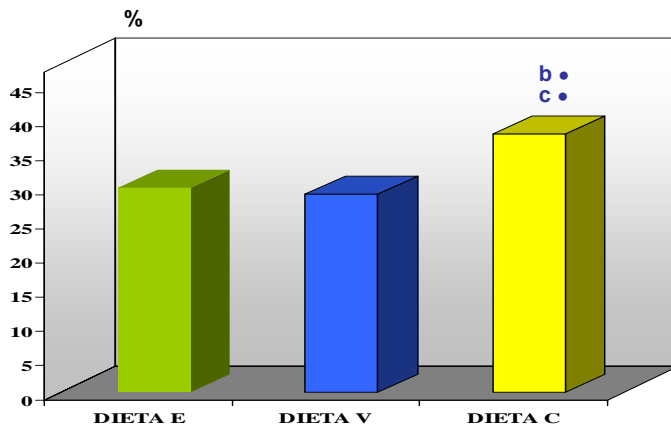
**Fig.7 .- BALANCE DE CALCIO**



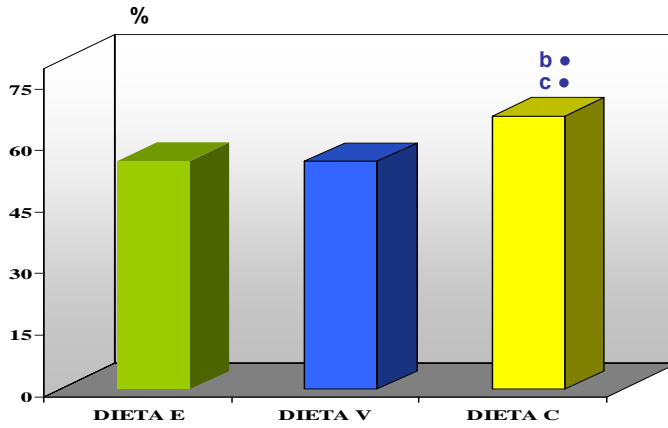
**Fig.8 .- R/A DE CALCIO**



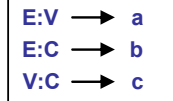
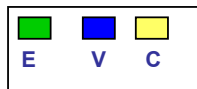
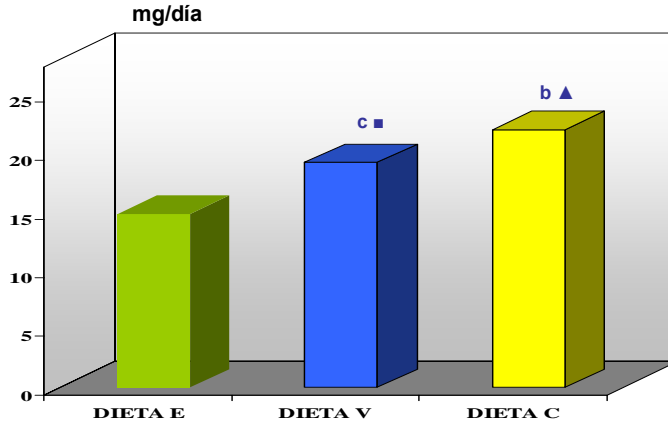
**Fig.9 .- R/I DE CALCIO**



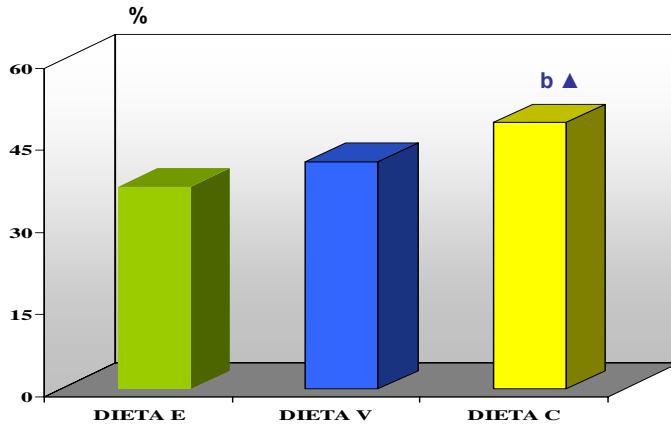
**Fig.10 .- CDA DE FÓSFORO**



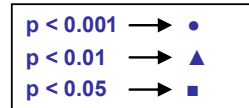
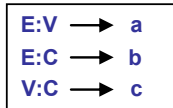
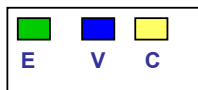
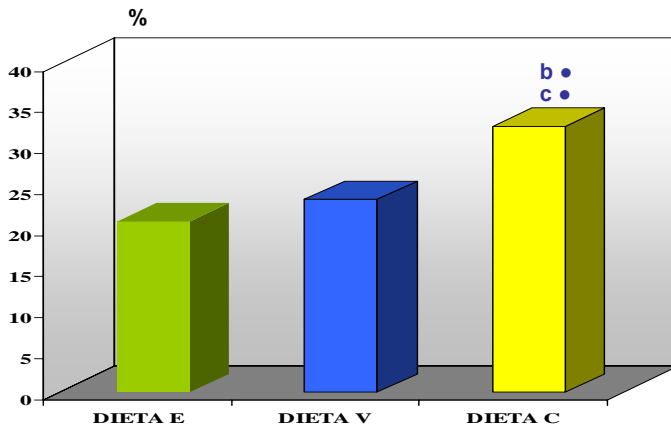
**Fig.11 .- BALANCE DE FÓSFORO**



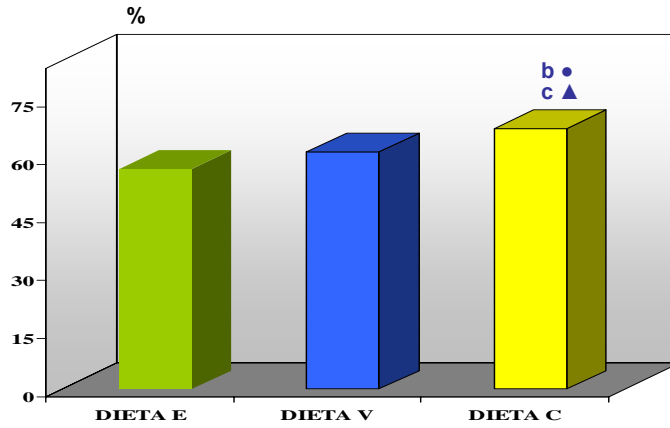
**Fig.12 .- R/A DE FÓSFORO**



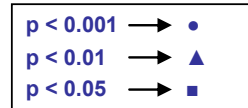
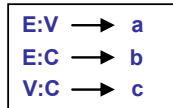
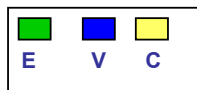
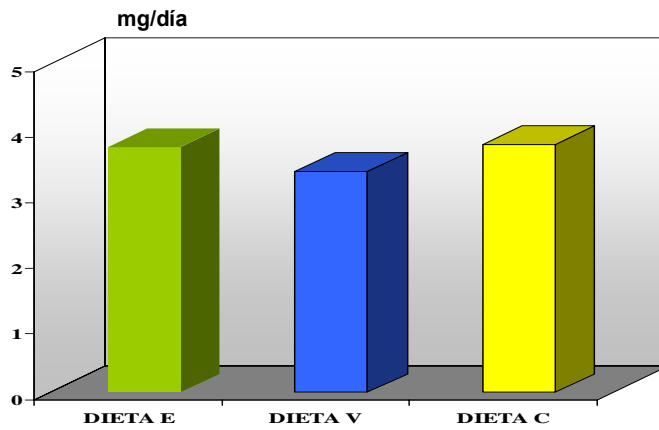
**Fig.13 .- R/I DE FÓSFORO**



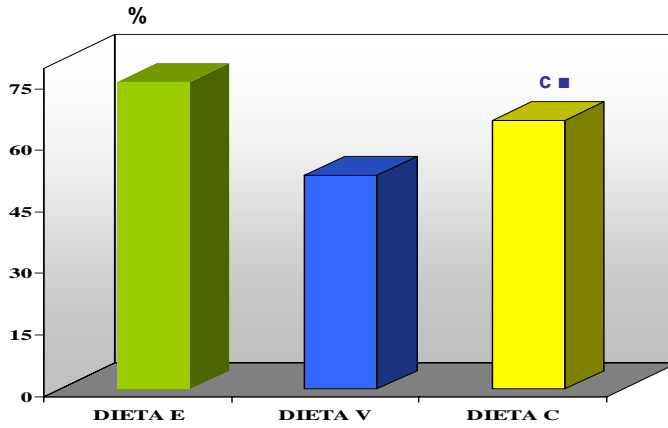
**Fig. 14.- CDA DE MAGNESIO**



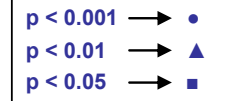
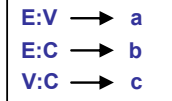
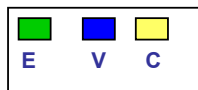
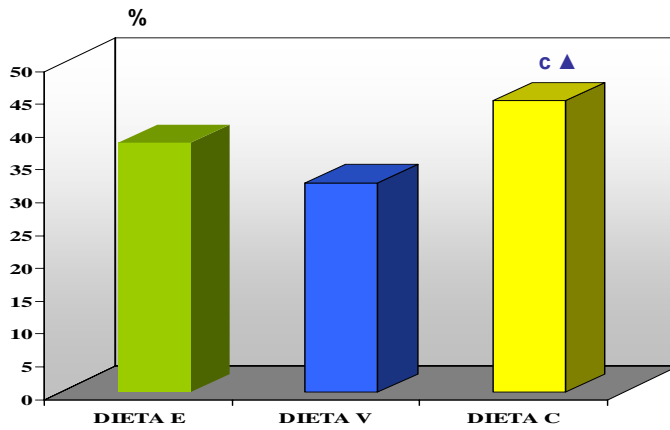
**Fig.15 .- BALANCE DE MAGNESIO**



**Fig.16 .- R/A DE MAGNESIO**

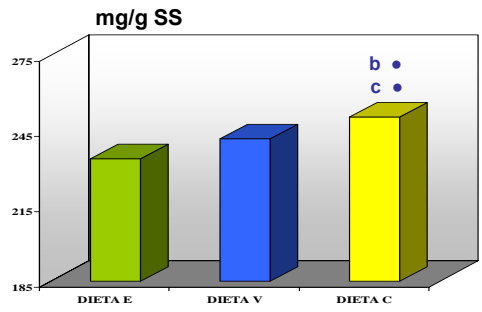


**Fig.17 .- R/I DE MAGNESIO**

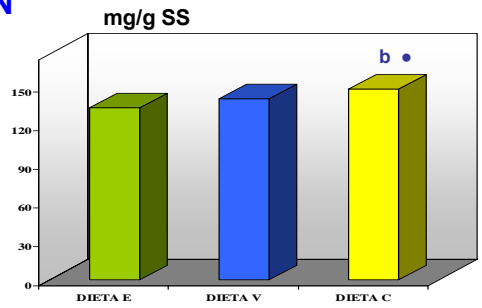


**Fig.18 .- CALCIO EN ÓRGANOS**

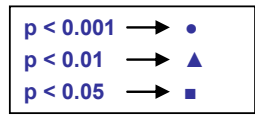
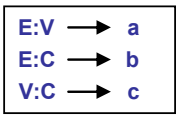
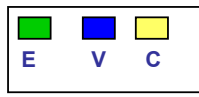
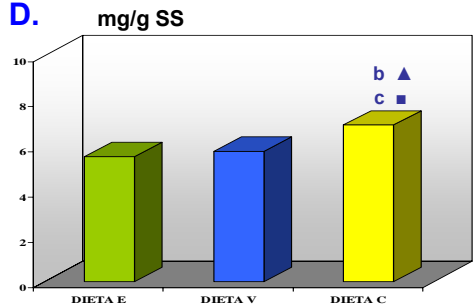
**FÉMUR**



**ESTERNÓN**



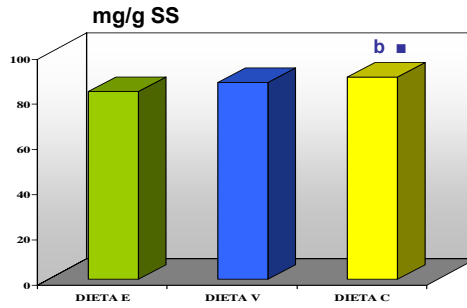
**MÚSCULO L. D.**



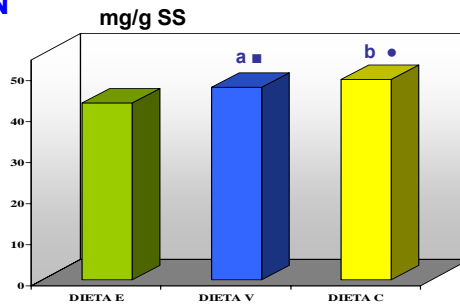


**Fig.19 .- FÓSFORO EN ÓRGANOS**

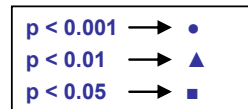
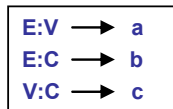
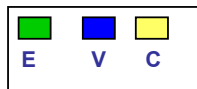
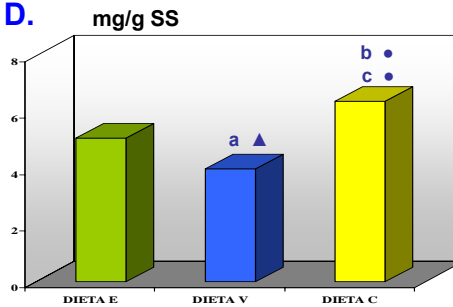
**FÉMUR**



**ESTERNÓN**

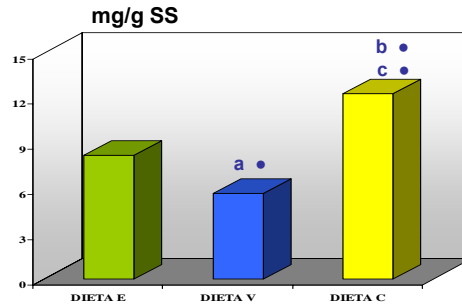


**MÚSCULO L. D.**

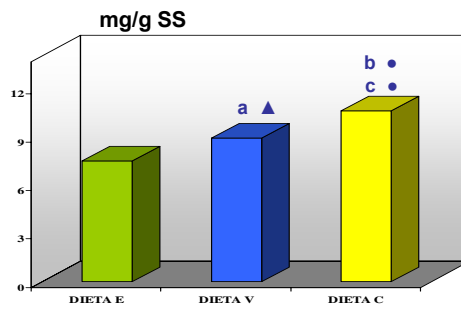


**Fig.20 .- FÓSFORO EN ÓRGANOS**

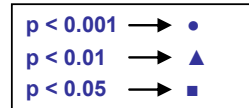
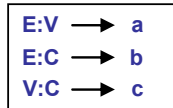
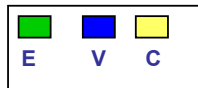
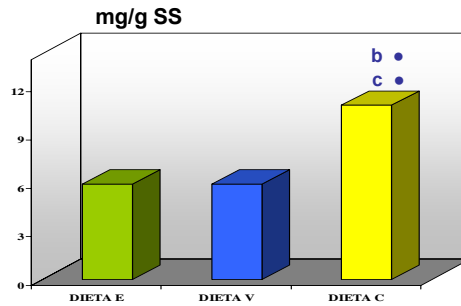
**CEREBRO**



**BAZO**

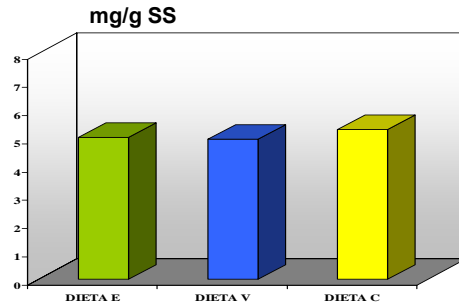


**RIÑONES**

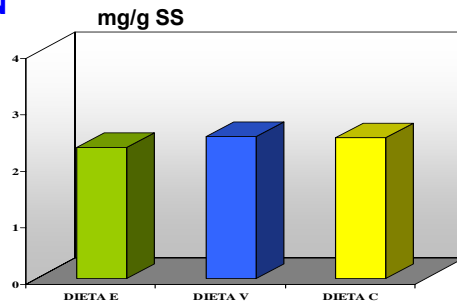


**Fig.21 .- MAGNESIO EN ÓRGANOS**

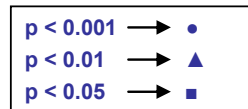
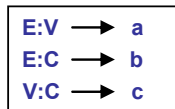
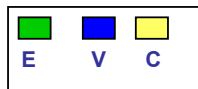
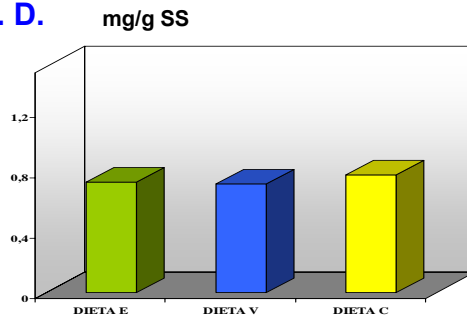
**FÉMUR**



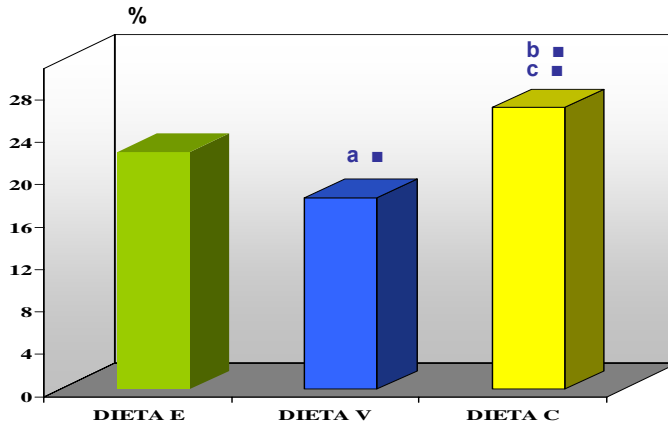
**ESTERNÓN**



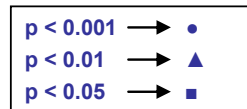
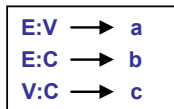
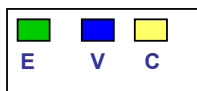
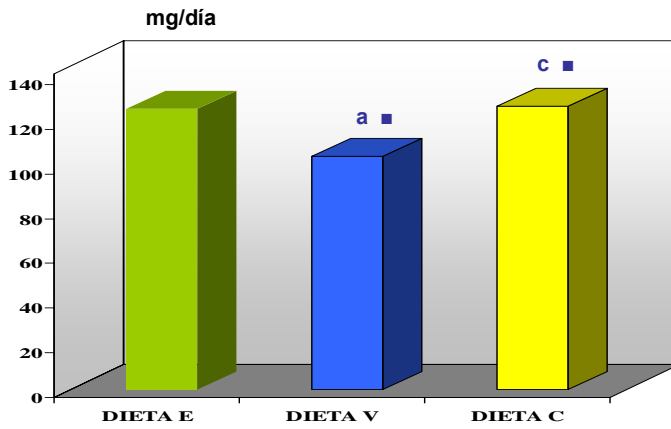
**MÚSCULO L. D.**



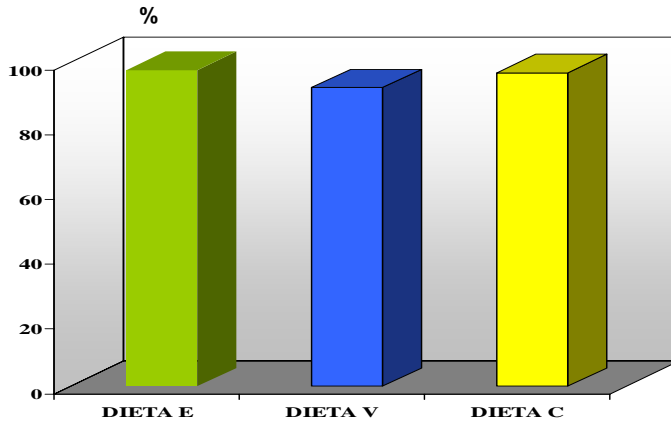
**Fig.22 .- CDA DE HIERRO**



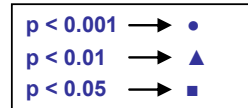
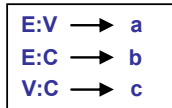
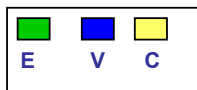
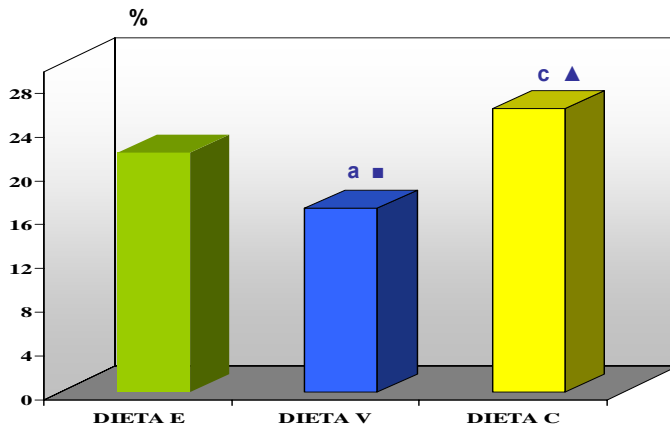
**Fig.23 .- BALANCE DE HIERRO**



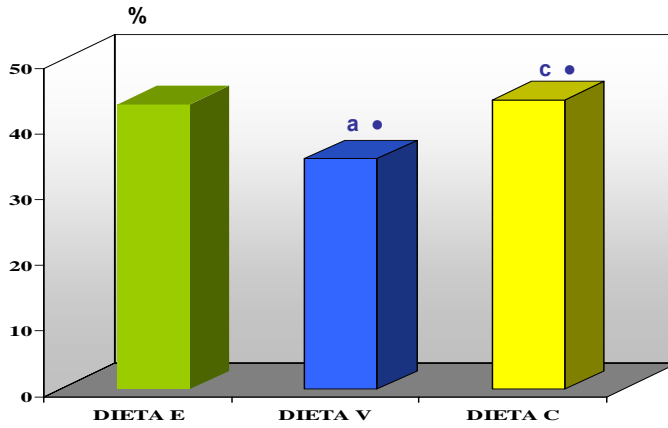
**Fig.24 .- R/A DE HIERRO**



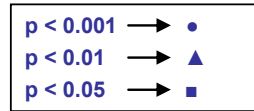
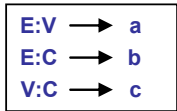
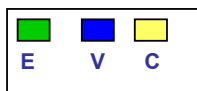
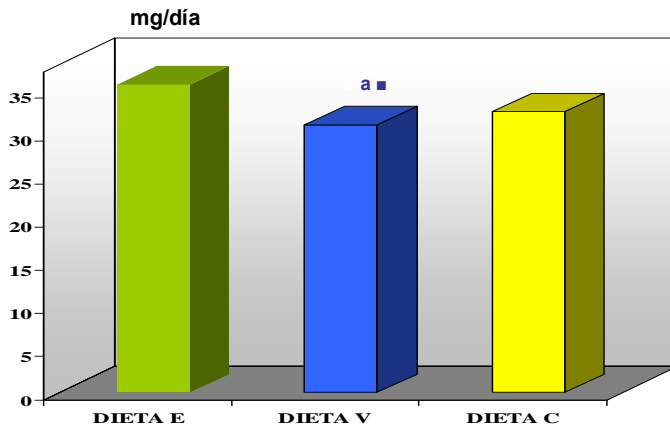
**Fig.25 .- R/I DE HIERRO**



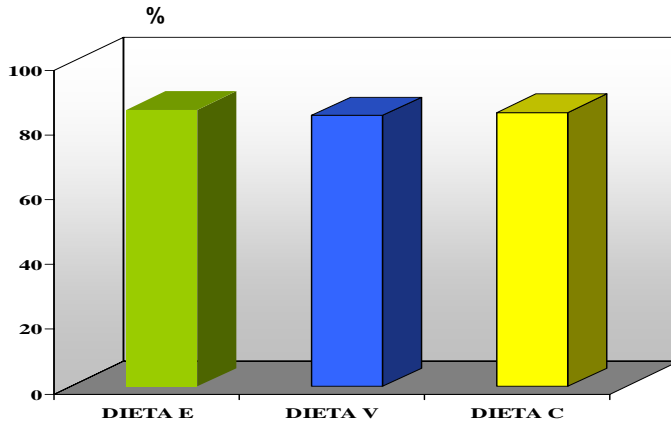
**Fig.26 .- CDA DE COBRE**



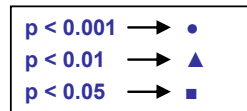
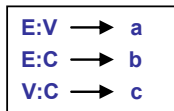
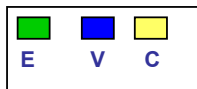
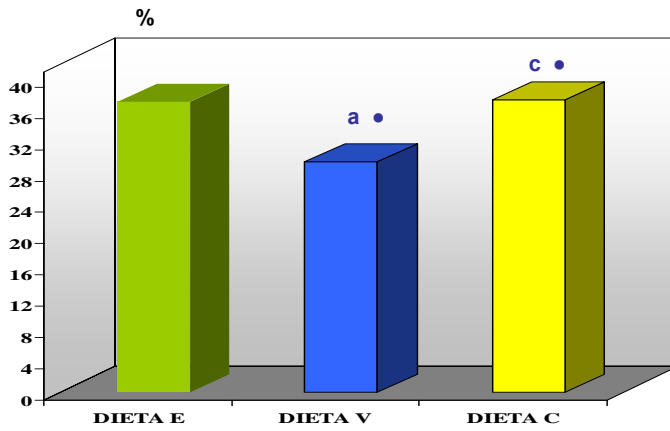
**Fig.27.- BALANCE DE COBRE**



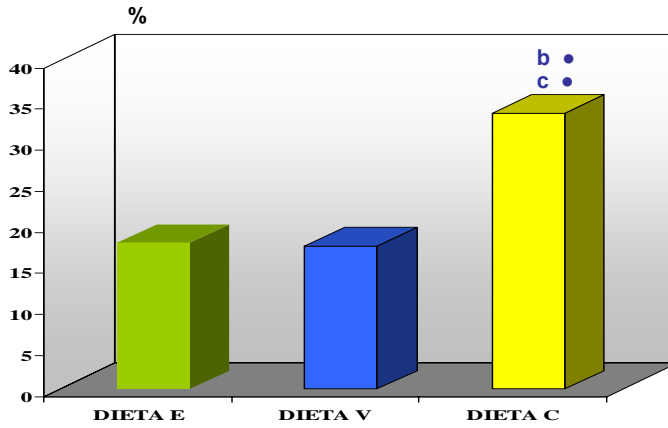
**Fig. 28.- R/A DE COBRE**



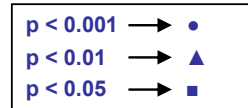
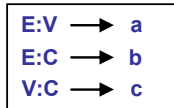
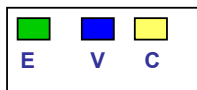
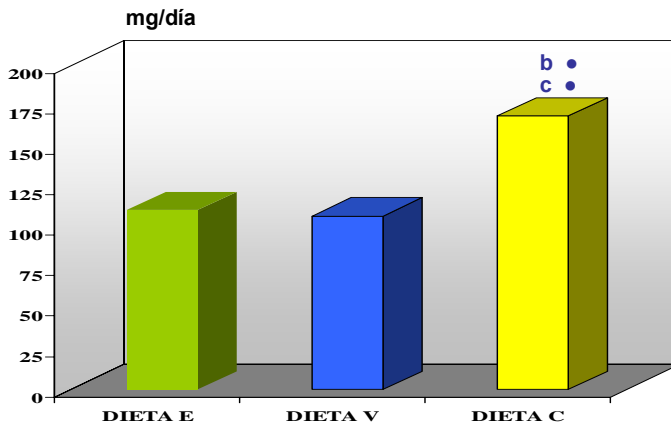
**Fig.29 .- R/I DE COBRE**



**Fig.30 .- CDA DE CINC**

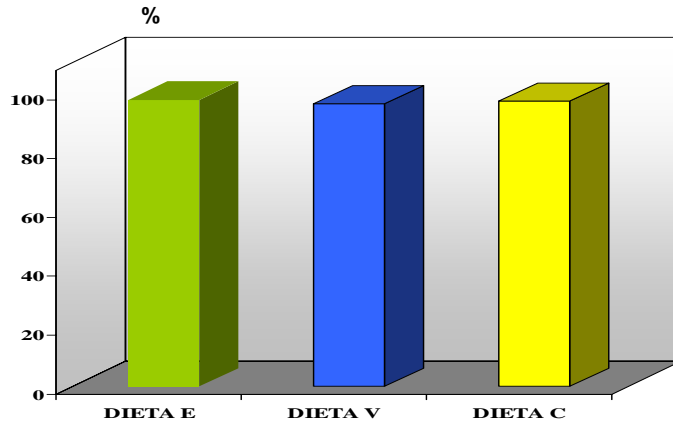


**Fig.31 .- BALANCE DE CINC**

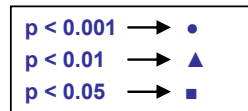
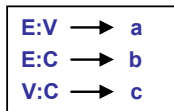
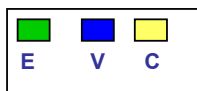
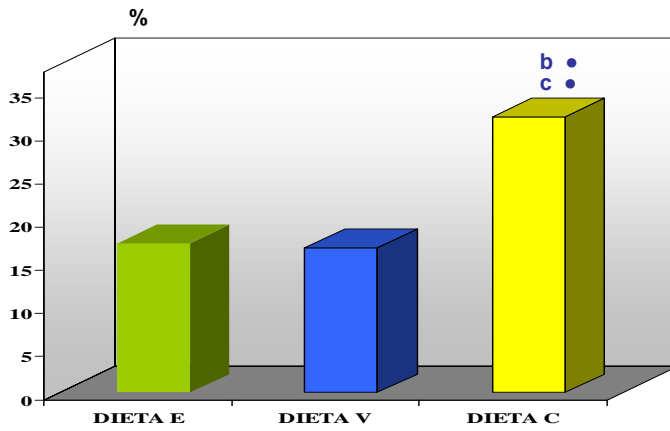




**Fig.32 .- R/A DE CINC**

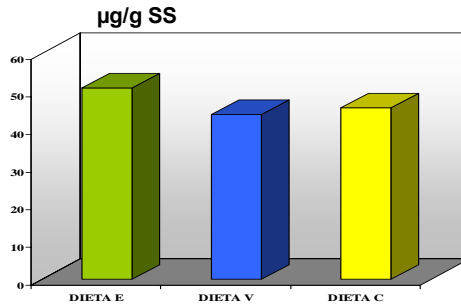


**Fig.33.- R/I DE CINC**

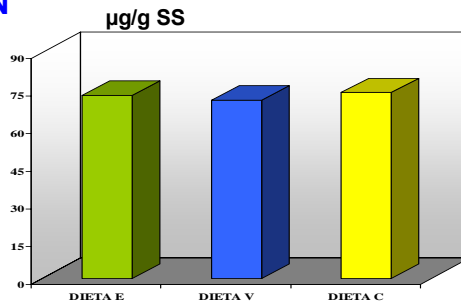


**Fig.34 .- HIERRO EN ÓRGANOS**

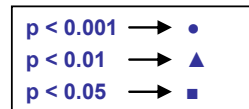
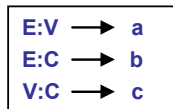
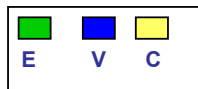
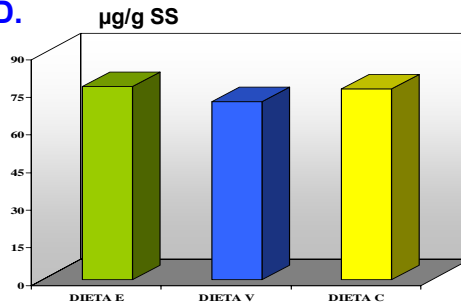
**FÉMUR**



**ESTERNÓN**

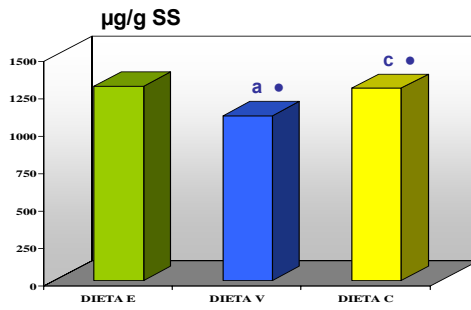


**Músculo L. D.**

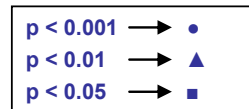
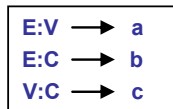
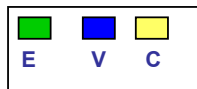
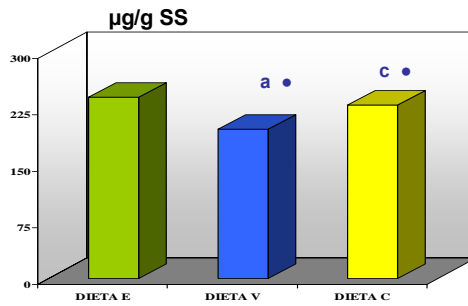


**Fig.35 .- HIERRO EN ÓRGANOS**

**BAZO**

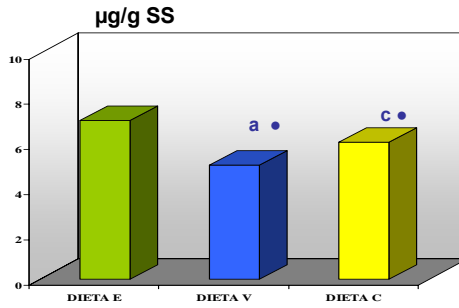


**HÍGADO**

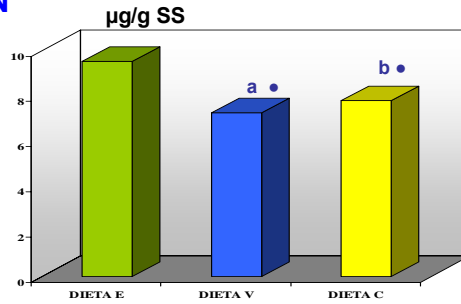


**Fig.36 .- COBRE EN ÓRGANOS**

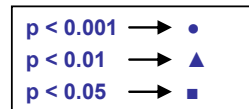
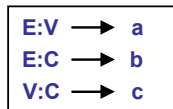
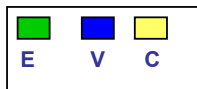
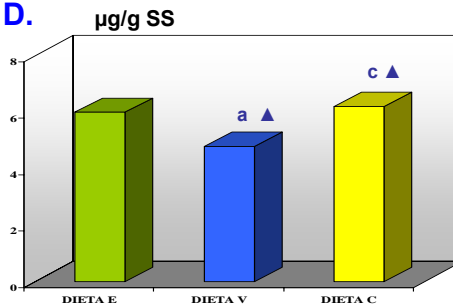
**FÉMUR**



**ESTERNÓN**

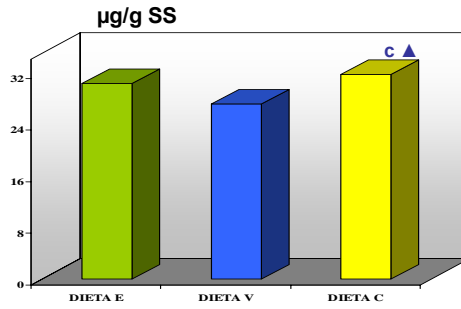


**MÚSCULO L. D.**

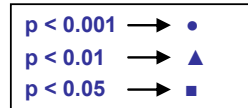
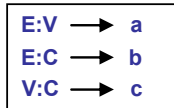
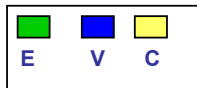
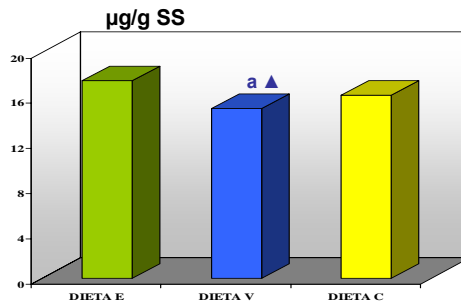


**Fig. 37.- COBRE EN ÓRGANOS**

**RIÑONES**

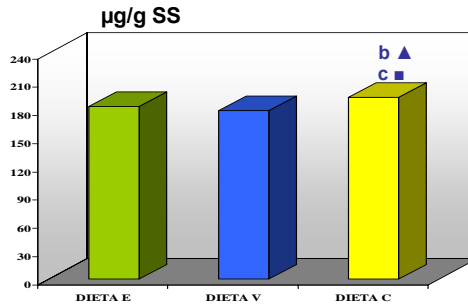


**HÍGADO**

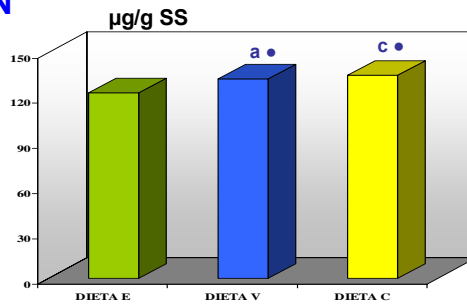


**Fig.38 .- CINC EN ÓRGANOS**

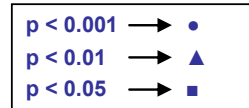
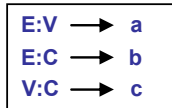
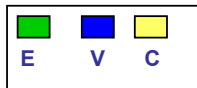
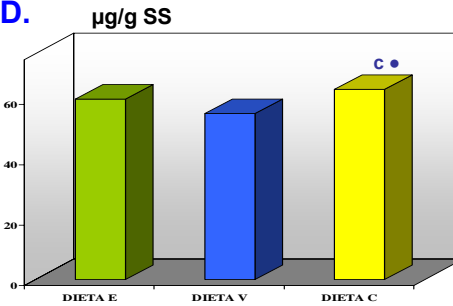
**FÉMUR**



**ESTERNÓN**

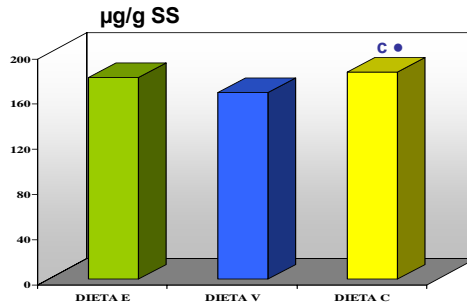


**MÚSCULO L. D.**

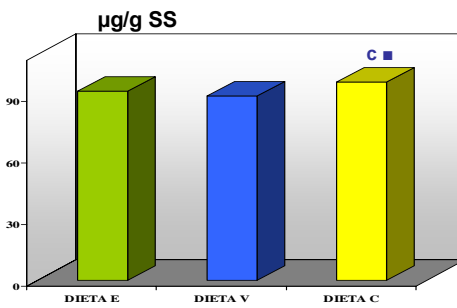


**Fig. 39.- CINC EN ÓRGANOS**

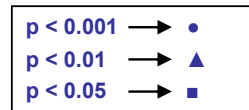
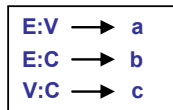
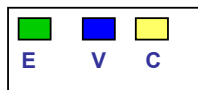
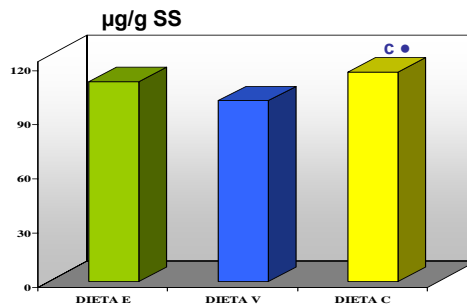
**TESTÍCULOS**



**RIÑONES**

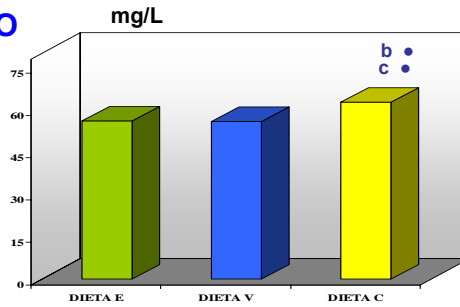


**HÍGADO**

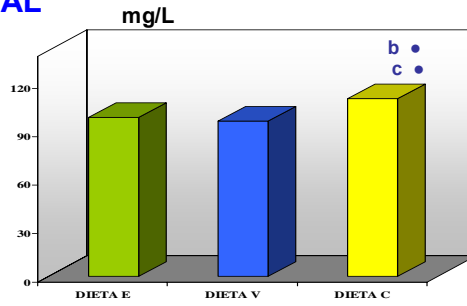


**Fig. 40.- NIVELES SÉRICOS**

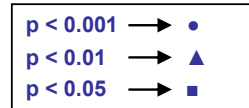
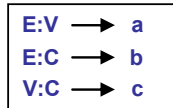
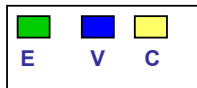
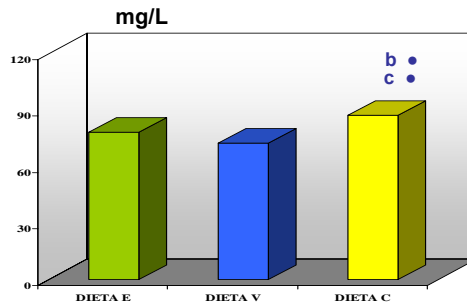
**CALCIO IÓNICO**



**CALCIO TOTAL**

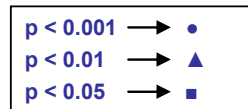
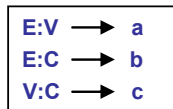
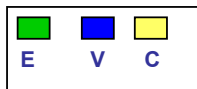
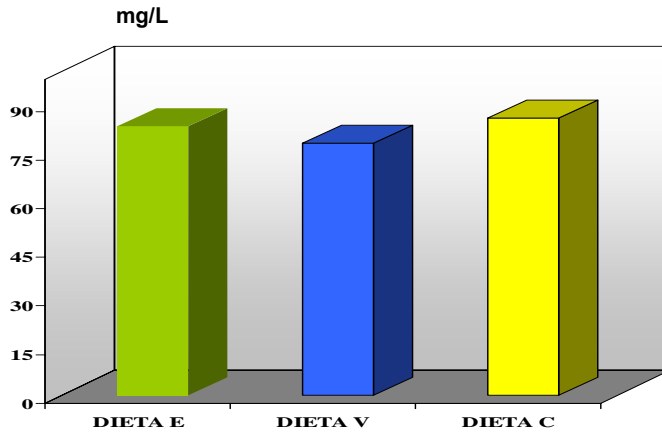


**FÓSFORO**



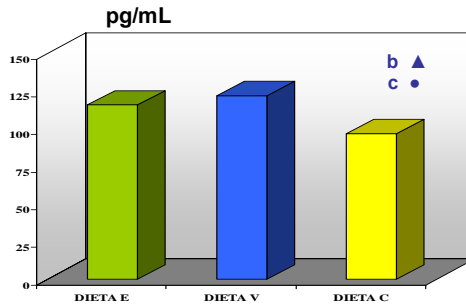


**Fig.41.- MAGNESIO EN SANGRE**

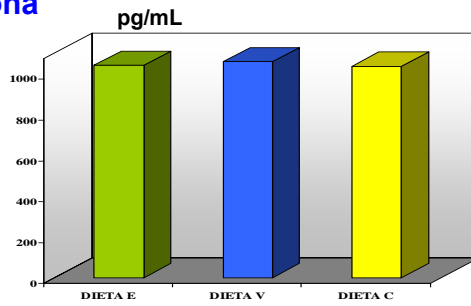


**Fig. 42.- NIVELES SÉRICOS**

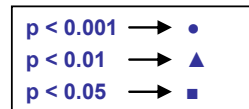
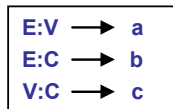
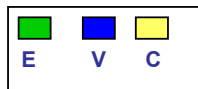
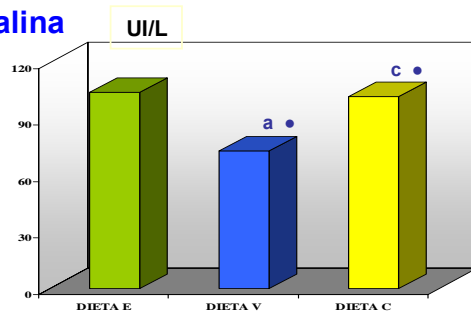
**PTH**



**Corticosterona**



**Fosfatasa alcalina**



*Discusión*

---

## **1. INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES. COEFICIENTE DE EFICACIA EN EL CRECIMIENTO (CEC) E ÍNDICE DE TRANSFORMACIÓN ALIMENTARIO (IT)**

Las tres dietas ensayadas contienen la misma cantidad de proteína (20%) y grasa (10%) pero distinta calidad. Así, la dieta estándar (dieta E) contiene caseína y aceite de oliva virgen y por otro lado las dietas basadas en leche de vaca (dieta V) o cabra (dieta C) contienen proteína y grasa proveniente del liofilizado de leche de vaca o cabra respectivamente. La ingesta de las ratas alimentadas con la dieta C es menor al de las otras dos dietas ( $P < 0.001$ ), entre las cuales no hay diferencia; por tanto la ingesta proteica es menor ( $P < 0.001$ ). Sin embargo, el incremento de peso no presenta diferencias significativas entre las tres dietas, y es la dieta C con la que se obtienen valores superiores de CEC, especialmente respecto a la dieta V ( $P < 0.05$ ). Además, el consumo de la dieta con leche de cabra, dieta C, conduce a un mejor IT que con la dieta de leche de vaca, dieta V ( $P < 0.05$ ) (Tabla I; Figs. 1-5).

El tipo de dieta empleado influye en la ingesta, así la dieta elaborada con leche de cabra es la menos consumida. Esto puede ser

debido a las especiales características organolépticas de este tipo de leche, que tiene un intenso olor, y un ligero sabor salado (Jandal, 1996; Alférez y col., 2001). A pesar de la menor ingesta para las ratas alimentadas con la dieta C, no hay diferencias en la ganancia de peso entre los tres grupos experimentales. Esto puede ser explicado por la disponibilidad energética de cada una de las dietas (Alférez y col., 1990). Así, es la dieta con leche de cabra por su mayor cantidad en ácidos grasos de cadena media (MCT) (36%) respecto a las otras dos dietas (21% dieta con leche de vaca, 0% dieta estándar) los cuales son más rápidamente metabolizados para producir energía respecto a los LCT (ácidos grasos de cadena larga). Así, con menor ingesta la dieta con leche de cabra conduce al mismo incremento de peso que con las otras dos dietas. Por otra parte, los ácidos grasos necesitan de la presencia de una sustancia que es la carnitina para entrar en las mitocondrias y oxidarse, esta sustancia está en altas cantidades en la leche de cabra (136  $\mu\text{mol/l}$ ) (Sandor y col., 1982; Penn y col., 1987). Sin embargo, los MCT no necesitan de la carnitina para entrar en la mitocondrias, y su  $\beta$ -oxidación es más rápida que la de los LCT (Bach and Babayan, 1985), pero además la mayor cantidad de carnitina en la leche de cabra favorece la obtención de energía a partir de otras grasas presentes en la dieta. Consecuencia de esto es que a pesar de que las

tres dietas tienen el mismo contenido calórico, la menor ingesta de los animales alimentados con la dieta a base de leche de cabra conduce a resultados similares en ganancia de peso respecto a las otras dos dietas ensayadas. Además de las especiales características de la leche de cabra en cuanto a su contenido graso, también la calidad de la proteína es especial, ya que es en su mayoría caseína pero mucho más soluble y contiene una mayor proporción de otras proteínas solubles ( $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina y albumina sérica) que comparada con la de la leche de vaca y por tanto de más fácil absorción (Boza y Sanz-Sampelayo, 1997; López-Aliaga y col., 2003). Todo lo anterior explica el mayor coeficiente de eficacia en el crecimiento (CEC) para los dos grupos de animales alimentados con la dieta a base de leche de cabra, y además su mejor índice de transformación alimentario (I.T.). Esto último podría ser consecuencia de la mejor utilización digestiva de la grasa con la dieta de leche de cabra (Alférez y col., 2001) y de la proteína (López-Aliaga y col. 2003).

## 2. UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DE CALCIO, FÓSFORO Y MAGNESIO

Los coeficientes de digestibilidad aparente, CDA, de calcio, fósforo y magnesio son muy superiores en ratas que consumen dieta con leche de cabra respecto a las otras dos dietas, estándar (Ca:  $P < 0.01$ ; P y Mg:  $P < 0.001$ ) y la elaborada con leche de vaca (Ca y P:  $P < 0.001$ ; Mg:  $P < 0.05$ ), no encontrándose diferencias entre estas dos últimas dietas en la utilización digestiva de los tres minerales estudiados (CDA-Ca, P y Mg:  $C > E = V$ ). Los balances de Ca y P son superiores para los animales que consumen la dietas elaboradas con leche, vaca o cabra, respecto a la dieta sin leche, dieta E (balance-Ca:  $P < 0.05$ ; balance-P:  $E:V P < 0.05$ ,  $E:C P < 0.01$ ). Sin embargo, la retención de Mg no presenta diferencias entre animales alimentados con los tres tipos de dieta. Cuando el balance se expresa como Ca, P ó Mg retenido respecto al ingerido, R/I, este índice es significativamente superior para la dieta C, en los tres minerales, respecto a la dieta con leche de vaca (Ca y P:  $P < 0.001$ ; Mg:  $P < 0.01$ ) y sólo para el Ca y el P con respecto a la dieta estándar ( $P < 0.001$ ). (R/I-Ca, P y Mg:  $C > V > E$ ) (Tablas II-IV; Figs. 6-17).

El consumo de la dieta elaborada con leche de cabra aumenta el CDA de Ca y P respecto a las otras dos dietas. Esto puede deberse a la calidad proteica y lipídica de la leche de cabra respecto a la de vaca y la dieta estándar. La leche de cabra contiene mayor cantidad de lisina que la leche de vaca (Souci y col., 1989). El efecto beneficioso de este aminoácido básico parece estar relacionado con el transporte no mediado de calcio y puede ser debido a la neutralización de ácidos orgánicos por lisina, ya que estos ácidos pueden unirse normalmente al calcio y desajustar su absorción (Wapnir, 1990). Además, la calidad de la grasa es diferente en las tres dietas, de manera que el contenido en ácidos grasos de cadena media (MCT) de la leche de cabra es mayor (36%) que en la leche de vaca (21%) y en el aceite de oliva (0%) de la dieta estándar. Los MCT son rápidamente absorbidos y metabolizados para obtener energía (García-Unciti, 1996) y podrían incrementar la síntesis de proteínas transportadoras y por tanto la absorción de estos minerales.

Por otra parte, la mayor absorción de calcio y fósforo en animales que consumen la dieta con leche de cabra puede ser explicado por el mayor contenido en vitamina D de la leche de cabra (0.74  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) respecto a la leche de vaca (0.50  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ )



(Alfárez y col., 2006); esta vitamina favorece la absorción de calcio (Campos y col., 1989; Alfárez y col., 1996) y fósforo (López Aliaga y col., 1994).

Sabemos que la absorción intestinal de calcio y fósforo descende con la edad y que la lactosa aumenta dicha absorción mineral (Armbrech, 1987), lo cual puede ser muy importante para los ancianos ya que tienen disminuida la capacidad de sintetizar y responder a la 1,25- dihidroxivitamina D, previniendo la osteoporosis. La lactosa de la leche de cabra presenta una mayor tolerancia debido a su mayor digestibilidad, respecto la lactosa de vaca (Boza y Sanz Sampelayo, 1997). En definitiva parece ser la lactosa la responsable del llamado “factor leche” que aumenta la absorción de calcio y fósforo, presentando un efecto similar la glucosa y galactosa (Griessen y col., 1989).

Los resultados de utilización digestiva de calcio y fósforo son complementados con los resultados de balance o retención de estos dos minerales. La retención de calcio es reflejo de lo que ocurre con el CDA. La retención de calcio es superior cuando las dietas son

elaboradas con leche, lo que puede ser debido al mayor aporte de vitamina D de estas dietas con respecto a la dieta estándar sin leche. Es conocido el efecto beneficioso de la vitamina D sobre la retención de calcio (Campos y col., 1989). Así mismo, es mayor la retención de calcio en animales que ingieren la dieta a base de leche de cabra respecto a la de vaca, esto se puede explicar por la mayor cantidad de vitamina D de la leche de cabra ( $0.74\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) frente a la de vaca ( $0.50\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) (Alferez y col., 2006).

La mayor utilización digestiva y metabólica de Mg en animales alimentados con la dieta de leche de cabra respecto a la de vaca podría ser debido a varias razones. Por un lado la leche de cabra contiene mayor nivel de vitamina D, como anteriormente hemos comentado, que la leche de vaca, y de acuerdo con los resultados obtenidos por Lisbona y col. (1994) esto podría contribuir al mayor CDA de Mg en animales alimentados con la dieta a base de leche de cabra. Por otra parte, según varios autores (Lutz y col., 1991; Sulkers y col., 1992) parece ser que los ácidos grasos de cadena larga disminuyen ligeramente la absorción de Mg, sin embargo los de cadena corta y presumiblemente los de cadena media (MCT), estimulan a nivel del colon la absorción de Mg, es por esto que la

leche de cabra al ser más rica en MCT que la de vaca favoreve la utilización nutritiva de este mineral.

### **3. CONTENIDO DE CALCIO, FÓSFORO Y MAGNESIO EN ÓRGANOS**

El depósito de calcio en fémur, esternón y músculo *longissimus dorsi* (L.D.) es similar entre las dietas estándar y la elaborada con leche de vaca; sin embargo, es mayor el contenido de calcio en estos órganos cuando las ratas son alimentadas con la dieta a base de leche de cabra (fémur: E:C y V:C  $P < 0.001$ ; esternón: E:C  $P < 0.001$  y músculo: E:C  $P < 0.01$  y V:C  $P < 0.05$ ) (Tabla V; Fig. 18). Por tanto, el calcio se dirige fundamentalmente hacia los órganos diana de este mineral (fémur, esternón y músculo) y en mayor cantidad cuando los animales ingieren la dieta con leche de cabra.

A nivel de fémur y esternón, el contenido de fósforo no presenta diferencias para las ratas que consumen las dietas elaboradas con leche (cabra o vaca) y es superior al encontrado en esternón y fémur de ratas alimentadas con dieta estándar (fémur E:C  $P < 0.05$ ; esternón

E:V  $P < 0.05$  y E:C  $P < 0.001$ ) (Tabla VI; Fig. 19). En relación al fósforo, en el músculo de animales alimentados con la dieta de leche de cabra hay mayor cantidad, seguida de la dieta estándar y por último de la dieta con leche de vaca (músculo E:V  $P < 0.01$ ; E:C y V:C  $P < 0.001$ ) (Tabla VI; Fig. 19). Para el resto de órganos estudiados, podemos destacar el alto contenido de fósforo en cerebro, bazo y riñón de animales que consumen la dieta con leche de cabra, prácticamente el doble, respecto a la dieta con leche de vaca y la dieta estándar ( $P < 0.001$  respecto a E y V). Así mismo, la dieta estándar respecto a la dieta con leche de vaca presenta por una parte, mayor contenido de P en cerebro ( $P < 0.001$ ) y por otra menor contenido de P en bazo ( $P < 0.01$ ) y es del mismo orden en riñones (Tabla VI; Fig. 20).

Respecto al contenido o depósito de calcio y fósforo en los distintos órganos estudiados, los órganos preferentes de destino de calcio (fémur, esternón y músculo) (Ziegler y Filer, 1997) reflejan que transcurridos 37 días desde el comienzo de la ingesta de los tres tipos de dieta ensayados, el contenido de este mineral es superior en músculo y hueso (fémur y esternón) de ratas alimentadas con dieta a base de leche de cabra respecto a las otras dos dietas consecuencia de la

mayor utilización nutritiva de calcio encontrada en este estudio. De manera que la leche de cabra podría tener un importante papel en la prevención y tratamiento de la deficiencia de calcio (López-Aliaga y col., 2000). En cuanto al fósforo, la leche de cabra tiene un efecto positivo por elevar su depósito en órganos donde es utilizado mayoritariamente por su elevado consumo de ATP, en especial en cerebro y músculo donde prácticamente llega casi a duplicarse.

En relación al contenido de Mg en los tres órganos estudiados (fémur, esternón y músculo) no se han encontrado diferencias entre las tres dietas ensayadas (Tabla VII; Fig. 21). El órgano preferente de depósito de Mg para animales alimentados con los tres tipos de dieta, es el hueso (fémur y esternón), esto coincide con lo descrito en la bibliografía (Shils, 1994), esto puede ser debido a que la leche así como los productos lácteos en general favorecen el depósito de cationes divalentes como son el Ca y el Mg (Boza y Sanz-Sampelayo, 1997), sobre todo la leche de cabra según los resultados que hemos obtenido, posiblemente gracias a sus especiales características en cuanto a su composición lipídica, rica en MCT, y en vitamina D los cuales favorecen tanto la absorción como el depósito de Mg en hueso (López-Aliaga y col, 1991; Lisbona y col., 1994).

#### **4. UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DE HIERRO, COBRE Y CINC**

##### **CDA y balance de hierro**

Al comparar las tres dietas observamos que el CDA de hierro es mayor cuando los animales consumen dieta elaborada con leche de cabra, seguida por los que ingieren la dieta estándar y por último la elaborada con leche de vaca (E:C, V:C, E:V  $P < 0.05$ ). (CDA de hierro:  $C > E > V$ ) (Tabla VIII; Fig. 22).

En cuanto al balance de Fe hemos encontrado que la menor retención de hierro es para los animales que consumen la dieta elaborada con leche de vaca ( $P < 0.05$ ) respecto a las otras dos dietas ensayadas (dieta estándar y dieta con leche de cabra) las cuales no presentan diferencias significativas entre sí. (Balance y R/I-Fe:  $E = C > V$ ) (Tabla VIII; Figs. 23 y 25).

La utilización digestiva de Fe está influenciada por el tipo de dieta empleado, de manera que es la dieta elaborada con leche de cabra la que presenta un mayor CDA de Fe respecto a la dieta estándar y la

elaborada con leche de vaca. Todas las dietas presentan igual contenido de este mineral, sin embargo, la calidad de la grasa es distinta, de manera que el alto contenido en MCT que presenta la dieta a base de leche de cabra (36%) respecto a la dieta con leche de vaca (21%) y la estándar (0%) podría influir en la mejora de la absorción de Fe. Los MCT de la dieta rápidamente son absorbidos y metabolizados para la obtención de energía (García-Unciti, 1996) con lo cual podría aumentar la síntesis de proteínas transportadoras y por tanto la absorción de Fe.

Por otra parte, la absorción de hierro también está influenciada por la calidad de la proteína, siendo las proteínas de origen animal las más favorecedoras. Así, según trabajos realizados por Brozowska y col., (1989), la caseína favorece la absorción aparente de hierro respecto a una dieta con gluten de trigo. La proteína de las tres dietas ensayadas es caseína, si bien la caseína de la leche de cabra es más soluble y contiene una mayor proporción de otras proteínas solubles ( $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbúmina, y albúmina sérica) (Boza y Sanz-Sampelayo, 1997). Esta mayor solubilidad de la proteína de la leche de cabra respecto a la de vaca constituye un factor que favorecería la absorción de hierro.

Además de la excelente calidad proteica y lipídica de la leche de cabra hay varios factores nutricionales que están presentes en mayor cantidad en este tipo de leche, como es la cisteína (Alfárez y col., 2006), aminoácido que favorece la absorción de hierro (Souci y col., 1989; Van Campen, 1973), y la lisina que mediante la solubilización de hierro férrico y ferroso por formar quelatos tridentados, es el principal factor asociado con la mejor captación del metal por el intestino, de hecho el estereoisómero de la lisina se ha mostrado ser efectivo mejorando la absorción de hierro (Van Campen, 1973).

Por otro lado, el mayor contenido en ácido ascórbico (vitamina C) de la leche de cabra (Alfárez y col., 2006) podría contribuir al incremento de la absorción de hierro en ratas que consumen dieta con este tipo de leche; como es conocido la vitamina C además de reducir el hierro a estado ferroso, forma quelato con este mineral, el cual permanece soluble a un pH más alto dentro del intestino delgado (Czajha-Narins, 1998).



## **CDA y balance de cobre**

Comparando las distintas dietas se ha observado que para animales alimentados con dieta elaborada con leche de cabra y la dieta estándar, el CDA y balance, expresado como R/I, de Cu son superiores al de los animales que consumen dieta con leche de vaca ( $P < 0.001$ ) (CDA y R/I-Cu:  $C = E > V$ ) (Tabla IX; Figs. 26 y 29). Si tenemos en cuenta el tipo de grasa empleado, se observa que el mayor contenido de MCT de la leche de cabra respecto a la de vaca mejora la utilización digestiva de Cu; efecto que puede ser debido a la modificación de la función biliar por este tipo de ácidos grasos (Lisbona y col., 1991), ya que según Jonson y col. (1992) la homeostasis del cobre está claramente regulada por la excreción biliar. Por otra parte, el efecto beneficioso de la dieta con leche de cabra sobre la absorción y retención de cobre se puede atribuir a la mayor solubilidad de la caseína de la leche de cabra en relación a la de vaca (Boza y Sanz-Sampelayo, 1997), ya que las proteínas solubles tienden a mejorar la absorción y biodisponibilidad del cobre porque intensifican la solubilidad de éste y su entrada al enterocito (Wapnir, 1989). Además, el mayor contenido en cisteína de la leche de cabra (32 mg/100g) respecto a la de vaca (21 mg/100g) (Alfárez y col., 2006), aminoácido que es el componente mayoritario de la metalotioneína (Linder, 1996)

(proteína reguladora de la absorción de cobre) y responsable de la estrecha unión covalente con este mineral, contribuiría también a favorecer la absorción de cobre.

### **CDA y balance de cinc**

La mayor absorción y retención de cinc se observa en ratas alimentadas con la dieta a base de leche de cabra, alrededor de un 50% superior a las que consumen las otras dos dietas estudiadas ( $P < 0.001$ ) (CDA y balance Zn:  $C > E = V$ ). (Tabla X; Figs. 30 y 31). La mayor biodisponibilidad de cinc de la leche de cabra respecto a la de vaca puede estar justificada por varias razones: en primer lugar, la leche de cabra contiene mayor nivel de vitaminas C y D (14.1 y 0.74 mg/100g respectivamente) que la leche de vaca (10.3 y 0.50 mg/100g respectivamente) (Alfárez y col., 2006), y de acuerdo con los resultados obtenidos por Hartiti y col., (1994 a,b) esto podría contribuir al mayor CDA de cinc en los animales alimentados con la dieta a base de leche de cabra. Además, la leche de cabra es más rica en cisteína que la de vaca (Alfárez y col., 2006), aminoácido que está implicado en la absorción y metabolismo de cinc. El paso de cinc a través de la membrana en “borde en cepillo” del enterocito se realiza utilizando un sistema de transporte de péptidos (Tacnet y col., 1993). La fase

intracelular de la absorción de cinc consiste en la unión de éste a metalotioneína (MT) y a una proteína intestinal rica en cisteína (CRIP) entre otras (Richards y Cousins, 1977; Hempe y Cousins, 1991). La asociación de cinc con CRIP se correlaciona con la absorción, aunque probablemente no actúe en el movimiento transcelular. En contraste, la metalotioneína en intestino está directamente relacionada con la ingesta de cinc en la dieta (Cousins y Lee-Ambrose, 1992). La absorción de cinc decae cuando la síntesis de metalotioneína se eleva en respuesta al cinc dietario. Por otra parte, también puede contribuir a la mayor utilización del cinc con la dieta a base de leche de cabra el mayor contenido de cinc de esta leche (4.1 mg/100g) respecto a la de vaca (3.5mg/100g) (Alfárez y col., 2006).

## **5. CONTENIDO DE HIERRO, COBRE Y CINCO EN ÓRGANOS**

Al comparar las tres dietas empleadas, se observa que los animales alimentados con la dieta elaborada con leche de vaca presentan, en general, un contenido de Fe menor en los órganos estudiados (fémur, esternón, músculo L.D., hígado y bazo), de manera que el contenido de Fe en el hígado y en el bazo es mayor para las ratas alimentadas con la dieta estándar ( $P < 0.001$ ) y la dieta con leche de cabra ( $P < 0.001$ ) que con la dieta a base de leche de vaca, mientras que

en el esternón, se observa la misma tendencia, pero sin llegar a ser significativo en tanto que en fémur y músculo es prácticamente mismo orden para las tres dietas (Tabla XI; Figs. 34 y 35).

En ratas el depósito de Fe en hígado (órgano preferente de reserva de hierro en forma de ferritina), el bazo (órgano que contiene hierro en forma de hemosiderina) y el esternón (importante órgano eritropoyético) sigue el patrón observado para la absorción y retención (en valores absolutos) de Fe, para las tres dietas. De manera que el contenido de Fe en el hígado y en el bazo es mayor para las ratas alimentadas con la dieta estándar y la dieta con leche de cabra que con la dieta a base de leche de vaca, mientras que en el esternón, se observa la misma tendencia, pero sin llegar a ser significativo en tanto que en fémur y músculo es del mismo orden para las tres dietas. El menor contenido de Fe en hígado y bazo de ratas alimentadas con dieta elaborada con leche de vaca puede ser explicado por las observaciones realizadas por Hallberg y col., (1991), que demostraron que el Ca procedente de la leche de vaca interfiere con la absorción de Fe depositado en los órganos estudiados. Además, el mayor contenido de hierro en hígado y bazo de ratas alimentadas con la dieta de leche de cabra respecto a la de vaca, puede ser debido a que con este tipo de

leche existen menos interferencias Ca-Fe (López-Aliaga y col., 2000) y también coincide con las conclusiones de Park y col., (1986) quienes sugieren que la leche de cabra aumenta la biodisponibilidad de hierro.

En relación al depósito de Cu en órganos, en general al comparar las distintas dietas se observa que la dieta estándar es la que presenta un mayor contenido de Cu en todos los órganos respecto a la elaborada con leche de vaca (fémur y esternón:  $P < 0.001$ , músculo e hígado:  $P < 0.01$ ) y solamente en esternón ( $P < 0.001$ ) respecto a la dieta con leche de cabra. El contenido de Cu en fémur ( $P < 0.001$ ) músculo y riñón ( $P < 0.01$ ) es mayor cuando los animales consumen la dieta con leche de cabra respecto a la de vaca. (Tabla XII; Figs. 36 y 37).

La distribución del cobre se realiza en dos fases, una primera transferencia desde el intestino hacia el hígado y riñones y otra posterior desde el hígado al resto del organismo (Linder, 1996). El riñón constituye, junto con el hígado, el órgano con mayor contenido en este mineral (Anderson y col., 1985). Según Johnson (1992), la concentración de cobre en riñones se correlaciona estrechamente con el porcentaje de absorción y excreción endógena, más que con cualquier

otro índice bioquímico. De hecho, según nuestros resultados el riñón es el que mejor refleja lo que ocurre a nivel digestivo y metabólico. Así, el contenido de cobre en este órgano es menor en animales que ingieren la dieta con leche de vaca respecto a la de leche de cabra al igual que sucede en general para el resto de los órganos estudiados.

En general el contenido de cinc en los distintos órganos estudiados es mayor para las ratas alimentadas con la dieta de leche de cabra respecto a la de vaca (esternón, músculo, testículos e hígado  $P < 0.001$ ; fémur y riñones  $P < 0.05$ ), y solamente en fémur respecto a la dieta estándar ( $P < 0.01$ ) además, el contenido de cinc en esternón es mayor en las ratas que ingieren la dieta con leche de vaca en comparación con las que se les suministra la dieta estándar ( $P < 0.001$ ) (Tabla XIII; Figs. 38 y 39). Los depósitos de cinc en hueso (fémur) son altos para las tres dietas ensayadas. De acuerdo con Bobilya y col., (1994), las reservas del hueso constituyen una fuente utilizable de cinc que varía de acuerdo al consumo del mineral. Después del fémur, el mayor contenido de cinc se observó en testículos (King y Keen, 1999) seguido por esternón, hígado, riñones y músculo. Foster y col. (1979) y Wastney y col. (1986) con modelos cinéticos en el hombre y animales utilizando  $^{65}\text{Zn}$  como trazador, detectaron que el tejido más reactivo al cinc era el

hepático seguido del pancreático, renal y esplénico donde se encontró un recambio rápido, en cambio en el SNC y en el hueso se encontró un recambio lento. De acuerdo con Miller y col. (1994) la reserva intercambiable de cinc es muy pequeña, por lo que la deficiencia se produce rápidamente cuando fracasa la adaptación a la ingesta (Golden, 1989).

## **6. CONCENTRACIONES SÉRICAS DE Ca (iónico y total), P, PTH, CORTISOL, FOSFATASA ALCALINA y Mg EN SANGRE TOTAL**

El Ca y P séricos y el Ca iónico son significativamente superiores en las ratas alimentadas con la dieta con leche de cabra que en las otras dos dietas ( $P < 0.001$ ) (Tabla XIV; Fig. 40), en tanto los niveles de magnesio en sangre total no se modifican por efecto de la dieta, encontrándose los valores dentro del rango establecido para esta especie (Pallarés y col., 1996). Los niveles de Ca iónico reflejan fielmente lo que sucede a nivel digestivo. El menor contenido de Ca iónico en ratas alimentadas con la dieta de leche de vaca, es acompañado por un incremento en los niveles de PTH, hormona con un papel reconocido en la estimulación de la secreción de Ca (Masuyana y

col., 2000). Estudios previos han demostrado que un descenso en la secreción de PTH refleja un incremento en la utilización nutritiva de Ca, como consecuencia de un aumento en su absorción (Sie, y col., 1974; Calvo, 1994). En nuestras condiciones experimentales la inclusión de leche de cabra en la dieta produjo una mayor absorción de Ca, acompañada por una bajada en los niveles de PTH en suero; sin embargo en los animales alimentados con la dieta estándar o la elaborada con leche de vaca se observó el efecto contrario.

Con respecto a los niveles séricos de corticosterona no se han observado diferencias significativas entre los animales alimentados con los tres tipos de dieta ensayados (Tabla XIV; Fig. 42).

En relación a los niveles séricos de fosfatasa alcalina se encuentra una mayor cantidad en los animales que consumen la dieta con leche de cabra que con leche de vaca ( $P < 0.001$ ) (Tabla XIV; Fig. 42). Los *osteoblastos* o células formadoras de hueso trabajan en grupos para segregar y después mineralizar paquetes de matriz ósea. Estas células expresan abundantemente la fosfatasa alcalina, enzima que probablemente contribuye a la mineralización de la matriz liberando fosfato inorgánico (Ehrlich y Lanyon, 2002). Esto parece indicar que la



leche de cabra al aumentar los niveles séricos de esta enzima tenga un efecto favorecedor en el proceso de mineralización ósea.

Por otra lado el cinc forma parte del centro activo de la fosfatasa alcalina de los leucocitos, la cual se ha utilizado en muchos trabajos para reflejar el estado del metal en el organismo (Thompson, 1991). En este sentido, la mayor utilización nutritiva de cinc encontrada en este trabajo cuando se suministra la dieta de leche de cabra, explica la más alta concentración de fosfatasa alcalina en suero con este tipo de dieta.

*Resumen y conclusiones*

---

La investigación realizada estudia la utilización digestiva y metabólica de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y cinc, en ratas macho adultas de la raza Wistar albina, alimentadas con una dieta elaborada con leche de cabra.

Para realizar el estudio se han suministrado tres dietas con igual contenido de grasa (10%) y proteína (20%), pero distinta calidad lipídica y proteica (aceite de oliva y caseína para la dieta estándar; grasa y proteína procedente de la leche de vaca para la dieta elaborada con leche de vaca; y grasa y proteína procedente de la leche de cabra para la dieta elaborada con leche de cabra).

El estudio consta de 3 experimentos de 15 ratas cada uno, para las tres dietas ensayadas. Después de alimentar los animales durante 30 días con las distintas dietas se utiliza la técnica de Thomas-Mitchell para los estudios de utilización nutritiva.

En todos los experimentos se determina la concentración de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y cinc en dieta, heces y orina, así como en los correspondientes órganos diana. También se realiza el análisis de proteína en la dieta con objeto de conocer el coeficiente de eficacia en crecimiento y el índice de transformación del alimento.

Además se determina la concentración en suero de Ca, P, corticosterona, PTH y fosfatasa alcalina, y en sangre concentración de Mg.

Tras la discusión de los resultados obtenidos, se ha llegado a las siguientes CONCLUSIONES:

### **CONCLUSIÓN PRIMERA**

Los animales alimentados con la dieta elaborada con leche de cabra presentan el mayor coeficiente de eficacia en el crecimiento (CEC) y el mejor índice de transformación del alimento (IT), debido a la excelente calidad proteica y lipídica de este tipo de leche.

### **CONCLUSIÓN SEGUNDA**

El consumo de la dieta elaborada con leche de cabra aumenta la utilización digestiva y metabólica de calcio, fósforo y magnesio, debido especialmente a la excelente calidad proteica y lipídica de la leche de cabra respecto a la de vaca y la dieta estándar, así como a su mayor contenido en vitamina D y la mayor digestibilidad de su lactosa.

### **CONCLUSIÓN TERCERA**

La leche de cabra favorece el destino de calcio en los órganos de depósito de este mineral, como son fémur, esternón y músculo *longissimus dorsi*. En relación al fósforo este tipo de leche tiene un efecto positivo por elevar su depósito en órganos donde es utilizado mayoritariamente por su elevado consumo de ATP, tales como cerebro y músculo. Además, la leche de cabra favorece también el depósito de magnesio en hueso (fémur y esternón).

## **CONCLUSIÓN CUARTA**

En ratas la utilización nutritiva de hierro, cobre y cinc está influenciada por el tipo de dieta empleado; de manera que es la dieta elaborada con leche de cabra con la que se observa una mayor absorción y retención de estos minerales respecto a la dieta con leche de vaca, dando lugar a un mayor depósito de hierro, cobre y cinc en sus respectivos órganos diana.

## **CONCLUSIÓN QUINTA**

En nuestras condiciones experimentales la inclusión de leche de cabra en la dieta aumenta los niveles séricos de calcio total e iónico, fósforo y fosfatasa alcalina, acompañado de una bajada en los niveles séricos de PTH, lo que se refleja en un mayor depósito de estos minerales a nivel óseo.

## **CONCLUSIÓN GENERAL**

El consumo habitual de un alimento natural, como es la leche de cabra, tiene un efecto beneficioso sobre la utilización digestiva y metabólica de Ca, P, Mg, Fe, Cu y Zn así como en su depósito en órganos diana y niveles séricos de Ca total e iónico, P, fosfatasa alcalina y PTH. Por tanto sería aconsejable la introducción de este tipo

de leche en la dieta, tanto para la población en general, como para la que es deficitaria en alguno de los minerales estudiados.

## *Bibliografía*

---

ABBOUD, S. and HAILE, D.J. "A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism". *J. Biol. Chem.*, 265:19906-19912, (2000).

ADA. "Pediatric Manual of Clinical Dietetics". Ed. WILLIAMS C.P. The American Dietetic Association, pp. 385-387, (1998)

AGUSTINE, G.J. "How does calcium trigger neurotransmitter release?". *Curr. Opin. Neurobiol.*, 11: 320-326, (2001).

ALFEREZ, M.J.M.; CAMPOS, M.S.; BARRIONUEVO, M. and LOPEZ-ALIAGA, I. "Nutritive utilization of protein and digestive utilization of fat in two commercial diets designed for clinical enteral nutrition". *Die Nahrung*, 34: 499-507, (1990).

ALFEREZ, M.J.M.; LOPEZ-ALIAGA, I.; BARRIONUEVO, M.; LISBONA, F.; HARTITI, S.; PALLARÉS, I. and CAMPOS, M.S. "Calcium absorption in rats with distal intestinal resection: influence of dietary fat, cholecalciferol and nature of the adaptive response". *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, 66: 59-65, (1996).

ALFEREZ, M.J.M.; BARRIONUEVO, M.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; SANZ-SAMPELAYO, M.R.; LISBONA, F. and CAMPOS, M.S. "The digestive utilization of goat and cow milk fat in malabsorption syndrome". *J. Dairy Res.*, 68: 451-461, (2001).



ALFEREZ, M.J.M.; LÓPEZ\_ALIAGA, I.; NESTARES, T.; DIAZ-CASTRO, J.; BARRIONUEVO, M.; ROS, P.B. and CAMPOS, M.S. "Dietary goat milk improves iron bioavailability in rats with induced ferropenic anaemia in comparison with cow milk". *Internat. Dairy J.*, 16: 813-821, (2006).

AMBRECHT, H.J. "Age and the effect of lactose on calcium and phosphorus uptake by rat small intestine". *Nutr. Res.*, 7: 1169-1177, (1987).

ANDERSON, L.; DIBBLE, M.V.; TURKKI, P.R.; MITCHELL, H.S. and RYMBERGEN, H.J. "Mineral metabolism". In: *Nutrition and diet*. 17<sup>th</sup> ed. Interamericana, Mexico, D.F. México, pp.75-110, (1985).

ANDERSON, G.L and POWELL, L.W. "Of metals, mice and men: What animal models can teach us about body iron loading". *J. Clin. Invest.*, 105:1185-1186, (2000).

ANDREWS, S.C.; AROSIO, P. and BOTTKE, W. "Structure, function and evolution of functions of ferritins". *J. Inorg. Biochem.*, 47:161-174, (1992).

ANIA, B.J.; SUMAN, V.J and FAIRBANKS, V.F. "Incidence of anemia in older people: an epidemiologic study in a well defined population". *J. Am. Geriatr. Soc.*, 45: 825-831, (1997).

ANTONSON, D.L.; BARAK, A.J. and VANDERHOOF, J.A. "Determination of the site of zinc absorption in rat small intestine" *J. Nutr.*, 109: 142-147, (1979).

ARBIZA, S.F. "Producción de caprinos". AGT Editores, México, pp. 105-128, (1986).

ARNETT, T. "Estructura y remodelado del hueso". En: "Osteoporosis y Enfermedades del Metabolismo Mineral" Eds. RIANCHO MORAL, J.A. y GONZÁLEZ MACÍAS J. Jarpyo Editores, S.A., Madrid, pp. 1-7, (2004).

ARNETT, T.R.; GIBBONS, D.C.; UTTING, J.C. ORRIS, I.R.; HOEBERTZ, A. and MEGHJI, S. "Hypoxia is a major stimulator of osteoclast formation and bone resorption". *J. Cell Physiol.*, 196: 2-8, (2003).

ARUNABH, S.; FEUERMAN, M.; MA, R. and ALOIA, J.F. "Total body phosphorus in healthy women and ethnic variations". *Metab. Clin. Exp.*, 51:180-183, (2002).

ASKARI, A., LONG, C.L. and BLAKEMORE, W.S. "Net metabolic change of zinc, copper, nitrogen and potassium balance in skeletal trauma patients" *Metabolism*, 31: 1185-1193, (1982).

ATALLAH, A.N.; HOFMEYR, G.J. and DULEY, L. "Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and

related problems".Cochrane Database of Systematics Reviews, CD001059, (2000).

BACH, A.C. and BABAYAN, U.K. "Medium-chain triglycerides: an uptake". *Am. J. Clin. Nutr.*, 4: 67-71, (1985).

BAER, M.T. and KING, J.C."Tissue zinc levels and zinc excretion during experimental zinc depletion in young men". *Am. J. Clin. Nutr.*, 39: 56-570, (1984).

BARGER-LUX, M.J.; HEANEY, R.P. and STEGMAN, M.R. "Effects of moderate caffeine intake on the calcium economy of premenopausal women". *Am. J. Clin. Nutr.*, 52: 722-725, (1990).

BARCH, D.H., FOX, C.C. and ROSCHE, W.A. "Inhibition of rat methylbenzyl nitrosamine metabolism by dietary zinc and zinc in vitro" *Gastroenterology*, 103: 800-806, (1992).

BARNES, G. and FRIEDEN, E. "Ceruloplasmine receptors of erythrocytes" *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 125:157-162, (1984).

BARROW, L. and TANNER, M.S. "Copper distribution among serum proteins in paediatric liver disorders and malignancies" *Eur. J. Clin. Invest.*, 18: 555-560, (1986).

BEACH, R.S., GERSHWIN, M.E. and HURLEY, L.S. "Zinc, copper, and manganese in immune function and experimental oncogenesis". *Nutr.Conc.*, 3: 172-191, (1982).

BEARD, J.L. "Iron biology in immune function, muscle, metabolism, and neuronal functioning". *J. Nutr.*, 131: 568, (2001).

BERGER, J. and SCHEEMAN, B.O. "Intestinal zinc and carboxypeptidase A and B activity in response to consumption of test meals containing various proteins by rats" *J. Nutr.*, 118:723-728, (1988).

BERNDT, T.J. and KNOX, F.G. "Renal regulation of phosphate excretion". In: "The kidney, physiology and pathophysiology". Eds. SELDIN D.W. and GIEBISCH, G. New York: Raven, pp. 2511-2532, (1992).

BERTOLO, R.F.P.; BETTGER, W.J. and ATKINSON, S.A. "Divalent metals inhibit and lactose stimulates zinc transport across brush border membrane vesicles from piglets". *J. Nutr. Biochem.*, 12: 73-80, (2001).

BETTGER, W.J. and O' DELL, B.L. "A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes" *Life Sci.*, 28:1425-1438, (1981).

BIANCA-MARÍA, E.; RAVILACQUA, C.; MARTIN, P. and CHANDAL, C. "Goat's milk of defective  $\alpha$  s<sub>1</sub>-casein genotype decreases intestinal and systemic sensibilization to  $\beta$ -lactoglobulin in guinea pigs". *J. Dairy Res.*, 68: 217-227, (2001).

BIKLE, D.D. "Vitamin D: Production, metabolism and mechanisms of action".

<http://www.endotext.com/parathyroid/parathyroid3/parathyroidframe3.htm>

BIKLE, D.D.; NG, D.; TU, C.L.; ODA, Y. and ZIE, X. "Calcium- and vitamin D-regulated keratinocyte differentiation". *Mol. Cell Endocrinol.*, 177: 161-171, (2001).

BIRKENMEIR, E.H. and GORDON, J.I." Developmental regulation of a gene that encodes a cysteine-rich intestinal protein and maps near the murine immunoglobulin heavy chain locus" *Proceeding of the National Academy of Sciences of the Unites States of America*, 83:2516-2520, (1986).

BLALOCK, T.L.; DUNN, M.A. and COUSINS, R.J. "Metallothionein gene expression in rats: tissue-specific regulation by dietary copper and zinc". *J. Nutr.*, 118:222-228, (1988).

BOBILYA, D.J.; JOHANNING, G.L.; VENUM, T.L. and O'DELL, B.L. "Chronological loss of bone zinc during dietary zinc deprivation in neonatal pigs". *Am. J. Clin. Nutr.*, 59: 649-653, (1994).

BODE, A.M.; MILLER, L.A.; FABER, I. and SAARI, J.T. "Mitochondrial respiration in heart, liver and kidney of copper-deficient rats" *J. Nutr. Biochem.*, 3: 668-672, (1992).

BOGDEN, J.D.; OLESKE, J.M.; MUNVES, E.M.; LAVENHAR, M.A.; BRUENING, K.S.; KEMP, F.W.; HOLDING, K.J.; DENNY, T.N. and LOURIA, D.B. "Zinc and immunocompetences in the elderly baseline data on zinc nutritive and immunity in un-supplemented subjects" *Am. J. Clin. Nutr.*, 46: 101-109, (1987).

BORRÁS, A. "Cómo comer y beber leche". *Comité Nacional Lechero*, nº 8:7-130, (1968).

BOTHWELL, T.H. "Overview and mechanism of iron regulation". *Nutr. Rev.*, 53: 237-245, (1995).

BOYETT, J.D. and SULLIVAN, J. F. "Distribution of protein-bound zinc in normal and cirrhotic serum" *Metabolism*, 19: 148-157, (1970).

BOZA, J. "Obtención de hidrolizados enzimáticos de proteínas lácteas. Estudio del valor nutritivo y de la capacidad antigénica". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, (1992).

BOZA, J. and SANZ-SAMPELAYO, M.R. "Nutritional aspects of goat milk". *Ann. Acad. Cienc. Vet. Andalucía Oriental*, 10:109-139, (1997).

BREMNER, I.; MEHRA, R.K.; MORRISON, J.N. and WOOD, A.M. "Effects of dietary copper supplementation of rats on the occurrence of

metallothionein-1 in liver and its secretion into blood, bile and urine". *Biochem. J.*, 235: 735-739, (1986).

BREMNER, I. and BEATTIE, J.F. "Metallothionein and the trace minerals" *Ann. Rev. Nutr.*, 10: 63-83, (1990).

BREWER, G.J.; HILL, G.M.; PRASAD, A.S.; COSSACK, Z.T. and RABBANI, P. "Oral zinc therapy for Wilson's disease." *Ann. Intern. Med.*, 99: 314-319, (1983).

BRINGHURST F.R.; DEMAY, M.B. and KRONENBERG, H.M. "Hormones and disorders of mineral metabolism". In: "William Textbook of Endocrinology" Eds. WILSON, J.D.; FOSTER, D.W.; KRONENBERG, H.M. and LARSEN, P.R., 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp. 1155-1210, (1998).

BROADUS, A.E. "Physiological functions of calcium, magnesium and phosphorus and mineral ion balance". In: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Ed. FAVUS, M.J. 2<sup>nd</sup> ed. New York. Raven Press, pp. 41-46, (1993).

BRODY, T. "Nutritional Biochemistry", 2<sup>nd</sup> ed. San Diego: Academic Press, (1999).

BROWN, J.R.; LAW, A.J.K. and KNIGHT, C.H. "Changes in casein composition of goat's milk during the course of lactation: physiological inferences and technological implications". *J. Dairy Res.*, 62: 431-439, (1995).

BROWN, E.M.; MACLEOD, R.J. and O'MALLEY, B.W. "Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signalling". *Physiol. Rev.*, 81: 239-297, (2001).

BROZOWSKA, A.; SICINSKA, A.; WITKOWSKA, J. and ROSKOWSKI, W. "Effect of protein quality and dietary levels of iron, zinc and copper on apparent absorption and tissue trace elements concentration in the rats". In: *Nutrient Availability: Chemical and Biological aspects*. Eds. SOUTHGATE, D.; JOHNSON, I. and FENWICK, G.R. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge, England, pp.206-208, (1989),

BUCHOWSKI, M.S. and MILLER, D.D. "Calcium bioavailability from ripening cheddar cheese". *J. Food Sci.*, 55:1293-1295, (1990).

BURDO, J.R.; MENZIES, S.L.; SIMPSON, I.A.; GARRICK, L.M.; GARRICK, M.D.; DOLAN, K.G.; HAILE, D.J.; BEARD, J.L. and CONNOR, J.R. "Distribution of divalent metal transporter 1 and metal transport protein 1 in the normal and Belgrade rat". *J. Neurosci. Res.*, 66:1198-1207, (2001).



CADOGAN, J.; EASTELL, R.; JONES, N. and BARKER, M. "Milk intake and bone mineral acquisition in adolescent girls: randomised, controlled intervention trial". *British Med. J.*, 315:1255-126, (1997).

CALVO, M.S. "Defects of high phosphorus intake on calcium homeostasis". *Adv. Nutr. Res.*, 9:183-207, (1994).

CALVO, M.S. "Dietary considerations to prevent loss of bone and renal function". *Nutrition*, 16: 564-566, (2000).

CALVO, M.S and PARK, Y.K. "Changing phosphorus content of the U.S. diet: potential for adverse effects on bone". *J. Nutr.*, 126:1168S-1180S, (1996).

CAMPOS, M.S.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; BARRIONUEVO, M.; LISBONA, F. and COVES, F. "Nutritive utilization of calcium in rats: Effects of dietary fat components and vitamin D<sub>3</sub> on intestinal resected rats". *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 35: 511-521, (1989).

CAMPOS, M.S.; PALLARES, I.; MORATALLA, A.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; GOMEZ-AYALA, A.E.; HARTITI, S.; ALFÉREZ, M.J.M.; BARRIONUEVO, M. and LISBONA, F. "Bioavailability of Fe, Ca, P and Mg in the Fe-deficient rats treated with different sources of dietary iron". *Nutr. Res.*, 16: 683-696, (1996).

CAMPOS, M.S.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; ALFÉREZ, M.J.M.; NESTARES, T. and BARRIONUEVO, M. "Effects of goats' or cows' milks on nutritive utilization of calcium and phosphorus in rats with intestinal resection". *Br. J. Nutr.*, 90: 61-67, (2003).

CARRUTH, B.R. and SKINNER, J.D. "The role of dietary calcium and other nutrients in moderating body fat in preschool children". *Int. J. Obesity Related Metabol. Dis.*, 25:559-566, (2001).

CASSANELLI, S. and MOULLIS, J. "Sulfide is an efficient iron releasing agent from mammalian ferritins". *Biochim. Biophys. Acta*, 1547:174-182, (2001).

CASEY, J.L.; HENTZE, M.W.; KOEELER, D.M.; CAUGHMAN, S.W.; ROUAULT, T.A.; KLAUSNER, R.D. and HARFORD J.B. "Iron-responsive elements: regulatory RNA sequences that control mRNA levels and translation". *Science*, 240: 924-928, (1988).

CHAN, S.; MC COWEN, K.C. and BISTRAN, B. "Medium-chain triglyceride and n-3 polyunsaturated fatty acid-containing emulsions in intravenous nutrition". *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 1: 163-169, (1998).

CHANDAN, R.C.; ATTAIE, R. and SAHANI, K.M. "Nutritional aspects of goat milk and its products". In: "Recent advances in goat production". *Pre-Conference Proceedings, Vol. I, part II*, 399: 420, (1992).

CHELLY, J.; TURNER, Z. and TONNESEN, T. "Isolation of a candidate gene for Mendel disease that encodes a potential heavy metal binding protein" *Nature Genet.*, 3: 14-19, (1993).

CHESTER, J. K. "Trace element-gene interactions with particular reference to zinc" *Proc. Nutr. Soc.*, 50: 123-129, (1991).

CHESTERS, I.K. and WILL, M. "Zinc transport proteins in plasma". *Br. J. Nutr.*, 46:111-118, (1981).

CHILLIARD, Y. "Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre. Comparaison avec les laits de vache et humain". En: "Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre". Ed. INRA, pp: 51-65, (1996).

CLARKE, S.D. and JUMP, D.B. "Dietary polyunsaturated fatty acid regulation and gene transcription". *Am. Res. Nutr.*, 14: 83-98, (1994).

COLE, D.E.C. and QUAMME, G.A. "Inherited disorders of renal magnesium handling". *J. Am. Soc. Nephrol.*, 11:1937-1947, (2000).

COLIN, M.A.; TAPER, J. and RITCHEY, S.J. "Effect of dietary zinc and protein levels on the utilization of zinc and copper by adult females" *J. Nutr.*, 113: 1480-1488, (1983).

CONRAD, M.E.; UMBREIT, J.N.; MOORE, E.G. and HEIDMAN, D. "Mobilferrin is an intermediate port between transferrin and hemoglobin K562 cells". *J. Clin. Invest.*, 98:1449-1454, (1996).

CONRAD, M.E. and UMBREIT, J.N. "Iron absorption and transport". *Am. J. Hematol.*, 64:287-298, (2000).

COOK, J. D. "Adaptation in iron metabolism". *Am. J. Clin Nutr.*, 51: 301-308, (1990).

COOK, J.D. and REDDY, M.B. "Effect of ascorbic acid intake on nonheme iron absorption from a complete diet". *Am. J. Clin. Nutr.*, 79: 93, (2001).

COTZIAS, G.C. and PAPAVALIIOU, P.S. "Specificity of zinc pathways through the body: homeostatic considerations" *Am. J. Physiol.*, 65: 238-309, (1964).

COUSINS, B. J. "Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmine." *Physiol. Review*, 206: 238-309. (1985).

COUSINS, B. J. "Systemic transport of zinc". In: *Zinc in Human Biology*. Ed. MILLS C.F., Springer-Verlag, New York, pp. 79-93, (1989).

COUSINS, R.J. and LEE-AMBROSE, L.M. "Nuclear zinc uptake and interactions and metallothionein gene expression are influenced by dietary zinc in rats". *J. Nutr.*, 122: 56-64, (1992).

CZAJKA-NARINS, D.M. "Minerals". In: Krause's Food, Nutrition and Diet Theraphy. Ed. Mc-Graw-Hill Interamericana, 9<sup>th</sup> ed. México D.F. pp. 123-167, (1998).

DALLMAN, P.R.; YIP, R. and OSKI, F.A. "Iron deficiency and related nutritional anemias". In: Natham and Oski's Hematology of infancy and childhood. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders, pp. 413-450, (1993).

DANKS, D.M. "Copper deficiency in humans" *Ann. Rev. Nutr.*, 8: 235-257, (1988).

DANKS, D.M.; STEVENS, B.J.; CAMPBELL, P.E.; CARTWRIGHT; F.C.; GILLESPIE, J.M.; TOWNLEY, R.R.W.; WALKER-SMITH, J.A.; BLOOMFIELD, J.; TURNER, B.B. and MAYNE, V. "Menke's kinky-hair syndrome: an inherited defect in the intestinal absorption of copper with widespread effects" *Birth Defects*, 10: 132-139, (1974).

DANDRIFOSSE, G.; PEULEN, O.; EL KHEFIF, N.; DELOYER, P.; DANDRIFOSSE, A.C.; GRANDFILS, C. "Are milk polyamines preventive agents against food allergy?". *Proc. Nutr. Soc.* 59: 81-86, (2000).

DANZEISEN, R.; PONNAMBALAM, S.; LEA, R.G.; PAGE, K.; GAMBLING, L. and MCARDLE, H.J. "The effect of ceruloplasmin on iron release from placental (BeWo) cells; evience for an endogenous Cu oxidase". *Placenta*, 21: 805-812, (2000).

DAVIES, N.T. "Studies on the absorption of zinc by rat intestine" *Br. J. Nutr.*, 43: 189-203, (1980).

DAVIS, G.K. and MERTZ, W. "Copper" In: *Trace elements in human and animal nutrition*. Ed. MERTZ, W. 5<sup>th</sup> ed., Vol. I Academic Press, New York, pp. 301-364, (1987).

DAVIES, K.M, HEANEY, R.P.; RECKER, R.R.; LAPPE, J.M.; BARGERLUX, M.J.; RAFFERTY, K. and HINDER, S. "Calcium intake and body weight". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85:4635-4638, (2000).

DEVENDRA, C. y MCLEROY, G. B. "Producción de cabras y ovejas en los trópicos". Ed. Manual Moderno, México, pp. 108-110, (1986).

DEVINE, A.; CRIDDLE, R.A.; DICK, I.M.; KERR, D.A. and PRINCE, R.L. "A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women". *Am. J. Clin. Nutr.*, 62: 740-745, (1995).

DEVON, S.J.J. and TESTER, R.F. "In vitro binding of calcium, iron and zinc by non-starch polysaccharides". *Food Chem.*, 73: 401-410, (2001).

DONOVAN, A.; BROWNLIE, A.; ZHOU, Y.; SHEPARD, J.; PRATT, S.J.; MOYNIHAN, J.; PAW, B.H.; DREJER, A.; BARUT, B.; ZAPATA, A.; LAW, T.C.; BRUGNARA, C.; LUX, S.E.; PINKUS, G.S.; PINKUS, J.L.; KINGSLEY, P.D.; PALIS, J.; FLEMING, M.D.; ANDREWS, N.C. and ZON, L.I. "Positional cloning of zebrafish ferroprotin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter". *Nature*, 403: 777-781, (2000).

DOSTALOVA, J. "Goat milk". *Vyziva*, 49: 43-44, (1994).

DREWES, P. A. "Direct colorimetric determination of phosphorus in serum and urine". *Clin. Chim. Acta*, 39: 81-88, (1972).

ERBA, D.; CIAPELLAUO, S. and TESTOLIN, G. "Effect of caseinphosphopeptides on inhibition of calcium intestinal absorption due to phosphate". *Nutr. Res.*, 28: 649-656, (2001).

EHRlich, P.J. and LANYON, L.E. "Mechanical strain and bone cell function: a review". *Osteoporosis Int.*, 13: 688-700, (2002).

ESPIE, W.H. and MULLAN, W.M.A. "Compositional aspects of goat milk in northern Ireland". *Milchwissenschaft*. 145:361-362, (1990).

ESTERBAUER, H.; GEBICKI, J.; PUHL, H. and JURGENS, G. "The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL". *Free Rad. Biol. Med.*, 13:341-390, (1992).

ETTINGER, M.J.; DARWISH, H.M. and SCHMITT, R.C. "Mechanics of copper transport from plasma to hepatocytes". *Fed. Proc.*, 45: 2800-2804, (1986).

EVANS, G.W. "Zinc and its deficiency diseases". *Clin. Physiol. Bichem.*, 4: 94-98, (1986).

EVANS, G.W. and JOHNSON, P.E: "Characterization and quantification of a zinc binding ligand in human milk". *Pediatrics Res.*, 14: 876-880, (1980).

EVANS, G. W. and WINTER, T.W. "Zinc transport by transferring in rat portal blood plasma". *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 66: 1218-1224, (1975).

FAILLA, M.L. and COUSINS, R.J. "Zinc uptake by isolated rat liver parenchymal cells" *Biochim. Biophys. Acta*, 538: 435-444, (1978).

FAIRBANKS, V.F. "Iron in medicine and Nutrition", In: *Nutrition in health and disease*. Eds. SHILS, M.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. and ROSS, A.C. 9<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins, pp. 223-239, (1999).



FANDERSON, P. "A new method of analysis of feeding stuffs for the determination of crude oils and fat". In: Recent advances in animal nutrition. Eds. HARESING, W. and COLE, D.J.A. London: Butter Worths, pp.77-86, (1986).

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). "Necesidades en proteínas". Reunión sobre la Nutrición, nº 37. Roma, 1966.

FARIA, R.J.F; GARCÍA, A.; ALLARA, M.; GARCÍA, A.; OLIVARES, Y. and RÍOS, G. "Some physico-chemical and microbiological characteristics of goat milk produced in Quisiro". Rev. Fac. Agron.16: 99-106, (1999).

FEDER, J.N.; GNIRKE, A.; THOMAS, W.; TSUCHIHASHI, Z.; RUDDY, D.A.; BASAVA, A.; DORMISHIAN, F.; DOMINGO, R. JR.; ELLIS, M.C.; FULLAN, A.; HINTON, L.M.; JONES, N.L.; KIMMEL, B.E.; KRONMAL, G.S.; LAUER, P.; LEE, V.K.; LOEB, D.B.; MAPA, F.A.; MCCLELLAND, E.; MEYER, N.C.; MINTIER, G.A.; MOELLER, N.; MOORE, T.; MORIKANG, E.; PRASS, C.E.; QUINTANA, L.; STARNES, S.M.; SCHATZMAN, R.C.; BRUNKE, K.J.; DRAYNA, D.T.; RISCH, N.J.; BACON, B.R. and WOLFF, R.K. "A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis". Nat. Genet. 13: 399-408, (1996).

FEDER, J.N.; TSUCHIHASHI, Z.; IRRINKI, A.; LEE, V.K.; MAPA, F.A.; MORIKANG, E.; PRASS, C.E.; STRANES, S.M.; WOLFF, R.K.; PARKKILA, S.; SLY, W.S. and SCHATZMAN, R.C. "The hemochromatosis

founder mutation in HLA-H disrupts  $\beta_2$ -microglobulin interaction and cell surface expression". *J. Biol. Chem.*, 272:10425-10428, (1997).

FEDER, J.N.; PENNY, D.M.; IRRINKI, A.; LEE, V.K.; LEBRON, J.A.; WATSON, N.; TSUCHIHASHI, Z.; SIGAL, E.; BJORKMAN, P.J. and SCHATZMAN, R.C. "The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 95: 1472-1477, (1998).

FEHR, P.; CHILLIARD, Y. and SAUVANT, D. "Goat milk and its components". *Proc. Int. Conf. Goat Production and Disease*, pp. 113-121, (1982).

FERGUSON, C.J.; WAREING, M.; WARD, D.T.; GREEN, R.; SMITH, C.P. and RICCARDI, D. "Cellular localization of divalent metal transporter DMT-1 in rat kidney". *Am. J. Physiol. (Renal Fluid Electrolyte Physiol.)*, 280: F803-F814, (2001).

FIELDS, M.; FERRETI, R.J.; SMITH, J.C. and REISER, S. "Effect of copper deficiency on metabolism and mortality in rats fed sucrose or starch diets" *J. Nutr.*, 113: 1335-1345, (1983).

FINLEY, E.B. and CERLEWSKI, F.L. "Influence of ascorbic acid supplementation on copper status in young adult men" *Am. J. Clin. Nutr.*, 37: 553-556, (1983).

FISKE, C.H. and SUBBAROW, Y. "The colorimetric determination of phosphorus". *J. Biol. Chem.*, 66: 375-400, (1925).

FLANAGAN, P.R.; HAIST, J. and VALBERG, L.S. "Comparative effects of iron deficiency induced by bleeding and a low-iron diet on the intestinal absorptive interaction of iron, cobalt, manganese, zinc, lead and cadmium". *J. Nutr.*, 110: 1754-1763, (1980).

FLEET, J.C.; QUERESHI, M.A.; DIETERT, R.R. and McCORMICK, C.C. "Tissue-specific accumulation of metallothionein in chickens as influenced by the route of zinc administration" *J. Nutr.*, 118: 176-182, (1988).

FLEMING, M.D.; TRENOR, C.C.; SU, M.A.; FOERNZLER, D.; BEIER, D.R.; DIETRICH, W.F. and ANDREWS, N.C. "Mycrocytic anemia mice have a mutation in *Nramp2*, a candidate iron transporter gene. *Nature Genetics*, 16: 383-386, (1997).

FLEMING, M.D.; ROMANO, M.A.; SU, M.A.; GARRICK, L.M.; GARRICK, M.D. and ANDREWS, N.C. "*Nramp2* is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for *Nramp2* in endosomal iron transport". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 95:1148-1153, (1998).

FOOD AND NUTRITION BOARD, INSTITUTE OF MEDICINE. "Dietary reference intakes for Arsenic, Boron, Calcium, Chromium, Copper, Fluoride,

Iodine, Iron, Magnesium, Manganese, Molybdenum, Nickel, Phosphorus, Selenium, Silicon, Vanadium and Zinc". Washington , D.C.: National Academy Press, pp. 290-393, (2001).

FOSMIRE, G. "Zinc toxicity". *Am. J. Clin. Nutr.*, 51: 225-227, (1990).

FOSTER, D.M.; AAMODT, R.L.; HENKIN, R.J. and BERMAN, M. "Zinc metabolism in human: a kinetic model". *Am. J. Physiol.*, 237:340-349, (1979).

FREYD, G.; KIM, S.K. and HORVITZ, H.R. "Novel cysteine-rich motif and homeodomain in the product of the caenorhabditis elegans cell lineage gene LinII" *Nature*, 344: 876-879, (1990).

FRIEDLANDER, M.M.; WALD, H.; DRANITZKI-ELHALEL, H.; ZAJICEK, H.K.; LEVI, M. and POPOVTZER, M.M. "Vitamin D reduces renal NaPi-2 in PTH infused rats: complexity of vitamin D action on renal Pi handling". *Am. J. Physiol. (Renal Physiol.)* 281: F428-F433, (2001).

GABRILOVE, J. "Overview: erythropoiesis, anemia and the impact of erythropoietin. *Semin. Hematol.*, 37:1-13, (2000).

GAMBLING, L.; DANZEISEN, R.; GAIR, S.; LEA, R.G.; CHARANIA, Z.; SOLANKY, N.; JOORY, K.D.; SRAI, S.K. and MCARDLE; H.J. "Effect of

iron deficiency on placental transfer of iron and expression of iron transport proteins in vivo and in vitro". *Biochem. J.*, 356: 883-889, (2001).

GANONG, W.F. "Digestión y absorción". In: GANONG, W.F. "Fisiología médica". 19ª Ed. Editorial Manual Moderno, pp. 513-514, (2004).

GARCIA-CASAL, M.N.; LEETS, I. and LAYRISSE, M. "Beta-carotene and inhibitors of iron absorption modify iron uptake by Caco-2 cells". *J. Nutr.*, 130: 5-9, (2000).

GARCIA-UNCITI, M.S. "Utilidad terapéutica de los triglicéridos de cadena media (MCT). Dietas cetógenicas en la epilepsia infantil" *Nutr. Clin.*, 16: 7-35, (1996).

GEE, J.B.; CORBETT, R.J.; PERLMAN, J.M. and LAPTOOK, A.R. "Hypermagnesemia does not increase brain intracellular magnesium in newborn swine". *Pediatr. Neurol.* 25: 304-308, (2001).

GEISSER, P.; BAER, M. and SCHAUB, E. "Structure/histotoxicity relationship of parenteral iron preparations". *Drug Res.*, 42:1439-1452, (1992).

GEORGIEFF, M.K.; WOBKEN, J.K.; WELLE, J.; BURDO, J.R. and CONNOR, J.R. "Identification and localization of divalent metal transporter 1 (DMT1) in term human placenta. *Placenta*, 21: 799-804, (2000).

GERHARD, G.S.; LEVIN, K.A.; PRICE GOLDSTEIN, J.; WOJNAR, M.M.; CHORNEY, M.J. and BELCHIS, D.A. "Vibrio vulnificus septicaemia in a patient with the hemochromatosis HFE C282Y mutation". Arch. Pathol. Lab. Med., 125:1107-1109, (2001).

GHISHAN, F.K. and GREENE, H.L. "Intestinal transport of zinc in the diabetic rat". Life Sciences, 32: 1735-1741, (1983).

GIACHELLI, C.M.; JONO, S.; SHIOI, A.; NISHIZAWA, Y.; MORI, K. and MORII, H. "Vascular calcification and inorganic phosphate". Am. J. Kidney Dis., 38: S34-S37, (2001).

GIBSON, R.S. "Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries". Proc. Nutr. Soc., 65(1):51-60, 2006.

GLAHN, R.P.; LEE, O.A.; YEUNG, A.; GOLDMAN, M.I and MILLER, D.D. "Caco-2 cells ferritin formation predicts nonradiolabeled food iron availability in vitro digestion / Caco-2 cells culture model". J. Nutr., 128: 1555-1561, (1998).

GLAHN, R.P. and VAN CAMPEN D.R. "Iron uptake is enhanced in Caco-2 cells monolayers by cysteine and reduced cysteinyl glycine". J. Nutr., 127: 642-647, (1997).

GLAHN, R.P.; WIEN, E.M.; VAN CAMPEN, D.R. and MILLER, D.D. "Caco-2 cells iron uptake from meat and casein digest parallels in vivo studies use of a novel in vitro method for rapid estimation of iron bioavailability". *J. Nutr.*, 126: 332-339, (1996).

GNAN, S.O. and ERABTI, H.A. "The composition of libyan goat milk". *Aust. J. Dairy Technol.*, 40:163-165. (1985).

GOLDEN, M.N.H. "The diagnosis of zinc deficiency". In: *Zinc in human biology*. Ed. MILLS, C.F. New York, Springer-Verlag, pp. 323-333,(1989).

GONG, G.; STERN, H.S.; CHENG, S.C.; FONG, N.; MORDESON, J.; DENG, H.W. and RECKER, R.R. "The association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphisms". *Osteoporos Int.*, 9: 55-64, (1999).

GRASBECK, R.; KOUVONEN, I.; LUNDBERG, M. and TENHUNEN, R. "An intestinal receptor for heme". *Scand. J. Haematol.*, 23: 5-9, (1979).

GRASBECK, R.; MAJURI, R.; KOUVONEN, I. and TENHUNEN, R. "Spectral and other studies on the intestinal haem receptor of the pig". *Biochim. Biophys. Acta*, 700: 137-142, (1982).

GREENE, F.L.; LAMB, L.S.; BARWICK, M. and PAPAS, N.J. "Effect of dietary copper on colonic tumor production and aortic integrity in the rat". *J. Surg. Res.*, 42: 503-512, (1987).

GREGER, J.L. and SNEDEKER, S. M. "Effect of dietary protein and phosphorus levels on the utilization of zinc, copper and manganese" *J. Nutr.*, 110: 2243-2253, (1980).

GRIESSEN, M.; SPEICH, P.V. and INFANTE, F. "Effect of absorbable and non-absorbable sugars on intestinal calcium absorption in human" *Gastroenterol.*, 96: 769- 775, (1989).

GRIBKOFF, V.K.; STARRET, J.E. and DWORETZKY, S.I. "Maxi-K potassium channels: form, function and modulation of a class of endogenous regulators of intracellular calcium". *Neuroscience*, 7:166-177, (2001).

GROFF, J.L. and GROPPER, S.S. "Advanced nutrition and human metabolism", 3<sup>rd</sup> ed. Belmont, CA, Wadsworth Thomson Learning, (2000).

GROSS, P.M. and WEINDL, A. "Peering through the windows of the brain". *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 7: 663-672, (1987).

GUEGUEN, L. "Interactions lipides-calcium et biodisponibilité du calcium du fromage". *Cah. Nutr. Diét.*, 27: 311-315, (1992).

GUEGUEN, L. "La valeur nutritionnelle minérale du lait du chèvre". En: *Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre*. Ed. INRA, pp. 67-80, (1996).



GUEGUEN, L. and POINTILLART, A. "The bioavailability of dietary calcium". *J. Am. Coll. Nutr.*, 19: 119S-136S, (2000).

GUNNARSSON, P.O.; NYLEN, U. and PETTERSSON, G. "Kinetics of the interaction between ceruloplasmin and reducing substrates" *Eur. J. Biochem.*, 37: 41-46, (1973).

GUNSHIN, H.; MCENZIE, B.; BERGER, U.V.; GUNSHIN, Y.; ROMERO, M.F.; BORON, W.F.; NUSSBERGER, S.; GOLLAN, J.L. and HEDIGER, M.A. "Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metalion transporter". *Nature*, 388: 482-487, (1997).

HAMILTON, D.I.; BELLAMY, J.E.C.; VALBERG, J.D. and VALBERG, L.S. "Zinc, cadmium, and iron interaction during intestinal absorption in iron-deficient mice". *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 56: 384-388, (1978).

HALL, W.D.; PETTINGER, M.; OBERMAN, A.; WATTS, N.B.; JOHNSON, K.C.; PASKETT, E.D.; LIMACHER, M.C. and HAYS, J. "Risk factors for kidney stones in older women in the southern united States". *Am. J. Med. Sci.*, 322:12-18, (2001).

HALLBERG, L.; BENGTSSON, C.; GARBY, L.; LENNARTSSON, J.; ROSSANDER, L. and TIBBLIN, E. "An analysis of factors leading to a reduction in iron deficiency in Swedish women". *Bulletin of the World Health Organization*, 57: 947-954, (1979).

HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ERLANDSSON, M.; SANDBERG, A.S. and ROSSANDER-HULTEN, L. "Calcium: Effect of different amounts on nonheme-iron and heme-iron absorption in humans". *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 112-119, (1991).

HALLBERG, L.; ROSSANDER-HULTEN, L.; BRUNE, M. and GLEERUP, A. "Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance". *Eur. J. Clin Nutr.*, 46: 317-327, (1992).

HALLTERMAN, J.S.; KACZOROWSKI, J.M.; ALIGNE, C.A; AUINGER, P. and SZILAGYI, P.G. "Iron deficiency and cognitive achievement among schoolaged children and adolescents in the United States". *Pediatrics*, 107: 1381-1386, (2001).

HAMBIDGE, K.M.; CASEY, C.E. and KREBS, N.F. "Zinc" In: *Trace elements in human and animal nutrition II*. Ed. MERTZ, W. Academic Press, Orlando, Fl. pp. 1-37, (1986).

HAN, O.; FAILLA, M.L.; HILL, A.D.; MORRIS, E.R. and SMITH, J.C. "Reduction of Fe (III) is required for uptake of nonheme iron by Caco-2 cells". *J. Nutr.*, 125: 1291-1299, (1995).

HANH, C.J. and EVANS, G.W. "Absorption of trace metals in the zinc-deficient rat". *Am. J. Physiol.*, 228: 1020-1023, (1975).

HARDWICK, L.L.; JONES, M.R.; BUDDINGTON, R.K.; CLEMENS, R. A. and LEE, D.B.N. "Comparison of calcium and magnesium absorption: in vivo and in vitro studies". *Am. J. Physiol.*, 259: G720-G726, (1990).

HARRIS, E.D. "Copper transport: an overview" *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 196: 130-140, (1991).

HARRIS, S.S. and DAWSON HUGHES, B. "Caffeine and bone loss in healthy postmenopausal women". *Am. J. Clin. Nutr.*, 60: 573-578, (1994).

HARRIS, E.D. "Basic and clinical aspects of copper". *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 40:547-586, (2003).

HARRIS, E. D. and PERCIVAL, S.S. "A role for ascorbic acid in copper transport" *Am. J. Clin. Nutr.*, 54: 1193-1197, (1991).

HART, E.B.; STEENBOCK, H.; WADDEL, J. and ELVEPJEM, C.A. "Iron in nutrition. IV. Copper as a supplement to iron for haemoglobin building in rat" *J. Biol. Chem.*, 77: 797-812, (1928).

HARTITI, S.; LISBONA, F.; LOPEZ ALIAGA, I.; BARRIONUEVO, M; ALFÉREZ, M.J.M.; PALLARES, I.; GOMEZ AYALA, A.E. and CAMPOS, M.S. "Influence of dietary fat components and intestinal resection on iron, zinc and copper metabolism in rats" *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 64: 330-336, (1994a).

HARTITI, S.; LOPEZ ALIAGA, I.; BARRIONUEVO, M; LISBONA, F.; PALLARES, I.; ALFÉREZ, M.J.M.; GOMEZ AYALA, A.E. and CAMPOS, M.S. "Zinc metabolism in rats: effects of intestinal resection, cholecalciferol and ascorbic acid". *Nutr. Res.*, 14: 1523-1534, (1994b).

HARTITI, S.; BARRIONUEVO, M.; LOPEZ-ALIAGA, I.; LISBONA, F.; PALLARES, I.; GOMEZ AYALA, A.E. and CAMPOS, M.S. "Effect of intestinal resection, cholecalciferol, and ascorbic acid on iron metabolism in rats" *Br. J. Nutr.*, 73: 871-880, (1995a).

HARTITI, S.; LOPEZ-ALIAGA, I.; LISBONA, F.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M. J. M.; GOMEZ-AYALA, A.E.; PALLARES, I. and CAMPOS, M. S. "Copper malabsorption after intestinal resection in rats". *Ann. Nutr. Metab.*, 39: 227-233, (1995b).

HARTWIGSEN, E.; WISKER, E. and FELDHEIM, W. "Influence of phytic acid and dietary fibre on the balance of iron and zinc in young women". *Aktuelle Ernährungs Medizin*, 13: 57-61, (1988).

HEANEY, R.P. "Calcium". In: *Principles of bone Biology*. Eds. BILEZIKIAN, J.P.; RAISZ, G.A. and RODAN, G.A. New York, Academic Press, pp. 1007-1018, (1996).

HEANEY, R.P. "Absorbing calcium" [Editorial]. *Clin. Chem.* 45:161-162, (1999).

HEANEY, R.P. "Calcium, dairy products and osteoporosis". *J. Am. Coll. Nutr.*, 19: 83S-99S, (2000).

HEANEY, R.P., DOWELL, S.; BIERMAN, J.; HALE, C.A. and BENDICH, A. "Absorbability and cost effectiveness in calcium supplementation". *J. Am. Coll. Nutr.*, 20: 239-246, (2001).

HEMPE, J.M. and COUSINS, R.J. "Cysteine-rich intestinal protein binds zinc during transmucosal zinc transport" *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 88: 9671-9674, (1991).

HEMPE, J.M. and COUSINS, R.J. "Cysteine-rich intestinal protein and intestinal metallothionein: an inverse relationship as a conceptual model for zinc absorption in rats" *J. Nutr.*, 122: 89-95, (1992).

HENKIN, R.J.; FOSTER, D.M.; AAMODT, R.L. and BERMAN, M. "Zinc metabolism in adrenocortical insufficiency: effects of carbohydrate active steroids" *Metabolism*, 33: 491-501, (1984).

HENRY, R.W. and ELMES, M.E. "Plasma zinc in acute starvation". *Br. Med. J.*, 4:625-626, (1975).

HENTZE, M.W. and KÜHN, L.C. "Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 93: 8175-8182, (1996).

HERCBERG, S. and GALAN, P. "Nutritional anemias". *Bailleres Clin. Haematol.* 5:143-168, (1992).

HERNANDO, N.; FORSTER, I.C.; BIBER, J. and MURER, H. "Molecular characteristics of phosphate transporters and their regulation". *Exp. Nephrol.*, 8: 366-375, (2000).

HERNANDO, N.; KARIM-JIMÉNEZ, Z.; BIBER, J. and MURER, H. "Molecular determinants for apical expression and regulatory membrane retrieval of the type II Na/Pi cotransporter". *Kidney Int.*, 260: 431-435, (2001).

HIGDON, J. "Magnesium". In: *An evidence-based approach to vitamins and minerals*. Ed. HIGDON, J. Thieme Medical Publishers, Inc. pp. 148-156, (2003).

HILL, C.H. and STARCHER, B. "Effect of reducing agents on copper deficiency in the chick" *J. Nutr.*, 85: 271-274, (1965).

HOADLEY, J.E, and COUSINS, R.J. "Regulatory mechanisms for intestinal transport of copper and zinc" In: *Trace element research in humans*. Eds.

PRASARD, A.S. and BREWER, G.J. pp. 141-155, Alan, R. Liss, New York, (1988).

HOLICK, F.H. "Vitamin D: The underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health". *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes*, 9: 87-98, (2002).

HUNT, C.E.; CARLTON, W.W. and NEWBERNE, P.M. "Interrelationships between copper deficiency and dietary ascorbic acid in the rabbit" *Br. J. Nutr.*, 24: 61-69, (1970).

HUNT, C.E. and JOHNSON, L.K. "Dietary protein, as egg albumin: Effects on bone composition, zinc bioavailability and requirements of rats, assessed by modified broken-line model" *J. Nutr.*, 122: 161-169, (1992).

HURLEY, L.S.; KEEN, C.L.; YOUNG, H.M. and LÖNNERDAL, B." Effects of chelates on zinc concentration in rat maternal and pup tissues" *Fed. Proc.*, 41:29-32, (1982).

ILSI (INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE) EUROPE. "Recommended daily amounts of vitamins and minerals in Europe" *Nutr. Abst. Rev.*, 60: 827-842, (1990).

IVAN, M.; KONDO, K.; YANG, H.; KIM, W.; VALIANDO, J.; OHH, M.; SALIC, A.; ASARA, J.M.; LANE, W.S. and KAELIN, W.G. Jr. "HIF $\alpha$

targeted for VHL-mediated destruction by proline hidroxilation: implications for oxigen sensing”. *Science*, 292: 464-468, (2001).

JAAKKOLA, P.; MOLE, D.R.; TIAN, Y.M., WILSON, M.I.; GIELBERT, J., GASKELL, S.J.; KRIEGSHEIM, A.V.; HEBESTREIT, H.F.; MUKHERJI, M.; SCHOFIELD, C.J.; MAXWELL, P.H.; PUGH, C.W. and RATCLIFFE, P.J. “Targeting of HIF-alpha to the Von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by oxigen regulated prolil hidroxilation”. *Science*, 292(5516): 468-472, (2001).

JACOB, R.A.; SDALA, J.H.; OMAYE, S.T. and TURNLUD, J.R. “Effect of varying ascorbic acid intakes on copper absorption and ceruloplasmine levels of young men” *J. Nutr.*, 117: 2109-2115, (1987).

JAMISON, M.H.; SHARMA, H.; CASE, R.M.; and BRAGANZA, J.M. “Pancreatic secretions assist bile in limiting copper absorption in the rat”. *Gut*, 22: A866-A867, (1981).

JAN DE BEUR, S.M. and LEVINE, M.A. “Molecular Pathogenesis of hypophosphatemic rickets”. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87: 2467-2473, (2002).

JANDAL, J.M. “Comparative aspects of goat and sheep milk “. *Small Rumin. Res.*, 22: 177-185, (1996).

JAUBER, O. and KALANTZOPOULOS, O. “Quality of goat milk for cheese and other products”. *VI Int. Conf. Goats Int.*, 1: 274-284, (1996).



JAUBERT, A. "Les vitamines et les nucléotides du lait de chèvre". En: Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Ed. INRA, pp. 81-92, (1996).

JOHNSON, M.A. "Interaction of dietary carbohydrate, ascorbic acid and copper with the development of copper deficiency in rats" J. Nutr., 116: 802-815, (1986).

JOHNSON, P.H. "Factors affecting copper absorption in humans and animals". In: Copper bioavailability and metabolism. Ed. Constance, Kies, Plenum Publishing Corporation, pp. 71-79, (1990).

JOHNSON, P.E.; MILNE, D.B. and LYKKEN, G.I. "Effects of age and sex on copper absorption, biological half-life and status in human". Am. J. Clin. Nutr., 56: 917-925, (1992).

JOHNSON, M.A. and GRATZEK, J.M. "Influence of sucrose and starch on the development of anemia in copper and iron deficient rats" J. Nutr., 116: 2443- 2452, (1986).

JOHNSON, P.E.; STUART, M.A. and BOWMAN, T.D. "Bioavailability of copper to rats from various foodstuffs and in the presence of different carbohydrates" Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 87: 44-50, (1988).

JÜTTNER, R. and EBEL, H. "Characterization of  $Mg^{2+}$  transport in brush border membrane vesicles of rabbit ileum studied with mag-fura 2". *Biochim. Biophys. Acta*, 1370: 51-63, (1998).

KADIISKA, M.B.; HANNA, P.M. and MASON, R.P. "In vivo ESR spin trapping evidence for hydroxyl radical-mediated toxicity of paraquat and copper in rats". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 123: 187-192, (1993).

KATAOCA, M. and TAVASSOLI, M. "The role of liver endothelium in the binding and uptake of ceruloplasmin: studies with colloidal gold probe" *J. Ultrastruct. Res.*, 90: 194-202, (1985a).

KATAOCA, M. and TAVASSOLI, M. "Identification of ceruloplasmin receptors on the surface of human blood monocytes, granulocytes and lymphocytes". *Exp. Hematol. Today*, 13: 806-810, (1985b).

KAUP, S.M. "Aspects of mineral bioavailability in infant nutrition". *Int. Dairy J.*, 8: 435-441, (1998).

KEEN, C. L. and GERSHWIN, M.E. "Zinc deficiency and immune function". *Ann. Rev. Nutr.*, 10: 415-431, (1990).

KENN, C.L.; SALTMAN, P. and HURLEY, L. "Copper nitrilo acetate: a potent therapeutic agent in the treatment of a genetic disorder of copper metabolism" *Am. J. Clin. Nutr.*, 33: 1789-1800, (1980).

KERSTAN, D. and QUAMME, G. "Physiology and pathophysiology of intestinal absorption of magnesium". In: Calcium in Internal Medicine. Eds. MASSRY, S.G.; MORII, H. and NISHIZAWA, Y. London, Springer-Verlag, pp. 171-183, (2002).

KING, J.C. and KEEN, C.L. "Zinc". In: Modern nutrition in health and disease. 9<sup>th</sup> ed. Eds. SHILS, M.E., OLSON, J.A., SHIKE, M. and ROSS, A.C. Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins, pp. 223-239, (1999).

KLEVAY, L.M. "Atrial thrombosis, abnormal electrogram and sudden death in mice due to copper deficiency". *Atherosclerosis*, 54: 213-224, (1985).

KIM HA, J. and LINDSAY, R. "Contributions of cow, sheep and goat milk to characterizing branched-chain fatty acid and phenolic flavors in varietal cheeses". *J. Dairy Sci.*, 74: 3267-3274, (1991).

KING, J.C. and TURLUND, J.R. "Human zinc requirements" In: Zinc in human biology. Ed. MILLS, C.F., Press, International Life Sciences Institute. London, (1989).

KIRCHGESSNER, M. and GRASSMAN, E. "The dynamics of copper absorption". In: Trace elements metabolism in animals. Ed: MILLS, C.F. Edinburgh: Livingstone. pp. 277-286, (1970).

KNOCHEL, J.P. "Phosphorus". In: Nutrition in health and disease. Eds. SHILS, M.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. and ROSS, A.C. 9<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins, pp. 157-167, (1999).

KOHLMEIER, M. "Phosphorus". In: Nutrient Metabolism. Ed. KOHLMEIER, M. New York Academic Press, pp. 700-708, (2003).

KOK, F.J.; WANDNIY, M.; HOUFMAN, A.; VAN DER VOET, G.B.; DE WOLF, F.A.; PAAYS, C.H. and VALDENBURK, H.A. "Serum copper and zinc on the risk of death from cancer and cardiovascular diseases" Am. J. Epidemiol., 128: 351-359, (1988).

KONRAD, M.; SCHLINGMANN, K.P. and GUDERMANN, T. "Insights into the molecular nature of magnesium homeostasis". Am. J. Physiol. (Renal Physiol.), 286: F599-F605, (2004).

KOPP, S.L.; KLEVAY, L.M. and FELIKSIK, J.M. "Physiological and metabolic characterization of a cardiomyopathy induced by chronic deficiency". Am. J. Physiol., 245: H855-H866, (1983) .

KOWARSKI, S.; BLAIN-STANEK, C.S. and SCHATHER, D. "Active transport of zinc and identification of zinc-binding protein in rat jejunal mucosa". *Am. J. Physiol.*, 226: 401-407, (1974).

KOZYRAKI, R.; FYFE, J.; VERROUST, P.J.; JACOBSEN, C.; DAUTRY-VARSAT, A.; GBUREK, J. WILLNOW, T.E.; CHRISTENSEN, E.I. and MOESTRUP, S.K. "Megalin-dependent cubilin-mediated endocytosis is a major pathway for the apical uptake of transferrin in polarized epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 98: 12491-12496, (2001).

KRIEGER, I. "Picolinic acid in the treatment of disorders requiring zinc supplementation". *Nutr. Rev.*, 38: 148-150, (1980).

KRIEGER, I. and EVANS, G.W. "Acrodermatitis enteropathica without hypozincemia: therapeutic effect of a pancreatic enzyme preparation due to a zinc binding ligand" *J. Pediatric.*, 96: 32-35, (1980).

KUIPERS, P.J. and COUSINS, R.J. "Zinc accumulation in rat liver parenchymal cells in primary culture and response to glucagon and dexamethasone". *Fed. Proc.*, 43: 1403, (1984).

KUMAR, R. "1,25- dihydroxivitamin D<sub>3</sub>- not just a calciotropic hormone." *Nephron*, 91: 576-581, (2002).

LAFOND, J.; GOYER-O'REILLY, I.; LARAMEE, M. and SIMONEAU, L. "Hormonal regulation and implication of cell signaling in calcium transfer by placenta". *Endocrinol. J.*, 14: 85-94, (2001).

LAJEUNESSE, D. and BRUNETTE, M.G. "Sodium gradient-dependent phosphate transport in placental brush border membrana vesicles". *Placenta*, 9:117-128, (1988).

LAI, C.C.; HUANG, W.H.; ASKARI, A.; WANG, Y.; SARVAZYAN, N.; KLEVAY, L. M. and CHIU, T.H. "Differential regulation of superoxide dismutase in copper-deficient rats organs" *Free Rad. Biol. Med.*, 16: 613-620, (1994).

LAYRISSE, M.; GARCIA-CASAL, M.N.; SOLANO, L.; BARON, M.A.; AGUELLO, F.; LLOVERA, D.; RAMIREZ, J.; LEETS, I. and TROPPER, E. "The role of vitamin A on the inhibitors of nonheme iron absorption". *J. Nutr. Biochem.*, 8:61-67, (1997).

LEE, P.L.; GELBART, T.; WEST, C.; HALLORAN, C. and BEUTLER, E.; "The human Nramp2 gene: characterization of the gene structure, alternative splicing promoter region and polymorphisms". *Blood Cells and Molecular Diseases*, 24: 199-215, (1998).

LEI, K.Y. "Dietary copper: cholesterol and lipoprotein metabolism". *Ann. Rev. Nutr.*, 11: 265-283, (1991).

LEE, H.H.; PRASARD, A.S.; BREWER, G.J. and OWYANG, C. "Zinc absorption in human small intestine". *Am. J. Physiol.*, 256: G87-G91, (1989).

LEMANN, J. Jr. "Urinary excretion of calcium, magnesium and phosphorus". In: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Ed. FAVUS, M.J. New York, Raven Press 2<sup>nd</sup> ed., pp. 50-54, (1993).

LEVI, M.; KEMPSON, S.A.; LOTSCHER, M.; BIBER, J. and MURER, H. "Molecular regulation of renal phosphate transport". *J. Membr. Biol.*, 154:1-9, (1996).

LEVI, S.; YEWDAL, S.J. and HARRISON, P.M. "Evidence of H and L chains have to cooperative roles in the iron uptake mechanisms of human ferritin". *Biochem. J.*, 288: 591-596, (1992).

LEVY, J.E.; JIN, O.; FUJIWARA, Y.; KUO, F. and ANDREWS, N.C. "Transferrin receptor is necessary for development of erythrocytes and the nervous system". *Nature Genet.*, 21: 361-369, (1999).

LEYHAUSEN, G.; LORENZ, B.; ZHU, H.; GEURTSSEN, W.; BOHNENSACK, R.; MULLER, W.E. and SCHRODER, H.C. "Inorganic polyphosphate in human osteoblast-like cells". *J. Bone Min. Res.*, 13: 803-812, (1998).

LI, T.K. and VALLE, B.L. "Papel bioquímico y nutricional de los oligoelementos" En: Nutrición en la salud y en la enfermedad. Eds. GOODHART, R.S. y SHILS, M.E., pp. 386-394, (1987).

LINDER, M.C. "Nutrición y metabolismo de los elementos traza". En: Nutrición aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos, ed. Eunsa, Pamplona, pp. 189-241, (1988).

LINDER, M.C. "The biochemistry of copper". Plenum Press, New York, (1991).

LINDER, M.C. "Interaction between copper and iron in mammalian metabolism". In: Metal-metal interaction. Eds. ELSENHANS, B.; FORTH, W. and SCHUMANN, K. Berteismann Fondation, Gutersloh, Germany, pp. 11-41, (1993).

LINDER, M.C. "Copper". In: Present Knowledge in Nutrition. 7<sup>th</sup> ed. International Life Science Institute, Washington, D.C., pp. 307-319, (1996).

LINDER, M.C. and HAZEGH-AZAM, M. "Copper biochemistry and molecular biology". Am. J. Clin. Nutr., 63:797S-818S, (1996).

LINDER, M.C. and MUNRO, H.N. "Iron and copper metabolism in development". Enzyme, 15: 111-138, (1973).



LINDER, M.C. and ROBOZ, M. "Turnover and excretion of copper in rats as measured with <sup>67</sup>Cu "Am. J. Physiol., 251: E551-E555, (1986).

LISBONA, F.; CAMPOS, M.S.; COVES, F.; GARCIA, J.A.; BARRIONUEVO, M. and LÓPEZ\_ALIAGA. I. "Influence of ileal resection, type of diet and ursodeoxicholic acid on biliary secretion in rats". Exp. Physiol., 76: 567-572, (1991).

LISBONA, F.; ALFÉREZ, M.J.M.; BARRIONUEVO, M.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; PALLARÉS, I.; HARTITI, S. and CAMPOS, M.S. "Effects of type of dietary fat and vitamin D<sub>3</sub> on magnesium absorption in rats with intestinal resection". Internat. J. Vit. Nutr. Res., 64:294-302, (1994).

LOMBARDI-BOCCIA, G.; MARTINEZ-DOMINGUEZ, B. and AGUZZI, A. "Total heme and non-heme iron in raw and cooked meats". J. Food Sci. 67: 1738-1741, (2002).

LOMBECK, I.; SCHNIPPERING, H.G.; RITZL, F.; FEINENDEGEN, L.E. and BRAMNER, H.J. "Absorption of zinc in acrodermatitis enteropathica". Lancet, 1: 855-861, (1975).

LÖNNERDAL, B. and DEWEY, K.G. "Epidemiología de la deficiencia de hierro en lactantes y niños". An. Nestlé. 53:12-19, (1995).

LÖNNERDAL, B.; HOFFMAN, B. and HURLEY, L.S. "Zinc and copper binding proteins in human milk" *Am. J. Clin. Nutr.*, 12:1170-1176, (1982).

LÖNNERDAL, B.; SANBERG, A.S.; SANDSTRÖM, B. and KUNZ, C. "Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats" *J. Nutr.*, 119: 211-214, (1989).

LÓPEZ, H.W.; COUDRAY, C.; LEVRAT-VERNY, M.A.; FEILLET-COUDRAY, C.; DEMIGNÉ, C. and RÉMESY, C. "Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects on phytic acid on mineral homeostasis in rats". *J. Nutr. Biochem.*, 11:500-508, (2000).

LOPEZ-ALIAGA, I.; CAMPOS, M.S.; BARRIONUEVO, M.; COVES, F.; LISBONA, F. y ALFEREZ, M.J.M. "Efecto de la resección intestinal, de los triglicéridos de cadena media y del ácido ursodeoxicólico sobre la utilización nutritiva de calcio, fósforo y magnesio en ratas". *Ars Pharmaceutica*. Tomo XXX, Núms. 1-2, 83-97, (1989).

LOPEZ-ALIAGA, I.; BARRIONUEVO, M.; CAMPOS, M.S.; COVES, F. and LISBONA, F. "Influence of intestinal resection and type of diet on digestive utilization and metabolism of magnesium in rats". *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 61: 61-66, (1991).

LÓPEZ-ALIAGA, I.; ALFEREZ, M.J.M.; LISBONA, F.; BARRIONUEVO, M.; HARTITI, S.; GOMEZ-AYALA, A.E. and CAMPOS M.S. “Influence of vitamin D<sub>3</sub> and type of dietary fat on phosphorus absorption in rats with intestinal resection” *Nutr. Res.*, 14: 47-57, (1994).

LÓPEZ-ALIAGA, I.; ALFEREZ, M.J.M.; BARRIONUEVO, M.; LISBONA, F. and CAMPOS, M.S. “Influence of goat and cow milk on the digestive and metabolic utilization of calcium and iron”. *J. Physiol. Biochem.*, 56: 201-208, (2000).

LÓPEZ-ALIAGA, I.; ALFEREZ, M.J.M.; BARRIONUEVO, NESTARES, T.; SANZ-SAMPELAYO, M.R. and CAMPOS M.S. “Study of nutritive utilization of protein and magnesium in rats with resection of the distal small intestine. Beneficial effect of goat milk”. *J. Dairy Sci.*, 86: 2958-2966, (2003).

LÓPEZ-ALIAGA, I.; ALFÉREZ, M.J.M.; NESTARES, T.; ROS, P.B.; BARRIONUEVO, M. and CAMPOS, M.S. “Goat milk feeding causes an increase in biliary secretion of cholesterol and a decrease in plasma cholesterol levels in rats”. *J. Dairy Sci.*, 88:1024-1030, (2005).

LUCAS, M.L.; COPPER, B.T.; LEI, F.H.; JOHNSON, I.T.; HOLMNES; G.K.T.; BLAIR, J.A. and COOKE, W.T.; “Acid microclimate en celiac and Crohn’s disease: a model for folate malabsorption”. *Gut*, 19:735-742, (1978).

LUTZ, T.; WÜRMLI, R. and SCHARRER, E. “Short chain acids stimulate magnesium absorption by the colon”. In: *Magnesium-A Relevant Ion*. Eds.

LASSERRE, B. and DURLACH, J. John Libbey, pp. 131-137, (1991).

LYNCH, S.R: “Interaction of iron with other nutrients”. *Nutr. Rev.*, 55: 102-110, (1997).

LYNCH, S.M. and FREI, B. “Mechanisms of copper-iron dependent oxidative modification of human low density lipoprotein”. *J. Lipid Res.*, 34: 1745-1753, (1993).

MANOONKITIWONGSA, P.S.; WHITTER, E.F.; WAREESANGTIP, W.; MCMILLAN, P.J.; NAVA, P.B. and SCHULTZ, R.L. “Calcium-dependent ATPase unlike ecto-ATPase is located primarily on the luminal surface of brain endothelial cells”. *Histochem. J.*, 32: 313-324, (2000).

MARTIN, P. “La composition protéique du lait de chèvre: ses particularités”. En: *Interêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre*. Ed. INRA, pp. 27-49, (1996).

MARTÍNEZ-FÉREZ, A. “Obtención de oligosacáridos de la leche de diferentes especies por tecnología de membranas”. Tesis Doctoral, (2004).

MASSEY, L.K. “Does excess dietary protein adversely affect bone?” Symposium overview. *J. Nutr.*, 128:1048-1050, (1998).

MASUYANA, R.; UCHARA, H. and SUZUKI, K. "High P diet induces acute secretion parathyroidhormone without alterations of serum calcium levels in rats". *Biosci. Biotech. Biochem.*, 64: 2316-2319, (2000).

MATAIX, F.J.; MAÑAS, M.; LLOPIS, J. and MARTINEZ DE VICTORIA, E. "Tabla de composición de alimentos españoles". 2ª ed. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada, (1988).

MAY, P.M.; SMITH, G.L. and WILLIAMS, D.R. "Computer calculation of zinc (II)-complex distribution in milk" *J. Nutr.*, 112: 1990-1993, (1982).

McCANCE K.L. and HUETER S.E. "Pathophysiology: The biologic basis for disease in adults and children" 3<sup>rd</sup> ed. St. Louis, MO, Mosby, (1998).

McEWAN, G.T.A.; LUCAS, M.L.; DENVER, M.; RAJ, M.; MCCOLL, K.E.; RUSSELL, R.I. and MATHAN, V.I. "A combined TDDA-PVC pH and reference electrode for use in the upper small intestine". *J. Med. Eng. Technol.*, 14: 16-20, (1990).

McARDLE, H.J.; GUTHRIE, J.R.; ACKLAND, M.L. and DANKS, D.M. "Albumin has no role in the uptake of copper by human fibroblasts" *J. Inorg. Biochem.*, 31: 123-131, (1987).

McPHAIL, A.P. and BOTHWELL, T.H. "The prevalence and causes of nutritional iron deficiency anemia". In: *Nutritional anemias*. Eds. FOMON, S.J.

and ZLOTKIN, S. Nestlé Nutrition Workshop Series, vol.30, Nestec Ltd., Vevey/Raven Press, Ltd., New York, pp. 1-12, (1992).

McKIE, A.T.; BARROW, D.; LATUNDE-DADA, G.O.; ROLFS, A.; SAGER, G.; MUDALY, E.; MUDALY, M.; RICHARDSON, C.; BARLOW, D.; BOMFORD, A.; PETERS, T.J.; RAJA, K.B.; SGIRALI, S.; HEDIGER, M.A.; FARZANEH, F. and SIMPSON, R.J. "An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron". *Science*, 291:1755-1759, (2001).

McKIE, A.T.; MARCIANI, P.; ROLFS, A.; BRENNAN, K.; WHER, K.; BARROW, D.; MIRET, S.; BOMFORD, A.; PETERS, T.J.; FARNAZEH, F.; HEDIGER, M.A.; HENTZE, M.W. and SIMPSON, R.J. "A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation". *Molecular Cell*, 5: 299-309, (2000).

MENARD, M.P. and COUSINS, R.J. "Zinc transport by brush border membrane vesicles from rat intestine" *J. Nutr.*, 113: 1434-1442, (1983a).

MENARD, M.P. and COUSINS, R.J. "Effect of citrate, glutathione and picolinate on zinc transport by brush border membrane vesicles from rat intestine" *J. Nutr.*, 113: 1653-1656, (1983b).

MENARD, M.P.; Mc CORMICK, C.C. and COUSINS, R.J. Regulation of intestinal metallothionein biosynthesis in rats by dietary zinc". *J. Nutr.*, 111, 1358-1361, (1981).

MERTZ, A.; MADORIN, M.; PETIGNAT, J.L. and EYSSSEN ROTH, H. “Relation between cholesterol, triglycerides, urea (bun) and creatinine in serum of ageing rats” *Zeitschrift für Versuchosatieerkunde*, 20: 173-185, (1978).

MILLER, L.V.; HAMBIDGE, K.M.; NAAKE, V.L.; HONG, Z.; WESTCOTT, J.L. and FENNESSY, P.V. “Size of the zinc pools that a change rapidly with plasma zinc in human: zinc intake”. *J. Nutr.*, 124: 268-276, (1994).

MILNE, D.B. and NIELSEN, F.H. “The interaction between dietary fructose and magnesium adversely affects macromineral homeostasis in men”. *J. Am. Coll. Nutr.*, 19: 31-37, (2000).

MIYAMOTO, K.I. and ITHO, M.. “Transcriptional regulation of the Npt2 gene by dietary phosphate”. *Kidney Internat.* 60:412-425, (2001).

MONTASER, A.; TETREAULT, C. and LINDER, V.C. “Comparison of copper binding proteins in dog serum with those in other species” *Proc. Coc. Exp. Bio. Ced.*, 200: 321-329, (1992).

MOOS, T. and MORGAN, E.H. “Transferrin and transferrin receptor function in brain barrier systems. *Cell Mol. Neurobiol.*, 20: 77-95, (2000).

MOYA, M.; CORTÉS, E.; BALLESTER, M.I.; VENTO, M.Y. and JUSTE, M. "Short term polyose substitution for lactose reduces calcium absorption in healthy term babies". *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 14:57-61, (1992).

MÜLLNER, E.W. and KÜHN, L.C. "A stem-loop in the 3' untranslated region mediates iron-dependent regulation of transferrin receptor mRNA stability in the cytoplasm". *Cell*, 53:815-825, (1988).

MURER, H.; HERNANDO, N.; FORSTER, L. and BIBER, J. "Molecular mechanisms in proximal tubular and small intestinal phosphate reabsorption". *Mol. Membr. Biol.*, 18: 3-11, (2001).

NAVEH, Y.; BENTUR, L, and DIAMOND, E. "Site of zinc absorption in dog small intestine". *J. Nutr.*, 118:61-64, (1988).

NAVEH, Y. LEE-AMBROSE, L.M.; SAMUELSON, D.A. and COUSINS, R.J. "Malabsorption of zinc in rats with acetic-induced enteritis and colitis" *J. Nutr.*, 123: 1389-1395, (1993).

NEED, A.G.; KEMP, A.; GILES, N.; MORRIS, H.A.; HOROWITZ, M. and NORDIN, B.E. "Relationships between intestinal calcium absorption, serum vitamin D metabolites and smoking in postmenopausal women". *Osteopor. Internat.* 13:83-88, (2002).



NISSENSON, A.R.; BERNS; J.S.; SAKIEWICZ, P.; GHADDAR, S.; MOORE, G.M.; SCHLEICHER, R.B. and SELIGMAN, P.A. "Clinical evaluation of heme iron polypeptide: sustaining a response to rHuEPO in hemodialysis patients". *Am. J. Kidney Dis.*, 42:325-330, (2003).

OATES, P.S. and MORGAN, E.H. "Ferritin gene expresión and transferrin receptor activity in intestine of rats with varying iron stores". *Am. J. Physiol.*, 273: G636-G646, (1997).

O'CONNOR, D.L. "Folate in goat milk products with reference to other vitamins and minerals: a review". *Small Rumin. Res.* 14: 143-149, (1994).

O'DELL, B.L. "Mineral interactions relevant to nutrient requeriments". *J. Nutr.*, 119: 1832-1838, (1989).

ODLE, J. "New insights into the utilization of medium-chain triglycerides by the neonate: observations from a piglet model". *J. Nutr.*, 127: 1061-1067, (1997).

OESTREICHER, P. and COUSINS, R.J. "Influence of intraluminal constituents on zinc absorption by isolated, vascularly perfused rat intestine". *J.Nutr.*, 112: 1978-1982, (1982).

OMAYE, S.T.; POTTER, B.D. and POOVAIAH, B.P. "Alteration of guinea pig erythrocytes superoxide dismutase activity by dietary antioxidants". *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 56: 161-164, (1986).

PAIMITER, R.D. "Regulation of metallothionein genes by heavy metals appears to be mediated by a zinc-sensitive inhibitor that interacts with a constitutively active transcription factor, MTF-1". Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 91: 1219-1223, (1994).

PALLARÉS, I., CAMPOS, M.S.; LÓPEZ ALIAGA, I.; BARRIONUEVO, M.; RODRIGUEZ-MATAS, M.C.; GÓMEZ-AYALA, A.E.; ALFÉREZ, M.J.M.; HARTITI, S. and LISBONA, F. "Supplementation of a cereal-based diet with heme-iron: Interactions between iron and calcium, phosphorus and magnesium in rats ". J. Agric. Food Chem., 44: 1816-1820, (1996).

PALMER, G.; ZAO, J.; BONJOUR, J.; HOFSTETTER, W. and CAVERZASIO, J. "In vivo expression of transcripts encoding the Glvr-1 phosphate transporter/retrovirus receptor during bone development". Bone, 24:1-7, (1999).

PAPANIKOLAU, G. and PANTOPOULOS, K. "Iron metabolism and toxicity". Toxicol. Appl. Pharmacol. 202:199-211, (2004).

PAPAS, A. "Diet and antioxidants". In: Antioxidants status, diet, nutrition and health. Ed. PAPAS, A. CRC Press, (1999).

PARFITT, A.M. "Osteomalacia and related disorders". In: Metabolic bone disease and clinically related disorders. Eds. AVIOLI, L.V. and KRANE, S.M. 3<sup>th</sup> ed. WB Academic Press Saunders. New York, pp. 327-386, (1998).

PARK, Y.W. "Relative buffering capacity of goat and cow milk, soybased infant formulas and commercial non rescription antacid drug". *J. Dairy Sci.*, 7: 3326-3333, (1991).

PARK, Y.W.; MAHONEY, A.W. and HENDRICKS, D.G. "Bioavailability of iron in goat milk compared with cow milk fed anemic rats" *J. Dairy Sci.*, 69: 2608-2615, (1986).

PARKASH, S. and JENNESS, R. "The composition and characteristics of goat milk" A review, *Dairy Sci. Abstr.*, 20: 67-87, (1968).

PARKKILA, S.; WAHEED, A.; BRITTON, R.S.; BACON, B.R.; ZHOU, X.Y.; TOMATSU, S.; FLEMING, R.E. and SLY, W.S. "Immunohistochemistry of HLA-H, the protein defective in patients with hereditary hemochromatosis, reveals unique pattern of expression in gastrointestinal tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 94: 2534-2539, (1997a).

PARKKILA, S.; WAHEED, A.; BRITTON, R.S.; BACON, B.R.; ZHOU, X.Y.; TOMATSU, S.; FLEMING, R.E. and SLY, W.S. "Association of the transferrin receptor in human placenta with HFE, the protein defective in patients with hereditary hemochromatosis". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 94:13198-13202, (1997b).

PATTANAUNGKUL, S.; RIGGS, B.L.; YERGEY, A.L.; VIERA, N.E.; O'FALLON, W.M. and KHOSLA, S. "Relationship of intestinal calcium

absorption to 1,25-dihydroxivitamin D in young versus erderly women: evidence for age related intestinal resistance to 1,25(OH)<sub>2</sub>D action". J. Clin. Endocrinol. Metab., 85: 4023-4027, (2000).

PATTERSON, A.J. "Dietary treatment of iron deficiency in women of child-bearing age". Am. J. Clin. Nutr., 74: 650-656, (2001).

PATWARDHAN, D.N.; PAHUJA, D.N. and SAMUEL, A.M. "Calcium bioavailability: an *in vivo* assessment". Nutr. Res., 21:667-675, (2001).

PENN, D.; DOLDERER, M. and SCHMIDT- SOMMERFELD, E. "Carnitine concentrations in the milk of different species and infant formulas" Biol. Neonate, 52: 70-79, (1987).

PERCIVAL, S.S. and HARRIS, E.D. "Copper transport from ceruloplasmin: characterization of the cellular uptake mechanism" Am. J. Physiol., 258: C140-C146, (1990).

PIETRANGELO, A. "Physiology of iron transport and the hemochromatosis gene". Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 282: 403-414, (2002).

PLOSZAJ, T.; RYNIEWCZ, Z.; MOTYL, T. "Polyamines in goat's colostrum and milk". Comp. Biochem. Physiol. 118B: 45-52, (1997).

POTTER B.J.; MCHUGH, T.A. and BELOQUI, O. "Iron uptake from transferrin and asialotransferrin by hepatocytes from chronically alcohol-fed rats. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 16: 810-815, (1992).

POWELL, S.R.; HALL, D.M. and AIUTO, L. "Zinc improves postischemic recovery of isolated rat hearts through inhibition of oxidative stress" *Am. J. Physiol.*, 266: H2497-H2507, (1994).

PRASAD, K. "Discovery of human zinc deficiency and studies in a experimental human model" *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 403-412, (1991).

QUARLES, L.D. "Evidence for a bone-kidney axis regulating phosphate homeostasis". *J Clin. Invest.*, 112: 642-646, (2003).

QUESADA GÓMEZ, J. "Deficiencia de vitamina D" En: *Osteoporosis. Prevención y tratamiento.* Eds. ROU, C. y VELLAS, B. Glosa ediciones. Barcelona, pp. 47-64, (2000).

QUESADA, J.M. y LUQUE, F. "Funciones óseas y extraóseas del sistema endocrino de la vitamina D". En: *Hipovitaminosis D en España.* Eds. RAPADO ERRATZI, A. y DÍAZ CURIEL, M. Fondo editorial FHOEMO. Madrid, pp. 15-27, (2000).

QUILES, A.; GONZALO, C.; BARCINA, Y.; FUENTES, F. and HEVIA, M. "Protein quality of spanish murciano-granadina goat milk during lactation". *Small Rumin. Res.*, 14: 67-72, (1994).

RAFFIN, S.B.; WOO, C.H.; ROOST, K.T.; PRICE, D.C. and SCHMID, R. "Intestinal absorption of haemoglobin iron-heme cleavage by mucosal heme oxygenase". *J. Clin. Invest.*, 54:1344-1352, (1974).

RAYSSIGUIER, Y.; GUEUX, E.; BUSSIÈRE, L.; DURLACH, J. and MAZUR, A. "Dietary magnesium affects susceptibility of lipoproteins and tissues to peroxidation in rats" *J. Am. Coll. Nutr.*, 12: 133-137, (1993).

REDDY, M.B. and COOK, J.D. "Effect of calcium intake on nonheme iron absorption from a complete diet". *Am. J. Clin. Nutr.*, 65:1820-1825, (1997).

REEVES, P.; NIELSEN, F. and FAHEY, G. "AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet". *J. Nutr.*, 123:1939-1951, (1993).

REISER, S.; SMITH, J.C.; MERTZ, W.; HOLBROOK, J.T.; SCHOLFIED, D.L.; POWELL, A.S.; CANFIELD, N.K. and CANARY, J.J. "Indices of copper status in humans consuming a typical American diet containing either fructose or starch" *Am. J. Clin. Nutr.*, 42: 242-251, (1985).

REINSTEIN, N.H.; LÖNNERDAL, B.; KEEN, C.L. and HURLEY, L.S. "Zinc-copper interactions in the pregnant rat: fetal outcome and maternal and fetal zinc, copper and iron". *J. Nutr.*, 114: 1266-1279, (1984).

RICHARDS, M.P. and COUSINS, R.J. "Isolation of an intestinal metallothionein induced by parenteral zinc" *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 75: 286-294, (1977).

RITCHIE, G; KERSTAN, D.; DAI, L.J.; KANG, H.S.; CANAFF, L.; HENDY, G.N. and QUAMME, G.A. "1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> stimulates Mg<sup>2+</sup> uptake into MDCT cells: modulation by extracellular Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup>". *Am. J. Physiol. (Renal Physiol.)*, 280: F868-F878, (2001).

ROCKWAY, S.W.; BRANNON, P.M. and WEBER, C.W. "Bioavailability of copper bound to dietary fiber in mice and rats" *J. Food Sci.*, 52: 1423-1427, (1987).

ROMANI, A.; MARFELLA, C. and SCARPA, A. "Cell magnesium transport and homeostasis: role of intracellular compartments". *Min. Electrolyte Metab.*, 19: 282-289, (1993).

ROSEMBLUM, C.I. and LEACH, R.M. "Biology copper excretion in the chicken" *Biol. Trace Elem. Res.*, 8: 47-73, (1985).

ROTHENBERG, B.E. and VOLAND, J.R. "β<sub>2</sub> knockout mice develop parenchymal iron overload : a putative role for class I genes of the major histocompatibility complex in iron metabolism". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 93:1529-1534, (1996).

RUDE, R.K. "Magnesium". In: *Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition*. Ed. STIPANUK, M.H. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 671-685, (2000).

SABATIER, M.; ARNAUD, M.J.; KASTENMAYER, P.; RYTZ, A. and BARCLAY, D.W. "Meal effect on magnesium bioavailability from mineral water in healthy women". *Am. J. Clin. Nutr.*, 75: 65-71, (2002).

SALONEN, J.T.; SALONEN, R.; KORPELA, H.; SUNTOINEN, S. and TUOMILEOHO, J. "Serum copper on the risk of acute myocardial infarction: a prospective population study in men in eastern Finland" *Am. J. Epidemiol.*, 134: 268-276, (1991a).

SALONEN, J.T.; SALONEN, R.; SEPPAREN, K.; KANTOLA, M.; SUNTOINEN, S. and KORPELA, H. "Interaction of serum copper-selenium and low density lipoprotein cholesterol in atherogenesis" *Br. J. Med.*, 302: 756-760, (1991b).

SÁNCHEZ, M. "Especies menores para pequeños productores: cabras lecheras", En: *Memoria de la XIX Reunión Nacional sobre Caprinocultura*. Acapulco Gro. (2004).

SANDOR, A.; PECSUVAC, K.; KERNER, J. and ALKONYI, I. "On carnitine content of the human breast milk" *Pediatric Res.*, 16: 89-91, (1982).



SANDSTEAD, H.H. "Zinc nutrition in the United States" *Am. J. Clin. Nutr.*, 26: 1251-1260, (1973).

SANTOS, M.; SCHILHAM, M.W.; RADEMAKERS, L.H.; MARX, J.J.; DE SOUSA, M. and CLEVERS, H. "Defective iron homeostasis in beta2-microglobulin knockout mice recapitulates hereditary hemochromatosis in man". *J. Exp. Med.*, 184:1975-1985, (1996).

SANZ SAMPELAYO, M.R.; MARTÍN, A.J.; PÉREZ, L.; GIL EXTREMERA, F. and BOZA, J. "Dietary supplements for lactating goats by polyunsaturated fatty acid-rich protected fat. Effects after supplement withdrawal". *J. Dairy Sci.*, 87:1796-1802, (2004).

SARABIA, M.I.; ZUBILLAGA, M.; SALGUEIRO, J.; LYSIONEK, A.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; ETTLIN, E.; CARO, R.; WEILL, R. and BOCCIO, J. "Bioavailability, biodistribution and toxicity of bioical, a new calcium source. Comparative studies in rats". *Nutr. Res.*, 19:1223-1231, (1999).

SARKAR, B.C.R. and CHAUHAN, U. P.S. "A new method for determining microquantities of calcium in biological materials". *Anal. Biochem.* 20: 155-166, (1967).

SASS-KORTSAK, A. and BEARN, A.G. "Hereditary diseases of copper metabolism: Wilson's disease (hepatolenticular degeneration) and Menke's

disease (kinky-hair or steely-hair syndrome). In: The metabolic basis of inherited disease. 4<sup>th</sup> ed. Eds: STANBURY, J.B.; WYNGAADEN, J.B. and FREDERICKSON, D.S. McGraw-Hill, New York, pp.1098-1126, (1978).

SCANLON, K.S and YIP, R. "Nutritional anemias". In: Nutritional Concerns of Women. Eds. WOLINSKY, I. and KLIMIS-TRAVANTZIS, D. CRC Press. Boca Ratón, F.L. 5, pp.61-88, (1996).

SCHANLER, R.J. and ABRAMS, S.A. "Postnatal attainment of intrauterine macromineral accretion rates in low birth weight infants fed fortified human milk". J. Pediatr. 113: 441-447, (1995).

SCHIAVI, S.C. and KUMAR, R. "The phosphatonin pathway: new insights in phosphate homeostasis". Kidney Internat., 65: 1-14, (2004).

SCHWARZ, G. and PALLAUF, J. "Influence of dietary zinc deficiency on the activity of various zinc metalloenzymes in growing rabbits" J. An. Physiol. An. Nutr, 61: 129-138, (1989).

SCHWEIGEL, M.; LANG, I. and MARTENS, H. " $Mg^{2+}$  transport in sheep rumen epithelium: evidence for an electro diffusive transport". Am. J. Physiol. (Gastrointest. Liver Physiol.) 277: G976-G982, (1999).

SCHWEIGEL, M. and MARTENS, H. "Magnesium transport in the gastrointestinal tract". Front. Biosci. 5: 666-677, (2000).

SCOTT, K. C. and TURNLUND, J.R. "Compartment model of copper metabolism in adult men". *J. Nutr. Biochem.*, 5: 342-350, (1994).

SEAL, C.J. and HEATON, F.W. "Chemical factors affecting the intestinal absorption of zinc in vitro and in vivo" *Br. J. Nutr.*, 50: 317-324, (1983).

SHARP, P.; TANDY, S.; YAMAJI, S.; TENNANT, J.; WILLIAMS; M. and SINGH SRAI, S.K. "Rapid regulation of divalent metal transporter (DMT1) protein, but not mRNA expression by non-haem iron in human intestinal Caco-2 cells". *FEBS Lett.*, 510: 71-76, (2002).

SHEN, X.; WEAVER, C.M.; MARTIN, B.R. and HEANY, R.P. "Lignin effect on calcium absorption in rats". *J. Food Sci.*, 63:165-167, (1998).

SHILS, M.E. "Magnesium". In: *Modern nutrition in health and diseases*, 8<sup>th</sup> edition. Eds. SHILS, M.E., OLSON, J.A. and SHIKE, M. Lea and Febiger, Philadelphia, pp.164-184, (1994).

SHILS, M.E. "Magnesium". In: *Nutrition in Health and Disease*. Eds. SHILS, M.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. and ROSS, A.C., 9<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams and Wilkins, pp.169-192, (1999).

SHIMIZU, T.; MORISHIMA, S. and OKADA, Y. "Ca<sup>2+</sup> sensing receptor-mediated regulation of volume-sensitive Cl-channels in human epithelial cells". *J. Physiol.*, 528: 457-472, (2000).

SIE, T.L.; DRAPER, H.H. and BELL, R.R. "Hypocalcemia, hyperparathyroidism and bone resorption in rats induced by dietary phosphate". *J. Nutr.*, 104: 1195-1201, (1974).

SMITH, K.T, and COUSINS, R.J. "Quantitative aspects of zinc absorption by isolated, vascularly perfused rat intestine". *J. Nutr.*, 110: 316-323, (1980).

SOLOMONS, N.W. "Competitive interaction of iron and zinc in the diet: consequences for human nutrition". *J. Nutr.*, 116: 927-935, (1986).

SOLOMONS, N.W. "Zinc and copper". In: *Modern nutrition in health and disease*. Eds. SHILS, M.E. and YOUNG, V.R. 7<sup>th</sup> ed., pp. 238-262, (1988).

SOLOMONS, N.W.; PINEDA, O.; VITERI, F. and SANDSTEAD, H.H. "Studies of the bioavailability of zinc in human: mechanism of the intestinal interaction of nonheme iron and zinc" *J. Nutr.*, 113: 337-349, (1983).

SOLOMONS, N.W. and COUSINS R.J. "Zinc". In: *Absorption and metabolism of mineral nutrients*. Eds., SOLOMONS, N.W. and ROSENBERG, L.H., New York: Liss, pp. 125-197 (1984).

SOLOMONS, N.W. and JACOB, R.A. "Studies of the bioavailability of zinc in humans: effects of heme and nonheme iron on the absorption of zinc". *Am. J. Clin. Nutr.*, 34: 475-482, (1981).

SONG, M.K. and ADHAMS, N.F. "Evidence for an important role of prostaglandins E<sub>2</sub> and F<sub>2</sub> in the regulation of zinc transport in the rat". *J. Nutr.*, 109: 2152-2159, (1979).

SONG, M.K.; LEE, D.B.N. and ADHAM, N.F. "Influence of prostaglandins on unidirectional zinc fluxes across the small intestine of the rat". *Br. J. Nutr.*, 59: 417-428, (1988).

SOUCI, S.W.; FACHMMAN, W. and KRAUT, H. "Food composition and nutrition tables 1989/1990". Eds. Deutsche Forschungsaustalt für Lebensmittelchemie, Garching B., 4<sup>th</sup> ed. München, Germany, (1989).

SPENCER, H.; NORRIS, C.; WILLIAMS, D. "Inhibitory effects of zinc on magnesium balance and magnesium absorption in man". *J. Am. Coll. Nutr.* 13: 479-484, (1994).

STACEY, N.H. and KLAASEN, C.D. "Zinc uptake by isolated rat hepatocytes" *Biochim. Biophys. Acta*, 640: 693-697, (1981).

STEEL, L. and COUSINS, R.J. "Kinetics of zinc absorption by lumenally and vascularly perfused rat intestine". *Am. J. Physiol.*, 248: G46-G53, (1985).

STEJSKAL, D.; BARTEK, J.; PASTORKOVA, R.; RUZICKA, V.; ORAL, I. and HORALIK, D. "Osteoprotegerin, RANK and RANKL". Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub., 145: 61-64, (2001).

STEPHENSON, L.S.; LATHAN, M.C. and OTTESEN, E.A. "Global malnutrition". Parasitology. 121: S5-S22, (2000).

STIPANUK, M.H. "Biochemical and Physiological aspects of human nutrition". PA: W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 656, (2000).

ST-ONGE, M.P. and JONES, P. "Physiological effects of medium chain triglycerides: potential agents in the prevention of obesity". J. Nutr. 132:329-332, (2002).

STOPLER, T. and HERBERT, V. "Nutrition E.T.C. for the millennium". Plainview, NY, Nutrition ETC. (1999).

STRAIN, J. J. "Newer aspects of micronutrients in chronic disease: copper". Proc. Nutr. Soc., 53: 583- 598, (1994).

STUART, M. A. and JOHNSON, P. E. "Intrinsic labelling of confinement-reared goslings with  $^{65}\text{Cu}$  for use in human absorption studies". Nutr. Res., 6: 203-213, (1987).

SULKERS, E.J.; LAFEVER, H.N.; DEGENHART, H.J.; LINDEMANS, J. and SAVER, P.J. "Comparison of two preterm formulas with or without addition of medium-chain triglycerides II: Effects on mineral balance". *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 15: 42-47, (1992).

SULLIVAN, L.W.; LUHBY, L.A. and STREIFF, L.W. "Studies on the daily requirement for folic acid in infants and the etiology of folate deficiency in goat's milk megaloblastic anemia". *Am. J. Clin. Nutr.*, 18: 311, (1966).

SUSO, F.A. and EDWARDS, H.M. "Ethyldiaminotetracetic acid and <sup>65</sup>Zn binding by intestinal digesta, intestinal mucosa and blood plasma". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 138: 157-162, (1971).

SUSO, F.A. and EDWARDS, H.M. "Binding EDTA, histidine and acetylsalicylic acid to zinc-protein complex in intestinal content mucosa and blood plasma". *Nature*, 236: 230-232, (1972).

SWAIN, J.H.; TABATABAI, L.B and REDDY, M.B. "Histidine content of low molecular weight beef proteins influences non-heme iron bioavailability in Caco-2 cells". *J. Nutr.*, 135: 245-251, (2002).

SWAISGOOD, H.E. "Características de los fluidos líquidos de origen animal: leche". En: *Química de los Alimentos*. Ed. FONNEMA, O.R. Acribia, pp. 889-930, (1992).

TACNET, F.; LAUTHIER, F. and RIPOCHE, P. "Mechanism of zinc transport into pig small intestine brush-border membrane vesicles". *J. Physiol.*, 465: 57-72, (1993).

TANDY, S.; WILLIAMS, M.; LEGGET, A.; LOPEZ-JIMENEZ, M.; DEDES, M.; RAMESH, B.; SRAI, S.K. and SAHRP, P. "Nramp2 expression is associated with pH-dependent iron uptake across the apical membrane of human intestinal Caco-2 cells". *J. Biol. Chem.*, 275:1023-1029, (2000).

TANZI, R.E.; PETRUKHIN, K. and CHERNOV, I. "The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene". *Nature Genet.*, 5: 344- 348, (1993).

TAPPENDEN, K.A.; THOMSON, A.B.; WILD, G.E.; Mc BURNEY, M.I. "Short-chain fatty acid-supplemented total parenteral nutrition enhances functional adaptation to intestinal resection in rats". *Gastroenterology*, 112: 792-802, (1997).

TASMAN-JONES, C.; KAY, R.G. and LEE, S.P. "Zinc and copper deficiency with particular reference to parenteral nutrition". *Surg. Ann.*, 10: 23-52, (1978).

TAVASSOLI, M.; KISHIMOTO, T. and KATAOKA, M. "Liver endothelium mediates the hepatocytes uptake of ceruloplasmin". *J. Cell Biol.*, 102: 1298-1303, (1986).



TENENHOUSE, H.S.; ROY, S.; MARTEL, J. and GAUTHIER, C. "Differential expression, abundance and regulation of Na<sup>+</sup>-Phosphate cotransporter genes in murine kidney". *Am. J. Physiol.*, 275: F527-534, (1998).

TENEHOUSE, H.S. "Regulation of phosphorus homeostasis by the Type IIa Na/phosphate cotransporter". *Ann. Rev. Nutr.*, 25: 197-214, (2005).

TENENHOUSE, H.S.; ROY, S.; MARTEL, J. and GAUTHIER, C. "Differential expression, abundance and regulation of Na<sup>+</sup>-Phosphate cotransporter genes in murine kidney". *Am. J. Physiol.*, 275: F527-F534, (1998).

TENEHOUSE, H.S. "Regulation of phosphorus homeostasis by the Type IIa Na/phosphate cotransporter". *Ann. Rev. Nutr.*, 25: 197-214, (2005).

THYS-JACOBS, S.; STARKEY, P.; BERNSTEIN, D. and TIAN, J. "Calcium carbonate and the premenstrual syndrome: Effects on premenstrual and menstrual symptoms. Premenstrual Syndrome Study Group". *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 179: 444-452, (1998).

THOMAS, K. and MITCHELL, H.H. "A method of determining the biological value of protein". *J. Biol. Chem.*, 58: 873-903, (1923).

THOMPSON, R.P.H. "Assessment of zinc status" *Proc. Nutr. Soc.*, 50: 19-28, (1991).

TRINDER, D; FOX, C.; VAUTIER, G. and OLYNIK, J.K. "Molecular pathogenesis of iron overload". *Gut*, 51: 290-295, (2002).

TSAI, M.T.; DINCH, C.T. and LINDER, M.C. "Interactions of transcuprein and albumin in copper transport" *FASEB J.*, 6: 922-926, (1992).

TURNLUND, J.R.; SWANSON, C.A. and KING, J.C. "Copper absorption and retention in pregnant women fed diets based on animal and plant proteins". *J. Nutr.*, 113: 2346-2352, (1983).

TURNLUND J.R.; KING, J.C. GONG, B.; KEYES, W.R. and MICHEL, M.C. "A stable isotope study of copper absorption in young men: effect of phytate and cellulose" *Am. J. Clin. Nutr.*, 42: 870-878, (1985).

TURNLUND, J.R.; WADA, L.; KING, J.C.; KEYS, W.R. and ACORD, L.L. "Copper absorption in young men fed adequate and low zinc diets". *Biol. Trace Elem. Res.*, 17: 31-41, (1988).

TURNLUND, J.R.; KEYS, W.R.; ENDERSON, H.L. and ACORD, L.L. "Copper absorption and retention in young men at three levels of dietary copper using the stable isotope  $^{65}\text{Cu}$ " *Am. J. Clin. Nutr.*, 49: 870-878, (1989).

UAUY, R.; CASTILLO-DURAN, C.; FISBERG, M.; FERNANDEZ, N. and VALENZUELA, A. "Red cell superoxide dismutase activity as index of human copper nutrition" *J. Nutr.*, 115: 1650-1655, (1985).

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. "Continuing survey of food intakes of individuals: diet and knowledge survey". U.S. Department of Commerce; National Technical Information Service, 1994.

UTERMOHLEN, V. "Diet, nutrition and drug interactions". In: *Modern nutrition in health and disease*. Eds. SILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. and ROSS, A.C. 9<sup>th</sup> ed., Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, pp. 1619-1641, (2000).

UZEL, C. and CONRAD, M.E. "Absorption of heme iron". *Semin. Hematol.*, 35: 27-34, (1998).

VALBERG, L.S.; FLANAGAN, P.R. and CHAMBERLAIN, M.J. "Effects of iron, tin and copper on zinc absorption in humans". *Am. J. Clin. Nutr.*, 40: 536-541, (1984).

VALLEE, B.L.; COLEMAN, J.E. and AULD, D.S. "Zinc fingers, zinc clusters and zinc twists in DNA-binding protein domains". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88: 999-1003, (1991).

VAN BERGE HENEGOUWEN, G.P.; TANGEDAHL, T.N.; HOFMANN, A.F.; NORTHFIELD, T.C.; LARUSSO, N.F. and McCALL, J.T. "Biliary secretion of copper in healthy man. Quantitation by an intestinal perfusion technique". *Gastroenterology*, 72: 1228-1231, (1977).

VAN CAMPEN, D.R. "Copper interference with the intestinal absorption of  $^{65}\text{Zn}$  by the rat" *J. Nutr.*, 97:104-108, (1969).

VAN CAMPEN D. R. "Enhancement of iron absorption from ligated segments of rat intestine by histidine, cysteine and lysine. Effects of removing ionizing groups and of stereoisomerism". *J. Nutr.* 103:139-142, (1973).

VAN CAMPEN, D.R. and GROSS, E. "Influence of ascorbic acid on the absorption of copper in rats". *J. Nutr.*, 95: 617-622, (1968).

VAN DEN BERG, G.J.; VAN WOUSE, J.P. and BEYNEN, A.C. "Ascorbic acid supplementation and copper status in rats" *Biol. Trace Elem. Res.*, 23: 165- 172, (1990).

VARGAS, E.J.; SHOHO, A.R. and LINDER, M.C. "Copper transport in the Nagase analbuminemic rats". *Am. J. Physiol.*, 267: G259-G269, (1994).

VEGA LEÓN, S. "Innovaciones alimentarias del siglo XXI. El caso de los llamados alimentos y sustancias funcionales". En: *Las innovaciones tecnológicas en el futuro de los profesionales de las áreas de Biológicas*. Ed.

CORONADO, M. Universidad Autónoma Metropolitana y Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. pp. 285, (2003).

VULPE, C.D.; KUO, Y.M.; MURPHY, T.L.; COWLEY, L., ASKWITH, C.; LIBINA, N.; GITSCHIER, J. and ANDERSON, G.J. "Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse". *Nature Genetics*, 21:195-199, (1999).

WAHEED, A.; PARKKILA, S.; X.Y.; TOMATSU, S.; TSUCHIHASHI, Z.; FEDER, J.N.; SCHATZMAN, R.C.; BRITTON, R.S.; BACON, B.R. and SLY, W.S. "Hereditary hemochromatosis: effects on C282Y and H63D mutations on association with  $\beta_2$ -microglobulin intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 94: 12384-12389, (1997).

WAHEED, A.; PARKKILA, S.; SAARNIO, J.; FLEMING, R.E.; ZHOU, X.Y.; TOMATSU, S.; BRITTON, R.S.; BACON, B.R. and SLY, W.S. "Association of HFE protein with transferrin receptor in crypt enterocytes of human duodenum". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 99: 3117-3122, (2002).

WAHEED, A.; GRUBB, J.H.; ZHOU, X.Y.; TOMATSU, S.; FLEMING, R.E.; COSTALDI, M.E.; BRITTON, R.S.; BACON, B.R. and SLY, W.S. "Regulation of transferrin-mediated iron uptake by HFE, the protein defective

in hereditary hemochromatosis". Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 96:1579-1584, (1999).

WALTER, A.R. and SEGAL, I. "Iron overload in sub-Saharan Africa: to what extent is it a public health problem?". Br. J. Nutr., 81: 427-434, (1999).

WALTER, H.; HERTLING, I.; BENDA, N.; KONIG, B.; RAMSKOGLER, RIEGLER, A.; SEMLER, B.; ZOGHLAMI, A. and LESCH, O.M. "Sensitivity and specificity of carbohydrate-deficient transferrin in drinking experiments and different patients". Alcohol, 25:189-194, (2001).

WAPNIR, R.A.; KHANI, D.E.; BAYNE, M.A. and LIFSHITZ, F. "Absorption of zinc by the rat ileum: effects of histidine and other low-molecular-weight ligands" J. Nutr., 113: 1346-1354, (1983).

WAPNIR, R.A. "Protein digestion and absorption of mineral elements" In: Mineral absorption in the monogastric. Gastrointestinal tract: Chemical, Nutritional and Physiological Aspects. Eds. DINTZIS, F.R. and LASZLO, J.A. New York, Plenum Press, pp. 151, (1989).

WAPNIR, R.A. "Copper absorption and bioavailability" Am. J. Clin. Nutr. , 67: 1054-1060, (1998).

WAPNIR, R.A. "Calcium, magnesium and phosphorus absorption, nutritional status and effect of protein". In: Protein nutrition and mineral

absorption. Ed. WAPNIR, R.A., 8<sup>th</sup> ed., Boca-Raton, FL, CRC Press, Inc., pp. 77-97 (1990).

WASTNEY, M.E.; AAMODT, R.L.; RUMBLE, W.F. and HENKIN, R.I. "Kinetic analysis of zinc metabolism and its regulation in normal human". *Am. J. Physiol.*, 251: 398-408, (1986).

WEAVER, C.M. "Calcium". In: *Present Knowledge in nutrition*. Eds. BOWMAN, B. A. and RUSSELL, R.M. 8<sup>th</sup> ed. Washington D.C. International Life Sciences Institute, pp.273-280 (2001).

WEAVER, C.M. and HEANEY, R.P. "Calcium". In: *Nutrition in Health and Disease*. Eds. SHILS M.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. and ROSS, A.C., 9<sup>th</sup> ed. Baltimore., pp.141-155, (1999).

WEAVER, C.M. and HANEY, R.P. "Dairy consumption and bone health". *Am. J. Clin. Nutr.* 73:660-661, (2001).

WEAVER, C.M.; PROLUX, W.R. and HEANEY, R. "Choices for achieving adequate dietary calcium with a vegetarian diet". *Am. J. Clin. Nutr.*, 70: 543S-548S, (1999).

WEIGAND, G. and KIRCHGESSNER, M. "Total true efficiency of zinc utilization determination and homeostatic dependence upon the zinc supply status in young rats" *J. Nutr.*, 110: 469-480, (1980).

WEBER, S.; SCHNEIDER, L.; PETERS, M.; MISSELWITZ, J.; RONNERFARTH, G.; BOSWALD, M.; BONZEI, K.E.; SEEMAN, T.; SULAKOVA, T.; KUWERTZ-BROKING, E.; GREGORIC, A.; PALCOUX, J.B.; TASIC, V.; MANZ, F.; SCHARER, K.; SEYBERTH, H.W. and KONRAD, M. "Novel paracellin-1 mutations in 25 families with familial hypomagnesemia with hypercalciuria and nephrocalcinosis". *J. Am. Soc. Nephrol.*, 12: 1872-1881, (2001).

WEISS, K.C.; LINDER, M.C. and LOS ALAMOS RADIOLOGICAL MEDICINE GROUP. "Copper transport in rats involving a new plasma protein" *Am. J. Physiol.*, 249: E77-E88, (1985).

WHITTAKER, P.; TUFARO, P.R. and RADER, J.I. "Iron and folate in fortified cereals". *J. Am. Coll. Nutr.*, 20:247-254, (2001).

WHITING, S.J.; ANDERSON, D.J. and WEEK, S.J. "Calciuric effects of protein, and potassium bicarbonate but not of sodium chloride or phosphate can be detected acutely in adult women and men". *Am. J. Clin. Nutr.*, 65: 1465-1472, (1997).

WIENK, K.J., MARX, J.J. and BEYNEN, A.C. "The concept of iron bioavailability and its assessment". *Eur. J. Nutr.*, 38:51-75, (1999).

WOLF, R.L.; CAULEY, J.A.; BAKER, C.E.; FERRELL, R.E.; CHARRON, M.; CAGGIULA, A.W.; SALAMONE, L.M.; HEANEY, R.P. and KULLER,



L.H. "Factors associated with calcium absorption efficiency in pre and perimenopausal women". *Am. J. Clin. Nutr.*, 72:466-471, (2000).

WORTINGTON, M.T.; COHN, S.M.; MILLER, S.K.; LUO, R.K. and BERG, C.L. "Characterization of human plasma membrane heme transporter in intestinal and hepatocyte cell lines". *Am. J. Physiol.*, 280: G1172-G1177, (2001).

WORWOOD, M. "Regulación del metabolismo del hierro". *An. Nestlé.* 53:1-11, (1995).

YAGLE, M.K. and PALMITER R.D. "Coordinate regulation of mouse metallothionein-II genes by heavy metal glucocorticoids" *Mol. Cell. Biol.*, 5: 291-294, (1985).

YAMAGUCHE, Y.; HEINY, M.E. and GITLIN, J.D. "Isolation and characterization of a human liver cDNA as a candidate gene for Wilson disease" *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 197: 271-277, (1993).

YANG, F.; WANG, X.; HAILE, D.J.; PIANTADOSI, C.A. and GHIO, A.J. "Iron increases expression of iron-export protein MTP1 in lung cells". *Am. J. Clin. Physiol.*, 283: L932-L939, (2002).

YATES, A.A. "Dietary reference intakes: the new basis for recommendations for calcium and related nutrients, B vitamins and choline". *J. Am. Diet Assoc.*, 98: 699, (1998).

YIP, R. "Significance of an abnormality low or high haemoglobin concentration during pregnancy. Special consideration of iron nutrition". *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 272S-279S, (2000).

YU, S.; WEST, C.E. and BEYNEN, A.C. "Increasing intakes of iron reduce status, absorption and biliary excretion of copper in rats". *Br. J. Nutr.*, 71: 887-895, (1994).

ZIEGLER, E.E. and FILER, L.I. "Conocimientos actuales sobre nutrición" 7<sup>th</sup> edition. Internacional Life Sciences Institute, Washington, D.C., (1997).

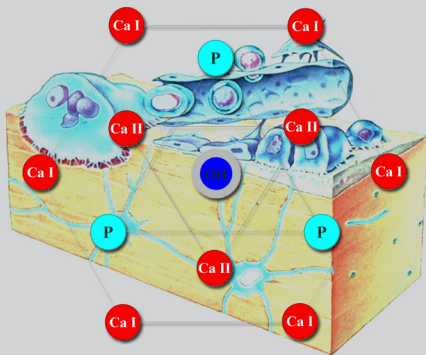
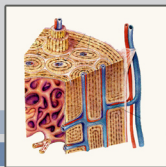
ZLOTKIN, S.H. "Interactions of nutrients on total parenteral nutrition: effect of uptake of histidin and cystein on urinary excretion" *J. Pediatr.* 11: 859-864, (1989).

ZLOTKIN, S.H. "Treatment of anemia with microencapsulated ferrous fumarate plus ascorbic acid supplied as sprinkles to complementary (weaning) foods". *Am. J. Clin. Nutr.* 74: 791-795, (2001).

ZLOTKIN, S.H. and BUCHANAN, B.E. "Amino acid intake and urinary zinc excretion in newborn infants receiving total parenteral nutrition". *Am. J. Clin. Nutr.*, 48: 330-334, (1988).

ZMUDA, J.M.; CAULEY, J.A. and FERRELL, R.E. "Vitamin D receptor Gene Variants and Osteoporosis". *Epidemiologic Reviews*, 22: 203-217, (2000).

ZOPPI, S.T.; BERRA, B. and ENNE, O. "Goat milk products in the diet therapy of arteriopathic patients and/or in geriatric age". *Rev. Ita. Sostanze Grasse*. 72: 67-71, (1995).



PATRICIA B. ROS SANCHEZ