

*DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA*

*FACULTAD DE FARMACIA*

*UNIVERSIDAD DE GRANADA*

*UTILIZACION NUTRITIVA Y DESTINO METABOLICO DE HIERRO, CINC Y  
COBRE EN RATAS. EFECTO DE LA RESECCION INTESTINAL Y DEL TIPO DE  
DIETA.*

*SANAE HARTITI*

*1993*



Biblioteca Universitaria de Granada



01534068



Prod. T 14/96

T  
14  
83

**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA**  
**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**UTILIZACION NUTRITIVA Y DESTINO METABOLICO DE HIERRO, CINC Y  
COBRE EN RATAS. EFECTO DE LA RESECCION INTESTINAL Y DEL TIPO DE  
DIETA.**

**SANAE HARTITI**  
**1993**

**BIBLIOTECA UNIVERSITARIA**  
**GRANADA**  
Nº Documento 61966669X  
Nº Copia 121217555

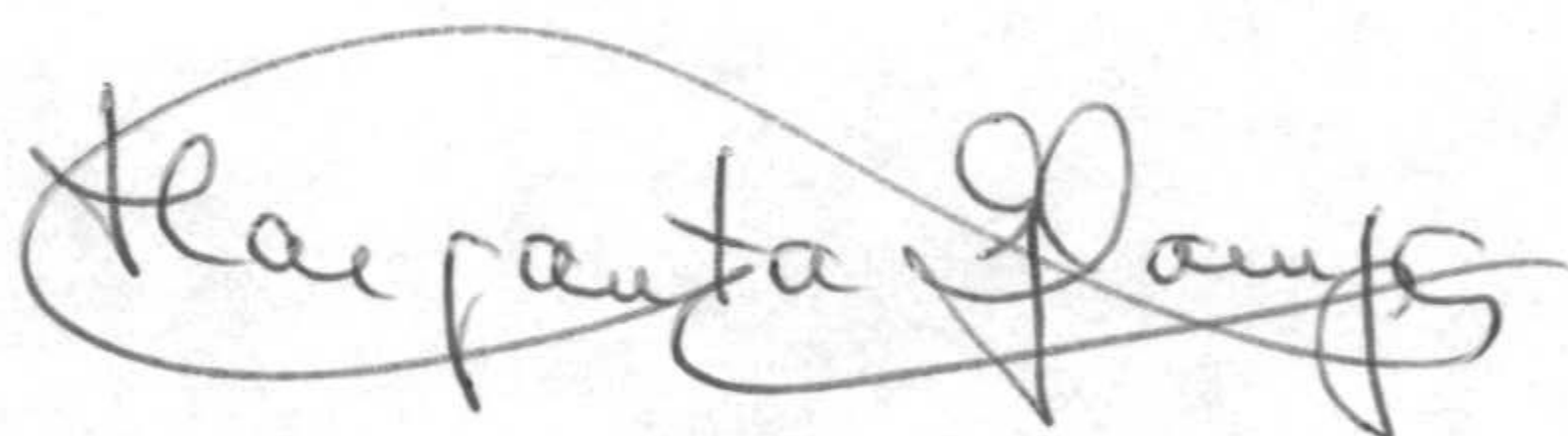
**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
**06 ABR. 1993**  
**COMISION DE DOCTORADO**



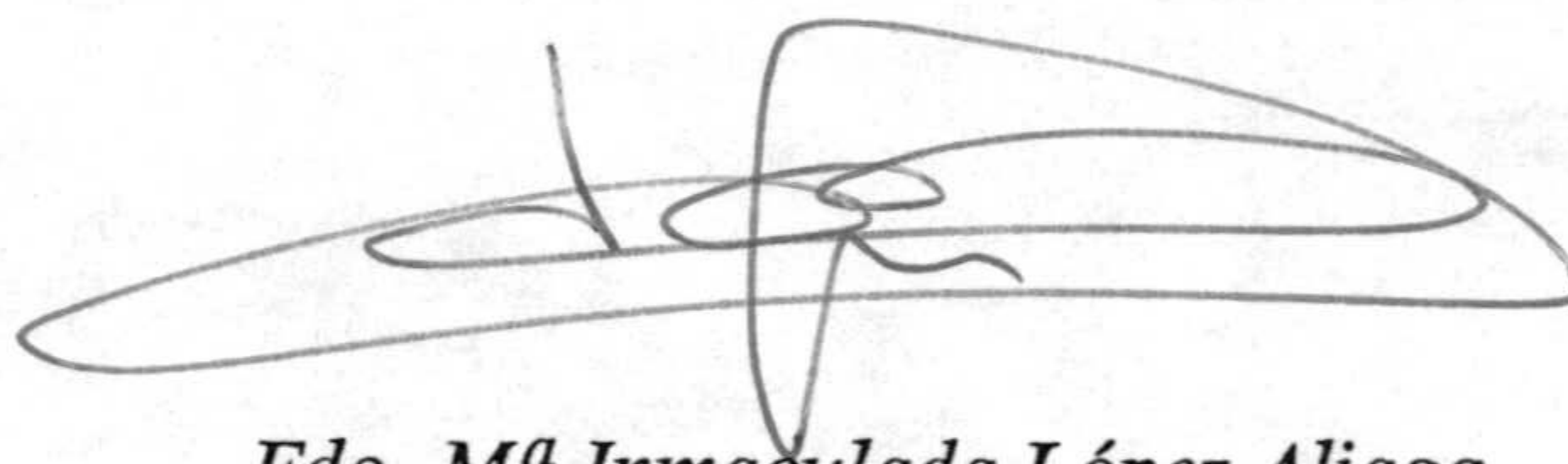
*D<sup>a</sup> MARGARITA SANCHEZ CAMPOS, D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> INMACULADA LOPEZ ALIAGA*

*Y D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> MERCEDES BARRIONUEVO DIAZ,*

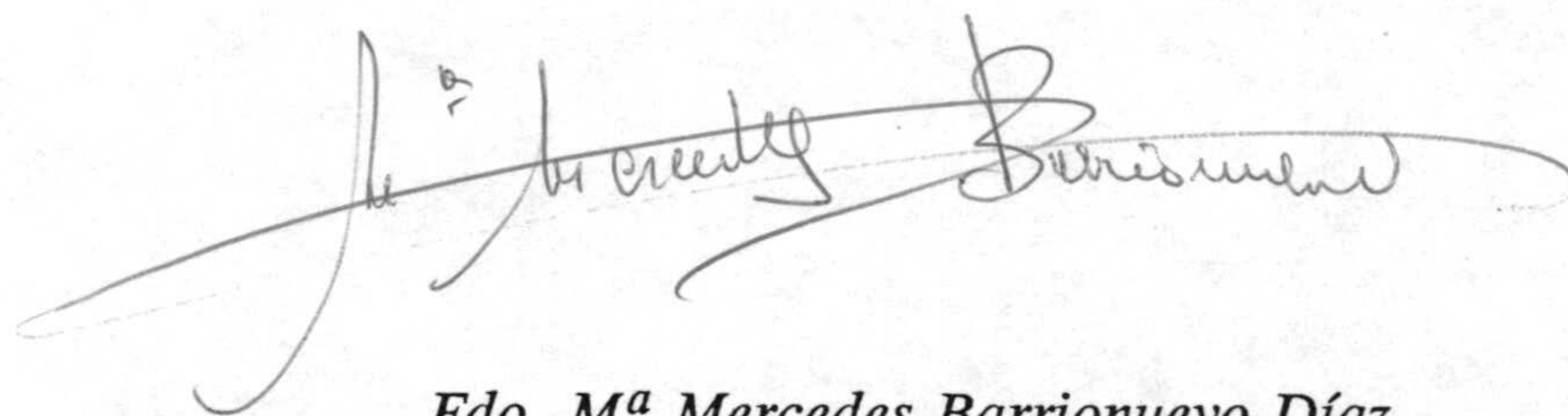
*Directores de la Memoria de Tesis Doctoral de título "Utilización nutritiva y destino metabólico de hierro, cinc y cobre en ratas. Efecto de la resección intestinal y del tipo de dieta", realizada por la Licenciada Sanae Hartiti, autorizan su presentación ante el Tribunal correspondiente y para que conste, firman la presente a 1 de abril de 1993.*



*Fdo. Margarita Sánchez Campos*



*Fdo. M<sup>a</sup> Inmaculada López Aliaga*



*Fdo. M<sup>a</sup> Mercedes Barrionuevo Díaz*

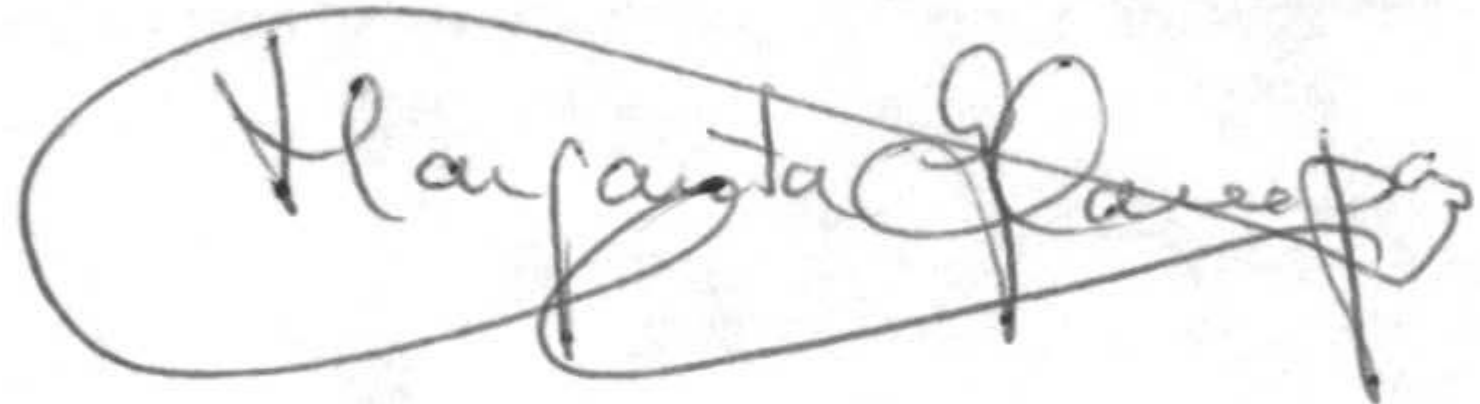


*MEMORIA QUE PRESENTA PARA ASPIRAR AL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS D<sup>a</sup> SANA E HARTITI.*

*ESTA TESIS HA SIDO REALIZADA BAJO LA DIRECCION DE:*

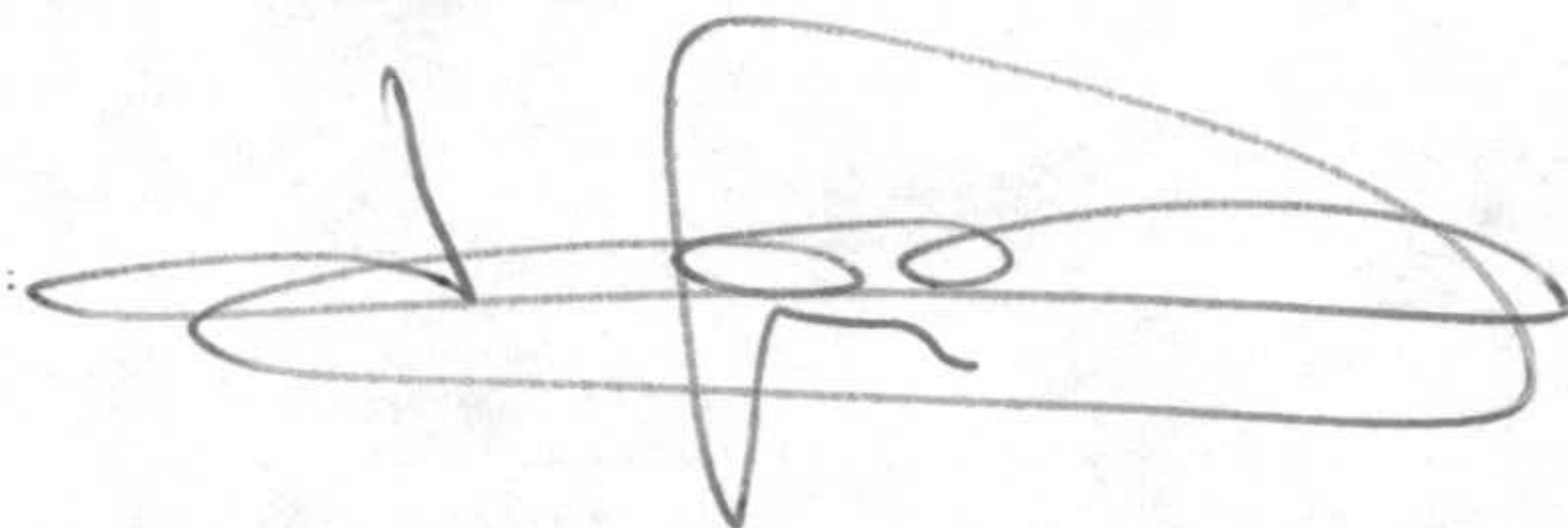
*Prof. Dra.*

*D<sup>a</sup> MARGARITA SÁNCHEZ CAMPOS*



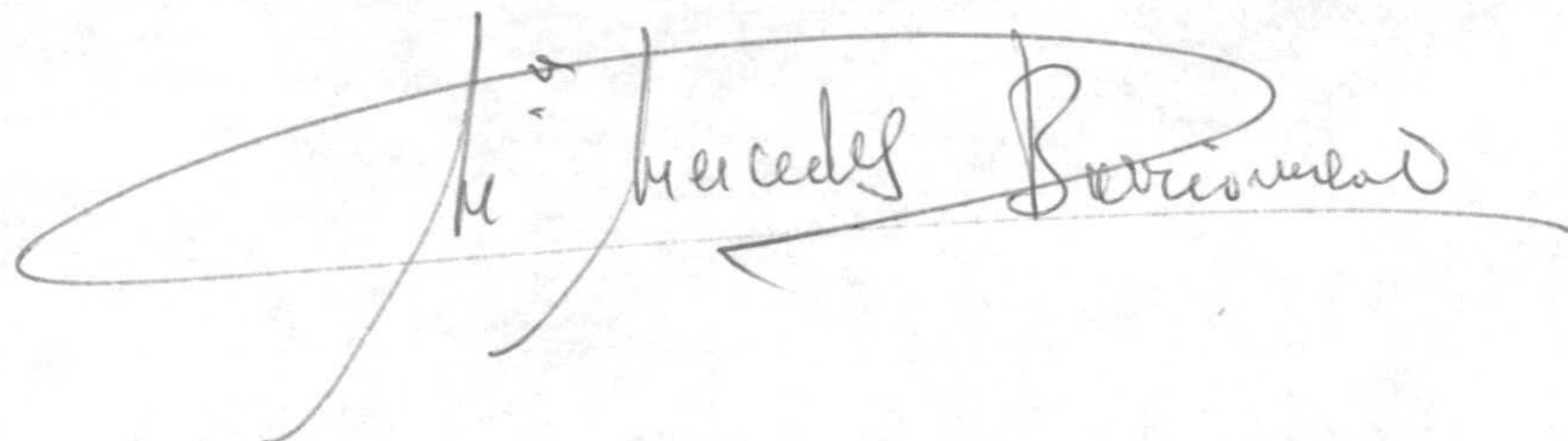
*Prof. Dra.*

*D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> INMACULADA LÓPEZ ALIAGA*



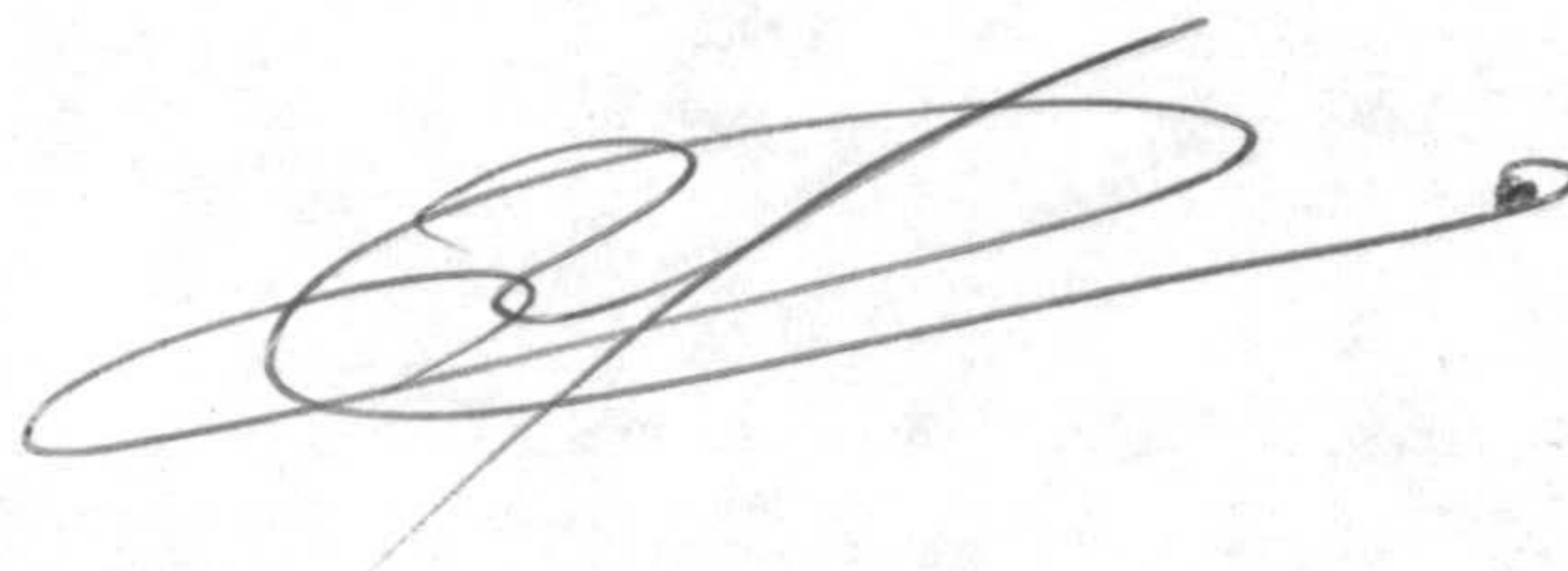
*Prof. Dra.*

*D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> MERCEDES BARRIONUEVO DÍAZ*



*Lda.*

*D<sup>a</sup> SANA E HARTITI*



*GRANADA, 1993*



A mis padres,  
a Rajae y a Moad



Deseo expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas las personas que han hecho posible el presente trabajo y de manera muy especial a mis directores:

A la Dra. D<sup>a</sup>. MARGARITA SANCHEZ CAMPOS, que me ha guiado en todo momento, por su confianza, su generosa dedicación y apoyo.

A la Dra. D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> INMACULADA LOPEZ ALIAGA, por su inestimable ayuda, en la cual encontré siempre cooperación y estímulo para seguir adelante.

A la Dra. D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> BARRIONUEVO DIAS, por sus valiosos consejos y afecto.

Al Dr. D. FRANCISCO LISBONA DELGADO, por ser un gran profesor y por su valiosa dedicación que me ha brindado en muchas ocasiones.

A ISABEL y ADELA por la gran ayuda que me han prestado con el ordenador y a M<sup>a</sup> JOSE por el compañerismo que me han manifestado.

A EMILIO y JESUS por su continua ayuda en el manejo de distintos programas informáticos.

A ROSI por sus continuos ofrecimientos de ayuda durante la parte experimental.

A todos mis compañeros del departamento, por ser tan buenos amigos.

A TODOS MUCHISIMAS GRACIAS.



## ***1.- OBJETO***



*El tema de las resecciones intestinales y sus repercusiones a nivel digestivo y metabólico ha sido una de las líneas de investigación del Departamento de Fisiología, desde hace años.*

*Dado que la resección de intestino delgado es frecuente en el tratamiento de la enfermedad de Crohn y del cáncer, y puede ser necesaria en la enfermedad intestinal isquémica, las consecuencias funcionales de la resección son de un gran interés clínico.*

*La pérdida masiva de intestino delgado conduce a una superficie mucosal insuficiente para la absorción de nutrientes. El tiempo de tránsito disminuye y por lo tanto, el tiempo de contacto entre los nutrientes lumbinales y las secreciones pancreática y biliar se reduce, condicionando, en última instancia, la aparición de síndromes de malabsorción intestinal.*

*Sin embargo, aunque es bien conocida la respuesta compensatoria del intestino remanente tras una resección intestinal, la capacidad de ésta respuesta para paliar el síndrome de malabsorción depende de la cantidad de intestino extirpado, del lugar de la resección (proximal o distal), del tiempo transcurrido tras la operación, del tipo de nutrición utilizada (enteral o parenteral), de la composición de la dieta, etc, entre otros factores.*

*Trabajos previos llevados a cabo en este Departamento y dentro de esta misma línea de investigación, han puesto de manifiesto como la modificación de la calidad lipídica de la dieta, sustituyendo 2/3 de aceite de oliva por triglicéridos de cadena media y aceite de girasol a parte iguales, junto con el suplemento de vitamina D<sub>3</sub>, mejora la utilización nutritiva de calcio,*



*fósforo y magnesio, en ratas con resección del 50% de intestino delgado distal, al mes de la intervención quirúrgica.*

*Se han realizado numerosos estudios para evaluar el efecto de la resección intestinal sobre la absorción de macronutrientes; sin embargo, pocos trabajos se han llevado a cabo sobre la absorción de micronutrientes.*

*Por otra parte, la investigación de elementos traza, tales como el hierro, el cinc y el cobre, está adquiriendo una gran atención en las últimas décadas, debido a la importancia crucial de los mismos, al estar implicados en numerosas funciones fisiológicas del organismo; no obstante, la información bibliográfica disponible es muy escasa acerca del estado de estos elementos traza en una situación patológica como es la resección de intestino delgado.*

*Todos estos antecedentes nos han motivado para intentar conocer si mediante la modificación de la calidad lipídica de la dieta, mezcla a partes iguales de MCT, aceite de girasol y aceite de oliva, junto con el suplemento de vitamina D<sub>3</sub> o bien la adición de vitamina C, los mecanismos adaptativos del intestino remanente, para mantener el estado de hierro, cinc y cobre en el organismo, son operativos en un breve período de tiempo (30 días) después de la resección del 50% de intestino delgado distal, resección mas común desde un punto de vista clínico y evitar la posible aparición de estados carenciales.*

*En este sentido, el interés del presente trabajo se centra en el estudio de la utilización nutritiva de hierro, cinc y cobre, mediante la técnica de balance metabólico, en ratas con resección del 50% de intestino delgado distal. Además, con objeto de conocer la distribución y destino metabólico de dichos metales traza, se han determinado las concentraciones de los mismos a nivel de distintos órganos internos y tejidos, implicados, todos ellos, en la regulación homeostática del organismo.*



<b>1. OBJETO</b>	<b>2</b>
<b>2. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS</b>	<b>4</b>
<b>2.1. UTILIZACION NUTRITIVA DE HIERRO</b>	<b>5</b>
<b>2.1.1. Introduccion</b>	<b>5</b>
<b>2.1.2. Requerimientos</b>	<b>5</b>
<b>2.1.3. Metabolismo</b>	<b>7</b>
<b>2.1.3.1. Absorcion</b>	<b>8</b>
<b>2.1.3.1.1. Mecanismos de absorción de hierro</b>	<b>9</b>
<b>2.1.3.1.2. Ligandos de unión</b>	<b>16</b>
<b>2.1.3.1.3. Formas de hierro absorbido</b>	<b>17</b>
<b>2.1.3.2. Retención de hierro</b>	<b>21</b>
<b>2.1.3.2.1. Vías de eliminación de hierro</b>	<b>21</b>
<b>2.1.3.2.2. Regulación homeostática del balance de hierro</b>	<b>22</b>
<b>2.1.3.3. Distribución de hierro en el organismo</b>	<b>24</b>
<b>2.1.3.3.1. Fracción de hierro esencial</b>	<b>26</b>
<b>2.1.3.3.2. Depósito de hierro</b>	<b>39</b>
<b>2.1.4. Factores que afectan la utilización nutritiva de hierro</b>	<b>42</b>
<b>2.2. UTILIZACION NUTRITIVA DE CINC</b>	<b>47</b>
<b>2.2.1. Introducción</b>	<b>47</b>
<b>2.2.2. Requerimientos</b>	<b>48</b>
<b>2.2.3. Metabolismo</b>	<b>49</b>
<b>2.2.3.1. Absorción de cinc</b>	<b>49</b>
<b>2.2.3.1.1. Mecanismos de absorcion de cinc</b>	<b>50</b>
<b>2.2.3.1.2. Ligandos de unión</b>	<b>52</b>
<b>2.2.3.2. Retención de cinc</b>	<b>56</b>
<b>2.2.3.2.1. Vías de eliminación de cinc</b>	<b>56</b>
<b>2.2.3.2.2. Regulación homeostática del balance de cinc</b>	<b>57</b>
<b>2.2.3.3. Distribución en el organismo</b>	<b>59</b>
<b>2.2.3.3.1. Transportadores de cinc</b>	<b>59</b>



2.2.3.3.2. Aspectos metabólicos del cinc a distintos niveles del organismo	61
2.2.3.3.3. Funciones bioquímicas del cinc	64
2.2.4. Factores que afectan la utilización nutritiva de cinc	65
2.3. UTILIZACION NUTRITIVA DE COBRE	69
2.3.1. Introducción	69
2.3.2. Requerimientos	70
2.3.3. Metabolismo	71
2.3.3.1. Absorción	71
2.3.3.1.1. Mecanismos de Absorción de cobre	71
2.3.3.1.2. Ligandos de unión	72
2.3.3.2. Retención	73
2.3.3.2.1. Vías de excreción de cobre	73
2.3.3.2.2. Regulación homeostática del balance de cobre	74
2.3.3.3. Distribución en el organismo	75
2.3.3.3.1. Transportadores de cobre	76
2.3.3.3.2. Aspectos metabólicos de cobre a distintos niveles del organismo	79
2.3.3.3.3. Funciones bioquímicas del cobre	84
2.3.4. Factores que afectan la utilización nutritiva del cobre	85
2.4. INTERACCIONES EN LA UTILIZACION NUTRITIVA DE HIERRO, CINC Y COBRE	88
2.4.1. Introducción	88
2.4.2. Interacciones entre hierro y cinc	89
2.4.3. Interacciones entre hierro y cobre	90
2.4.4. Interacciones entre cinc y cobre	91
2.5. EFECTO DE LA VITAMINA C SOBRE LA UTILIZACION NUTRITIVA DE HIERRO, COBRE Y CINC	95
2.5.1. Efecto sobre la utilización nutritiva de hierro	95



2.5.2. Efecto sobre la utilización nutritiva de cobre	97
2.5.3. Efecto sobre la utilización nutritiva de cinc	99
2.6. EFECTO DE LA VITAMINA D <sub>3</sub> SOBRE LA UTILIZACION NUTRITIVA DE HIERRO, COBRE Y CINC	100
2.7. EFECTOS GENERALES DE LAS RESECCIONES INTESTINALES	102
2.8. EFECTO DE LA RESECCION INTESTINAL SOBRE LA UTILIZACION NUTRITIVA DE HIERO, COBRE Y CINC	109
3. MATERIAL Y MÉTODO	116
3.1. Diseño experimental	118
3.2. Dietas utilizadas	122
3.3. intervención quirúrgica: resecciones intestinales	125
3.4. Postoperatorio y mantenimiento de los animales	126
3.5. Indices biológicos	127
3.6. Técnicas analíticas	128
3.6.1. Materia seca	128
3.6.2. Minerales totales	128
3.6.2.1. Hierro, cobre y cinc	128
3.6.2.2. Hierro en suero	129
3.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	129
4. RESULTADOS	130
5. DISCUSION	261
5.1. Influencia de la resección intestinal y del tipo de dieta sobre cambios ponderales e ingesta	262
5.2. Sobre el estudio de la utilización nutritiva de hierro, cinc y cobre	263
5.3. Sobre el estudio de la distribución metabólica de hierro, cinc y cobre	272
6. RESUMEN Y CONCLUSIONE	285
7. BIBLIOGRAFIA	290



## ***2.- ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS***



## **UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE HIERRO**

### **2.1.1. INTRODUCCIÓN**

*La importancia del hierro en la nutrición de los seres vivos es indiscutible, ya que está implicado en funciones metabólicas críticas, como el transporte de oxígeno a través de la sangre y los procesos redox de la cadena respiratoria (Linder, 1988).*

*El principal carácter del metabolismo del hierro es su reutilización continua que explica el mantenimiento de los aspectos nutricionales y metabólicos de hierro en el organismo a pesar de su limitado aporte dietario.*

*Aún así, el estado de hierro está influenciado tanto por factores fisiológicos como dietarios (Beutler, 1988).*

### **2.1.2. REQUERIMIENTOS**

*Los requerimientos de hierro varían ampliamente con la edad y el sexo, debido a los cambios radicales en las demandas de cada situación fisiológica.*



*Así, las demandas medias diarias de hierro para el crecimiento son aproximadamente de 0,35 - 0,70 mg/día para los niños y 0,30 - 0,45 mg/día para las niñas (Beutler, 1988). Al llegar a la adolescencia, estos requerimientos aumentan sobre todo, para las adolescentes debido a la menstruación. Razón por la cual se recomiendan 5 mg/día adicionales para las adolescentes desde el comienzo de la menstruación y para los varones 2 mg/día adicionales durante el pico de crecimiento puberal.*

*Se considera que los requerimientos de hierro son más altos en los niños y adolescentes que en hombres adultos. Lo que explica la alta incidencia de anemia en este grupo de riesgo (Lozoff y Brittenham, 1986) representado por un bajo rendimiento escolar de los niños (Pollit, 1987) y los bajos depósitos de hierro en las mujeres en edad fértil. Así según Herbert, (1987) las recomendaciones por este grupo son:*

- 10 mg/día para los niños.*
- 12 mg/día para los varones.*
- 15 mg/día para mujeres adolescentes.*

*En las mujeres, el coste del embarazo es del orden de 1040 mg (Hallberg, 1988). Cantidad difícil de cubrir mediante una dieta normal.*

*Además de estos factores fisiológicos, otro factor que puede cambiar radicalmente los requerimientos de hierro, quizás más que en caso de cualquier otro nutriente, es su biodisponibilidad. Se considera que las mejores fuentes alimentarias de hierro son el hígado, músculo, hemoglobina y las semillas de soja, mientras el hierro procedente de los huevos, la leche y los cereales es muy poco disponible.*

*Teniendo en cuenta todos estos factores, la recomendación para cada situación fisiológica es la siguiente:*



- Para hombres adultos sanos de 25 a 59 años de edad es 12,3 mg/día (220  $\mu\text{mol/día}$ ) cuando la biodisponibilidad de hierro es del 10% y de 6,2 mg/día (110  $\mu\text{mol/día}$ ) cuando la biodisponibilidad es del 20%.

- Para las mujeres, según el estado fisiológico, en menstruación (edad fértil) se recomiendan 23,8 mg/día (426  $\mu\text{mol/día}$ ) cuando la biodisponibilidad de hierro es de 10% y 11,9 mg /día (213  $\mu\text{mol/día}$ ) cuando la biodisponibilidad es del 20%. En período de lactación, se recomienda 13,1 mg/día (234  $\mu\text{mol/día}$ ) cuando la biodisponibilidad del hierro es del 10% y 6,6 mg/día (118  $\mu\text{mol/día}$ ) cuando la biodisponibilidad es del 20%. En la edad postmenopáusica las recomendaciones son de 9,6 mg/día (172  $\mu\text{mol/día}$ ) cuando la biodisponibilidad es del 10% y de 4,8 mg/día (86  $\mu\text{mol/día}$ ) cuando la biodisponibilidad es del 20% (según Internacional Life Sciences Institute. I.L.S.I., 1990).

En la rata los requerimientos de hierro son 35 mg/Kg de dieta (Life Sciences National Research Council 1979).

### **2.1.3. METABOLISMO**

El metabolismo de hierro está mantenido homeostáticamente mediante una regulación, sobre todo por su absorción intestinal (Adams y cols., 1991; Conrad y cols., 1987; Cook, 1990; Finch y cols., 1984). Este concepto fue desarrollado principalmente por Mc Cance y Widdowson (1938) que observaron que la capacidad corporal para excretar el hierro, en condiciones normales es muy limitada, a diferencia de la mayoría de otros minerales. Lo que implica que la absorción es el punto de regulación homeostática.



*Está generalmente aceptado, que el estado de hierro corporal esta inversamente correlacionado con la tasa de absorción del metal (Bezkorovainy, 1989b).*

*Pero a nivel molecular, la información disponible sobre el tema es muy fragmentaria.*

### **2.1.3.1. ABSORCIÓN**

*Muchos trabajos coinciden en que el duodeno es el lugar de máxima absorción de hierro (20%), seguido por la porción proximal del yeyuno, mientras a nivel íleal, la absorción es mínima (2%) (Conrad y cols., 1987; Mugitani, 1989; Muir y Hopfer, 1985). Se ha demostrado que la máxima respuesta adaptativa a una deficiencia de hierro se encuentra en el duodeno y los 20 cm proximales del yeyuno (Shumann y cols., 1990).*

*Se sabe que la primera barrera que el hierro debe atravesar durante el proceso de su absorción intestinal, es el depósito del mucus secretado por las células intestinales que cubre la superficie luminal del intestino.*

*El posible papel del mucus en la regulación de la absorción de hierro ha sido muy poco estudiado; probablemente por falta de una metodología capaz de separar el mucus depositado sin dañar las células mucosales.*

*Recientemente, Quarterman (1987) observó que la absorción de hierro aumenta en ratas en ayuno (16 a 40 horas) de modo paralelo al incremento en el espesor del*



*mucus depositado, lo que significa, según este autor, que el mucus depositado tiene la propiedad de unirse al metal mejorando su absorción.*

*Sin embargo, Wien y Van Campen (1991) atribuyeron la respuesta adaptativa representada por una alta capacidad absorbente del metal, en ayuno, a la baja concentración del metal en la mucosa y no al incremento en la masa del mucus acumulado bajo tales condiciones. Wien y Van Campen (1991) reservaron el papel regulador del mucus a la prevención de una excesiva absorción de hierro cuando éste abunda en la dieta.*

#### **2.1.3.1.1. MECANISMOS DE ABSORCIÓN DE HIERRO**

*El mecanismo de absorción de hierro ha sido un tema de intensa investigación y aún no está bien aclarado.*

*Así, en 1946, Granick propuso la primera hipótesis sobre el mecanismo de absorción de hierro en la cual se ha sugerido que el metal tras su captación por la célula intestinal, obligatoriamente pasa a formar parte de la ferritina. Después, según las necesidades se transfiere o no a la circulación (Granick, 1946a). Esta hipótesis llamada "bloqueo mucosal" (Hahm y cols., 1943; Granick, 1946b), fue eliminada por trabajos posteriores que demostraron que la mayoría de hierro absorbido se transfiere directamente al plasma sin necesidad de pasar por la ferritina. Así, apareció un nuevo esquema de la absorción del metal representado en la FIGURA I: (según Crosby, 1963; Wheby, 1966).*

<i>Fe</i> <i>(de la dieta)</i>	<i>Célula mucosal</i>	<i>Sangre</i>
	<i>Ferritina</i>	



*Estos autores demostraron que las células mucosales están programadas, mediante su contenido en ferritina, durante su formación en las criptas de Lieberkuhn, según el estado de hierro en el organismo. Como consecuencia, el comportamiento del enterocito durante su migración hacia los villis, traduce esta información a una cierta capacidad de absorción. Lo que explica según estos autores la lentitud en la respuesta del enterocito a un cambio brusco en el estado de hierro en el organismo.*

*Esta hipótesis está poco argumentada en algunos de sus aspectos: Brittin y Raval (1970) han demostrado que las células epiteliales aisladas sintetizan la ferritina en ritmos iguales independientemente del contenido en hierro plasmático. Además en trabajos más recientes no se ha visto ningún cambio en el mecanismo de captación de hierro dentro de la ferritina entre ratas deficientes y controles (Ehtechemic y cols., 1989).*

*Aún así, este modelo sigue siendo el punto de partida de la mayoría de los investigadores.*

*Linder (1988) ha presentado la misma idea con más precisión en un esquema de absorción de hierro (Figura II) según el cual el metal se absorbe en la membrana de borde en cepillo, tras su unión a un receptor, por transporte activo. En el enterocito, el hierro forma quelatos de bajo peso molecular con el citrato, fructosa y aminoácidos, en equilibrio con el hierro contenido en la ferritina. Cuando llega a la región serosal, el hierro se fija a la molécula de transferrina que lo transporta al plasma mediante la acción de receptores de membrana. Según este autor, la regulación homeostática se hace mediante cambios en la población de los receptores de hierro, durante la formación de las células mucosales en las criptas de Lieberkuhn.*

*Se ha observado que en deficiencia de hierro, aumentan los niveles de la transferrina mucosal, mientras en sobrecarga de hierro ocurre lo contrario (Johnson y cols.,*



1983). Lo que hizo pensar que la transferrina luminal actúa como un sideróforo para aumentar la absorción de hierro (Huerbers y cols., 1983; Idzerda y cols., 1986); y que las células intestinales secretan al lumen intestinal una apotransferrina que se une al hierro de la dieta y se absorbe como transferrina.

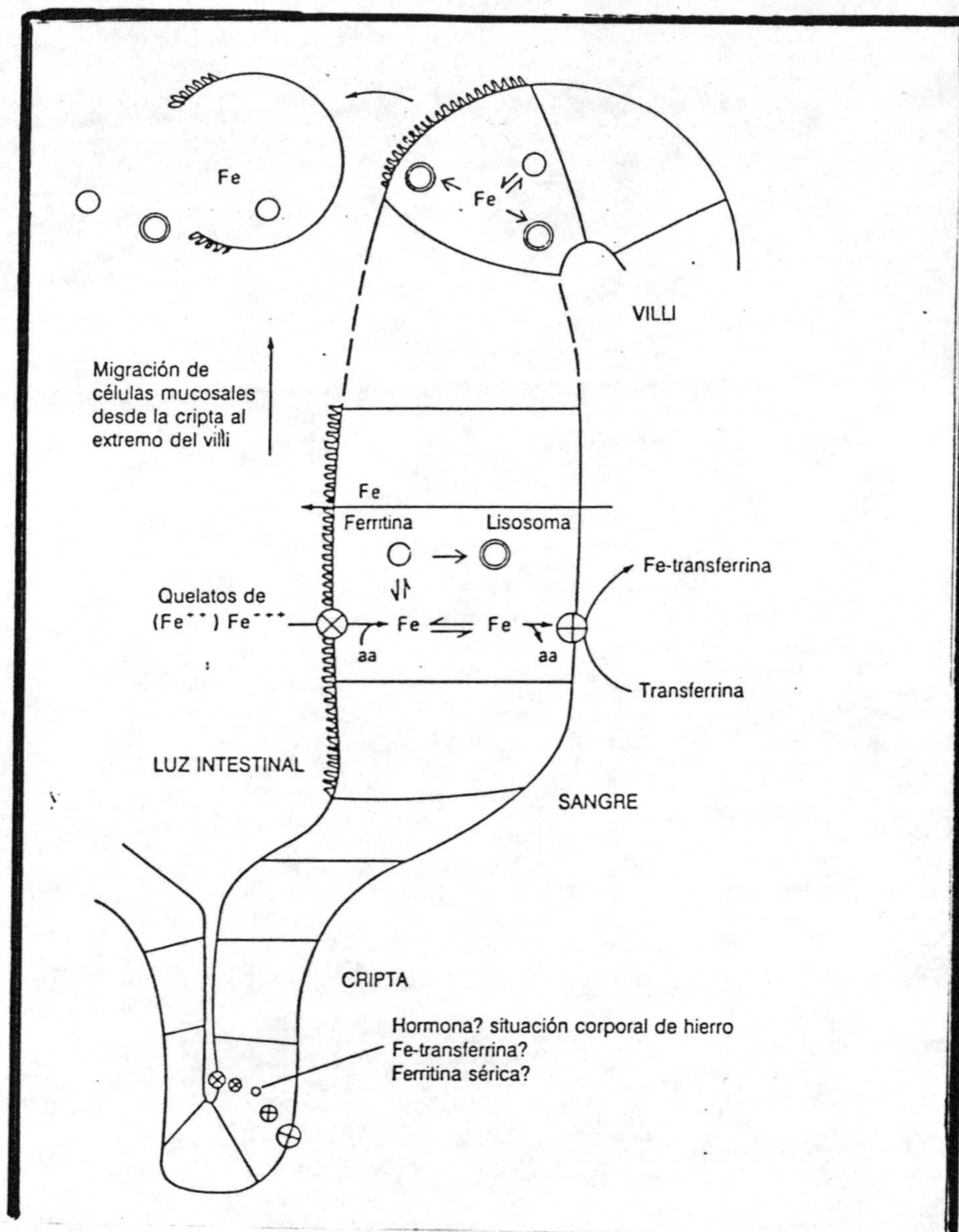


FIGURA II: Esquema global de los mecanismos implicados en la absorción de hierro. (Tomado de Linder, *Nutrition aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos*, 189-241, (1988)).



Huebers y cols., (1983) han propuesto un modelo para la captación y liberación de la transferrina (Tf) por las células mucosales; según el cual éstas últimas secretan al lumen una apotransferrina (apo-Tf) que se encarga de coger el hierro de la dieta y volver a entrar en la célula intestinal como complejo Fe-Tf. Esta hipótesis era el resultado de la medición de la absorción intestinal de hierro radiactivo y la transferrina plasmática marcada  $^{125}\text{I}$  en ratas normales y otras con deficiencia del hierro. Así la presencia de la apotransferrina marcada en el lumen entre 15 a 60 min tras la inyección de la transferrina diférrica indica una recirculación de la transferrina en el proceso de absorción de hierro. La alta resistencia de la transferrina diférrica y la apotransferrina a la degradación proteolítica ofrece, según estos investigadores, un apoyo a este modelo de captación (FIGURA III).

Idzerda y cols. (1986) han cuantificado el nivel del RNAm de la transferrina en una variedad de tejidos a partir de ratas normales y deficientes en hierro, encontraron que este nivel era aproximadamente de 6500 moléculas/célula en ratas normales, mientras en caso de una deficiencia de hierro la concentración de la transferrina aumentaba de 2 a 4 veces en comparación con la concentración encontrada en ratas normales. Este aumento era el resultado de una inducción específica de la actividad transcripcional del gen responsable de la síntesis de la transferrina que se acompañaba paralelamente de un incremento en la capacidad total de unión al hierro. Sin embargo, en el intestino delgado, el nivel del RNAm de la transferrina no era detectable ni en ratas normales ni en las anémicas a pesar del incremento en la concentración de la transferrina intestinal característico de la deficiencia del metal; lo que condujo a postular la hipótesis: la transferrina intestinal es de origen hepático, de acuerdo con el incremento en la concentración de transferrina en bilis, en caso de una anemia.

Isobe y cols. (1983) demostraron la presencia de la transferrina en el citoplasma de las células secretoras del mucus y han sugerido que la transferrina es



secretada a través de estas células, al lumen intestinal, para unirse al hierro durante el proceso de su absorción. Sin embargo, Parmley y cols. (1984) no han podido demostrar tal resultado.

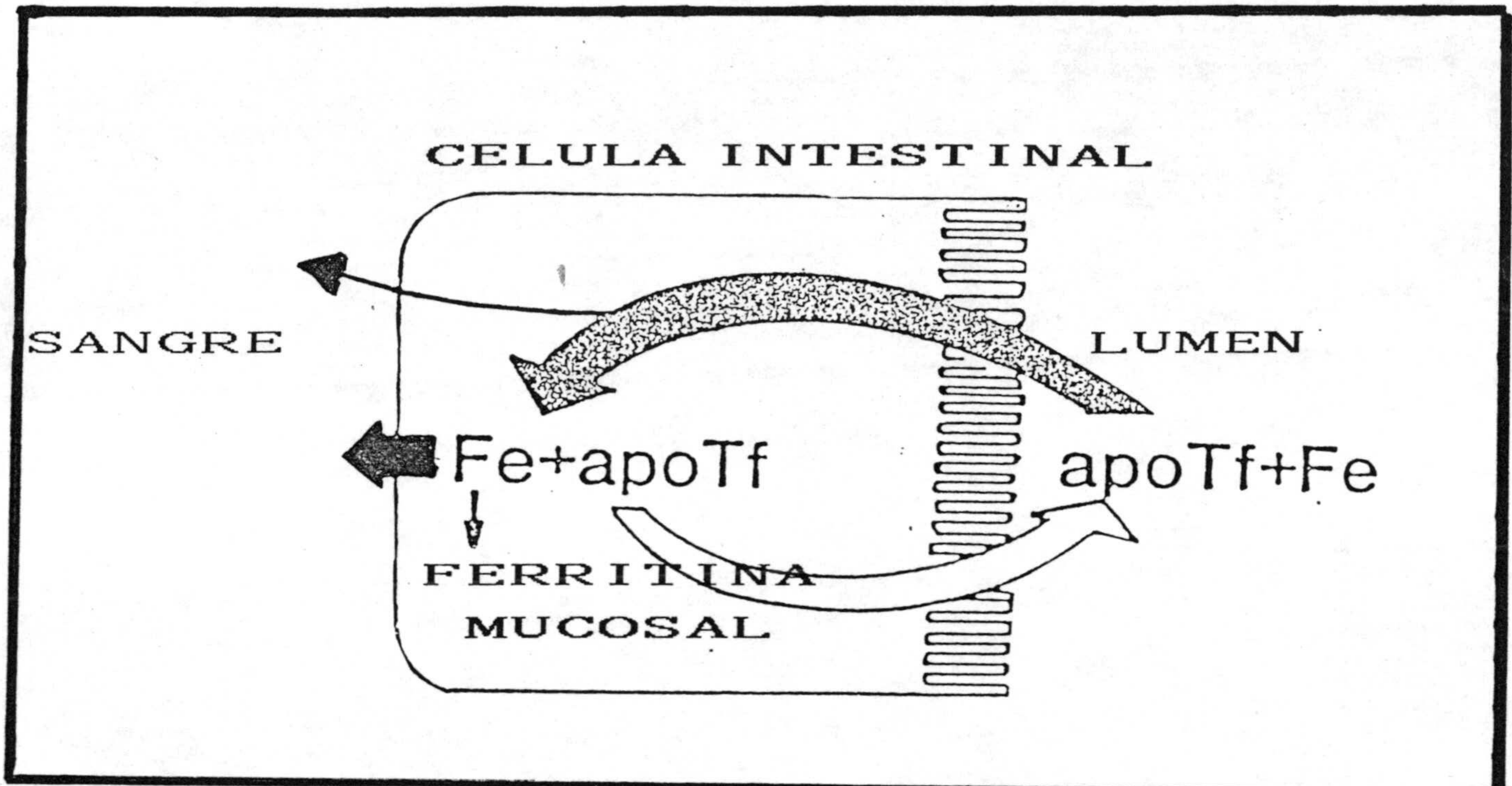


FIGURA III: Modelo para la captación y liberación de la transferrina (Tf) por las células mucosales, propuesto por Huebers y cols., (1983). La apotransferrina presente en las secreciones de la mucosa duodenal y yeyunal reacciona con el hierro dietario para formar transferrina. Consecuentemente, el hierro unido a la transferrina es captado dentro de la célula mucosal sin apreciable degradación, probablemente por un proceso de endocitosis. Dentro de la célula, el hierro liberado a partir de la transferrina puede: (A) pasar a la circulación o (B) estar depositado en ferritina mucosal. En deficiencia de hierro, la liberación del metal hacia la circulación (A) es la vía predominante, mientras en caso de sobrecarga, predomina su deposición como ferritina (B). Aparentemente pequeñas cantidades de Fe-Tf (aprox. 5 % de la dosis) entra a la circulación bajo forma fisiológicamente intacta. Este sistema de transporte no existe en el epitelio ileal. (Tomado de Huebers y cols. Blood, 61 (2):283-290, (1983)).

■ Fe-Tf.    □ Fe-apoTf.



*A pesar de esto, generalmente se acepta que la transferrina, cuyos niveles aumentan en deficiencia de hierro, entra al lumen intestinal a partir del hígado por vía biliar, donde puede unirse al hierro y llevarlo dentro de las células mediante el proceso de endocitosis (Bezkorovainy, 1989b).*

*Adams y cols. (1989) han demostrado que el trasplante de hígado cargado de hierro en animales normales disminuye marcadamente la absorción de hierro, destacando que los depósitos de hierro en hepatocitos son el mayor factor determinante que controla la absorción de hierro.*

*Se ha mencionado en otros trabajos que los receptores intestinales a la transferrina pueden ser regulados según la reserva de hierro corporal (Gregory y cols., 1990).*

*En hipoxia, el incremento en la absorción de hierro no se debe a un aumento en los niveles de transferrina mucosal, como ocurrió en caso de deficiencia de hierro, lo que significa que no es el único mecanismo de regulación implicado en la absorción de hierro (Osterloh y cols., 1987).*

*Refsum y Schreiner (1984) han propuesto otra hipótesis basada en el grado de saturación de la transferrina: el enterocito durante su formación en las criptas de Lieberkuhn requiere una cierta cantidad de hierro que le es suplementada por la transferrina sérica. Así, en un estado de deficiencia, como el grado de saturación de la transferrina es bajo, alta cantidad de ésta última penetra dentro de los enterocitos nacientes, por endocitosis, la transferrina después de perder su hierro dentro de la célula se convierte en apotransferrina y sirve de receptor al hierro para el enterocito. Lo que explica la alta capacidad absorptiva del enterocito durante su migración hacia los villis. Mientras que en sobrecarga de hierro, poca cantidad de transferrina, altamente saturada, penetra en el*



*enterocito naciente y en consecuencia menos receptores tendrá y absorberá menos hierro en su camino hacia los villis (Refsum y Schreiner, 1984).*

*Con respecto a la dependencia o no de los mecanismos de absorción de hierro de la energía, se han realizado varios trabajos, tanto en los que consideran la transferrina como transportador intestinal de hierro, como los que se basan en la absorción del metal unido a ligandos de bajo peso molecular.*

*Así, según algunos autores, la absorción de hierro es sensible a los inhibidores de la endocitosis (Johnson y cols., 1983; Johnson y cols., 1985), tal inhibición no se ha detectado en otros trabajos usando el nitrilotriacetato férrico (Simpson y cols., 1986).*

*Estudios del mecanismo de absorción de hierro inorgánico mediante su unión a distintos quelatos, ha dado lugar a una discrepancia en los resultados. Cox y Peters (1979 y 1980) en experiencias de biopsia duodenal en humanos encontraron que la absorción de nitriloacetato férrico es un proceso que depende de la temperatura y se inhibe con el 2,4 dinitrofenol. Gary y cols. (1992) encontraron que además de su dependencia de la temperatura, la captación intestinal de hierro también es función del pH, y de la anterior carga celular en hierro. Se ha demostrado que la captación de hierro ferroso en presencia de ascorbato es un proceso dependiente de la temperatura pero no requiere energía (Johnson, 1983). A pesar de esta discrepancia, lo que está bien admitido es que la captación tanto de hierro ferroso como férrico aumenta de 2 a 3 veces en membranas intestinales procedentes de animales deficientes en hierro (Bezkorovainy, 1989b; Schumann y cols., 1990).*



### **2.1.3.1.2. LIGANDOS DE UNIÓN**

#### **TRANSFERRINA (Tf)**

*En ratas, se ha identificado la Tf mucosal en fracciones de mucosa yeyunal y duodenal (Idzerda y cols. 1986), demostrando que la Tf sérica y mucosal de rata son idénticas y expresadas por el mismo gen. La débil unión de la transferrina mucosal a la superficie del enterocito hizo pensar que está es el transportador de hierro del lumen intestinal a la célula mucosal (Huebers y cols., 1983; Idzerda y cols 1986).*

#### **FERRITINA**

*Una parte de hierro absorbido se encuentra unido a la ferritina mucosal, la cual esta implicada en la regulación homeostática del estado de hierro en la célula (Kühn, 1991).*

#### **LACTOFERRINA**

*En el recién nacido, la lactoferrina es una proteína de unión al hierro, similar a la transferrina. Se han identificado receptores específicos a la lactoferrina en la membrana de borde en cepillo de intestino delgado distal de monos y ratones (Davidson y Lönnerdal, 1988; Hu y cols., 1988) y de humanos (Kawakami y Lönnerdal, 1991). El hierro de la leche*



*humana se encuentra unido a la lactoferrina y su alta disponibilidad se debe a la presencia de estos receptores específicos a lactoferrina (Kawakami y Lönnnerdal 1988). La digestión de esta proteína en el tracto gastrointestinal en animales jóvenes es mínima, lo que probablemente le permite ejercer su posible papel como proteína de unión al hierro (Britton y Koldovsky, 1987).*

## **GASTRINA**

*Se ha sugerido que el hierro dietario en el estómago puede unirse a la gastrina formando complejos  $Fe^{3+}$ -gastrina y que a nivel intestinal se une a la apotransferrina para formar Tf.*

## **LIGANDOS DE BAJO PESO MOLECULAR**

*Aminoácidos, fructosa y citratos son algunos de los ligandos de unión al hierro que forman quelatos de bajo peso molecular con el metal (Linder, 1988).*

### **2.1.3.1.3. FORMAS DE HIERRO ABSORBIDO**

*En términos de biodisponibilidad, el contenido de hierro total en la dieta es menos importante que la calidad de la misma. El hierro se presenta en la dieta como:*



- hierro hemo de origen animal y de alta disponibilidad, cuya absorción no está afectada por ningún factor luminal (Grasbeck y cols., 1982; Raffin y cols., 1982).

- hierro no hemo, principalmente constituido por hierro ferroso y también férrico. Su absorción está condicionada por la acción de muchos factores luminales, estimuladores o inhibidores (Bothwell y cols., 1989) y en consecuencia su biodisponibilidad es limitada.

### **HIERRO HEMO**

Altamente disponible, se absorbe bajo forma intacta dentro del anillo porfirínico (Bothwell, 1989).

Los sitios de unión tienen alta afinidad por el hemo en la mucosa del borde en cepillo del intestino de cerdo (Grasbeck y cols., 1982). Su absorción no está afectada por ningún factor estimulador o inhibidor. Excepto el factor mejorador de la proteína dietaria: en humanos los productos de digestión de la proteína (proteína de soja) previenen la formación de polímeros del hemo poco absorbibles (Lynch y cols., 1985).

El hemo es liberado de la hemoglobina durante el proceso de digestión, después es captado por las células de la mucosa intestinal y degradado presumiblemente vía hemoxigenasa para liberar el hierro inorgánico que se une al pool de hierro intracelular común (Bezkorovainy, 1989b; Raffin y cols., 1982).

Se ha sugerido también que la xantin-oxidasa está implicada en recoger el hierro liberado de la degradación del hemo (Bezkorovainy, 1989b).



*Zhang y cols. (1989), en un trabajo sobre la biodisponibilidad del hierro a partir de distintas fuentes dietarias en ratas anémicas y normales, no han observado ningún efecto mejorador de la carne sobre la absorción del metal en ratas deficientes. Según estos investigadores, en anemia aguda el sistema transportador de hierro hemo puede estar reducido por muchos factores tales como una reducción en la actividad de las enzimas del hierro, una reducción del aporte energético o un escaso aporte del oxígeno. Lo que explica la ineficacia del hierro hemo en restablecer el estado del metal en el organismo cuando la anemia es muy avanzada. Sin embargo, tal situación no afecta la absorción de las sales de hierro inorgánico simple, que son altamente solubles y difunden hacia las células mucosales sin necesidad de un sistema transportador (Pallarés y cols., en prensa; Zhang y cols., 1989).*

### **HIERRO NO HEMO**

*Su biodisponibilidad depende de la acción de muchos factores, tanto estimuladores como inhibidores, que actúan sobre su absorción.*

*El hierro ferroso es fácilmente captado por el enterocito en comparación con el hierro férrico.*

*En el intestino delgado de conejo, se ha aislado un receptor al hierro ferroso, es una glucoproteína con un peso molecular de aproximadamente 100.000 (O'Donnell y Cox, 1982). El transporte de hierro ferroso a través de la membrana del enterocito está condicionado por su unión previa con el receptor (saturable) en la membrana (Bezkorovainy, 1989b).*



*La absorción de hierro férrico está incrementada en presencia de componentes dietarios con carácter reductor. El factor más potente, en este sentido, es el ácido ascórbico (Ballot y cols., 1987; Degkwitz y Bödeker, 1990; Hallberg y cols., 1986; Hallberg y cols., 1987; Hallberg y cols., 1989; Hungerford, 1983; Kim, 1991; Siegenberg y cols., 1991). Su papel es doble: reduce el hierro del estado férrico al estado ferroso y previene la formación de compuestos de hierro insolubles y no absorbibles (Hallberg y cols., 1989) (ver detalles sobre el ácido ascórbico más adelante). Sin embargo el efecto mejorador de la vitamina C se ve limitado por factores ajenos como un calentamiento prolongado de la comida (Bothwell y cols., 1989).*

*El ácido cítrico, málico, tartárico y ácido láctico son estimuladores de menor potencia (Bothwell y cols., 1989).*

*La alta disponibilidad de hierro en una dieta suplementada con frutas (limón) se explica por el efecto aditivo del ácido ascórbico y cítrico (Ballot y cols., 1987); 1 a 1,5 g de carne equivale a 1 mg de ácido ascórbico en su habilidad mejoradora de la absorción de hierro no hemo (Hallberg y cols., 1984; Monsen y cols., 1978). Este efecto positivo de la carne se ha atribuido a su contenido en cisteína y glutatión que actúan probablemente mediante sus capacidades redox (Taylor y cols., 1986). Pero esta atribución no está totalmente confirmada. En humanos, la cisteína y el glutatión, pero no la histidina, mejoran la absorción de hierro (Layrisse y cols., 1984).*

*Recientemente, se ha observado un efecto mejorador de ciertas especies de condimentos sobre la absorción de hierro (Lamparelli y cols., 1987).*

*El alcohol es otro componente de la lista de los estimuladores de la absorción de hierro (Monsen, 1988), que aumenta la cantidad de hierro a nivel del hígado, pero en caso de un consumo excesivo, conduce a serias alteraciones en el metabolismo del hierro*



*(Sanchez y cols., 1988). La reducción en la renovación de los enterocitos que acompaña la ingesta crónica del etanol puede explicar el efecto de este último sobre el estado de hierro (Mazzanti y cols., 1987).*

### **2.1.3.2. RETENCIÓN DE HIERRO**

*En situación fisiológica normal se absorbe 0,5 a 2 mg de hierro diariamente y se excreta de 0,9 a 1,05 mg/día (Bothwell y cols 1989). El turnover de hierro es de 36 mg/día (Bezkorovainy, 1989a). Estos datos significan que el mantenimiento del estado de hierro en el organismo se consigue mediante una regulación homeostática altamente eficaz, y la excreción limitada del metal es uno de sus componentes.*

#### **2.1.3.2.1. VÍAS DE ELIMINACIÓN DE HIERRO**

*En hombres adultos, la pérdida obligatoria de hierro es aproximadamente de 1 mg/día (Bothwell y cols., 1989) y tiene lugar predominantemente a partir del tracto gastrointestinal (aprox. 0,6 mg /día), de la piel se pierden unos 0,3 mg/día y menos de 0,1 mg/día se excreta por el tracto urinario (Green, 1968). No se ha confirmado pérdida del metal por sudor (Brune, 1986).*

*El hierro excretado en heces corresponde al hierro no absorbido de la dieta (40 a 95 % del hierro de la dieta (Linder, 1988)), el hierro biliar no absorbido, sangre perdida en el tubo digestivo y las células descamadas de la mucosa intestinal (Cook, 1990). En las mujeres, se añade a estas pérdidas las correspondientes a la menstruación. Estas*



pérdidas aunque son mas o menos constantes en cada mujer, varían ampliamente entre las mujeres. En una mujer normal de 55 Kg, estas pérdidas aumentan los requerimientos diarios del hierro de 0,8 a 1,3 mg por día (Baynes y Bothwell, 1990).

El coste del embarazo es elevado y los requerimientos aumentan considerablemente, no solo para compensar las pérdidas habituales (orina, sales, descamación), sino también para cubrir el crecimiento de la masa eritrocitaria de la mujer y las necesidades del feto y de la placenta.

Según Hercberg y cols. (1983), la distribución de hierro durante la gestación es:

	Primer trimestre	Segundo trimestre	Tercer trimestre	Total	Pasivo neto
Aumento de la masa eritrocitaria	--	250	250	500	--
Hierro fetal	--	60	230	290	290
Hierro de la placenta	--	--	25	25	25
Hemorragias del parto y del posparto	--	--	--	--	250
Pérdidas fisiológicas	80	80	80	240	--
<b>TOTAL</b>	80	390	585	1.055	565

Lo que explica la saturación de los depósitos del hierro en el recién nacido.

#### 2.1.3.2.2. REGULACIÓN HOMEOSTÁTICA DEL BALANCE DE HIERRO

Se acepta generalmente, que el balance de hierro está homeostáticamente regulado a nivel de la absorción intestinal (Bezkorovainy, 1989b; Conrad y cols., 1987; Nathanson y Mc Laren 1987). Así, la deficiencia de hierro se acompaña de un incremento en la absorción, mientras que en sobrecarga del metal, ocurre lo contrario. Pero el



*mecanismo exacto por el cual se logra mantener homeostáticamente este balance no está bien aclarado a pesar de que ha sido intensamente investigado.*

*Adams y cols. (1991) han trasplantado en ratas deficientes en hierro, un intestino procedente de ratas con sobrecarga del metal, y un intestino procedente de ratas deficientes en hierro; para estudiar el efecto del contenido de hierro mucosal sobre la absorción del metal, encontraron que el ritmo medio de la captación del  $^{59}\text{Fe}$  a partir de un intestino cargado de hierro ( $\pm 7,97 \pm 2,02 \mu\text{mol/g}$ ) era de  $431 \pm 27 \text{ nmol/30 min}$  y a partir de un intestino deficiente en hierro ( $\pm 1,35 \pm 0,84 \mu\text{mol/g}$ ) era de  $743 \pm 222 \text{ nmol/30 min}$  y que el traspaso medio de  $^{59}\text{Fe}$  a partir de la célula mucosal al organismo a través de un intestino cargado en hierro, era de  $63 \pm 22 \text{ nmol/30 min}$  y a través de un intestino deficiente era de  $86 \pm 32 \text{ nmol/30 min}$ . Lo que implica que la concentración de hierro mucosal regula la cantidad de hierro retenido (Adams y cols., 1991).*

*El hierro una vez captado por el enterocito puede ser transferido directamente al plasma o captado por la ferritina. Este último constituye un compartimiento férrico cerrado, llamado el pool de hierro no hemínico por ser éste el tipo predominante de hierro. Este pool garantiza la permanencia de hierro en una forma de reserva químicamente inocua y segura y siempre disponible.*

*Sin embargo, Refsum y Schreiner (1984) han propuesto otro esquema para la regulación del balance del hierro enfocado más bien a nivel de la excreción. Según estos autores, el hierro después de penetrar por endocitosis, vía un receptor a la transferrina, dentro de la célula mucosal se transfiere en parte directamente a la ferritina que lo transporta fuera del enterocito a los macrófagos (en lamina propia) que actúan como distribuidor del hierro. Este nivel constituye el punto de control: Según las necesidades del organismo, cierta cantidad de hierro está canalizada hacia la transferrina plasmática, otra cantidad va estar almacenada dentro de los macrófagos y una tercera parte va ser*



*transmitida a las células secretoras de mucus que se encargan de excretar el hierro en el lumen intestinal. Se piensa que la ferritina actúa como transportador de hierro entre los enterocitos y macrófagos y entre macrófagos y células secretoras del mucus. La ferritina sérica normalmente no atraviesa la pared capilar. Sin embargo, los villis intestinales tienen capilares que permiten el traspaso de esta gran molécula (Clementi y Palade, 1969). Esto según Refsum y Schreiner (1984) puede explicar también porque los macrófagos que contienen hierro están localizados en la punta de los villis. La ferritina sérica cuyos niveles reflejan el estado de hierro en el organismo informa a los macrófagos sobre los depósitos del metal y los cambios que lo pueden afectar (Refsum y Schreiner 1984).*

*Así, los cambios en la saturación de la transferrina y en la concentración de ferritina sérica afectan dos procesos diferentes en la regulación del balance de hierro, de un lado la captación y el transporte del metal a través de los enterocitos y de otro lado su retención y la posible excreción vía el sistema de los macrófagos-células secretoras de mucus respectivamente (FIGURA IV).*

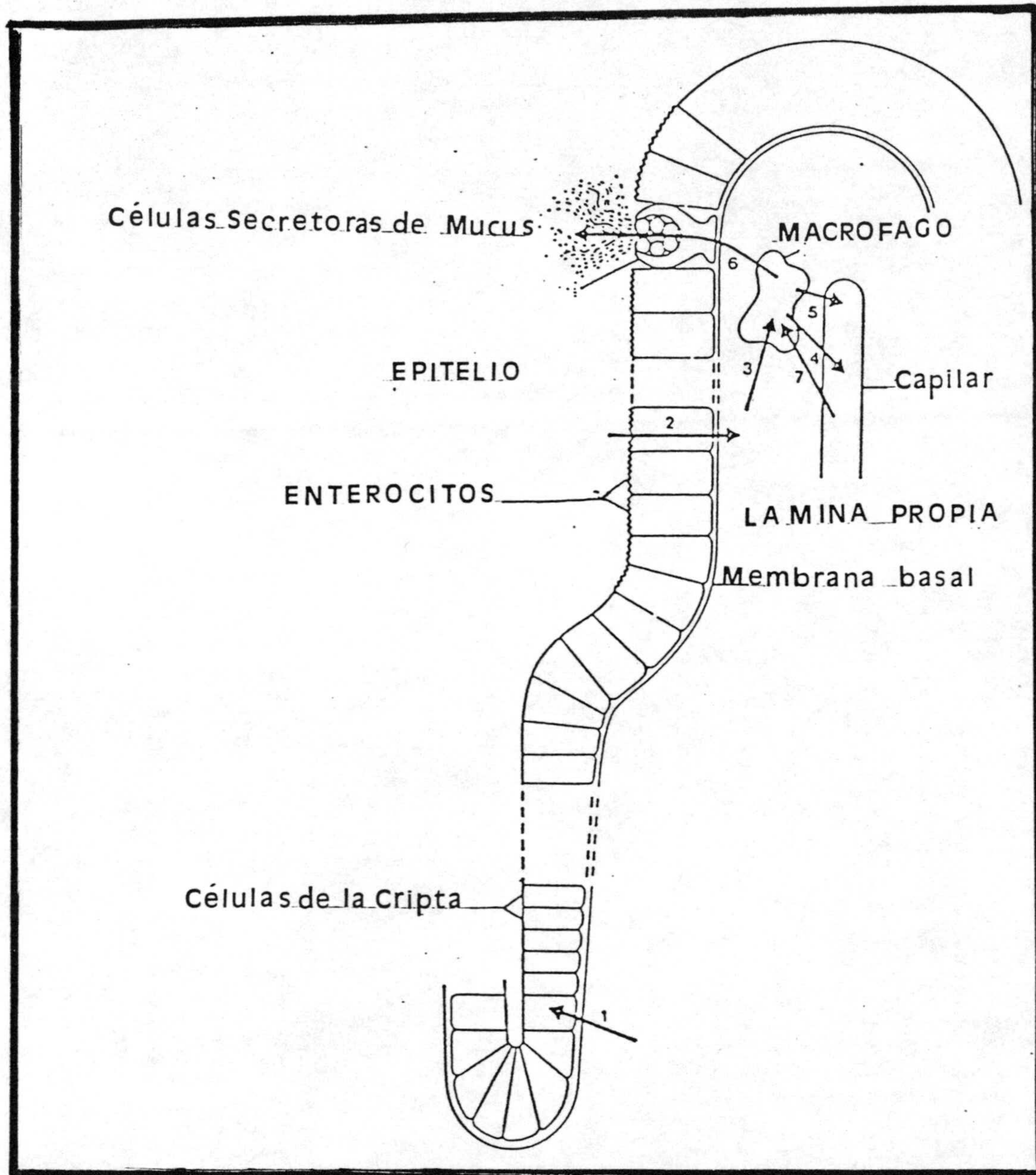
#### **2.1.3.3. DISTRIBUCIÓN DE HIERRO EN EL ORGANISMO**

*El hierro, a diferencia del cobre y cinc, es un mineral que se encuentra almacenado en el organismo. Si los aportes del metal igualan las pérdidas, la presencia de depósitos saturados de hierro es imprescindible para mantener la integridad de las distintas funciones en las cuales está implicado.*

*Es el elemento traza más abundante del organismo. Un individuo humano adulto contiene aproximadamente de 2,5 a 4 g de hierro total (Linder, 1988), con una*



concentración de aproximadamente 50 mg/Kg de peso corporal en hombres adultos y 35 mg/Kg en mujeres adultas.



**FIGURA IV:** Hipótesis postulada por Refsum y Schneider (1984) sobre las rutas del hierro en la mucosa intestinal: 1. incorporación del hierro endógeno (unido a la Tf) dentro de las células de la cripta. 2. captación del hierro (contenido en la Tf) y su transporte a través de los enterocitos. 3. captación del hierro unido a la ferritina dentro de los macrófagos. 4. absorción rápida dentro del cuerpo. 5. absorción lenta dentro del cuerpo. 4 y 5 tienen lugar con el hierro unido a la Tf. 6. excreción del hierro nuevamente absorbido, que excede de las necesidades, (unido a la ferritina) a través de las células secretoras del mucus (corresponde a las pérdidas tardías). 7. el hierro corporal en exceso (por ejemplo, transfusional) pasa de los macrófagos a las células secretoras del mucus. (Tomado de Refsum y Schneider, *Scand. J. Gastroenterol.*, 19: 867-874, (1984)).



*El hierro en el organismo se puede encontrar en dos compartimientos:*

*- Un compartimiento llamado esencial, que representa casi el 70 % del hierro total. Está presente a nivel de la hemoglobina, mioglobina, enzimas del hem o sistemas que lo requieren como cofactor y por último el hierro unido a la transferrina.*

*- El otro compartimiento es el hierro de reserva que se encuentra bajo forma de ferritina y hemosiderina, predominantemente en el hígado, bazo y médula ósea.*

#### **2.1.3.3.1. FRACCIÓN DE HIERRO ESENCIAL**

*Cuya distribución cuantitativa es:*

*- 85 % en hemoglobina.*

*- 5 % en mioglobina.*

*enzimas del hem (citócromo, citocromoxidasa, ...etc)*

*- 10 %*

*como cofactor de otros sistemas enzimáticos.*

*- menos de 0,1 % (aprox. 3 a 4 mg) como hierro unido a la transferrina*

*(Beutler, 1987).*

#### **A. TRANSFERRINA**

*El turnover de hierro plasmático es de 36 mg/día. Este hierro se encuentra unido a la transferrina (Tf): proteína plasmática que puede unir dos átomos de hierro por molécula de proteína y que interacciona con varios tipos de células, proporcionándoles el hierro requerido para sus procesos metabólicos y proliferativos.*



*Se trata de una globulina  $\beta_1$  con un peso molecular de aproximadamente 80000 y vida media plasmática de 8 a 10,5 días (Awai y Brown, 1963), constituida además de por aminoácidos, por hidratos de carbono: glicoproteína, sintetizada fundamentalmente en el hígado (Aisen, 1984). Se presenta como una estructura con dos extremos terminados en C o N terminal, cada uno presenta un sitio de unión al hierro.*

*La identidad de los dos puntos de unión al hierro en la Tf es centro de debate entre varios investigadores y evidencias espectroscópicas y químicas indican que los dos sitios de unión al hierro no son idénticos (Bezkorovainy, 1989a).*

*La transferrina puede encontrarse bajo cuatro formas en el plasma:*

- apotransferrina.*
- transferrina totalmente saturada (diférrica).*
- transferrina monoférrica con el sitio C terminal ocupado (C-Fe-Tf).*
- transferrina monoférrica con el sitio N terminal ocupado (N-Fe-Tf).*

*Van Eijk y Van Noort (1986) encontraron que la forma N-Fe-Tf es la forma predominante. Cuando se añade al suero la forma C-Fe-Tf, ésta se convierte rápidamente en la forma N-Fe-Tf, por efecto de alguna sustancia contenida en el suero (Williams y Moreton 1980). Mientras Huebers y cols. (1984) no encontraron ningún predominio de una forma sobre la otra. Así, no están bien determinadas las distintas especies de transferrina sérica.*

*La sideremia o el contenido medio de hierro en el plasma de individuos normales es de 125 a 300 mg/100 ml.*

*Fisiológicamente, el estado del hierro plasmático se expresa con otros términos. En suero, el hierro total (TI) satura solo el 25 al 30 % de la capacidad total de la transferrina para unirse al hierro (TIBC). Estos términos reflejan el estado del hierro en*



*el organismo, así en el síndrome de sobrecarga de hierro, TI puede ser igual que TIBC. Sin embargo en plena deficiencia de hierro, el TIBC disminuye debido a que menos sitios están ocupados (menos del 10 %) por el hierro en la transferrina (Bezkorovainy, 1989a). Los dos tercios restantes en la transferrina representan una capacidad latente o insaturada para unirse al hierro (UIBC).*

*También se utiliza Pitr: el ritmo de conversión del hierro plasmático que es el tiempo que tarda en desaparecer de la circulación la mitad del hierro inyectado. Su valor aumenta en deficiencia del hierro o eritropoyésis acelerada mientras que en enfermos con hipoplásia eritroide, el ritmo es más lento. El valor normal es de 25 a 40 g/día.*

*Otro índice plasmático que refleja el estado del hierro es la población de los receptores a la Tf. En adultos normales su concentración media es de 8.279 µg/L. Estos receptores en plasma tienen una relación constante con los receptores en tejidos y su número en cada instante refleja la tasa de la eritropoyésis (Huebers y cols., 1990).*

*El papel central de la transferrina consiste en aceptar el hierro del intestino o de los puntos de su almacenamiento o de la destrucción de la hemoglobina (el sistema mononuclear fagocítico); y proporcionarlo después a las distintas líneas celulares donde está requerido en distintas vías metabólicas.*

*Los receptores a la transferrina se encuentran en todos los tejidos del organismo principalmente en los precursores eritrocíticos, placenta e hígado (Gatter y cols., 1983).*

*Actualmente, se dispone de varias revisiones sobre las interacciones de la Tf a nivel de la membrana celular (Aisen, 1983; Baynes, 1987; Dautry-Varsat, y cols., 1984;*



Huebbers, 1983; Huebbers, 1987; Iris, 1987; Klausner y cols., 1983; Kühn, 1989; Newman, 1982; Trowbridg, 1984).

*El hierro nuevamente introducido en el organismo es el hierro dietario, así como el hierro continuamente renovado en el sistema mononuclear fagocítico. Este último, es el responsable de alejar de la circulación los viejos eritrocitos dañados, permitiendo la vuelta del hierro a la médula ósea para la síntesis de hemoglobina. Rama y cols. (1988) han cultivado macrófagos cargados con eritroblastos con  $^{59}\text{Fe}$  para estudiar la movilización del hierro: tras la digestión de los eritroblastos, el hierro contenido en los macrófagos se encuentra en ferritina, como en moléculas de bajo peso molecular, y se moviliza como ferritina. En presencia de la apotransferrina en el medio de cultivo, se observa una alta movilización del hierro y una parte del metal se encuentra como Fe-Tf. El paso del hierro de la ferritina a apotransferrina depende de la temperatura (Rama y cols., 1988). El ritmo de liberación se hace en un grado relativamente constante a partir de células rojas catabolizadas (Siegenberg y cols., 1990).*

*Aunque se han encontrado receptores a la apotransferrina en la superficie de los macrófagos y células de kupffer (Kaito, 1986; Daynes y cols., 1987; Kondo, 1988), la liberación del hierro por este sistema no se conoce bien y se piensa que es un proceso pasivo (Brock, 1984; Kaito, 1986).*

*A nivel de los distintos órganos, se encuentran receptores a la transferrina. Inicialmente, se ha aceptado que los sitios de unión al hierro en la transferrina son funcionalmente distintos. Esta hipótesis llamada "hipótesis de Fletcher- Huehns (Fletcher y Huehns, 1968) fue rechazada más tarde con la demostración de que las dos formas monoférricas de la Tf tienen la misma capacidad de donar el Fe (Huebbers y cols., 1981; Huebbers y cols., 1984). Sin embargo, está bien establecido que la transferrina diférrica es*



*el donador preferido de hierro por los receptores (Huebers, 1982; Huebers, 1983; Young, y cols., 1984).*

*Se ha mencionado en trabajos recientes que el hierro tras su captación celular regula coordinadamente la expresión de los receptores a la Tf (Kühn, 1989).*

*Se ha prestado más atención al estudio de la interacción de la transferrina con sus receptores en los eritrocitos más que a cualquier otra línea celular, quizás por la estabilidad de la membrana en este tipo de células. La existencia de los receptores a la transferrina en los reticulocitos fue demostrada por primera vez por Jandl y cols. (1959) y desde entonces se ha acumulado bastante información sobre el tema y en varias líneas celulares.*

*Esta aceptado mayoritariamente que dentro de la misma especie, la estructura de los receptores a la Tf es la misma, aunque puede haber diferencia en la porción de los hidratos de carbono (Huebers y Finch, 1987).*

*El receptor a la Tf se identificó como una proteína transmembranal con un peso molecular de 180000 constituida por dos subunidades idénticas unidas por enlace disulfuro (Kühn, 1984; Schneider, 1984). La Tf diférrica después de donar el hierro a los tejidos se convierte en apotransferrina (Huebers y cols., 1981; Huebers y cols., 1983; Schristensen y cols., 1978).*

*Se han presentado varios modelos para explicar el mecanismo por el cual el hierro penetra dentro de la célula.*

*Fielding y Speyer (1974) proporcionaron un esquema en el cual la Tf pierde su hierro mientras se localiza en la superficie celular unida a su receptor y el hierro después*



*penetra en la célula tras su reducción por la acidez local o por su unión a un quelato de unión en la membrana. Trabajos posteriores han apoyado esta hipótesis (Nunez y cols., 1983; Nunez y Glass, 1983). Sin embargo, la mayoría de los investigadores coinciden en que el hierro se libera de la Tf predominantemente dentro de la célula (Dautry-Varsat y cols., 1983; Iacopeta y Morgan, 1983; Morgan, 1981).*

*El punto clave en el funcionamiento de este proceso es la acción del pH sobre la afinidad del receptor por la Tf o apotransferrina: a nivel de la membrana celular, la Tf se une a su receptor a pH neutro. El complejo Tf-receptor forma una vesícula, endosoma, que penetra dentro de la célula. Dentro de la célula, debido a la inestabilidad del complejo Tf-Fe en medio ácido (pH = 5,5), el hierro se disocia de la Tf y gracias a la afinidad de la apotransferrina a su receptor a pH = 5,5, está se queda unida al receptor y vuelve a la superficie celular por exocitosis. Como el pH al exterior de la célula es neutro (pH = 7,4), la apotransferrina se disocia de su receptor (FIGURA V).*

*A nivel del reticulocito, la captación del hierro se explica según unos autores por endocitosis (Morgan, 1981; Iacopetta, 1983), según otros, el proceso de captación del hierro es demasiado rápido en comparación con el tiempo que puede durar la endocitosis (Nunez y Glass, 1983).*

*Esta discrepancia en los resultados invoca a la posibilidad de que a nivel del reticulocito, los dos modelos de captación pueden ser utilizados (Bezkorovainy, 1989a).*

*A nivel hepático, la captación de hierro por un receptor a la transferrina fue estudiado por primera vez por Grohlich y cols. (1977). Los resultados de los trabajos llevados a cabo sobre el tema a nivel hepático son muy distintos. Según unos investigadores, el hierro puede ser liberado de la Tf a la superficie de los hepatocitos (Cole y Glass, 1983; Thorstensen y Romslo, 1984). Otros sin embargo, hablaron de una endocitosis fluida, que*



no implica receptores a la Tf (Sibille y cols., 1986) y que la implicación de tales receptores se observa solo en baja concentración de Tf (Morgan y cols., 1986; Sibille, 1986). Trabajos recientes basados sobre el uso de anticuerpos monoclonales, han estimado que cada hepatocito de rata lleva aproximadamente 47000 receptores de la transferrina a la superficie y 82000 receptores en el interior de la célula (Rudolph y cols., 1988).

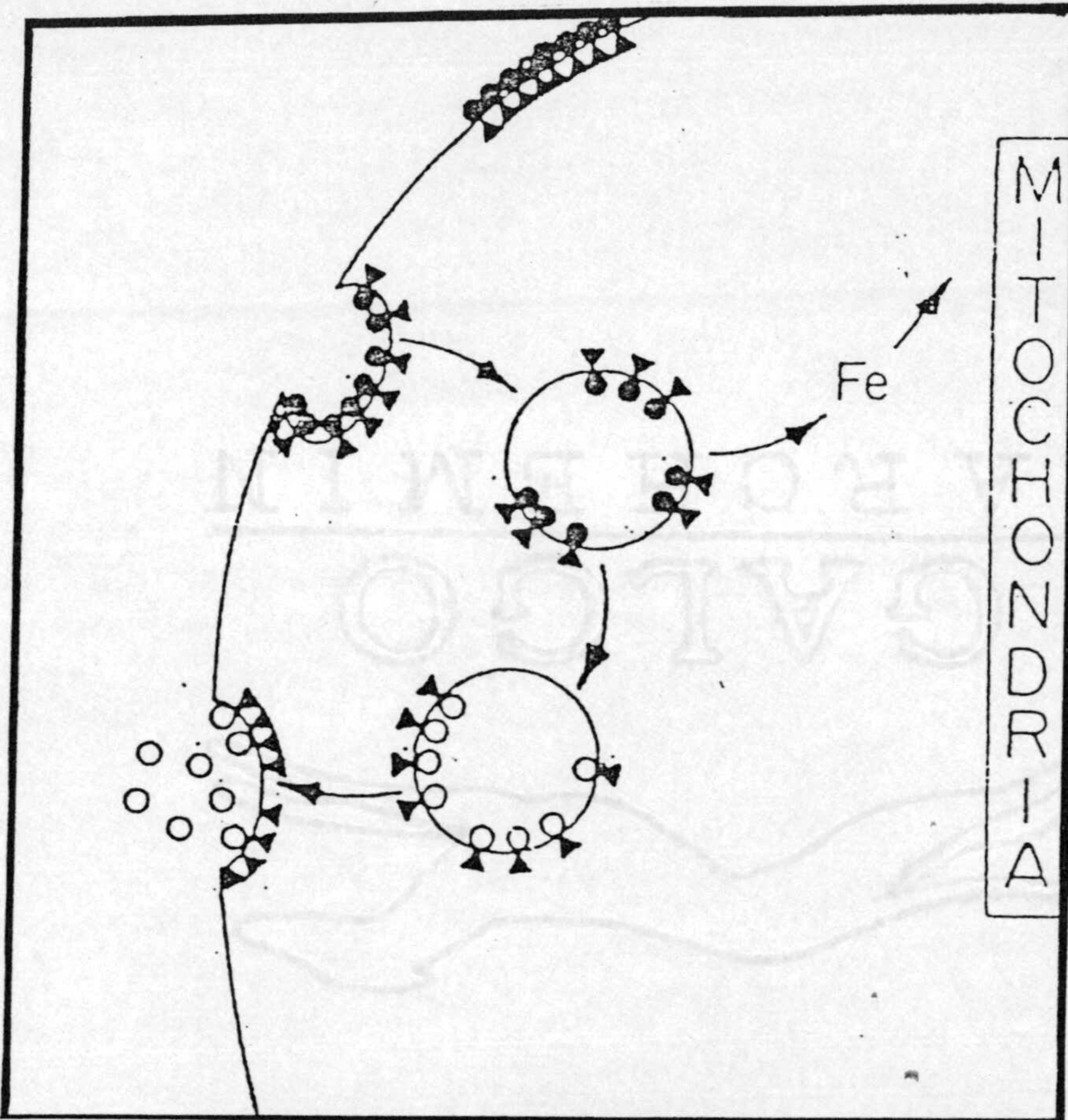


FIGURA V: Captación intracelular de transferrina. Círculos negros: complejos hierro-transferrina; círculos blancos: transferrina sin hierro; triángulos: receptores. Se ilustra la formación de un complejo de receptor-hierro-transferrina en toda la membrana celular y la liberación intracelular de hierro. (Tomado de Helmut y cols., *Physiological Reviews*, 67 (2): 520-582, (1987)).



*Quizás la interpretación de ésta contradicción entre los distintos trabajos es la misma que para los reticulocitos y que el proceso de endocitosis mediante un receptor es uno entre varios (Thorstensen, 1987).*

*Además de los receptores a la Tf, se han detectado receptores a la ferritina en hepatocitos de rata (Mack y cols., 1983). Dentro de los hepatocitos, se ha mencionado un posible papel de la ferritina como proteína transportadora del hierro (Sibille y cols., 1988): las células de Kupffer adquieren el hierro por eritrofagocitosis y lo liberan como ferritina. Se ha demostrado que 160 ng de ferritina es liberada por  $10^6$  células de Kupffer, 24 horas tras su incubación a 37°C. Esta ferritina al incubarla con hepatocitos aislados rápidamente es captada en un ritmo de más de 160000 átomos de Fe/célula/min. Tal captación no se ve afectada por la concentración de Tf, pero si está limitada por los niveles hepáticos de ferritina. Kondo y cols. (1988) demostraron que las células de Kupffer, como los macrófagos, liberan el hierro adquirido por eritrofagocitosis en un ritmo dependiente de la temperatura y de la concentración de apotransferrina. El traspaso de hierro bajo forma de ferritina de las células de Kupffer a los hepatocitos ayuda a entender la resistencia del hígado a la deficiencia de hierro así como su susceptibilidad a una sobrecarga del metal (Sibille y cols., 1988).*

*El hígado es el mayor sitio de almacenamiento de hierro, se encuentra en las mitocondrias, en la ferritina o en el pool de hierro de bajo peso molecular (Baker, 1985). Además, es el lugar de la síntesis de transferrina y ferritina, los dos grandes componentes del metabolismo de hierro. El hígado sintetiza estas dos moléculas en función del estado de hierro en el organismo (Nakagawa, 1989), lo que atribuye al hígado un papel muy importante en la regulación homeostática del metabolismo del hierro.*

*La regulación homeostática del hierro celular en hepatocitos, como en todas las células del organismo sobre todo las que están más comprometidas en el almacenamiento,*



*circulación y utilización de hierro, está más entendida gracias al descubrimiento de unas estructuras moleculares citoplasmáticas de capital importancia en este sentido.*

*Se sabe que en la mayoría de las células, la captación del hierro es proporcional al número de receptores a la Tf expresados en la superficie de la membrana celular (Kühn y cols., 1990). Además de esto, se ha observado que los niveles de ferritina fluctúan paralelamente con el aporte de hierro a la célula (Aziz y Munro, 1986; Shull y Theil, 1982; Zähringer y cols., 1976); y la síntesis o no del hemo está condicionada por los niveles del hierro celular.*

*Se ha identificado una secuencia de nucleótidos en la región 5' no traducida del RNAm de las subunidades L y H de la ferritina humana (Aziz y Munro, 1987; Hentze y cols., 1987) llamada "Iron responsive element" (IRE) (Casey y cols., 1988) que actúa como lugar regulador de la síntesis de la ferritina (Ft,IRE); como se han demostrado varios IRE situados en la región 3' no traducida del RNAm del receptor a la transferrina (RTf,IRE) (Mülner y Kühn 1988) muy parecido al (Ft,IRE). Similarmente, existe un IRE relacionado con la región 5' del RNAm de la sintetasa del ácido delta levulínico (DALAS,IRE) (May y cols., 1990) y otro relacionado con la región 5' del RNAm de la aconitasa (Aco,IRE) (Dandekar y cols., 1991).*

*Además, se ha aislado una proteína citoplásmica que se une específicamente a estos IRE, llamada "Iron regulatory factor" (IRF) o proteína represora de ferritina (FRP). Esta proteína es continuamente expresada en la célula pero su afinidad de unión al "Iron responsive element" es función del estado del hierro en la célula (Haile y cols., 1989; Hentze y cols., 1989; Müllner y cols., 1989).*



*Así a baja concentración del hierro en el citoplasma, el IRF (proteína de unión al RNAm) se activa manifestando una alta afinidad por todos los tipos de IRE en distintas RNAm. esta unión produce:*

*- una inhibición de la degradación del RNAm responsable de la expresión de los receptores a la Tf y en consecuencia conduce a una estabilidad de estos receptores a la Tf (Müllner y Kühn 1988).*

*- una inhibición de la traducción del RNAm de la ferritina, bajando así los niveles de esta proteína en la célula privada de hierro (Brown y cols., 1989; Leibold y Munro, 1988; Rouault y cols., 1988; Waldon y cols., 1989).*

*- una inhibición de la traducción del RNAm de la sintetasa, parando de este modo la vía de síntesis del hemo en una célula con bajo contenido del metal.*

*Sin embargo, en alta concentración de hierro disminuye la afinidad del IRF por sus IRE y ocurre todo lo contrario (FIGURA VI).*

## **B. FERROPROTEINAS**

### **HEMOGLOBINA**

*Quizás el papel más destacado del hierro en la nutrición es su intervención en el transporte del oxígeno a las distintas células de la economía. Es constituyente integral de la hemoglobina, el pigmento de los eritrocitos, y en esta forma es vital en los fenómenos de la nutrición. El complejo hemoglobina- oxígeno aumenta considerablemente la solubilidad acuosa del oxígeno.*





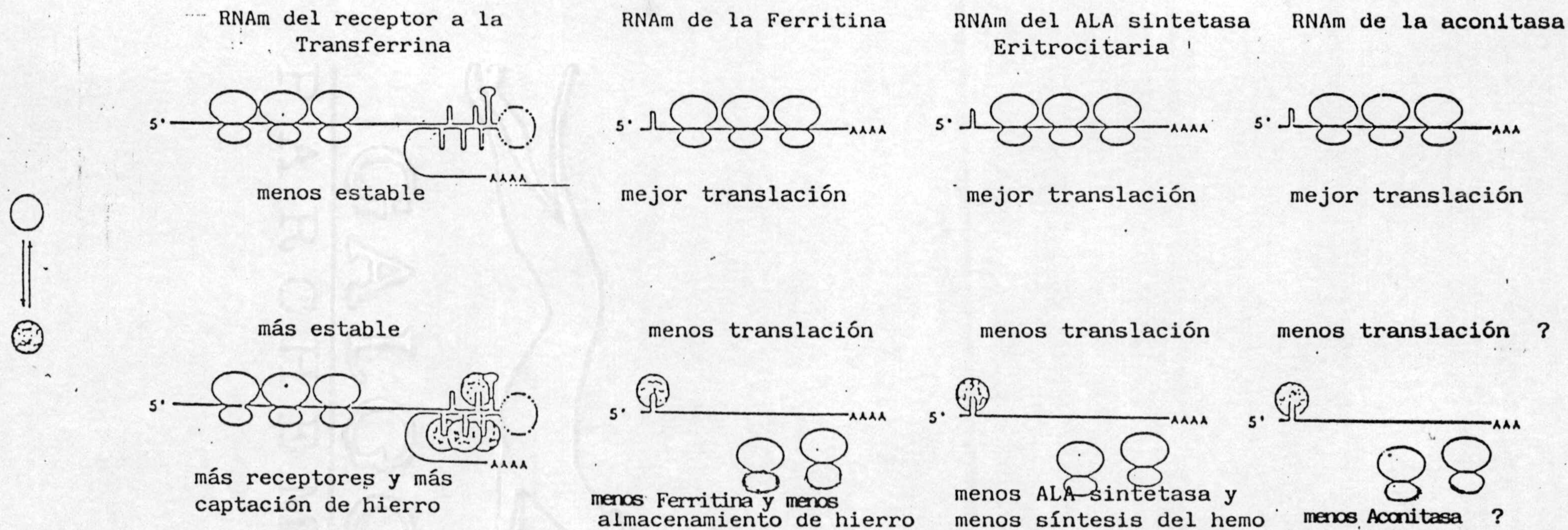


FIGURA VI: Control coordinado de las rutas centrales en el metabolismo del hierro. Cuando el nivel del hierro es bajo, la proteína de unión al RNA (IRF), se activa y se une a los IRE en distintos RNAm. Esto, inhibe la degradación del RNAm R Tf y la traslación de la ferritina, ácido delta amino levulínico sintetasa (ALA-sintetasa) y puede ser aconitasa. Así, la captación del hierro y la biosíntesis del hemo están ajustadas al hierro disponible. Con respecto al receptor a la Tf (R Tf) y ferritina, los cambios observados tienden a compensar la falta del hierro, y puede ser considerado así, como una regulación por feedback, que asegura el mantenimiento de la homeostásis del metal. (Tomado de Kühn, Br. J. Haematol., 79: 1-5, (1991)).



*Un hombre con un volumen sanguíneo de 5000 ml y un nivel de hemoglobina de 15 g/100 ml tiene 750 g de hemoglobina circulante o 2,55 g de hierro en forma de esa hemoglobina.*

*En términos fisiológicos, la cantidad del hierro que entra a formar parte de la hemoglobina se expresa como eficacia de la eritropoyésis (EOE) que es el porcentaje de hierro absorbido incorporado al hierro de la hemoglobina o eficacia de regeneración de hemoglobina (HRE).*

*Los dos índices se utilizan en muchos trabajos para evaluar la biodisponibilidad de hierro a partir de distintas fuentes dietarias (Buchowski y cols., 1989; Kalpalathica Mrudula y cols., 1991; Pallarés y cols en prensa; Zhang y cols.,1989).*

*El mantenimiento del estado firme de hierro en el organismo se debe a la reutilización continua del hierro liberado de los eritrocitos. Las células del sistema mononuclear fagocítico, sobre todo en el hígado (células de Kupffer), bazo y médula ósea se encargan de extraer la hemoglobina, descomponer el hem y liberar el hierro, que vuelve a aparecer unido a la transferrina plasmática (Bezkorovainy, 1989a). La síntesis de la hemoglobina se realiza junto con la maduración del eritrocito en la médula ósea y dura lo mismo que la de la célula. Esta síntesis está finamente controlada por factores endocrinos y paracrinos entre los que cabe destacar:*

- interleukina  $Il_3$ .*
- eritropoyetina.*
- prostaglandina  $PG_1$  y  $PG_2$ .*
- el sistema mononuclear fagocítico.*



## **MIOGLOBINA**

*Se encuentra únicamente en los músculos, guarda relación con la hemoglobina hemática en su estructura y función:*

- es una globina unida a un sólo grupo hemo que contiene un átomo de hierro.*
- se encarga de proporcionar el oxígeno a los músculos y extraer el bióxido de carbono. Contiene el 10% del hierro total. Es la responsable de la alta biodisponibilidad de hierro en la proteína de origen animal.*

## **CITÓCROMOS**

*Contienen un grupo hemo, se encuentran localizadas en las mitocondrias y en enzimas celulares de todas las células del organismo. Están implicadas en el transporte de electrones y en reacciones de fosforilación oxidativa. La presencia del hierro en los citóchromos es otro papel crítico del metal además de su función de transportador de oxígeno.*

## **ENZIMAS Y SISTEMAS ENZIMÁTICOS**

*Muy poca cantidad de hierro se encuentra en determinados sistemas enzimáticos. Así entre los más destacados por su implicación en vías metabólicas importantes cabe destacar:*

- La CATALASA y PEROXIDASA son ferrozimas responsables de la capacidad microviciada del sistema fagocitario.*



- Las **PROTEÍNAS FERROSULFOROSAS Y METALOFLAVOPROTEINAS** contienen el hierro no hemo en su estructura, se encuentran en mitocondrias donde se encargan de reducir los compuestos tales como NADH-DH, succínico-DH y xantina oxidasa. En mitocondrias aisladas de tejido adiposo marrón de ratas deficientes en hierro, la actividad específica del sistema de transporte electrónico (NADH, succinato) y la actividad de la Ó-glicerofosfato oxidasa estaba significativamente disminuida (Mackler y cols., 1985).

- El hierro también actúa como cofactor de sistemas enzimáticos como **FOSFOENOL PIRUVATO CARBOXINASA Y TRIPTOFANO PIRROLASA** (Dallman, 1986).

#### **2.1.3.3.2. DEPOSITO DE HIERRO**

*El hierro que excede de las necesidades se encuentra almacenado bajo forma de ferritina y hemosiderina.*

##### **A. FERRITINA**

*Se le atribuye tres importantes funciones en el metabolismo del hierro: desintoxicar, reservar y transportar el hierro (Joshi y cols., 1988). Es la única forma de almacenar el hierro en la célula sin provocar ningún daño por toxicidad del metal. La ferritina está ampliamente distribuida en el organismo con mayor proporción a nivel del hígado, bazo y médula ósea, los tres órganos principales más implicados en el metabolismo del hierro. Constituida de 24 subunidades idénticas que rodean en forma esférica a una micela de hidroxifosfato férrico. Cada una de estas subunidades, a su vez, está constituida de 5 segmentos de residuos de aminoácidos (Ford y cols., 1984). Existen interacciones*



polares y físicas entre las subunidades de la molécula que dan lugar a varios canales (6 canales) que conectan el interior de la esfera con el exterior. El diámetro de estos canales (0,7 nm) es tan grande que permite la entrada de moléculas del tamaño del FMNH<sub>2</sub> (mononucleótido de riboflavina reducido), al cual se le atribuyó, por lo menos "in vitro", un papel en la liberación del hierro de la ferritina (Thomas, 1986); monosacáridos y ácido ascórbico.

Se han detectado, en el caso de humanos, dos isómeros de ferritina H y L. La diferencia entre ellos consiste en el peso molecular, composición, secuencia de aminoácidos y propiedades electroforéticas, guardando un 50 a 60 % de analogía. Cuando abunda la subunidad H (corazón), la ferritina es ácida, mientras la ferritina con alto contenido en la subunidad L (Hígado) es más básica.

Distintas combinaciones de los dos subunidades pueden producir un polimorfismo de ferritinas aisladas de distintos tejidos del mismo animal (Drysdala, 1977).

Se han aislado 3 subunidades distintas de ferritina a partir del bazo de cerdo (Collawn, 1987). El hierro se encuentra en la cavidad de la molécula de ferritina en forma de micelas de hidróxido férrico (FeOOH)<sub>8</sub>.

El hierro al estado ferroso penetra en la cavidad de ferritina mediante uno de sus canales, se oxida al Fe<sup>3+</sup> por la actividad ferroxidasa de la ferritina misma. Después el Fe<sup>3+</sup> se une a un sitio específico contribuyendo así al crecimiento de micelas de hidróxido férrico (Ford, 1984). Este modelo propone que la oxidación del hierro tiene lugar en el canal mientras penetra dentro de la ferritina. Sin embargo otros modelos sugieren que la oxidación ocurre dentro de la ferritina (Bakker, 1986).



*El tamaño del hierro depositado dentro de la ferritina es de aproximadamente 1 g en hombres y 400 mg en mujeres. La ferritina puede tener hasta 4500 g átomos de hierro como hidroxifosfato férrico (Joshi y cols., 1988).*

*La liberación del hierro de la ferritina no requiere la presencia de ningún quelato de unión al metal (Monteiro y cols., 1989). El hierro férrico ( $Fe^{3+}$ ) de la ferritina es liberado sólo después de su reducción al estado ferroso ( $Fe^{2+}$ ).*

*Tanto "in vitro" como "in vivo", se ha demostrado que la ferritina puede contener otros iones metálicos como Cu, Zn, Cd, Pl, Be y Al (Joshi y cols 1988).*

*El valor de ferritina sérica es del orden de 94 ng/ml en hombres y 34 ng /ml en mujeres (Cook y cols., 1974). Esta medida se considera muy fiable para evaluar el tamaño de los depósitos de hierro. Así, la Life Sciences Research Office (LSRO, 1985) utilizó, entre sus estrategias, el valor de la ferritina sérica para calcular la prevalencia de la alteración del equilibrio de hierro.*

*En órganos de ratas adultas, la cantidad de ferritina es de:*

	Hígado	Riñón	Corazón	Mucosa intestinal
Ferritina ( $\mu$ g/g)	600	120	33	22

*(Munro, 1978).*

## **B. HEMOSIDERINA**

*Es una proteína que se distingue de la ferritina por su insolubilidad en agua y por su alta capacidad de contener el hierro (aprox. 30 % más que la ferritina). Se piensa*



*que es una forma degradada de la ferritina, Los radicales de hidróxido férrico están encerrados dentro de la molécula de ferritina donde las demás biomoléculas celulares están protegidas del efecto tóxico de estos radicales. Pero una alta concentración de estos últimos produce daños oxidativos en la capa proteíca de la ferritina. Es el proceso de formación de la hemosiderina (Grady y cols., 1989).*

*En hígado y bazo de animales normales, los depósitos de hierro se presentan como ferritina más que como hemosiderina, mientras en presencia de un exceso del metal predomina la hemosiderina.*

### **MOVILIZACIÓN DEL HIERRO INTRACELULAR**

*La movilización intracelular de hierro requiere un equipamiento enzimático que cataliza su conversión al estado ferroso o férrico según la necesidad. La importancia crítica de este equipamiento se ve claramente en situaciones patológicas por falta de uno o más de las enzimas implicadas, como la anemia provocada por falta de la ceruloplasmina (Frieden, 1983) (FIGURA VII).*

#### **2.1.4. FACTORES QUE AFECTAN LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE HIERRO**

*Lo que constituye el factor determinante para la cobertura de los requerimientos, más que la cantidad de hierro presente en los alimentos, es la calidad del mismo.*



Lo que constituye el factor determinante para la cobertura de los requerimientos, más que la cantidad de hierro presente en los alimentos, es la calidad del mismo.

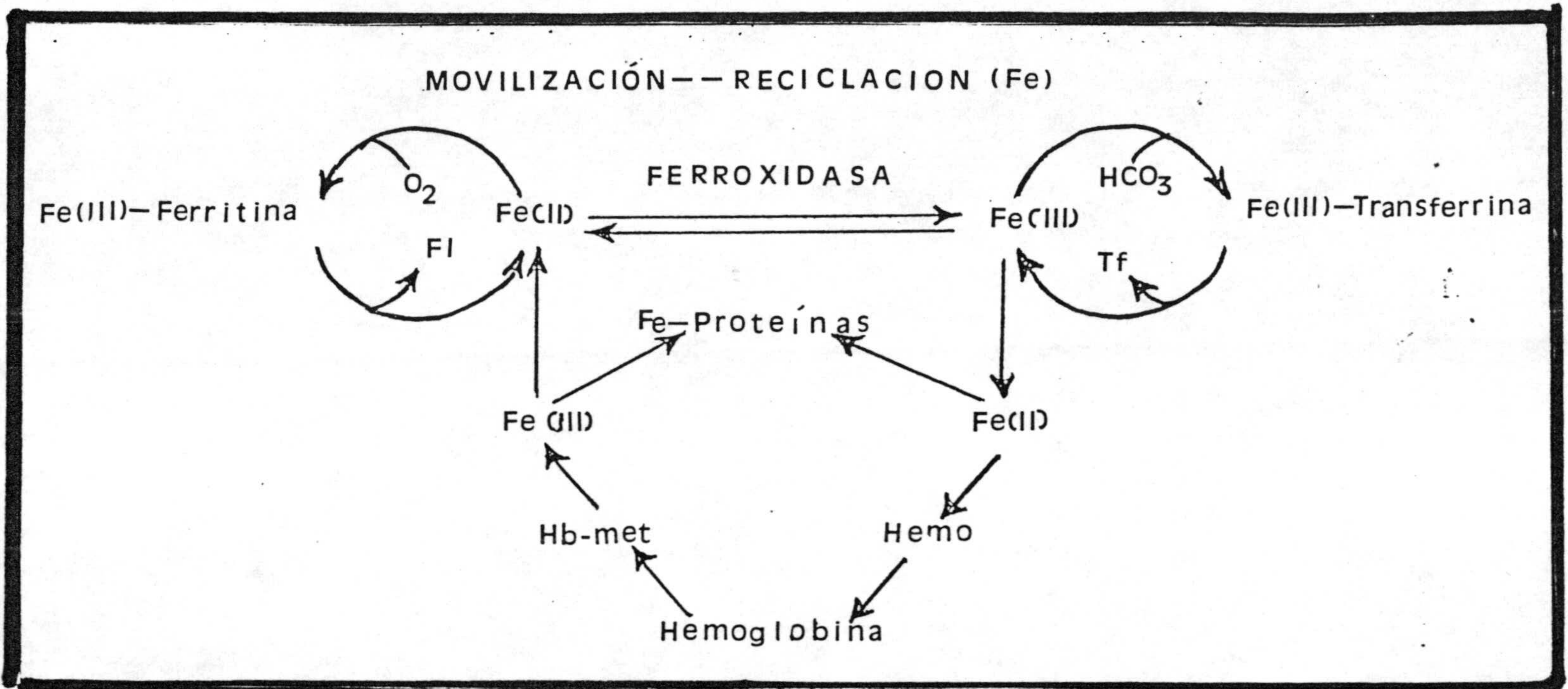


FIGURA VII: Interacciones entre el hierro férrico y ferroso en una típica célula humana. La ferroxidasa extracelular es la ceruloplasmina. La conversión del Fe<sup>3+</sup> puede realizarse por acción de enzimas llamadas ferrireductasas. FE = ferritina; Tf = transferrina; Hb = hemoglobina. (Tomado de Frieden, Semin. Hematol., 20:114-117, (1983)).



*Si la biodisponibilidad de hierro hemo es muy alta (Coeficiente de absorción del orden de 25 %), el hierro no hemo es sujeto a la acción de muchos factores. Así, entre los componentes dietarios que afectan la absorción de hierro se encuentran los fitatos, fibra, proteína de la dieta...etc.*

*Los polifenoles tienen un efecto inhibitor sobre la absorción de hierro no hemo (Gillooly, 1983), Sobre todo los que tienen un alto peso molecular (taninos). Así el papel nocivo del té sobre la utilización nutritiva del hierro se explica por su alto contenido en taninos (Disler y cols., 1975; Hallberg y cols 1982). Este fenómeno fue observado por primera vez por Disler y cols (1975); una sola taza de té tomada durante la comida puede disminuir la absorción de hierro de 11 a 2,5 %. Esto se debe a la formación de precipitados insolubles de taninos de hierro. El té, experimentalmente es el inhibidor de la absorción de hierro más potente que se conoce actualmente. La presencia de los polifenoles en vegetales, legumbres, explica la baja disponibilidad del hierro contenido en este tipo de alimentos (Gillooly, 1983; Rao, 1982).*

*Los fitatos disminuyen la biodisponibilidad de hierro dietario (Gillooly, 1983; Hallberg, 1987), debido probablemente a la formación de fitatos di y tetraférricos muy poco disponibles (Ellis y cols., 1982).*

*El efecto inhibitor del salvado sobre la absorción de hierro es debido casi completamente a su contenido en fitatos (Mats Brune y cols., 1992). Este efecto puede ser atenuado cuando la dieta contiene suficiente cantidad de carne o/y ácido ascórbico (Hallberg, 1987). Así mismo, una digestión enzimática de fitatos o una previa limpieza del salvado con HCl disminuye la intensidad de este factor (Hallberg y cols., 1987b).*

*Muchos trabajos han mencionado que la fibra dietaria interacciona con el hierro "in vitro" (Fernández, 1982). El modo de unión del hierro con distintos tipos de fibra,*



*"in vitro", sugiere que tales complejos son muy poco disponibles (Rossander, 1987). Cook y Reusser, (1983) encontraron que la absorción de hierro es de 6,1% a partir de una comida pobre en fibra y de 3 % cuando la comida contiene alto contenido en fibra. Según estos autores, el efecto de la fibra es función de su naturaleza, así, no se ha visto ninguna inhibición sobre la absorción del metal cuando la fibra dietaria es pectina o celulosa, mientras que como salvado, la fibra afecta seriamente la utilización nutritiva de hierro.*

*Otro factor que puede limitar la absorción de hierro de la dieta es el contenido de esta última en proteínas.*

*Normalmente, la proteína dietaria estimula la absorción intestinal de hierro pero tal estimulación no se ha observado en el caso de muchos alimentos vegetales con alto contenido proteico (Derman, 1987; Mac farlene, 1988; Martinez- Torres, 1986). El efecto de la proteína parece depender del tamaño de los complejos moleculares que se forman a partir de distintas fuentes proteicas. Los péptidos de alto peso molecular limitan la absorción de hierro (Kane y cols., 1984).*

*Entre los cationes que pueden tener un efecto limitador sobre la absorción de hierro, destacan calcio y fósforo. Su efecto perjudicial se debe probablemente a la formación de complejos calcio-fosfato-hierro cuya disponibilidad es muy limitada (Bothwell y cols., 1989). También se ha observado que la dieta suplementada con calcio produce una disminución en los hematocritos (Hatton y cols., 1991).*

*Todos estos factores inhibidores no afectan la disponibilidad de hierro hemo. Como se ha mencionado anteriormente, el hierro hemo no está sujeto a la acción de los distintos componentes dietarios. Sin embargo, se ha visto que el tratamiento de la comida puede condicionar la biodisponibilidad del hierro hemo. Es el caso de un calentamiento prolongado de la comida que puede conducir a una desnaturalización del hemo y en*



consecuencia limitar marcadamente su absorción (Martinez-Torres, 1986). Tal efecto parece ser dependiente de la intensidad del calor, porque en otros trabajos se ha observado que el calor no afecta la eficacia de regeneración de hemoglobina a partir de una dieta que contiene mezcla de carne/ $\text{FeSO}_4$  y carne/hemoglobina (Jansuittivechakul y cols., 1985; Jansuittivechakul y cols., 1986).

Además de estos factores dietarios, el estado de hierro puede estar afectado por situaciones patológicas, unas de carácter genético hereditario y otras adquiridas.

- Así, la hemocromatosis genética es una enfermedad caracterizada por una capacidad absorbente de hierro anormalmente aumentada. La hemocromatosis adquirida es una patología que surge como resultado de diversas situaciones como transfusiones de sangre masivas, acumulación excesiva de hierro por eritropoyésis ineficaz, consumo excesivo del metal durante períodos prolongados de tiempo o ciertas hepatopatías (cirrosis alcohólica...etc) (Linder, 1988).

- En el caso de un pH duodenal excesivamente alcalino, se forman hidróxidos de hierro muy poco solubles. Esto ocurre en individuos con insuficiente secreción de ácido gástrico (Aclorhídria).

- Atransferrinemia es una patología observada en determinadas enfermedades genéticas y en consecuencia se produce un descenso en los niveles plasmáticos de hierro y una severa anemia ferropénica, aunque estén saturados los depósitos hepáticos de hierro (Green y cols., 1968; Hefer y cols., 1966).

- Los pacientes que padecen una perturbación renal con hemodialisis crónica, manifiestan un estado de anemia de hierro (Nuwayri-Salli y cols., 1990).



- En pacientes con estrés severo, los niveles de hemoglobina en sangre, la saturación de transferrina sérica, así como la concentración de hierro sérico son muy bajos (Bobbio- Pallavicini, 1989).

- La inflamación es otra situación patológica en la cual se ve muy alterado el estado del hierro. Están adquiriendo en la actualidad una gran importancia todos los procesos que alteran el sistema mononuclear fagocítico debido a la posición central que ocupan los macrófagos en el metabolismo del hierro (Refsum y Schreiner 1984).

Estas son unas, sino todas, de las situaciones patológicas que seriamente afectan el estado de hierro en el organismo.

Así, una dieta con bajo nivel de hierro o con alta concentración de uno de los inhibidores de la absorción del metal, citados arriba; como la presencia de alguna de estas situaciones patológicas altera el estado del hierro en el organismo. El esquema más representativo de dicho estado alterado es la anemia con todos sus cuadros clínicos.

## **UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE CINC**

### **2.2.1. INTRODUCCIÓN**

El papel del cinc como micronutriente esencial está bien establecido para las plantas, animales y seres humanos (Hambidge y cols., 1986). Es un elemento traza ampliamente distribuido por todas las células y tejidos, está relacionado con la actividad de



*numerosas enzimas que actúan en todas las áreas del metabolismo (Prasad, 1991). 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 la reparación de las células.*

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

*Tood y cols. en 1934 fueron los primeros en mostrar la importancia de cinc en el crecimiento de ratas.*

### **2.2.2. 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 Turnlund, 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 de 20 a 30 %, se recomienda 8 a 12 mg de cinc /día (1990).*



*Con respecto a la biodisponibilidad del metal, el cinc de origen animal, en carne, hígado, huevos y los mariscos, especialmente las ostras, es más disponible que el cinc procedente de alimentos vegetales (Linder, 1988; R.D.A., 1991).*

*Los requerimientos de cinc en rata son de 12 mg/Kg de dieta (según American Institute of Nutrition , 1979).*

### **2.2.3. METABOLISMO**

#### **2.2.3.1. ABSORCIÓN DE CINCO**

*Los mecanismos implicados en la absorción de cinc no están bien definidos. Sin embargo, el concepto de la regulación homeostática de la absorción intestinal del cinc fue desarrollada por primera vez por Cotzas y Papavasiliou (1964). El control homeostático regula la capacidad de absorción intestinal (Hoadley y Cousins, 1988; Smith y Cousins 1980), así como la excreción endógena (Weigand y Kirchgessner, 1980). Así, muchos trabajos 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 del cinc tampoco está bien definido. Según Davies (1980), el duodeno es lugar de la máxima absorción; Antonson (1979) detectó la máxima absorción en íleon y yeyuno (Ghisham 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 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.*

#### **2.2.3.1.1. MECANISMOS DE ABSORCIÓN DE CINC**

*El proceso de absorción de cinc a nivel intestinal parece implicar dos mecanismos: uno saturable y requiere un transportador y otro (pasivo) no saturable, sin transportador intermediario (Hoadley, 1988; Steel, 1985), hecho confirmado por muchos investigadores (Menard y cousins, 1983; Ostrecher y Cousins, 1989).*

*Muchos trabajos han descrito la naturaleza bifásica de la captación del cinc (Lombeck y cols., 1975; Pearson, 1966; Sahagian y cols., 1967). Recientemente, Davies (1980) y Smith y Cousins (1980) observaron dos fases en la absorción de cinc en función de la concentración del cinc luminal. Una fase rápida a través de la membrana de 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 que se une no específicamente 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), la cantidad total de cinc absorbido en dietas bajas en cinc puede ser parecido a lo observado en altas ingestas de cinc dietario.*

*Menard y Cousins (1983) estudiaron la captación de cinc por vesículas aisladas de membrana de borde en cepillo de intestino de rata mediante una técnica de filtración rápida. La captación era saturable a 0,2 Mm de cinc extravascular. A partir de una concentración de 1 Mm se expresa el mecanismo no saturable. A nivel de la membrana basolateral, la captación no se ve estimulada ni con ATP ni con sodio.*

*La necesidad de un transporte activo en alguna fase de captación de cinc fue mencionada en muchos trabajos. 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 la secreción, en mucosa yeyunal de rata es un fenómeno dependiente de energía. Sahagian, Harding-Barlow y Perry (1967) en experiencias de perfusión intestinal demostraron que la adición de 2,4 dinitrofenol aumenta hasta 7 veces la absorción de cinc. Según estos investigadores, el inhibidor cambia la permeabilidad intestinal al  $Zn_{2+}$ . Según otros, el transporte de cinc requiere energía en alguna de sus fases (Schwarz y Kirchgessner. 1977).*

*Menard y Cousins (1983a), por lo menos a nivel de la membrana del borde en cepillo, no detectaron ningún transporte activo de cinc, pero si demostraron una alta regulación homeostática de la captación del metal. La velocidad de captación de cinc por*



vesículas de membrana de borde en cepillo aumenta significativamente cuando las vesículas provienen de ratas deficientes en cinc, comparadas con vesículas de ratas controles ( $J_{max}$  12,0 Vs 5,4  $\mu\text{mol}$  por min y mg de proteína, pero el  $K_m$  (0,4) no cambiaba). (Menard y Cousins 1983a).

Además, se ha visto que muchas proteínas de la membrana del borde en cepillo están influenciadas por el estado nutricional de cinc, incluyendo su depleción (Menard y cols., 1983a). Sin embargo, un estado de deficiencia de cinc no afecta la composición proteica de la membrana basolateral (Oestreicher y Cousins, 1989). La captación en este nivel se hace principalmente por transporte activo mediante un transportador. Al contrario de lo ocurrido a nivel de la membrana del borde en cepillo, la cinética de captación, a nivel de la membrana basolateral, no parece estar muy influenciada por el estado de cinc dietario por lo menos durante un período de tres días de deficiencia. El transporte de cinc a este nivel, puede implicar un mecanismo dependiente del ATP.

#### 2.2.3.1.2. LIGANDOS DE UNIÓN

##### LIGANDOS DE UNIÓN AL CINC NO ESPECÍFICOS

La importancia fisiológica de los ligandos de unión al cinc, tanto endógenos como exógenos, ha sido objeto de intensas investigaciones. Suso y Edwards (1971, 1972) demostraron que el EDTA es un quelato de alta afinidad por el cinc y que el EDTA-Zn 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 estimula la absorción de cinc. Y entre los aminoácidos, la histidina (Wapnir y cols., 1983), y el ácido glutámico (Martin y cols., 1981; May y cols., 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 20 Mm de glucosa a una solución de perfusión (acetato de cinc), aumenta la absorción de cinc desde  $459 \pm 39$  hasta  $582 \pm 45$  nmol/min 40 cm (Lee y cols., 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 en torno al citrato y picolinato. Según Linder (1988) , el citrato destaca por su gran importancia como estimulador de la absorción de cinc. Jackson y cols. (1981) atribuyeron el ligero aumento de la absorción de cinc en ratas normales a su unión al citrato (Jakson y cols., 1981). 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 leche humana, en comparación con leche de vaca, se explica por la presencia en leche humana de quelatos de bajo peso molecular que están captados más eficientemente por la mucosa intestinal que el cinc de leche de vaca privada de estos quelatos (Cousins, 1989). Entre ellos se encuentran el citrato y el picolinato (Evans, 1980).*

*Los estudios que apoyan la participación del ácido cítrico y picolínico en la homeostasis del cinc son muy complejos y se han basado sobre observaciones en humanos con acrodermatitis enterohepática (alteración genética) 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, 1980). La respuesta terapéutica de lactantes con esta enfermedad a la suplementación con picolinato de cinc (Krieger y Evans 1980; Krieger 1980), como su presencia en un extracto de enzimas pancreáticas (Krieger 1980); así como su identificación en leche humana (Evans y Johnson, 1980) apoyan el papel del picolinato como estimulador de la absorción del cinc . En cambio, según Hurley y Lönnnerdal (1982) esta hipótesis no parece tener ninguna validez. Las secreciones endógenas pueden contener factores que influyen sobre la absorción de cinc. Antonson y cols (1979) encontraron que la ligadura del conducto pancreaticobiliar disminuye la absorción de cinc en rata. En humanos, se ha visto que las secreciones pancreáticas son muy importantes en la absorción de alta dosis de cinc (Brandy, 1982).*

*Hurley y Lönnnerdal (1982) no confirmaron ningún efecto de las prostaglandinas sobre la absorción de cinc, mientras que Song y Adham (1978, 1979) han propuesto que  $PGE_2$  puede ser un quelato intraluminal endógeno del cinc que está relacionado con el mecanismo de absorción del cinc. Song (1988) demostró que el flujo de cinc en la dirección mucosa-serosa (absorción) aumenta con  $PGE_2$  o  $PGF_{2\alpha}$*

### **PROTEÍNA INTESTINAL RICA EN CISTEINA: CRIP**

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



*Está 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 (Birkenmeir y Gordon y cols., 1986; Hempe y Cousins, 1991).*

*Se trata de una proteína intestinal rica en cisteína: 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 de una proteína transportadora. El gen que codifica la síntesis de ésta proteína está poco expresado en el nacimiento, su expresión alcanza los niveles del adulto durante el período 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 cols., 1991) que permiten a la molécula de CRIP de unir por lo menos 2 o 3 átomos del cinc (Hempe y Cousins 1992). La secuencia conservada de los residuos de histidina y cisteína llamada "LIM motif", según Hempe y cols. (1991), confiere a la CRIP la propiedad de unirse al cinc (Hempe y Cousins, 1991). Se ha sugerido que este "LIM motif" está implicado en el traspaso de cinc de la CRIP a la proteína transportadora del cinc en la membrana basolateral (Freyd y cols 1990), y la probable interacción entre las dos proteínas.*

### **METALOTIONEINA (MT)**

*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 la absorción de excesiva cantidad del metal (Hoadley y*



cols., 1988). Su síntesis está controlada homeostáticamente por los niveles de cinc en la célula (Cousins, 1985).

### **2.2.3.2. RETENCIÓN DEL CINCO**

#### **2.2.3.2.1. VÍAS DE ELIMINACIÓN DE CINCO**

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

*En humanos, la retención del 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), incluyendo 0,8 mg de pérdida cutánea. Según Linder (1988), diariamente se contabilizan de 4 a 5 mg del catión procedente del material proteolítico del páncreas y en menor proporción de la bilis (Linder, 1988).*

*A diferencia del cobre, el cinc endógeno excretado puede ser reabsorbido y vuelto al organismo. Así, hay una importante circulación enterohepática de cinc. Fenómeno por el cual se logra conservar este mineral en el organismo (Solomons, 1988).*



*La excreción urinaria es una vía secundaria de eliminación del 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 del cinc dietario, pero si está muy alterada en situaciones patológicas (Askari, 1982). El cinc urinario pasa a través de los glomérulos renales y una vez filtrado, se excreta principalmente unido a aminoácidos y a porfirinas (Tosman-Jones y cols., 1978).*

*La capacidad limitada de excreción del 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 alta dosis de cisteína e histidina por niños mantenidos con este tipo de nutrición conlleva una excreción urinaria del metal significativamente alta (Zletkin, 1989). Muchos casos de deficiencia de cinc se observaron en nutrición parenteral infantil por excesiva excreción urinaria de cinc. La histidina, treonina y lisina aumentan la filtración del cinc renal (Zletkin y Buchanan, 1988).*

*Otras vías de excreción de cinc son pérdida de pelo, descamación de la piel, menstruación, semen, fluido prostático (Li y Valle 1987). Y evidentemente, en situaciones de embarazo o lactancia, cantidades importantes del metal se transfieren diariamente de la madre al feto o al lactante (Linder, 1988).*

#### **2.2.3.2.2. REGULACIÓN HOMEOSTÁTICA DEL BALANCE DEL CINC**

*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 metalotioneina 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 metalotioneina (MT) intestinal (Cousins, 1985; Menard y cols., 1981; Richards y Cousins, 1976). En animales deficientes en cinc en los cuales la absorción del metal es altamente eficaz, la concentración de metalotioneina en mucosa intestinal es muy baja. Sin embargo, en animales con sobrecarga de cinc, altos niveles de metalotioneina se detectaron en mucosa intestinal que se unen al cinc limitando su absorción. En estos experimentos la sobrecarga de cinc en ratas se debe a una alta dosis del metal administrado por vía parenteral, lo que limita la significación fisiológica de la hipótesis (Brenner y Beattie, 1990). Hoadley, (1988) en trabajos de perfusión intestinal con ratas deficientes en cinc, ratas con cinc adecuado en la dieta y ratas en ayuno demostró que la tasa de absorción de cinc está relacionada inversamente con los niveles de metalotioneina intestinal.*

*Hempe y Cousins, (1992) demostraron que en ratas alimentadas con una dieta baja en cinc, la mayoría del cinc captado por la célula intestinal fue unido a la CRIP (proteína intestinal rica en cisteína) (40 Vs 14%) y muy poca cantidad se encontraba en la metalotioneina (4 Vs 52-59%) en comparación con ratas normales. Además de esto, estos autores observaron también que cuando los niveles del cinc van aumentando en el lumen intestinal de 5 a 300  $\mu\text{mol/L}$ , la CRIP transporta cada vez menos cantidad del cinc (de 42 a 25%). Este cinc que sobra por saturación de la CRIP se une no específicamente a los demás componentes de unión al metal (Hempe Y Cousins, 1992).*

*Así, 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 metalotioneina intestinal (Cousins, 1985) que a su vez modula competitivamente, la unión del cinc a la CRIP (Hempe y Cousins, 1992)

(FIGURA VIII).

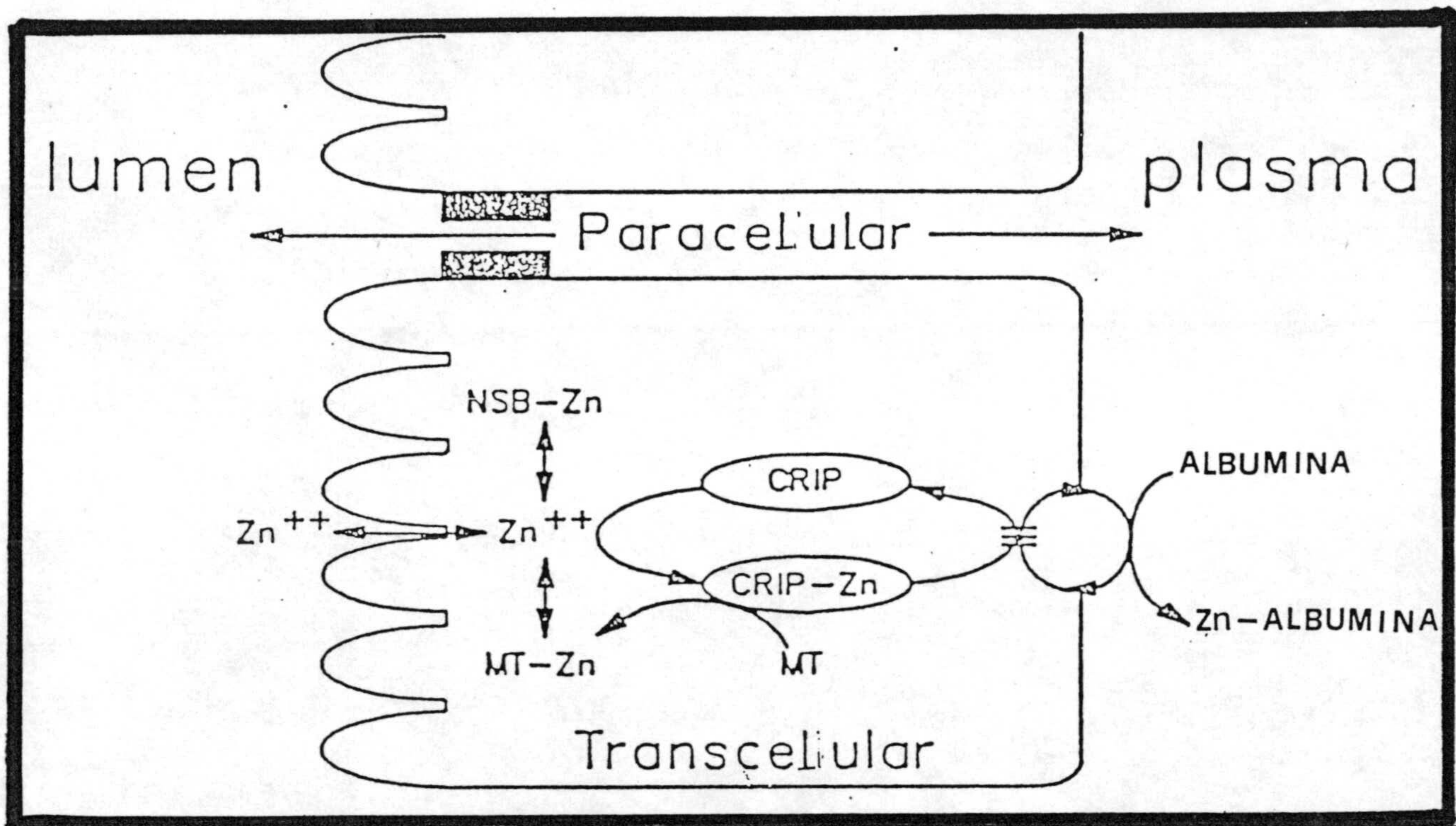


FIGURA: VIII: Modelo hipotético para el mecanismo de absorción del cinc transcelular por los enterocitos demuestra el papel propuesto para la proteína intestinal rica en cisteína (CRIP), la metalotioneina (MT) y constituyentes de unión al cinc no específicos (NSB). En este modelo, la CRIP funciona como una proteína de transporte de cinc intracelular difusible, que une el cinc después de captarlo a la superficie de la membrana de borde en cepillo; para transportarlo a través de la célula intestinal hacia la membrana basolateral. La proteína intestinal rica en cisteína ó CRIP puede competir con los NSB por el cinc. La posible implicación de una molécula aceptora/transportadora del metal en la membrana basolateral está indicada por (-). La metalotioneina inhibe la absorción del cinc limitando su unión a la CRIP.



### 2.2.3.3. DISTRIBUCIÓN EN EL ORGANISMO

*La cantidad total de cinc en el organismo oscila entre 1,4 y 2,5 mg (Linder, 1988). Una gran proporción del elemento se encuentra presente en el tejido óseo; el músculo por su gran masa total contiene el 65 % del cinc total (Linder, 1988).*

*La organización mundial de la salud (OMS) en 1973 dió la siguiente distribución del cinc en el organismo: en hueso 200 µg/g de órgano, en músculo 50 µg/g de peso fresco y en tejido libre de grasa 30 µg/g de peso fresco.*

*Los flujos prostáticos (600µg/g) y tejidos oculares (800 µg/g) contienen la más alta concentración de cinc.*

*En ratas la distribución de cinc evaluada por Wilson y cols. (1986) en los distintos tejidos es la siguiente:  $129 \pm 4$  µg/g de peso seco en hígado,  $80 \pm 3$  µg/g de peso seco en riñones,  $184 \pm 3$  µg/g de peso seco en testículos y  $216 \pm 4$  µg/g de peso seco en fémur.*

#### 2.2.3.3.1. TRANSPORTADORES DE CINC

*La albúmina es la principal proteína transportadora de cinc a partir del intestino (Cousins, 1985; Linder, 1988).*

*Morgan (1981) ha descrito una glucoproteína rica en histidina de baja concentración en el plasma. Se trata de una antiproteasa Ó<sub>2</sub>-macroglobulina de alta habilidad para unirse al cinc. A pesar de su firme unión al cinc, puede haber pequeñas*



*disociaciones del metal de esta proteína bajo algunas condiciones fisiológicas. Pero su habilidad para donar el cinc a las células es muy limitada, a menos que se implique la endocitosis (Cousins, 1985). Lo que significa que el cinc unido a la albúmina es la forma más disponible para su captación hepática (Faila y Cousins, 1978).*

*Boyett y Sullivan (1970) han sugerido 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. Pero muchos trabajos han demostrado la no validez de esta suposición (Charlwood, 1979; Chesters y Will, 1981; Smith y Cousins, 1980; Smith y cols., 1979).*

*Así, el cinc unido a la albúmina es la forma más disponible para su captación hepática. Solo un pequeño porcentaje de cinc plasmático se encuentra unido a ligandos de bajo peso molecular, normalmente histidina y cisteína.*

*Se ha propuesto un papel para la metalotioneína como transportadora de cinc (Bremner y Beattie, 1990). A pesar de que la metalotioneína es principalmente una proteína intracelular, se puede encontrar en pequeñas cantidades en líquidos extracelulares como el plasma, bilis y orina (Hidalgo y cols., 1988; Sato y Bremner, 1984; Sato y cols., 1984).*

*"In vitro" se han reportado reacciones de intercambio entre Zn-MT y las apoenzimas dependientes del cinc (Udom, 1980). La cinética de la transferencia del cinc de la metalotioneína, al menos en "Ehrlichcells" sugiere que hasta un cierto punto el proceso de sustitución de ligandos no involucra la degradación de la metalotioneína (Krezoski y cols., 1988).*



#### 2.2.3.3.2. ASPECTOS METABÓLICOS DEL CINCO A DISTINTOS NIVELES DEL ORGANISMO

*Las concentraciones plasmáticas de cinc se aproximan a 100 µg/100 ml (Linder, 1988). Estas concentraciones constituyen solamente el 10 al 20 % del cinc en sangre total (Scott y Bradwell, 1983).*

*La alta concentración de cinc en sangre se explica por su presencia en la enzima eritrocitaria anhidrasa carbónica y en la enzima leucocitaria fosfatasa alcalina (Everett y Apgar, 1987; Schwarz y Pallauf, 1989).*

*El cinc se transfiere desde los enterocitos principalmente unido a la albúmina. A nivel hepático, Failla y Cousins (1978a, 1978b) 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 más lenta en la cual el metal se acumula según un ritmo mucho más lento (Failla y Cousins, 1978a). 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 ha visto una inducción de la síntesis de la metalotioneina por el cinc y consecuentemente su unión a la apometalotioneina (Fleet, 1988). Pero en situación fisiológica normal, un ligero suplemento de cinc en la dieta no induce la síntesis de la metalotioneina hepática que representa la forma de almacenamiento del metal y consecuentemente no hay depósito del catión a nivel hepático (Bremner y Beattie, 1990). Por*



*el contrario en ratas deficientes en cinc, los niveles de metalotioneina disminuyen significativamente a niveles no detectables (Bremner y cols.,1987). Sin embargo, en humanos se ha visto que una alta proporción de cinc está unida a la metalotioneina hepática (Chung y cols., 1986).*

*La captación hepática de cinc puede estar influenciada por factores hormonales. Así, Kuipers y Cousins (1984) demostraron que el glucagon estimula la captación de cinc y/o su intercambio con las células hepáticas. Henkin y cols (1984) hablaron de una alteración 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 distintos 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, la histidina es el aminoácido más frecuentemente asociado con la excreción urinaria del cinc (Yunice y cols.,1978), así como la treonina y la lisina (Zletkin y Buchanan, 1988). Normalmente el cinc excretado en orina no excede de los 600 µg/día, pero en trauma y situaciones patológicas 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, 1982).*



*Se ha visto que una suplementación dietaria de cinc aumenta la concentración de la metalotioneina renal y el contenido en RNAm de metalotioneina en riñones (Blalock y cols., 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 consideró como medida para informarse sobre el estado del cinc en el organismo (Schwartz, 1989).*

*Así la amplia distribución del cinc se explica por el papel que tiene como componente funcionalmente esencial de un considerable número de enzimas (Schwartz, 1989; Valle y Galdes, 1984).*

*A nivel pancreático el cinc está implicado en la función exocrina de la glándula, producción y secreción del abundante material hidrolítico indispensable para la digestión intestinal. En la función endocrina, se requiere el cinc en el proceso celular de almacenamiento de la insulina en células  $\beta$  de los islotes de Langerhans (Linder, 1988).*

*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).*



### 2.2.3.3.3. FUNCIONES BIOQUÍMICAS DEL CINCO

*Apreciable cantidad de cinc sanguíneo se encuentra a nivel del eritrocito, como constituyente de la anhidrasa carbónica, una de las enzimas más abundantes en el organismo, responsable del mantenimiento del equilibrio acidobásico de los líquidos corporales; y como estabilizador de la membrana del eritrocito. Razón por la cual, la deficiencia de cinc disminuye la habilidad del eritrocito a resistir la hemólisis "in vitro" (Bettger y O'Dell 1981).*

*Se ha visto que la deficiencia de cinc afecta la composición de los aminoácidos en el eritrocito (Bettger, 1989) y altera el esqueleto proteico de la membrana eritrocitaria (Avery y cols., 1992).*

*El cinc en el leucocito forma parte del sitio activo de la fosfatasa alcalina que en muchos trabajos fue utilizada para reflejar el estado del metal en el organismo (Everett y Apgar, 1987; 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 (Scharz, 1989).*

*Las carboxipeptidasas A y B, de importancia en la digestión de las proteínas, contiene 1 átomo-gramo de cinc por mol de enzima. La actividad de la carboxipeptidasa A y B se ve muy afectada por los factores que pueden disminuir la absorción de cinc como es el tipo de la proteína dietaria (Berger y Schneeman, 1988).*

*EL papel del cinc en procesos como desarrollo, división y diferenciación celular se explica por:*

- La coincidencia de su deficiencia con altas alteraciones en el crecimiento.*



- *Su participación en procesos de replicación, transcripción (Wu y Wu 1987).*
- *Su papel decisivo en la metafase cromosómica: la deficiencia de micronutrientes entre ellos el cinc, causa fragilidad e incluso ruptura de la estructura cromosómica (Castro, 1987).*

*Otra metaloenzima del cinc de alta importancia metabólica que se encuentra en todas las células de la economía, su forma citosólica contiene cobre y cinc, se trata de la superóxido-dismutasa que se encarga de desintoxicar el organismo de los aniones superóxido.*

*Además de todas estas funciones, la intervención del metal en la estimulación de la función inmune del organismo se ha reportado en muchos trabajos (Bodgen y cols., 1987). Los animales deficientes en cinc son más susceptibles a infecciones virales y bacterianas (Keen y Gershwin, 1990).*

*A nivel genético, en las situaciones en las cuales se detectó el efecto de un elemento traza sobre la regulación de la expresión genética, se demostró que el cinc es uno de los más importantes reguladores de esta expresión genética (Chesters, 1991).*

#### **2.2.4. FACTORES QUE AFECTAN LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE CINC**

*La utilización nutritiva de cinc se ve afectada por factores de origen dietario, debido a las interacciones del metal con ciertos componentes de la dieta o por situaciones patológicas que pueden afectar distintos niveles de la utilización nutritiva del metal, según el caso.*



*El concepto de biodisponibilidad en el caso del cinc no es tan determinante como lo es en el caso del hierro. Los componentes de la dieta que tienen la propiedad de disminuir significativamente la biodisponibilidad de cinc son los fitatos y la fibra.*

*Esto en altas concentraciones, porque en el caso de una proporción normal de fibra y ácido fólico el balance del cinc en humanos no se ve afectado por estos componentes (Hartwigs y cols., 1988). En los países más desarrollados donde el aporte dietario de fibra y fitatos no excede del valor normal, la utilización del cinc no se ve alterada (Erdaman y cols., 1987; Morris y Ellis 1983).*

*Se han preparado compuestos de inositol fosfato con hidrólisis del fitato sódico y se observó que el alto grado de fosforilación (inositol penta o hexafosfato) inhibe la absorción de cinc (Lönnerdal y cols., 1989) y que una desfosforilación limitada de estos grupos puede tener un efecto positivo sobre la absorción intestinal del mineral. Así, la ingestión de fósforo adicional como polifosfatos, no como ortofosfatos tiende a disminuir la absorción de cinc (Greger, 1988).*

*En otro trabajo sobre el efecto de la concentración del fitato en la dieta se ha visto que alto contenido en fitato afecta la concentración de cinc en hígado y la actividad de la fosfatasa alcalina y metalotioneína (Pallaul y cols., 1990).*

*En muchos trabajos, se ha observado que las alteraciones en la composición y concentración de las proteínas de la dieta, afectan la utilización nutritiva de cinc. La proteína dietaria se ha correlacionado positivamente con la absorción de cinc (Hunt y Larson, 1990) y su excreción urinaria (Colin y cols., 1983). Según Colin y cols. (1983) la retención del cinc en humanos no se afecta por la ingesta proteica.*



*En ratas adultas (200 a 250 g), las altas concentraciones de proteína en la dieta están asociadas con un aumento en la absorción y excreción endógena del cinc (Johnson, y Confield, 1985). Mientras según Hunt y Johnson (1992), una alta concentración de proteína (de huevo) en la dieta aumenta los requerimientos de cinc y el depósito de cinc en la tibia. Este último fenómeno se explica más bien por un metabolismo alterado del cinc en el hueso que por una mejora de la biodisponibilidad del metal.*

*Berger (1988), demostró que la absorción de cinc se afecta por el tipo de la proteína dietaria, debido probablemente a la formación de fitatos que lleva y que la actividad de metaloenzimas del cinc también se ve afectada por el tipo de la proteína dietaria.*

*Otro factor de alta importancia que se toma muy en consideración a la hora de evaluar la biodisponibilidad de los minerales es el problema de las interacciones con los demás minerales contenidos en la dieta y que viene más detallado en el apartado de interacciones.*

*A parte de todo esto, la concentración de cinc en la dieta, por si misma, constituye un factor determinante sobre la utilización nutritiva del metal, sabiendo que bajas concentraciones llevan a la deficiencia del metal y altas concentraciones limitan la absorción de cinc por inducción de la síntesis de metalotioneína (Bremner y Beattie, 1990; Hempe y Cousins, 1992). En caso de un consumo excesivo de cinc pueden producirse complicaciones más graves como toxicidad con irritación gastrointestinal (Prasad, 1976). Una ingesta de 18,5 mg/día (Festa, y cols., 1985) o de 25 mg/día (Fischer, y cols., 1984) de cinc en dieta en individuos normales altera el metabolismo del cobre.*

*La función inmune se ve alterada en humanos al tomar una cantidad del metal 20 veces superior a la recomendada durante un período de 6 semanas (Chandra, 1984).*



*Además de las perturbaciones en el metabolismo del cinc causadas por algún factor dietario de los citados anteriormente, varias situaciones patológicas pueden afectar seriamente el estado nutricional del metal. Entre estas situaciones, unas son de origen genético, otras son adquiridas, sobre todo cuando la patología afecta un órgano de capital importancia en el metabolismo del cinc.*

*La acrodermatitis enteropática es una enfermedad genética hereditaria de carácter recesivo autosómico, que se manifiesta por un metabolismo defectuoso del cinc: el cinc se une, en el tracto gastrointestinal, a un oligopéptido que se destruye en el intestino (Walling y cols., 1989). Lo que conduce a una malabsorción del cinc y a una deficiencia severa del metal (Van Wouwe, 1989).*

*En el caso de enfermedades renales o hepáticas, el metabolismo del cinc se ve alterado debido a la importancia de estos órganos en el mantenimiento de la homeostasis del mineral.*

*En nutrición parenteral total se han dado casos de excesiva excreción de cinc debido a la alta ingesta de aminoácidos libres en este tipo de alimentación como se ha mencionado anteriormente.*

*El alcoholismo es una de las situaciones en las cuales se ha observado un estado anormal del cinc: en sujetos alcohólicos, la concentración de cinc en plasma y en eritrocitos disminuye significativamente en comparación con sujetos normales (Pilaczynska y cols., 1989). El alcohol altera la absorción del cinc y aumenta su excreción por vía urinaria. Esto hace que disminuyan los niveles plasmáticos de cinc. Pero incluso antes de esto, se puede apreciar una disminución de la actividad de las enzimas Zn-dependientes en los tejidos (Milne y cols., 1987). También se sabe que el consumo de alcohol durante la gestación produce una alteración en la transferencia materno-fetal de cinc en ratas (Zidenbog-Cher y cols., 1988).*



*Otra situación no patológica en la cual la utilización nutritiva de cinc se ve afectada, se trata del efecto de los contraceptivos orales que disminuyen la concentración plasmática de cinc en mujeres jóvenes (Padrón Herrera y cols., 1988).*

*Así, aunque en términos de biodisponibilidad, el cinc es más disponible que el hierro, y los casos de su deficiencia son mucho menos frecuentes, una dieta con cantidad de fibra o fitatos frecuentemente alta o en presencia de alguna de las situaciones patológicas mencionadas anteriormente, el estado del cinc se ve muy alterado.*

## **UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE COBRE**

### **2.3.1. INTRODUCCIÓN**

*El cobre es el tercer elemento traza más abundante en el organismo (Phyllis, 1990). Es un nutriente esencial para todas las especies animales (Davis y Merts 1987). Su importancia se debe a su contribución en numerosas funciones fisiológicas (Danks, 1988); y prevención de situaciones patológicas como las enfermedades cardiovasculares (Koop y cols., 1983) y del cáncer (Beach y cols., 1982; Greene y cols., 1987), entre otras.*

*El cobre se encuentra en el sitio activo de muchas metaloenzimas y proteínas implicadas en distintas vías metabólicas, algunas de estas metaloenzimas son esenciales para la correcta utilización del hierro (Davis y Mertz 1987).*

*No se sabe mucho sobre el metabolismo del cobre y sus aspectos nutritivos. Ya que el cobre se consideró como nutriente esencial en los años 1920 y 1930 en estudios sobre animales de laboratorio (Danks, 1988). Y se habló de la deficiencia de cobre en*



*humanos hacia 1960, desde entonces aumentó el interés por el metal, su metabolismo y los factores que condicionan su estado nutricional (Phyllis, 1990).*

*Además de esto, la vida media biológica muy corta del cobre ha obstaculizado los estudios sobre su incorporación a las metaloenzimas limitando la investigación sobre su destino dentro de estas proteínas (Danks, 1988).*

*A pesar de esto, cada vez se descubren más metaloenzimas dependientes del metal en sus actividades y más funciones se le atribuyen.*

*El cobre es uno de los elementos traza más tóxicos en el organismo. Así el transporte, almacenamiento y metabolismo del cobre, 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).*

### **2.3.2. REQUERIMIENTOS**

*El uso de la técnica del balance no es muy fiable para evaluar los requerimientos de cobre, debido a la alta regulación homeostática de la absorción del metal que puede aumentar o disminuir en respuesta a las ingestas bajas o altas respectivamente (Turnlund y cols., 1989). Así, los estudios basados sobre la técnica de balance estimaron los requerimientos en los adultos entre 2,0 y 2,6 mg de cobre por día. Cifra que no coincide con trabajos posteriores (Masson, 1979).*

*El uso de índices bioquímicos específicos es más fiable a la hora de establecer el estado de cobre corporal. Así, se ha sugerido que la actividad de la superóxido dismutasa Cu-Zn es particularmente sensible a los cambios en el estado de cobre (Uauy, y cols., 1985).*



*El requerimiento funcional de cobre para adultos y adolescentes está estimado en 1,0 mg/día suponiendo que aproximadamente se absorbe el 50 % de cobre ingerido y la recomendación para hombres adultos de 20 a 59 años de edad es de 1,25 mg por día.*

*Los requerimientos de cobre en ratas se estiman en: 5 mg/Kg de dieta (Life Sciences National Research Council, 1979).*

*La importancia del cobre como micronutriente esencial para ratas fue demostrado en 1928 por Hart y cols.*

### **2.3.3. METABOLISMO**

#### **2.3.3.1. ABSORCIÓN**

*La absorción máxima y rápida de cobre tiene lugar en el estómago y duodeno proximal, más que en secciones distales del intestino, pero no se sabe si la rapidez de la absorción se debe a un mayor número de transportadores de cobre o no (Harris, 1991).*

*A diferencia del cinc, la acidez gástrica parece favorecer la disociación de los complejos de cobre dietario facilitando su absorción bajo forma soluble como se confirmó con su rápida aparición en la circulación (Solomons, 1988).*

##### **2.3.3.1.1. MECANISMOS DE ABSORCIÓN DE COBRE**

*Dos mecanismos están 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.*



- un transporte por difusión que constituye la mayor vía de captación de cobre. La saturación de este componente indica que se realiza mediante un transportador, y no es dependiente de la glucosa (Solomons, 1988). Muchos trabajos han demostrado la implicación de estos dos mecanismos de transporte a través de la mucosa y que está un poco influida por la forma bajo la cual se absorbe el cobre (Marceau y Aspin, 1972).

El control máximo de la absorción de cobre ocurre durante su transferencia a través de las células intestinales al torrente sanguíneo (Solomons, 1988). Muchos investigadores han sugerido un papel determinante de la metalotioneina mucosal sobre la cantidad del metal que atraviesa el intestino a la circulación. Pero no está bien aclarado si la metalotioneina tiene algún papel en la absorción normal de cobre o su papel está reservado a la prevención de una absorción excesiva del metal.

Lo que está bien aclarado es que la metalotioneina está involucrada en el mecanismo por el cual una alta ingesta de cinc puede bloquear la absorción de cobre (Hall y cols., 1979). Según unos autores los altos niveles de metalotioneina en el intestino probablemente reflejan un aumento en las concentraciones de cobre intracelular, con estimulación de la transcripción del gen responsable de la síntesis de la metaloproteína, más que alguna implicación de la metalotioneina en la regulación homeostática de la absorción de cobre (Bremner y Beattie, 1990).

El cobre se une más fácilmente a la metalotioneina que el cinc debido a la alta afinidad de la apometalotioneina al cobre. E incluso puede desplazar el cinc de su sitio de unión en la proteína (Cousins, 1985), aunque el cinc tiene más capacidad para inducir a la producción de la metalotioneina que el cobre (Bremner, 1987a; Cousins, 1985).

#### **2.3.3.1.2. LIGANDOS DE UNIÓN**

La acidez del estómago y duodeno proximal permite la solubilidad de cobre y mejora 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 en la absorción de cobre en condiciones fisiológicas (Solomons, 1988).*

*Altos niveles de proteína en la dieta generalmente ejercen un efecto positivo sobre la absorción de cobre (Greger y Snedeker, 1980), porque la digestión de la proteína proporciona aminoácidos y quelatos peptídicos que se unen al cobre mejorando su biodisponibilidad (Cousins, 1985). Kirchgessner y Grassman (1970) encontraron que los complejos Cu-aminoácidos se absorben mucho mejor que  $\text{CuSO}_4$ . 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. Se ha reportado que en leche humana el 28 % y 39 % de cobre está unido a la caseína y albúmina respectivamente, mientras que componentes de bajo peso molecular llevan el 24 % (Lönnerdal y cols., 1982).*

*Además de las proteínas y aminoácidos, el nitrilotriacetato mejora la absorción de cobre, probablemente formando complejos que son transportados intactos, a través de la barrera intestinal (Keen y cols., 1980).*

*Las secreciones endógenas afectan la absorción del metal. Las proteínas pancreáticas tienen efecto negativo sobre la absorción del metal (Jamison y cols., 1981). La secreción biliar tiene el mismo efecto. No se conoce la forma bajo la cual existe el cobre en bilis (Rosenblum y Leach, 1985), pero se sabe que es una forma irrecuperable: la recirculación enterohepática de cobre endógeno es muy limitada. El cobre es más disponible a partir del jugo gástrico e intestinal que el cobre presente en bilis (Solomons, 1988).*

### **2.3.3.2. RETENCIÓN**

#### **2.3.3.2.1. VÍAS DE EXCRECIÓN DE COBRE**

*Por vía biliar se excreta la mayor cantidad de cobre corporal. 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 1977). Aunque probablemente se eliminan cantidades significativas del catión a través de las secreciones y descamaciones intestinales (Linder, 1988). El mecanismo por el cual el cobre entra a formar parte de la bilis y es eventualmente excretado no está bien entendido (Danks, 1988), tampoco se ha identificado la forma molecular bajo la cual está presente en bilis (Rosenblum y Leach, 1985). El cobre destinado para la excreción biliar está separado del cobre hepático contenido en metalotioneina y del cobre incorporado dentro de la ceruloplasmina (Johnson y cols., 1988).

Por vía urinaria muy pequeñas cantidades de cobre se eliminan del organismo, menos de 60  $\mu\text{g}/\text{día}$  (Harris, 1991) con una capacidad muy limitada de aumentar la excreción en una ligadura biliar (Solomons, 1988); y cantidades aún más pequeñas se pierden por sudor, crecimiento de pelo, uñas y descamación de la piel.

#### 2.3.3.2.2. REGULACIÓN HOMEOSTÁTICA DEL BALANCE DE COBRE

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

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

Se sabe que la circulación enterohepática de cobre es muy limitada (Solomons, 1988) y el cobre fecal representa el cobre de origen biliar más el cobre fecal no absorbido. Para estudiar el papel exacto de la excreción biliar en la regulación del balance de cobre, Johnson (1990), usando un método de radioisótopos de cobre, llegó a evaluar el cobre excretado de origen endógeno y estudiar hasta que punto está implicado en mantener homeostáticamente el balance de cobre. Así, basándose sobre el hecho de que en un período



de 8 a 10 días tras la inyección de  $\text{Cu}^{67}$  en ratas, se detectó un equilibrio de  $\text{Cu}^{67}$  en los tejidos de los animales inyectados (Johnson y Lee 1988); se ha comprobado la actividad específica de  $\text{Cu}^{67}$  en tejidos como riñones con esta actividad en heces 8 a 10 días tras la inyección del isótopo mediante la siguiente fórmula:

$$A = \frac{I - F + F(S_f/S_t)}{I}$$

- En la cual:
- A es la fracción absorbida.
  - I es la ingesta dietaria de cobre.
  - F es el cobre fecal total.
  - $S_f$  es la actividad específica en heces.
  - $S_t$  es la actividad específica en tejidos
  - $F(S_f/S_t)$  representa el cobre fecal de origen endógeno.

Con esta experiencia Johnson (1990) concluyó que aparentemente la absorción de cobre disminuye cuando el nivel del metal en la dieta aumenta. Sin embargo, en realidad 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 efecto de cualquier factor, la homeostasis del balance se mantiene más bien por cambios en la cantidad del cobre endógeno excretado, que mediante variaciones en el porcentaje de cobre absorbido.

### 2.3.3.3. DISTRIBUCIÓN EN EL ORGANISMO

La cantidad de cobre en el ser humano adulto es del orden de 80 a 100 mg (Harris, 1991) y por supuesto su concentración corporal es mucho más baja que la del hierro y cinc.



*En representación porcentual, la distribución de cobre es la siguiente (Solomons, 1988): 24,7 % en músculo esquelético, 15,3 % en piel, 14,8 % en médula ósea, 19,0 % en el esqueleto, 8,0 a 15 % en hígado y 8,0 % en el cerebro.*

*Los órganos que contienen la más alta concentración son: hígado, riñones, corazón, cerebro y páncreas (Harris, 1991).*

*En ratas en un estudio acerca de la concentración de cobre corporal, Wilson y cols (1986) encontraron la siguiente distribución expresada en  $\mu\text{g}$  por g de peso seco:  $14,6 \pm 0,5$  en hígado,  $14,9 \pm 0,4$  en riñones,  $12,4 \pm 0,5$  en testículos y  $5,5 \pm 0,2$  en fémur.*

#### **2.3.3.3.1. TRANSPORTADORES DE COBRE**

*Los ligandos de unión que transportan el cobre del intestino al hígado no están bien identificados, sin embargo, se asuma generalmente que la albúmina se encarga de esta función (Cousins, 1985).*

#### **ALBÚMINA**

*La más alta concentración del complejo Cu-albúmina se detecta en la circulación portal inmediatamente tras la ingestión del metal (Harris, 1991). Además, la vida media de Cu-albúmina en suero no alcanza los 10 minutos (Marceau y Aspin, 1972; Marceau y cols., 1970). Estas observaciones, entre otras, llevaron a considerar que la principal función de la albúmina como transportadora del cobre termina a nivel hepático y su posible papel en el transporte extrahepático es muy limitado.*

*El cobre se une lábilmemente a la albúmina mediante interacciones con el grupo amino terminal, el nitrógeno del grupo imidazol de la hístidina en posición 3 y otro nitrógeno unido a otro péptido (Sarkar y cols., 1978).*



Weiner y Cousins (1980) demostraron que el cobre plasmático está disponible para ser captado por el hígado cuando está unido a la albúmina o acompañado con aminoácidos. La mayoría de los investigadores suponen que Cu-albúmina es la forma de transporte de cobre en sangre portal sin precisar el mecanismo de su captación a nivel hepático. En trabajos "in vitro", se ha visto que los hepatocitos no aceptan el cobre directamente de la albúmina y que una unión previa del metal a la histidina sirve de intermediario (Ettinger y cols., 1986; Mc Ardley cols., 1988). Se ha mencionado la posibilidad de que la mayor cantidad de cobre se transporta directamente como Cu-histidina y que la unión Cu-albúmina constituye un almacén transitorio del metal en el torrente sanguíneo (Danks, 1988). E incluso según Laurie y Pratt (1986), la albúmina puede hacer más lento el transporte de Cu al hígado en vez de acelerarlo. Además, se ha demostrado que la albúmina libera el cobre a la histidina cuando ambas reaccionan "in vitro" (Lau y Sarkar, 1971).

### **TRANSCUPREINA**

Es otra proteína plasmática implicada en el transporte de cobre (Linder, 1988), aunque su existencia y su papel, según algunos investigadores, carece de confirmación (Weiss y cols 1985).

Se le ha atribuido un papel competitivo con la albúmina para unirse al cobre, también se piensa que la transcupreina puede tener la función de donar el cobre a la albúmina en la circulación portal. Aunque la existencia de proteínas con similar descripción en la circulación carece de confirmación (Gordon y cols., 1987).

### **CERULOPLASMINA (CP)**

Es otro ligando de unión que se encarga de distribuir el cobre a los demás tejidos extrahepáticos. Se trata de una glucoproteína que contiene 6 átomos de cobre por molécula, tiene la capacidad de oxidar muchos sustratos (Cousins, 1985; Harris, 1991),



además de su famoso papel como transportadora del 90 % de cobre plasmático (Danks, 1988; Harris, 1991).

Fue aislada por primera vez por Holmberg y Laurell en 1948 y la llamarón proteína azul plasmática: Ceruloplasmina. Sus potenciales funciones han sido revisadas profundamente por Freiden, (1980) que explicó su intervención en 5 vías metabólicas:

- 1 - Oxidación del  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$ , para su posterior unión a la transferrina.
- 2 - Oxidación de aminoácidos aromáticos.
- 3 - Transporte de cobre a los distintos tejidos de la economía.
- 4 - Papel antioxidante en el suero: la ceruloplasmina actúa como un "basurero" que recoge del suero los radicales libres e iones superóxido.
- 5 - Modulación endógena de la respuesta inflamatoria.

Limitándonos al tercer punto que es el que más nos interesa en el presente apartado, el cobre se libera del hígado como componente de la ceruloplasmina que se encarga de transportarlo a las distintas líneas celulares (Cousins, 1985; Danks, 1988; Harris, 1991; Owen, 1985).

La presencia de los 6 o 7 átomos de cobre por molécula de ceruloplasmina es crítica para la actividad oxidasa de la proteína y recíprocamente, esta actividad es altamente requerida para que la ceruloplasmina pueda llevar a cabo su función como transportadora de cobre. Se ha observado que la iproniazida, que bloquea la actividad oxidasa de la ceruloplasmina, también inhibe la captación de  $^{67}Cu$  a partir de la ceruloplasmina. Lo que sugiere que la actividad oxidasa de la proteína está utilizada para liberar los electrones dentro de la ceruloplasmina e iniciar químicamente la reducción del cobre (Harris, 1991).

Así, la función de la ceruloplasmina como proteína transportadora de cobre o como enzima oxidasa son dos funciones que se excluyen mutuamente.



## **METALOTIONEINA (MT)**

*A la metalotioneina se le atribuye un papel como transportadora de metales como el cobre (Bremner y Beattie, 1990) y cinc (como se mencionó anteriormente).*

*Estudios "in vitro" han sugerido que la metalotioneina puede actuar como un cierto donador de cobre a las apo-enzimas que lo requieren con una anterior oxidación del metal (Geller y Winge, 1982).*

### **2.3.3.3.2. ASPECTOS METABÓLICOS DE COBRE A DISTINTOS NIVELES DEL ORGANISMO**

*A nivel hepático, una vez que el cobre es captado por los hepatocitos, a partir de albúmina o hístidina, se une a la apoceruloplasmina (y a otras enzimas específicas del hígado) que se encarga de transportarlo a distintos tejidos del organismo.*

*Probablemente se admite que el cobre plasmático unido a la albúmina o a cualquier otra proteína plasmática de bajo peso molecular no tiene ninguna importancia fisiológica en el sentido de proporcionar el elemento a los distintos tejidos corporales (Linder, 1988). Hipótesis apoyada por muchos trabajos, Marceau y Aspin (1972) demostraron que el cobre procedente de la albúmina se elimina del plasma, mientras el procedente de la ceruloplasmina no se retira de la circulación. Campbell y cols. (1981) encontraron que existe una fuerte dependencia entre la captación de cobre por las células de distintos tejidos y la liberación de ceruloplasmina por el hígado. Además de la correlación que existe entre la actividad de muchas metaloenzimas de cobre y los niveles plasmáticos de ceruloplasmina (Harris y Diisilvestra 1981; Hsieh y Frieden 1975).*

*El hígado es el órgano donde se detecta la más alta concentración 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 excreción biliar, y la liberación de ceruloplasmina (Harris, 1991).

A nivel de las distintas células del organismo, se ha propuesto que la endocitosis es el mecanismo implicado en la captación de Cu-ceruloplasmina. Sin embargo, el fracaso de por lo menos tres líneas celulares en incorporar la mitad de la ceruloplasmina dentro de la célula pone en duda esta hipótesis.

La primera evidencia de que la captación de cobre por la célula no implica la penetración de la ceruloplasmina proviene de los laboratorios de Linder (Orena y cols., 1986).

Los estudios que utilizan un doble marcaje ( $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{125}\text{I CP}$ ), han confirmado que solo el  $^{67}\text{Cu}$  aparece en el interior de la célula tras su captación y que el papel de la ceruloplasmina como proteína transportadora de cobre se acaba al llegar a la superficie celular (Percival y Harris, 1990).

Las únicas células que parecen tener la habilidad de captar el Cu-CP por endocitosis son los hepatocitos (Kataoka y Tavassoli, 1985a; Tavassoli y cols., 1986). Pero no está bien aclarado si la captación de la ceruloplasmina por los hepatocitos es para conseguir el cobre. Quizás esta captación es un modo de alejar de la circulación las moléculas de ceruloplasmina parcialmente degradadas (Harris, 1991).

Stevens y cols (1984) fueron los primeros en caracterizar los receptores de membrana a la ceruloplasmina. No se dispone de mucha información sobre las propiedades de estos receptores. Lo que se sabe es que son glicoproteínas que se han considerado como parte de los componentes de glicoforina de la membrana de eritrocitos (Saenko y Yaropolov, 1990).

Los sitios de alta afinidad para la ceruloplasmina han sido localizados en muchos tejidos y células incluyendo eritrocitos (Barnes y Friden, 1984), endotelio hepático



(Kataoka y Tavassoli, 1984), linfocitos, monocitos y granulocitos (Kataoka y Tavassoli, 1985b).

*En general, la unión alcanza la saturación cuando menos de 1 pmol/ml de ceruloplasmina está en el medio (Barnes y Frieden, 1984).*

*La primera experiencia realizada por Saltman y cols (1959) para analizar con detalle el fenómeno de acumulación de cobre en hígado demostró, que el mecanismo de captación de cobre es saturable (Schmith y cols., 1983). Lo que implica la presencia de sitios específicos de unión al metal en los hepatocitos. Según estos investigadores, no existe ninguna competencia entre el cobre y cinc, níquel, magnesio, cobalto o hierro por estos sitios de unión. Sin embargo, a diferencia de las anteriores investigaciones, Schmith y cols (1983) encontraron que el cobre antagoniza con el cinc en el proceso de captación hepática.*

*A nivel renal, debido a la limitada excreción de cobre en orina, probablemente las cantidades de cobre filtradas a través del glomérulo son reabsorbidas en los túbulos (Danks, 1988).*

*No se conoce el papel de los riñones, en estado normal, en el mantenimiento de la homeostasis del cobre. Pero igual que en el caso del cinc, en los pacientes que reciben altos niveles de aminoácidos libres o complejados, hay pérdidas excesivas del metal por vía urinaria (Tyrala y cols., 1982).*

*Johnson (1990), encontró que la concentración de cobre en riñones está altamente correlacionada con el porcentaje de absorción y excreción endógena, más que cualquier otro índice bioquímico.*

*A diferencia del hierro e igual que el cinc, el cobre no se almacena en el organismo y la capacidad de las distintas células para acumular el cobre es muy limitada. La gran distribución de la metalotioneína (proteína de almacenamiento de cobre) en la mayoría de los tejidos (sino todos) se explica probablemente por su papel de detoxicante 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 metalotioneina hepática, una vez que los niveles de cobre hepático alcanzan el valor de tolerancia de las células (500 µg /g) (Bremner y cols., 1986).*

*En especies como la oveja, en la que los niveles de metalotioneina son normalmente bajos, el efecto hepatotóxico de cobre es relativamente grande (Mehra y Bremner, 1984). Mientras que tal efecto no se ha visto en otras especies (cerdos, perros...etc) en las que la mayor parte de cobre hepático está unido a la metalotioneina (Mehra y Bremner, 1984).*

*El único caso de acumulación de cobre que se ha visto es en hígado fetal. La proteína de acumulación de cobre en hígado fetal originalmente llamada hepatomitocondrocupreina, contiene aproximadamente 4 % de cobre, se trata de una forma polimérica de la metalotioneina que está presente principalmente en los lisosomas (Porter, 1974).*

*El destino de este cobre en hígado fetal no está bien aclarado. Según unos autores esta acumulación refleja la inmadurez de los mecanismos de excreción biliar, y los altos niveles de la metalotioneina hepática fetal es probablemente una medida de protección celular 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 más razonable sugerir que la excreción de cobre biliar puede aumentar paralelamente (Danks, 1988).*

*Muchos investigadores han sugerido que esta metaloproteína puede tener la única utilidad de mantener la homeostasis de algunos metales traza (Bremner y Beattie, 1990; Cousins, 1985; Danks, 1988; Pattison y Cousins, 1984).*

*Quizás el proceso intracelular mejor entendido en el metabolismo de cobre es su unión a la metalotioneina (Harris, 1991; Harris y Percival, 1991). En cambio, una de*



las funciones menos entendidas de la metalotioneina es como proteína transportadora de cobre a distintas apoenzimas "in vivo".

Recientemente, Freedman y Peisach (1989) han demostrado que el glutatión, tripéptido que contiene cisteína, puede también funcionar como transportador intracelular de cobre.

Harris y Percival, (1991) demostraron que el glutatión forma el complejo: Cu(I)-GSH y sirve como intermediario para la transferencia de cobre a la metalotioneina o a la superóxido dismutasa Cu-Zn (FIGURA IX).

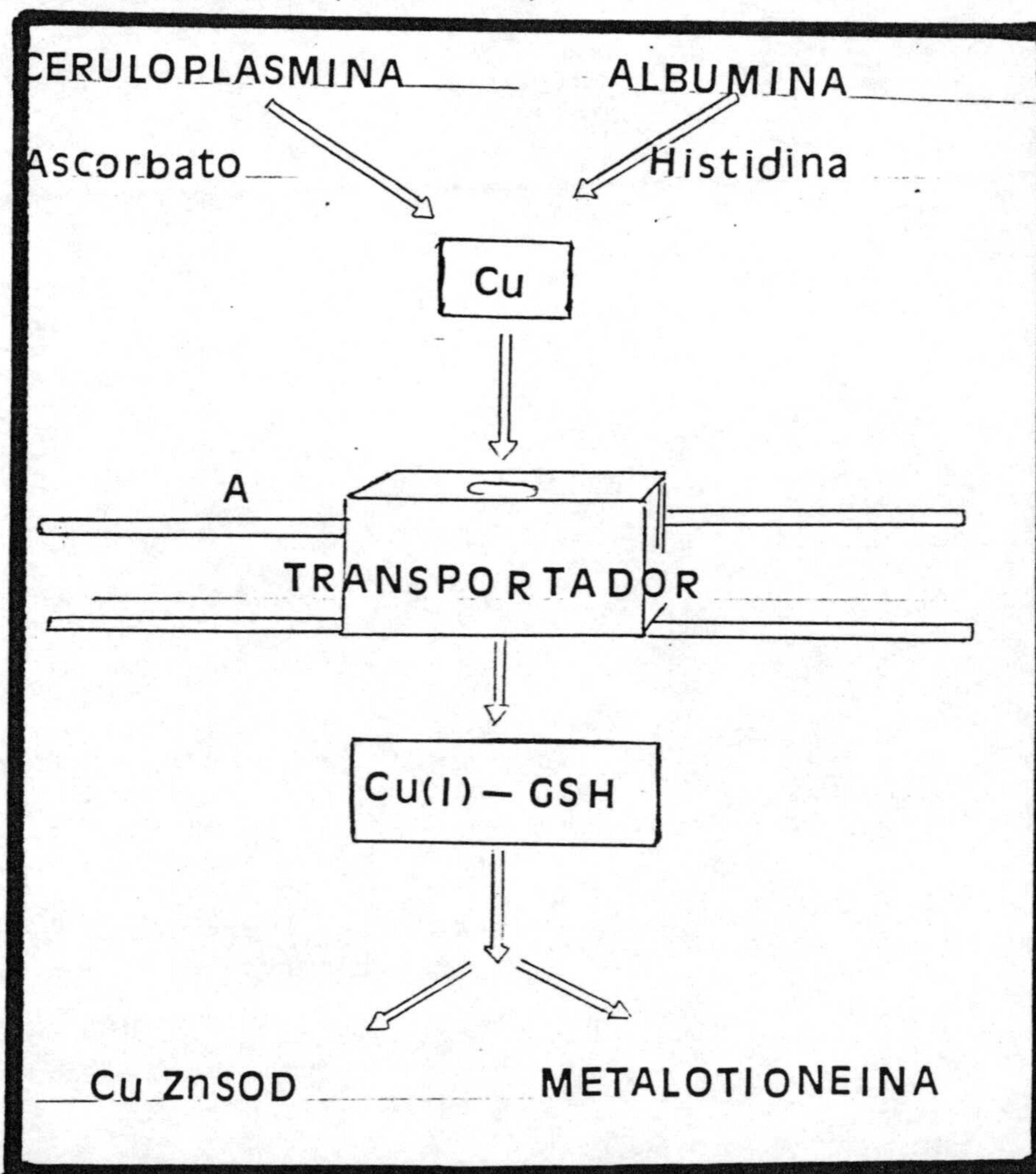


FIGURA IX: Captación celular de cobre a partir de la ceruloplasmina (CP) y albúmina. En este esquema, se ve que el ácido ascórbico actúa con la ceruloplasmina en hacer disponibles los átomos del cobre al transportador membranoso. La histidina puede tener una función parecida con el complejo Cu-albúmina. Dentro de la célula, los átomos de cobre forman un complejo con el glutatión (GSH) que puede actuar como intermediario en la transferencia del cobre a SOD Cu-Zn o metalotioneina. (Tomado de Harris y Percival, Am. J. Clin. Nutr., 54: 1193-1197, (1991)).



### 2.3.3.3. FUNCIONES DEL COBRE

*La utilidad de cobre como micronutriente se refleja mediante su contribución en la actividad de muchas metaloenzimas tanto intra como extracelulares.*

*A nivel del sistema nervioso, al menos dos neurotransmisores (la dopamina y la norepinefrina) se ven afectados por la deficiencia de cobre (Morgan y O'Dell, 1977). La dopamina  $\beta$  hidroxilasa que interviene en la biosíntesis de catecolaminas en el sistema nervioso central es una metaloenzima de cobre.*

*El catabolismo del triptófano en hígado es otra vía metabólica dependiente de cobre, como constituyente integral de la triptófano oxigenasa (enzima clave de esta vía metabólica).*

*El cobre puede tener algún papel en el metabolismo lipídico ya que se ha visto que la deficiencia de cobre produce una hipercolesterolemia, debido a una rápida liberación del colesterol hepático (Phan, S. H. 1978).*

*En humanos, se ha visto una relación entre la ingestión de dietas pobres en cobre y la hipercolesterolemia (Klevay y cols., 1984). Se piensa que la falta de cobre podría afectar la actividad enzimática de la lipoprotein-lipasa o "factor de aclaramiento". Aunque se duda de que esta alteración enzimática sea la causa principal de la hipercolesterolemia, ya que la concentración plasmática de triglicéridos no aumenta paralelamente a la del colesterol en los pacientes con deficiencia del cobre.*

*Esta relación entre la cantidad de cobre en la dieta y el metabolismo del colesterol y lipoproteínas se ha observado en muchos trabajos especialmente en ratas en las cuales se ha establecido firmemente que la deficiencia del cobre induce la hipercolesterolemia (Lei, 1991).*



*A nivel del tejido conectivo y vasos sanguíneos, la lisil oxidasa, enzima clave en la formación de los enlaces cruzados de colágeno y elastina es otra metaloenzima de cobre (Linder, 1988), razón por la cual en deficiencia aguda de cobre se producen lesiones en el tejido conectivo y óseo (O'Dell 1981).*

*La actividad de la lisil oxidasa en aorta de pollos está directamente correlacionada con la presencia de cobre (Harris y Disilvestro, 1981).*

*La superóxido dismutasa es otra metaloenzima que requiere el cobre para su actividad de eliminación de los aniones superóxidos. La presencia de esta enzima en los eritrocitos explica el papel del cobre en el proceso eritropoyético.*

*La citócromo C oxidasa es también constituyente de la lista de las enzimas dependientes de cobre en su actividad catalítica.*

*La importancia y la alta distribución de estas metaloenzimas de cobre (que por supuesto no son las únicas enzimas dependientes del metal) explica los trastornos seriamente graves que se manifiestan en una deficiencia de cobre.*

#### **2.3.4. FACTORES QUE AFECTAN LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE 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 de cobre en la dieta, lo que no ocurre con el hierro ni con el cinc, muchos componentes de la dieta pueden afectar la absorción intestinal del metal. Aunque la absorción de cobre, por lo menos en humanos, se ve afectada por estos factores que los demás minerales (Johnson, 1990).*



*Así en humanos, el ácido fítico o celulosa no afectan la absorción de cobre (Turnlund y cols., 1985). Sin embargo, el salvado de trigo en ratas y ratones disminuye la biodisponibilidad del metal (Rochway y cols 1987).*

*Con respecto a las proteínas, según Turnlund y cols. (1983), la proteína de origen animal aumenta la absorción de cobre más que la proteína vegetal.*

*Normalmente, los productos de origen animal proporcionan más cobre que los de origen vegetal. Johnson y cols. (1988a) encontraron en ratas que las distintas fuentes de cobre no afectan la eficacia de absorción del mismo. En otro trabajo, este mismo autor (Johnson, P.E. 1988), al cambiar la fuente de carbohidratos de la dieta, tampoco encontró ninguna diferencia en el porcentaje de absorción de cobre, ni en ratas con adecuado nivel de cobre en la dieta (6 mg/Kg de dieta), ni en ratas deficientes en cobre (0,5 mg/Kg de dieta). Sin embargo, otros investigadores, han reportado que el estado de deficiencia de cobre en ratas se ve más perjudicado cuando están alimentadas con sacarosa o fructosa que cuando se les suministra almidón como fuente de carbohidratos (Fields y cols., 1983; Fields y cols., 1984; Johnson, y Gratzek, 1986; Reiser y cols., 1983). Lo que probablemente implica 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).*

*Alta ingesta de fructosa afecta significativamente la actividad de la superóxido dismutasa sin disminuir los niveles de ceruloplasmina y cobre en suero (Reiser, 1985).*

*Otro factor determinante de la biodisponibilidad de cobre es el fenómeno de sus interacciones antagónicas con metales contenidos en la dieta.*

*La interacción Cu-Zn es una de las más importantes interacciones en nutrición. Está bien establecido 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 cols., 1986), así como en humanos.*



*Aunque según Turnlund y cols. (1988) una pequeña suplementación de cinc en la dieta (de 5,5 a 16,5 mg de Zn/día) no aumenta las pérdidas fecales del cobre ni disminuye su absorción en hombres jóvenes que toman 2,3 mg de Cu/día.*

*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 cols. (1983), basándose sobre este antagonismo han propuesto que una toma de 150 mg de cinc/día presenta una terapia para el tratamiento de la enfermedad de Wilson.*

*Según Johnson y Flagg (1986), en animales la interacción de cinc y cobre depende de la fuente de hidratos de carbono en la dieta.*

*Además de estos factores, la absorción de cobre está condicionada por el suplemento del mismo en la dieta. Ya que altos niveles inducen la síntesis de metalotioneina que se une al metal limitando su absorción, y por supuesto, un bajo aporte del metal conduce a su deficiencia.*

*De otro lado, muchas situaciones patológicas pueden afectar la utilización nutritiva de cobre. Unas de estas patologías son de origen genético, otras son adquiridas.*

*Así, la absorción del metal se ve alterada en la enfermedad de Menkes. Se trata de un desorden genético ligado al cromosoma X (Danks y cols. 1974).*

*La enfermedad de Wilson, otro error genético, se manifiesta por una absorción excesivamente alta y una excreción anormal de cobre. La excreción urinaria del metal, que normalmente es muy limitada en esta enfermedad, se ve muy aumentada. Parece que reemplace la ruta normal de excreción del cobre (vía biliar) (Sass-Kortsak y Bearn, 1978). Además de una acumulación anormal de cobre en hígado, córnea, cerebro...etc.*



*Entre las situaciones patológicas de carácter adquirido, cabe destacar el caso de la enfermedad renal en la cual grandes cantidades de elementos traza, entre ellos el cobre, se eliminan por orina. (Tyrala y cols., 1982). También la nutrición parenteral es una de las situaciones que afectan al estado del metal (Sriram y cols. 1986).*

*Estas son algunas de las situaciones en las cuales el estado de cobre se ve alterado. Como elemento integral de la composición de enzimas de alta importancia vital, un aporte dietario inadecuado del metal, así como el padecimiento de alguna situación patológica pueden afectar distintos niveles del estado nutricional en el organismo.*

## **2.4. INTERACCIONES EN LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE HIERRO, CINC Y COBRE**

### **2.4.1. INTRODUCCIÓN**

*El problema de las interacciones entre micronutrientes, sobre todo en humanos, surgió como resultado de la administración a largo plazo de una dieta desequilibrada o a veces cuando abundan en la dieta alimentos enriquecidos con excesivas dosis de vitaminas y minerales.*

*Así, hierro, cobre y cinc son micronutrientes que protagonizan intensas investigaciones sobre el tema.*

*Los sitios y mecanismos de las interacciones entre hierro, cobre y cinc no están bien conocidos. Pero es un hecho conocido que la biodisponibilidad de cada uno de ellos está estrechamente relacionada con el nivel dietario de los dos metales restantes.*

Zn                      Cu  
Fe  
(O'Dell, J. Nutr., 1989).



*Así, con bajo nivel de cobre en la dieta se ve alterada la movilización de hierro hepático, mientras que un exceso de cobre en la dieta inhibe la absorción intestinal de hierro y cinc. Alta concentración de hierro en la dieta, a su vez, antagoniza con el cobre y cinc en la mucosa intestinal. Un aporte excesivo de cinc afecta el balance de hierro mediante una disminución de la biodisponibilidad de cobre y por otra parte su deficiencia reduce el ritmo de la síntesis proteica (Brzowska, 1989).*

#### **2.4.2. INTERACCIONES ENTRE HIERRO Y CINCO**

*Muchos investigadores han encontrado que, con altos niveles de hierro no hemo en la dieta, se perjudica tanto la absorción de cinc administrado bajo forma inorgánica, como su retención en el cuerpo total (Meadows, 1983; Solomons, 1981). Cosa que no ocurre cuando el cinc se administra bajo forma orgánica (Solomons, 1981; Valberg, 1984).*

*Storey y Greger (1987), administraron a ratas una dieta con un nivel adecuado de cinc (15 a 25  $\mu\text{g/g}$  de dieta) y alto nivel de hierro (1408 a 3042  $\mu\text{g/g}$  de dieta). Cambiando la relación Fe:Zn, estos autores han encontrado que un aporte excesivo de hierro en la dieta no afecta el nivel de cinc en los tejidos estudiados (tibia, riñones, hígado), ni altera la absorción aparente de  $^{65}\text{Zn}$ .*

*Hambidge (1983), en humanos encontró que la ingestión de un suplemento de hierro disminuye los niveles plasmáticos de cinc en mujeres embarazadas que consumen 11 mg de cinc por día, mientras que en mujeres que consumen el doble de ésta cantidad (22 mg de cinc por día), no se ha observado tal efecto.*

*Bloxam y cols. (1989), en mujeres embarazadas, también encontró que la suplementación de hierro durante el embarazo altera los depósitos de cinc en la madre, pero*



*sin afectar la actividad de algunas enzimas dependientes del cinc, como la fosfatasa alcalina.*

*Sin embargo, excesivas cantidades de cinc en la dieta afecta el metabolismo del hierro en humanos (Yip, 1985) y en animales de laboratorio (O'Neil-Couttin y cols., 1981).*

*Storey y Greger (1987), encontraron que una ingesta crónica de cantidades excesivas de cinc disminuye el hematocrito y la absorción aparente de <sup>59</sup>Fe; así como la retención de <sup>59</sup>Fe a nivel de riñones, tibia e hígado de ratas.*

*No se conoce el mecanismo exacto de ésta interacción. Unos autores han sugerido que probablemente el cinc tiene un efecto indirecto sobre el metabolismo del hierro mediante una alteración del estado del cobre (Brzozowska, 1989; O'Neil-Coutting, y cols., 1981). Ya que Storey y cols. (1987) encontraron que la concentración de cobre sérico se ve afectada por excesiva ingesta de cinc en ratas. En cambio, los niveles bajos de hierro hepático en estas ratas, pone en duda ésta hipótesis.*

*Así, parece ser que las fluctuaciones en las concentraciones del cinc dietario son más determinantes que las de hierro en producir la interacción Zn-Fe.*

### **2.4.3. INTERACCIONES ENTRE HIERRO Y COBRE**

*El efecto de un suplemento de hierro en la dieta sobre el metabolismo del cobre parece depender:*

*- del estado de este último en el organismo: así, mientras en ratas deficientes en cobre, un suplemento de hierro en la dieta (de 25 a 125 mg/kg) disminuye en un 55 %*



el nivel de ceruloplasmina plasmática (Cohen y cols., 1985b); las ratas alimentadas con una dieta cuyo aporte en cobre es adecuado no presentan tal efecto (Cohen y cols., 1985a; 1985b).

- depende también de la dosis de hierro utilizada como nivel excesivo. Por ejemplo Humphries y cols. (1985) encontraron en vacas (4 mg de Cu/Kg de dieta), que un suplemento de hierro de 500 a 750 mg/Kg de dieta produce una disminución de los niveles de cobre en plasma e hígado. Mientras que un ligero suplemento de hierro en dieta (15 a 45 mg/Kg) no afectó el nivel de cobre plasmático en ratas (Nielsen, y cols., 1982). Incluso con 125 mg de hierro/Kg de dieta no se altera el estado del cobre (Cohen y cols., 1985a, 1985b).

Casi siempre una deficiencia de cobre produce una anemia ferropénica. Según Cohen y cols. (1985a; 1985b), el suplemento de hierro en la dieta (de 10 a 120 mg/Kg) disminuye la intensidad de la anemia y la probabilidad de la coincidencia de ambas situaciones (anemia y deficiencia de cobre) aumenta cuando la ingesta de hierro es marginal.

Johnson y cols. en varios trabajos encontraron que la anemia causada por deficiencia de cobre es más aguda cuando los niveles de hierro en la dieta pasan de 54 a 226 mg/Kg (Johnson y Hove, 1986) o de 38 a 191 mg/Kg (Johnson y Murphy, 1988a; 1988b).

En humanos, hay poca información sobre el efecto de un suplemento de hierro sobre el metabolismo del cobre. En niños alimentados con una fórmula suplementada con hierro (10,2 más que 2,5 mg/L), se ha visto una disminución del 51 % en la absorción aparente de cobre (Haschke y cols., 1986).

#### **2.4.4. INTERACCIONES ENTRE COBRE Y CINC**

La interacción entre cinc y cobre es una de las interacciones nutricionales más estudiadas, y mejor entendidas y confirmadas en una variedad de especies (Hambidge y cols., 1986). La intensidad de esta interacción depende de muchos factores, especialmente la



*cantidad de cinc administrada. Un ligero suplemento de cinc dietario en humanos no afecta la absorción de cobre (Turnland y cols., 1988). Fischer y cols. (1984) encontraron que 50 mg de Zn/día no causó ningún descenso en el nivel de cobre plasmático, ni en la actividad de la ceruloplasmina pero si afectó la actividad de la superóxido dismutasa Cu-Zn en eritrocitos. También se ha encontrado en individuos que consumen un suplemento de cinc en la dieta, un estado de deficiencia de cobre con anemia (Simon y cols., 1988).*

*Muchos investigadores han confirmado que la interacción del cinc con el cobre tiene lugar a nivel genético debido al poder inductor del cinc sobre el promotor del gen responsable de la síntesis de metalotioneina (Cousins, 1985; Bremner y Beattie, 1990).*

*Así, el efecto antagonista del cinc sobre la absorción de cobre se ha atribuido a su capacidad de inducir la síntesis de la metalotioneina que una vez liberada en la célula se une preferentemente al cobre limitando su absorción (Hall, 1979). Debido a la alta afinidad de esta proteína por el cobre, este último puede incluso desplazar al cinc de su sitio de unión en la proteína (Cousins, 1985) (FIGURA X).*

*Esto explica los resultados encontrados por Blalok (1988) en ratas alimentadas con dieta con altos niveles de cinc (180 mg de Zn/Kg de dieta), hay un aumento significativo en los niveles de RNAm de metalotioneina. Y explica también el desarrollo de un estado de deficiencia de cobre en pacientes que toman un suplemento de cinc para corregir la deficiencia de este último (Prasad, 1978).*

*Terapéuticamente, en humanos, el antagonismo que existe entre el cobre y el cinc presenta la mejor solución para los pacientes que padecen la enfermedad de Wilson: estos pacientes desarrollan una capacidad absorbente anormalmente alta de cobre, que puede estar perfectamente bloqueada por alta ingesta de cinc (Brewer y cols., 1989).*



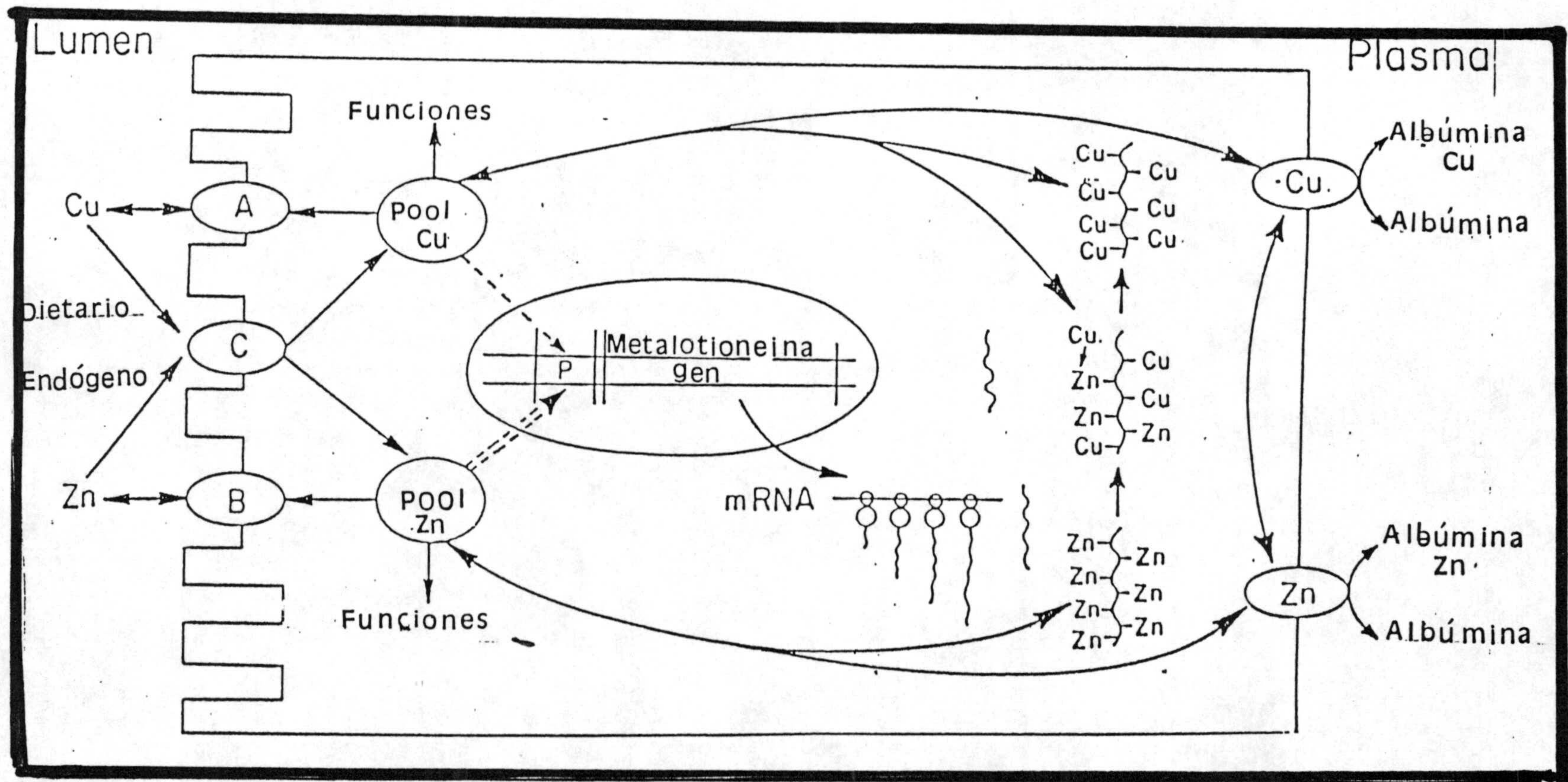


FIGURA X: Representación esquemática de la célula mucosal intestinal y los probables sitios de la interacción entre cobre y cinc dietarios. (Tomado de Cousins, *Physiol. Rev.* 65: 238-309, (1985)).



## **2.5. EFECTO DE LA VITAMINA C SOBRE LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE HIERRO, COBRE Y CINC**

### **2.5.1. EFECTO SOBRE LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE HIERRO**

*El hierro no hemo constituye generalmente más del 90 % del hierro dietario. Como se ha mencionado anteriormente, su disponibilidad está muy condicionada por la presencia en la dieta de inhibidores y estimuladores de su absorción.*

*El ácido ascórbico es el estimulador más potente tanto bajo forma natural como sintética (Hallberg y cols., 1986; Hallberg y cols., 1987). Tal efecto activador está fuertemente relacionado con la dosis.*

*A nivel de la absorción de hierro, la acción del ácido ascórbico se puede resumir en dos puntos:*

- reducción del hierro férrico a hierro ferroso, el cual parece ser un requerimiento para la captación de hierro por las células mucosales.*
- la prevención de la formación de compuestos de hierro insolubles y no absorbibles (Hallberg y cols., 1989).*

*Además, se ha sugerido que el ácido ascórbico promueve la absorción de hierro de la dieta por reducción del efecto negativo de algunos ligandos como fitatos y taninos en la dieta (Hallberg y cols., 1986). Así, una dosis de 50 mg de ácido ascórbico en la dieta elimina los efectos perjudiciales de los fitatos y taninos sobre la absorción del metal, que suelen presentarse en una dieta rica en estos componentes y privada de ácido ascórbico (Siegenberg y cols., 1991).*

*El efecto del ácido ascórbico es tan inequívoco y potente que puede ser considerado como un factor fisiológico esencial para la absorción del hierro dietario*



*(Hallberg y cols., 1987). Ya que su deficiencia desencadena alteraciones en el estado del hierro, como una baja concentración de hemoglobina en sangre (Degkwitz y cols., 1990).*

*Además de este papel tradicional de la vitamina C en el metabolismo del hierro, recientemente se ha observado otra intervención positiva de la vitamina a nivel postabsortivo del metal.*

*Para investigar el mecanismo por el cual el ácido ascórbico aumenta la biodisponibilidad de hierro en los tejidos, se han realizado varias investigaciones usando un sistema de cultivo de tejidos que utiliza las células K<sub>562</sub> eritroleucémicas humanas que comparten muchas características con normoblastos de médula ósea, incluyendo la producción de hemoglobina y la única proteína de membrana de células rojas: la glicoforina (Mc Ginnis y Dean, 1985).*

*En esta experiencia se han utilizado células controles (sin ácido ascórbico) y células crecientes en medio suplementado de ácido ascórbico. Estas células se han incubado durante dos horas con 2  $\mu$ mol de <sup>59</sup>Fe-Tf/L. La cantidad total de hierro marcado captado por estos dos tipos de células era idéntica. Sin embargo, una comparación del contenido en ferritina de estas células muestra que las células crecientes en medio suplementado con ácido ascórbico presentan el doble contenido de hierro en ferritina que las células controles, 24 horas tras la incubación con el hierro marcado <sup>59</sup>Fe (Bridges y Hoffman, 1986).*

*Con técnicas de fraccionamiento celular se ha podido seguir el movimiento del hierro dentro de los compartimientos subcelulares.*

*Los resultados de este trabajo demuestran que la vitamina C incrementa la biodisponibilidad de hierro, retrasando la degradación de la ferritina. Tal efecto no se debe a una inhibición de la conversión de monómeros de ferritina citoplásmica a polímeros (grupos), sino a un retraso en la captación autofágica de los monómeros de ferritina por lisosomas y su transformación en hemosiderina (Hoffman y cols., 1991).*



*No se sabe el mecanismo por el cual los monómeros de ferritina citoplásmica forman polímeros. Según Hoffman (1991), pueden existir sitios de reconocimiento lisosomal sobre monómeros de ferritina, pero a densidad relativamente baja. La formación de polímeros de ferritina aumenta la densidad de estos sitios de reconocimiento, produciendo una interacción multivalente intensa con lisosomas. Este modelo según este autor aclara dos puntos en el mecanismo de almacenamiento del hierro en ferritina:*

- *la alta afinidad de los lisosomas por los polímeros de ferritina y no por los monómeros.*

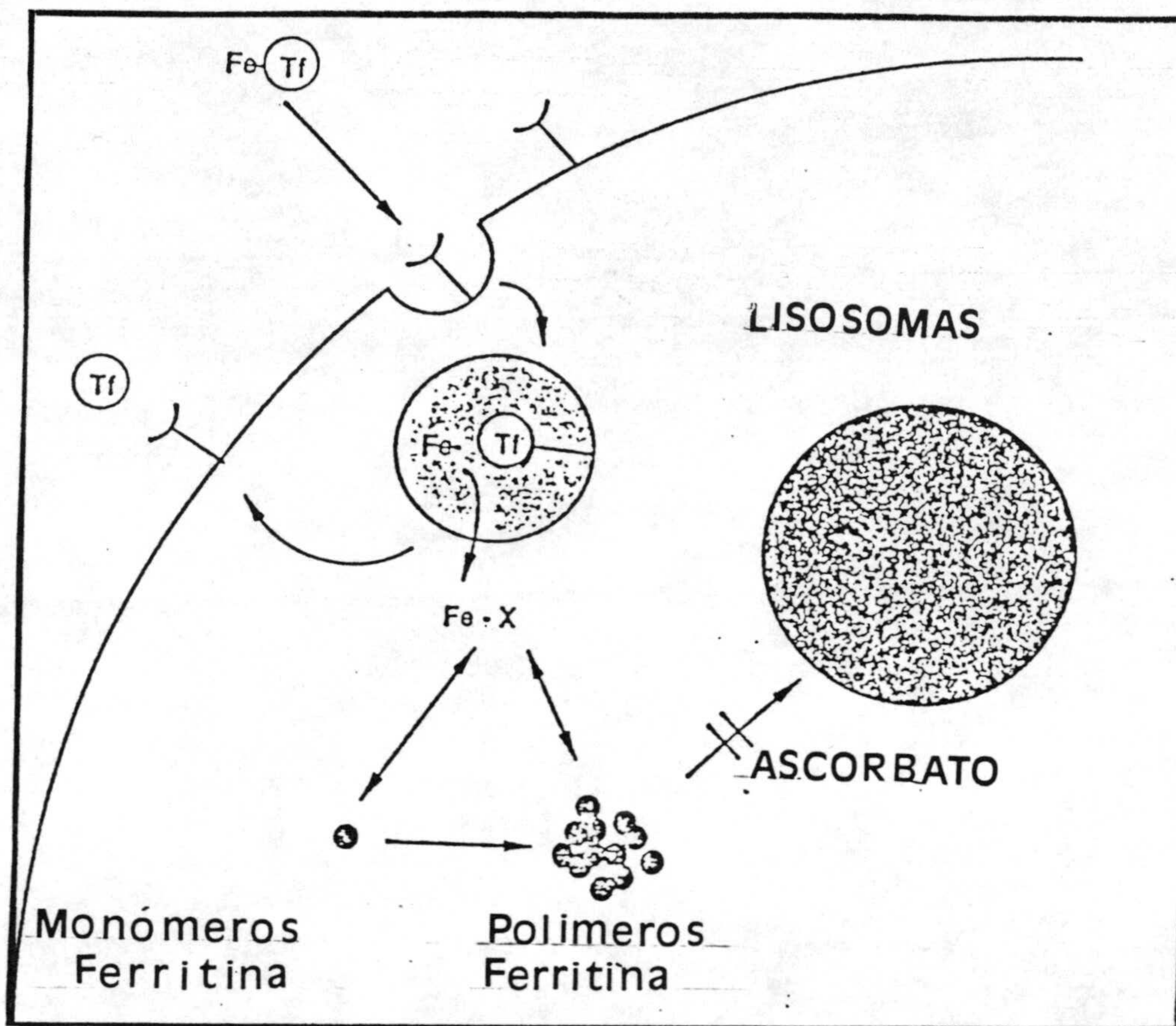
- *los lisosomas degradan preferentemente las antiguas moléculas de ferritina (que contienen más hierro).*

*Aunque, No se sabe el mecanismo por el cual la vitamina C retrasa esta degradación, se conoce claramente el doble papel de la vitamina C en aumentar la biodisponibilidad del hierro:*

- *facilita la salida del hierro a través de los poros de la ferritina, por su reducción del estado férrico al estado ferroso (Beinfait y Van Den Briel, 1981)*

- *retrasa significativamente la degradación de los polímeros de ferritina citoplásmica y su conversión en hemosiderina (Hoffman y cols., 1991). Ya que la ferritina es un depósito de hierro más accesible a la maquinaria bioquímica de la célula que la hemosiderina (FIGURA XI).*





**FIGURA XI:** Efecto del ácido ascórbico sobre el metabolismo celular del hierro. La transferrina cargada con hierro se une a receptores específicos en la superficie celular después es internalizada dentro de un endosoma. Dentro de la célula, el hierro se separa del receptor parcialmente como resultado de la naturaleza ligeramente ácida de este orgánulo (pH , 5,5). Todos los sitios importantes dentro de la célula reciben el hierro mediante este complejo transitorio (Fe-X). La ferritina almacena el hierro en exceso y puede existir bajo forma monomérica o polimérica. Los lisosomas engloban los polímeros de ferritina y los degradan en hemosiderina. El ácido ascórbico bloquea el proceso de captación lisosomal de la ferritina (Tomado de Hoffman y cols. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54: 1188-1192, (1991)).



### 2.5.2. EFECTO SOBRE LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE COBRE

*El efecto de un exceso de ácido ascórbico sobre la utilización del cobre se ha observado en varias especies: ratas (Johnson, 1986; Johnson y murphy, 1988a; Van Campen y Gross, 1968; Van Den Berg y cols., 1990), pollos (Hill y Starcher, 1965), conejos (Hunt y cols., 1970) cerdos (Omaye y cols., 1986) y humanos (Jacob y cols., 1987).*

*A pesar de que está totalmente aceptado, sobre todo en animales de laboratorio, que el ácido ascórbico influye sobre el metabolismo del cobre, hay muy poca información sobre el mecanismo y el lugar de esta acción. Todavía no está aclarado a que nivel el ácido ascórbico condiciona el estado del cobre en el organismo.*

*En adultos jóvenes, una ingesta de 1500 mg de ácido ascórbico/día durante 52 días, disminuye en un 26 % la actividad de la ceruloplasmina sérica y tiende a disminuir el cobre sérico, cuyos niveles eran significativamente incrementados 20 días tras el suplemento con ácido ascórbico (Finley y Cerklowski, 1983).*

*Jacob y cols. (1987) han estudiado el efecto de varias ingestas de ácido ascórbico sobre la absorción intestinal del cobre y unos índices del estado del metal en jóvenes. Los índices estudiados eran el cobre sérico y la ceruloplasmina sérica determinados con métodos inmunoquímicos y enzimáticos. Los resultados de este trabajo demostraron que la absorción y la retención de cobre así como los niveles de cobre y ceruloplasmina en suero son parámetros que no se afectan al cambiar la ingesta de ácido ascórbico. Sin embargo, la actividad oxidasa de la ceruloplasmina disminuía de un 21 % en los sujetos que tomaban 605 mg de ácido ascórbico por día (la más alta ingesta utilizada en este trabajo). Otros investigadores han sugerido que el efecto de la vitamina C sobre el metabolismo del cobre es indirecto. La vitamina C estimula la absorción de hierro que posteriormente antagoniza con el cobre y perjudica su estado (Johnson, 1988).*

*El efecto aditivo de altas ingestas de vitamina C e hierro sobre el estado de cobre ha sido estudiado en varias especies. Así, en ratas con adecuado nivel de cobre, la*



*actividad de la ceruloplasmina plasmática disminuye en un 5 % al suplementar la dieta con alta concentración del hierro, en un 10 % cuando la dieta se suplementa con alta cantidad de vitamina C; y en un 44 % al aumentar simultáneamente la ingesta de ambos componentes (ácido ascórbico e hierro) (Johnson, 1990). En ratas deficientes en cobre, este efecto aditivo también se ha manifestado por disminución del nivel de hematocrito del 24 % y de la concentración de la superóxido-dismutasa Cu-Zn hepática en un 49 % (Johanson y Murphy, 1988a).*

*En realidad el papel exacto del ácido ascórbico sobre la utilización nutritiva de cobre es muy confuso. Parece que, a parte de su papel negativo cuando está administrado a altas dosis (Jacob y cols., 1987; Vanden berg y cols., 1989), el ácido ascórbico a dosis fisiológica, tiene una función reguladora positiva facilitando la utilización de cobre por las células corporales (Harris y Percival, 1991).*

*Se sabe que la ceruloplasmina es la principal proteína transportadora de cobre (Harris, 1991). Los niveles de ácido ascórbico superiores a 5  $\mu\text{mol/L}$  en un medio ligeramente ácido reduce el cobre (II) de la ceruloplasmina como se ha demostrado por la pérdida de su color azul (Gunnarsson y cols., 1973).*

*La liberación de cobre a partir de la ceruloplasmina para su captación posterior por las células aumenta hasta 10 veces en presencia de ácido ascórbico a nivel fisiológico (100  $\mu\text{mol/L}$ ) (Percival y Harris, 1989; 1990). Lo que sugiere que el ácido ascórbico, a nivel fisiológico es un factor positivo en la utilización del cobre a partir de la ceruloplasmina. En cambio, la vitamina no tiene ningún efecto sobre los iones del cobre libre o Cu-albúmina, lo que implica que el lugar de su acción es la ceruloplasmina (Harris y Percival, 1991).*

*Aunque el ácido ascórbico aumenta la disponibilidad de cobre, se ha visto que también limita su unión intracelular especialmente a la superóxido dismutasa Cu-Zn (Harris y Percival, 1991).*



*Según Harris y Percival (1991), la gran similitud entre los síntomas de deficiencia de cobre observadas 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.*

*Sin embargo, Van Den Berg y cols. (1990), demostraron que un suplemento excesivo de ácido ascórbico en una dieta administrada a ratas, produce una alteración en el metabolismo del cobre, una disminución de la eficacia de su absorción y un aumento de su pérdida corporal. Lo que desencadena mecanismos homeostáticos para conservar el cobre en el organismo. Así, según estos autores la deficiencia de cobre y la sobrecarga con el ácido ascórbico tienen efectos similares sobre la utilización nutritiva del metal.*

*A pesar de la discrepancia de estos resultados, que probablemente se debe a la cantidad del ácido ascórbico utilizada en cada trabajo y a la metodología seguida para evaluar el estado del cobre, muchos investigadores han sugerido que, a nivel fisiológico, el ácido ascórbico no afecta de ninguna forma la utilización nutritiva de cobre (Jacob y cols., 1987) e incluso la regula positivamente (Harris y Percival, 1991).*

### **2.5.3. EFECTO SOBRE LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE CINC**

*Se ha estudiado el efecto del ácido ascórbico en humanos sobre la absorción de cinc. Así, en ausencia de ácido ascórbico, la absorción de cinc a partir de una solución con 40  $\mu\text{mol}$  y otra con 200  $\mu\text{mol}$  de cinc (como sulfato de cinc) era respectivamente de  $73 \pm 10 \%$  y  $46 \pm 13 \%$  y al añadir 100 mg de ácido ascórbico a las dos soluciones, la absorción del metal era respectivamente  $78 \pm 8 \%$  y  $44 \pm 14 \%$ . Estos resultados demuestran que el ácido ascórbico no afecta la absorción intestinal de cinc (Sandström y Cederblad, 1987).*

*En un trabajo sobre el efecto de la vitamina C, administrada a dosis normal, sobre la absorción y retención de hierro, cobre y cinc en niños de bajo peso al nacimiento;*



*se ha observado que la vitamina C administrada bajo condiciones fisiológicas adecuadas no tiene efecto alguno sobre la absorción y retención de hierro y tampoco altera el metabolismo de cobre y cinc (Stack y cols., 1990).*

## **2.6. EFECTO DE LA VITAMINA D<sub>3</sub> SOBRE LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE HIERRO, CINC Y COBRE**

*No hay mucha información sobre el efecto de la vitamina D<sub>3</sub> sobre la utilización nutritiva de los tres minerales, tema del presente estudio, ya que ésta vitamina ha estado siempre positivamente correlacionada con el metabolismo del calcio y ha sido intensamente estudiada en relación con el estado nutricional del calcio, como el principal metal favorecido por esta vitamina.*

*Así, varios autores han demostrado que el 1, 25-dihidroxicolecalciferol, metabolito biológicamente activo de la vitamina D, además de aumentar la absorción intestinal de calcio, activa su entrada en el cólon (Karbach y Rummel, 1986; Wali y cols., 1990). También se ha observado que altos niveles del 1, 25-dihidroxicolecalciferol conducen a un incremento en el nivel de CaBP (Roche y cols., 1986) y a un transporte activo de calcio.*

*Este efecto positivo de la vitamina se ha observado también en el caso de una resección intestinal en ratas (Campos y cols., 1987).*

*De los tres minerales objeto de estudio, el cinc es el metal cuyo estado nutricional ha sido más estudiado en relación con la acción de la vitamina D<sub>3</sub> y sus metabolitos; quizás por la gran similitud existente entre cinc y calcio en distintos puntos de sus metabolismos. Así, en un trabajo sobre los efectos del 1, 25 dihidroxicolecalciferol (1, 25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>) y vitamina D<sub>3</sub> sobre la retención de cinc en hueso en ratas hembras adultas, se ha observado que la forma bajo la cual se administra la vitamina en la dieta, así como*



*el nivel de cinc dietario son factores muy importantes que condicionan el nivel del cinc en el hueso. Así, la concentración del cinc en el hueso aumenta significativamente con la administración del 1, 25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>, además el incremento de cinc dietario (100 a 200 mg/Kg de dieta) aumenta la resorción del hueso medida con pérdidas de <sup>3</sup>H-tetraciclina (Soares y cols., 1987).*

*El destino del cinc depositado en el hueso no es bien conocido, según Murray y cols. (1981), el cinc liberado del hueso no está en cantidad suficiente para satisfacer las demandas metabólicas durante la deficiencia del cinc en ratas (Murray y cols., 1981). Así el incremento en la concentración de cinc, a nivel del hueso, por efecto del 1, 25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>, en ratas deficientes en calcio puede explicarse por el antagonismo que existe entre los dos minerales (Soares y cols., 1987) y no refleja ningún estado positivo del cinc.*

*La relación entre vitamina D<sub>3</sub>, sus metabolitos y el cinc no está aclarada. Según unos autores el efecto de la vitamina está limitado a la calcificación y crecimiento del hueso (Becher, 1966) y que ni el coledalciferol ni 1, 25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> aumentan la absorción de cinc (Koo y cols., 1980). Sin embargo, Chan y cols. (1981), usando la técnica del balance metabólico observaron un incremento en la retención de cinc con el 1, 25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> más que con el coledalciferol en niños con insuficiencia renal crónica (Chan y cols., 1981).*

*No se dispone de información acerca del efecto de la vitamina D<sub>3</sub> sobre el metabolismo de hierro y cobre, ya que los estudios llevados a cabo sobre el estado nutricional de estos dos minerales en relación con vitaminas, se han centrado especialmente en torno a la acción del ácido ascórbico. Así, como se ha mencionado anteriormente, hierro y cobre son minerales cuyo metabolismo está estrechamente relacionado con el nivel de vitamina C en la dieta (Degkwitz y cols., 1990; Hallberg y cols., 1986; Hallberg y cols., 1987; Hallberg y cols., 1989; Harris y Percival, 1989; 1991; Hoffman y cols., 1991; Jacob y cols., 1987; Johnson, 1990; Johnson y Murphy, 1988a; Van Den Berg y cols., 1990). En cambio, el metabolismo de cinc es más dependiente de la forma en la que se suministra la vitamina D en la dieta y de su nivel (Soares y cols., 1987).*



## 2.7. EFECTOS GENERALES DE LAS RESECCIONES INTESTINALES

*La resección intestinal es una situación patológica bastante complicada, en la cual el organismo de repente se encuentra enfrentado con malabsorción de proteínas, grasa y cationes divalentes (Ca, Mg, Fe, Cu y Zn entre otros).*

*Esta perturbación se debe a una disminución de la superficie absorptiva y a la reducción en el tiempo de tránsito de los nutrientes en el tubo digestivo (Weser, 1979).*

*Aunque es bien conocida la respuesta compensatoria del intestino remanente, tras una resección intestinal, la capacidad de esta respuesta para paliar la malabsorción intestinal depende:*

- de la cantidad del intestino eliminado (Hanson y cols., 1977a; Weser, 1983)*
- del lugar de la resección (Read y cols., 1984; Sarna y cols., 1983; Wingate, 1983; Wittmann y cols., 1985).*
- del tiempo transcurrido tras la operación (Hanson, y cols., 1977b).*
- del tipo de nutrición utilizado tras la operación (enteral o parenteral) (Biasco, y cols., 1984; Ford y cols., 1985)*
- de la composición de la dieta (Barrionuevo y cols., 1989; Campos y cols., 1989; Coves, y cols., 1991; Grey y cols., 1984; López-Aliaga, y cols., 1990).*

*Así, se ha estudiado el efecto de una resección del 30 % de intestino delgado sobre la cinética de crecimiento celular en el epitelio intestinal, demostrando un aumento en el ritmo de producción de las criptas, debido a un ciclo de replicación celular más corto. Lo que conduce a un nuevo estado de adaptación en el cual no cambia el número de criptas y vellosidades, sino las dimensiones (Hazel Cheng y cols., 1986). Esta hiperplasia compensatoria se detecta también en resecciones masivas de intestino delgado que pueden alcanzar el 75 % de intestino delgado (Dowling, 1982) e incluso más.*



*Carreras y cols. (1987) han estudiado cuantitativamente, los efectos del bypass yeyuno-ileal sobre los parámetros morfométricos de la mucosa del intestino delgado de la rata, tanto en el asa excluida como en el íleon en continuidad. Así, el intestino en continuidad ha mostrado un incremento de su perímetro, del peso, y del contenido proteico de la mucosa. La altura y anchura de las criptas están aumentadas. Lo que se refleja por un aumento, tanto del área mucosal como del área vellositaria. Mientras que, en el segmento excluido, se ha observado una disminución del perímetro intestinal, del peso de la mucosa y del contenido en proteína de la misma. La altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas se encuentran disminuidas en este segmento, mientras que la anchura de las vellosidades (tanto en la base como a media altura) está incrementada; el área mucosal y el área vellositaria no se modifican.*

*Así, parece que en el bypass yeyuno-ileal se produce una hipoplasia del segmento en continuidad.*

*El principal estímulo responsable de la aparición de estas respuestas adaptativas del enterocito es la presencia de nutrientes luminales en el intestino. Cosa que lógicamente no se puede lograr mediante una nutrición parenteral (Dowling, 1982).*

*Según Ford y cols. (1985), el contenido luminal desencadena una serie de adaptaciones morfológicas en íleon remanente tras una resección proximal, como la altura de las microvellosidades que llega a ser un 81 % superior al control; aumento en la profundidad de las criptas de un 404 % e incremento del contenido de DNA de 517 % cuando se compara con animales no resecados.*

*Una hiperplasia parecida se ha detectado en íleon remanente tras una resección proximal (Kwan y cols., 1987).*

*Grey y Morin (1985) realizaron una resección del 50 % de intestino delgado distal y observaron también una hiperplasia compensatoria en el intestino proximal remanente. Según estos autores, la hiperplasia observada se debe a la presencia de dos*



*moléculas de distinto peso molecular de naturaleza proteica en los extractos mucosales de intestino proximal, que estimulan la síntesis del DNA en el intestino remanente.*

*Como el efecto de la resección depende de muchos factores que seguramente cambian según la metodología utilizada en cada trabajo, no hay un acuerdo general entre los autores sobre qué tipo de resección, proximal o distal, perjudica más la absorción intestinal de los distintos nutrientes.*

*Según Wittmann y cols. (1985), la resección yeyunal parece inducir a procesos adaptativos en la motilidad intestinal más importantes que la resección ileal; lo que está de acuerdo con los resultados obtenidos en otros trabajos (Read y cols., 1984; Sarna y cols., 1983; Wingate, 1983) que demostraron el destacado papel del íleon en la motilidad de todo el intestino.*

*Según Weser (1983), el lugar de la resección intestinal así como la longitud del intestino eliminado son los dos factores que están más implicados en producir una malabsorción lipídica.*

*El tiempo requerido para que las adaptaciones morfológicas alcancen su valor máximo depende también de los autores y por supuesto de la metodología utilizada. Así, según Hanson y cols. (1977b), 12 días tras una resección del 70 % de intestino delgado la hiperplasia mucosal alcanza su nivel máximo.*

*Mientras que Según Dowling, (1982) y Wiliamson (1978), cuatro semanas son necesarias para detectar la máxima hiperplasia.*

*Según Biasco y cols. (1984), tras una resección intestinal, el factor más importante que estimula directa o indirectamente el crecimiento mucosal es la nutrición intraluminal. Y todos los cambios morfológicos que se han detectado tras la resección intestinal constituyen una respuesta del enterocito a la presencia de nutrientes en el lumen intestinal.*



*En pacientes con resección intestinal masiva, se ha logrado mantener un balance positivo de hierro, cobre y cinc mediante nutrición oral (Engels y cols., 1984).*

*En otro trabajo con pacientes con el síndrome de intestino corto tras la resección intestinal, los pacientes con nutrición oral absorben grasa, carbohidratos, proteína y calorías totales en proporciones normales (54 %, 61 %, 81 %, y 62 % respectivamente), y presentan un balance positivo de nitrógeno y de cationes divalentes (Wolf y cols., 1987).*

*Generalmente en humanos, los pacientes con síndrome de intestino corto tras una resección intestinal, al principio están tratados con nutrición parenteral y progresivamente se va aumentando la función enteral a la vez que se estabiliza el estado del paciente. Normalmente de 2 a 4 semanas tras la operación se logra una estabilidad (Devine y Kelly, 1989), pero en casos más complicados en los cuales se ha tenido que realizar operaciones más delicadas, como un trasplante del intestino, la nutrición parenteral total es el último recurso.*

*Al Jurf y cols. (1985) tras una resección intestinal del 90 %, estudiaron el efecto de diferentes métodos nutricionales sobre el desarrollo de la hiperplasia y adaptación funcional del intestino remanente. En este estudio el problema se planteó a nivel de la absorción de L-valina. Pero combinando la nutrición intravenosa y alimentación oral se logró incrementar el peso intestinal y mucosal y recuperar el balance de L-valina.*

*Las secreciones pancreático-biliares tienen un papel en el desarrollo de los fenómenos adaptativos (Al-Mukhtar 1983), a saber, glucagon (Rudo y Rosengerg, 1973), enteroglucagon (Jacobs y cols., 1981; Al Mukhtar, 1983), insulina (Caspary, 1973), entre otros.*

*La composición de la dieta afecta considerablemente los mecanismos de adaptación intestinal tras la resección . Así, tras una resección masiva de intestino delgado, la adaptación del intestino remanente a la pérdida del área absortiva se ve marcadamente aumentada al suplementar la dieta elemental con pectina. Se trata de una fibra dietaria completamente fermentada con bacterias colónicas. Suplementando la dieta con pectina se*



logra aumentar significativamente el número de las células en la zona proliferativa de las criptas, y el contenido proteico, la concentración de DNA y RNA de la masa mucosal intestinal en el colon; también se ha visto una dilatación con incremento de la masa mucosal como compensación del área eliminada (Koruda y cols., 1986).

Barrionuevo y cols. (1980) han estudiado el efecto de una resección masiva de intestino delgado distal del 50 % y 80 % sobre la absorción de proteína en ratas. Dos semanas tras la operación, había una disminución significativa en la ingesta y peso de los animales. Estos efectos eran más acentuados en las ratas con resección del 80 % que con resección del 50 %, así como el coeficiente de digestibilidad aparente (C.D.A.) y la pérdida del nitrógeno en heces. Con el tiempo y hacia la sexta y novena semana de la operación, se notaba una tendencia a recuperar el balance negativo de la proteína. Recuperación que era casi total al cabo de los tres meses tras la operación.

Sin embargo, Curtis y cols. (1984) demostraron una semana tras la operación, una capacidad importante del intestino remanente para absorber proteína en animales con resección masiva del intestino delgado.

La adaptación ileal tras la resección intestinal proximal se acompaña de una disminución de la captación celular de aminoácidos (Rudo, 1979); mientras que según otros trabajos el íleon tras la resección proximal, aumenta la absorción de aminoácidos (Garrido, 1979).

Pacientes con el síndrome de intestino corto, un año después de la operación, presentan una absorción proteica normal con un balance positivo de nitrógeno (4,1 g N/día), debido a un estado mucosal estable de los pacientes que no manifiestan ninguna alteración mucosal tras la resección (Wolf y cols., 1987).

La suplementación de los triglicéridos de cadena corta en la dieta mejoran la adaptación intestinal al síndrome de resección intestinal.



*A ratas con una resección del 60 % de intestino delgado distal, se les suministró una dieta con un 40 % de energía no proteíca como triglicéridos de cadena media o de cadena corta. Comparando el efecto de los dos tipos de grasa, se ha visto que en yeyuno e íleon, el peso de la mucosa (mg/cm), su contenido en proteína, en DNA como RNA ( $\mu\text{g/cm}$ ), aumenta significativamente en el grupo que tomaba una dieta suplementada con triglicéridos de cadena corta (SCT) comparado con el grupo cuya dieta fue suplementada con triglicéridos de cadena media (MCT) (Scott, Akripke y cols., 1991). Según otros autores los triglicéridos de cadena larga (LCT) y no de cadena media parecen mejorar los mecanismos adaptativos en el intestino remanente (Vanderhoor y cols., 1984). Takashi y Sakata (1987) demostraron que los ácidos grasos de cadena corta aumentan 3 a 4 veces el ritmo de proliferación celular por cripta, en ratas con fístula ileal.*

*Pero los ácidos grasos de cadena media son los mejor absorbidos, entre otros muchos lípidos, (LCT, SCT, colesterol ácidos biliares) por el yeyuno tras una resección del 50 % del intestino delgado distal (Keelan y cols., 1985).*

*Este fallo en la absorción de los ácidos grasos de cadena corta o larga se debe a la interrupción de la circulación enterohepática por eliminación de la absorción ileal en una resección intestinal distal (Erlinger, 1987; Farkkila 1987; Koivisto y Miettinen, 1986).*

*Dado que los triglicéridos de cadena media no requieren una digestión biliar previa para ser absorbidos, son los más recomendados tras una resección intestinal distal para paliar los fenómenos de malabsorción lipídica.*

*Coves y cols. (1991) estudiaron la influencia de dietas con distinta calidad lipídica sobre la utilización digestiva y metabólica de la grasa tras una resección del 50 % de intestino delgado distal en ratas. Una dieta cuyo aporte lipídico está constituido por aceite de oliva, aceite de girasol y MCT a partes iguales, aumenta significativamente la utilización digestiva de la grasa en comparación con los animales resecados alimentados con aceite de oliva o mantequilla como única fuente lipídica. Lopez-Aliaga y cols. (1990; 1991) demostraron que esta composición lipídica mejora también la utilización de la proteína de la dieta en ratas con resección del 50 % de intestino delgado distal.*



Coves y cols. (1988) en ratas con resección del 50 % de intestino delgado distal, alimentadas con una dieta con aceite de oliva como fuente lipídica, encontraron un descenso significativo en los niveles séricos de triglicéridos y colesterol. Este descenso se explica por la síntesis de ácidos biliares en hígado puesto que la circulación enterohepática se encuentra interrumpida en estos animales por la resección. Murillo y cols. (1978) en ratas con un 80 % de resección intestinal distal encontraron niveles significativamente bajos de colesterol. Razón por la cual en muchos trabajos se suplementa la dieta con una sal biliar (Coves y cols., 1991; Stiehl y cols., 1988).

Con respecto al efecto de la resección intestinal sobre el metabolismo de algunos cationes divalentes, Campos y cols. (1989) estudiaron la utilización nutritiva de Ca en ratas adultas con el 50 % del intestino delgado distal resecado, y en ratas transectadas, al mes y a los tres meses de la intervención quirúrgica, la resección redujo la utilización digestiva de Ca reflejada por el contenido mineral del hueso. Disminución que se mantuvo tres meses después de la resección. Sin embargo, un cambio en la calidad lipídica de la dieta (1/3 de aceite de oliva, 1/3 de aceite de girasol, 1/3 de MCT en vez de 100 % de aceite de oliva) condujo a una mejora en la utilización nutritiva de Ca, que alcanzó su máximo al suplementar esta última dieta con vitamina D<sub>3</sub> (Campos y cols., 1989). Esta calidad lipídica junto con la suplementación con vitamina D<sub>3</sub>, tiene un efecto mejorador similar sobre la utilización nutritiva de fósforo (Barrionuevo, y cols., 1989) y magnesio (Lopez-Aliaga y cols., 1989) en ratas con resección del 50 % de intestino delgado distal.

Eastin y cols. (1981), en trabajos sobre la homeostasis de los micronutrientes en esta patología (resección del 70 % del yeyuno guardando el duodeno, yeyuno proximal e íleon distal) encontraron que la actividad específica de transporte ( $\mu\text{mol/g}$  de mucosa) así como la capacidad total de transporte de calcio ( $\mu\text{mol/longitud}$  de segmento) disminuyen en el duodeno de ratas resecadas (9 a 11 días tras la operación) al compararlas con sus respectivos controles.

Generalmente está bien establecido que las resecciones de intestino delgado alteran el balance fosfocálcico del organismo (Gomez-Travecedo y cols., 1985; Campos y cols., 1987; Wilson y Schedl 1983). Alteración que se refleja por una baja retención de



calcio (Campos y cols., 1987) así como por una baja concentración del metal en el hueso (Campos y cols., 1989).

## **2.8. EFECTO DE LA RESECCIÓN INTESTINAL SOBRE LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE HIERRO, COBRE Y CINC**

*La resección de intestino delgado está asociada con una variedad de cambios funcionales y morfológicos en el intestino residual. La intensidad de estos cambios es función en parte de la cantidad de intestino eliminado, del tipo de la resección y del tiempo transcurrido tras la operación (Dowling, 1982; Hanson y cols., 1977a; 1977b; Wilson y cols., 1986).*

*Se han realizado varios estudios para evaluar el efecto de una resección intestinal sobre la absorción de macronutrientes tanto en animales (Brot-Laroche, 1986; Freeman, 1988; Kimberly y Curtis 1984, Thomson, 1987), como en humanos (Farkkila y cols., 1987; Johansson y cols., 1987; Woolf, 1987). Sin embargo, pocos estudios se han llevado a cabo sobre el efecto de la resección intestinal en la absorción de micronutrientes (Barrionuevo y cols., 1989; Campos y cols., cols., 1989; Eastin y cols., 1980; Gomez-Travedo y cols., 1985; Lopez-Aliaga y cols., 1989) y mucho menos sobre la absorción de elementos traza.*

*Así aunque la importancia del cinc como micronutriente ha sido previamente confirmada y estudiada, su estado en una situación patológica como la resección intestinal es casi desconocida. Se sabe muy poco sobre la habilidad del intestino remanente para compensar los efectos de la resección intestinal sobre la absorción de este elemento traza (Faber y cols., 1978).*

*Wilson y cols. (1986) practicaron una resección del 70 % de yeyuno, guardando el duodeno, un poco de yeyuno proximal y 20 cm de íleon distal en ratas. Nueve a once días tras la intervención quirúrgica, el contenido de proteína y de DNA por cm de*



*longitud de duodeno e íleon remanente era el doble, en ratas resecaadas, que en los respectivos segmentos de las ratas transectadas. Así, y debido a la hiperplasia desarrollada en el segmento remanente, las concentraciones de cobre y cinc en el duodeno e íleon de las ratas resecaadas y controles eran similares.*

*También se ha observado que después de la resección intestinal, las concentraciones de estos metales en hígado, riñones, testículos y hueso (fémur) no cambiaban entre los dos lotes. Lo que significa que mediante la adaptación morfológica que tiene lugar en el intestino remanente se logra mantener la homeostasis de estos elementos traza tras la resección intestinal. Woolf y cols. (1987) encontraron resultados parecidos en pacientes con síndrome de intestino corto. Según estos autores, pacientes que han tolerado la nutrición intraluminal y que no padecen alteración mucosal alguna tras la operación presentan una absorción normal de cinc (15 %).*

*Mientras que en otros trabajos, pacientes con resección de intestino delgado presentan, con gran frecuencia, una deficiencia de cinc y con necesidad de suplementar el aporte de este elemento traza para paliar sus pérdidas por diarrea (Alper, 1983; Wolman y cols., 1979).*

*Hessov y cols. (1984), estudiaron la absorción de cationes divalentes, entre ellos el cinc, con la técnica del balance metabólico a dos niveles de ingesta lipídica y encontraron una mejora en la absorción de cationes divalentes con una dieta que contiene 40 g de grasa en comparación con otra dieta de 100 g de grasa. Sin embargo, Woolf y cols. (1983) no encontraron ningún efecto del nivel de la grasa sobre la absorción de cationes divalentes en pacientes con intestino corto. Según Wolf y cols. (1987) la alta ingesta de grasa no afecta la absorción de cationes divalentes (Ca, Mg Y Zn) en pacientes con síndrome de intestino corto.*

*Antonson y Vanderhoof (1982) evaluaron con perfusión, la absorción de cinc 6 semanas tras una resección masiva de intestino delgado proximal o distal. Así en animales con una resección de intestino distal había un incremento significativo (214 %) en la absorción de cinc en intestino proximal en comparación con los controles. Mientras que,*



*tras una resección proximal, el intestino remanente distal a pesar de la hiperplasia parece ser incapaz de aumentar la capacidad de absorción de cinc. La máxima absorción del metal, según estos autores, se localiza en íleon (Antonson y cols., 1979). tras una resección distal, el yeyuno parece reemplazar al íleon eliminado y adquiere su función. Mientras que, en íleon, debido a la hiperplasia que se desarrolla tras la resección proximal, aumenta el número y el tamaño de las células epiteliales de la mucosa sin que haya aumento en el número de los sitios disponibles para el transporte de cinc.*

*Urban y Campbell (1984) examinaron el transporte del cinc en duodeno e íleon de ratas con resección masiva de intestino delgado, comparadas con ratas falsamente operadas; usando el cinc radioactivo y no radioactivo en soluciones de perfusión luminal para medir directamente la absorción y el flujo del cinc del lumen intestinal al plasma. Así, 4 semanas después de la operación, Urban y cols. (1984) notaron un incremento mucosal significativo en ambos segmentos de los animales resecados comparados con sus respectivos segmentos en los controles. Pero las actividades específicas de transporte (transporte por gramos de mucosa) no se alteraban, y por lo tanto las capacidades de transporte en segmento (transporte por cm de longitud) aumenta en ambos segmentos proporcionalmente al crecimiento mucosal. Así, según estos autores, el mayor efecto de la resección fue incrementar el flujo entrante de cinc a la superficie luminal de la mucosa por cm de segmento; y sabiendo que en la superficie basal, el flujo entrante y saliente aumentaban en la misma proporción y junto con el hecho de que la resección no alteraba la actividad específica del transporte del cinc en ambos, el efecto de la resección es aumentar el turnóver del pool de cinc mucosal sin afectar aparentemente el tamaño de este pool.*

*La contradicción de los resultados encontrados en distintos trabajos puede ser debida a las diferencias en la metodología seguida en cada uno de estos trabajos, ya que la adaptación en el intestino delgado remanente depende de si la resección intestinal es proximal o distal.*

*Además, en ratas, el crecimiento mucosal adaptativo y los cambios del transporte funcional son fenómenos separados pero correlacionados (Urban y Michel. 1983), y los mecanismos de transporte adaptativo de varios sustratos lumbinales están*



*selectivamente localizados en regiones particulares del intestino (Urban y Pena, 1974; Urban y Michel, 1983).*

*Respecto al cobre, micronutriente de gran importancia en la nutrición, cuyo metabolismo ha sido bastante aclarado en estado fisiológico; sin embargo, en caso de una patología intestinal, como la pérdida masiva de intestino delgado, la información disponible es muy fragmentaria.*

*Urban y Campbell (1984), estudiaron el efecto de una resección del 50 % de intestino delgado distal y proximal, sobre la absorción de cobre usando la técnica de recirculación "in vivo" (perfusión). Se han estudiado los dos tipos de adaptación que pueden tener lugar tras la operación, la capacidad de transporte expresada por cm de longitud y la actividad específica del transporte expresada por gramos de mucosa. Así, en el duodeno, intestino medio e íleon, 4 semanas después de una resección proximal, la absorción de cobre por g de mucosa ha disminuido significativamente en el duodeno e intestino medio, mientras en íleon no cambia al compararla con el grupo falsamente operado. Debido a la hiperplasia mucosal que se desarrollaba en los tres segmentos, la absorción por cm de longitud en el duodeno e intestino medio de los controles, compensaba la disminución en la actividad específica de transporte, mientras que en íleon, la capacidad de transporte de cobre aumenta significativamente frente al grupo falsamente operado. La absorción de cobre por gramo de mucosa no cambia en el duodeno, pero disminuye en intestino medio e íleon en comparación con el grupo falsamente operado.*

*Así, la absorción de cobre por cm de longitud, tras la resección distal, no cambia en el duodeno e intestino medio mientras que en íleon aumenta significativamente en comparación con el grupo falsamente operado, debido a la hiperplasia mucosal. Así, según estos autores, el íleon es el lugar de la más alta capacidad de absorción de cobre que se manifiesta tras una resección, tanto proximal como distal, pero con mecanismos adaptativos distintos.*

*El estímulo del desarrollo de una adaptación morfológica y funcional tras la resección no está todavía bien aclarado (Weser y cols., 1982; Dowling, 1982). En cambio,*



lo que mejor se conoce es el rápido turnover de las células de la mucosa intestinal (Weser y Tawil, 1976; Hanson y Osborne, 1971) que se interpretó como una inmadurez metabólica de la mucosa postresecada (Urban y Weser, 1980).

Estos datos indican que excepto el íleon, la mucosa tras una resección proximal es funcionalmente menos activa en su capacidad, para absorber el cobre; y en ambos grupos resecados la concentración mucosal de cobre disminuye marcadamente en intestino medio y en íleon, reflejada por una baja concentración de metalotioneína en estos segmentos.

Wilson y cols., (1986), tras una resección del 70 % del yeyuno, dejando el duodeno, poco del yeyuno y 20 cm de íleon distal intactos, encontraron que de 9 a 11 días después de la operación, la concentración de cobre en duodeno no se afectaba por la resección. La concentración de este elemento traza se mantiene en niveles adecuados en hígado, riñones, testículos y hueso (fémur).

*Los mecanismos adaptativos están más desarrollados en íleon que en duodeno.*

Además de esto, Wilson y cols. (1986) en este mismo trabajo, investigaron el efecto de la resección intestinal sobre la actividad específica de la superóxido dismutasa (suma de las actividades de la SOD Cu-Zn citosólica y SOD Mn mitocondrial). Así, esta actividad no aumentaba en el duodeno, mientras que en el íleon se encontraba un incremento significativo en los animales resecados en frente a los animales falsamente operados (controles).

Este aumento en la actividad de la superóxido dismutasa (metaloenzima dependiente de cobre y cinc) ofrece un apoyo a los resultados, obtenidos por estos autores, sobre el mantenimiento de la homeostasis de los elementos traza.

Está admitido generalmente, sino totalmente, que el estado de los elementos traza en el organismo está reflejado por sus concentraciones en sangre (Delves, 1982). Así,



*Urban y Campbell (1984) demostraron que el nivel sérico de cobre no cambia ni con la resección proximal ni distal del intestino delgado.*

*El mantenimiento de la homeostasis de los elementos traza tras la resección intestinal (Wilson y cols., 1986), puede ser el resultado de:*

*- una gran habilidad del intestino delgado remanente para absorber suficiente cobre de la dieta con el fin de mejorar su aprovechamiento metabólico tras la resección.*

*- movilización de los depósitos del metal en tejidos, para mantener siempre un nivel adecuado del elemento y la integridad de las vías metabólicas en las cuales está implicado. Wilson y cols. (1986) encontraron que la resección se acompañaba de una ligera reducción, pero significativa, de la concentración de cobre en hígado.*

*- o puede que la adaptación observada consista en una combinación de los dos posibles mecanismos (Urban y Campbell 1984).*

*Engels y cols. (1984), estudiaron el balance de hierro, cobre y cinc durante 5 días en pacientes con síndrome de intestino corto, mantenidos con nutrición oral. Los pacientes estudiados llevaban operados de 1 a 5 años. Los resultados de este trabajo se pueden resumir en dos puntos:*

*- en pacientes con intestino remanente de 40 a 100 cm de longitud, tras la resección intestinal, se logró mantener un balance aceptable de hierro, cobre y cinc (teniendo también en cuenta la posible pérdida de estos elementos por la superficie corporal total), con niveles séricos normales de vitaminas hidrosolubles.*

*- la absorción neta de hierro y cinc en estos pacientes es comparable a la absorción en sujetos normales, pero la absorción neta de cobre tiende, incluso, a ser más alta en pacientes con síndrome de intestino corto, que en sujetos normales.*

*Ohkohchi y cols. (1986) al estudiar el estado de los tres elementos traza en niños con síndrome de intestino corto, encontraron que generalmente el estado de estos minerales, reflejado por sus concentraciones séricas, no se ve muy afectado en esta patología con la excepción de dos casos (entre los nueve estudiados) que presentaban baja concentración de hierro sérico con valores de UIBC superiores a los 350 µg/dl. También se*



*ha detectado en dos niños, una concentración sérica de cinc ligeramente baja sin llegar a presentar síntomas de deficiencia del metal.*

*Así, se puede concluir que generalmente, tanto en animales de laboratorio como en humanos, no se ha presentado un estado seriamente alterado del metabolismo de los tres elementos traza, tema del presente apartado, en una situación patológica tan delicada como es limitar el área absorptiva de los nutrientes, aumentado, consecuentemente, la competición por los mecanismos de transporte entre los distintos componentes de la dieta, especialmente, los cationes divalentes.*

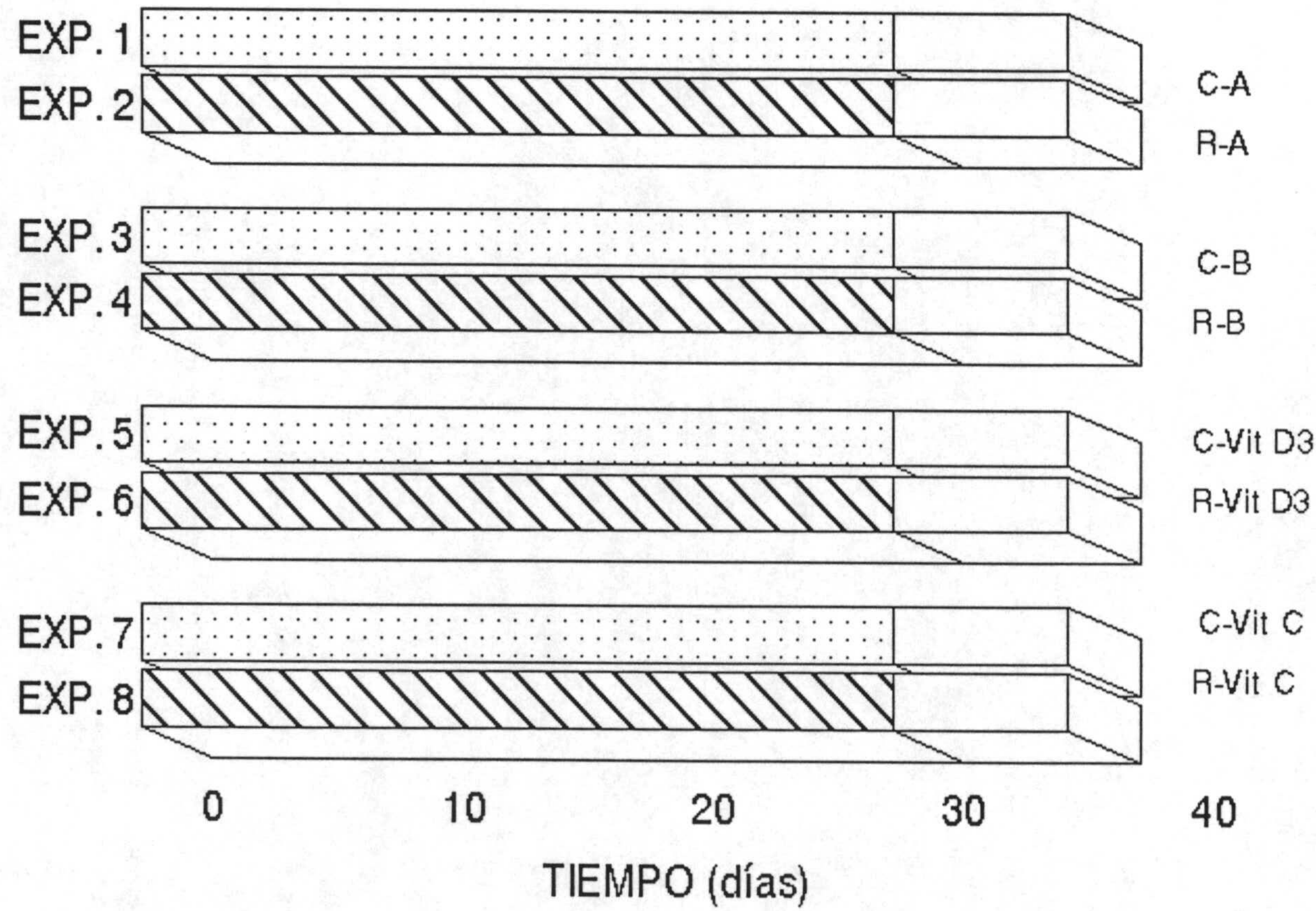
*Aunque, en algunos trabajos, se han encontrado ligeras alteraciones del estado nutricional de estos metales traza, su metabolismo en conjunto no se ve afectado; lo que reflejaría, una regulación homeostática, de la distribución de estos últimos, extraordinariamente controlada.*



### ***3.- MATERIAL Y MÉTODO***



# DISEÑO EXPERIMENTAL





## MATERIAL Y MÉTODO

*Se estudia el efecto de la resección del 50% de intestino delgado distal sobre la utilización nutritiva de hierro, cobre y cinc en ratas adultas. Para ello se han realizado ocho experimentos con cuatro tipos distintos de dieta, modificando, una vez la fuente lipídica y otras veces suplementando la dieta con vitamina D<sub>3</sub> o vitamina C, con el fin de investigar como se puede paliar los fenómenos de malabsorción que suelen tener lugar tras una resección masiva de intestino delgado.*

***Dieta A:** preparada al 12 % de proteína (caseína + 5% D-L metionina) y 4 % de grasa (aceite de oliva).*

***Dieta B:** preparada al 12 % de proteína (caseína + 5% D-L metionina) y 4 % de grasa (1/3 MCT, 1/3 aceite de girasol y 1/3 aceite de oliva).*

***Dieta B suplementada de vitamina D<sub>3</sub>** a dosis de 0,04 mg/100 g de dieta.*

***Dieta B suplementada de vitamina C** a dosis de 15 mg /100 g de dieta.*

### 3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

*Se han utilizado 90 ratas adultas de raza Wistar albina de ambos sexos, de peso medio inicial  $190 \pm 7.07$  gramos, procedentes del Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Granada.*



## **EXPERIMENTO I**

*Dieta: A*

*Técnica: Biológica de Mitchell*

*Duración: 1 mes de adaptación a la dieta y 7 días de período principal.*

*Animales: 10 ratas adultas de raza Wistar albina, 5 hembras y 5 machos, transectadas (controles).*

*Análisis: determinación de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón, suero, sangre total, orina, heces y dieta. Hemoglobina.*

## **EXPERIMENTO II**

*Dieta: A*

*Técnica: Biológica de Mitchell*

*Duración: 1 mes de adaptación a la dieta y 7 días de período principal.*

*Animales: 10 ratas adultas de raza Wistar albina, 7 hembras y 3 machos, con resección del 50 % del intestino delgado distal.*

*Análisis: determinación de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón, suero, sangre total, orina, heces y dieta. Hemoglobina.*

## **EXPERIMENTO III**

*Dieta: B*

*Técnica: Biológica de Mitchell*

*Duración: 1 mes de adaptación a la dieta y 7 días de período principal.*

*Animales: 10 ratas adultas de raza Wistar albina, 5 hembras y 5 machos, transectadas (controles).*



*Análisis: determinación de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón, suero, sangre total, orina, heces y dieta. Hemoglobina.*

#### **EXPERIMENTO IV**

*Dieta: B*

*Técnica: Biológica de Mitchell*

*Duración: 1 mes de adaptación a la dieta y 7 días de período principal.*

*Animales: 10 ratas adultas de raza Wistar albina, 5 hembras y 8 machos, con resección del 50 % del intestino delgado distal.*

*Análisis: determinación de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón, suero, sangre total, orina, heces y dieta. Hemoglobina.*

#### **EXPERIMENTO V**

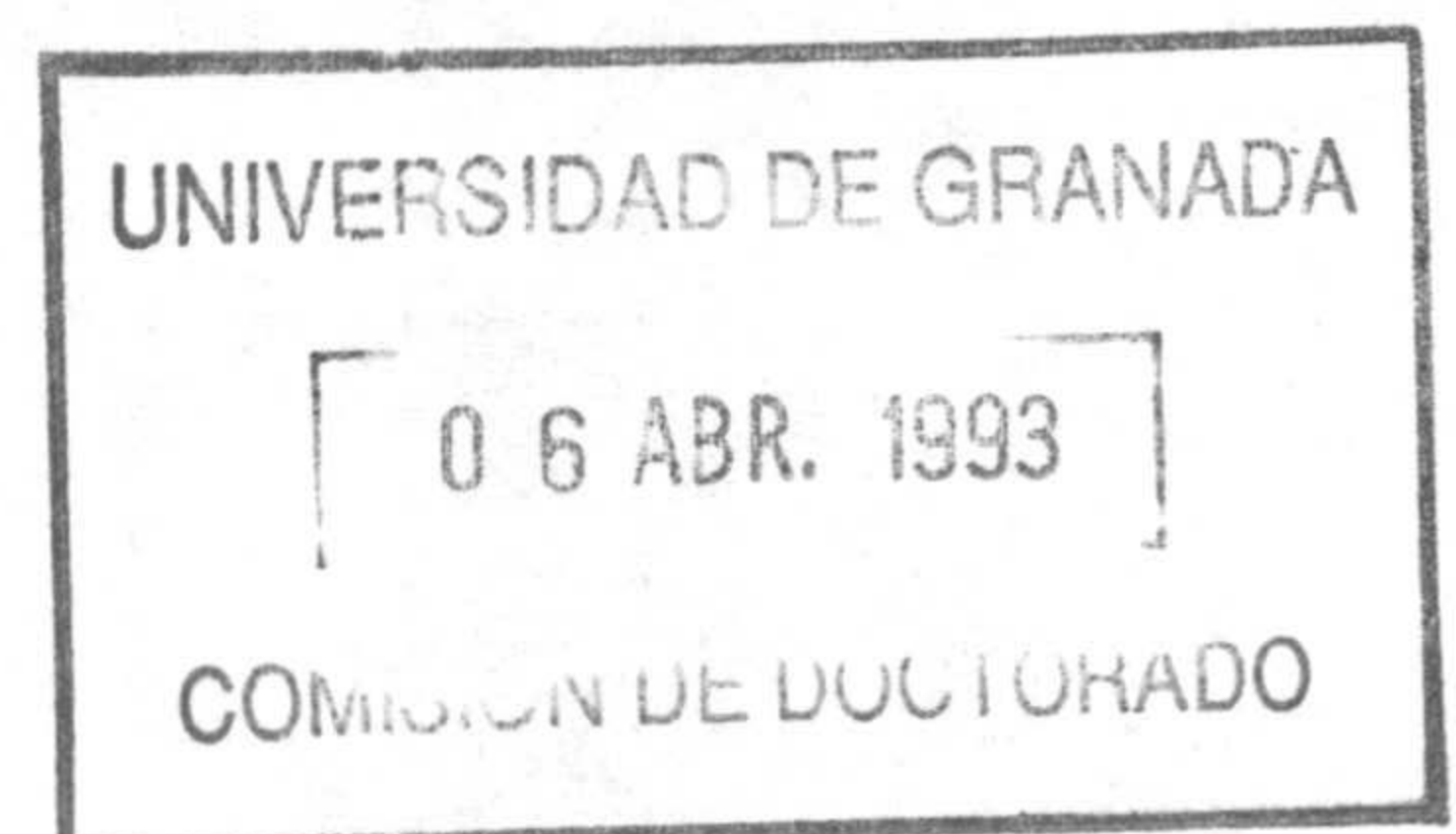
*Dieta: B suplementada de vitamina D<sub>3</sub> a dosis de 0,4 mg/100 g de dieta.*

*Técnica: Biológica de Mitchell*

*Duración: 1 mes de adaptación a la dieta y 7 días de período principal.*

*Animales: 11 ratas adultas de raza Wistar albina, 5 hembras y 6 machos, transectadas (controles).*

*Análisis: determinación de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón, suero, sangre total, orina, heces y dieta. Hemoglobina.*





## **EXPERIMENTO VI**

*Dieta: B suplementada de vitamina D<sub>3</sub> a dosis de 0,04 mg/100 g de dieta.*

*Técnica: Biológica de Mitchell*

*Duración: 1 mes de adaptación a la dieta y 7 días de período principal.*

*Animales: 10 ratas adultas de raza Wistar albina, 5 hembras y 6 machos, con resección del 50 % del intestino delgado distal.*

*Análisis: determinación de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón, suero, sangre total, orina, heces y dieta. Hemoglobina.*

## **EXPERIMENTO VII**

*Dieta: B suplementada de vitamina C a dosis de 15 mg/100 g de dieta.*

*Técnica: Biológica de Mitchell*

*Duración: 1 mes de adaptación a la dieta y 7 días de período principal.*

*Animales: 11 ratas adultas de raza Wistar albina, 5 hembras y 6 machos, transectadas (controles).*

*Análisis: determinación de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón, suero, sangre total, orina, heces y dieta. Hemoglobina.*

## **EXPERIMENTO VIII**

*Dieta: B suplementada de vitamina C a dosis de 15mg/100 g de dieta.*

*Técnica: Biológica de Mitchell*



*Duración: 1 mes de adaptación a la dieta y 7 días de período principal.*

*Animales: 14 ratas adultas de raza Wistar albina, 7 hembras y 7 machos, con resección del 50 % del intestino delgado distal.*

*Análisis: determinación de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longissimus dorsi, fémur, esternón, suero, sangre total, orina, heces y dieta. Hemoglobina.*

### **3.2. DIETAS UTILIZADAS**

*En los experimentos I y II, se ha utilizado una dieta semisintética ajustada a la siguiente composición porcentual:*

*Dieta A:*

	<i>S.F. (%)</i>	<i>S.S. (%)</i>
<i>Proteína (caseína + 5 % D,L metionina)</i>	<i>12.00</i>	<i>13.07</i>
<i>Grasa (aceite de oliva)</i>	<i>4.00</i>	<i>4.00</i>
<i>Fibra (celulosa)</i>	<i>8.00</i>	<i>8.40</i>
<i>Corrector Mineral</i>	<i>3.50</i>	<i>3.51</i>
<i>Corrector Vitamínico</i>	<i>1.00</i>	<i>1.01</i>
<i>Cloruro de Colina</i>	<i>0.20</i>	<i>0.20</i>

*Almidón y azúcar a partes iguales hasta el 100 % en sustancia seca.*

*En los experimentos III y IV se ha utilizado una dieta Semisintética ajustada a la siguiente composición porcentual:*

*Dieta B:*

	<i>S.F. (%)</i>	<i>S.S. (%)</i>
<i>Proteína (caseína + D,L metionina)</i>	<i>12.10</i>	<i>13.18</i>



<i>Grasa (1/3 MCT, 1/3 aceite de oliva y 1/3 aceite de girasol)</i>	4.00	4.00
<i>Fibra (celulosa)</i>	8.00	8.50
<i>Corrector Mineral</i>	3.50	3.51
<i>Corrector Vitamínico</i>	1.00	1.01
<i>Cloruro de Colina</i>	0.20	0.20

*Almidón y azúcar a partes iguales hasta 100 % en sustancia seca.*

*En los experimentos V y VI, se ha utilizado la dieta B suplementada de vitamina D<sub>3</sub> a dosis de 0,04 mg/100 g de dieta.*

*En los experimentos VII y VIII, se ha utilizado la dieta B suplementada de vitamina C a dosis de 15 mg/100 g de dieta.*

*Los Correctores mineral y vitamínico fueron elaborados según las recomendaciones del Instituto of Laboratory Animal Resources, (NAR,1979).*

#### *Corrector Mineral*

*g/Kg de corrector*

<i>Fosfato cálcico dibásico</i>	500.00
<i>Cloruro sódico</i>	74.00
<i>Citrato potásico monohidratado</i>	220.00
<i>Sulfato potásico</i>	52.00
<i>Oxido de magnesio</i>	24.00
<i>Carbonato de manganeso (43%-48% de manganeso)</i>	3.50
<i>Citrato férrico (16%-17% de hierro)</i>	6.00
<i>Carbonato de cinc (70% de óxido de cinc)</i>	1.60
<i>Carbonato cúprico (53%-55% de cobre)</i>	0.30



<i>Ioduro potásico</i>	0.01
<i>Selenito sódico pentahidratado</i>	0.01
<i>Sulfato de cromo y potasio dodecahidratado</i>	0.55
<i>Sacarosa finamente dividida</i>	118.03

*La cantidad de hierro, cinc y cobre contenida en la dieta con 3,5% de corrector mineral:*

*Hierro: 35 mg/Kg de dieta*  
*Zinc: 30 mg/Kg de dieta*  
*Cobre: 6 mg/Kg de dieta*

*Requerimientos de hierro, cinc y cobre en rata adulta:*

*Hierro: 35 mg/Kg de dieta*  
*Zinc: 12 mg/Kg de dieta*  
*Cobre: 5 mg/Kg de dieta*

### **CORRECTOR VITAMÍNICO**

	<i>U.I.</i>	<i>g/kg corrector</i>
<i>Clorhidrato de tiamina</i>		0.600
<i>Riboflaviana</i>		0.600
<i>Clorhidrato de piridoxina</i>		0.700
<i>Acido nicotínico</i>		3.000
<i>Pantotenato cálcico</i>		1.600
<i>Acido fólico</i>		0.200
<i>Biotina</i>		0.020
<i>Cianocobalmina</i>		0.001
<i>Vitamina A (acetato de retinol)</i>	4000	
<i>Vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferoles)</i>	1000	



<i>Vitamina E (tocoferoles)</i>	50	
<i>Vitamina K (menadiona)</i>		0.005
<i>Sacarosa finamente dividida csp</i>		1000.000

*Requerimientos de vitamina D<sub>3</sub> en rata adulta:*

*1000 U.I. = 0,025 mg/Kg de dieta.*

*Requerimientos de vitamina C en rata adulta: las recomendaciones del Instituto of Laboratory Animal Resources (NAR, 1979), no indican aporte de vitamina C para esta especie animal.*

### **3.3. INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA: RESECCIONES INTESTINALES**

*Después de haber mantenido los animales durante 24 horas en ayunas, se anestesian con pentobarbital sódico (5 mg/100 g de peso corporal) vía intraperitoneal. Tras laparotomía media, se localiza el intestino delgado y se mide su longitud total desde el ángulo duodeno-yeyunal hasta la válvula ileo-cecal. En nuestro caso la parte de intestino a reseca es su mitad distal (resección del 50% de intestino de ligado distal).*

*Antes de reseca se ligan cada uno de los vasos que irrigan la zona a eliminar, preservando la vascularización del intestino remanente. Tras seccionar ambos extremos, preservando la válvula ileocecal, se practica una anastomosis termino-terminal usando hilo de seda 6-0 y aguja curva. Durante todo el proceso, y para evitar las adherencias, se mantiene el intestino húmedo con solución salina al 0,9%. Una vez terminada la anastomosis se coloca el intestino en la cavidad peritoneal y se procede a cerrar el plano muscular con hilo de lino. la piel se cierra con aguja recta usando hilo de seda 2-0. Para evitar el desarrollo de alguna infección durante la operación (aproximadamente una hora), se trata la herida con desinfectante loco (violeta de genciana)*



*A las ratas transectadas, se les practicó la misma operación quirúrgica con la única diferencia de no haberles extirpado segmento intestinal alguno. Sólo se les secciona el segmento intestinal para realizar la anastomosis en idénticas condiciones descritas anteriormente.*

### **3.4. POSTOPERATORIO Y MANTENIMIENTO DE LOS ANIMALES**

*Después de la operación quirúrgica, los animales se mantienen en jaulas individuales de metabolismo ideadas por Schiller, que permiten un perfecto control de comida y separación de heces y orina. Dichas células están alojadas en una cámara termorregulada a  $22 \pm 2$  °C, convenientemente ventilada y con fotoperíodo controlado de 12 horas. Durante los 24 horas siguientes las ratas toman sólo solución glucosada al 5%. A continuación son alimentadas *ad libitum* vigilando durante este período la recuperación postoperatoria de los animales y la presencia o no de heces diarreicas. Considerando que una ingesta normal es signo de recuperación (Barrionuevo y Campos 1980).*

*En todos los experimentos, el período de adaptación es de un mes, mientras que período principal tiene una duración de 7 días.*

*La dieta semisintética empleada en todos los experimentos contiene 41.6 mg/Kg de hierro, 32.0 mg/Kg de cinc y 6.6 mg/Kg de cobre.*

*En todos los experimentos se determinan: ingesta, peso, eliminación fecal, absorción absoluta, coeficiente de digestibilidad, eliminación urinaria y retención absoluta (balance) de hierro, cinc y cobre. Asimismo, se determinan los niveles de hierro, cinc y cobre en hígado, riñones, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón, suero y sangre total; así como hemoglobina.*

*A lo largo de todo el período principal, la orina se recoge sobre una solución ácida de HCl, el volumen total recogido durante los 7 días de dicho período se lleva a 500*



*ml de los cuales se toman partes alícuotas para posteriores análisis. Los heces se guardan en congelador a - 40 °C para su posterior análisis.*

*Al final del período experimental, se sacrifican los animales por canulación de la aorta abdominal, y se obtiene sangre total en tubos con anticoagulante (heparina) para la posterior determinación de hierro, cinc y cobre. El suero se obtiene por centrifugación de la sangre restante, y se conserva congelado (- 40°C) hasta un posterior análisis.*

*Una vez sacrificados los animales, se les extirpan riñones, testículos, músculo longísimus dorsi e hígado, que se conservan congelados en nitrógeno líquido, así como fémur y esternón que se guardan congelados hasta su posterior análisis.*

### **3.5. ÍNDICES BIOLÓGICOS**

*La metódica utilizada en el cálculo de los diferentes índices empleados es la siguiente:*

*Coficiente de digestibilidad aparente:*

$$C.D.A. = \frac{I-F}{I}$$

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

*I = ingerido*

*F = excreción fecal*

*U = excreción urinaria*



*Las siglas utilizadas en estas fórmulas son las indicadas por FAO/OMS (1966).*

### **3.6. TÉCNICAS ANALÍTICAS**

#### **3.6.1. MATERIA SECA**

*Determinada como la parte de sustancia que no desaparece al someter la muestra a una temperatura de  $105 \pm 2$  °C, hasta que alcance un peso constante.*

#### **3.6.2. MINERALES TOTALES**

*Se obtienen por calcinación de 1 o 2 gramos (en el caso de las heces y de la dieta) de muestra en horno a 450 °C, hasta su perfecta calcinación.*

##### **3.6.2.1 Hierro, cobre y zinc**

*Las concentraciones de hierro, cobre y zinc de la dieta, heces, orina, riñones, hígado, testículos, músculo longísimus dorsi, fémur, esternón y sangre total se determinan por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin-Elmer 1100B).*

*A partir de una muestra adecuada, previamente mineralizada por vía seca (calcinación a 450°C durante 48 horas para todas las muestras excepto para fémur y esternón que la calcinación duraba 7 días), se obtiene el residuo que una vez pesado, se diluye con solución de ácido clorhídrico 5 N y se enrasa a un volumen determinado para medir su absorción atómica comparativamente frente a una serie de patrones.*



### *3.6.2.2. Hierro en suero*

*Para la determinación del hierro sérico se ha utilizado un método colorimétrico, según el test de INQUEBOR, S.A.*

### *3.6.2.3. Cobre y cinc en suero*

*Las concentraciones de cinc y cobre en suero se han determinado por espectrofotometría de absorción atómica diluyendo previamente las muestras a 1:5 con agua bidistilada. Y para aproximarse a la viscosidad del suero, las soluciones patrones utilizadas se preparan a partir de una solución de glicerol al 10% (V/V) para el cobre y al 5% (V/V) para el cinc.*

## *3.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO*

*Se ha calculado el valor medio ( $\bar{X}$ ) y el error estándar de la media (E.E.M.) para los distintos parámetros estudiados.*

*Para comprobar si las diferencias entre las medias de los distintos lotes son estadísticamente significativas o no, se han realizado las pruebas de "t" de Student.*



## ***4.- RESULTADOS***



TABLA I. – INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Medio (g)	Incremento de Peso (g)	S.S. Ingerida (g)
1	198.3	215.5	206.9	2.46	15.51
2	207.5	232.0	219.8	3.50	16.75
3	195.5	219.4	207.5	3.41	14.43
4	209.0	220.1	214.6	1.59	16.29
5	192.0	199.3	195.7	1.04	18.09
6	270.3	290.0	280.2	2.81	17.11
7	303.0	313.2	308.1	1.46	18.69
8	290.0	307.0	298.5	2.43	17.52
9	233.9	270.3	252.1	5.20	18.24
10	283.0	301.0	292.0	2.57	16.96
<b>MEDIA</b>	238.3	256.8	247.5	2.65	16.96
<b>EEM</b>	13.9	13.9	13.8	0.38	0.41



TABLA II. – INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Medio (g)	Incremento de Peso (g)	S.S. Ingerida (g)
1	168.7	176.2	172.5	1.07	10.98
2	166.0	166.6	166.3	0.09	13.58
3	185.7	191.7	188.7	0.86	13.18
4	207.9	240.2	224.1	4.61	17.95
5	219.3	256.2	237.8	5.27	19.65
6	262.5	288.5	275.5	3.71	10.83
7	195.8	221.3	208.6	3.64	15.17
8	253.8	274.9	264.4	3.01	16.63
9	228.9	258.5	243.7	4.23	17.25
10	189.9	213.7	201.8	3.40	14.87
<b>MEDIA</b>	207.9	228.8	218.3	2.99	15.01
<b>EEM</b>	10.5	13.2	11.8	0.55	0.92



TABLA III. – INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Medio (g)	Incremento de Peso (g)	S.S. Ingerida (g)
1	222.9	231.5	227.2	1.23	17.22
2	224.0	231.0	227.5	1.00	17.14
3	243.9	254.9	249.4	1.57	16.45
4	221.7	240.6	231.2	2.70	16.76
5	206.5	223.6	215.1	2.44	14.04
6	230.9	240.0	235.5	1.30	13.43
7	240.0	265.9	253.0	3.70	13.88
8	267.3	281.5	274.4	2.03	16.72
9	296.0	311.5	303.8	2.21	16.53
10	294.7	304.5	299.6	1.40	18.53
<b>MEDIA</b>	244.8	258.5	251.6	1.96	16.07
<b>EEM</b>	9.9	9.9	9.9	0.26	0.53



TABLA IV. – INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Medio (g)	Incremento de Peso (g)	S.S. Ingerida (g)
1	208.5	255.2	231.9	6.67	15.04
2	200.1	225.9	213.0	3.69	18.37
3	156.6	176.1	166.4	2.79	12.65
4	172.1	211.5	191.8	5.63	15.19
5	226.5	246.0	236.3	2.79	16.58
6	123.4	158.3	140.9	4.99	11.20
7	295.0	328.5	311.8	4.79	19.19
8	281.8	298.6	290.2	2.40	20.23
9	212.6	265.0	238.8	7.49	22.67
10	223.5	257.5	240.5	4.86	11.09
11	171.6	211.6	191.6	5.71	15.32
12	239.9	256.3	248.1	2.34	16.34
13	235.0	258.0	246.5	3.29	16.37
<b>MEDIA</b>	211.3	242.2	226.7	4.42	16.17
<b>EEM</b>	13.3	12.8	13.0	0.47	0.94



TABLA V. – INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA D3.

RATA no	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Medio (g)	Incremento de Peso (g)	S.S. Ingerida (g)
1	182.2	210.3	196.3	4.01	17.41
2	213.4	252.8	233.1	5.63	20.67
3	214.8	235.5	225.2	2.96	15.97
4	249.4	281.4	265.4	4.57	19.12
5	225.9	242.6	234.3	2.39	15.09
6	301.7	335.7	318.7	4.86	23.76
7	219.8	263.3	241.6	6.21	21.02
8	262.3	298.9	280.6	5.23	22.15
9	250.8	286.7	268.8	5.13	22.23
10	297.8	339.6	318.7	5.97	22.90
11	305.8	323.0	314.4	2.46	18.69
<b>MEDIA</b>	247.6	279.1	263.4	4.49	19.91
<b>EEM</b>	12.4	12.8	12.5	0.41	0.87



TABLA VI. – INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA D3.

RATA no	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Medio (g)	Incremento de Peso (g)	S.S. Ingerida (g)
1	282.2	293.0	287.6	1.54	18.44
2	245.5	263.5	254.5	2.57	19.85
3	283.3	291.0	287.2	1.10	17.72
4	299.4	315.8	307.6	2.34	19.55
5	305.9	322.1	314.0	2.31	19.64
6	274.9	286.2	280.6	1.61	17.48
7	228.5	234.3	231.4	0.83	16.97
8	230.5	235.5	233.0	0.71	13.23
9	178.8	180.0	179.4	0.17	11.22
10	213.2	219.5	216.4	0.90	12.18
11	203.3	204.0	203.7	0.10	18.14
<b>MEDIA</b>	249.6	258.6	254.1	1.29	16.77
<b>EEM</b>	12.7	14.2	13.4	0.26	0.93



TABLA VII. - INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA C.

RATA no	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Medio (g)	Incremento de Peso (g)	S.S. Ingerida (g)
1	189.5	215.6	202.6	3.73	18.53
2	294.3	321.4	307.9	3.87	21.38
3	181.5	197.7	189.6	2.31	17.91
4	202.0	222.4	212.2	2.91	17.87
5	220.8	246.0	233.4	3.60	22.57
6	318.5	353.1	335.8	4.94	19.47
7	296.3	330.3	313.3	4.86	19.77
8	321.6	357.2	339.4	5.09	21.33
9	333.1	369.7	351.4	5.23	19.75
10	398.5	447.7	423.1	7.03	19.26
11	316.4	364.2	340.3	6.83	16.14
<b>MEDIA</b>	279.3	311.4	295.4	4.58	19.45
<b>EEM</b>	21.2	24.0	22.6	0.45	0.56



TABLA VIII. – INGESTA Y CAMBIOS PONDERALES EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA C.

RATA nº	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Medio (g)	Incremento de Peso (g)	S.S. Ingerida (g)
1	212.8	224.6	218.7	1.69	17.84
2	252.2	259.3	255.8	1.01	17.79
3	240.7	265.5	253.1	3.54	19.74
4	219.3	244.1	231.7	3.54	17.01
5	230.7	253.2	242.0	3.21	19.17
6	251.0	276.5	263.8	3.64	22.51
7	238.9	249.7	244.3	1.54	16.07
8	317.0	354.1	335.6	5.30	22.96
9	302.5	334.8	318.7	4.61	21.73
10	275.4	303.8	289.6	4.06	19.82
11	309.5	349.0	329.3	5.64	23.50
12	314.0	340.0	327.0	3.71	21.36
13	316.7	352.5	334.6	5.11	21.54
14	326.0	363.9	345.0	5.41	23.01
<b>MEDIA</b>	271.9	297.9	284.9	3.72	20.29
<b>EEM</b>	11.0	13.2	12.1	0.40	0.65



TABLA IX.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL HIERRO EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA nº	Fe Inger. mg/rata/día	Fe Fecal mg/rata/día	Fe Absorb. mg/rata/día	C.D.A. (%)	Fe Urinario. mg/rata/día	Fe Retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.644	0.504	0.140	21.70	0.012	0.128	91.41	19.83
2	0.695	0.582	0.113	16.27	0.006	0.107	94.70	15.41
3	0.599	0.496	0.103	17.17	0.011	0.092	89.30	15.34
4	0.676	0.558	0.118	17.46	0.009	0.109	92.38	16.13
5	0.751	0.589	0.162	21.54	0.008	0.154	95.05	20.48
6	0.710	0.589	0.121	17.05	0.011	0.110	90.91	15.50
7	0.776	0.623	0.153	19.68	0.006	0.147	96.07	18.91
8	0.727	0.605	0.122	16.79	0.011	0.111	90.99	15.28
9	0.757	0.628	0.129	17.04	0.010	0.119	92.25	15.72
10	0.704	0.575	0.129	18.31	0.008	0.121	93.79	17.17
<b>MEDIA</b>	0.704	0.575	0.129	18.30	0.009	0.120	92.68	16.98
<b>EEM</b>	0.017	0.014	0.006	0.63	0.0007	0.006	0.68	0.64



TABLA X.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL HIERRO EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA nº	Fe Inger. mg/rata/día	Fe Fecal mg/rata/día	Fe Absorb. mg/rata/día	C.D.A. (%)	Fe Urinario. mg/rata/día	Fe Retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.456	0.404	0.052	11.34	0.006	0.046	88.39	10.02
2	0.564	0.516	0.048	8.44	0.008	0.040	83.18	7.02
3	0.547	0.489	0.058	10.60	0.005	0.053	91.37	9.68
4	0.745	0.668	0.077	10.33	0.011	0.066	85.70	8.85
5	0.815	0.730	0.085	10.48	0.007	0.078	91.81	9.62
6	0.449	0.407	0.042	9.44	0.008	0.034	81.15	7.66
7	0.630	0.568	0.062	9.78	0.006	0.056	90.25	8.82
8	0.690	0.622	0.068	9.87	0.008	0.060	88.26	8.71
9	0.716	0.643	0.073	10.18	0.007	0.066	90.39	9.20
10	0.617	0.554	0.063	10.23	0.006	0.057	90.49	9.25
<b>MEDIA</b>	0.623	0.560	0.063	10.07	0.007	0.056	88.10	8.89
<b>EEM</b>	0.038	0.034	0.004	0.24	0.001	0.004	1.15	0.29



TABLA XI.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL HIERRO EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA nº	Fe Inger. mg/rata/día	Fe Fecal mg/rata/día	Fe Absorb. mg/rata/día	C.D.A. (%)	Fe Urinario. mg/rata/día	Fe Retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.715	0.625	0.090	12.54	0.006	0.084	93.31	11.70
2	0.711	0.605	0.106	14.95	0.013	0.093	87.77	13.12
3	0.683	0.542	0.141	20.61	0.014	0.127	90.05	18.56
4	0.696	0.575	0.121	17.33	0.013	0.108	89.22	15.46
5	0.583	0.459	0.124	21.22	0.014	0.110	88.68	18.82
6	0.557	0.439	0.118	21.23	0.009	0.109	92.40	19.62
7	0.576	0.455	0.121	21.01	0.013	0.108	89.26	18.75
8	0.694	0.562	0.132	19.01	0.009	0.123	93.18	17.71
9	0.686	0.587	0.099	14.43	0.008	0.091	91.92	13.26
10	0.769	0.601	0.168	21.85	0.010	0.158	94.05	20.55
<b>MEDIA</b>	0.667	0.545	0.122	18.42	0.011	0.111	90.98	16.75
<b>EEM</b>	0.022	0.022	0.007	1.07	0.001	0.007	0.71	0.99



TABLA XII- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL HIERRO EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA nº	Fe Inger. mg/rata/día	Fe Fecal mg/rata/día	Fe Absorb. mg/rata/día	C.D.A. (%)	Fe Urinario. mg/rata/día	Fe Retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.624	0.556	0.068	10.92	0.008	0.06	88.26	9.64
2	0.762	0.673	0.089	11.72	0.007	0.082	92.17	10.80
3	0.525	0.477	0.048	9.14	0.012	0.036	74.99	6.85
4	0.630	0.564	0.066	10.53	0.007	0.059	89.46	9.42
5	0.688	0.624	0.064	9.31	0.005	0.059	92.20	8.58
6	0.465	0.426	0.039	8.35	0.008	0.031	79.38	6.63
7	0.796	0.720	0.076	9.59	0.009	0.067	88.22	8.46
8	0.840	0.751	0.089	10.55	0.005	0.084	94.35	9.95
9	0.941	0.826	0.115	12.20	0.011	0.104	90.42	11.03
10	0.460	0.415	0.045	9.83	0.012	0.033	73.47	7.22
11	0.636	0.561	0.075	11.76	0.011	0.064	85.29	10.03
12	0.678	0.594	0.084	12.40	0.009	0.075	89.30	11.08
13	0.679	0.598	0.081	11.98	0.010	0.071	87.71	10.50
<b>MEDIA</b>	0.671	0.599	0.072	10.64	0.009	0.064	86.55	9.25
<b>EEM</b>	0.039	0.034	0.006	0.37	0.001	0.006	1.83	0.44



TABLA XIII- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL HIERRO EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B  
SUPLIMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Fe Ingerido mg/rata/día	Fe Fecal mg/rata/día	Fe Absorbido. mg/rata/día	C.D.A. (%)	Fe Urinario. mg/rata/día	Fe Retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.723	0.539	0.184	25.40	0.007	0.177	96.19	24.43
2	0.858	0.672	0.186	21.66	0.009	0.177	95.16	20.61
3	0.663	0.519	0.144	21.69	0.005	0.139	96.52	20.94
4	0.793	0.583	0.210	26.53	0.006	0.204	97.15	25.77
5	0.626	0.486	0.140	22.39	0.005	0.135	96.43	21.59
6	0.986	0.787	0.199	20.19	0.008	0.191	95.98	19.37
7	0.872	0.631	0.241	27.66	0.008	0.233	96.69	26.75
8	0.919	0.675	0.244	26.57	0.005	0.239	97.95	26.02
9	0.923	0.751	0.172	18.59	0.009	0.163	94.75	17.62
10	0.950	0.699	0.251	26.45	0.008	0.243	96.82	25.61
11	0.776	0.632	0.144	18.52	0.005	0.139	96.52	17.87
<b>MEDIA</b>	0.826	0.634	0.192	23.24	0.007	0.185	96.38	22.42
<b>EEM</b>	0.036	0.029	0.012	1.02	0.001	0.012	0.27	1.03



TABLA XIV- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL HIERRO EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Fe Inger. mg/rata/día	Fe Fecal mg/rata/día	Fe Absorb. mg/rata/día	C.D.A. (%)	Fe Urinario. mg/rata/día	Fe Retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.765	0.639	0.126	16.50	0.005	0.121	96.04	15.85
2	0.824	0.716	0.108	13.08	0.006	0.102	94.43	12.35
3	0.735	0.616	0.119	16.23	0.004	0.115	96.65	15.69
4	0.811	0.681	0.130	16.06	0.004	0.126	96.93	15.57
5	0.815	0.698	0.117	14.36	0.005	0.112	95.73	13.75
6	0.725	0.602	0.123	17.01	0.006	0.117	95.14	16.19
7	0.704	0.605	0.099	14.09	0.006	0.093	93.95	13.24
8	0.549	0.465	0.084	15.31	0.010	0.074	88.10	13.49
9	0.466	0.398	0.068	14.52	0.008	0.060	88.17	12.81
10	0.505	0.433	0.072	14.34	0.011	0.061	84.82	12.16
11	0.753	0.648	0.105	13.92	0.009	0.096	91.41	12.73
<b>MEDIA</b>	0.696	0.591	0.105	15.04	0.007	0.098	92.85	13.98
<b>EEM</b>	0.039	0.033	0.007	0.38	0.001	0.007	1.24	0.46



TABLA XV- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL HIERRO EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	Fe Inger. mg/rata/día	Fe Fecal mg/rata/día	Fe Absorb. mg/rata/día	C.D.A. (%)	Fe Urinario. mg/rata/día	Fe Retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.769	0.579	0.190	24.71	0.013	0.18	93.16	23.02
2	0.887	0.664	0.223	25.16	0.019	0.204	91.49	23.02
3	0.743	0.568	0.175	23.58	0.014	0.161	92.01	21.70
4	0.742	0.572	0.170	22.87	0.012	0.158	92.92	21.25
5	0.937	0.705	0.232	24.73	0.015	0.217	93.52	23.13
6	0.808	0.619	0.189	23.39	0.009	0.180	95.24	22.28
7	0.820	0.635	0.185	22.60	0.006	0.179	96.76	21.87
8	0.885	0.689	0.196	22.16	0.012	0.184	93.88	20.81
9	0.820	0.641	0.179	21.79	0.011	0.168	93.84	20.45
10	0.799	0.608	0.191	23.93	0.011	0.180	94.25	22.56
11	0.670	0.518	0.152	22.66	0.009	0.143	94.07	21.32
<b>MEDIA</b>	0.807	0.618	0.189	23.42	0.012	0.177	93.74	21.95
<b>EEM</b>	0.023	0.017	0.007	0.34	0.001	0.006	0.44	0.28



TABLA XVI.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL HIERRO EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	Fe Inger. mg/rata/día	Fe Fecal mg/rata/día	Fe Absorb. mg/rata/día	C.D.A. (%)	Fe Urinario. mg/rata/día	Fe Retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.740	0.639	0.101	13.69	0.007	0.094	93.09	12.75
2	0.738	0.593	0.145	19.68	0.011	0.134	92.43	18.19
3	0.819	0.689	0.130	15.89	0.011	0.119	91.55	14.55
4	0.706	0.596	0.110	15.57	0.008	0.102	92.72	14.44
5	0.796	0.660	0.136	17.04	0.010	0.126	92.62	15.78
6	0.934	0.776	0.158	16.93	0.014	0.144	91.15	15.43
7	0.667	0.561	0.106	15.88	0.007	0.099	93.39	14.83
8	0.953	0.812	0.141	14.78	0.012	0.129	91.48	13.52
9	0.902	0.751	0.151	16.72	0.010	0.141	93.37	15.61
10	0.823	0.682	0.141	17.09	0.011	0.130	92.17	15.75
11	0.975	0.815	0.160	16.43	0.014	0.146	91.26	15.00
12	0.886	0.748	0.138	15.62	0.012	0.126	91.33	14.26
13	0.894	0.755	0.139	15.54	0.009	0.130	93.52	14.53
14	0.955	0.792	0.163	17.06	0.013	0.150	92.02	15.70
<b>MEDIA</b>	0.842	0.705	0.137	16.28	0.011	0.126	92.29	15.02
<b>EEM</b>	0.027	0.023	0.005	0.37	0.001	0.005	0.23	0.34



TABLA XVII. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA	no	Zn Ingerido mg/rata/día	Zn Fecal mg/rata/día	Zn Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Zn Urinario mg/rata/día	Zn retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/F (%)
1		0.496	0.375	0.121	24.44	0.022	0.099	81.87	20.01
2		0.536	0.392	0.144	26.87	0.059	0.085	59.03	15.86
3		0.462	0.324	0.138	29.83	0.045	0.093	67.33	20.09
4		0.521	0.360	0.161	30.94	0.057	0.104	64.66	20.00
5		0.579	0.384	0.195	33.67	0.056	0.139	71.26	23.99
6		0.548	0.395	0.153	27.86	0.067	0.086	56.07	15.62
7		0.598	0.430	0.168	28.10	0.067	0.101	60.14	16.90
8		0.561	0.403	0.158	28.12	0.076	0.082	51.79	14.56
9		0.584	0.399	0.185	31.64	0.075	0.110	59.39	18.79
10		0.543	0.379	0.164	30.17	0.081	0.083	50.53	15.24
<b>MEDIA</b>		0.543	0.384	0.159	29.16	0.061	0.098	62.21	18.11
<b>EEM</b>		0.013	0.009	0.007	0.83	0.005	0.005	2.99	0.94



TABLA XVIII. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Zn Ingerido mg/rata/día	Zn Fecal mg/rata/día	Zn Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Zn Urinario mg/rata/día	Zn retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/F (%)
1	0.351	0.310	0.041	11.77	0.016	0.025	61.32	7.22
2	0.435	0.381	0.054	12.33	0.017	0.037	68.26	8.41
3	0.422	0.362	0.060	14.17	0.016	0.044	73.23	10.38
4	0.574	0.489	0.085	14.87	0.010	0.075	88.29	13.13
5	0.629	0.550	0.079	12.53	0.013	0.066	83.50	10.46
6	0.347	0.295	0.052	14.88	0.017	0.035	67.03	9.97
7	0.485	0.412	0.073	15.13	0.016	0.057	78.21	11.83
8	0.532	0.462	0.070	13.18	0.008	0.062	88.60	11.68
9	0.552	0.449	0.103	18.66	0.007	0.096	93.20	17.39
10	0.476	0.409	0.067	14.05	0.011	0.056	83.54	11.74
<b>MEDIA</b>	0.480	0.412	0.068	14.16	0.013	0.055	78.52	11.22
<b>EEM</b>	0.030	0.025	0.006	0.62	0.001	0.007	3.37	0.88



TABLA XIX. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Zn Ingerido mg/rata/día	Zn Fecal mg/rata/día	Zn Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Zn Urinario mg/rata/día	Zn retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/F (%)
1	0.551	0.430	0.121	21.97	0.015	0.106	87.61	19.24
2	0.548	0.358	0.190	34.73	0.012	0.178	93.70	32.54
3	0.526	0.412	0.114	21.73	0.011	0.103	90.38	19.64
4	0.536	0.425	0.111	20.76	0.012	0.099	89.22	18.52
5	0.449	0.350	0.099	22.10	0.015	0.084	84.89	18.76
6	0.430	0.329	0.101	23.45	0.019	0.082	81.14	19.02
7	0.444	0.321	0.123	27.73	0.019	0.104	84.57	23.45
8	0.535	0.389	0.146	27.30	0.027	0.119	81.51	22.25
9	0.529	0.387	0.142	26.84	0.025	0.117	82.39	22.11
10	0.593	0.431	0.162	27.31	0.026	0.136	83.95	22.93
<b>MEDIA</b>	0.514	0.383	0.131	25.39	0.018	0.113	85.94	21.85
<b>EEM</b>	0.017	0.013	0.009	1.35	0.002	0.009	1.32	1.33



TABLA XX. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Zn Ingerido mg/rata/día	Zn Fecal mg/rata/día	Zn Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Zn Urinario mg/rata/día	Zn retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/F (%)
1	0.481	0.425	0.056	11.69	0.010	0.046	82.23	9.62
2	0.588	0.499	0.089	15.11	0.019	0.070	78.61	11.88
3	0.405	0.360	0.045	11.07	0.017	0.028	62.05	6.87
4	0.486	0.422	0.064	13.18	0.011	0.053	82.83	10.92
5	0.531	0.462	0.069	12.92	0.011	0.058	83.96	10.85
6	0.358	0.312	0.046	12.95	0.014	0.032	69.83	9.04
7	0.614	0.531	0.083	13.53	0.019	0.064	77.13	10.44
8	0.647	0.561	0.086	13.34	0.021	0.065	75.68	10.10
9	0.725	0.625	0.100	13.85	0.021	0.079	79.09	10.95
10	0.355	0.310	0.045	12.65	0.018	0.027	59.89	7.57
11	0.490	0.420	0.070	14.33	0.018	0.052	74.37	10.66
12	0.523	0.453	0.070	13.36	0.011	0.059	84.26	11.26
13	0.524	0.444	0.080	15.24	0.019	0.061	76.20	11.61
<b>MEDIA</b>	0.518	0.448	0.070	13.32	0.016	0.053	75.86	10.14
<b>EEM</b>	0.030	0.025	0.005	0.33	0.001	0.005	2.16	0.42



TABLA XXI. – UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Zn Ingerido mg/rata/día	Zn Fecal mg/rata/día	Zn Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Zn Urinario mg/rata/día	Zn retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/F (%)
1	0.557	0.352	0.205	36.82	0.015	0.190	92.69	34.13
2	0.661	0.420	0.241	36.50	0.024	0.217	90.06	32.87
3	0.511	0.324	0.187	36.60	0.022	0.165	88.24	32.29
4	0.612	0.384	0.228	37.24	0.025	0.203	89.03	33.15
5	0.483	0.303	0.180	37.29	0.025	0.155	86.12	32.12
6	0.760	0.486	0.274	36.08	0.022	0.252	91.98	33.19
7	0.673	0.452	0.221	32.80	0.015	0.206	93.20	30.57
8	0.709	0.483	0.226	31.86	0.014	0.212	93.80	29.88
9	0.711	0.452	0.259	36.46	0.012	0.247	95.37	34.77
10	0.733	0.473	0.260	35.45	0.016	0.244	93.84	33.27
11	0.598	0.382	0.216	36.13	0.007	0.209	96.76	34.96
<b>MEDIA</b>	0.637	0.410	0.227	35.75	0.018	0.209	91.92	32.84
<b>EEM</b>	0.028	0.020	0.009	0.54	0.002	0.009	0.97	0.48



TABLA XXII. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Zn Ingerido mg/rata/día	Zn Fecal mg/rata/día	Zn Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Zn Urinario mg/rata/día	Zn retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/F (%)
1	0.590	0.473	0.117	19.84	0.016	0.101	86.33	17.13
2	0.635	0.502	0.133	20.97	0.019	0.114	85.74	17.98
3	0.567	0.438	0.129	22.76	0.012	0.117	90.70	20.64
4	0.626	0.487	0.139	22.15	0.015	0.124	89.18	19.76
5	0.628	0.489	0.139	22.19	0.015	0.124	89.25	19.81
6	0.559	0.438	0.121	21.70	0.012	0.109	90.11	19.55
7	0.543	0.423	0.120	22.11	0.014	0.106	88.34	19.53
8	0.423	0.334	0.089	21.11	0.013	0.076	85.45	18.04
9	0.359	0.289	0.070	19.51	0.019	0.051	72.87	14.22
10	0.390	0.315	0.075	19.18	0.014	0.061	81.27	15.59
11	0.580	0.450	0.130	22.48	0.016	0.114	87.74	19.72
<b>MEDIA</b>	0.536	0.422	0.115	21.27	0.015	0.100	86.09	18.36
<b>EEM</b>	0.030	0.023	0.008	0.38	0.001	0.008	1.55	0.61



TABLA XXIII. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA nº	Zn Ingerido mg/rata/día	Zn Fecal mg/rata/día	Zn Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Zn Urinario mg/rata/día	Zn retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/F (%)
1	0.593	0.442	0.151	25.46	0.015	0.136	90.06	22.93
2	0.684	0.499	0.185	27.06	0.016	0.169	91.36	24.73
3	0.573	0.409	0.164	28.64	0.019	0.145	88.42	25.32
4	0.572	0.401	0.171	29.88	0.022	0.149	87.12	26.03
5	0.722	0.541	0.181	25.09	0.018	0.163	90.07	22.60
6	0.623	0.458	0.165	26.49	0.018	0.147	89.09	23.60
7	0.633	0.452	0.181	28.55	0.017	0.164	90.59	25.87
8	0.683	0.523	0.160	23.38	0.017	0.143	89.35	20.89
9	0.632	0.461	0.171	27.06	0.018	0.153	89.47	24.21
10	0.616	0.453	0.163	26.50	0.019	0.144	88.37	23.42
11	0.516	0.364	0.152	29.52	0.015	0.137	90.16	26.62
<b>MEDIA</b>	0.622	0.455	0.168	27.06	0.018	0.150	89.46	24.20
<b>EEM</b>	0.018	0.016	0.003	0.60	0.001	0.003	0.36	0.52



TABLE XXIV. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA	no	Zn Ingerido mg/rata/día	Zn Fecal mg/rata/día	Zn Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Zn Urinario mg/rata/día	Zn retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/F (%)
	1	0.571	0.495	0.080	13.99	0.02	0.061	76.21	10.66
	2	0.632	0.533	0.099	15.62	0.02	0.078	78.72	12.30
	4	0.544	0.472	0.072	13.29	0.02	0.051	70.96	9.43
	5	0.613	0.528	0.085	13.93	0.02	0.064	75.42	10.50
	6	0.720	0.622	0.098	13.65	0.02	0.076	77.62	10.60
	7	0.514	0.445	0.069	13.46	0.01	0.055	79.78	10.74
	8	0.735	0.622	0.113	15.34	0.02	0.098	86.69	13.30
	9	0.695	0.597	0.098	14.15	0.02	0.080	81.70	11.56
	10	0.634	0.536	0.098	15.49	0.01	0.084	85.75	13.28
	11	0.752	0.651	0.101	13.43	0.02	0.081	80.20	10.77
	12	0.684	0.579	0.105	15.29	0.02	0.086	81.82	12.51
	13	0.689	0.586	0.103	14.98	0.01	0.093	90.32	13.53
	14	0.736	0.623	0.113	15.39	0.01	0.101	89.41	13.76
<b>MEDIA</b>		0.649	0.556	0.094	14.36	0.02	0.076	80.837	11.643
<b>EEM</b>		0.021	0.017	0.004	0.25	0.00	0.004	1.49	0.39



TABLA XXV. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Cu Ingerido mg/rata/día	Cu Fecal mg/rata/día	Cu Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Cu Urinario mg/rata/día	Cu retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.102	0.055	0.047	46.27	0.010	0.037	78.89	36.50
2	0.111	0.058	0.053	47.54	0.007	0.046	86.68	41.20
3	0.095	0.051	0.044	46.45	0.008	0.036	81.92	38.05
4	0.108	0.054	0.054	49.77	0.008	0.046	85.05	42.33
5	0.119	0.049	0.070	58.96	0.009	0.061	87.21	51.42
6	0.113	0.059	0.054	47.75	0.007	0.047	87.02	41.55
7	0.123	0.069	0.054	44.06	0.008	0.046	85.28	37.58
8	0.116	0.066	0.050	42.92	0.007	0.043	85.90	36.87
9	0.120	0.068	0.052	43.51	0.009	0.043	82.82	36.04
10	0.112	0.058	0.054	48.18	0.008	0.046	85.17	41.04
MEDIA	0.112	0.059	0.053	47.54	0.008	0.045	84.59	40.26
EEM	0.003	0.002	0.002	1.45	0.000	0.002	0.83	1.44



TABLA XXVI. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Cu Ingerido mg/rata/día	Cu Fecal mg/rata/día	Cu Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Cu Urinario mg/rata/día	Cu retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.072	0.051	0.021	29.62	0.006	0.015	72.05	21.34
2	0.090	0.062	0.028	30.83	0.012	0.016	56.57	17.44
3	0.087	0.061	0.026	29.88	0.008	0.018	69.22	20.68
4	0.118	0.082	0.036	30.78	0.011	0.025	69.84	21.50
5	0.130	0.093	0.037	28.29	0.010	0.027	72.74	20.58
6	0.071	0.051	0.020	28.65	0.008	0.012	60.93	17.46
7	0.100	0.064	0.036	36.08	0.006	0.030	83.39	30.09
8	0.110	0.074	0.036	32.58	0.010	0.026	72.03	23.47
9	0.114	0.073	0.041	35.88	0.008	0.033	80.42	28.85
10	0.098	0.064	0.034	34.79	0.008	0.026	76.57	26.64
<b>MEDIA</b>	0.099	0.068	0.032	31.74	0.009	0.023	71.38	22.80
<b>EEM</b>	0.006	0.004	0.002	0.93	0.001	0.002	2.56	1.40



TABLA XXVII. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Cu Ingerido mg/rata/día	Cu Fecal mg/rata/día	Cu Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Cu Urinario mg/rata/día	Cu retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.114	0.056	0.058	50.73	0.008	0.050	86.12	43.69
2	0.113	0.059	0.054	47.84	0.009	0.045	83.37	39.89
3	0.109	0.056	0.053	48.42	0.007	0.046	86.68	41.97
4	0.111	0.058	0.053	47.57	0.008	0.045	84.80	40.33
5	0.093	0.050	0.043	46.04	0.006	0.037	85.94	39.57
6	0.089	0.048	0.041	45.85	0.006	0.035	85.24	39.08
7	0.092	0.048	0.044	47.60	0.007	0.037	83.95	39.96
8	0.110	0.056	0.054	49.25	0.008	0.046	85.28	42.00
9	0.109	0.058	0.051	46.84	0.008	0.043	84.34	39.50
10	0.122	0.062	0.060	49.30	0.009	0.051	85.07	41.95
<b>MEDIA</b>	0.106	0.055	0.051	47.94	0.008	0.043	85.08	40.79
<b>EEM</b>	0.004	0.002	0.002	0.48	0.000	0.002	0.32	0.48



TABLA XXVIII. – UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Cu Ingerido mg/rata/día	Cu Fecal mg/rata/día	Cu Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Cu Urinario mg/rata/día	Cu retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.099	0.071	0.028	28.47	0.006	0.022	78.77	22.43
2	0.121	0.076	0.045	37.32	0.008	0.037	82.32	30.72
3	0.083	0.058	0.025	30.53	0.005	0.020	80.38	24.54
4	0.100	0.069	0.031	31.17	0.006	0.025	80.80	25.19
5	0.109	0.067	0.042	38.77	0.007	0.035	83.50	32.38
6	0.074	0.050	0.024	32.36	0.004	0.020	83.28	26.95
7	0.127	0.081	0.046	36.05	0.010	0.036	78.10	28.15
8	0.134	0.085	0.049	36.34	0.008	0.041	83.51	30.35
9	0.150	0.090	0.060	39.85	0.012	0.048	79.87	31.83
10	0.073	0.045	0.028	38.52	0.006	0.022	78.72	30.32
11	0.101	0.070	0.031	30.77	0.005	0.026	83.93	25.82
12	0.108	0.079	0.029	26.75	0.007	0.022	75.73	20.26
13	0.108	0.069	0.039	36.14	0.008	0.031	79.51	28.73
<b>MEDIA</b>	0.107	0.070	0.037	34.08	0.007	0.030	80.65	27.51
<b>EEM</b>	0.006	0.004	0.003	1.18	0.001	0.002	0.70	1.03



TABLA XXIX. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Cu Ingerido mg/rata/día	Cu Fecal mg/rata/día	Cu Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Cu Urinario mg/rata/día	Cu retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.115	0.052	0.063	54.75	0.013	0.050	79.33	43.43
2	0.136	0.065	0.071	52.35	0.012	0.059	83.20	43.56
3	0.105	0.055	0.050	47.82	0.011	0.039	78.18	37.38
4	0.126	0.068	0.058	46.11	0.014	0.044	75.94	35.02
5	0.100	0.052	0.048	47.79	0.011	0.037	76.89	36.74
6	0.157	0.078	0.079	50.26	0.012	0.067	84.77	42.61
7	0.139	0.068	0.071	50.98	0.012	0.059	83.03	42.33
8	0.146	0.072	0.074	50.75	0.014	0.060	81.13	41.17
9	0.147	0.076	0.071	48.20	0.011	0.060	84.45	40.70
10	0.151	0.075	0.076	50.38	0.011	0.065	85.55	43.10
11	0.123	0.062	0.061	49.74	0.014	0.047	77.18	38.39
<b>MEDIA</b>	0.131	0.066	0.066	49.92	0.012	0.053	80.88	40.40
<b>EEM</b>	0.006	0.003	0.003	0.72	0.000	0.003	1.06	0.91



TABLA XXX. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Cu Ingerido mg/rata/día	Cu Fecal mg/rata/día	Cu Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Cu Urinario mg/rata/día	Cu retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.122	0.077	0.045	36.73	0.010	0.035	77.63	28.52
2	0.131	0.079	0.052	39.70	0.008	0.044	84.62	33.59
3	0.117	0.074	0.043	36.73	0.009	0.034	79.05	29.03
4	0.129	0.080	0.049	38.00	0.009	0.040	81.64	31.02
5	0.130	0.078	0.052	39.83	0.009	0.043	82.57	32.88
6	0.115	0.066	0.049	42.79	0.007	0.042	85.82	36.72
7	0.112	0.062	0.050	44.64	0.007	0.043	86.00	38.39
8	0.087	0.056	0.031	35.87	0.005	0.026	84.03	30.14
9	0.074	0.049	0.025	33.83	0.006	0.019	76.05	25.73
10	0.080	0.051	0.029	36.56	0.006	0.023	79.58	29.09
11	0.120	0.069	0.051	42.37	0.014	0.037	72.40	30.67
<b>MEDIA</b>	0.111	0.067	0.043	38.82	0.008	0.035	80.85	31.44
<b>EEM</b>	0.006	0.003	0.003	1.01	0.001	0.003	1.31	1.12



TABLA XXXI. – UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE EN RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	Cu Ingerido mg/rata/día	Cu Fecal mg/rata/día	Cu Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Cu Urinario mg/rata/día	Cu retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.122	0.069	0.053	43.58	0.010	0.043	81.24	35.40
2	0.141	0.068	0.073	51.81	0.016	0.057	78.11	40.47
3	0.118	0.066	0.052	44.17	0.013	0.039	75.10	33.17
4	0.118	0.061	0.057	48.28	0.007	0.050	87.71	42.34
5	0.149	0.075	0.074	49.65	0.017	0.057	77.02	38.24
6	0.129	0.069	0.060	46.30	0.008	0.052	86.56	40.08
7	0.130	0.073	0.057	44.05	0.010	0.047	82.60	36.39
8	0.141	0.070	0.071	50.28	0.010	0.061	85.87	43.17
9	0.130	0.074	0.056	43.23	0.011	0.045	80.48	34.79
10	0.127	0.071	0.056	44.15	0.011	0.045	80.40	35.49
11	0.107	0.051	0.056	52.12	0.009	0.047	83.79	43.67
<b>MEDIA</b>	0.128	0.068	0.060	47.06	0.011	0.049	81.72	38.48
<b>EEM</b>	0.004	0.002	0.002	1.04	0.001	0.002	1.22	1.11



TABLA XXXII. - UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE EN RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	Cu Ingerido mg/rata/día	Cu Fecal mg/rata/día	Cu Absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	Cu Urinario mg/rata/día	Cu retenido mg/rata/día	R/A (%)	R/I (%)
1	0.118	0.076	0.042	35.45	0.012	0.030	71.25	25.26
2	0.117	0.076	0.041	35.27	0.011	0.030	73.44	25.90
3	0.130	0.081	0.049	37.83	0.019	0.030	61.45	23.24
4	0.112	0.076	0.036	32.30	0.012	0.024	66.91	21.61
5	0.127	0.082	0.045	35.19	0.015	0.030	66.31	23.33
6	0.149	0.090	0.059	39.42	0.017	0.042	70.97	27.98
7	0.106	0.082	0.024	22.69	0.007	0.017	70.91	16.09
8	0.152	0.097	0.055	35.99	0.011	0.044	79.83	28.73
9	0.143	0.090	0.053	37.25	0.023	0.030	56.94	21.21
10	0.131	0.084	0.047	35.79	0.011	0.036	76.50	27.38
11	0.155	0.102	0.053	34.24	0.012	0.041	77.40	26.50
12	0.141	0.091	0.050	35.45	0.010	0.040	79.99	28.36
13	0.142	0.096	0.046	32.47	0.009	0.037	80.50	26.14
14	0.152	0.101	0.051	33.49	0.014	0.037	72.48	24.28
<b>MEDIA</b>	0.134	0.087	0.046	34.49	0.013	0.033	71.78	24.72
<b>EEM</b>	0.004	0.002	0.002	1.05	0.001	0.002	1.89	0.92



TABLA XXXIII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN SANGRE DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Peso Sangre (g)	Peso Cenizas (g)	mg Fe/100 ml Sangre	$\mu$ g Zn/100 ml Sangre	$\mu$ g Cu/100 ml Sangre
1	0.883	0.014	54.3	873.0	250.0
2	0.973	0.013	52.1	783.0	267.0
3	0.997	0.013	58.4	900.0	267.0
4	0.887	0.010	57.6	750.0	187.0
5	0.998	0.013	49.3	689.0	194.0
6	1.001	0.011	54.3	684.0	275.0
7	0.454	0.007	56.2	758.0	201.0
8	0.925	0.022	54.1	850.0	222.0
9	0.996	0.011	65.1	638.0	267.0
10	0.852	0.009	52.1	600.0	219.0
<b>MEDIA</b>	0.897	0.012	55.3	752.5	234.9
<b>EEM</b>	0.052	0.001	1.4	31.9	10.8



TABLA XXXIV. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN SANGRE DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Peso Sangre (g)	Peso Cenizas (g)	mg Fe/100 ml Sangre	$\mu$ g Zn/100 ml Sangre	$\mu$ g Cu/100 ml Sangre
1	1.000	0.011	58.2	714.0	251.0
2	1.000	0.010	54.2	637.0	210.0
3	0.500	0.052	53.9	725.0	238.0
4	1.000	0.009	49.3	790.0	240.0
5	1.000	0.009	48.1	845.0	250.0
6	1.000	0.009	58.2	650.0	245.0
7	0.800	0.008	57.9	725.0	225.0
8	1.000	0.009	59.0	800.0	255.0
9	1.000	0.010	54.8	865.0	213.0
10	1.000	0.010	51.1	750.1	250.0
<b>MEDIA</b>	0.930	0.014	54.5	750.1	237.7
<b>EEM</b>	0.052	0.004	1.2	24.0	5.1



TABLA XXXV. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN SANGRE DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA	no	Peso Sangre (g)	Peso Cenizas (g)	mg Fe/100 ml Sangre	$\mu$ g Zn/100 ml Sangre	$\mu$ g Cu/100 ml Sangre
	1	0.801	0.011	58.2	860.0	258.0
	2	0.590	0.010	61.3	693.0	265.0
	3	0.913	0.011	53.1	871.0	250.0
	4	0.751	0.011	56.2	695.0	190.0
	5	0.944	0.012	59.0	670.0	256.0
	6	0.685	0.011	47.7	612.0	292.0
	7	0.691	0.010	52.5	650.0	183.0
	8	0.959	0.013	56.2	771.0	263.0
	9	0.799	0.012	55.2	800.0	207.0
	10	0.846	0.012	59.2	735.8	200.0
MEDIA		0.798	0.011	55.9	735.8	236.4
EEM		0.038	0.000	1.3	27.8	11.9



TABLA XXXVI. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN SANGRE DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA	no	Peso Sangre (g)	Peso Cenizas (g)	mg Fe/100 ml Sangre	$\mu$ g Zn/100 ml Sangre	$\mu$ g Cu/100 ml Sangre
	1	0.920	0.013	52.134	604	211
	2	0.553	0.011	53.451	917	215
	3	0.695	0.009	58.365	807	283
	4	0.785	0.011	45.968	618	270
	5	0.574	0.009	56.231	800	270
	6	0.951	0.012	58.125	705	272
	7	0.961	0.011	54.021	722	283
	8	0.995	0.013	54.985	725	200
	9	0.878	0.019	59.032	744	162
	10	0.851	0.047	55.214	790	206
	11	0.536	0.007	52.995	862	200
	12	0.463	0.007	58.245	721	200
	13	0.718	0.010	56.245	751.25	264
<b>MEDIA</b>		0.760	0.014	55.0	751.3	233.5
<b>EEM</b>		0.051	0.003	1.0	24.1	11.3



TABLA XXXVII. – CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN SANGRE DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA D3.

RATA no	Peso Sangre (g)	Peso Cenizas (g)	mg Fe/100 ml Sangre	µg Zn/100 ml Sangre	µg Cu/100 ml Sangre
1	0.973	0.014	54.2	714.0	227
2	0.962	0.012	61.3	658.0	226
3	0.942	0.012	49.9	558.0	230
4	0.956	0.011	58.3	775.0	233
5	0.953	0.012	54.4	822.0	231
6	0.964	0.012	56.1	865.0	216
7	1.069	0.013	55.3	805.0	245
8	1.085	0.013	58.3	561.0	236
9	0.973	0.011	56.2	712.0	219
10	1.023	0.012	59.2	575.0	236
11	1.015	0.011	53.3	704.5	241
<b>MEDIA</b>	0.992	0.012	56.0	704.5	230.9
<b>EEM</b>	0.015	0.000	1.0	32.4	2.6



TABLA XXXVIII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN SANGRE DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA D3.

RATA no	Peso Sangre (g)	Peso Cenizas (g)	mg Fe/100 ml Sangre	µg Zn/100 ml Sangre	µg Cu/100 ml Sangre
1	0.950	0.009	58.2	792.0	215.0
2	0.968	0.010	48.3	739.0	222.0
3	0.938	0.010	47.8	794.0	235.0
4	0.942	0.011	64.2	583.0	240.0
5	0.977	0.011	62.2	545.0	219.0
6	0.950	0.010	59.0	662.0	249.0
7	0.460	0.008	48.5	698.0	225.0
8	0.946	0.011	52.0	756.0	231.0
9	1.081	0.014	58.7	575.0	200.0
10	1.045	0.014	56.0	690.0	225.0
11	1.047	0.014	64.0	683.4	242.0
<b>MEDIA</b>	0.937	0.011	56.3	683.4	227.5
<b>EEM</b>	0.050	0.001	1.9	26.0	4.2



TABLA XXXIX. – CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN SANGRE DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA C.

RATA no	Peso Sangre (g)	Peso Cenizas (g)	mg Fe/100 ml Sangre	µg Zn/100 ml Sangre	µg Cu/100 ml Sangre
1	0.901	0.012	56.2	918.0	216.0
2	1.078	0.011	55.2	941.0	225.0
3	1.103	0.012	58.7	663.0	214.0
4	0.834	0.008	58.3	658.0	239.0
5	1.059	0.011	53.2	707.0	235.0
6	1.094	0.011	56.0	680.0	252.0
7	1.026	0.011	53.0	745.0	296.0
8	1.157	0.012	59.3	622.0	224.0
9	1.108	0.012	58.2	675.0	237.0
10	1.107	0.011	56.3	750.0	235.0
11	1.142	0.011	54.4	630.0	245.0
<b>MEDIA</b>	1.055	0.011	56.3	726.3	238.0
<b>EEM</b>	0.030	0.000	0.7	32.7	6.8



TABLA XL. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN SANGRE DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA C

RATA no	Peso Sangre (g)	Peso Cenizas (g)	mg Fe/100 ml Sangre	µg Zn/100 ml Sangre	µg Cu/100 ml Sangre
1	1.017	0.011	52.0	875.0	236.0
2	1.152	0.014	49.0	864.0	235.0
3	0.814	0.010	67.2	766.0	227.0
4	0.533	0.006	59.2	823.0	214.0
5	1.018	0.011	52.3	763.0	236.0
6	1.039	0.011	56.2	570.0	224.0
7	1.151	0.014	45.4	735.0	236.0
8	1.010	0.010	48.8	626.0	236.0
9	1.094	0.011	52.2	854.0	239.0
10	0.897	0.009	65.4	901.0	227.0
11	0.993	0.011	56.2	527.0	241.0
12	1.089	0.011	52.3	591.0	221.0
13	1.004	0.010	62.1	1004.0	240.0
14	1.142	0.013	60.0	714.0	358.0
<b>MEDIA</b>	0.996	0.011	55.6	758.1	240.7
<b>EEM</b>	0.044	0.001	1.7	37.5	9.3



TABLA XII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN PLASMA DE RATAS CONTROLADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA	no	$\mu\text{g Fe}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Cu}/100 \text{ ml}$ Suero
	1	136.6	140.0	140.0
	2	128.0	140.0	140.0
	3	131.9	180.0	123.0
	4	139.2	165.0	125.0
	5	138.6	175.0	150.0
	6	129.4	210.0	115.0
	7	134.0	185.0	145.0
	8	105.6	160.0	146.0
	9		152.0	125.0
	10	122.0	140.0	132.0
MEDIA		129.2	164.7	134.1
EEM		3.1	7.3	3.7



TABLA XLII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN PLASMA DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA	no	$\mu\text{g Fe}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Cu}/100 \text{ ml}$ Suero
	1	137.1	165.0	148.0
	2	131.2	165.0	158.0
	3	144.6	165.0	153.0
	4	135.5	154.0	112.0
	5	101.4	135.0	135.0
	6	139.0	165.0	135.0
	7	145.0	150.0	150.0
	8	133.3	164.0	152.0
	9	132.6	145.0	125.0
	10	107.1	165.0	135.0
<b>MEDIA</b>	<b>EEM</b>	130.7	157.3	140.3
		4.7	3.4	4.6



TABLA XLIII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN PLASMA DE RATAS CONTROLADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA	no	$\mu\text{g Fe}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Cu}/100 \text{ ml}$ Suero
	1	124.9	164.0	160.0
	2	145.2	160.0	135.0
	3	134.5	155.0	135.0
	4	129.6	178.0	125.0
	5	136.1	152.0	126.0
	6	125.6	162.0	130.0
	7	136.8	185.0	140.0
	8	132.6	163.0	160.0
	9	128.7	170.0	125.0
	10	134.1	175.0	115.0
<b>MEDIA</b>	<b>EEM</b>	132.8	166.4	135.1
		1.9	3.3	4.7



TABLA XLIV. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN PLASMA DE RATAS  
RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	$\mu\text{g Fe}/100\text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Zn}/100\text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Cu}/100\text{ ml}$ Suero
1	134.8	180.0	140.0
2	150.6	200.0	120.0
3	124.1	204.0	160.0
4	140.8	158.0	115.0
5	100.0	150.0	135.0
6	114.9	165.0	130.0
7	129.9	144.0	105.0
8	140.5	150.0	150.0
9	125.5	163.0	155.0
10	126.4	135.0	137.0
11	127.6	158.0	185.0
12	139.0	140.0	140.0
13	136.8	135.0	115.0
<b>MEDIA</b>	130.1	160.2	137.5
<b>EEM</b>	3.6	6.2	6.0



TABLA XLV. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN PLASMA DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA D3.

RATA no	$\mu\text{g Fe}/100\text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Zn}/100\text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Cu}/100\text{ ml}$ Suero
1	132.5	178.0	135.0
2	146.4	154.0	130.0
3	136.3	153.0	154.0
4	127.7	154.0	123.0
5	127.7	160.0	124.0
6	137.3	167.0	125.0
7	134.1	162.0	126.0
8	130.1	154.0	140.0
9	129.3	168.0	136.0
10	131.3	162.0	138.0
11	137.2	166.0	140.0
<b>MEDIA</b>	133.6	161.6	133.7
<b>EEM</b>	1.7	2.4	2.8



TABLA XLVI. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN PLASMA DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA D3.

RATA no	$\mu\text{g Fe}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Cu}/100 \text{ ml}$ Suero
1	93.4	190.0	115.0
2	107.8	180.0	105.0
3	113.3	160.0	145.0
4	98.3	154.0	130.0
5	134.9	150.0	125.0
6	116.3	145.0	155.0
7	146.3	180.0	120.0
8	145.3	160.0	125.0
9	156.6	168.0	125.0
10	156.1	155.0	155.0
11	158.1	153.0	135.0
<b>MEDIA</b>	129.7	163.2	130.5
<b>EEM</b>	7.4	4.4	4.8



TABLE XLVII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN PLASMA DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA C.

RATA	no	$\mu\text{g Fe}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Cu}/100 \text{ ml}$ Suero
	1	187.5	172.0	130.0
	2	156.3	180.0	140.0
	3	211.5	158.0	150.0
	4	185.4	173.0	160.0
	5	204.2	158.0	134.0
	6	150.0	172.0	140.0
	7	156.1	158.0	121.0
	8	161.5	163.0	120.0
	9	128.1	157.0	137.0
	10	142.7	178.0	135.0
	11	128.1	178.0	128.0
<b>MEDIA</b>	<b>EEEM</b>	164.7	167.9	135.9
		8.6	2.8	3.6



TABLA XLVIII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN PLASMA DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA DE VITAMINA C.

RATA	no	$\mu\text{g Fe}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$ Suero	$\mu\text{g Cu}/100 \text{ ml}$ Suero
	1	160.4	168.0	135.6
	2	171.9	163.0	134.0
	3	194.6	165.0	121.0
	4	193.8	165.0	123.0
	5	184.3	186.0	142.0
	6	182.7	153.0	113.0
	7	209.0	170.0	121.0
	8	160.4	130.0	140.0
	9	185.4	169.0	125.0
	10	177.1	153.0	130.0
	11	168.8	158.0	125.0
	12	176.0	164.0	135.0
	13	168.8	160.0	138.0
	14	141.9	152.0	140.0
<b>MEDIA</b>	<b>EEM</b>	176.8	161.1	130.2
		4.5	3.4	2.4



TABLA L.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN HÍGADO DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) Hígado (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	64.2	1.5009	0.0604	207.0	310.7	118.7	178.2	20.7	31.1
2	69.3	1.8557	0.0800	209.5	388.8	112.6	209.0	20.2	37.5
3	63.2	1.5327	0.0659	224.3	343.8	114.6	175.6	20.2	31.0
4	66.0	1.2750	0.0697	259.2	330.5	116.0	147.9	19.5	24.9
5	65.8	1.3289	0.0608	211.9	281.6	120.0	159.5	21.2	28.2
6	64.5	1.9106	0.0762	199.4	381.0	116.3	222.2	18.9	36.1
7	65.6	1.8322	0.0690	200.4	367.2	114.4	209.6	19.9	36.5
8	66.5	1.7608	0.0752	251.5	442.8	105.8	186.3	18.7	32.9
9	67.3	1.8039	0.0771	278.4	502.2	102.1	184.2	15.6	28.1
10	66.0	1.6280	0.0627	213.2	347.1	106.5	173.4	19.2	31.3
<b>MEDIA</b>	65.8	1.6429	0.0697	225.5	369.6	112.7	184.6	19.4	31.7
<b>EEM</b>	0.54	0.0714	0.0023	8.7	20.4	1.9	7.3	0.49	1.3



TABLA LI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN HÍGADO DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) Hígado (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	67.9	1.3131	0.0665	252.6	331.7	130.7	171.6	24.9	32.7
2	68.8	1.3146	0.0555	310.4	408.1	105.8	139.1	18.6	24.5
3	68.0	1.3946	0.0707	261.1	364.1	116.5	162.5	20.8	29.0
4	68.1	4.0886	0.1332	153.9	629.2	103.8	424.4	11.7	47.8
5	67.8	2.1291	0.1098	269.4	573.6	110.6	235.5	16.9	36.0
6	62.3	2.3758	0.0948	254.6	604.9	95.8	227.6	20.8	49.4
7	66.2	2.0250	0.0994	277.5	561.9	131.4	266.1	26.5	53.7
8	68.0	3.4505	0.1288	158.3	546.2	98.8	340.9	13.9	48.0
9	67.2	1.8977	0.0957	253.5	481.1	132.2	233.8	23.5	44.6
10	56.2	2.9595	0.0921	157.9	467.3	93.8	277.6	15.0	44.4
<b>MEDIA</b>	66.0	2.2949	0.0947	234.9	496.8	111.9	247.9	19.3	41.0
<b>EEM</b>	1.2	0.2980	0.0080	17.9	32.6	4.7	27.2	1.6	3.1



TABLA III.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN HIGADO DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA	no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) Hígado (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	68.1	1.5869	0.0653	204.9	325.2	115.8	183.8	18.2	28.9	28.9
2	64.5	2.0775	0.0790	170.5	354.2	88.7	184.3	14.2	29.5	29.5
3	66.4	1.8694	0.0749	251.9	470.9	97.1	181.5	19.3	36.1	36.1
4	67.8	1.5040	0.0616	253.4	381.1	111.9	168.3	23.7	35.6	35.6
5	66.7	1.6086	0.0678	290.6	467.5	98.8	158.9	20.0	32.2	32.2
6	67.0	1.6221	0.0713	219.7	356.4	118.7	192.5	17.5	28.4	28.4
7	65.9	2.5619	0.0982	270.5	693.0	97.9	250.8	19.2	49.2	49.2
8	66.1	1.9778	0.0842	286.6	566.8	111.2	219.9	20.9	41.3	41.3
9	65.4	2.6098	0.0916	240.1	626.6	95.0	247.9	18.2	47.5	47.5
10	65.9	1.9090	0.0815	276.6	528.0	121.0	231.0	17.9	34.2	34.2
<b>MEDIA</b>	<b>66.4</b>	<b>1.9327</b>	<b>0.0775</b>	<b>246.5</b>	<b>477.0</b>	<b>105.6</b>	<b>201.9</b>	<b>18.9</b>	<b>36.3</b>	<b>36.3</b>
<b>EEM</b>	<b>0.34</b>	<b>0.1241</b>	<b>0.0037</b>	<b>12.2</b>	<b>39.7</b>	<b>3.6</b>	<b>10.4</b>	<b>0.78</b>	<b>2.4</b>	<b>2.4</b>



TABLA LIII - CONTENIDO DE HIGADO DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA	no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) Hígado (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	1	72.7	1.2537	0.0705	273.6	343.0	114.1	143.0	15.8	19.8
2	2	69.3	1.6354	0.0750	317.0	518.4	100.2	163.9	22.1	36.1
3	3	51.8	1.8579	0.0878	260.6	484.2	107.9	200.5	19.5	36.2
4	4	70.8	1.6241	0.0815	244.0	396.3	99.2	161.1	20.0	32.5
5	5	70.1	1.6893	0.0870	300.8	508.1	103.2	174.3	20.0	33.8
6	6	67.2	1.6438	0.0649	237.2	389.9	80.3	132.0	17.9	29.4
7	7	70.9	1.9992	0.0991	225.6	451.0	114.7	229.3	19.0	38.0
8	8	69.0	1.9786	0.0969	191.8	379.5	94.8	187.6	20.4	40.4
9	9	70.1	1.7448	0.0824	181.2	316.2	110.9	193.5	16.8	29.3
10	10	70.8	1.1214	0.0624	285.6	320.3	122.1	136.9	20.5	23.0
11	11	73.8	1.1788	0.0680	298.1	351.4	144.2	170.0	19.8	23.3
12	12	67.0	1.2720	0.0553	249.6	317.5	125.4	159.5	20.4	25.9
13	13	69.1	1.5963	0.0717	191.7	306.0	85.4	136.3	23.0	36.7
<b>MEDIA</b>		68.7	1.5843	0.0771	250.5	390.9	107.9	168.3	19.6	31.1
<b>EEM</b>		1.5	0.0814	0.0037	12.3	21.1	4.7	7.97	0.54	1.8



TABLA LIV. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN HIGADO DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA	no	H2O %	Peso (S.S.) Hgado (g)	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ S. S.	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ S. S.	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ S. S.	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	1	76.5	1.7180	0.0680	219.9	377.8	127.3	218.7	18.5	31.8
2	2	64.1	2.5673	0.0935	213.6	548.4	103.1	264.7	21.9	56.2
3	3	65.8	2.3295	0.0887	307.9	717.3	114.9	267.7	24.4	56.8
4	4	67.0	2.0099	0.0831	256.2	514.9	117.4	236.0	18.3	36.8
5	5	67.9	1.4322	0.0658	271.4	388.7	105.9	151.7	24.1	34.5
6	6	67.4	2.6101	0.1170	219.3	572.4	100.1	261.3	17.4	45.4
7	7	67.8	1.9752	0.0790	168.5	332.8	113.0	223.2	22.8	45.0
8	8	68.2	1.9986	0.0845	175.3	350.4	103.2	206.3	19.9	39.8
9	9	65.3	1.8678	0.0805	305.3	570.2	114.8	214.4	16.9	31.6
10	10	68.5	2.3280	0.1075	270.3	629.3	111.0	258.4	22.0	51.2
11	11	67.8	2.3934	0.1051	259.2	620.4	110.1	263.5	20.4	48.8
<b>MEDIA</b>		67.8	2.1118	0.0884	242.4	511.1	111.0	233.3	20.6	43.5
<b>EEM</b>		0.96	0.1107	0.0049	14.2	39.0	2.4	10.7	0.79	2.8



TABLA LV.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN HIGADO DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA	no	H2O %	Peso (S.S.) Hgado (g)	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g S. S.}$	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g S. S.}$	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g S. S.}$	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	66.8	1.7888	0.0823	260.4	465.8	117.6	210.4	18.0	32.2	41.4
2	66.1	1.8733	0.0774	264.5	495.5	120.1	225.0	22.1	41.4	42.8
3	67.5	1.9620	0.0889	283.2	555.6	123.4	242.1	21.8	40.4	43.4
4	65.8	2.1965	0.0965	252.4	554.4	113.2	248.6	18.4	33.2	27.0
5	67.0	2.1581	0.0962	239.3	516.4	119.8	258.5	20.1	30.8	30.0
6	63.9	1.8530	0.0753	210.1	389.3	115.7	214.4	17.9	26.7	26.8
7	64.7	1.3442	0.0637	304.6	409.4	120.4	161.8	20.1	34.1	34.1
8	63.8	1.5552	0.0676	305.4	475.0	116.2	180.7	19.8	19.8	19.8
9	68.2	1.4028	0.0596	244.2	342.6	107.0	150.1	19.0	12.0	12.0
10	68.8	1.4701	0.0716	229.2	336.9	110.1	161.9	20.4	0.42	0.42
11	67.1	1.3383	0.0634	295.1	394.9	119.2	159.5	20.0	2.0	2.0
<b>MEDIA</b>	<b>66.3</b>	<b>1.7220</b>	<b>0.0766</b>	<b>262.6</b>	<b>448.7</b>	<b>116.6</b>	<b>201.2</b>	<b>19.8</b>	<b>34.1</b>	<b>34.1</b>



TABLA LVI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN HIGADO DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA	no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) Hígado (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	69.6	1.9952	0.0888	307.9	614.3	107.3	214.1	23.2	46.3	78.5
2	65.7	3.7026	0.1370	232.5	860.9	98.1	363.2	21.2	78.5	32.7
3	69.3	2.0549	0.0910	384.1	789.3	121.8	250.3	15.9	32.7	46.3
4	68.8	2.1739	0.0934	247.5	538.0	135.3	294.1	21.3	46.3	44.6
5	68.5	2.5199	0.1095	287.4	724.2	135.4	341.2	17.7	44.6	48.1
6	69.8	2.9721	0.1292	237.3	705.3	90.3	268.4	16.2	48.1	54.5
7	69.9	2.4777	0.1159	247.6	613.5	136.1	337.2	22.0	54.5	43.0
8	69.0	2.7024	0.1249	157.7	426.2	115.8	312.9	15.9	43.0	58.5
9	68.4	2.8545	0.1262	198.9	567.8	107.9	308.0	20.5	58.5	53.1
10	69.8	3.4452	0.1534	173.2	596.7	98.0	337.6	15.4	53.1	39.9
11	68.5	2.5906	0.1214	256.0	663.2	118.9	308.0	15.4	39.9	49.6
<b>MEDIA</b>		68.8	2.6808	0.1173	248.2	645.4	115.0	303.2	18.6	49.6
<b>EEM</b>		0.35	0.1634	0.0061	19.1	36.6	4.9	13.3	0.91	3.6



TABLA LVII.— CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN HÍGADO DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) Hígado (g)	Peso Cenizas (g)	μg Fe/g S. S.	Fe Total (μg)	μg Zn/g S. S.	Zn Total (μg)	μg Cu/g S. S.	Cu Total (μg)
1	67.7	1.8545	0.0816	265.1	491.6	105.3	195.3	22.9	42.5
2	70.4	1.9033	0.0915	308.6	587.4	105.2	200.2	22.1	42.1
3	69.2	2.2754	0.1043	307.9	700.6	87.6	199.3	16.6	37.8
4	70.8	2.2145	0.1069	341.7	756.7	101.8	225.4	19.6	43.4
5	67.8	2.2404	0.0970	211.1	472.9	112.5	252.0	22.8	51.1
6	67.8	2.4640	0.1110	267.4	658.9	124.9	307.8	18.3	45.1
7	67.7	1.8595	0.0851	331.3	616.1	115.9	215.5	20.0	37.2
8	69.3	3.0078	0.1456	257.2	773.6	111.4	335.1	18.9	56.8
9	63.5	3.7825	0.1440	236.2	893.4	115.8	438.0	16.4	62.0
10	68.6	2.8271	0.1223	181.7	513.7	128.9	364.4	17.2	48.6
11	70.1	3.3948	0.1588	179.2	608.3	119.7	406.4	18.5	62.8
12	69.3	2.7390	0.1312	156.6	428.9	105.4	288.7	20.4	55.9
13	68.0	2.5825	0.1196	207.9	536.9	108.6	280.5	16.6	42.9
14	63.8	3.4389	0.1318	211.2	726.3	108.7	373.8	17.4	59.8
<b>MEDIA</b>	68.1	2.6132	0.1165	247.4	626.1	110.8	291.6	19.1	49.1
<b>EEM</b>	0.58	0.1651	0.0064	15.8	35.5	2.8	21.8	0.61	2.4



TABLA LVIII. – CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN FÉMUR DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Peso Fémur (g)	Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Fémur	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Fémur	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Fémur	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.42	0.22	58.0	24.5	273.1	115.5	5.90	2.50
2	0.53	0.26	41.7	21.9	229.1	120.3	6.50	3.41
3	0.48	0.27	47.5	23.0	222.4	107.5	5.40	2.61
4	0.47	0.26	38.4	18.1	241.0	113.6	5.50	2.59
5	0.42	0.23	61.4	25.9	264.7	111.6	6.50	2.74
6	0.52	0.26	50.5	26.1	209.0	107.9	5.40	2.79
7	0.54	0.29	51.9	28.0	225.6	121.8	5.60	3.02
8	0.55	0.25	38.2	20.9	199.3	108.8	6.70	3.66
9	0.47	0.23	40.4	18.8	207.1	96.4	5.60	2.61
10	0.48	0.26	65.2	31.3	216.5	103.8	5.80	2.78
<b>MEDIA</b>	0.49	0.25	49.3	23.8	228.8	110.7	5.89	2.87
<b>EEM</b>	0.01	0.01	3.1	1.3	7.7	2.4	0.16	0.12



TABLA LIX . CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN FÉMUR DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Peso Fémur (g)	Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Fémur	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Fémur	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Fémur	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.46	0.23	49.4	22.8	240.0	111.0	5.60	2.59
2	0.43	0.23	48.2	20.9	243.0	105.5	5.90	2.56
3	0.48	0.25	41.8	19.9	250.0	119.3	5.10	2.43
4	0.47	0.24	56.0	26.1	226.0	105.2	5.60	2.61
5	0.55	0.29	48.3	26.8	194.0	107.6	5.00	2.77
6	0.51	0.25	57.9	29.4	239.0	121.5	5.50	2.80
7	0.48	0.23	46.6	22.5	204.0	98.6	6.70	3.24
8	0.64	0.27	42.5	27.2	178.0	113.9	5.60	3.58
9	0.52	0.25	47.9	25.0	226.0	118.1	6.20	3.24
10	0.40	0.19	48.4	19.4	211.0	84.4	5.40	2.16
<b>MEDIA</b>	0.49	0.24	48.7	24.0	221.1	108.5	5.66	2.80
<b>EEM</b>	0.02	0.01	1.6	1.1	7.5	3.5	0.16	0.14



TABLA LX. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN FÉMUR DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Peso Fémur (g)	Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Fémur	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Fémur	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Fémur	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.42	0.25	68.2	28.7	254.5	107.0	7.60	3.20
2	0.40	0.24	42.4	17.1	238.7	96.5	7.80	3.15
3	0.48	0.30	55.5	26.6	283.8	136.0	7.20	3.45
4	0.40	0.24	45.6	18.2	217.7	86.8	6.20	2.47
5	0.43	0.25	49.6	21.3	225.9	96.8	5.80	2.49
6	0.48	0.25	37.5	18.1	205.2	99.1	6.00	2.90
7	0.56	0.33	50.5	28.3	254.8	142.9	6.40	3.59
8	0.47	0.24	44.2	21.0	197.3	93.6	5.80	2.75
9	0.52	0.26	44.9	23.4	200.8	104.5	5.70	2.97
10	0.51	0.27	44.2	22.4	188.9	95.6	5.80	2.94
<b>MEDIA</b>	0.47	0.26	48.3	22.5	226.8	105.9	6.43	2.99
<b>EEM</b>	0.02	0.01	2.7	1.3	9.7	5.9	0.25	0.12



TABLA LXI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN FÉMUR DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Peso Fémur (g)	Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Fémur	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Fémur	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Fémur	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.45	0.27	49.2	22.3	250.7	113.7	5.90	2.68
2	0.40	0.24	47.4	19.1	243.3	98.3	5.20	2.10
3	0.36	0.21	43.8	15.7	252.3	90.3	6.70	2.40
4	0.39	0.22	53.2	20.5	222.2	85.6	5.10	1.97
5	0.44	0.26	52.9	23.3	233.7	102.9	5.20	2.29
6	0.27	0.15	41.8	11.1	231.0	61.2	6.10	1.62
7	0.52	0.29	54.2	28.0	228.1	118.0	6.10	3.15
8	0.54	0.29	55.4	29.8	232.4	125.1	6.30	3.39
9	0.38	0.21	46.0	17.5	210.0	79.8	6.50	2.47
10	0.37	0.20	41.5	15.5	208.3	78.0	7.20	2.70
11	0.32	0.17	42.7	13.8	196.8	63.6	6.00	1.94
12	0.42	0.22	47.8	19.9	209.1	86.9	5.90	2.45
13	0.40	0.22	51.3	20.3	206.5	81.7	5.50	2.18
<b>MEDIA</b>	0.40	0.23	48.2	19.8	225.0	91.2	5.98	2.41
<b>EEM</b>	0.02	0.01	1.4	1.5	4.9	5.5	0.17	0.14



TABLA LXII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN FÉMUR DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Peso Fémur (g)	Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Fémur	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Fémur	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Fémur	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.36	0.20	56.0	20.0	247.4	88.2	4.90	1.75
2	0.42	0.25	50.7	21.4	248.7	104.9	6.70	2.83
3	0.51	0.32	38.6	19.6	276.4	140.2	6.70	3.40
4	0.53	0.33	55.0	28.9	243.8	128.2	7.50	3.94
5	0.51	0.32	43.0	21.8	245.0	124.3	6.90	3.50
6	0.51	0.30	42.0	21.5	209.8	107.4	6.70	3.43
7	0.42	0.24	50.3	21.4	239.2	101.6	5.20	2.21
8	0.49	0.28	44.6	21.8	221.2	107.9	5.50	2.68
9	0.47	0.26	41.5	19.6	231.7	109.3	6.40	3.02
10	0.51	0.29	36.8	18.9	205.9	105.9	6.50	3.34
11	0.51	0.29	43.3	22.0	190.0	96.7	6.80	3.46
<b>MEDIA</b>	0.48	0.28	45.6	21.5	232.6	110.4	6.35	3.05
<b>EEM</b>	0.02	0.01	1.9	0.8	7.3	4.5	0.24	0.19



TABLA LXIII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN FÉMUR DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Peso Fémur (g)	Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Fémur	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Fémur	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Fémur	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.54	0.29	33.9	18.3	199.4	107.5	5.20	2.80
2	0.49	0.27	39.2	19.3	209.7	103.4	6.10	3.01
3	0.46	0.25	32.3	14.9	212.7	98.2	5.60	2.59
4	0.49	0.28	31.7	15.7	216.6	107.0	4.90	2.42
5	0.58	0.31	34.2	19.8	197.7	114.4	7.60	4.40
6	0.52	0.27	31.6	16.3	188.9	97.5	5.20	2.68
7	0.51	0.30	48.0	24.5	273.5	139.7	5.50	2.81
8	0.51	0.31	38.2	19.4	269.2	136.8	5.90	3.00
9	0.37	0.21	37.2	13.6	212.9	77.9	6.40	2.34
10	0.41	0.24	34.1	14.0	228.6	94.1	5.70	2.35
11	0.41	0.22	41.6	17.0	213.1	86.9	5.40	2.20
<b>MEDIA</b>	0.48	0.27	36.5	17.5	220.2	105.8	5.77	2.78
<b>EEM</b>	0.02	0.01	1.5	1.0	8.3	5.7	0.22	0.18



TABLA LXIV.— CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN FÉMUR DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	Peso Fémur (g)	Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Fémur	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Fémur	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Fémur	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.37	0.23	46.3	17.3	273.9	102.4	7.20	2.69
2	0.63	0.38	41.4	26.1	293.7	185.2	5.80	3.66
3	0.39	0.23	45.6	17.7	236.4	91.7	6.30	2.44
4	0.42	0.25	46.4	19.5	255.1	107.2	6.30	2.65
5	0.44	0.26	40.0	17.6	249.6	109.6	6.00	2.64
6	0.55	0.31	55.6	30.4	222.3	121.6	5.70	3.12
7	0.54	0.32	45.4	24.7	254.3	138.3	6.30	3.43
8	0.65	0.36	51.6	33.3	241.0	155.7	5.60	3.62
9	0.60	0.34	41.2	24.6	208.3	124.4	5.80	3.46
10	0.68	0.39	45.1	30.5	198.0	134.0	6.60	4.47
11	0.58	0.33	40.9	23.6	219.3	126.7	6.20	3.58
<b>MEDIA</b>	0.53	0.31	45.4	24.1	241.1	127.0	6.16	3.25
<b>EEM</b>	0.03	0.02	1.4	1.7	8.6	8.0	0.14	0.18



TABLA LXV.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN FÉMUR DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	Peso Fémur (g)	Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Fémur	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Fémur	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Fémur	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.44	0.26	44.1	19.3	266.7	116.7	6.20	2.71
2	0.58	0.35	44.6	25.8	263.8	152.5	5.80	3.35
3	0.50	0.30	47.4	23.9	248.4	125.0	5.80	2.92
4	0.48	0.27	51.9	25.0	247.0	119.2	6.50	3.14
5	0.45	0.27	40.3	18.3	234.1	106.4	6.10	2.77
6	0.52	0.31	40.9	21.1	237.1	122.4	5.80	2.99
7	0.42	0.25	52.3	21.8	252.6	105.3	5.70	2.38
8	0.54	0.31	40.8	21.8	210.5	112.7	5.90	3.16
9	0.54	0.31	51.6	27.7	205.2	110.0	5.70	3.05
10	0.49	0.29	47.1	23.1	240.7	118.0	6.60	3.24
11	0.59	0.35	40.2	23.6	207.6	121.8	4.90	2.88
12	0.59	0.36	38.8	22.8	223.3	131.1	5.60	3.29
13	0.52	0.31	41.4	21.6	213.1	111.3	6.10	3.19
14	0.58	0.36	50.7	29.4	253.4	146.7	5.80	3.36
<b>MEDIA</b>	0.52	0.31	45.2	23.2	236.0	121.4	5.89	3.03
<b>EEM</b>	0.01	0.0097	1.3	0.81	5.6	3.7	0.11	0.07



TABLA LXVI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN ESTERNÓN DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Peso (g) Esternón	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Esternón	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Esternón	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Esternón	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.1320	0.0408	71.5	9.4	156.8	20.7	9.70	1.2804
2	0.1067	0.0391	85.6	9.1	171.5	18.3	8.90	0.94963
3	0.1285	0.0424	82.9	10.7	150.2	19.3	8.70	1.11795
4	0.1362	0.0450	59.5	8.1	182.1	24.8	8.50	1.1577
5	0.1195	0.0400	80.7	9.6	179.9	21.5	9.80	1.1711
6	0.1106	0.0385	68.4	7.6	135.6	15.0	9.40	1.03964
7	0.1361	0.0488	79.3	10.8	151.3	20.6	7.90	1.07519
8	0.1338	0.0446	76.0	10.2	121.1	16.2	7.90	1.05702
9	0.1331	0.0460	65.6	8.7	138.2	18.4	8.20	1.09142
10	0.1214	0.0452	86.5	10.5	131.8	16.0	9.10	1.10474
<b>MEDIA</b>	0.1258	0.0430	75.6	9.5	151.9	19.1	8.81	1.10
<b>EEM</b>	0.0034	0.0011	2.9	0.35	6.6	0.94	0.22	0.03



TABLA LXVII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN ESTERNÓN DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	Peso (g) Esternón	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Esternón	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Esternón	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Esternón	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.1252	0.0408	66.7	8.4	168.0	21.0	7.50	0.939
2	0.1162	0.0381	76.9	8.9	168.0	19.5	7.50	0.8715
3	0.1241	0.0430	52.4	6.5	178.0	22.1	6.50	0.80665
4	0.1268	0.0385	57.2	7.3	142.0	18.0	8.70	1.10316
5	0.1447	0.0468	67.2	9.7	157.0	22.7	6.90	0.99843
6	0.1737	0.0410	56.5	9.8	115.0	20.0	10.30	1.78911
7	0.1466	0.0362	73.2	10.7	114.0	16.7	7.80	1.14348
8	0.1838	0.0442	59.6	11.0	117.0	21.5	8.80	1.61744
9	0.1677	0.0435	59.8	10.0	117.0	19.6	8.60	1.44222
10	0.1037	0.0318	83.8	8.7	174.0	18.0	11.90	1.23403
<b>MEDIA</b>	0.1413	0.0404	65.3	9.1	145.0	19.9	8.45	1.19
<b>EEM</b>	0.0084	0.0014	3.2	0.46	8.5	0.61	0.52	0.10



TABLA LXVIII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN ESTERNÓN DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Peso (g) Esternón	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Esternón	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Esternón	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Esternón	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.1081	0.0410	84.6	9.1	192.9	20.9	9.10	0.983
2	0.1010	0.0421	75.3	7.6	189.6	19.1	7.30	0.737
3	0.1204	0.0483	73.1	8.8	190.2	22.9	7.80	0.939
4	0.1148	0.0369	87.2	10.0	136.7	15.7	7.00	0.804
5	0.0990	0.0422	87.6	8.7	185.8	18.4	6.10	0.604
6	0.1326	0.0487	74.5	9.9	196.1	26.0	9.90	1.312
7	0.1316	0.0588	78.1	10.3	175.1	23.0	8.90	1.171
8	0.1209	0.0393	78.6	9.5	153.8	18.6	7.40	0.895
9	0.1214	0.0477	79.6	9.7	196.0	23.8	8.70	1.056
10	0.1232	0.0464	78.3	9.6	164.8	20.3	7.50	0.924
<b>MEDIA</b>	0.1173	0.0451	79.7	9.3	178.1	20.9	7.97	0.94
<b>EEM</b>	0.0037	0.0020	1.6	0.25	6.4	1.0	0.36	0.07



TABLA LXIX.— CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN ESTERNÓN DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	Peso (g) Esternón	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Esternón	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Esternón	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Esternón	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.1087	0.0459	74.2	8.1	191.3	20.8	7.60	0.83
2	0.0843	0.0388	71.9	6.1	210.5	17.7	7.30	0.62
3	0.0892	0.0364	75.4	6.7	204.6	18.3	7.50	0.67
4	0.0752	0.0348	78.5	5.9	196.8	14.8	7.10	0.53
5	0.1108	0.0486	84.6	9.4	176.9	19.6	9.00	1.00
6	0.0742	0.0277	78.9	5.9	138.8	10.3	9.40	0.70
7	0.1328	0.0560	68.7	9.1	173.2	23.0	7.50	1.00
8	0.1022	0.0436	67.5	6.9	178.6	18.3	9.10	0.93
9	0.1123	0.0434	62.5	7.0	131.3	14.7	8.70	0.98
10	0.0828	0.0325	61.2	5.1	138.9	11.5	9.70	0.80
11	0.0912	0.0320	76.5	7.0	151.3	13.8	8.80	0.80
12	0.0867	0.0330	80.4	7.0	201.8	17.5	8.10	0.70
13	0.1154	0.0424	67.6	7.8	126.9	14.6	8.70	1.00
<b>MEDIA</b>	0.0974	0.0396	72.9	7.1	170.8	16.5	8.35	0.81
<b>EEM</b>	0.0049	0.0022	2.0	0.35	8.3	1.0	0.24	0.04



TABLA LXX.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN ESTERNÓN DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Peso (g) Esternón	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Esternón	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Esternón	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Esternón	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.0816	0.0329	92.9	7.6	180.7	14.7	12.0	0.98
2	0.0990	0.0434	89.9	8.9	198.5	19.7	9.8	0.97
3	0.0920	0.0355	77.8	7.2	234.7	21.6	9.3	0.86
4	0.1133	0.0472	86.6	9.8	188.4	21.3	9.0	1.02
5	0.1103	0.0484	86.5	9.5	226.6	25.0	10.4	1.15
6	0.1156	0.0526	64.7	7.5	162.2	18.8	8.2	0.95
7	0.0898	0.0375	79.6	7.1	175.4	15.8	7.6	0.68
8	0.1072	0.0495	70.7	7.6	163.2	17.5	9.9	1.06
9	0.1177	0.0482	77.1	9.1	167.4	19.7	7.1	0.84
10	0.1329	0.0585	73.7	9.8	148.6	19.7	7.8	1.04
11	0.1205	0.0523	74.7	9.0	156.4	18.8	7.9	0.95
<b>MEDIA</b>	0.1073	0.0460	79.5	8.5	182.0	19.3	9.0	0.95
<b>EEM</b>	0.0046	0.0024	2.6	0.32	8.5	0.85	0.44	0.04



TABLA LXXI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN ESTERNÓN DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	Peso (g) Esternón	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Esternón	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Esternón	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Esternón	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.1152	0.0515	61.9	7.1	171.0	19.7	7.4	0.85
2	0.1079	0.0473	62.7	6.8	179.3	19.3	8.1	0.87
3	0.1099	0.0477	65.5	7.2	179.7	19.7	7.8	0.86
4	0.0959	0.0484	63.2	6.1	192.9	18.5	7.2	0.69
5	0.1152	0.0516	69.9	8.1	173.6	20.0	9.3	1.07
6	0.1000	0.0472	58.6	5.9	181.0	18.1	11.0	1.10
7	0.1043	0.0494	99.7	10.4	224.6	23.4	10.7	1.12
8	0.1120	0.0547	65.5	7.3	225.4	25.2	9.2	1.03
9	0.0864	0.0370	76.5	6.6	166.9	14.4	10.4	0.90
10	0.0939	0.0419	62.3	5.8	173.0	16.2	8.6	0.81
11	0.0894	0.0380	62.4	5.6	161.1	14.4	8.9	0.80
<b>MEDIA</b>	0.1027	0.0468	68.0	7.0	184.4	19.0	9.0	0.92
<b>EEM</b>	0.0031	0.0017	3.5	0.41	6.5	1.0	0.40	0.04



TABLA LXXII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN ESTERNÓN DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	Peso (g) Esternón	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Esternón	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Esternón	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Esternón	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.0823	0.0377	88.1	7.3	218.7	18.0	7.3	0.60
2	0.1591	0.0769	70.4	11.2	214.1	34.1	10.4	1.65
3	0.0857	0.0389	89.0	7.6	211.8	18.2	9.9	0.85
4	0.0644	0.0284	104.2	6.7	192.5	12.4	7.8	0.50
5	0.0941	0.0410	68.2	6.4	178.0	16.7	7.4	0.70
6	0.1166	0.0520	84.6	9.9	167.2	19.5	7.1	0.83
7	0.1096	0.0529	78.5	8.6	196.2	21.5	7.6	0.83
8	0.1210	0.0553	88.0	10.6	188.0	22.7	8.1	0.98
9	0.1255	0.0598	71.7	9.0	169.3	21.2	7.6	0.95
10	0.1476	0.0640	81.2	12.0	162.1	23.9	4.9	0.72
11	0.1147	0.0508	74.9	8.6	165.6	19.0	9.1	1.04
<b>MEDIA</b>	0.1110	0.0507	81.7	8.9	187.6	20.7	7.9	0.88
<b>EEM</b>	0.0085	0.0041	3.2	0.56	6.3	1.6	0.45	0.09



TABLA LXXIII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN ESTERNÓN DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	Peso (g) Esternón	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ Esternón	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ Esternón	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ Esternón	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	0.0921	0.0417	85.6	7.9	214.4	19.7	8.6	0.79
2	0.0922	0.0436	78.4	7.2	198.5	18.3	7.6	0.70
3	0.1080	0.0497	77.9	8.4	208.8	22.6	6.7	0.72
4	0.0954	0.0433	84.1	8.0	204.4	19.5	8.4	0.80
5	0.1026	0.0510	74.9	7.7	213.4	21.9	7.3	0.75
6	0.0956	0.0472	69.6	6.7	221.7	21.2	10.8	1.03
7	0.0793	0.0352	64.9	5.1	214.4	17.0	10.6	0.84
8	0.0972	0.0480	79.1	7.7	195.5	19.0	9.5	0.92
9	0.0820	0.0391	62.8	5.1	162.8	13.3	9.9	0.81
10	0.0941	0.0426	73.7	6.9	180.6	17.0	6.6	0.62
11	0.1168	0.0560	73.2	8.5	181.9	21.2	7.3	0.85
12	0.1169	0.0570	76.1	8.9	186.5	21.8	8.1	0.95
13	0.1302	0.0643	54.5	7.1	165.1	21.5	10.5	1.37
14	0.1167	0.0569	76.2	8.9	202.6	23.6	5.9	0.69
<b>MEDIA</b>	0.1014	0.0483	73.6	7.4	196.5	19.8	8.4	0.85
<b>EEM</b>	0.0039	0.0022	2.2	0.32	5.0	0.73	0.43	0.05



TABLA LXXIV.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN MÚSCULO LONGÍSSIMUS DORSI DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) L. D. (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	67.8	0.6106	0.0312	57.1	34.9	101.7	62.1	5.7	3.5
2	71.0	0.6125	0.0291	107.7	66.0	92.6	56.7	4.9	3.0
3	71.6	0.7528	0.0327	102.2	76.9	92.9	69.9	6.9	5.2
4	70.8	0.5841	0.0235	80.8	47.2	83.4	48.7	6.9	4.0
5	71.2	0.4490	0.0204	68.7	30.8	86.1	38.7	10.9	4.9
6	72.7	0.7043	0.0322	71.3	50.2	99.4	70.0	9.7	6.8
7	71.5	0.7209	0.0318	76.8	55.4	88.8	64.0	8.5	6.1
8	72.0	0.7461	0.0329	74.1	55.3	62.4	46.6	7.6	5.7
9	72.0	0.6755	0.0326	85.3	57.6	63.6	43.0	7.3	4.9
10	73.5	0.6155	0.0277	71.1	43.8	77.2	47.5	11.4	7.0
<b>MEDIA</b>	71.4	0.6471	0.0294	79.5	51.8	84.8	54.7	8.0	5.1
<b>EEM</b>	0.48	0.0293	0.0014	4.9	4.4	4.3	3.6	0.68	0.43



TABLA LXXV.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN MÚSCULO LONGISSIMUS DORSI DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA	no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) L. D. (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	72.84	0.5976	0.0319	100.1	59.8	83.0	49.6	9.8	5.9	5.9
2	73.35	0.5416	0.0290	69.0	37.4	75.0	40.6	11.6	6.3	6.3
3	72.43	0.6146	0.0308	66.2	40.7	83.0	51.0	8.7	5.3	5.3
4	73.45	0.5196	0.0251	116.1	60.3	86.0	44.7	6.5	3.4	3.4
5	73.79	0.6365	0.0353	70.3	44.7	103.0	65.6	11.5	7.3	7.3
6	72.25	0.5489	0.0291	62.5	34.3	115.0	63.1	11.7	6.4	6.4
7	74.01	0.5150	0.0310	81.0	41.7	91.0	46.9	8.6	4.4	4.4
8	73.54	0.6405	0.0352	106.1	68.0	125.0	80.1	11.4	7.3	7.3
9	72.93	0.7090	0.0325	73.3	52.0	87.0	61.7	5.1	3.6	3.6
10	74.01	0.5731	0.0287	67.7	38.8	83.0	47.6	12.1	6.9	6.9
<b>MEDIA</b>	<b>73.26</b>	<b>0.5896</b>	<b>0.0309</b>	<b>81.2</b>	<b>47.8</b>	<b>93.1</b>	<b>55.1</b>	<b>9.7</b>	<b>5.7</b>	<b>5.7</b>
<b>EEM</b>	<b>0.20</b>	<b>0.0196</b>	<b>0.0010</b>	<b>6.0</b>	<b>3.6</b>	<b>5.1</b>	<b>3.8</b>	<b>0.77</b>	<b>0.46</b>	<b>0.46</b>



TABLA LXXVI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN MÚSCULO LONGISSIMUS DORSI DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA	no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) L. D. (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	73.0	0.5507	0.0248	56.6	31.2	69.4	38.2	9.2	5.1	
2	72.4	0.4115	0.0167	80.2	33.0	91.4	37.6	7.0	2.9	
3	71.9	0.5780	0.0254	98.2	56.8	88.2	51.0	10.1	5.8	
4	73.0	0.5049	0.0217	61.3	31.0	89.9	45.4	12.8	6.5	
5	71.3	0.4241	0.0190	86.6	36.7	81.1	34.4	13.0	5.5	
6	73.5	0.5253	0.0246	61.3	32.2	76.1	40.0	7.7	4.0	
7	72.8	0.6262	0.0291	55.9	35.0	110.2	69.0	12.1	7.6	
8	72.6	0.6123	0.0268	104.9	64.2	84.3	51.6	6.3	3.9	
9	72.0	0.6223	0.0252	91.3	56.8	73.3	45.6	7.9	4.9	
10	73.3	0.6666	0.0297	70.1	46.7	75.0	50.0	9.7	6.5	
<b>MEDIA</b>	<b>72.6</b>	<b>0.5522</b>	<b>0.0243</b>	<b>76.6</b>	<b>42.4</b>	<b>83.9</b>	<b>46.3</b>	<b>9.6</b>	<b>5.3</b>	<b>0.45</b>
<b>EEM</b>	<b>0.22</b>	<b>0.0273</b>	<b>0.0013</b>	<b>5.7</b>	<b>4.0</b>	<b>3.8</b>	<b>3.2</b>	<b>0.76</b>	<b>0.45</b>	



TABLE LXXVII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN MÚSCULO LONGISSIMUS DORSI DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA	no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) L. D. (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	µg Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	73.4	0.3988	0.0202	70.6	28.2	96.8	38.6	11.0	4.4	
2	73.5	0.4402	0.0208	59.3	26.1	86.3	38.0	9.6	4.2	
3	73.6	0.4597	0.0207	104.2	47.9	85.3	39.2	8.5	3.9	
4	73.2	0.4450	0.0207	74.7	33.2	93.5	41.6	10.1	4.5	
5	72.7	0.4486	0.0209	98.1	44.0	78.0	35.0	11.2	5.0	
6	73.3	0.3442	0.0158	88.9	30.6	81.3	28.0	11.2	3.9	
7	72.3	0.5635	0.0254	107.0	60.3	104.7	59.0	10.1	5.7	
8	71.6	0.6829	0.0317	83.5	57.0	72.3	49.4	9.9	6.8	
9	72.9	0.4521	0.0209	66.9	30.2	69.4	31.4	10.1	4.6	
10	73.6	0.4982	0.0254	84.1	41.9	132.5	66.0	12.8	6.4	
11	70.1	0.3737	0.0189	69.4	25.9	69.6	26.0	10.9	4.1	
12	72.9	0.4045	0.0211	63.0	25.5	95.4	38.6	9.9	4.0	
13	73.3	0.6034	0.0276	79.5	48.0	66.3	40.0	10.8	6.5	
<b>MEDIA</b>	<b>72.8</b>	<b>0.4704</b>	<b>0.0223</b>	<b>80.7</b>	<b>38.4</b>	<b>87.0</b>	<b>40.8</b>	<b>10.5</b>	<b>4.9</b>	
<b>EEM</b>	<b>0.28</b>	<b>0.0265</b>	<b>0.0012</b>	<b>4.3</b>	<b>3.4</b>	<b>5.0</b>	<b>3.2</b>	<b>0.29</b>	<b>0.29</b>	



TABLA LXXVIII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN MÚSCULO LONGÍSSIMUS DORSI DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	H2O %	Peso (S.S.) L. D. (g)	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ S. S.	Fe Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Zn/g}$ S. S.	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ S. S.	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
1	73.6	0.4742	0.0204	61.7	29.3	84.3	40.0	5.7	2.7
2	75.2	0.6529	0.0294	62.7	40.9	85.8	56.0	5.1	3.3
3	74.6	0.6435	0.0296	59.8	38.5	87.0	56.0	4.8	3.1
4	74.8	0.6901	0.0330	67.6	46.7	140.5	97.0	5.1	3.5
5	74.4	0.5532	0.0257	65.3	36.1	95.8	53.0	6.1	3.4
6	74.2	1.0299	0.0495	42.2	43.5	66.0	68.0	4.4	4.5
7	74.6	0.6465	0.0309	50.3	32.5	74.2	48.0	25.2	16.3
8	74.6	0.8817	0.0440	51.0	45.0	132.7	117.0	29.9	26.4
9	74.6	0.7512	0.0361	48.6	36.5	74.5	56.0	28.8	21.6
10	75.0	0.7903	0.0389	39.1	30.9	72.4	57.2	20.1	15.9
11	74.9	0.8248	0.0407	41.4	34.1	72.7	60.0	14.1	11.6
<b>MEDIA</b>	74.6	0.7217	0.0344	53.6	37.6	89.6	64.4	13.6	10.2
<b>EEM</b>	0.13	0.0471	0.0026	3.1	1.8	7.5	6.8	3.2	2.6



TABLA LXXIX.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN MÚSCULO LONGISSIMUS DORSI DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA	no	H2O %	Peso (S.S.) L. D. (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	µg Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
	1	75.2	0.6481	0.0307	40.8	26.4	81.8	53.0	11.2	7.3
	2	74.2	0.5835	0.0289	48.1	28.1	116.5	68.0	17.1	10.0
	3	74.2	0.6558	0.0304	47.8	31.3	83.2	54.6	11.7	7.7
	4	74.3	0.7714	0.0369	69.2	53.4	71.0	54.8	14.8	11.4
	5	74.3	0.6906	0.0331	45.7	31.6	74.1	51.2	11.7	8.1
	6	73.7	0.4753	0.0230	42.3	20.1	130.4	62.0	19.5	9.3
	7	74.0	0.3919	0.0179	58.9	23.1	108.2	42.4	18.7	7.3
	8	74.4	0.6243	0.0294	52.5	32.8	74.0	46.2	15.4	9.6
	9	74.6	0.5120	0.0255	57.4	29.4	85.9	44.0	14.7	7.5
	10	74.7	0.5350	0.0269	54.4	29.1	109.7	58.7	20.8	11.1
	11	73.5	0.6815	0.0317	42.9	29.2	74.8	51.0	9.5	6.5
<b>MEDIA</b>		74.3	0.5972	0.0286	50.9	30.4	91.8	53.2	15.0	8.7
<b>EEM</b>		0.14	0.0332	0.0016	2.6	2.6	6.2	2.3	1.1	0.50



TABLA LXXX.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN MÚSCULO LONGISSIMUS DORSI DE RATAS CONTROLADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA	no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) L. D. (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	µg Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	74.6	0.4921	0.0250	66.0	32.5	96.2	47.3	19.5	9.6	
2	74.5	0.6510	0.0310	53.9	35.1	88.6	57.7	13.0	8.5	
3	74.7	0.5659	0.0279	60.5	34.2	84.8	48.0	20.3	11.5	
4	74.9	0.4519	0.0235	62.8	28.4	102.7	46.4	15.6	7.0	
5	74.6	0.6082	0.0300	49.7	30.2	92.1	56.0	14.1	8.6	
6	74.9	0.7468	0.0371	52.3	39.1	93.7	70.0	9.3	6.9	
7	74.9	0.6628	0.0336	52.2	34.6	98.4	65.2	10.6	7.0	
8	74.5	0.8349	0.0411	42.9	35.8	103.0	86.0	13.0	10.9	
9	75.0	0.7317	0.0361	46.9	34.3	84.5	61.8	21.5	15.7	
10	74.2	0.9963	0.0478	79.1	78.8	93.3	93.0	14.4	14.3	
11	74.4	0.7923	0.0384	68.6	54.4	81.5	64.6	12.3	9.7	
<b>MEDIA</b>		74.6	0.6849	0.0338	57.7	39.8	92.6	63.3	14.9	10.0
<b>SEM</b>		0.08	0.0477	0.0022	3.2	4.4	2.2	4.6	1.2	0.89



TABLA LXXXI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN MÚSCULO LONGISSIMUS DORSI DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA	no	H <sub>2</sub> O %	Peso (S.S.) L. D. (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	µg Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	1	74.2	0.5889	0.0291	55.5	32.7	85.1	50.1	26.4	15.5
2	2	73.9	0.6260	0.0304	58.8	36.8	89.4	56.0	21.0	13.1
3	3	74.2	0.6699	0.0309	60.4	40.5	101.5	68.0	13.4	9.0
4	4	74.5	0.5231	0.0267	50.2	26.3	112.6	58.9	22.6	11.8
5	5	74.3	0.5650	0.0270	66.9	37.8	101.9	57.6	11.4	6.4
6	6	74.2	0.6630	0.0314	56.7	37.6	106.1	70.3	26.0	17.2
7	7	73.8	0.4798	0.0223	65.7	31.5	105.0	50.4	18.9	9.1
8	8	74.6	0.6694	0.0324	58.3	39.0	102.8	68.8	23.2	15.5
9	9	74.5	0.6631	0.0328	62.8	41.6	88.4	58.6	10.7	7.1
10	10	73.8	0.7320	0.0350	68.9	50.4	98.9	72.4	10.3	7.5
11	11	74.7	0.9320	0.0456	57.5	53.6	86.7	80.8	7.5	7.0
12	12	75.3	0.7392	0.0376	65.8	48.6	108.2	80.0	10.7	7.9
13	13	74.8	0.7296	0.0367	74.1	54.1	88.5	64.6	7.3	5.3
14	14	74.3	0.7883	0.0390	67.4	53.1	94.4	74.4	8.8	6.9
		MEDIA	74.4	0.6692	62.1	41.7	97.8	65.1	15.6	10.0
		EEM	0.11	0.0308	1.7	2.4	2.4	2.7	1.9	1.1



TABLA LXXXII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN TESTÍCULOS DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA	no	H2O	%	Peso (S.S.) Testículo (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
	6	72.0	0.1358	0.0087	129.9	17.6	169.8	23.1	15.9	2.10	2.10
	7	79.0	0.1471	0.0090	120.1	17.7	202.7	29.8	15.4	2.30	2.30
	8	76.2	0.1378	0.0074	85.9	11.8	163.3	22.5	14.4	2.00	2.00
	9	76.1	0.1344	0.0094	124.3	16.7	207.1	27.8	15.6	2.10	2.10
	10	76.5	0.1479	0.0104	126.0	18.6	211.4	31.3	12.7	1.90	1.90
<b>MEDIA</b>		76.0	0.1406	0.0090	117.2	16.5	190.9	26.9	14.8	2.08	2.08
<b>EEM</b>		1.14	0.0029	0.0005	7.99	1.20	10.07	1.77	0.58	0.07	0.07



TABLA LXXXIII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN TESTICULOS DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA	no	H2O %	Peso Testiculo (g)	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g}$ S. S.	$\mu\text{g Zn/g}$ S. S.	Zn Total ( $\mu\text{g}$ )	$\mu\text{g Cu/g}$ S. S.	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
	4	85.9	0.1113	0.0085	134.4	15.0	185.4	16.0	1.80
	5	86.1	0.1751	0.0138	124.4	21.8	183.0	18.3	3.20
	6	85.8	0.1803	0.0142	123.3	22.2	176.5	14.0	2.50
	7	85.3	0.1366	0.0131	129.4	17.7	216.8	10.5	1.40
	8	86.3	0.1997	0.0161	125.5	25.1	174.6	15.0	3.00
	9	86.4	0.2007	0.0165	108.9	21.9	173.0	16.3	3.30
	10	86.2	0.1550	0.0125	98.6	15.3	216.1	12.4	1.90
<b>MEDIA</b>		86.0	0.1655	0.0135	120.6	19.8	189.3	14.6	2.44
<b>EEM</b>		0.13	0.0125	0.0010	4.7	1.5	7.2	0.98	0.29



TABLA LXXXIV.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN TESTÍCULOS DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	H <sub>2</sub> O %	Peso Testículo (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
8	79.5	0.1510	0.0091	102.6	15.5	182.9	27.6	15.4	2.30
9	82.0	0.1655	0.0118	139.7	23.1	179.9	29.8	13.5	2.20
10	79.2	0.1495	0.0116	114.5	17.1	194.5	29.1	16.6	2.50
<b>MEDIA</b>	80.2	0.1553	0.0108	118.9	18.6	185.8	28.8	15.2	2.33
<b>EEM</b>	0.90	0.0051	0.0009	10.9	2.3	4.5	0.65	0.90	0.09



TABLA LXXXV.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN TESTÍCULOS DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	H2O %	Peso Testículo (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
7	77.0	0.1430	0.0094	108.8	15.6	189.5	27.1	17.2	2.46
8	72.3	0.1441	0.0106	106.9	15.4	190.5	27.5	16.2	2.33
9	79.4	0.1375	0.0082	150.6	20.7	221.2	30.4	14.3	1.97
10	78.8	0.1266	0.0074	100.4	12.7	178.2	22.6	15.5	1.96
11	79.4	0.1097	0.0075	126.3	13.9	181.9	20.0	18.1	1.99
12	74.3	0.1137	0.0072	117.9	13.4	170.9	19.4	16.4	1.86
13	81.8	0.1135	0.0084	130.6	14.8	185.0	21.0	13.9	1.58
<b>MEDIA</b>	77.6	0.1269	0.0084	120.2	15.2	188.2	24.0	15.9	2.02
<b>EEM</b>	1.2	0.0056	0.0005	6.5	1.00	6.1	1.6	0.57	0.11



TABLA LXXXVI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN TESTICULOS DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA	no	H2O %	Peso Testiculo (g)	Peso Cenizas (g)	$\mu\text{g Fe/g S. S.}$	$\mu\text{g Fe Total} (\mu\text{g})$	$\mu\text{g Zn/g S. S.}$	$\mu\text{g Zn Total} (\mu\text{g})$	$\mu\text{g Cu/g S. S.}$	Cu Total ( $\mu\text{g}$ )
6	81.8	0.1590	0.0099	101.9	16.2	185.0	29.4	15.4	2.45	
7	82.0	0.1123	0.0066	124.4	14.0	206.4	23.2	18.1	2.03	
8	79.3	0.1263	0.0084	135.9	17.2	187.6	23.7	16.7	2.11	
9	79.5	0.1509	0.0081	128.0	19.3	183.7	27.7	13.9	2.10	
10	82.2	0.1420	0.0094	145.9	20.7	201.3	28.6	17.1	2.43	
11	81.3	0.1356	0.0082	134.3	18.2	219.0	29.7	18.3	2.48	
<b>MEDIA</b>	81.0	0.1377	0.0084	128.4	17.6	197.2	27.0	16.6	2.27	0.08
<b>EEM</b>	0.53	0.0069	0.0005	6.1	1.0	5.8	1.2	0.69		



TABLA LXXXVII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN TESTÍCULOS DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA	no	H2O %	Peso Testículo (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	83.6	0.1134	0.0091	134.7	15.3	180.7	20.5	16.8	1.91	
2	83.9	0.1195	0.0096	138.9	16.6	213.0	25.5	15.6	1.86	
3	80.2	0.1359	0.0088	118.2	16.1	201.3	27.4	20.1	2.73	
4	78.6	0.1313	0.0078	125.8	16.5	190.5	25.0	16.2	2.13	
5	80.4	0.1334	0.0085	136.1	18.2	208.5	27.8	18.6	2.48	
6	79.2	0.1357	0.0083	143.4	19.5	194.6	26.4	14.6	1.98	
<b>MEDIA</b>	<b>81.0</b>	<b>0.1282</b>	<b>0.0087</b>	<b>132.9</b>	<b>17.0</b>	<b>198.1</b>	<b>25.4</b>	<b>17.0</b>	<b>2.18</b>	
<b>SEM</b>	<b>0.92</b>	<b>0.0039</b>	<b>0.0003</b>	<b>3.8</b>	<b>0.62</b>	<b>4.9</b>	<b>1.1</b>	<b>0.8</b>	<b>0.14</b>	



TABLA LXXXVIII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN TESTICULOS DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA	no	H2O %	Peso Testículo (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
	6	82.9	0.1723	0.0116	140.9	24.3	178.5	30.8	13.9	2.39
	7	84.0	0.1529	0.0105	144.9	22.2	182.0	27.8	14.8	2.26
	8	82.5	0.1574	0.0100	133.3	21.0	197.6	31.1	15.5	2.44
	9	83.1	0.1618	0.0192	131.0	21.2	195.3	31.6	17.4	2.82
	10	83.1	0.1718	0.0115	122.1	21.0	196.2	33.7	17.5	3.01
	11	81.6	0.1484	0.0091	135.3	20.1	186.2	27.6	16.3	2.42
<b>MEDIA</b>		82.9	0.1608	0.0120	134.6	21.6	189.3	30.4	15.9	2.56
<b>SEM</b>		0.317221444	0.0040	0.0015	3.3	0.60	3.3	0.95	0.59	0.12



TABLA LXXXIX.— CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN TESTÍCULOS DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	H2O %	Peso Testículo (g)	Peso Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
8	81.1	0.1561	0.0092	136.1	21.2	193.6	30.2	15.8	2.47
9	82.9	0.1505	0.0100	131.5	19.8	202.7	30.5	16.4	2.47
10	82.2	0.1476	0.0094	128.9	19.0	172.6	25.5	14.6	2.15
11	81.0	0.1695	0.0099	133.6	22.6	178.1	30.2	17.3	2.93
12	82.7	0.1829	0.0120	118.5	21.7	189.9	34.7	20.4	3.73
13	82.0	0.1534	0.0098	128.6	19.7	183.7	28.2	15.8	2.42
14	82.9	0.1471	0.0097	144.6	21.3	180.0	26.5	13.2	1.94
<b>MEDIA</b>	82.1	0.1582	0.0100	131.7	20.8	185.8	29.4	16.2	2.59
<b>EEM</b>	0.30	0.0050	0.0003	3.0	0.49	3.9	1.2	0.86	0.22



TABLA XC.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RINONES DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA	no	% DE H <sub>2</sub> O	Peso de Rion (g)	Peso de Cenizas (µg)	µg Fe/g S. S.	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1		71.1	0.1742	0.0158	202.6	35.3	143.6	30.5	5.30
2		68.2	0.2040	0.0277	214.6	43.8	141.8	34.5	7.00
3		67.8	0.1774	0.0262	274.6	48.7	138.6	32.2	5.70
4		69.4	0.1247	0.0084	241.8	30.2	135.7	38.0	4.70
5		70.1	0.1674	0.0107	233.6	39.1	132.1	21.9	3.70
6		70.4	0.1728	0.0137	247.0	42.7	122.4	22.5	3.90
7		69.2	0.2107	0.0097	203.9	43.0	102.2	29.1	6.10
8		71.7	0.2004	0.0156	154.5	31.0	146.6	26.2	5.30
9		70.3	0.1274	0.0061	211.5	26.9	95.8	24.9	3.20
10		71.2	0.1702	0.0098	218.8	37.2	113.8	20.0	3.40
<b>MEDIA</b>	<b>EEN</b>	69.9	0.1729	0.0144	220.3	37.8	127.3	28.0	4.83
		0.41	0.0092	0.0023	10.2	2.2	5.7	1.9	0.40
							1.7		
							22.1		



TABLA XCI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RIÑONES DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA A.

RATA no	% DE H <sub>2</sub> O	Peso de Riñón (g)	Peso de Cenizas (µg)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	72.4	0.1426	0.0073	211.0	30.1	106.8	15.2	15.8	2.30
2	75.5	0.1324	0.0064	181.7	24.1	96.2	12.7	16.3	2.20
3	73.2	0.1653	0.0083	176.2	29.1	106.4	17.6	19.8	3.30
4	74.3	0.1951	0.0098	196.7	38.4	100.0	19.5	20.6	4.00
5	75.1	0.2214	0.0114	174.5	38.6	95.9	21.2	20.4	4.50
6	74.9	0.2082	0.0108	191.5	39.9	91.8	19.1	17.3	3.60
7	73.2	0.2151	0.0106	207.8	44.7	102.5	22.0	18.1	3.90
8	74.3	0.2398	0.0114	185.1	44.4	99.5	23.9	20.0	4.80
9	74.9	0.2005	0.0110	179.6	36.0	98.7	19.8	19.0	3.90
10	75.5	0.1715	0.0095	206.2	35.4	114.0	19.6	20.4	3.50
<b>MEDIA</b>	74.3	0.1892	0.0097	191.0	36.1	101.2	19.1	18.8	3.60
<b>EEM</b>	0.33	0.0111	0.0006	4.3	2.1	2.0	1.0	0.57	0.27



TABLA XCII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RINONES DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA	% DE H <sub>2</sub> O	Peso de Riñón (g)	Peso de Cenizas (µg)	µg Fe/g S. S.	µg Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	67.5	0.1949	0.0142	195.9	38.2	150.9	29.4	28.2	5.50
2	67.1	0.1713	0.0126	240.7	41.2	137.7	23.6	27.7	4.70
3	66.5	0.1490	0.0072	283.8	42.3	129.7	19.3	32.1	4.80
4	65.7	0.2288	0.0122	152.9	35.0	129.8	29.7	24.4	5.60
5	65.9	0.1536	0.0182	258.7	39.7	140.7	21.6	29.9	4.60
6	68.2	0.1764	0.0094	228.0	40.2	128.7	22.7	20.7	3.70
7	67.9	0.1825	0.0086	182.4	33.3	118.4	21.6	30.3	5.50
8	68.9	0.1690	0.0076	169.8	28.7	113.6	19.2	22.4	3.80
9	66.8	0.2026	0.0085	186.1	37.7	91.90	18.6	19.4	3.90
10	70.7	0.1806	0.0096	203.0	36.7	101.90	18.4	25	4.50
<b>MEDIA</b>	<b>67.5</b>	<b>0.1809</b>	<b>0.0108</b>	<b>210.1</b>	<b>37.3</b>	<b>124.3</b>	<b>22.4</b>	<b>26.0</b>	<b>4.66</b>
<b>EEM</b>	<b>0.47</b>	<b>0.0074</b>	<b>0.0011</b>	<b>13.1</b>	<b>1.3</b>	<b>5.7</b>	<b>1.3</b>	<b>1.4</b>	<b>0.23</b>



TABLA XCIII.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RIÑONES DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B.

RATA no	% DE H <sub>2</sub> O	Peso de Riñón (g)	Peso de Cenizas (µg)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	70.79	0.1583	0.0126	168.0	26.6	93.4	14.8	14.8	2.30
2	70.0	0.1138	0.0081	174.2	19.8	101.8	11.6	16	1.80
3	65.0	0.1306	0.0064	224.6	29.3	119.3	15.6	23	3.00
4	69.7	0.1624	0.0112	207.1	33.6	117.4	19.1	16.3	2.60
5	66.8	0.1778	0.0108	163.1	29.0	86.1	15.3	18.1	3.20
6	68.0	0.1258	0.0073	245.6	30.9	104.5	13.1	14.2	1.80
7	68.2	0.1932	0.0088	161.1	31.1	87.8	17.0	20.3	3.90
8	68.4	0.1919	0.0085	143.8	27.6	81.8	15.7	16.1	3.10
9	69.9	0.1525	0.0097	167.5	25.5	91.5	14.0	15	2.30
10	68.3	0.2207	0.0117	150.7	33.3	98.3	21.7	21	4.60
11	64.4	0.1250	0.0086	148.7	18.6	88.0	11.0	16	2.00
12	67.4	0.1657	0.0156	173.3	28.7	105.2	17.4	23.6	3.90
13	97.0	0.1678	0.0144	152.5	25.6	113.1	19.0	29.1	4.90
<b>MEDIA</b>	70.3	0.1604	0.0103	175.4	27.7	99.1	15.8	18.7	3.03
<b>EEM</b>	2.28	0.0086	0.0008	8.7	1.3	3.4	0.85	1.2	0.29



TABLA XCIV.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RIÑONES DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	% DE H2O	Peso de Riñón (g)	Peso de Cenizas (µg)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	72.4	0.1448	0.0080	312.5	45.3	167.8	24.3	30.7	4.40
2	72.6	0.1578	0.0076	265.1	41.8	129.8	20.5	34.2	5.40
3	71.9	0.1465	0.0073	330.2	48.4	155.3	22.8	35.8	5.20
4	71.9	0.1449	0.0069	360.1	52.2	143.6	20.8	38.3	5.50
5	73.2	0.1350	0.0067	360.5	48.7	122.6	16.6	35.8	4.80
6	71.9	0.2155	0.0107	166.8	35.9	112.0	24.1	42.5	9.20
7	71.3	0.1698	0.0072	176.9	30.0	109.7	18.6	30.6	5.20
8	69.5	0.2245	0.0073	164.2	36.9	97.7	21.9	27.9	6.30
9	69.5	0.1839	0.0077	240.9	44.3	124.4	22.9	33.5	6.20
10	71.5	0.2096	0.0101	191.5	40.1	116.6	24.4	39.5	8.30
11	71.3	0.2121	0.0104	171.3	36.3	99.2	21.0	35.5	7.50
<b>MEDIA</b>	71.5	0.1768	0.0082	249.1	41.8	125.3	21.6	34.9	6.18
<b>EEM</b>	0.35	0.0101	0.0004	24.2	2.0	6.7	0.74	1.3	0.46



TABLA XCV.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RIÑONES DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA D3.

RATA no	% DE H2O	Peso de Riñón (g)	Peso de Cenizas (µg)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	70.5	0.1901	0.0100	123.2	23.4	167.8	24.3	31.6	6.00
2	73.4	0.1672	0.0092	157.6	26.4	129.8	20.5	37.8	6.30
3	69.8	0.1938	0.0095	207.5	40.2	155.3	22.8	36.4	7.00
4	72.5	0.1768	0.0091	150.3	26.6	143.6	20.8	37.3	6.60
5	70.3	0.2138	0.0108	193.9	41.5	122.6	16.6	30.9	6.60
6	69.0	0.1682	0.0077	145.8	24.5	112.0	24.1	40.8	6.90
7	69.4	0.1503	0.0067	209.1	31.4	109.7	18.6	31.7	4.80
8	70.1	0.1466	0.0068	262.5	38.5	97.7	21.9	30.7	4.50
9	70.7	0.1164	0.0064	247.9	28.9	124.4	22.9	30.6	3.60
10	69.2	0.1450	0.0068	199.2	28.9	116.6	24.4	32.3	4.70
11	60.7	0.1436	0.0061	276.5	39.7	99.2	21.0	32.1	4.60
<b>MEDIA</b>	69.6	0.1647	0.0081	197.6	31.8	125.3	21.6	33.8	5.60
<b>EEM</b>	0.98	0.0084	0.0005	15.2	2.1	6.7	0.74	1.1	0.36



TABLA XCVI.- CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RIÑONES DE RATAS CONTROLES ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	H <sub>2</sub> O %	Peso de Riñón (g)	Peso de Cenizas (g)	µg Fe/g S. S.	Fe Total (µg)	µg Zn/g S. S.	Zn Total (µg)	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	72.1	0.1880	0.0087	280.3	52.7	99.1	18.6	29.8	5.60
2	74.7	0.2311	0.0114	324.5	75.0	118.9	27.5	28.6	6.60
3	74.3	0.1409	0.0068	272.3	38.4	118.4	16.7	29.5	4.20
4	74.5	0.1493	0.0072	351.9	52.5	111.4	16.6	34.7	5.20
5	75.4	0.1618	0.0083	272.6	44.1	138.7	22.4	34.6	5.60
6	74.1	0.2284	0.0118	201.4	46.0	126.3	28.8	32.1	7.30
7	74.1	0.2337	0.0113	203.1	47.5	101.7	23.8	35.6	8.30
8	75.3	0.2728	0.0142	196.8	53.7	103.9	28.3	37.1	10.10
9	74.2	0.2717	0.0134	228.4	62.1	125.7	34.2	29.3	8.00
10	73.2	0.3285	0.0154	236.8	77.8	121.2	39.8	28.6	9.40
11	72.4	0.2453	0.0111	218.0	53.5	101.0	24.8	29.7	7.30
<b>MEDIA</b>	74.0	0.2229	0.0109	253.3	54.8	115.1	25.6	31.8	7.05
<b>EEM</b>	0.32	0.0175	0.0009	15.61	3.71	3.85	2.17	0.95	0.55

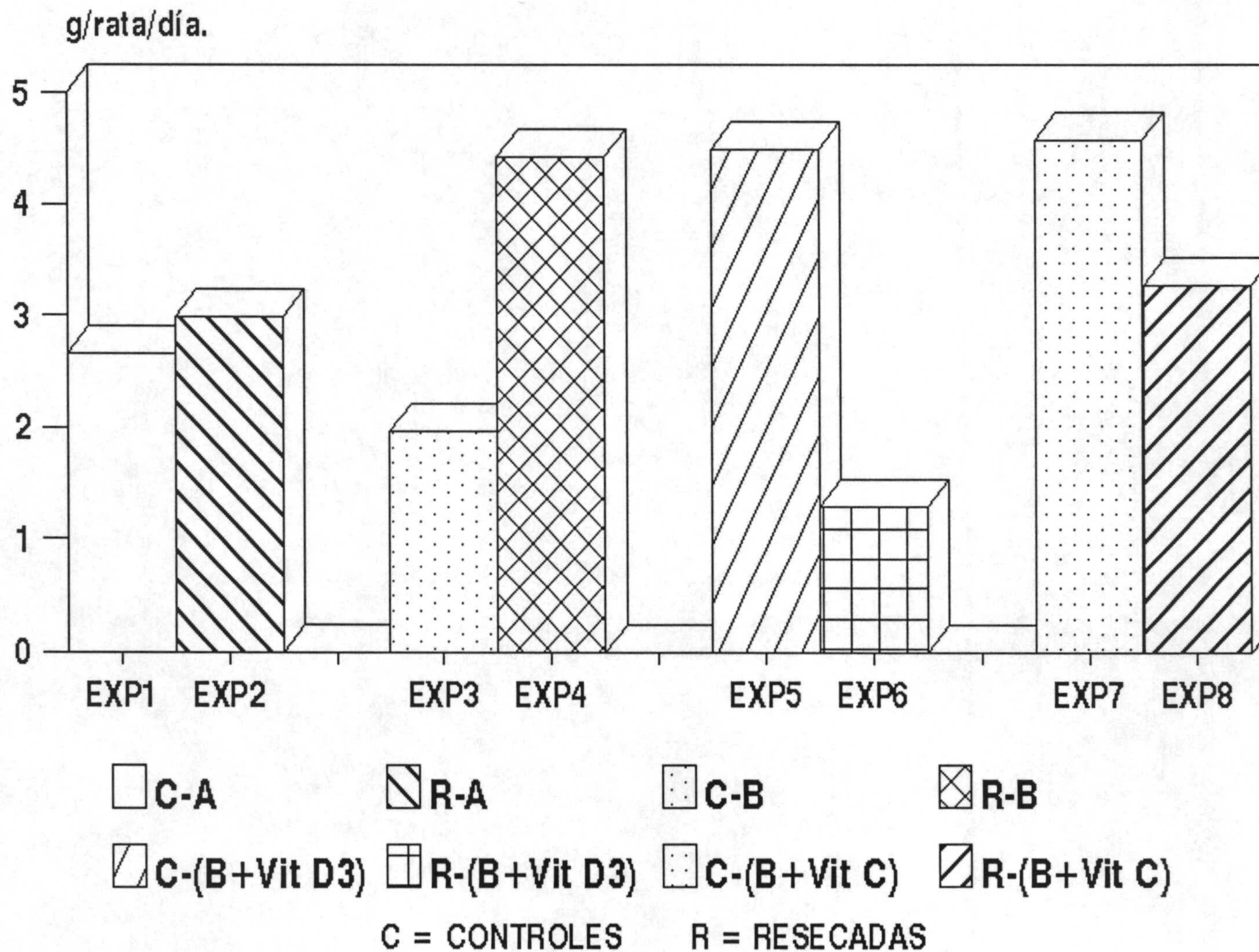


TABLA XCII. - CONTENIDO DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RINONES DE RATAS RESECADAS ALIMENTADAS CON DIETA B SUPLEMENTADA CON VITAMINA C.

RATA no	% DE H <sub>2</sub> O	Peso de Riñón (g)	Peso de Cenizas (µg)	µg Fe/g S. S.	µg Zn/g S. S.	µg Zn Total	µg Cu/g S. S.	Cu Total (µg)
1	73.5	0.1670	0.0083	303.2	50.6	124.5	36.4	6.10
2	74.8	0.1785	0.0084	318.9	56.9	108.4	34.5	6.20
3	72.7	0.1863	0.0097	260.5	48.5	102.4	26.8	5.00
4	72.9	0.1761	0.0094	273.2	48.1	106.5	22.8	4.00
5	70.8	0.2004	0.0085	224.0	44.9	95.0	28.6	5.70
6	73.2	0.1964	0.0094	221.1	43.4	114.8	32.0	6.30
7	71.3	0.1750	0.0077	348.7	61.0	113.5	24.4	4.30
8	72.9	0.2629	0.0121	229.1	60.2	111.4	37.1	9.80
9	73.1	0.2362	0.0111	213.3	50.4	104.3	35.5	8.40
10	72.8	0.2280	0.0106	217.5	49.6	115.7	30.9	7.00
11	70.4	0.2834	0.0123	234.4	66.4	121.3	35.6	10.90
12	72.2	0.2604	0.0120	244.2	63.6	99.3	31.8	8.30
13	71.7	0.2438	0.0110	241.8	59.0	100.1	23.6	5.80
14	71.3	0.3052	0.0126	199.5	60.9	88.6	22.5	6.90
<b>MEDIA</b>	<b>72.4</b>	<b>0.2214</b>	<b>0.0102</b>	<b>252.1</b>	<b>54.5</b>	<b>107.6</b>	<b>30.2</b>	<b>6.76</b>
<b>EEM</b>	<b>0.32</b>	<b>0.0120</b>	<b>0.0004</b>	<b>11.8</b>	<b>2.0</b>	<b>2.7</b>	<b>1.4</b>	<b>0.53</b>



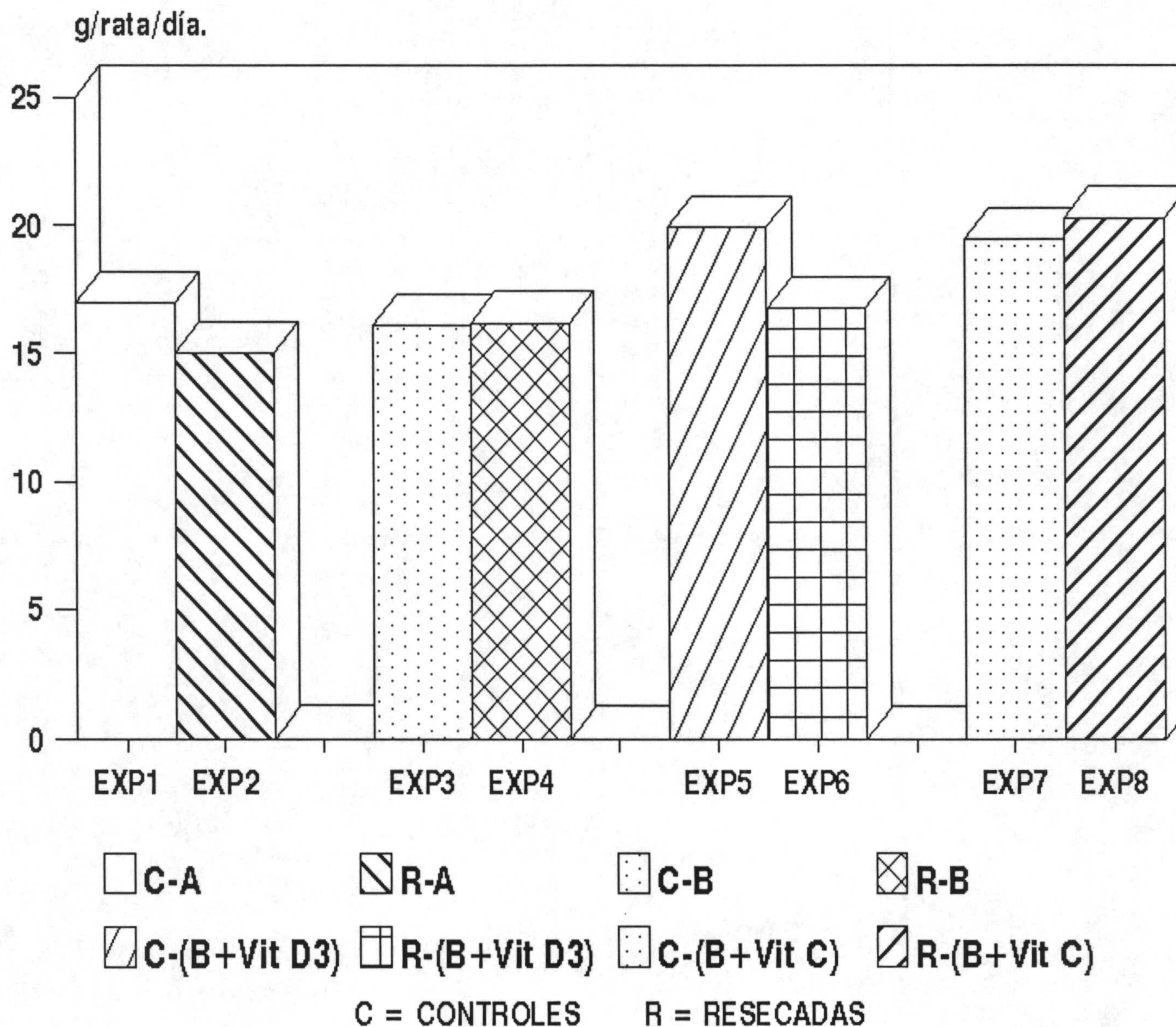
**Fig.1.- INCREMENTO DE PESO EN RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



UNIVERSIDAD DE GRANADA  
 06 ABR. 1993  
 COMISION DE DOCTORADO

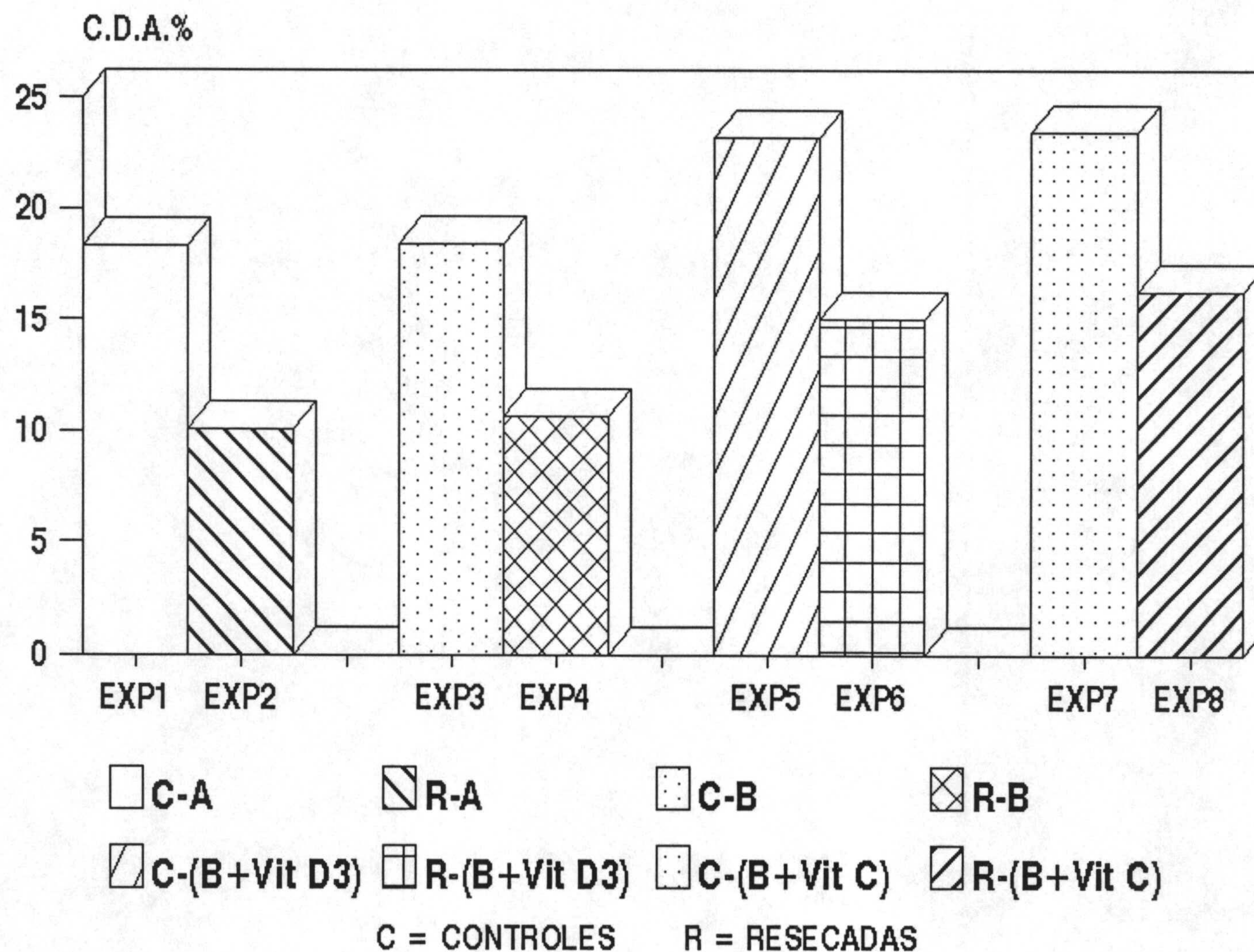


**Fig.2.- DIETA INGERIDA EN SUSTANCIA SECA.**



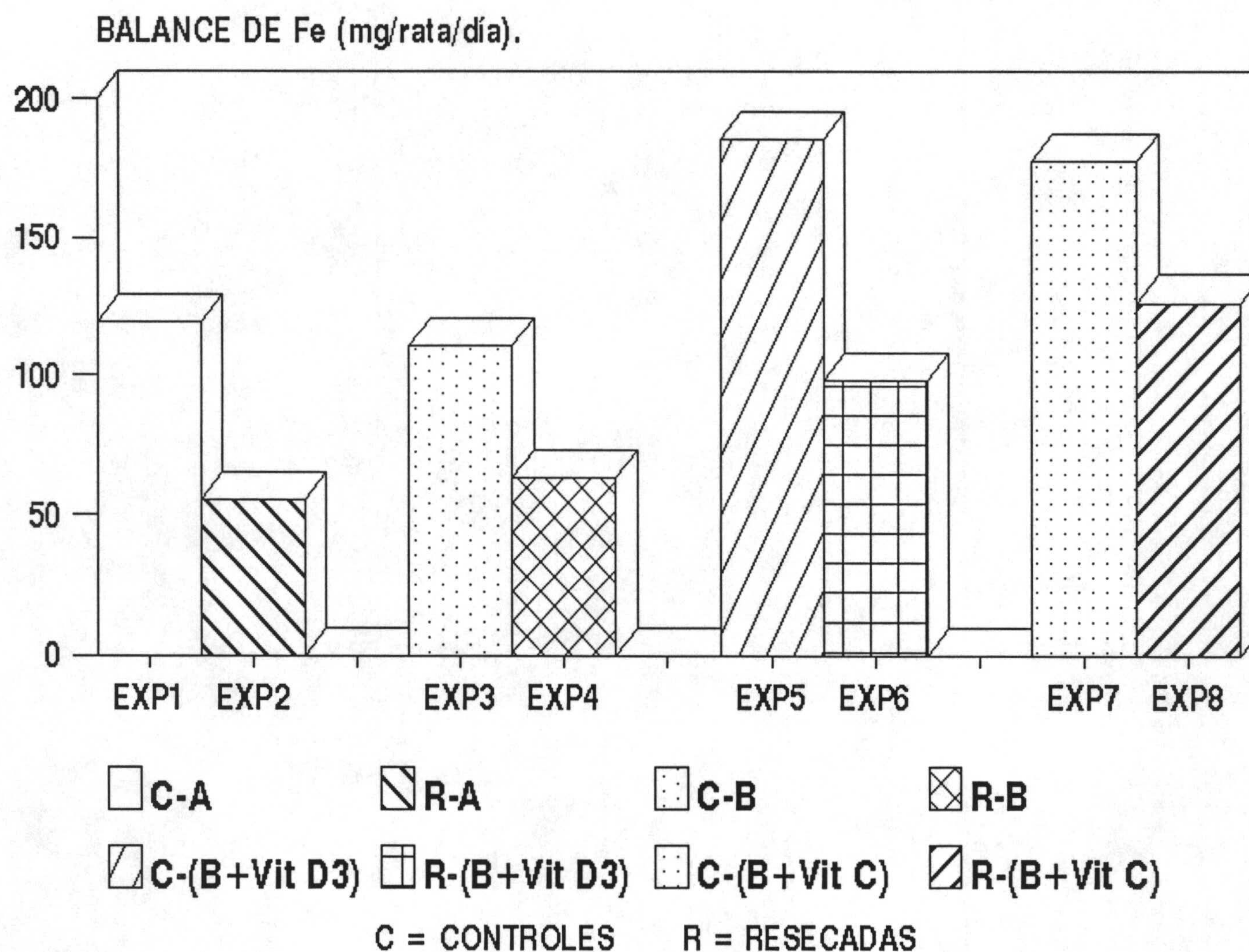


**Fig.3.- UTILIZACION DIGESTIVA DE HIERRO EN RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



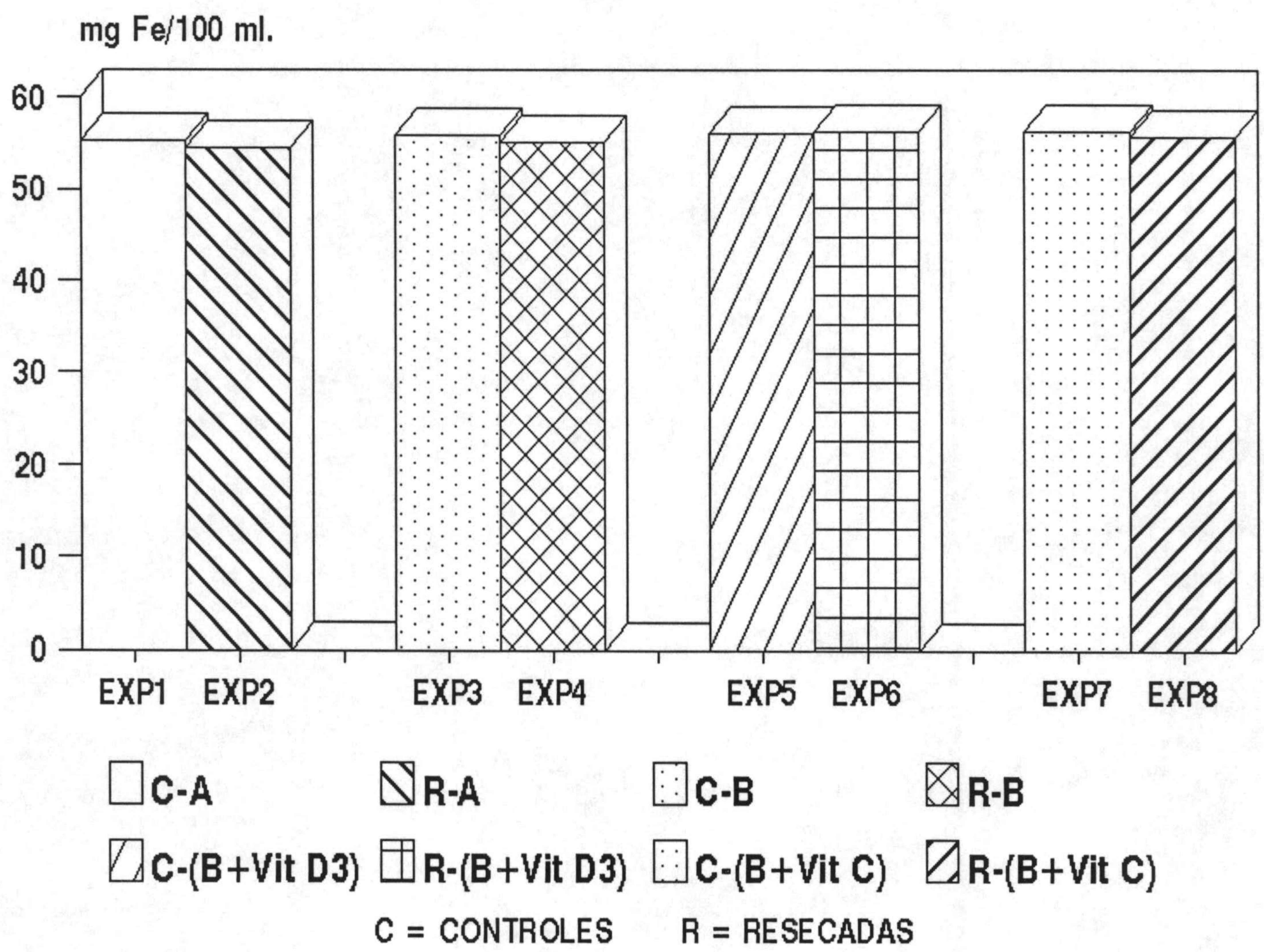


**Fig.4.- UTILIZACION METABOLICA DEL HIERRO EN RATS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



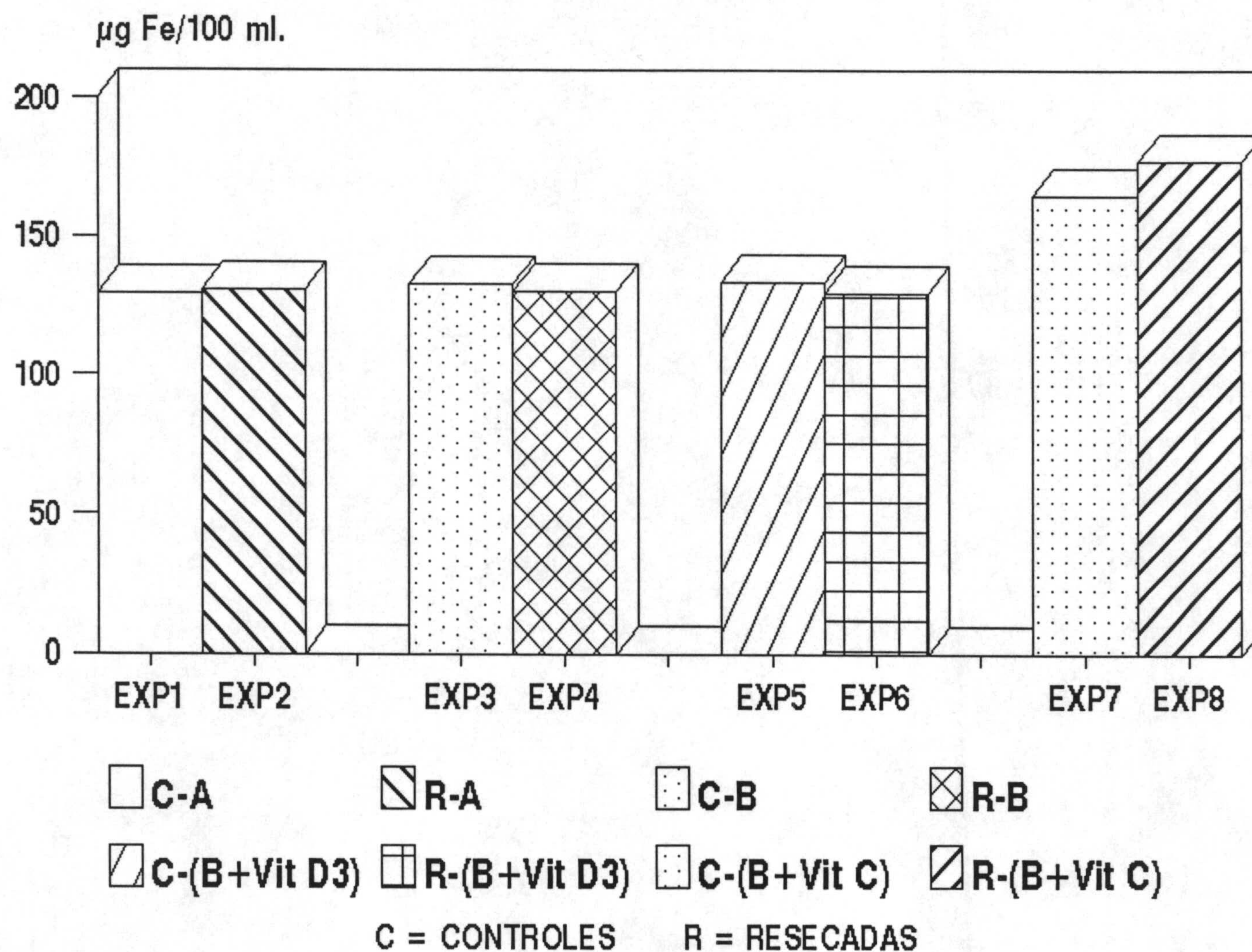


**Fig.5.- CONTENIDO DE HIERRO EN SANGRE DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



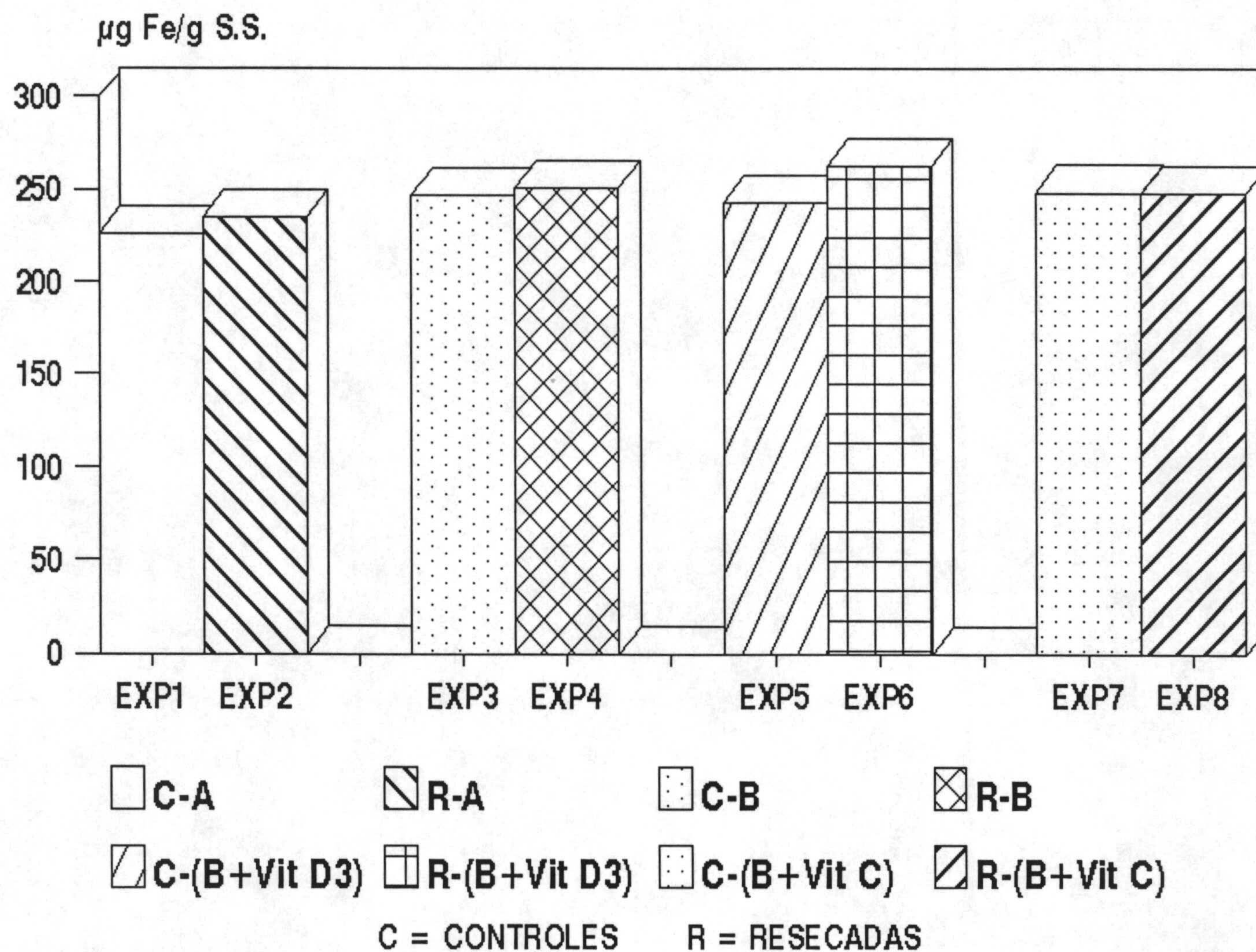


**Fig.6.- CONTENIDO DE HIERRO EN PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



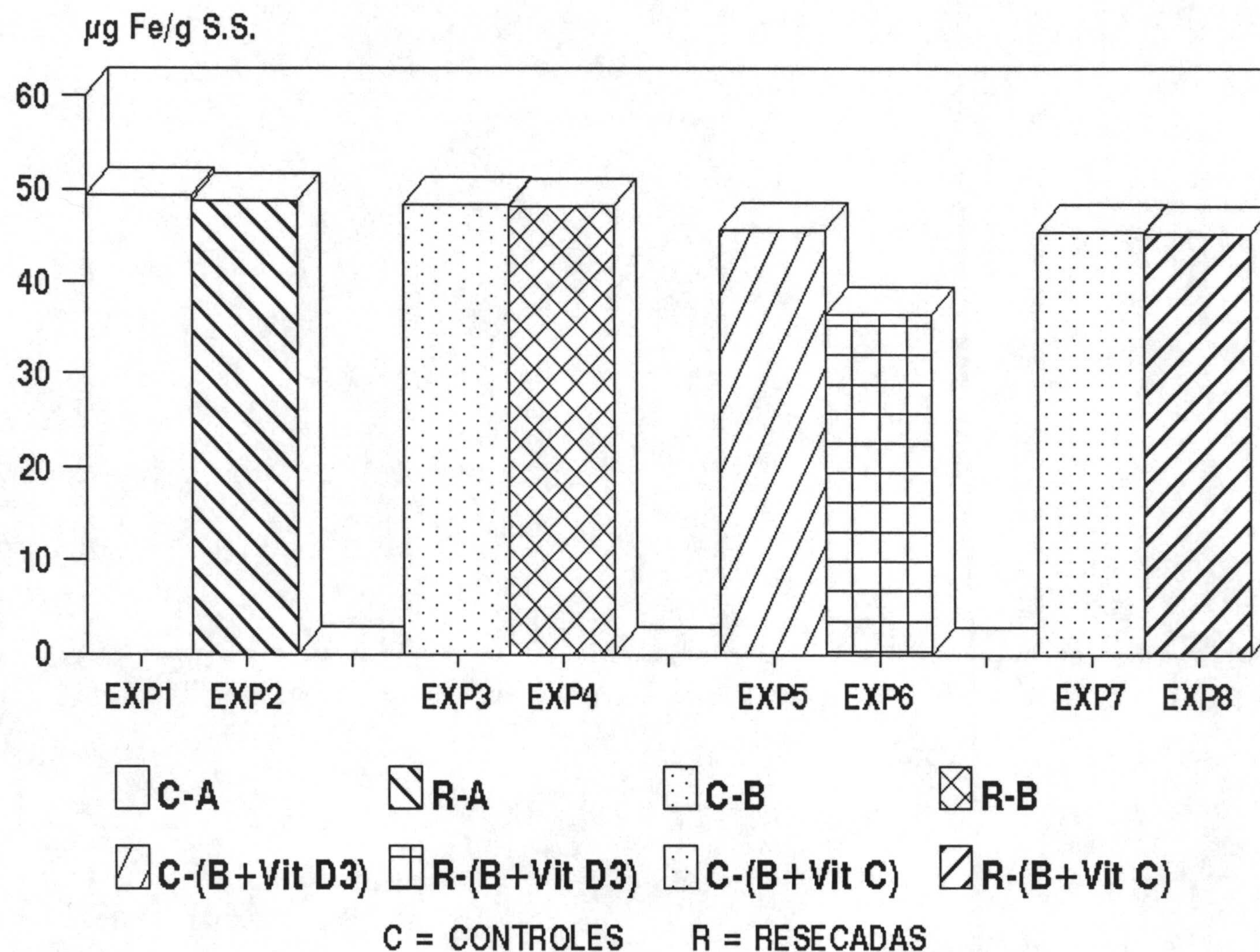


**Fig.8.- CONTENIDO DE HIERRO EN HIGADO DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



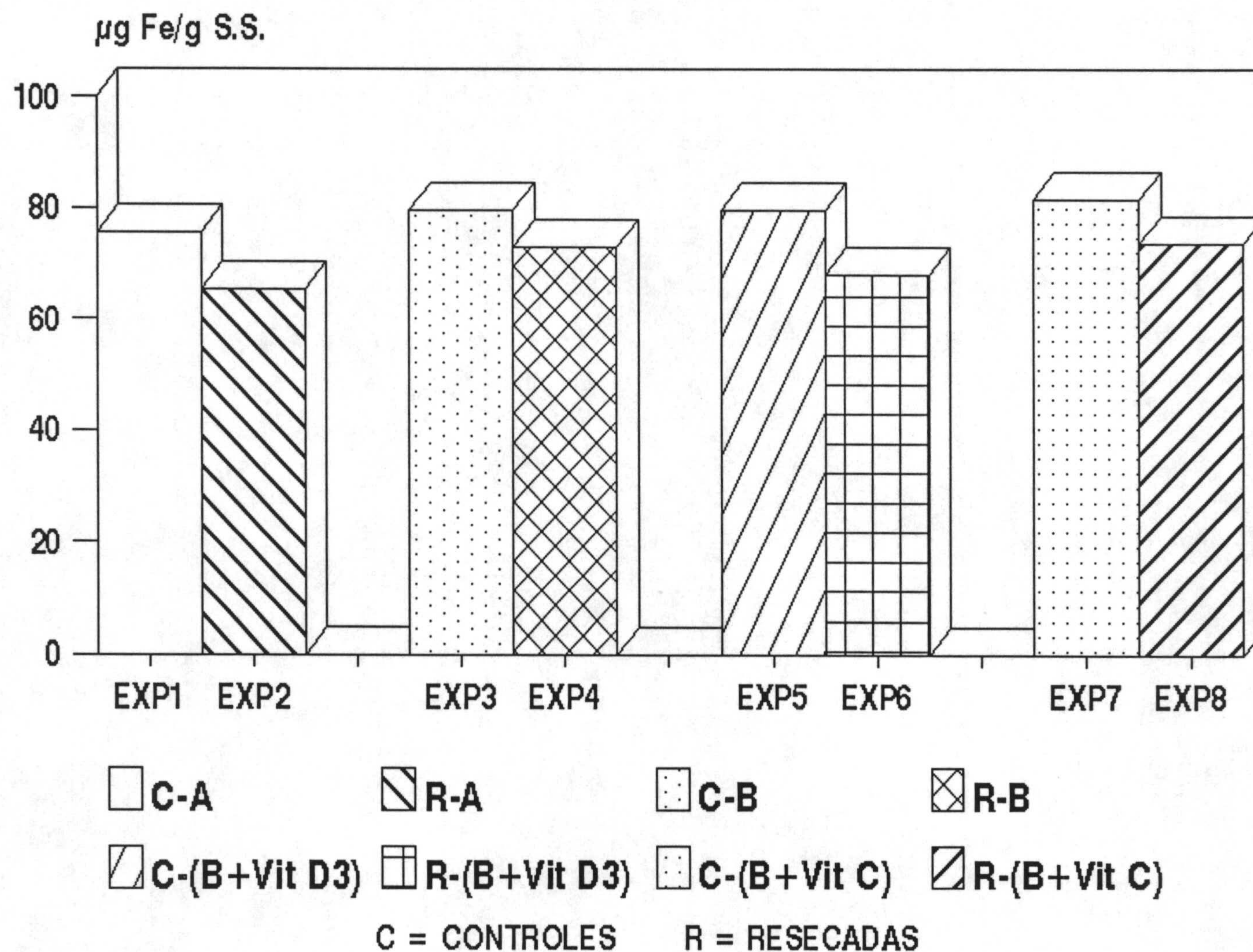


**Fig.9.- CONTENIDO DE HIERRO EN FEMUR DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



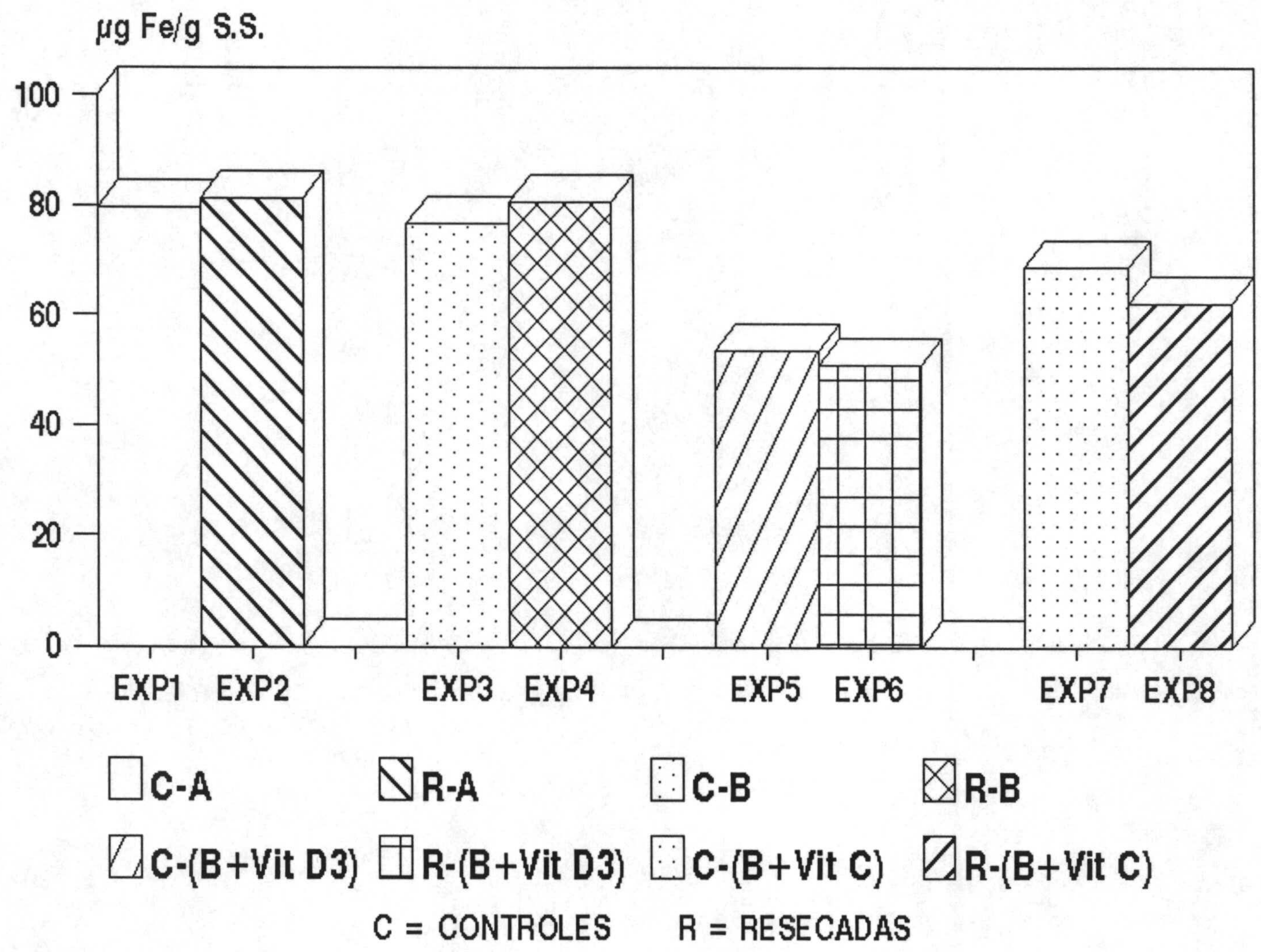


**Fig.10.- CONTENIDO DE HIERRO EN ESTERNON DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



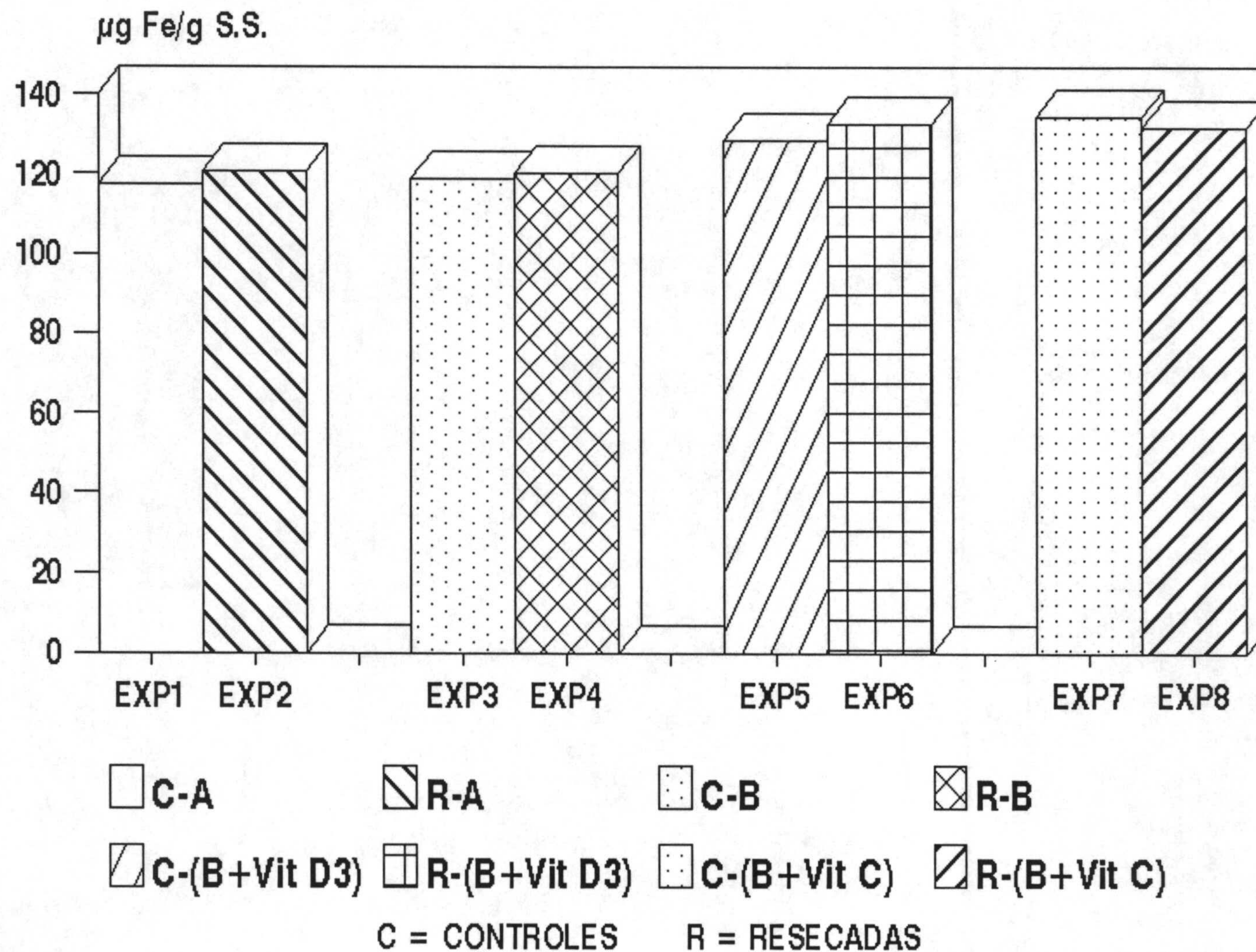


**Fig.11.- CONTENIDO DE HIERRO EN MUSCULO DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



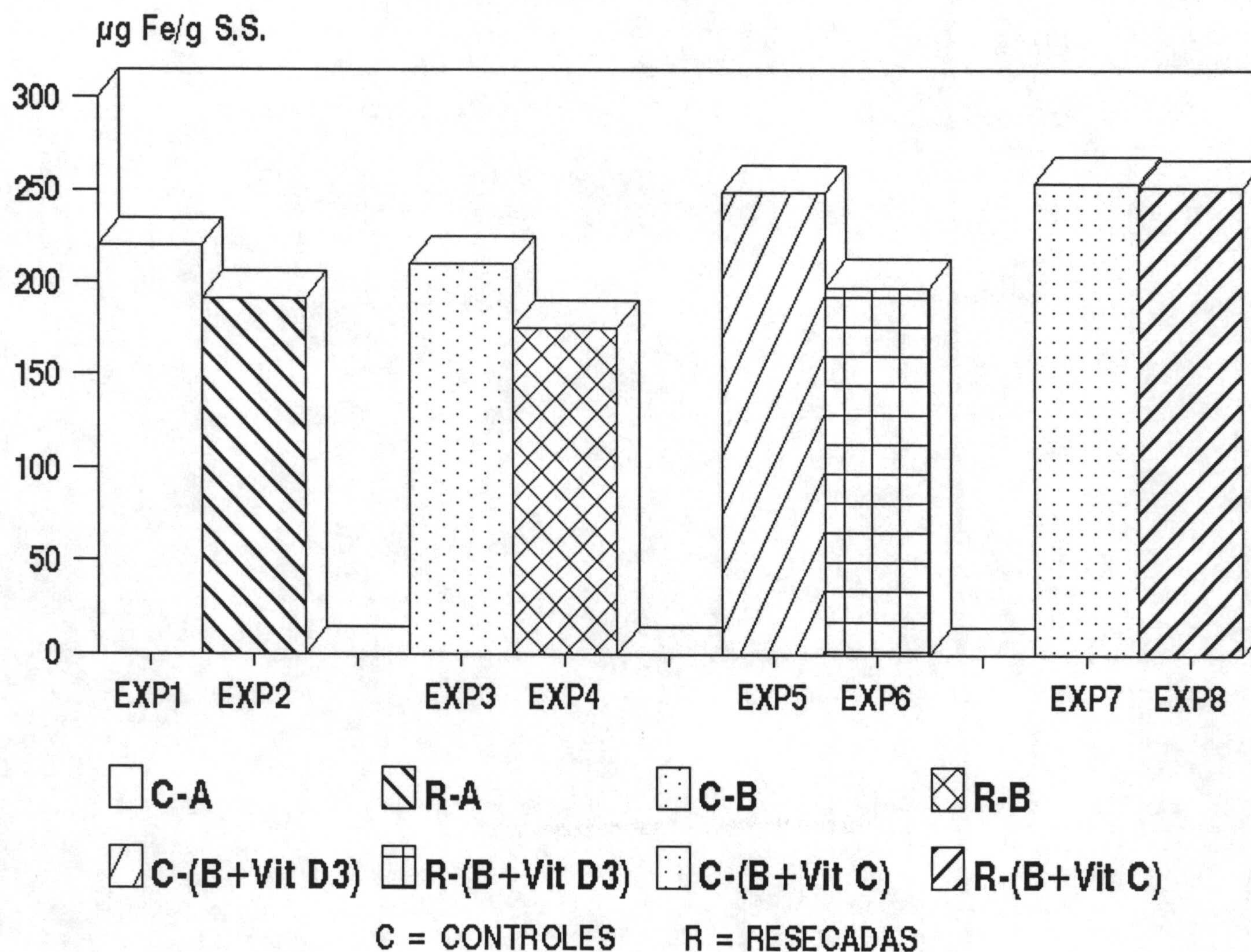


**Fig.12.- CONTENIDO DE HIERRO EN TESTICULOS DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



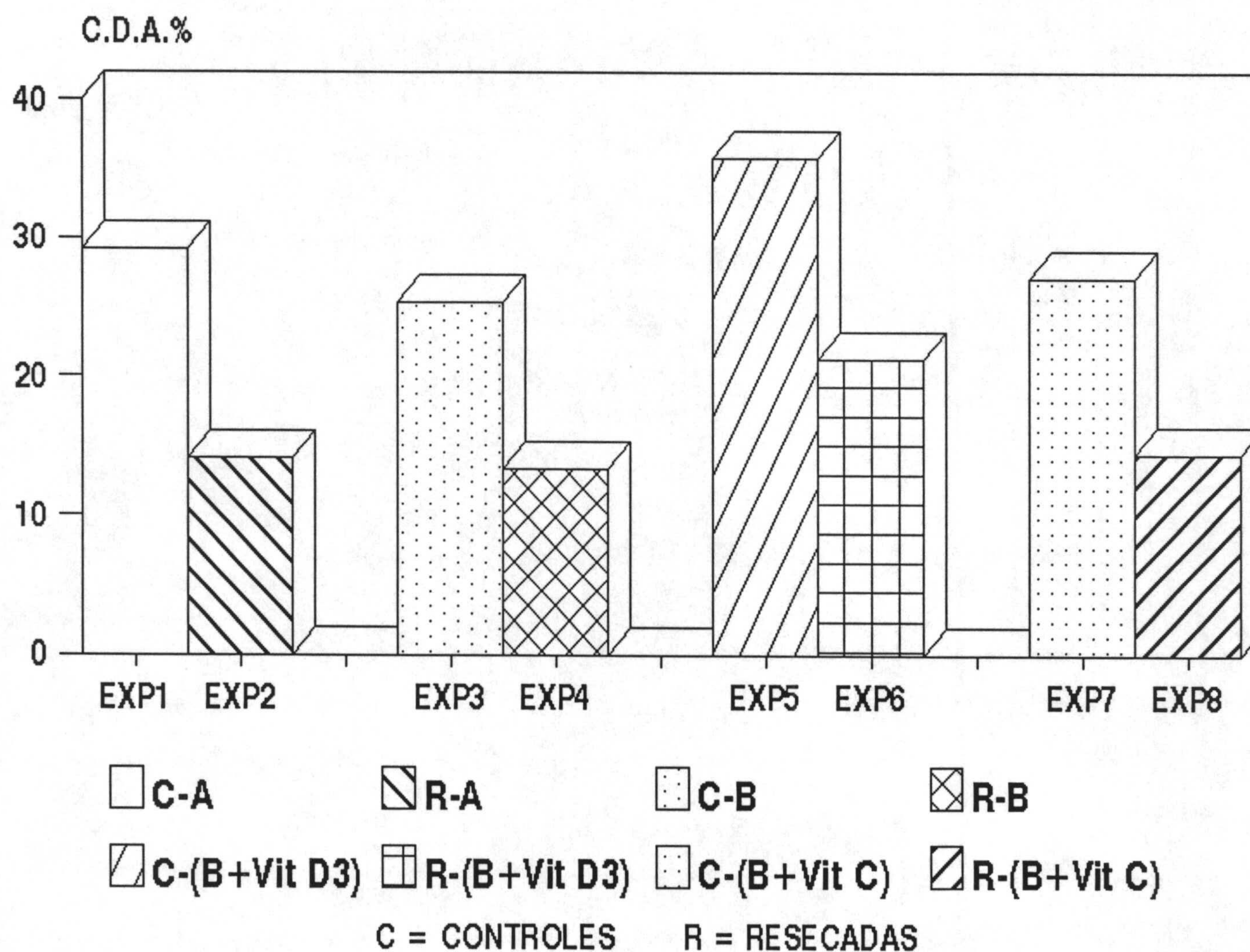


**Fig.13.- CONTENIDO DE HIERRO EN RIÑONES DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



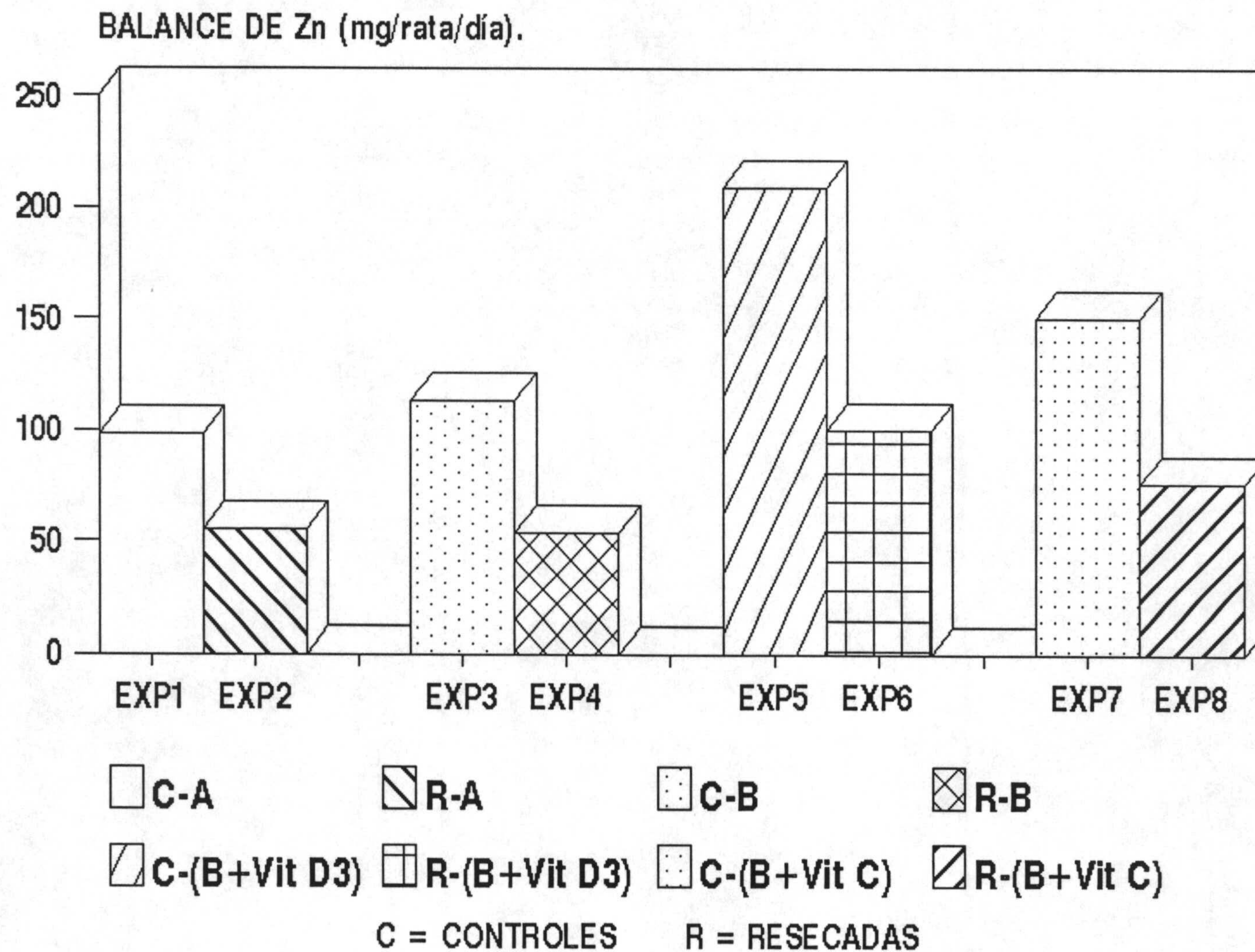


**Fig.14.- UTILIZACION DIGESTIVA DEL CINCO EN RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



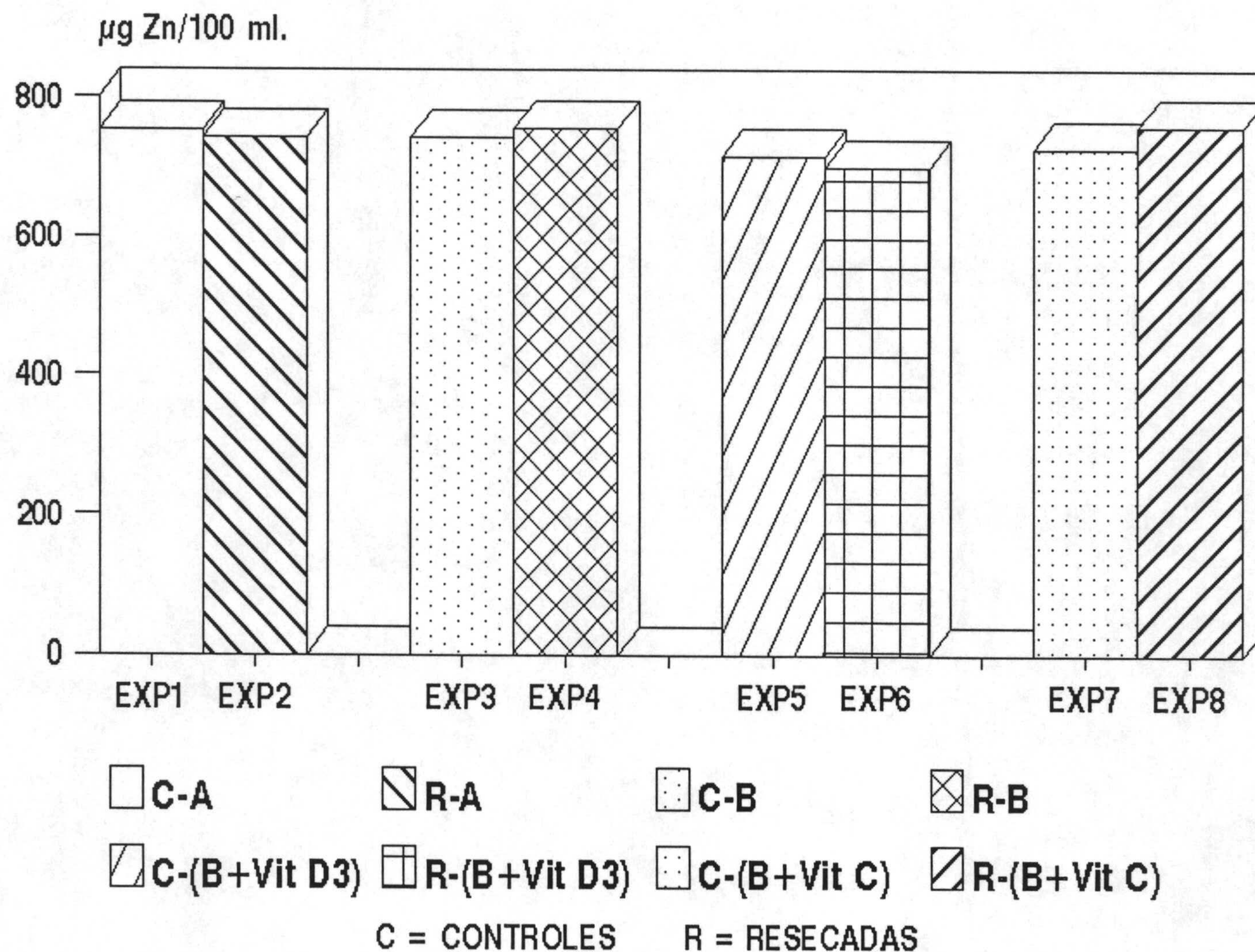


**Fig.15.- UTILIZACION NUTRITIVA DEL CINC EN RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



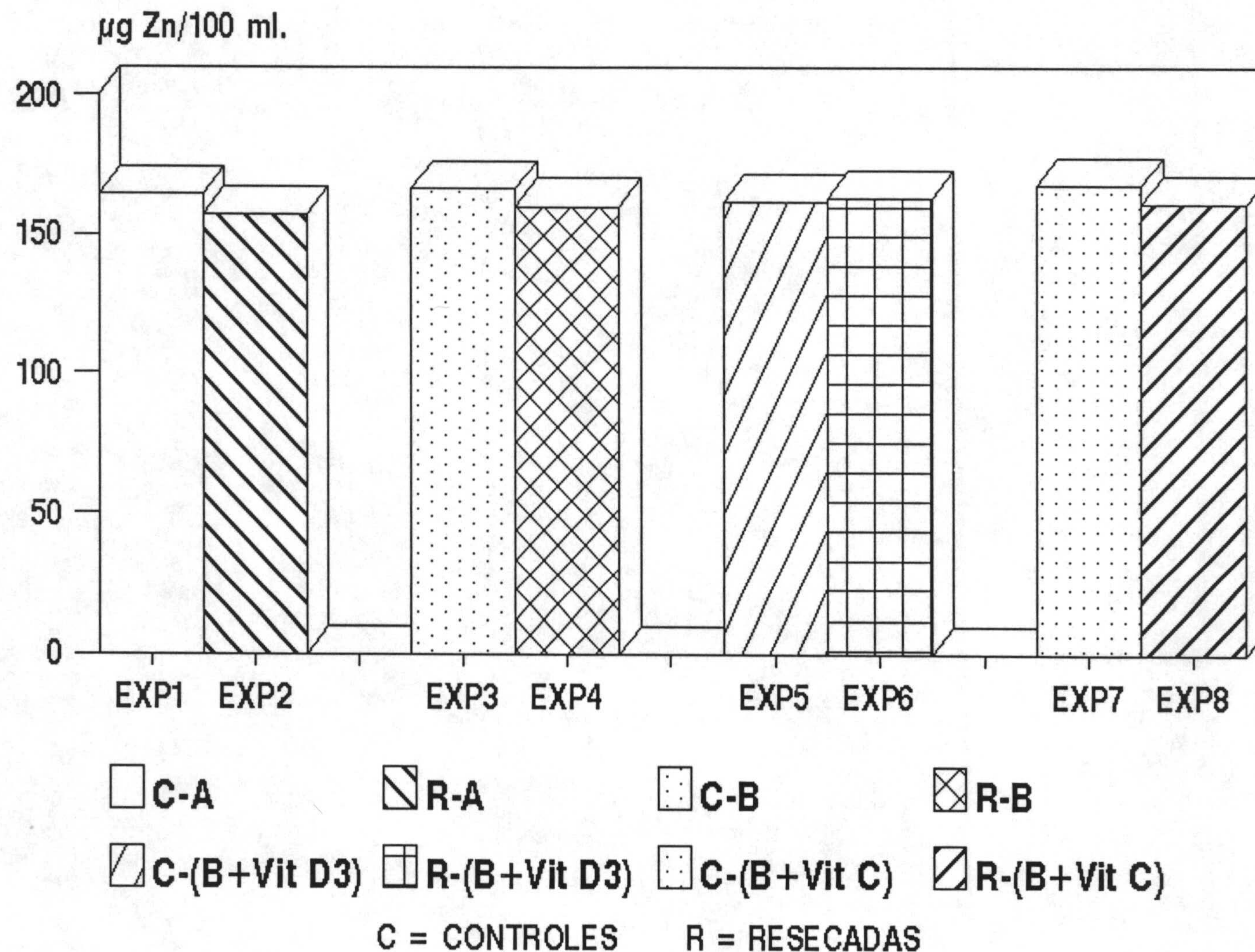


**Fig.16.- CONTENIDO DE CINC EN SANGRE DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



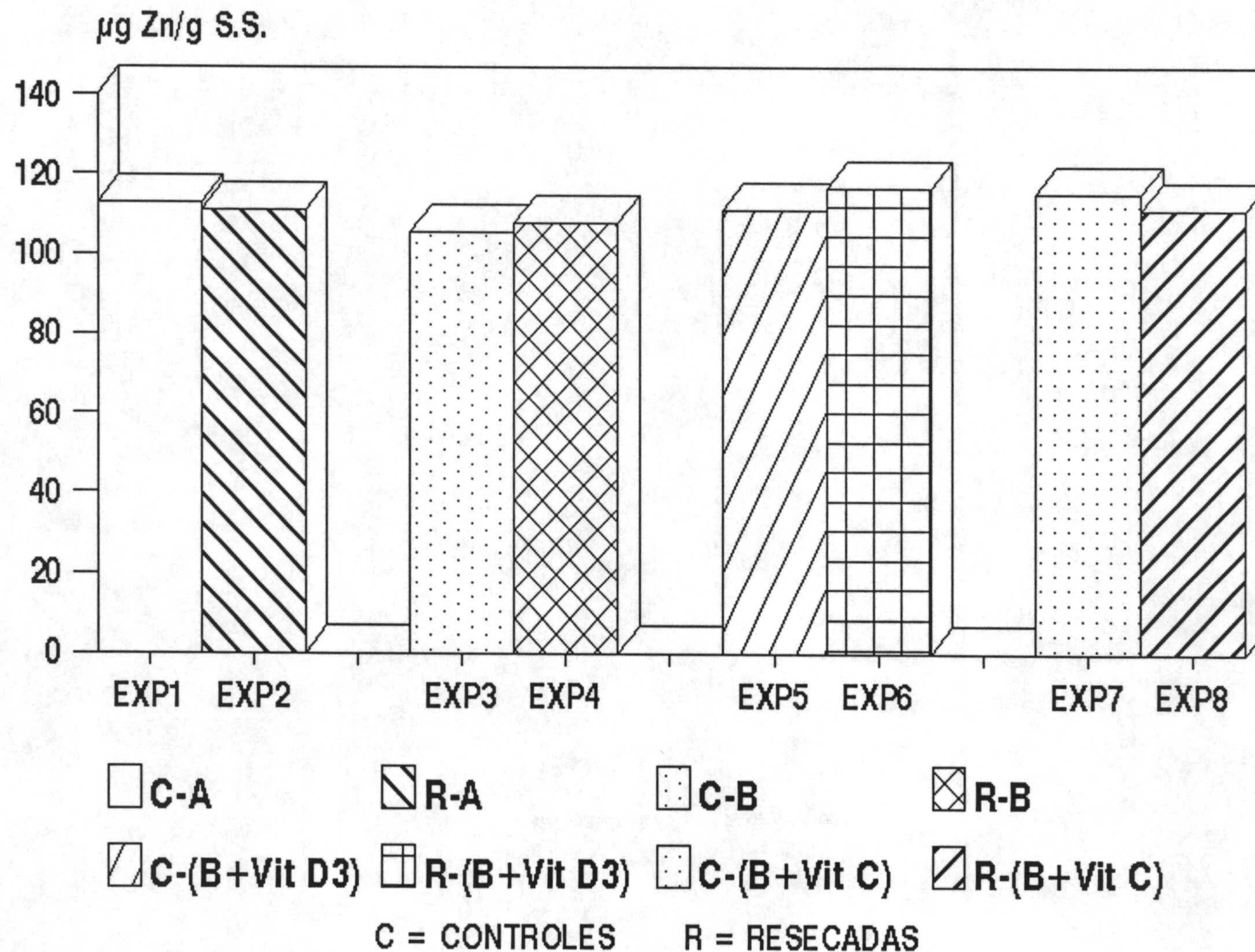


**Fig.17.- CONTENIDO DE CINC EN PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



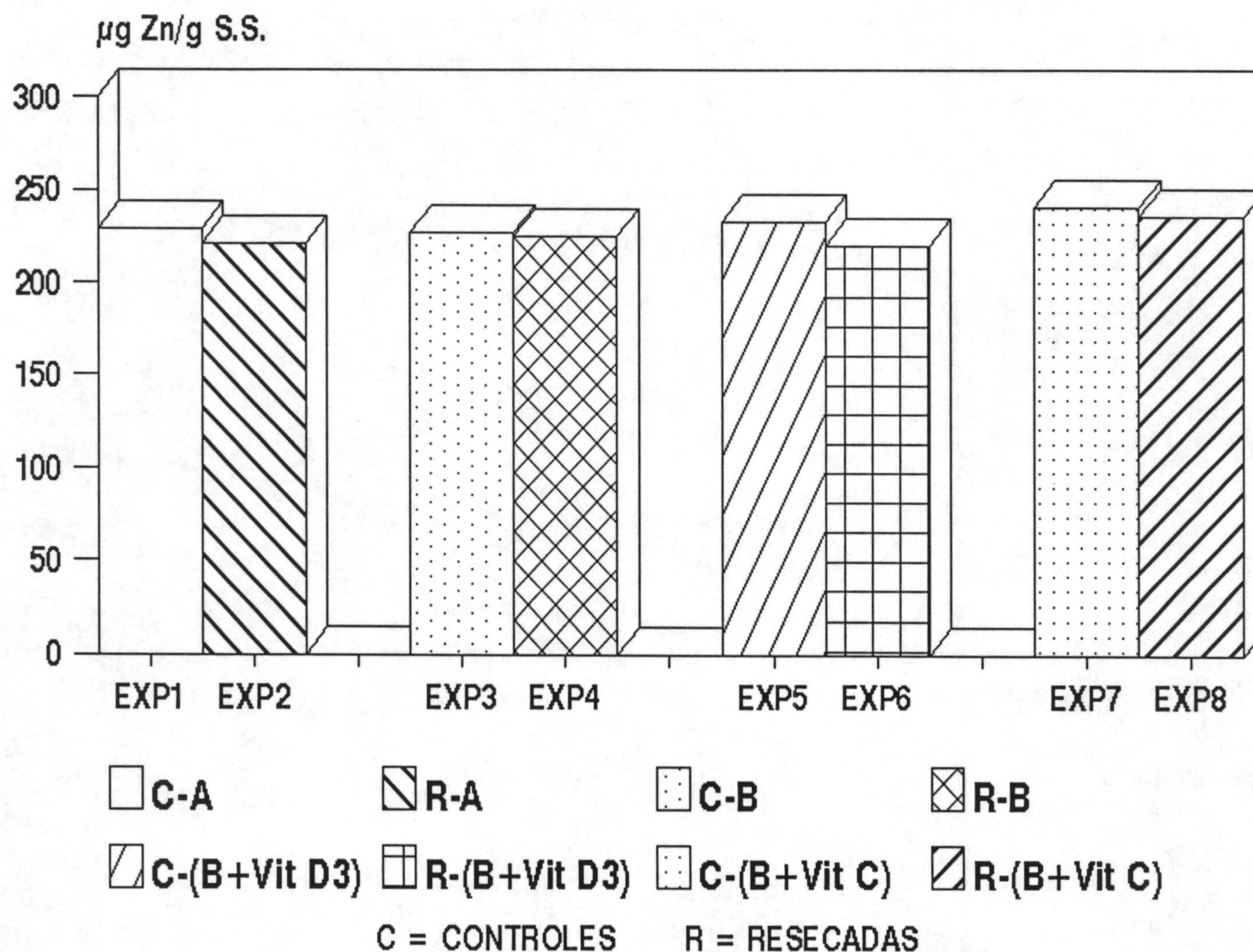


**Fig.18.- CONTENIDO DE CINC EN HIGADO DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



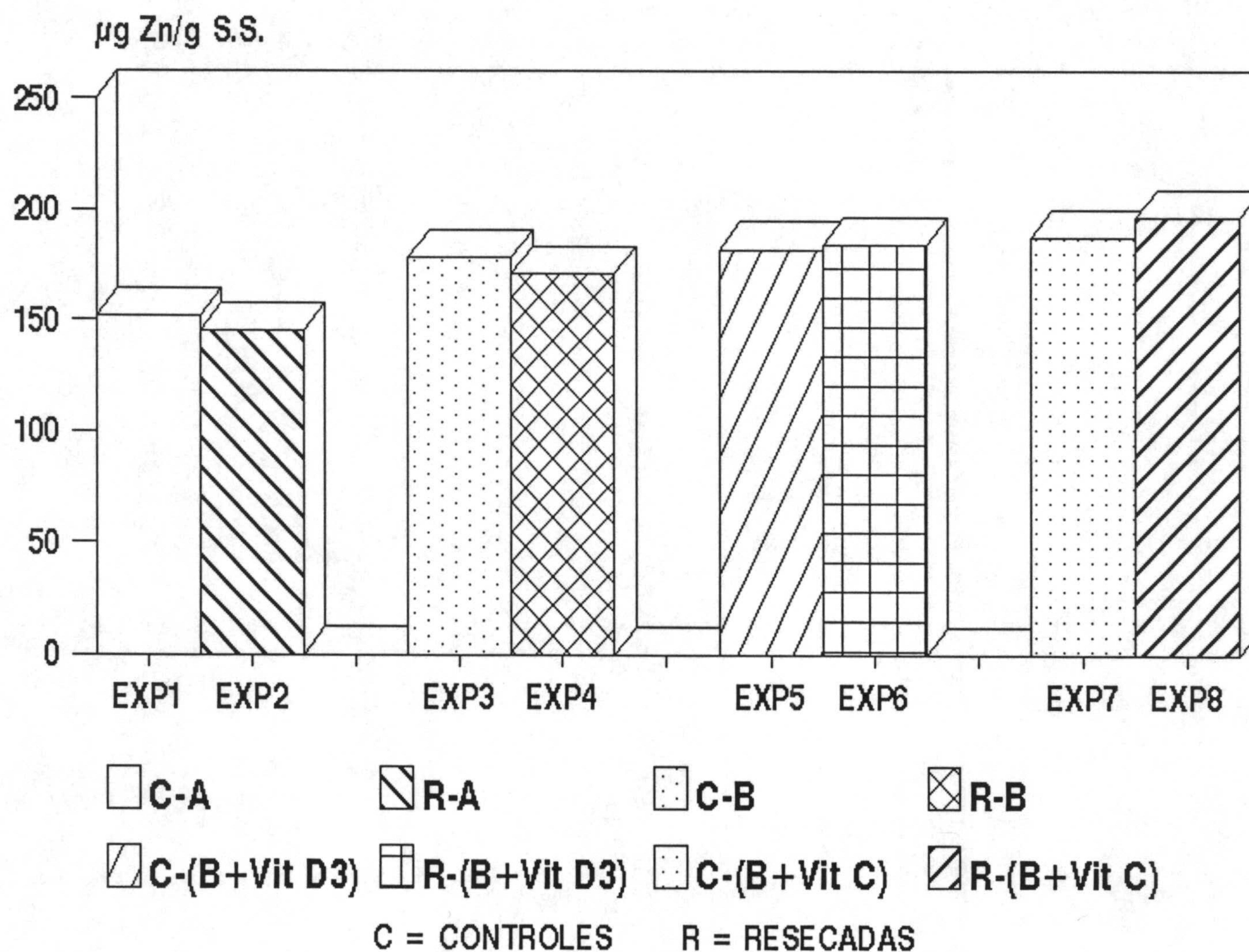


**Fig.19.- CONTENIDO DE CINC EN FEMUR DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



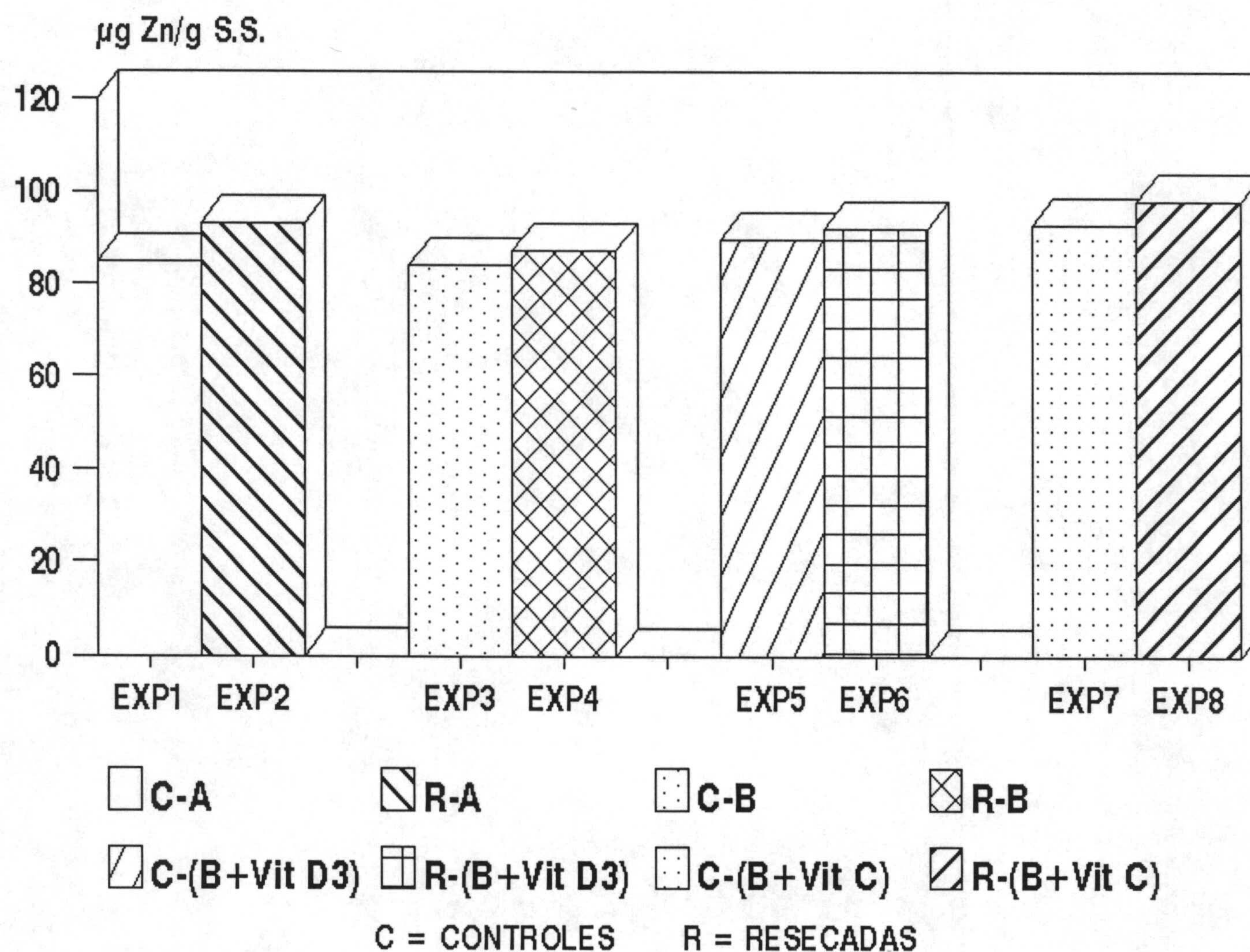


**Fig.20.- CONTENIDO DE CINC EN ESTERNON DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



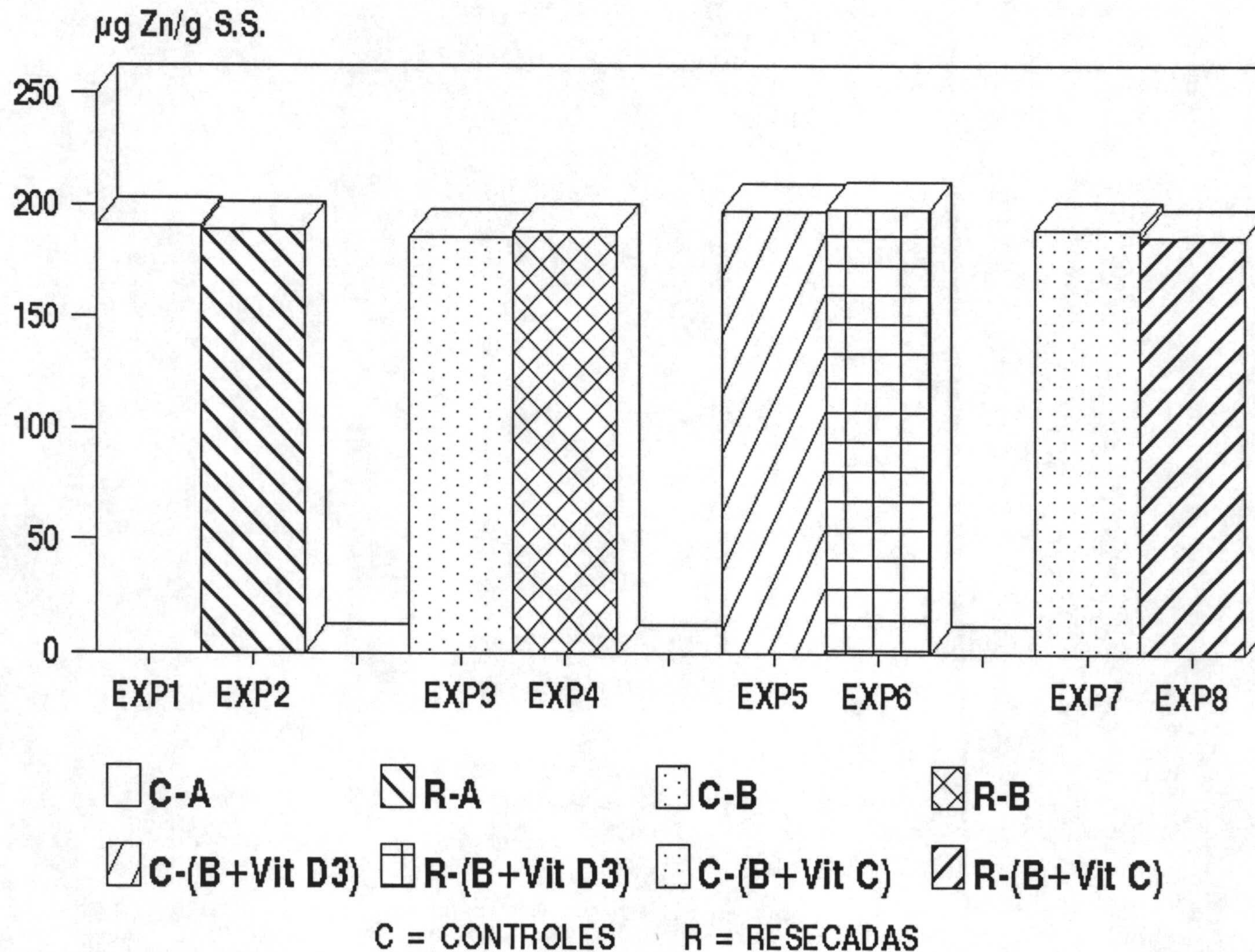


**Fig.21.- CONTENIDO DE CINC EN MUSCULO DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



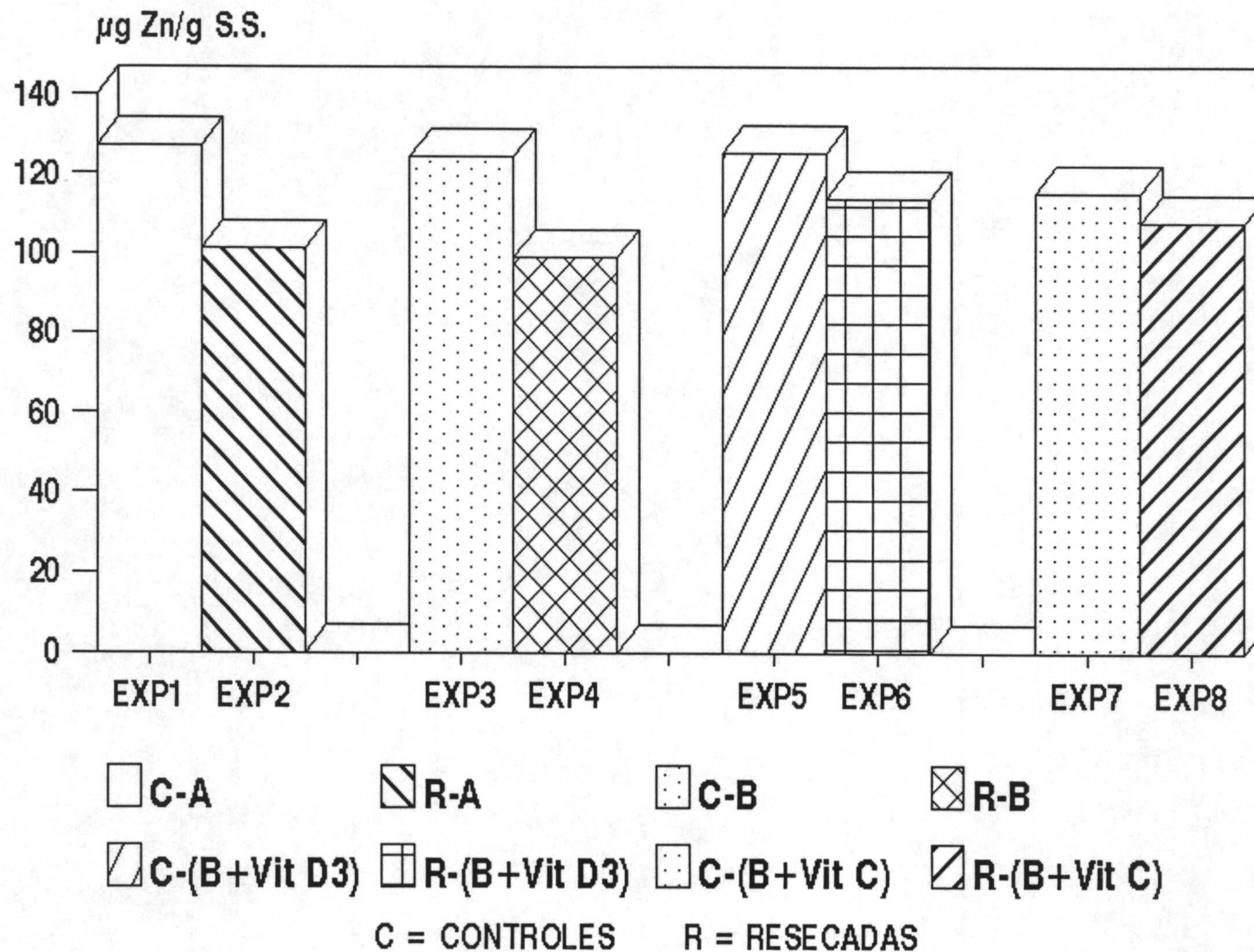


**Fig.22.- CONTENIDO DE CINC EN TESTICULOS DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



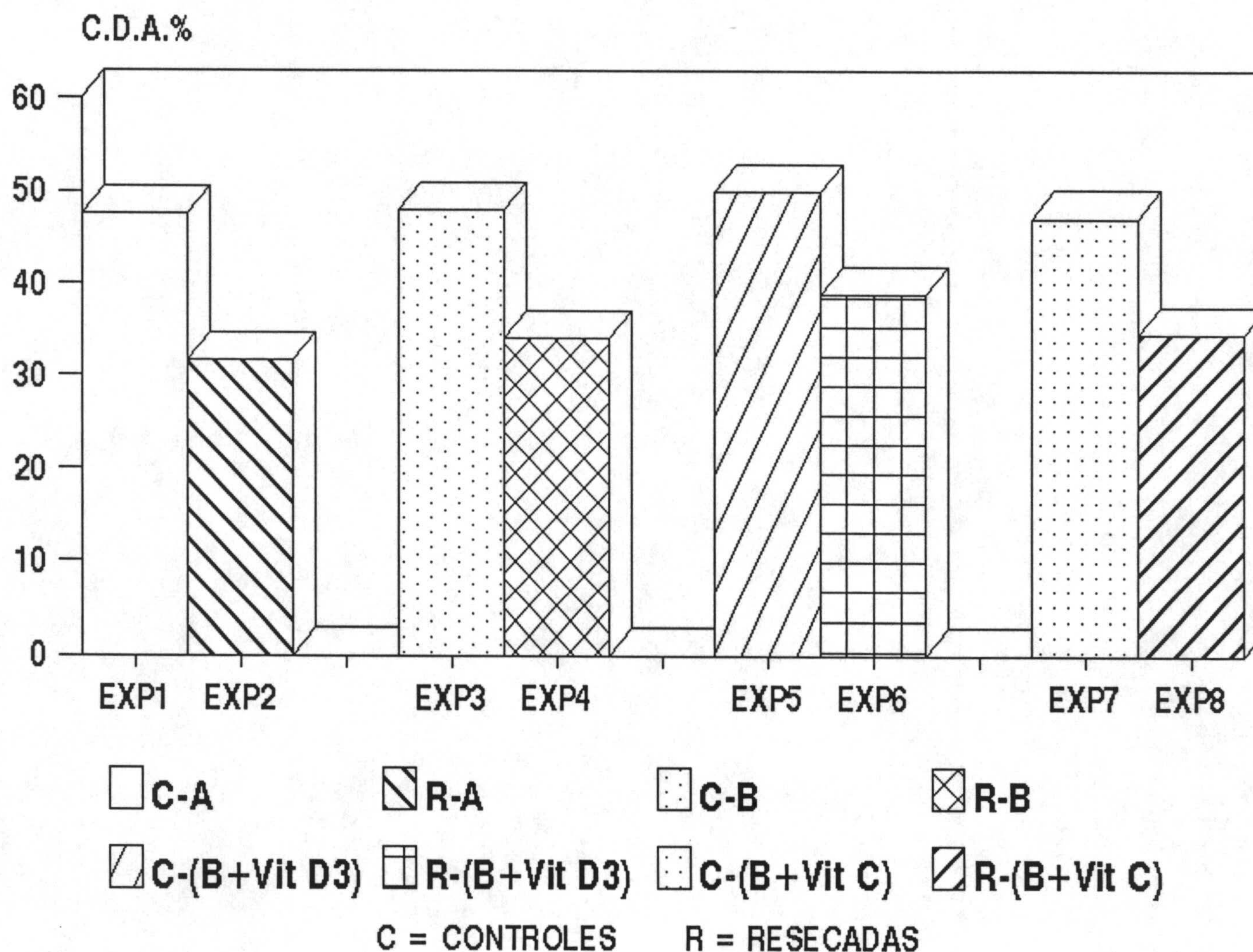


**Fig.23.- CONTENIDO DE CINC EN RIÑONES DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



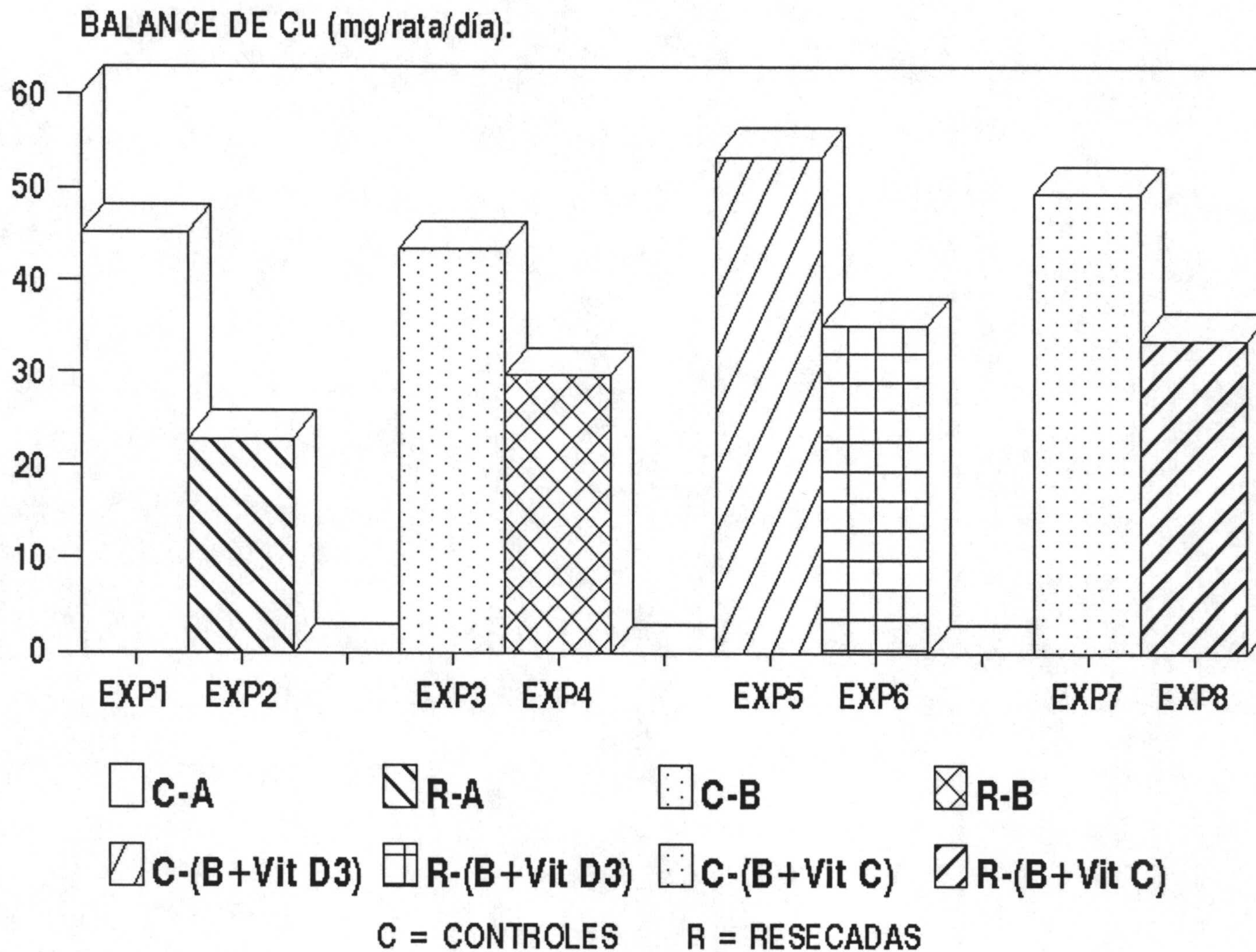


**Fig.24.- UTILIZACION DIGESTIVA DEL COBRE EN RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



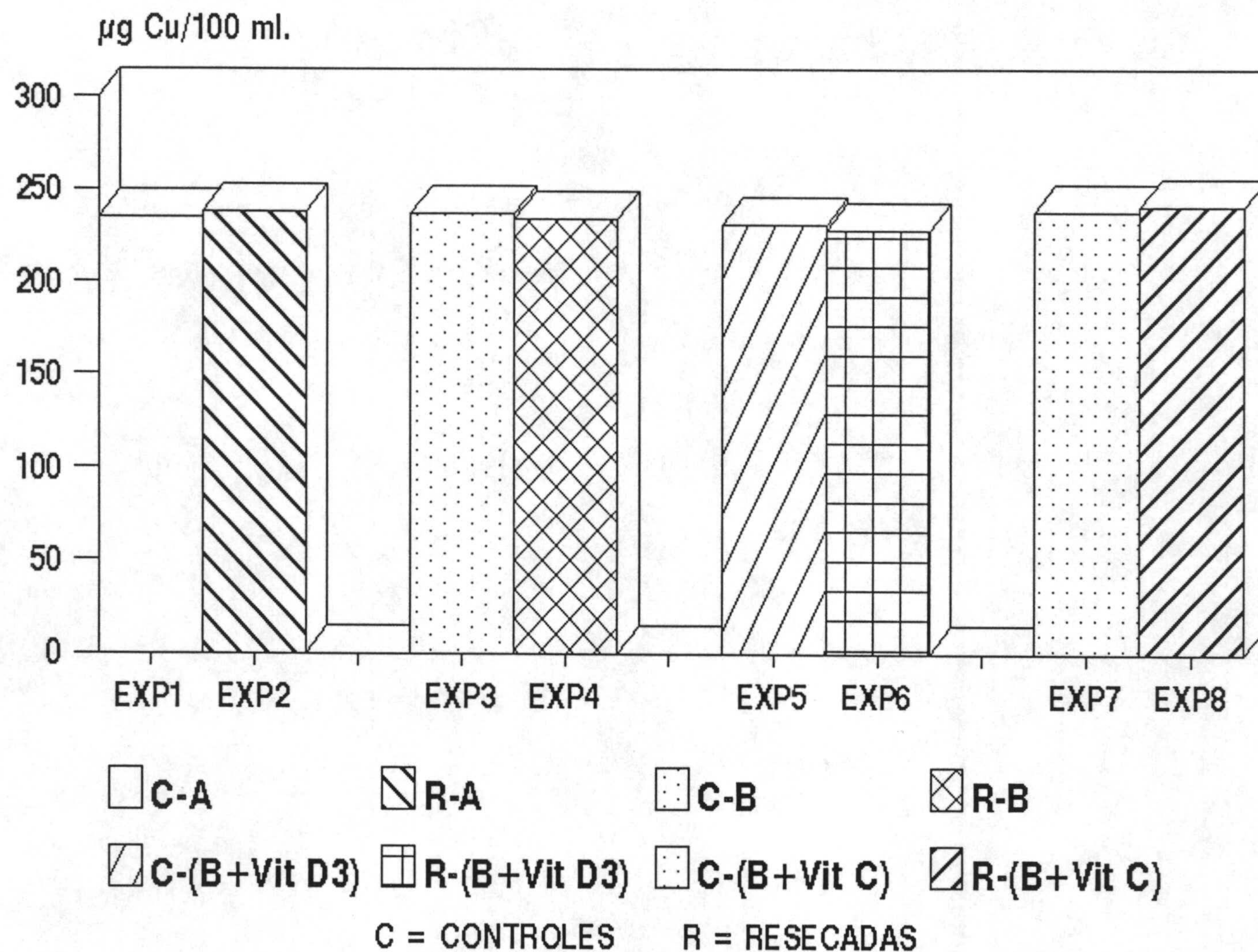


**Fig.25.- UTILIZACION NUTRITIVA DEL COBRE EN RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



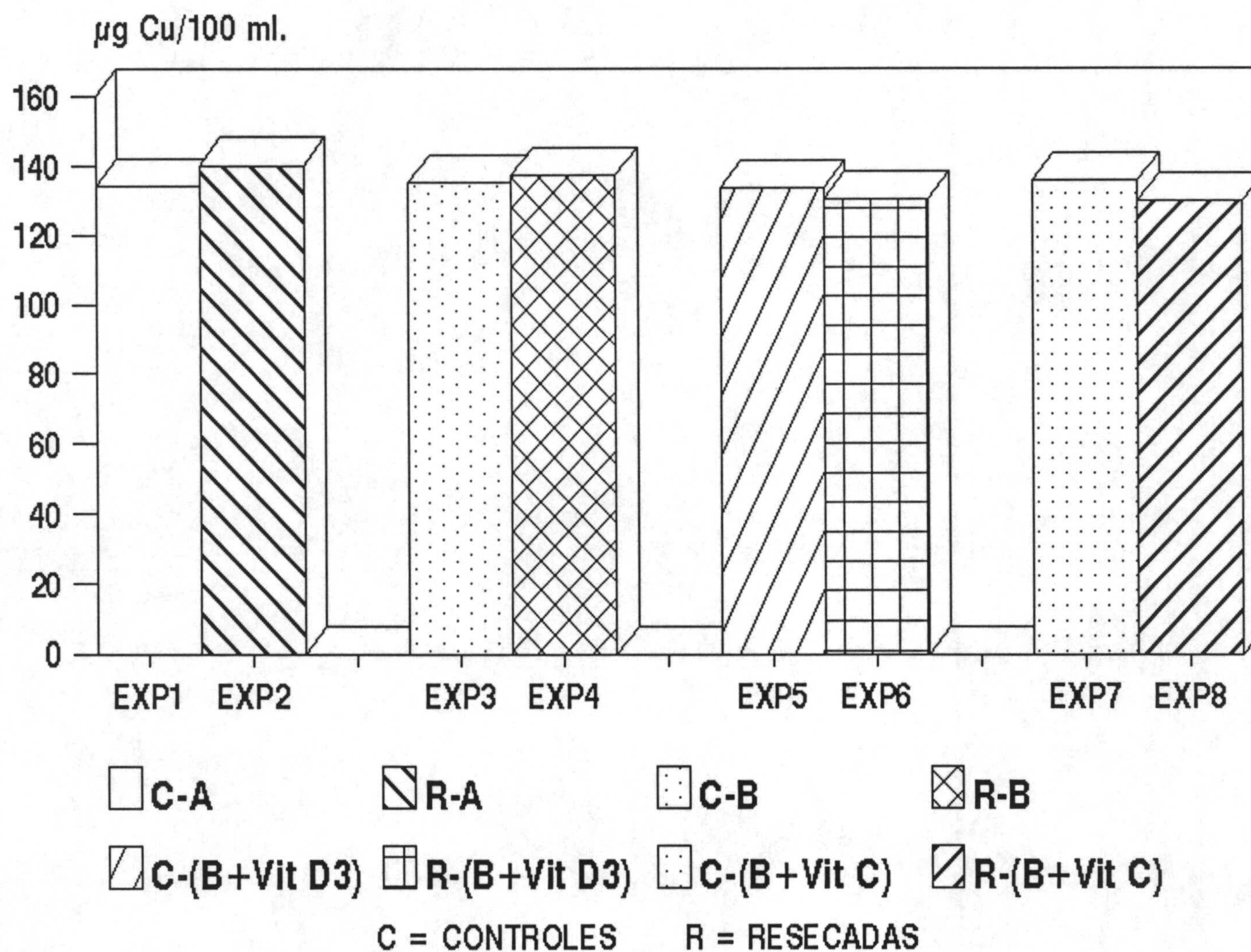


**Fig.26.- CONTENIDO DE COBRE EN SANGRE DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



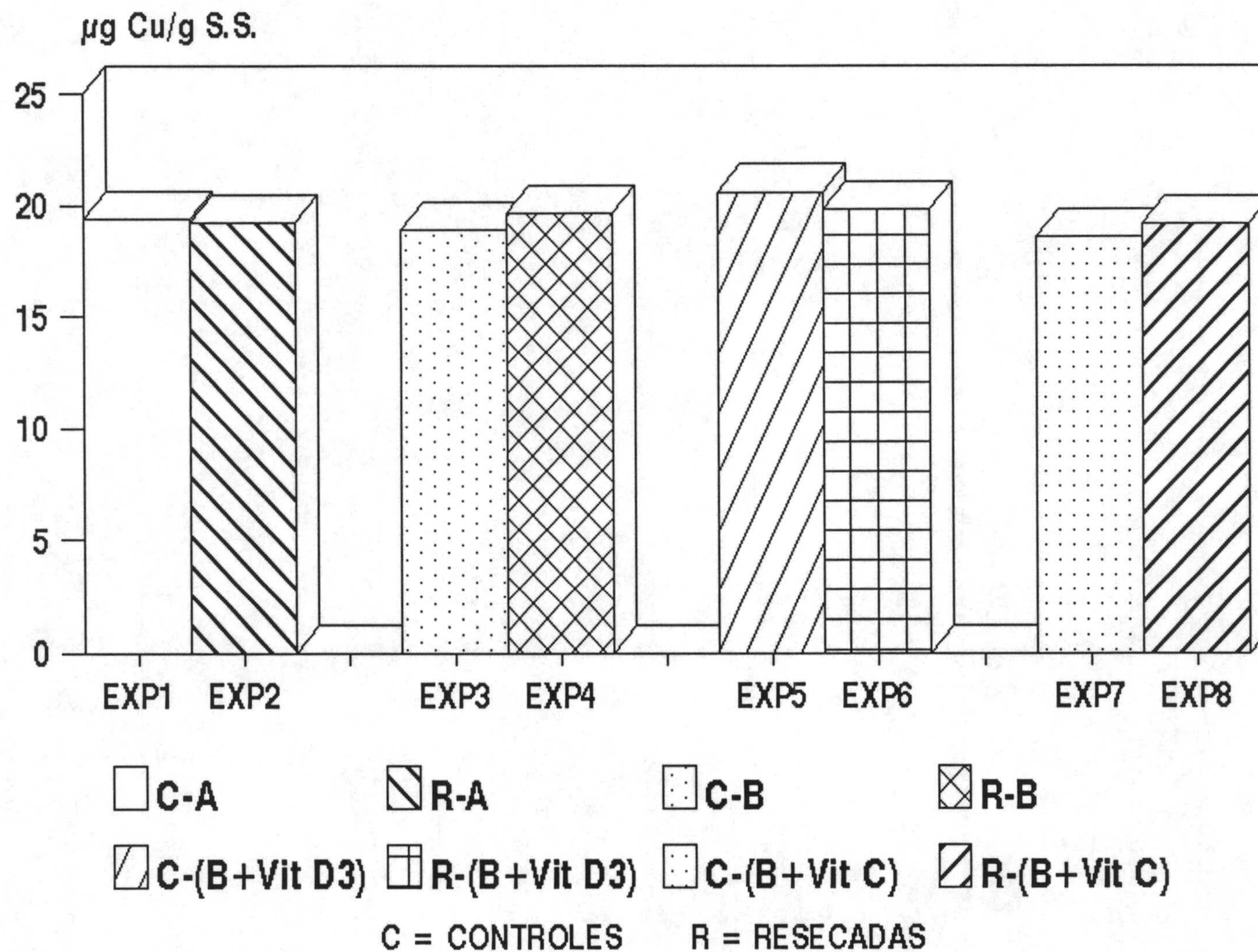


**Fig.27.- CONTENIDO DE COBRE EN PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



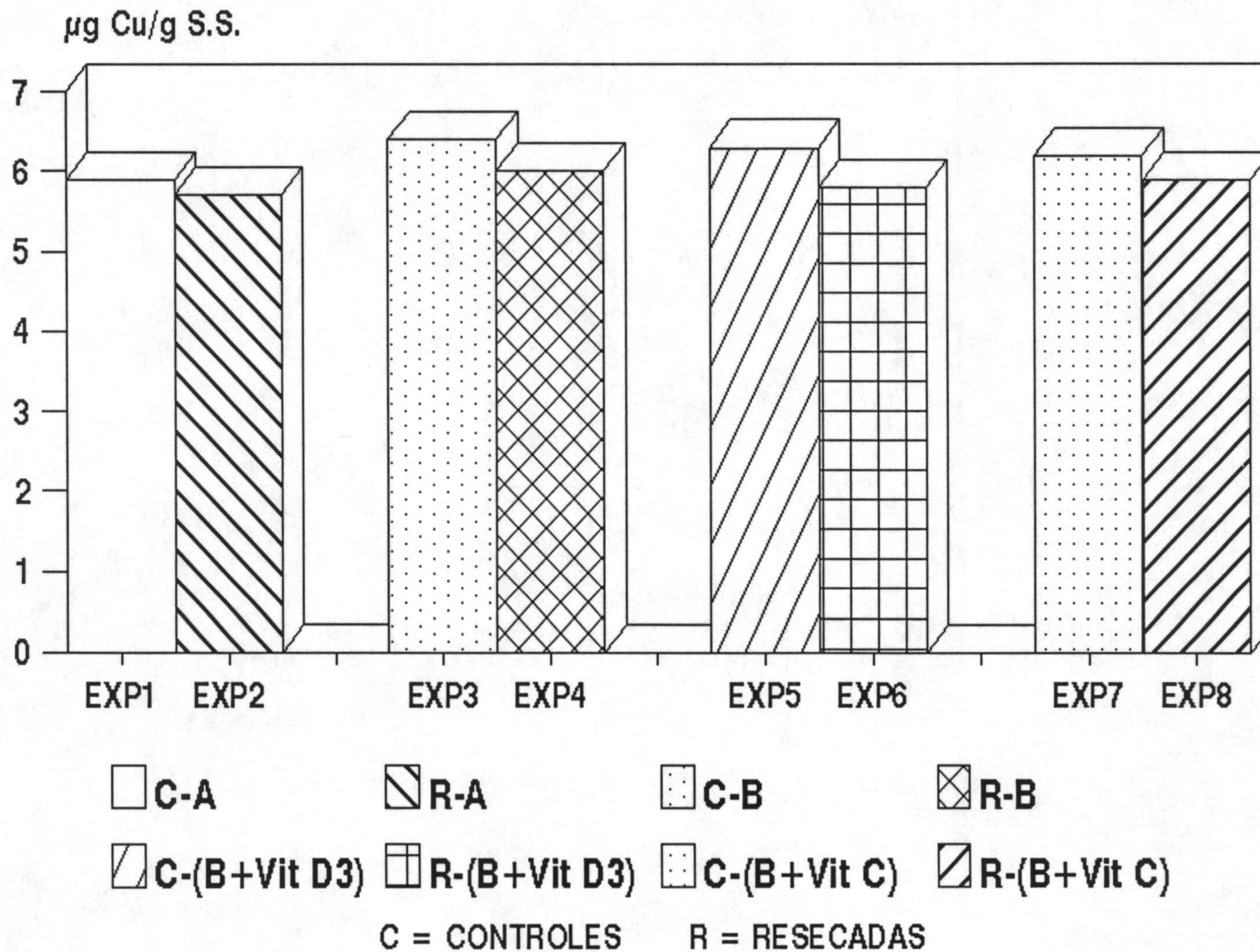


**Fig.28.- CONTENIDO DE COBRE EN HIGADO DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



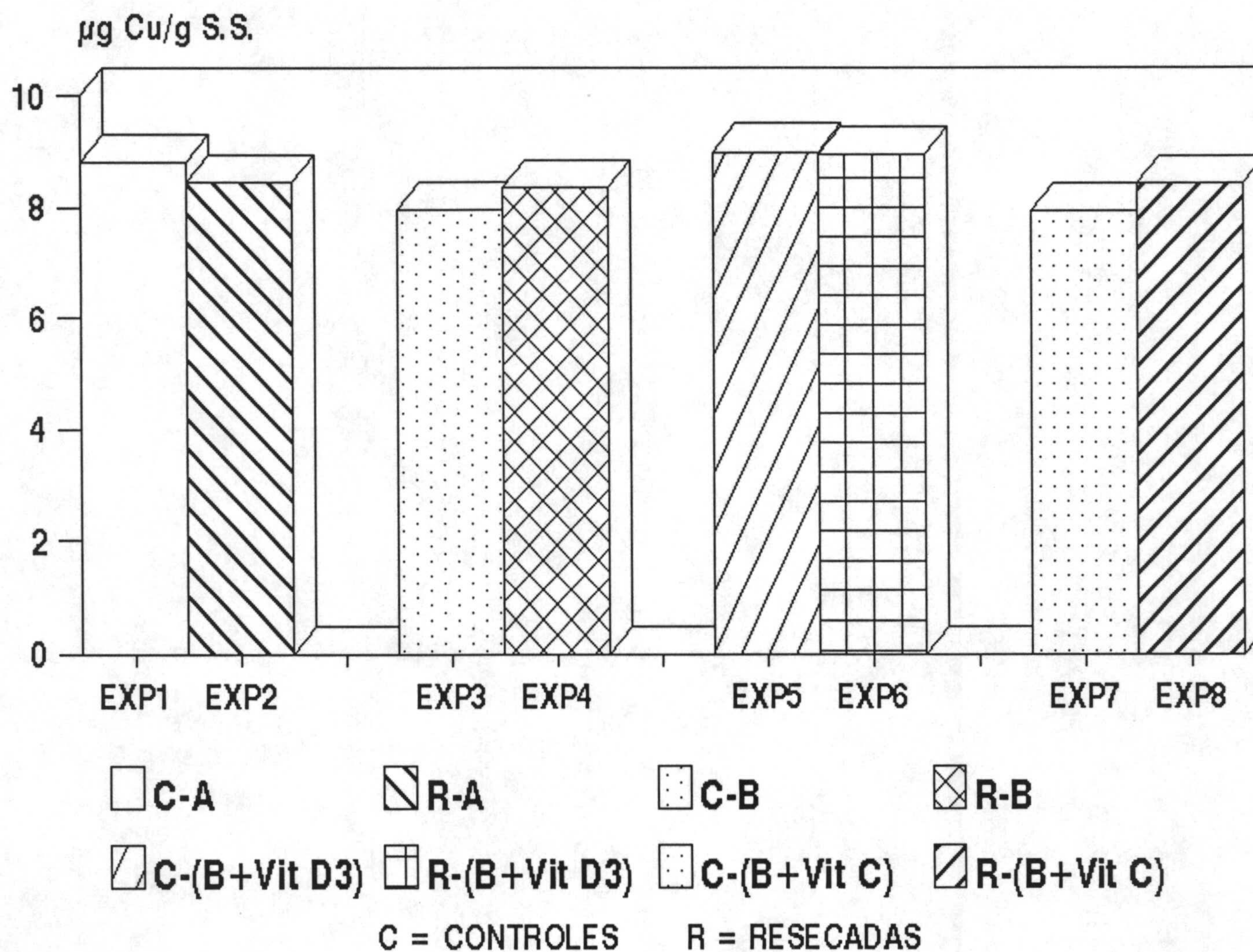


**Fig.29.- CONTENIDO DE COBRE EN FEMUR DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



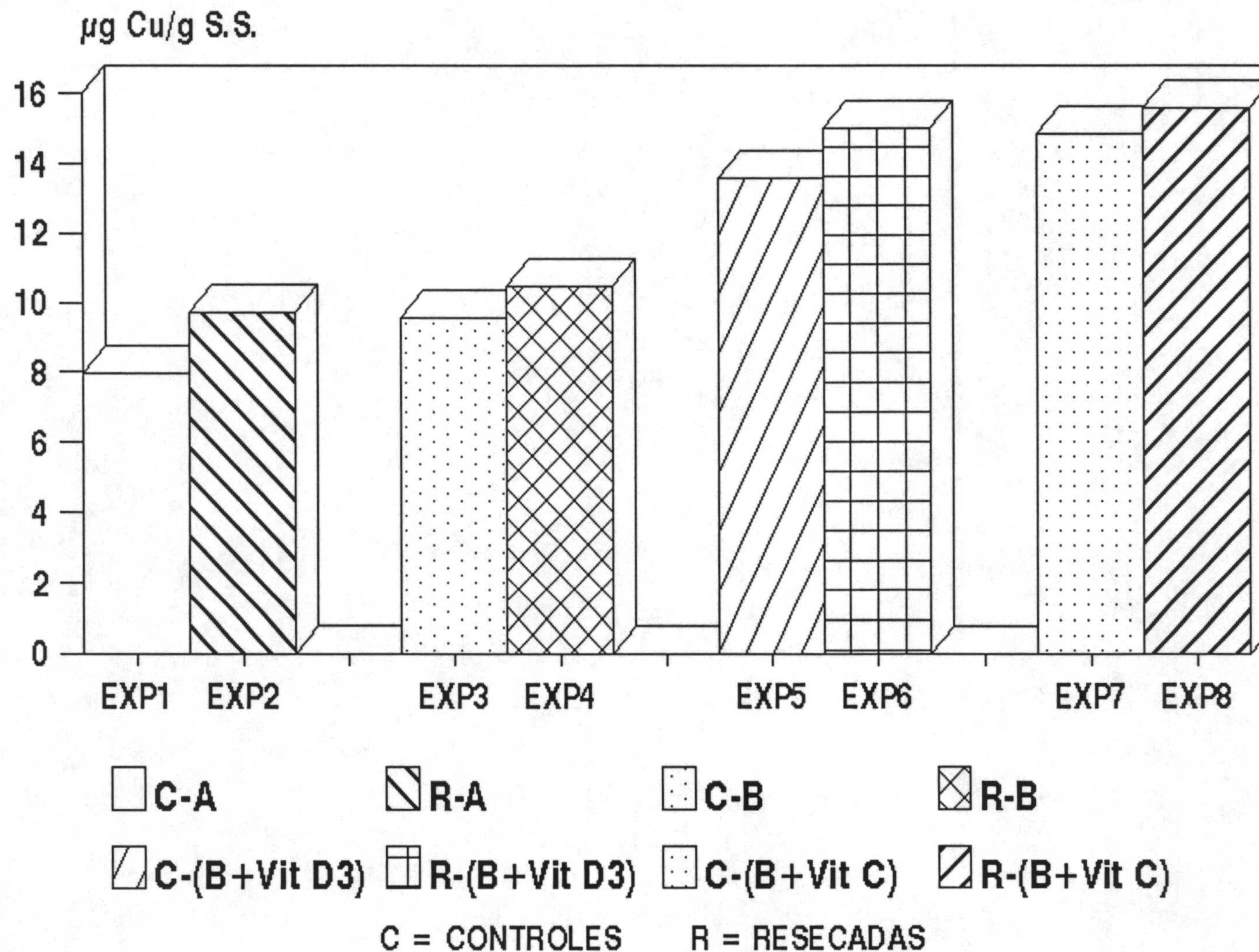


**Fig.30.- CONTENIDO DE COBRE EN ESTERNON DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



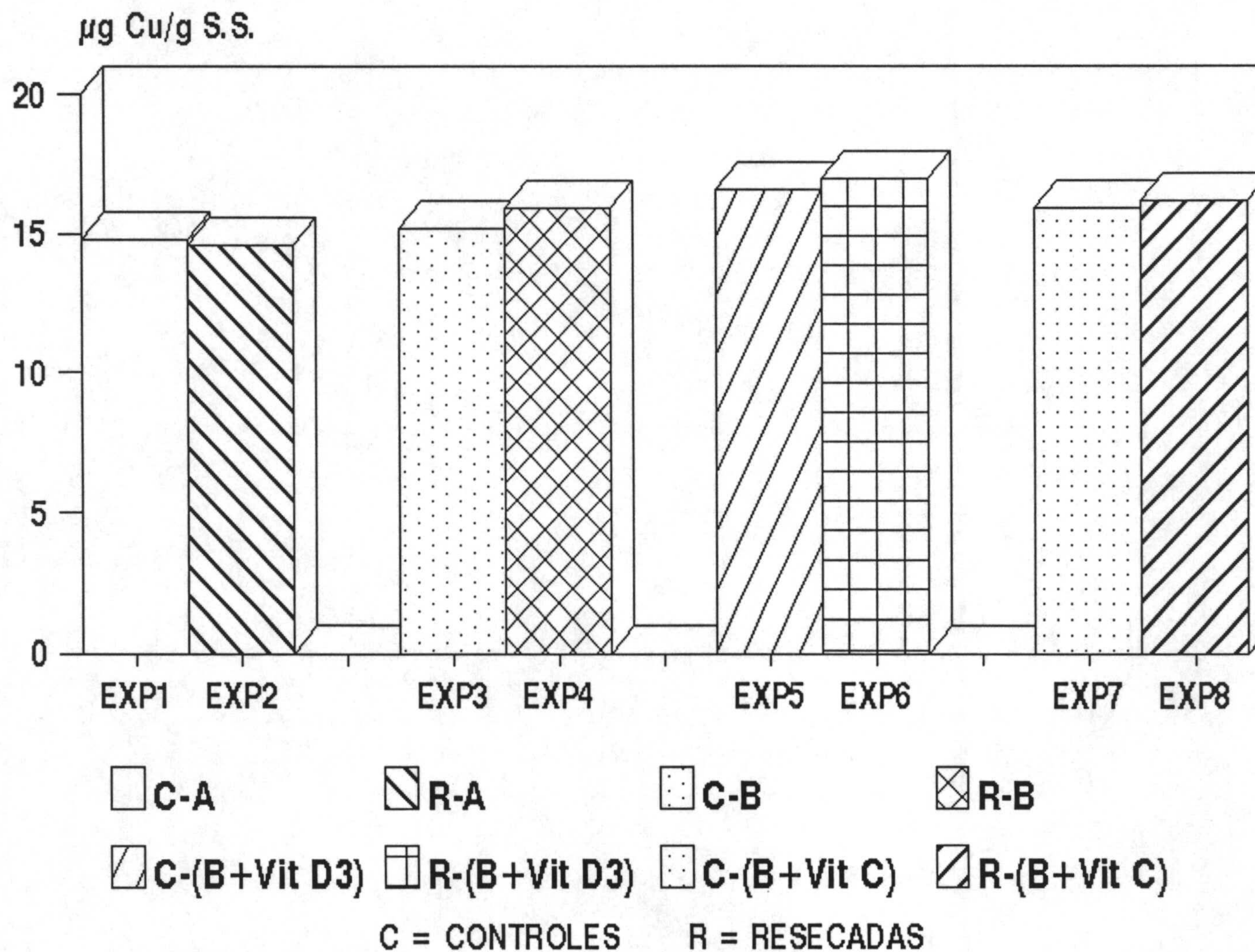


**Fig.31.- CONTENIDO DE COBRE EN MUSCULO DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**



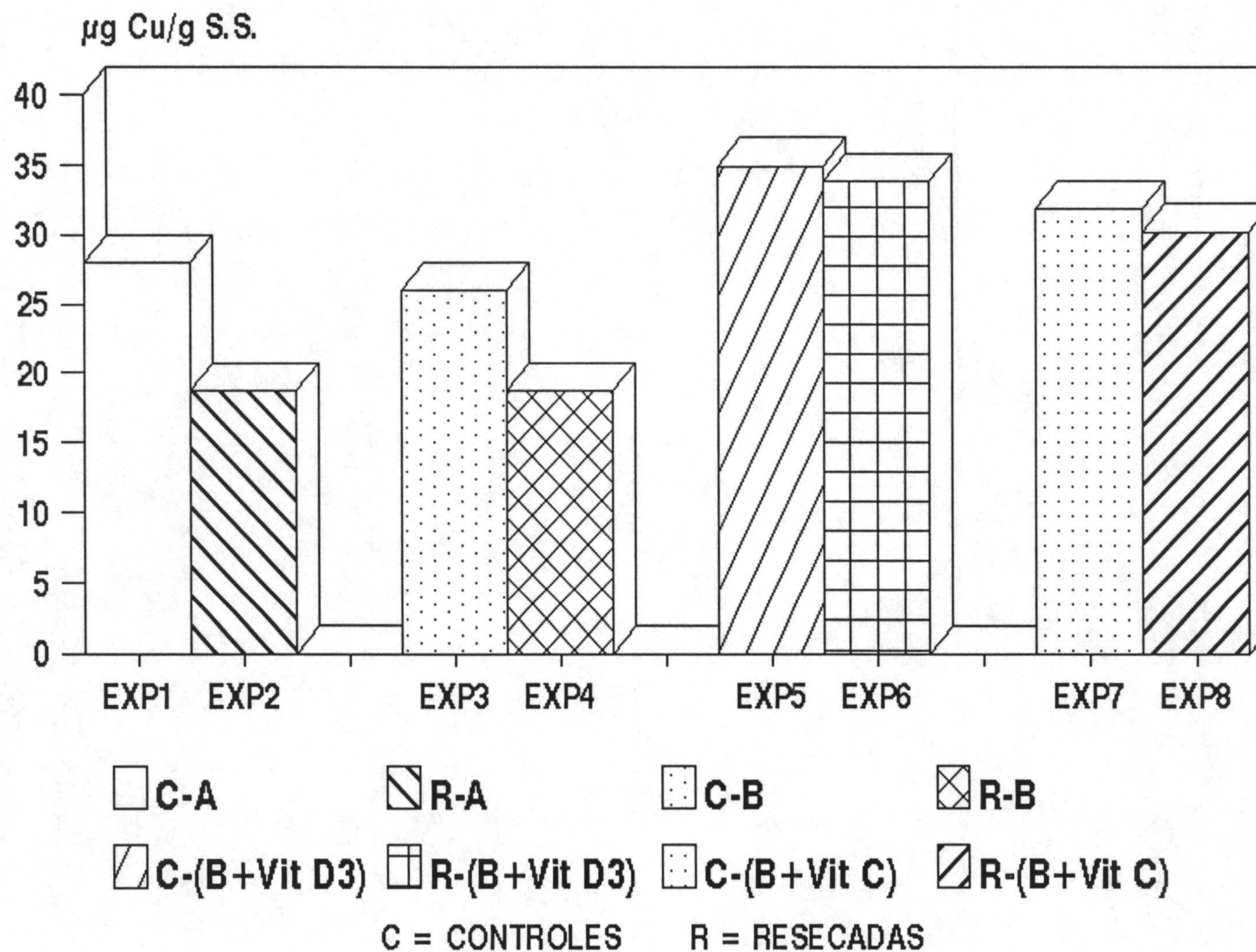


**Fig.32.- CONTENIDO DE COBRE EN TESTICULOS DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**





**Fig.33.- CONTENIDO DE COBRE EN RIÑONES DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS ENSAYADAS.**





## **5.- DISCUSION**





## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. INFLUENCIA DE LA RESECCIÓN INTESTINAL Y DEL TIPO DE DIETA SOBRE CAMBIOS PONDERALES E INGESTA.

*No existen diferencias en la ganancia de peso corporal entre ratas controles y ratas resecadas alimentadas con dieta estándar (4 % de grasa: aceite de oliva) (Tablas I y II; Fig.1); este hecho se debe a que ambos lotes de animales tienen una ingesta similar tanto cualitativa como cuantitativamente.*

*Aunque los animales pierden peso en los primeros días de haberles extirpado la mitad del intestino delgado, luego estabilizan su peso y siguen el mismo patrón que las ratas controles lo que coincide con López-Aliaga y cols. (1990) y Campos y cols. (1993).*

*En ratas alimentadas con dieta B, que tiene modificada la calidad lipídica (4 %) aportada por 1/3 de MCT, 1/3 de aceite de girasol y 1/3 de aceite de oliva, el incremento de peso es mayor en los animales resecados (Tablas III y IV; Fig. 1) a pesar de tener una ingesta del mismo orden que las ratas controles; ello se debe a que con este tipo de dieta la utilización digestiva de la grasa es mayor (Coves y cols., 1991a; 1991b), así como la de la proteína (López-Aliaga y cols., 1990; 1991); por tanto es lógico que los incrementos de peso sean mayores en ratas resecadas ( $p < 0,001$ ) alimentadas con dieta B respecto a sus controles.*

*Si la dieta B está suplementada con vitamina D<sub>3</sub> (0,04 mg/100 g de dieta), se observa que en ratas con resección intestinal el incremento de peso es menor que en sus*



respectivos controles ( $p < 0,001$ ), debido a la menor ingesta ( $p < 0,05$ ) en este grupo experimental, (Tablas V y VI; Fig. 1).

La adición de vitamina C a la dieta B (15 mg/100 g de dieta) no modifica ni el incremento de peso, ni la ingesta respecto a sus controles (Tablas VII y VIII; Fig. 1).

Parece lógico que las comparaciones en la ingesta de alimento y en la ganancia de peso, se realicen siempre frente a su grupo control, ya que se han llevado a cabo los experimentos paralelos, evitando en lo posible las variabilidades biológicas de la especie.

## **5.2. SOBRE EL ESTUDIO DE LA UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE HIERRO, CINC Y COBRE EN RATAS CON RESECCIÓN INTESTINAL.**

Se han realizado numerosos estudios acerca del efecto de las resecciones de intestino delgado sobre el aprovechamiento nutritivo de macronutrientes, tanto en animales (Brot-Laroche, 1986; Freeman, 1988; Kimberly, 1984; Thomson, 1987) como en humanos (Farkkila y cols., 1987; Johansson y cols., 1987; Woolf, 1987). Sin embargo, pocos estudios se han llevado a cabo sobre el efecto de las resecciones intestinales en la absorción de micronutrientes (Barrionuevo y cols., 1989; Campos y cols., 1989; Eastin y cols., 1980; López-Aliaga y cols., 1990) y mucho menos sobre la utilización digestiva de elementos traza.

El hierro, un micronutriente con un papel decisivo en funciones metabólicas críticas como el transporte de oxígeno y los procesos redox de la cadena respiratoria, presenta una reducción en su utilización digestiva (C.D.A.) de aproximadamente la mitad ( $p < 0,001$ ), (Tablas IX-XVI; Fig. 2), cuando a las ratas se les ha extirpado el 50 % de



*intestino delgado distal y se les ha suministrado una dieta standard cuyo aporte de hierro (citrato férrico) sigue las recomendaciones del American Institute of Nutrition (1979).*

*Los valores de absorción aparente de hierro en ratas controles alimentadas con dieta standard (18,23 %) están dentro de los márgenes descritos por la bibliografía (Mahoney y Hendricks, 1984; Pallarés y cols., en prensa).*

*A pesar de que este tipo de resección preserva el duodeno, lugar de máxima absorción de hierro (Conrad y cols., 1987; Mugitani, 1989; Muir y cols., 1985) y parte proximal del yeyuno, que después del duodeno presenta alta capacidad de absorción de este mineral, la exclusión del 50 % de intestino delgado distal (íleon y parte de yeyuno) conduce a un marcado descenso en la absorción de hierro, lo que pone de manifiesto que los segmentos extirpados contribuyen de manera cuantitativamente importante en su absorción, quizás debido a que al haber una mayor concentración de elementos minerales procedentes de la digestión en una menor superficie absorptiva, tenga lugar una mayor competitividad por los lugares de unión y consecuentemente una menor absorción. Sin embargo, la absorción de hierro en este tipo de ratas reseçadas sigue presentando unos valores aceptables de absorción que incluso coinciden con los descritos para ratas normales (Pallarés y cols., en prensa) y el aporte de hierro al organismo es suficiente para compensar las pérdidas diarias.*

*La modificación del aporte lipídico de la dieta (dieta B), sustituyendo el aceite de oliva (4 %) por 1/3 de MCT, 1/3 de aceite de girasol y 1/3 de aceite de oliva, no afecta la utilización digestiva de hierro, ni en ratas controles, ni con resección intestinal respecto a las ratas alimentadas con dieta estándar (Tablas IX-XII; Fig. 2).*

*Parece que el efecto beneficioso de la modificación lipídica de la dieta sobre el aprovechamiento digestivo de grasa (Coves y cols., 1991a y 1991b), magnesio (López-Aliaga y cols., 1990 y 1991) y fósforo (Barrionuevo y cols., 1989) no se mantiene en el caso*



*del hierro como ocurre con otros nutrientes tales como la proteína (LÓpez-Aliaga y cols., 1990 y 1991) y el calcio (Campos, y cols., 1989). No obstante, es de resaltar que la utilización digestiva de hierro con este tipo de dieta es prácticamente igual que en ratas alimentadas con dieta estándar (tanto controles, como resecadas), lo que parece indicar que la fuente y nivel de hierro en la dieta, así como la cantidad de proteína suministrada serían factores importantes para su absorción, como han descrito numerosos autores (Gordon y Godber, 1989; Layrisse y cols., 1984; Pallarés y cols., en prensa; Storey y Greger, 1987; Thannoun y cols., 1987; Zhang y cols., 1991).*

*A pesar de que en ratas con resección intestinal, alimentadas con dieta estándar ó con dieta B, que tiene modificada la calidad lipídica, la absorción aparente de hierro es menor, debido lógicamente a la menor superficie absorptiva; parece evidente, que el proceso adaptativo no ha llegado a ponerse en funcionamiento debido a la ausencia de estímulos, dado que los depósitos de hierro no están deplecionados en ratas resecadas, ya que el período de tiempo tras la intervención quirúrgica es relativamente corto en ratas adultas para ocasionar una depleción; y según Gordon y Godber (1989) para llegar a un estado de deficiencia es necesario someter las ratas a condiciones mucho más drásticas.*

*La depleción de los depósitos de hierro, reflejada por una baja sideremia, sería el factor determinante que controla la absorción de hierro, de acuerdo con la hipótesis establecida por Adams y cols. (1989); Bezcorovainy, 1989a, 1989b; Conrad, (1987); Finch, (1988); Refsum y Schreiner (1984); Zhang y cols. (1989). Así, en las condiciones experimentales estudiadas y con una absorción de hierro del 10 %, los mecanismos adaptativos tras la resección intestinal, parece que todavía no se han puesto en funcionamiento.*



Si la dieta B es suplementada con vitamina D<sub>3</sub> (0,04 g/100 g de dieta), se observa un aumento en la utilización digestiva de hierro tanto en ratas controles ( $p < 0,05$ ), (Tabla XIII; Fig. 2), como en animales con resección intestinal ( $p$  menor de 0,001), (Tabla XIV; Fig. 2), manteniéndose una menor absorción en las ratas con exclusión del 50 % de intestino delgado distal ( $p < 0,001$ ), (Tabla XIV; Fig. 2). Estos resultados ponen de manifiesto, que el efecto encontrado es debido sin duda al suplemento de vitamina D<sub>3</sub> a la dieta, lo que podría deberse a lo descrito por Campos y cols. (1989), López-Aliaga y cols. (1991), Muñoz Alférez y cols. (Tesis doctoral, 1992) que han demostrado como la vitamina D<sub>3</sub> aumenta los ligandos de unión en el intestino remanente con un aumento en la absorción activa de calcio y magnesio, dejando en el lumen intestinal una menor concentración de cationes divalentes, disminuyendo los procesos de interacción iónica entre ellos, y quedando por lo tanto el hierro en condiciones óptimas para ser absorbido por un proceso de difusión simple (Zhang y cols., 1989).

La adición de vitamina C a la dieta B, a dosis de 15 mg/100 g de dieta, conduce a un aumento en el aprovechamiento digestivo de hierro en ratas controles ( $p < 0,01$ ), (Tabla XV; Fig. 2) y con resección del 50 % de intestino delgado distal ( $p < 0,001$ ), (Tabla XVI; Fig. 2), siendo este incremento mayor en las ratas controles ( $p < 0,001$ ), (Tabla XVI; Fig. 2), dada su mayor superficie absorptiva.

El efecto de la vitamina C se debe a su doble papel sobre la absorción de este mineral, que por un lado, reduce el hierro del estado férrico al estado ferroso, y por otro previene la formación de compuestos insolubles y no absorbibles (Bothwell y cols., 1989; Hallberg y cols., 1986; Hallberg y cols., 1987; Hallberg y cols., 1989; Siegenberg y cols., 1991). Papel inequívoco y potente, que según Hallberg y cols. (1987) puede ser considerado como un factor fisiológico esencial para la absorción de hierro. Todo ello se confirma en los resultados obtenidos de absorción aparente de hierro tanto en ratas controles como resecadas.



*El papel fisiológico de cinc ha sido ampliamente demostrado como micronutriente responsable de la actividad de enzimas implicadas en numerosas vías metabólicas del organismo (Berger y Schneeman, 1988; Everett y Apgar, 1987; Schwarz y Pallauf, 1989; Valle y Galdes, 1984). Sin embargo, su estado en una situación patológica como la resección intestinal es casi desconocido. La información disponible sobre el tema es muy escasa para evaluar la respuesta del intestino remanente que compensa las repercusiones de tal situación sobre la absorción de este elemento traza.*

*En ratas alimentadas con dieta standard, la utilización digestiva de cinc es netamente superior en animales controles que en resecados ( $p < 0,001$ ), (Tabla XVII y XVIII; Fig. 14), dado que se ha excluido el íleon y parte del yeyuno y la superficie de absorción es menor. Además, el lugar exacto de la absorción de este catión no está bien definido, Según Solomons (1984) todos los segmentos de intestino delgado pueden contribuir hasta un cierto punto en el proceso de absorción del metal. De hecho, la absorción de cinc se reduce en aproximadamente un 50 %, cuando se ha extirpado la mitad del intestino delgado. Esta alteración en la absorción de cinc se ha observado también por otros investigadores al eliminar en ratas una cierta cantidad de intestino delgado distal (Antonson y Vanderhoof, 1982; Urban y Campbell 1984).*

*La absorción aparente de cinc en ratas controles (Tabla XVII, XIX, XXI y XXIII; Fig. 14) está dentro de los márgenes establecidos por la bibliografía (Fairweather-Tait y Southon, 1989; Greger y Lyle, 1988, Van Campen y House, 1974).*

*Las ratas con resección intestinal, tienen una utilización digestiva de cinc (14 % de C.D.A.), aparentemente baja; (Tablas XVIII, XX, XXII y XXIV; Fig. 14) no obstante, como los requerimientos de cinc en la rata son del orden de 12 mg/Kg de dieta, dada la ingesta media de estos animales, a pesar de la exclusión de la mitad del intestino delgado, se encuentran en el límite de sus necesidades, sin llegar a presentar estados carenciales.*



*La modificación de la calidad lipídica de la dieta (dieta B), conduce a un menor aprovechamiento digestivo de cinc en ratas controles ( $p < 0,001$ ), (tabla XIX; Fig. 14) y con resección intestinal ( $p < 0,05$ ), (Tabla XX; Fig. 14), siendo mayor el descenso en ratas resecadas ( $p < 0,001$ ), cuando se comparen con sus respectivos controles (Tablas XVII, XVIII, Fig. 14). Sin embargo, aunque la absorción aparente de cinc en ratas resecadas es aún menor que con dieta standard (13,21 % de C.D.A.), esta reducción se llega a compensar con una mayor ingesta, por lo que de nuevo las ratas cubren el límite de sus necesidades. Esta menor utilización digestiva de cinc, cuando se modifica la calidad lipídica de la dieta (dieta B), contrasta con el efecto beneficioso que esta misma dieta produce en la absorción de magnesio, encontrada por López-Aliaga y cols. (1991), en análogas condiciones experimentales, sin modificar a minerales tales como el calcio (Campos y cols., 1989) ni el fósforo (Barrionuevo y cols., 1989) ni los otros dos minerales objeto del presente estudio. Estos resultados apuntan una cierta interacción a nivel digestivo entre cinc y magnesio, de hecho Planells y cols (en prensa), encuentran que un estado de deficiencia de magnesio aumenta la absorción de cinc. Se ha descrito una interacción entre el cinc y magnesio a nivel del hueso (Forbes y cols., 1984). La existencia de estas interacciones a distintos niveles del metabolismo de dichos minerales, sugiere, probablemente, que una mejor absorción de magnesio limitaría, en cierto modo, la absorción de cinc.*

*La suplementación de la dieta B con vitamina D<sub>3</sub> (0,04 mg/100 g de dieta) favorece la absorción aparente de cinc, tanto en ratas controles ( $p < 0,001$ ), (Tabla XXI; Fig. 14) como resecadas ( $p < 0,001$ ), (Tabla XXII; Fig. 14); siendo evidentemente menor en ratas con exclusión del 50 % de intestino delgado distal ( $p < 0,001$ ), (Tablas XXI y XXII; Fig. 14).*

*Se sabe que el proceso de absorción de cinc a nivel intestinal implica dos mecanismos de transporte, uno saturable y otro pasivo que no requiere transportador. Hempe y Cousins (1992) describen la presencia de una proteína específica de unión al cinc (CRIP: proteína intestinal rica en cisteína), responsable del componente activo de absorción del*



mineral. La similitud en los procesos de absorción intestinal de cinc y calcio, y el efecto neto de la vitamina  $D_3$  sobre los niveles de la proteína transportadora de calcio, indican que sería a nivel de la proteína transportadora de cinc donde actúa la vitamina  $D_3$ , favoreciendo la utilización digestiva de este mineral, tanto en animales controles, como resecados. Esta hipótesis se ve reforzada cuando en la dieta B se sustituye la vitamina  $D_3$ , por la vitamina C, que no modifica la absorción aparente de cinc, ni en ratas controles ni en resecadas (Tablas XIX, XX; Fig. 14), respecto a la dieta B (Tablas XXIII y XXIV; Fig. 14) Ya que la vitamina C aumenta el transporte pasivo de hierro, comentado anteriormente, en el caso del cinc, este mecanismo se vería también aumentado. Esto ratifica que el efecto de la vitamina  $D_3$  sobre la absorción intestinal de cinc tiene lugar a través de un proceso de transporte activo, aumentando los niveles de proteína transportadora.

El cobre es uno de los elementos traza más tóxicos del organismo, cuando excede sus requerimientos. Así, el transporte, almacenamiento y el metabolismo de cobre, 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 efectos tóxicos del exceso del metal (Harris, 1991). Su balance es mantenido homeostáticamente por una fina regulación, preferentemente a nivel digestivo (Johnson, 1990).

La administración de una dieta estándar en ratas con resección del 50 % de intestino delgado distal, da lugar a una eficacia de absorción intestinal de 31,91 % (C.D.A.), (Tabla XVI; Fig. 24), significativamente menor que en ratas controles, alimentadas con el mismo tipo de dieta ( $p < 0,001$ ), (Tabla XV; Fig. 24), consecuencia de la menor superficie absorptiva; lo que coincide con otros trabajos que han revelado una alteración de la absorción intestinal de cobre en ratas a las cuales se les ha extirpado un segmento del intestino delgado (Urban y Campbell, 1984). Sin embargo, la reducción es del 33 %, sin llegar a las marcadas disminuciones encontradas en el caso del hierro y cinc (reducción que llega a ser del 50 %).



*Este efecto menos marcado de la resección intestinal sobre la utilización digestiva de cobre, puede explicarse, por una parte porque el lugar de máxima y rápida absorción de este metal es el estómago y el duodeno proximal (Cousins, 1985; Solomons, 1988; Danks, 1988; Harris, 1991), mientras que en el tipo de resección practicada se ha excluido el intestino delgado distal; y por otra, porque según lo apuntado anteriormente, el metabolismo del cobre está sometido a una precisa regulación (Johnson, 1990), por lo que al ser el aporte dietético de cobre muy próximo a sus requerimientos, la absorción debe estar muy ajustada para no caer en situación de deficiencia, ni de exceso. De manera que a pesar de que la resección ha reducido el aprovechamiento digestivo de cobre (en un 33 %), la absorción es adecuada para cubrir las necesidades de este micronutriente.*

*Al modificar la calidad lipídica de la dieta (dieta B) o bien suplementándola con vitaminas D<sub>3</sub> ó C, en ratas controles no se encuentran diferencias significativas (Tablas XVII, XIX, XXXI; Fig 24) por lo que de acuerdo con Johnson (1990) la precisa regulación de la absorción de cobre no se ve modificada, ni por la fuente lipídica de la dieta, ni por la suplementación de estas vitaminas. Sin embargo, la modificación de la calidad lipídica de la dieta, sí afecta positivamente la absorción aparente de cobre en ratas reseçadas (Tabla XVIII; Fig. 24), así, la diferencia entre ratas controles y reseçadas es de un 29 %, en lugar del 33 % que se observaba con la dieta estándar (Tablas XVII y XVIII; Fig. 24), es decir, con sólo modificar la calidad lipídica de la dieta, las ratas con resección intestinal mejoran su absorción digestiva en un 4 %. Este efecto, puede ser debido a la modificación de la función biliar por el contenido en MCT de la dieta (Lisbona y cols., 1991), ya que según Johnson (1990), la homeostasis del cobre está claramente regulada por la excreción biliar.*

*La suplementación de la dieta B con vitamina D<sub>3</sub> conduce en ratas reseçadas respecto a sus controles a un mejor aprovechamiento digestivo de cobre, ya que con esta vitamina, la diferencia se reduce al 22 % ( Tablas XIX y XXX; Fig. 24) (frente al 29,3 % con dieta B (Tablas XVII y XVIII; Fig. 24)), lo que representa un aumento en la absorción*



*digestiva de un 7 %, aumento pequeño que coincide con la menor contribución del proceso activo, a través de proteína transportadora como indica Solomons (1984).*

*El efecto de la vitamina D<sub>3</sub> sobre la utilización digestiva de cobre parece ser paralelo al efecto de la misma sobre la absorción de calcio (Campos y cols., 1989), magnesio (López-Aliaga y cols., 1991) y cinc (Hempe y Cousins, 1992), mediado por el aumento en el contenido de proteínas transportadoras.*

*La adición de vitamina C (15 mg/100 g de dieta) a la dieta B, no modifica la utilización digestiva de cobre en ratas resecadas (Tabla XXXII; Fig. 24).*

*El papel reductor de la vitamina C, no afecta el aprovechamiento digestivo de cobre a las dosis empleadas, dosis que no se pueden considerar altas, ya que según Van Der Berg y cols. (1990), el suplemento excesivo de esta vitamina produce un descenso en la eficacia de su absorción. Por otra parte, la mayor digestibilidad de hierro encontrada al adicionar vitamina C a la dieta B, no produce interacción en la absorción de cobre, ya que Johnson y Murphy (1988a) describen interferencias en la absorción de cobre cuando la dieta se suplementa con altas dosis de hierro y vitamina C.*

*A nivel metabólico, para los tres minerales estudiados, con las cuatro dietas ensayadas y tanto en ratas controles, como con resección intestinal (50 % de intestino delgado distal), dado que la excreción renal de hierro (Tablas IX-XVI; Fig. 3), cinc (Tablas XVII-XXIV; Fig. 15) y cobre (Tablas XV-XXXII; Fig. 25) es constante y difícilmente afectada como indica Tyralla (1982), los resultados obtenidos en su retención, son un fiel reflejo de sus procesos de absorción intestinal.*

*El efecto neto de la resección intestinal en los cuatro grupos de experimentos ensayados, pone de manifiesto una menor retención de los tres minerales (Tablas X, XII,*



XIV, XVI, XVIII, XX, XXII, XXIV, XVI, XVIII, XXX y XXXII; Fig. 3, 15, 25) consecuencia de su menor aprovechamiento digestivo. Los cambios de absorción, cuando se modifica la calidad lipídica de la dieta (dieta B) y se suplementa con vitaminas D<sub>3</sub> y C conducen a cambios paralelos en la posterior retención de los tres minerales estudiados.

### **5.3. SOBRE EL ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN METABÓLICA DE HIERRO, CINCO Y COBRE EN RATAS CON RESECCIÓN INTESTINAL**

*El conocimiento de la utilización nutritiva de los tres minerales estudiados, no sería suficiente si no se complementara con una estimación paralela del destino metabólico de dichos minerales en el organismo.*

*No existe en la bibliografía concordancia en cuanto a que órganos, para cada uno de estos tres minerales, constituiría el más idóneo para evaluar su destino metabólico, ya que tanto el hierro, el cinc, como el cobre intervienen, aunque en distinta proporción, en una gran cantidad de procesos metabólicos de importancia vital en el fisiologismo animal. Además, si poco se conoce sobre su utilización digestiva en animales con resección intestinal, aún el conocimiento es más escaso sobre su destino metabólico y si la reducción de su aprovechamiento digestivo, repercute en alteraciones metabólicas en los distintos órganos, en caso de llegar a estados carenciales.*

*El hierro a diferencia del cobre y cinc, es un mineral que se encuentra almacenado en el organismo (Adams y cols., 1989; Aziz y Munro, 1987; Baker, 1985; Bezkorovainy, 1989a; 1989b; Hentze y cols., 1987; Joshi y cols., 1988; Kuhn, 1991; Sibille y cols., 1988).*



*La concentración de hierro en hemoglobina y plasma constituye uno de los índices más usados para evaluar el estado de hierro en el organismo (Freire, 1989; Beutler 1987). Por otra parte, para evaluar su contenido en el organismo animal, muchos autores han determinado las concentraciones de hierro en hígado, esternón, fémur y riñón (Fairweather-Tait y Southon, 1989; Greger y Lyle, 1988; Greger y cols., 1987; Jansuittivechakul y cols., 1986; Pallarés y cols., 1993; Schümann y cols., 1989; Shah y Belonje, 1991; Storey y Greger, 1987; Zhang y cols., 1991; Van Campen y House, 1974). Sin embargo, es escasa la información sobre el contenido de hierro en músculo y testículos.*

*En ratas controles alimentadas con dieta estándar, los niveles de hierro obtenidos en sangre, plasma, hígado, esternón, fémur, músculo longísimus dorsi y testículos, están dentro de los márgenes descritos en la bibliografía ( Fairweather-Tait y Southon, 1989; Pallarés y cols., 1993; Shah y Belonje, 1991; Schümann y cols., 1989; Storey y Greger, 1987; Zhang y cols., 1991; Van Campen y House, 1974), (Tablas,XXXIII, XLI, L, LVIII, LXVI, LXXIV, LXXXII; Fig. 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12).*

*La resección del 50 % de intestino delgado distal, a pesar de disminuir la absorción de hierro en proporciones de hasta un 50 % en ratas adultas con dieta estándar, el contenido de hierro total en sangre no se modifica (Tabla XXXIV; Fig. 5) ni la hemoglobina, número de hematies, hematocrito, ni hemoglobina corpuscular media (Tabla XLIX; Fig. 7), todo ello pone de manifiesto que el compartimiento esencial de reservorio de hierro del organismo no se afecta por la exclusión de la mitad del intestino delgado, por lo que se puede postular que:*

*1 - aunque esté reducida la absorción de hierro en estas condiciones experimentales, el aporte de hierro al organismo haya sido suficiente.*



2 - haya habido una movilización de los depósitos corporales, ya que según la RDA (1991) el contenido de hierro de este compartimento esencial sería el último que se afectaría por la depleción del metal.

Si el hierro sanguíneo se desglosa en sus dos componentes: hierro plasmático e hierro hemoglobínico, se observa que el contenido de hierro en plasma, vehículo principal de hierro a todo el organismo a través de la transferrina, no cambia; señal que informa al enterocito sobre el estado de hierro en el organismo y regula su absorción (Refsum y Schreiner, 1984). Luego, en ratas con resección intestinal alimentadas con dieta estándar, la absorción de hierro está reducida, consecuencia de la menor superficie absorptiva (menor número de enterocitos), pero evidentemente, no está afectada la tasa de absorción de los enterocitos de la mucosa del intestino remanente.

En cuanto al hierro contenido en la hemoglobina no varía, lo que pone de manifiesto que el proceso eritropoyético funciona a un rendimiento óptimo. Además, Refsum y Schreiner (1984) atribuyen a los macrófagos un papel decisivo en la absorción de hierro; el hecho de que ni el número de los leucocitos ni la fórmula leucocitaria presentan variaciones significativas en ratas resecadas respecto a los controles, (Tabla XLIX; Fig. 7) confirma que el sistema mononuclear fagocítico no está afectado por la resección intestinal, a pesar de estar disminuida la absorción de hierro. No obstante, esta interpretación habría de ser confirmada con un estudio de macrófagos a nivel intestinal.

A nivel hepático, que existe una elevada proporción del sistema mononuclear fagocítico, células Kupffer (Sibille y cols., 1988), y constituye el órgano de mayor depósito de hierro en el organismo (Adams y cols., 1989; Baker, 1985; Bezcorovainy, 1989a; Sibille y cols., 1988), los niveles de hierro hepático no se afectan por la exclusión del 50 % de intestino delgado distal en ratas alimentadas con la dieta estándar y están dentro de los



valores encontrados en la bibliografía (Shah y Belonje, 1991; Schümann y cols., 1989; Storey y Greger, 1987; Van Campen y House, 1974; Zhang y cols., 1991).

*Estos resultados ponen de manifiesto que los depósitos mayoritarios (sangre, plasma e hígado) no están deplecionados, como consecuencia de la resección intestinal, a pesar del descenso en su absorción lo que puede ser debido a que al haber menor proporción de enterocitos en la superficie absorptiva remanente, la descamación de los mismos sería menor, que es la vía predominante de pérdida de hierro del organismo (Bothwell y cols., 1989).*

*Dadas las explicaciones anteriormente emitidas, es lógico que el pool de hierro en ratas con resección intestinal se mantenga dentro de los márgenes normales. Además, puede ser que bajo estas condiciones experimentales (resección intestinal), la movilización de hierro circulante esté aumentada.*

*En este sentido, los trabajos de Adams y cols. (1989) destacan que los depósitos de hierro en hepatocitos son el mayor factor determinante que regula la absorción de hierro. Al estar los depósitos hepáticos de las ratas con resección intestinal (Tablas LI, LIII, LV y LVII; Fig. 8) iguales a los de las ratas controles (Tablas L, LII, LIV y LVI; Fig. 8), no se forzarían los mecanismos de absorción de hierro en los enterocitos del intestino remanente.*

*A nivel óseo, los dos tipos de hueso ensayados uno largo, el fémur, y otro plano, el esternón, se observa que en el fémur, dada la edad de las ratas ensayadas (mayores de diez semanas de edad), dicho órgano no tiene función eritropoyética y los niveles de hierro no cambian por efecto de la resección (Tablas LIX, LXI, LXIII y LXV; Fig. 9) y además están dentro de los valores encontrados en la bibliografía (Pallarés y cols., 1993; Shah y Belonje, 1991).*



*En cambio, en el esternón donde se mantiene la eritropoyésis, se observa un descenso ( $p < 0.05$ ) en los niveles de hierro en reseçadas (Tablas LXVII, LXIX, LXXI y LXXIII; Fig. 10) respecto a las ratas controles (LXVI, LXVIII, LXX y LXXII; Fig. 10) alimentadas con dieta estándar, lo que coincide con lo anteriormente comentado de una mayor movilización del hierro circulante, que se ve reflejado en órganos netamente eritropoyéticos como el esternón, con el fin de mantener su homeostasis.*

*Otro órgano importante en el almacenamiento de hierro, es el músculo, donde se encuentra en forma de mioglobina en proporciones de aproximadamente del 5 % (Beutler, 1987). En nuestras condiciones experimentales, ratas alimentadas con dieta standard, los niveles de hierro, en un músculo tan representativo como es el longísimus dorsi, no se afectan por la resección intestinal, por lo que se mantiene el fisiologismo y rendimiento muscular (Tablas LXXV, LXXVII, LXXIX y LXXXI; Fig.11).*

*Un órgano que podría afectarse en el caso de que la resección provocase deficiencia de hierro serían los testículos, ya que por su elevada capacidad proliferativa requieren aportes adecuados del mineral. Sin embargo, la resección no modifica significativamente su contenido de hierro (Tablas LXXXIII, LXXXV, LXXXVII y LXXXIX; Fig. 12).*

*En cambio, sí se acusa un descenso significativo ( $p < 0,02$ ) en el contenido de hierro en riñones de ratas reseçadas (Tablas XCI, XCIII, XCV y XCVII; Fig. 13), probablemente debido a interacciones con otros minerales, cuyo contenido en orina se afecta por la resección intestinal, como es el caso del calcio (Campos y cols., 1989) y del fósforo (Barrionuevo y cols., 1989).*



*Cuando se modifica la calidad lipídica de la dieta (dieta B), el contenido de hierro en sangre, plasma, hígado, fémur, esternón, músculo longísimus dorsi, testículos y riñones es prácticamente del mismo orden en ratas controles (Tablas XXXV, XLIII, LII, LX, LXVIII, LXXVI, LXXXIV y XCII; Fig. 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12 y 13) y resecadas (Tablas XXXVI, XLIV, LIII, LXI, LXIX, LXXVII, LXXXV y XCIII; Fig. 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12 y 13), comparándolas con sus respectivas ratas controles y resecadas alimentadas con la dieta standard. Estos resultados nos inducen a pensar que los cambios experimentales en la calidad lipídica de la dieta no afectan la distribución, ni metabolismo del hierro; coincidiendo con lo obtenido a nivel digestivo y metabólico. Por tanto, las explicaciones emitidas anteriormente para la dieta estándar son válidas para la dieta B.*

*El suplemento de vitamina D<sub>3</sub> (0,04 mg/100 g de dieta) a la dieta B, sólo afecta el contenido de hierro en los dos órganos donde el calcio tiene funciones de gran relevancia y donde el papel de esta vitamina se detecta de forma más notoria. De hecho, las interacciones entre calcio e hierro se observan claramente; así, los resultados obtenidos por Campos y cols. (1989), Barrionuevo y cols. (1989), López-Aliaga y cols. (1991), demuestran como la suplementación de vitamina D<sub>3</sub> a la dieta de ratas resecadas aumenta los depósitos de calcio, fósforo y magnesio en fémur, que explicarían que las interacciones de estos minerales con el hierro, pueden conducir a un menor contenido de este mineral en fémur (Tablas LXII y LXIII; Fig. 9). Esta explicación se puede extrapolar a nivel de músculo longísimus dorsi, donde se encuentran niveles de hierro menores en ratas controles ( $p < 0,01$ ) (Tabla LXXVIII; Fig. 11) y resecadas ( $p < 0,001$ ) (Tabla LXXIX; Fig. 11) si se comparan con las ratas alimentadas con dieta B (Tablas LXXVI y LXXVII; Fig. 11).*

*El efecto neto del suplemento de vitamina D<sub>3</sub> a la dieta, no afecta de forma relevante el metabolismo del hierro en los distintos órganos estudiados; excepto, en aquellos en que otros minerales fundamentalmente el calcio, donde la vitamina D<sub>3</sub> juega un papel*



*decisivo en su contenido y movilización (Campos y cols., 1987; Roche y cols., 1986; Wali y cols., 1990), desplazaría el hierro de estos órganos.*

*La adición de vitamina C a la dieta B, vitamina de conocida relevancia beneficiosa en el metabolismo del hierro (Bothwell y cols., 1989; Hallberg y cols., 1986; Hallberg y cols., 1987; Hallberg y cols., 1989; Siegenberg y cols., 1991), mejora la utilización nutritiva de este mineral.*

*El efecto positivo encontrado de esta vitamina a nivel digestivo y metabólico se refleja, en primer lugar en el plasma donde los niveles de hierro están aumentados tanto en ratas controles ( $p < 0,01$ ) como resecadas ( $p < 0,001$ ). Sin embargo, el contenido de hierro en sangre total no se modifica, ya que la concentración plasmática es una milésima parte de la concentración sanguínea, y todos los parámetros hemáticos están dentro de la normalidad (Tabla XLIX; Fig. 7). Asimismo, el contenido de hierro no se modifica en la mayoría de los órganos estudiados (hígado, testículos y fémur), manteniéndose sus niveles dentro de los márgenes normales (Pallarés y cols., en prensa; Schümann y cols., 1989; Shah y Belonje, 1991; Storey y Greger, 1987; Zhang y cols., 1991; Van Campen y House, 1974).*

*El contenido de hierro en el esternón sigue el mismo comportamiento que en todas las experiencias realizadas; es decir, un contenido de hierro ligeramente menor en resecadas (Tablas LXVII, LXIX, LXXI y LXXIII; Fig. 10) que en controles (Tablas LXVI, LXVIII, LXX y LXXII; Fig. 10) indicando que la eritropoyésis puede estar ligeramente aumentada.*

*A nivel renal (Tablas XCVI y XCVII; Fig. 13), sí se observa que el mayor contenido de hierro en plasma (Tablas XLVII y XLVIII; Fig. 6) normaliza los valores de hierro en riñón, alcanzando en ratas resecadas los niveles de las ratas controles con el mismo tipo de dieta (dieta B adicionada de vitamina C). Sin embargo, en el músculo*



*(longísimus dorsi) tiene lugar una disminución en el contenido de hierro en ratas controles ( $p < 0,01$ ) (Tablas LXXX; Fig. 11) y resecadas ( $p < 0,001$ ) (Tabla LXXXI; Fig. 11), difícilmente justificables por las hipótesis anteriormente emitidas; probablemente la explicación se deba a interacciones con otros minerales, especialmente el cobre, resultados que serán comentados posteriormente.*

*A diferencia del hierro, el cinc no se almacena en el organismo. Solo en caso de sobrecarga de cinc producida por administración parenteral de excesiva cantidad del metal, se ha visto una inducción de la síntesis de la metalotioneina (Bremner y Beattie, 1990; Cousins, 1985; Fleet, 1988).*

*Los distintos tejidos del organismo captan mayor o menor cantidad de cinc en función de sus necesidades. Este metal constituye un elemento traza ampliamente distribuido por todas las células y tejidos del organismo, debido a su intervención en la actividad de muchas metaloenzimas implicadas en distintas vías metabólicas (Berger y Schneeman, 1988; Evans, 1986; Everett y Apgar, 1987; Schwarz y Pallauf, 1989).*

*La menor utilización nutritiva de cinc encontrada en ratas resecadas podría afectar el contenido del metal en los distintos órganos y en consecuencia la actividad de las enzimas dependientes del metal como la anhidrasa carbónica y fosfatasa alcalina (Schwarz y Pallauf, 1989; Everett y Apgar, 1987), superóxido-dismutasa (Nordmánn y Ribiere, 1991), carboxipeptidasas (Berger y Schneemann, 1988) y otras enzimas. Además, funciones tan importantes como la regulación de la expresión genética (Chesters, 1991), los procesos de división celular (Castro, 1987) y la estimulación de la función inmune del organismo (Bodgen y cols., 1987), están estrechamente relacionadas con el cinc y podrían verse afectados en caso de una menor utilización metabólica de cinc como consecuencia de la resección del 50 % de intestino delgado distal. Sin embargo, el contenido de cinc en sangre total, compartimento con alta cantidad de anhidrasa carbónica, no se modifica en ratas resecadas*



con ninguna de las dietas ensayadas (Tablas XXXIV, XXXVI, XXXVIII y XL; Fig. 16). Ello, pone de manifiesto, que el compartimento con un contenido de cinc, en valores absolutos, más alto del organismo no cambia en las ratas resecadas. Es lógico, que este compartimento por su gran importancia fisiológica fuera el último en reflejar un estado de carencia de cinc, no sólo a nivel eritrocítico sino también a nivel plasmático; de hecho, este último componente contiene unos niveles de cinc en ratas resecadas (Tablas XLII, XLIV, XLVI y XLVIII; Fig. 17), en los cuatro experimentos realizados análogos a las ratas controles (Tablas XLI, XLIII, XLV y XLVII; Fig. 17) y que concuerda con los datos bibliográficos (Fairweather-Tait y Southon, 1989; Planells y cols., en prensa).

Esto ratifica que el cinc de los elementos formes de la sangre no se modifica por el descenso de su retención provocado por la resección intestinal. Las necesidades de cinc en ratas resecadas, con menores niveles de utilización nutritiva están cubiertos, ya que no se observan cambios en el contenido del metal en hígado (Tablas LI, LIII, LV y LVII; Fig. 18), huesos, fémur (Tablas LIX, LXI, LXIII y LXV; Fig. 19) y esternón (Tablas LXVII, LXIX, LXXI y LXXIII; Fig. 20), músculo longísimus dorsi (Tablas LXXV, LXXVII, LXXIX y LXXXI; Fig. 21) y testículos (Tablas LXXXIII, LXXXV, LXXXVII y LXXXIX; Fig. 22) con los cuatro tipos de dietas ensayadas.

Los niveles de cinc encontrados a nivel de los distintos tejidos estudiados coinciden con los valores obtenidos en la bibliografía (Chung y cols., 1988; Fairweather-Tait y Southon 1989; Greger y Lyle, 1988; Planells y cols., en prensa; Shah y Belonje, 1991; Sharma y cols., 1991; Van Campen y House, 1974; Wilson y cols., 1986).

Estos resultados coinciden con los obtenidos por el equipo de Schedl (Wilson y cols., 1986), que no encuentran cambios significativos en el contenido de cinc en distintos órganos (Hígado, fémur, riñones, testículos) por efecto de la resección intestinal, ni del tipo de la dieta ensayada.



*Solo a nivel renal se encuentra un descenso en el contenido de cinc en ratas con resección intestinal (XCI, XCIII, XCV y XCVII; Fig. 23), independiente del tipo de dieta empleada. La explicación de estos resultados podría ser la interacción a nivel tubular con otros iones divalentes como el calcio, ya que se ha encontrado un efecto similar en el contenido de hierro y cobre en este órgano y en las condiciones experimentales ensayadas.*

*Al igual que el cinc, el cobre no se almacena en el organismo; y la capacidad de las distintas células para acumular el cobre es muy limitada. La gran distribución de la metalotioneina en la mayoría de los tejidos, sino todos, se explica probablemente por su papel de detoxicante celular contra los efectos nocivos del metal, más que por su posible papel de almacenamiento (Bremner y Beattie, 1990). Sin embargo, la deficiencia de cobre se refleja en alteraciones de muchas metaloenzimas cobre-dependientes tales como la lisil oxidasa (Harris y Disilvestro, 1981; Linder, 1988; O'Dell, 1981), la superóxido-dismutasa (Uauy y cols., 1985) y la lipoprotein-lipasa con la consiguiente alteración del metabolismo lipídico (Klevay y cols., 1984; Lei, 1991).*

*Quizás la señal más característica de la deficiencia de este mineral, es la alteración del metabolismo del hierro (Frieden, 1983), ya que el cobre es componente esencial de la enzima clave para la correcta utilización de este mineral (Davis y Mertz, 1987), siendo la aparición de anemia ferropénica la patología mas característica, a pesar de no estar afectada la utilización nutritiva de hierro, mientras que estaría bloqueada la movilización de sus depósitos, aunque este tipo de anemia no se presenta con el mismo grado de intensidad que ante una deficiencia de hierro. Ya que según Refsum y Schreiner (1984), el papel transportador de hierro a nivel de sistema mononuclear fagocítico, compensaría, en parte la menor movilización de depósitos de hierro. La no existencia de modificaciones en el destino metabólico de hierro en los compartimentos mayoritarios, sangre y plasma, en ratas con resección intestinal, alimentadas con dieta estándar, dieta B o dieta B*



*suplementada de vitamina D<sub>3</sub> o vitamina C, no conduce a estados de anemia, por lo que es lógico que los niveles encontrados de cobre en sangre y plasma en ratas controles y resecadas alimentadas con las distintas dietas anteriormente indicadas no se modifiquen (Tablas XXXIII-XL y XLI-XLVIII; Fig. 26, 27), lo que coincide con los trabajos de Wilson y cols. (1986).*

*Asimismo, el hígado, lugar de biosíntesis de ceruloplasmina y órgano encargado de su distribución en el organismo (Cousins, 1985; Danks, 1988; Fieden, 1980; Harris, 1991), y donde se lleva a cabo la mayor regulación homeostática de cobre mediante dos mecanismos: excreción biliar y liberación de ceruloplasmina (Harris, 1991; Johnson, 1990), no se afecta su contenido por efecto de la resección intestinal, ni por el tipo de dieta ensayada (Tablas LI, LIII, LV y LVII; Fig. 28); resultados que concuerdan con los obtenidos por Wilson y cols. (1986).*

*Si la resección, a pesar de disminuir la utilización nutritiva de cobre, no modifica el contenido de este metal en lugares donde su importancia cuantitativa es mayor, podría verse afectado su contenido en otros órganos. Sin embargo, tanto en huesos, fémur (Tablas LIX, LXI, LXIII y LXV; Fig 29), esternón (Tablas LXVII, LXIX, LXXI y LXXIII; Fig. 30) y testículos (Tablas LXXXIII, LXXXV, LXXXVII y LXXXIX; Fig. 32) no se observan cambios en el contenido de cobre por efecto de la resección intestinal ni de los diferentes tipos de dieta ensayados; resultados que coinciden, de nuevo, con los encontrados por Wilson y cols. (1986).*

*En ratas controles, los niveles de cobre obtenidos en los distintos órganos estudiados están dentro de los márgenes encontrados en la bibliografía (Greger y Lyle, 1988; Van Campen y House, 1974; Wilson y cols., 1986).*



*Es de resaltar que a nivel renal, los cambios observados en el contenido de cobre (Tablas XC-XCVII; Fig. 33), siguen un paralelismo con los de hierro y cinc y a su vez son un fiel reflejo de lo que ocurre a nivel digestivo y metabólico (Johnson, 1990), . Por ello, las explicaciones emitidas anteriormente para el caso de hierro y cinc serían válidas para explicar lo ocurrido en riñones en cuanto al contenido de cobre.*

*En el músculo longísimus dorsi, no se encuentran modificaciones significativas en el contenido de cobre entre ratas controles y resecadas, alimentadas con dieta estándar ni dieta B, que tiene modificada su calidad lipídica. Pero la suplementación de vitamina D<sub>3</sub> (0,04 mg/100 g de dieta), ó la adición de vitamina C (150 mg/100 g de dieta), aumenta el contenido de cobre en este músculo, tanto en ratas controles como resecadas (Tablas LXXVIII, LXXIX, LXXX y LXXXI; Fig. 31), en tanto disminuye, con estos dos tipos de dieta, el contenido de hierro en este músculo (Tablas LXXVIII, LXXIX, LXXX y LXXXI; Fig. 11). Estos resultados parecen indicar la existencia de interacciones entre ambos minerales, por efecto neto de estas dos vitaminas; interacciones difícilmente explicables dado el distinto mecanismo de acción de las mismas y que el músculo no constituye un órgano especialmente sensible al efecto de ellas; además, la existencia de interacciones en este órgano entre los dos minerales (hierro y cinc) no han sido descritas, por ahora, en la bibliografía. Una hipótesis probable podría ser que el efecto de estas vitaminas (vitamina D<sub>3</sub> y vitamina C) conllevara a competencia entre hierro y cobre, ya que Joshi y cols. (1988) han demostrado que la ferritina puede contener otros iones metálicos como cobre, cinc, cadmio, aluminio...etc.*

*Estos resultados requieren estudios posteriores que justifiquen estas interacciones a nivel muscular.*

*No obstante, las modificaciones producidas por las vitaminas D<sub>3</sub> y C en el contenido de hierro y cobre a nivel muscular no son lo suficientemente importantes como*



*para provocar alteraciones en el fisiologismo, ya que los animales no presentaban cambios en su actividad muscular.*

*Engels y cols. (1984), en un trabajo sobre el estado de micronutrientes en pacientes con síndrome de intestino corto encontraron que los niveles séricos de cobre y cinc, así como de hierro en tales pacientes están dentro de los márgenes normales; y que una resección en humanos de 40 a 110 cm de intestino delgado, no llega a alterar el estado de estos metales traza en el organismo.*



## ***6.- RESUMEN Y CONCLUSIONES***



## RESUMEN Y CONCLUSIONES

*Se ha estudiado la utilización nutritiva de hierro, cinc y cobre, en ratas con resección del 50 % de intestino delgado distal, en comparación con ratas controles (transectadas).*

*Dada la importancia de la composición dietaria en paliar las consecuencias de ésta patología (disminución de la superficie absortiva), especialmente en torno a los cationes divalentes; se han llevado a cabo 8 experiencias con 4 tipos distintos de dieta con el fin de evaluar hasta que punto se puede mejorar el estado nutricional de estos elementos traza, basándose sobre la composición de la dieta.*

*Se ha utilizado una dieta estándar, dieta A (al 12 % de proteína, 4 % de grasa (aceite de oliva)), la segunda dieta se diferencia de la dieta estándar en su calidad lipídica, dieta B, (4 % de grasa (1/3 MCT, 1/3 aceite de girasol y 1/3 aceite de oliva) y las dos dietas restantes representan la dieta B suplementada de vitamina D3 a dosis de 0,04 mg/100 g de dieta o vitamina C a dosis de 15 mg/100 g de dieta.*

*Para poder evaluar el estado nutricional de minerales ampliamente distribuidos en el organismo, se han determinado las concentraciones de hierro, cinc y cobre en distintos órganos. Así, se han medido sus niveles en sangre como mayor reservorio corporal, en plasma como su medio de transporte; a nivel hepático, donde se lleva acabo la mayor regulación homeostática del metabolismo de todos los nutrientes; en riñones cuya función contribuye fuertemente en mantener un balance adecuado de estos metales; en músculo como órgano muy representativo por su gran masa corporal; en testículos, por su función proliferativa que requiere un aporte adecuado y continuo de estos metales para mantener la*



*integridad de funciones enzimáticas muy importantes. Y por último, se han determinado las concentraciones de hierro, cinc y cobre en dos huesos uno largo (fémur) y otro plano (esternón) por dos razones: por una parte, porque el hueso constituye el depósito más específico de los minerales y la concentración de muchos metales a este nivel es un reflejo de su estado nutricional, en el presente trabajo el fémur se consideró como representante de este reservorio mineral; por otra parte, se ha utilizado el esternón, como órgano hematopoyético que junto con la hemoglobina constituye un índice bastante fiable para valorar el estado del hierro.*

*Además, se ha determinado el coeficiente de digestibilidad aparente y el balance de estos minerales que, evidentemente, son parámetros que responden inmediatamente a cualquier cambio en la digestibilidad de los minerales estudiados. Cambios que, lógicamente, pueden tener lugar tras este tipo de intervención quirúrgica.*

*A la luz de todas estas determinaciones se ha llegado a las siguientes*  
*c o n c l u s i o n e s :*

### **CONCLUSIÓN PRIMERA**

*La exclusión del 50 % de intestino delgado distal provoca un descenso en la utilización digestiva de hierro, cinc y cobre. Descenso que se ve claramente reflejado en la utilización metabólica de los tres minerales; sin llegar a repercutir de forma marcada en la distribución de los mismos en los distintos órganos estudiados.*



## **CONCLUSIÓN SEGUNDA**

*La modificación de la calidad lipídica de la dieta, no afecta la utilización digestiva ni metabólica de hierro, cinc y cobre, ni el contenido de estos minerales en los distintos órganos estudiados en ratas controles ni resecadas.*

## **CONCLUSIÓN TERCERA**

*La suplementación de vitamina D<sub>3</sub> a la dieta conduce a un mejor aprovechamiento digestivo y metabólico de hierro, cinc y cobre, tanto en animales controles como con resección intestinal, siendo menos relevante su contribución en el caso del cobre.*

## **CONCLUSIÓN CUARTA**

*El efecto de la adición de vitamina C a la dieta, solamente se manifiesta en un aumento en la utilización nutritiva de hierro de ratas controles y resecadas.*

## **CONCLUSIÓN QUINTA**

*Los efectos beneficiosos de las vitaminas D<sub>3</sub> y C observados a nivel nutritivo, → no se reflejan de manera patente en el contenido de hierro, cinc y cobre de los órganos estudiados.*



## **CONCLUSIÓN GENERAL**

*La resección del 50 % de intestino delgado distal, no provoca al mes de la intervención quirúrgica, ningún estado carencial de los minerales, objeto de estudio.*



## ***7.- BIBLIOGRAFIA***



- ADAMS, P.C.; REECE, A.S.; POWELL, L.W.; HALLIDAY, J.W. "Hepatic iron in the control of iron absorption in a rat liver transplantation model". *Transplantation*, 48 (1):19-21 (1989).
- ADAMS, P.C.; ZHONG, R.; HAIST, J.; FLANAGAN, P.R. "Mucosal iron in the control of iron absorption in a rat intestinal transplant model". *Gastroenterology*, 100: 370-374, (1991).
- AISEN, P. "Transferrin metabolism and the liver". *Semin. Liver Dis.*, 4:192-206, (1984).
- AL JURF, A.S.; YOUNOSZAI, M.K. and CHAPMAN-FURR, F. "Effect of nutritional method on adaptation of the intestinal remanant after massive bowel resection". *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 4 (2): 245-252, (1985).
- AL MUKHTAR, M.Y.T.; SAGOR, G.R.; GHATEI, M.A.; BLOOM, S.R. and WRIGHT, N.A. "The role of pancreaticobiliary secretions in intestinal adaptation after resection, and its relationship to plasma enteroglucagon". *Brit. J. Surg.*, 70: 398-400, (1983)
- ALPER, D.H. "Absorption of water soluble vitamins, folate, minerals and vitamin D". In *Gastrointestinal disease*. Sleisenger, M.H. and Fordtran, J.S. (eds). Philadelphia, Saunders, W.B., 1983, 830-844.
- AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION "Second report of the AIN Ad HOC Committee on standars for nutritional studies". *J. Nutr.* 110: 1726, (1980).
- ANDERSON, H.I. and ISAKSSON, B. "Effects of a low-fat diet on mineral absorption in small-bowel disease". *Scand. J. Gastroenterol.*, 18: 551-554, (1983).
- ANDERSON, G.J.; LAWRIE, W.P. and HALLIDAY, J.W. "Transferrin receptor distribution and regulation in the rat small intestine. Effect of iron stores and erythropoiesis". *Gastroenterology*, 98: 576-585, (1990).
- ANTONSON, D.L.; BARAK, A.J. and VANDERHOOF, J.A. "Determination of the site of zinz absorption in rat small intestine". *J. Nutr.* 109: 142-147, (1979).
- ANTONSON, D.L. and VANDERHOOF, J.A. "Zinc absorption following massive small-bowel resection in the rat". *Digestive Diseases and Sciences*, 27 (9): 789-793, (1982).
- AVERY, R.A. and BETTGER, W.J. "Zinc deficiency alters the protein composition of the membrane skeleton but not the extractability or oligomeric form of spectrin in rat erythrocyte membranes". *J. Nutr.* 122: 428-434, (1992).
- AZIZ, N. and MUNRO, H.N. "Both subunits of rat liver ferritin are regulated at a translational level buy iron induction". *Nucleic Acids Research*, 14: 915-927, (1986).
- AZIZ, N. and MUNRO, H.N. "Iron regulates ferritin mRNA translation through a segment of its 5 'untranslated region". *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 84: 8478-8482, (1987).
- BAKER, E.; PAGE, M.; MORGAN, E.H. "Transferrin and iron release from rat hepatocytes in culture". *Am. J. Physiol.*, 248: G93-G97, (1985).
- BAKKER, G.R. and BOYER, R.F. "Iron incorporation into apoferritin". *J. Biol. Chem.*, 261: 13182-13185, (1986).
- BARNES, G. and FRIEDEN, E. "Ceruloplasmin receptors of erythrocytes". *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 125: 157-162, (1984).
- BARNES, R.D. and BOTHWELL, T.H. "Iron deficiency". *Annu. Rev.*
- BARRIONUEVO, M.; CAMPOS, M.S.; LOPEZ-ALIAGA, I.; COVES, F. and LISBONA, F. "Nutritive utilization of phosphorus in the



rat: Influence of intestinal resection and dietary medium chain triglycerides and vitamin D<sub>3</sub>". *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 59: 255-261, (1989). *Nutr.* 10: 133-148, (1990).

- BARRIONUEVO, M.; CAMPOS, M.S.; URBANO, G. and VARELA, G. "Resecciones intestinales en la rata: Influencia sobre la absorción proteica". *Revista Española de Fisiología*, 36: 119-122, (1980).

- BAYNES, R.D.; BUKOFZER, G.; BOTHWELL, T.H. and BEZWODA, W.R. "Apotransferrin receptors and the delivery of iron from cultured human blood monocytes". *Am. J. Hematol.*, 25 (4): 417-425, (1987).

- 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).

- BECKER, W.M. and HOEKSTRA, W.G. "Effect of vitamin d on <sup>65</sup>Zn absorption, distribution and turnover in rats". *J. Nutr.* 90: 301-309, (1966).

- BEINFAIT, H.F. and VAN DEN BRIEL, M.L. "Rapid mobilization of ferritin iron by ascorbate in the presense of oxygen". *Biochem. Biophys. Acta.*, 631:507-511, (1981).

- BEUTLER, E. "C. hierro". *Fundamentos de la nutrición*, 298-326, (1988).

- BERGER, J. and SCHNEEMAN, B.O. "Intestinal zinc and carboxypeptidase A and B activity in reponse to consumption of test meals containing Various proteins by rats". *J. Nutr.* 118 (6): 723-728, (1988).

- BETTGER, W.J. "The effect of dietary zinc on erythrocyte-free and membrane-bound aminoacids in the rat". *Nutrition Research*, 9 (8): 911-919, (1989).

- BEUTLER, E. "C. Hierro". In: "La nutrición en la salud y la enfermedad Conocimientos actuales". Ed. Goodhart, R.S. y Shils, M.E. pág. 298-326, Salvat Editores, S.A. Mallorca, 41 - Barcelona (1987).

- 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).

- BEZKOROVAINY, A. "Biochemistry of non heme iron in man. I- Iron proteins and cellular iron metabolism". *Clin Physiol. Biochem.*, 7 (1): 1-17, (1989a).

- BEZKOROVAINY, A. "Biochemistry of non heme iron in man. II- Absorption of iron". *Clin. Physiol. Biochem.*, 7 (2): 53-69, (1989b).

- BIASCO, G. GALLGARI, C.; LAMI, F.; MINARINI, A.; MIGLIOLI, M. and BARBARA, L. "Intestinal morphological changes during oral refeeding in a patient previously treated with total parenteral nutrition for small bowel resection". *American Journal of Gastroenterology*, 79 (8): 585-588; (1984).

- BIRKENMEIER, E.H. and GORDON, J.I. "Developmental regulation of a gene that encoded a cysteine-rich intestinal protein and maps near the murine immunoglobulin heavy chain locus". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 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).

- BLOXAM, D.L.; WILLIAMS, N.R.; WASKETTI, R.J.;



PATTINSON-GREEN, P.M.; MORARJI, Y. and STEWART, S.G. "Maternal zinc during oral iron supplementation in pregnancy: a preliminary study". Clin. Sci. Jan. 76 (1): 59-65, (1989).

- BODGEN, J.D.; OLESKE, J.M., MUNE, E.M. Y COLS.

- BOTHWELL, T.H.; BAYNES, R.D.; MAC FARLANE, B.J. and MAC PHAIL, A.P. "Nutritional iron requirements and food iron absorption". Journal of Internal Medicine, 226: 357-365, (1989).

- BOYETT, J.D. and SULLIVAN, J.F. "Distribution of protein-bound zinc in normal and cirrhotic serum". Metabolism, 19: 148-157, (1970).

- BREMNER, I. "Involvement of metallothionein in the hepatic metabolism of copper". J. Nutr. 117:19-29, (1987).

- BREMNER, I.; MEHRA, R.K.; MORRISON, J.N. and WOOD, A.M. "Effects of dietary copper supplementation of rats on the occurrence of metallothionein-I in liver and its secretion into blood, bile and urine". Biochem. J., 235: 735-739, (1986).

- BREMNER, I. MORRISON, J.N.; WOOD, A.M. and ARTHUR, J.R. "Effect of changes in dietary zinc, copper and selenium supply and of endotoxin administration on metallothionein-I concentrations in blood cells and urine in the rat". J. Nutr. 117: 1595-1602, (1987).

- BREWER, G.J.; HILL, G.M.; PRASAD, A.S.; COSSACK, A.T. and RABBANI, P. "Oral zinc therapy for wilson 's disease". Ann. Intern. Med., 99:314-320, (1983).

- BREWER, G.J.; YUZBASIYAN-GURKAN, V.; LEE, D-Y and APPELMAN, H. "Treatment of wilson 's disease with zinc. VI. Initial treatment studies". J. Lab. Clin. Med. 114: 633-638, (1989).

- BRIDGES, K.R. and HOFFMAN, K.E. "The effects of ascorbic acid on the intracellular metabolism of iron and ferritin". J. Biol. Chem. 261:14273-14277, (1986).

- BRITTIN, G.M. and RAVAL, D. "Duodenal ferritin synthesis during iron absorption in the iron deficient rat" J. Lab. Clin. Med., 75: 811-817, (1970).

- BRITTON, J.R. KOLDOVSKY, O. "Luminal digestion of lactoferrin in suckling and weanling rats". Am. J. Physiol. 253: G397-G403, (1987).

- BROCK, J.H.; ESPARZA, I. and LOGIE, A.C. "The nature of iron released by resident and stimulated mouse peritoneal macrophages". Biochem. Biophys. Acta., 797: 105-111, (1984).

- BROT-LAROCHE, E.; SERRANO, M.A.; DELHOMME, B. and ALVARADO, F. "Temperature sensitivity and substrate specificity of two distinct Na-activated D-glucose transport systems in guinea pig jejunal brush-border membrane vesicles". J. Biol. Chem., 261: 6168-6176, (1986).

- BROWN, P.H.; DANIELS-MC QUEEN, S.; WALDEN, W.E.; PATINO, M.M.; GAFFIELD, L.; BIELSER, D. and THACH, R.E. "Requirements for the translational repression of ferritin transcripts by a 90-KDa protein from rabbit liver". Journal of biological chemistry, 264: 13383-13386, (1989).

- BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; HALLBERG, L.; GLEERUP, A. and SANDBERG, A-S. "Iron absorption from bread in humans: Inhibiting effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups". J. Nutr., 122: 442-449, (1992).

- BRZOZOWSKA, A. "Interaction of iron, zinc and copper in the body of animals and humans". Rocznik Panstw Zakl Hig., 40 (4-6): 302-312, (1989).



- BRUNE, M.; MAGNUSSON, B.; PERRSON, H. and HALLBERG, L. "Iron losses in sweat". *Am. J. Clin. Nutr.* 43: 438-443, (1986).
- BUCHOWSKI, M. S.; MAHONEY, A.W. and KALPALATHIKA, M.P.V. "Nonheme iron absorption, apparent iron absorption and hemoglobin regeneration efficiency in anemic and normal rats fed with dietary heme and nonheme iron at various levels". *Nutrition Research*, 9 (7): 773-783, (1989).
- CAMPOS, M.S.; GOMEZ-TRAVECEDO, M.T.; BARRIONUEVO, M.; MAÑAS, M. and LOPEZ-ALIAGA, I. "Intestinal resection and calcium metabolism: influence of 1, 25 dihydroxy D<sub>3</sub>". *Med. Sci. Res.* 15: 419-420, (1987).
- CAMPOS, M.S.; LOPEZ-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.; CHRISTENSEN, K.K.; CLARK, E.D. and SCHEDL, H.P. "Brush border calcium uptake in short bowel syndrome in rat".
- CARRERAS, O.; VASQUEZ, A.L.; BOLUFER, J. and MURILLO, M.L. "The influence of jejunoileal bypass on villous and mucosal surface area in rats". *J. Clin. Nutr. Gastroenterol.*, 4: 182-186, (1987).
- CASEY, J.L.; HENTZE, M.W.; KOELLER, D.M.; CAUGHMAN, S.W.; ROUAULT, T.A.; KLAUSNER, R.D. Y HARFORD, J.B. "Iron-responsive elements: regulatory RNA sequences that control mRNA levels and translation". *Science*, 240: 924-928, (1988).
- CASPARY, W.F. "Effect of insulin and experimental diabetes mellitus on the digestive absorptive function of the small intestine". *Digestion*, 9: 248-263, (1973).
- CASTRO, C.E. "Nutrient effects on DNA and chromatin structure". *Ann. Rev. Nutr.* 7: 407-421, (1987).
- CHAN, J.C.; KODROFF, M.B.; LANDWEHR, D.M. "Effects of 1, 25 dihydroxy-D<sub>3</sub> on renal function, mineral balance and growth in children with severe chronic renal failure". *Pediatrics*, 68: 559-571, (1981).
- CHANDRA, R.K. "Excessive intake of zinc impairs immune responses". *J. Am. Med. Assoc.* 252: 1443-1446, (1984).
- CHARLWOOD, P.A. "The relative affinity of transferrin and albumin for zinc". *Biochem. Biophys. Acta.*, 581: 260-265, (1979).
- CHESTERS, J.K. "Trace element-gene interactions with particular reference to zinc". *Proceedings of The Nutrition Society*, 50 (2): 123-129, (1991).
- CHESTERS, J.K. AND WILL, M. "Zinc transport proteins in plasma". *Br. J. Nutr.* 46: 111-118, (1981).
- CHRISTENSEN, A. C.; HUEBERS, H. and FINCH, C.A. "Effect of transferrin saturation on iron delivery in rats". *Am. J. Physiol.*, 235: R18-R22, (1978).
- CHUNG, J.; NARTEY, N.O. and CHERIAN, M.G. "Metallothionein levels in liver and kidneys of Canadians. - A potential indicator of environmental exposure to cadmium". *Arch. Environ. Health.*, 41: 319-323, (1986).
- CHUNG, K.; ROMERO, N.; TINKER, D.; KEEN, C.L.; AMEMIYA, K. and RUCKER, R. "Role of copper in the regulation and accumulation of superoxide dismutase and metallothionein in rat liver". *J. Nutr.*, 118: 859-864, (1988).
- COHEN, N.L.; KEEN, C.L.; HURLEY, L.S. and LONNERDAL, B. "Determination of copper-deficiency anemia in rats". *J. Nutr.* 115: 710-725, (1985a).



- COHEN, N.L.; LONNERDAL, B. and HURLEY, L.S. "Effects of varying dietary iron on the expression of copper deficiency in the growing rat: anemia, ferroxidase I and II, tissue trace elements, ascorbic acid and xanthine dehydrogenase". *J. Nutr.* 115: 633-649, (1985b).
- COLE, E.S. and GLASS, J. "Transferrin binding and iron uptake in mouse hepatocytes". *Biochem. Biophys. Acta.*, 762: 102-110, (1983).
- 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).
- COLLAWN, J.F. GOWAN, L.K. and CROW, H. "Isolation and partial aminoacid sequence of three subunit species of porcine spleen ferritin: Evidence of multiple H subunits". *Arch. Biochem. Biophys.*, 259: 105-113 (1987).
- CONRAD, M.E.; PARMLEY, R.T. and OSTERLOH, K. "Small intestinal regulation of iron absorption in the rat". *J. Lab. Clin. Med.*, 110 (4): 418-426, (1987).
- COOK, J.D. "Adaptation in iron metabolism". *Am. J. Clin. Nutr.* 51: 301-308, (1990).
- COOK, J.D.; LIPSCHITZ, D.A.; MILES, L.E.M. and FINCH, C.A. "Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects". *Am. J. Clin. Nutr.* 27: 681-687, (1974).
- COOK, J.D. and REUSSER, M.E. "Food iron availability" In: *Groupes á risque de carence en fer dans les pays industrialisés.* Dupin, H.; Hercberg, S. Eds., Coloque a L'INSERM, 179, (1983).
- COOK, G.D. and SKIKNE, B.S. "Intestinal regulation of body iron". *Blood Rev.*, 1 (4): 267-272, (1987).
- COTZIAS, G.C. and PAPAVALIIOU, P.S. "Specificity of zinc pathways through the body: homeostatic considerations". *Am. J. Physiol.* 206: 787-792, (1964).
- COUSINS, R.J. "Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin". *Physiol. Rev.*, 65: 238-309, (1985).
- COVES, F.; LISBONA, F.; GARCIA, J.A. and CAMPOS, M.S. "Influence of dietary sources of fat on lipid digestive utilization and metabolism in rats with intestinal resection". *J. Clin. Nutr., Gastroenterol.*, 3: 37-41, (1988).
- COVES, F.; LOPEZ-ALIAGA, I. CAMPOS, M.S.; LISBONA, F. y BARRIONUEVO, M. "Influencia de la resección intestinal y de la calidad lipídica de la dieta sobre la utilización nutritiva de la grasa". *Rev. Esp. Enf. Digest.*, 79 (1): 9-14, (1991).
- COX, T.M. and PETERS, T.J. "The kinetics of iron uptake in vitro by human duodenal mucosa: studies in normal subjects". *J. Physiol.* 289: 469-478, (1979).
- COX, T.M. and PETERS, T.J. "Cellular mechanisms in the regulation of iron absorption by the human intestine: studies in patients with iron deficiency before and after treatment". *Br. J. Haematol.* 44: 75-86, (1980).
- CROSBY, W.H. "The control of balance by intestinal mucosa". *Blood*, 22: 441-449, (1963).
- CURTIS, K. J., SLEISENGER, M.H. and KIM, Y.S. "Protein digestion and absorption after massive small bowel resection". *Digestive Diseases and Sciences*, 29 (9): 834-840, (1984).
- DALLMAN, P.R. "Biochemical basis for the manifestations of iron deficiency". *Annual Review of Nutrition*, 6: 13-40.



- DANDEKAR, T.; STRIPECKE, R.; GRAY, N.K.; GOOSSEN, B.; CONSTABLE, A. JOHANSSON, H.E. and HENTZE, M.W. "Identification of a novel iron responsive element in murine and human erythroid delta-aminolevulinic acid synthase mRNA". EMBO Journal, 10: 1903-1909, (1991).
- DANKS, D.M. "Copper deficiency in humans". Ann. Rev. Nutr., 8: 235-257, (1988).
- DAUTRY-VARSAT, A.; CIECHANOVER, A. and LODISH, H.F. "pH and the recycling of transferrin during receptor-mediated endocytosis". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80: 2258-2262, (1983).
- DAVIDSON, L.A. and LÖNNERDAL, B. "Specific binding of lactoferrin to brush-border membrane: Ontogeny and effect of glycan chain". Am. J. Physiol., 254: G580-G585, (1988).
- DAVIES, N.T. "Studies on the absorption of zinc by rat intestine". Br. J. Nutr., 43: 189-203, (1980).
- DAVIES, G. K. and MERTZ, W. "Copper". In "Trace elements in human and animal nutrition", 5<sup>th</sup> ed., Vol. 2, Mertz, W. ed. pág. 301-364, Academic Press, Orlando, Fla. (1987).
- DEGKWITZ, E. and BÖDEKER, R. "Characterization of guinea pigs adapted to differently high vitamin C supplies. 1. Blood-levels of cholesterol, glucose, triacylglycerides and hemoglobin". Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, 29 (1): 21-26, (1990).
- DELVES, H.T. "Some clinical aspects of trace elements" Ann. Clin. Biochem., 19: 302-306, (1982).
- DERMAN, D.P.; BALLOT, D. and BOTHWELL, T.H. "Factors influencing the absorption of iron from soya-bean products". Br. J. Nutr. 57: 345-353, (1987).
- DEVINE, R.M. and KELLY, K.A. "Surgical therapy of the short bowel syndrome". Gastroenterology Clinics of North America 18 (3): 603-618, (1989).
- DISLER, P.B.; LYNCH, S.R.; CHARLTON, R.W.; TORRANCE, J.D. and BOTHWELL, T.H. "The effect of tea on iron absorption". Gut, 16: 193, (1975).
- DOWLING, R.H. "Small bowel adaptation and its regulation". Scand. J. Gastroenterol. 17 (supl 74): 53-74, (1982).
- DRYSDALE, J.W. "Ferritin phenotypes: Structure and metabolism". Ciba Found Symp., 51: 41-47, (1977).
- EASTIN, W.C.; WILSON, H.D. and SCHEDL, H.P. "Intestinal resection and calcium absorption in the rat". Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 163: 553-557, (1980).
- EHTECHAMI, C.; ELSENHANS, B. and FORTH, W. "Incorporation of iron from an oral dose into ferritin of the duodenal mucosa and the liver of normal and iron deficient rats". J. Nutr: 119 (2): 202-210, (1989).
- ELLIS, R.; MORRIS, E.R. and HILL, A.D. "Bioavailability of iron and zinc on calcium-iron-phytate and calcium-zinc-phytate complexes". Nutr. Res. 2: 319-322, (1982).
- ERLINGER, S. "Physiology of bile secretion and enterohepatic circulation". In "Physiology of the gastrointestinal tract", edited by Johnson, L. R. Raven Press, New York, pág. 1557-1580, (1987).
- ETTINGER, M.J.; DARWISH, H.M. and SCHMITT, R.C. "Mechanism of copper transport from plasma to hepatocytes". Fed. Proc., 45: 2800-2804, (1986).
- EVANS, G.W. "Zinc and its deficiency diseases". Clin. Physiol. Biochem. 4 (1): 94-98, (1986).



- EVANS, G.W. and JOHNSON, P.E. "Characterization and quantification of a zinc binding ligand in human milk". *Pediatr. Res.* 14: 876-880, (1980).
- EVANS, G.W. and WINTER, T.W. "Zinc transport by transferrin in rat portal blood plasma". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 66: 1218-1224, (1975).
- EVERETT, G. and APGAR, J. "Enzymes as indicators of zinc status". *Trace element-Analytical chemistry in Medicine and Biology*, 4: 283-288, (1987).
- FABER, J.; JUDSON, J.G.; ROBBINS, S. and SMITH, J.C. "Zinc and copper status in young patients following jejunio-ileal bypass". *J. Surg. Res.* 24: 83-86, (1978).
- FAILLA, M.L. and COUSINS, R.J. "Zinc uptake by isolated rat liver parenchymal cells". *Biochem. Biophys. Acta.*, 538: 435-444, (1978a).
- FAILLA, M.L. and COUSINS, R.J. "Zinc accumulation and metabolism in primary cultures of rats liver cells: regulation by glucocorticoids". *Biochem. Biophys. Acta.*, 543: 293-304, (1978b).
- FAIRWEATHER-TAIT, S. and SOUTHON, S. "Studies of iron:zinc interactions in adult rats and the effect of iron fortification of two commercial infant weaning products on iron and zinc status of weaning rats". *J. Nutr.*, 119: 599-606, (1989).
- FARKKILA, M.A.; TILVIS, R.S. and MIETTINEN, T.A. "Plasma fatty acid composition in patients with ileal dysfunction". *Scand. J. Gastroenterol.*, 22 (4), 411-419, (1987).
- FESTA, M.D.; ANDERSON, H.L.; BOWDY, R.P. and ELLERSIECK, M.R. "Effect of zinc intake on copper excretion and retention in men". *Am. J. Clin. Nutr.* 41: 285-292, (1985).
- FIELDING, J. and SPEYER, B.E. "Iron transport intermediates in human reticulocytes and the membrane binding site of iron-transferrin". *Biochem. Biophys. Acta.*, 363: 387-396, (1974).
- FIELDES, M.; FERRETTI, 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).
- FIELDES, M.; FERRETTI, R.J.; SMITH, J.C. and REISER, S. "The interaction of type of dietary carbohydrates with copper deficiency". *Am. J. Clin. Nutr.* 39: 289-295, (1984).
- FINLEY, E.B. and CERKLEWSKI, F.L. "Influence of ascorbic acid supplementation on copper status in young adult men". *Am. J. Clin. Nutr.*, 37: 553-556, (1983).
- FISCHER, P.W.F.; GIROUX, A. and L'ABBÉ, M.R. "Effect of zinc supplementation on copper status in adult man". *Am. J. Clin. Nutr.*, 40: 743-746, (1984).
- FLETCHER, J. and HUEHNS, E.R. "Function of transferrin". *Nature*, 218: 1211-1213, (1968).
- FORBES, R.M.; PARKER, H.M. and ERDMAN, J.W. "Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats". *J. Nutr.* 114: 1421-1425, (1984).
- FORD, G.C.; HARRISON, P.M. and RICE, D.W. "Ferritin: Design and formation of an iron storage molecule". *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 304: 551-565, (1984).
- FORD, W.D.A.; VRIES, J.E.; ROSS, J.S. and MALT, R.A. "Effect of luminal contents on postresectional longitudinal and mucosal growth in the ileum of suckling rats". *Surgery*, 98 (5): 935-941, (1985).



- FREEDMAN, J.H. and PEISACH, J. "Intracellular copper transport in cultured hepatoma cells". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 164: 134-140, (1989).
- FREEMAN, H.J. ELLIS, S.T.; JOHNSTON, G.A.; KWAN, W.C. AND QUAMME, G.A. "Sodium-dependent D-glucose transport after proximal small intestinal resection in rat". *Am. J. Physiol.*, 18 (3): G292-G297, (1988).
- 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 *Lin-II*". *Nature*, 344: 876-879, (1990).
- FRIDEN, E. "Caeruplasmin: a multi-functional metalloprotein of vertebrate plasma". In "Biological roles of copper", New York: Elsevier/North-Holland, pág. 93-124, (Ciba Found. Symp).
- FRIDEN, E. "The copper connection". *Semin. Hematol.* 20: 114-117, (1983).
- GARRIDO, A.B., FREEMAN, H.J.; CHUNG, Y.C. and KIM, Y.S. "Amino acid and peptide absorption after proximal small intestine resection in the rat". *Gut*, 20: 114-120, (1979).
- GATTER, K.C.; BROWN, G.Y.; TROWBRIDGE, I.S.; WOOLSTON, R.E. AND MASON, D.Y. "Transferrin receptors in human tissues: their distribution and possible clinical relevance". *J. Clin. Pathol.*, 36: 539-545, (1983).
- GELLER, B.L. and WINGE, D.R. "Metal-binding sites of rat liver Cu-thionein". *Arch. Biochem. Biophys.*, 213: 109-117, (1982).
- GHISHAN, F. K. and GREENE, H.L. "Intestinal transport of zinc in the diabetic rat". *Life Sci.* 32: 1735-1741, (1983).
- GILLOOLY, M.; BOTHWELL, T.H.; TORRANCE, J.D. "The effects of organic acids, phytates and polyphenol absorption of iron from vegetables". *Br. J. Nutr.* 49: 331-342, (1983).
- GOMEZ-TRAVECEDO, M.T.; BARRIONUEVO, M. and CAMPOS, M.S. "Intestinal resection and phosphorus metabolism: influence of 1, 25 dihydroxy D<sub>3</sub>". *IRCS Med. Sci.* 13: 211-212, (1985).
- GORDON, D.T. and GODBER, J.S. "The enhancement of nonheme iron bioavailability by beef protein in the rat". *J. Nutr.*, 119: 446-452, (1989).
- GORDON, D.T.; LEINART, A.S. and COUSINS, R.J. "Portal copper transport in rats albumin". *Am. J. Physiol.* 252: E327-E333, (1987).
- GRADY, J.K.; CHEN, Y.; CHASTEEN, N.D. and HARRIS, D.C. "Hydroxyl radical production during oxidative deposition of iron in ferritin". *J. Biol. Chem.* 264 (34): 20224-20229, (1989).
- GRANICK, S. "Ferritin". *J. Biol. Chem.* 164: 737-746, (1946a).
- GRANICK, S. "Protein apoferritin and ferritin in iron feeding and absorption". *Science*, 103: 107, (1946b).
- GREEN, R.; CHARLTON, R.W.; SEFTEL, H. BOTHWELL, T.; MAYET, F.; ADAMS, B.; FINCH, C. and LAYRISSE, M. "Body excretion in man. A collaborative study". *Am. J. Med.*, 45: 336-353, (1968).
- GREENE, F.L.; LAMB, L.S., BARWICK, M. and PAPPAS, 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.; GUTKOWSKI, C.M. and KHAZEN, R.R. "Interactions of lactose with calcium, magnesium and zinc in rats". *J. Nutr.* 119: 1691-1697, (1989).
- GREGER, J.L.; KRZYKOWSKI, C.E.; KHAZEN, R.R. and KRASHOC, C.L. "Mineral utilization by rats fed various commercially



available calcium supplements or milk". J. Nutr. 117: 717-724, (1987).

- GREGER, J.L. and LYLE, B.J. "Iron, copper and zinc metabolism of rats fed various levels and types of tea". J. Nutr., 118: 52-60, (1988).

- 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).

- GREY, V.L. and MORIN, C.L. "Evidence for a growth-stimulating fraction in the rat proximal intestine after small bowel resection". Gastroenterology, 89: 1305-1312, (1985).

- GROHLICH, D.; MORLEY, C.G.D., MILLER, R.J. and BEZKOROVAINY, A. "Iron incorporation into isolated rat hepatocytes". Biochem. Biophys. Res. Commun., 76: 682-690, (1977).

- GUNNARSSON, P.O.; NYLEN, U. and PETTERSSON, G. "Kinetics of the interaction between ceruloplasmin and reducing substrates". Eur. J. Biochem., 37: 41-46, (1973).

- HAHN, P.F.; BALE, W.F.; ROSS, J.F. "Radioactive iron absorption by gastrointestinal tract". J. Exp. Med. 78: 169-188, (1943).

- HAILE, D.J.; HENTZE, M.W.; ROUAULT, T.A.; HARFORD, J.B. and KLAUSNER, R.D. "Regulation of interaction of the iron-responsive element binding protein with iron-responsive RNA elements". Molecular and Cellular Biology, 9: 5055-5061, (1989).

- HALL, A.C.; YOUNG, B.W.; BREMNER, I. "Intestinal metallothionein and the mutual antagonism between copper and zinc in the rat". J. Inorgan. Biochem. 11: 57-66, (1979).

- HALLBERG, L. "Wheat fiber, phytate and iron absorption". Scand. J. Gastroenterol Suppl., 129: 73-79, (1987).

- HALLBERG, L. "Iron balance in pregnancy". In "vitamins and minerals in pregnancy and lactation", Berger, H. ed. pág. 115-126, Raven Press, New York. (1988).

- HALLBERG, L.; BRUNE, M. and ROSSANDER, L. "Effect of ascorbic acid on iron absorption from different types of meals. Studies with ascorbic-rich foods and synthetic ascorbic acid given in different amounts with different meals". Human Nutrition Applied Nutrition, 40 A (2): 97-113, (1986).

- HALLBERG, L.; BRUNE, M. and ROSSANDER, L. "The role of vitamin C in iron absorption". Int. J. Vitam. Nutr. Res. Suppl., 30: 103-108, (1989).

- HALLBERG, L. BRUNE, M. and ROSSANDER-HULTHEN, L. "Is there a physiological role of vitamin C in iron absorption". Ann. N. Y. Acad. Sci. 498: 324-332, (1987).

- HALLBERG, L. and ROSSANDER, L. "Improvement of iron nutrition in developing countries: comparison of adding meat, soy protein, citric acid and ferrous sulphate on iron absorption from a simple Latin American type meat". Am. J. Clin. Nutr. 39: 577-83, (1984).

- HALLBERG, L. ROSSANDER, L. and SKANBERG, A.B. "Phytate and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man". Am. J. Clin. Nutr. 45 (5): 988-996, (1987).

- HAMBIDGE, M.K.; CASEY, C.E. and KREBS, N.F. "Zinc". In "Trace element in human and animal nutrition". Vol. 2, 5<sup>th</sup> Ed. Mertz, W., ed. Academic Press, pág. 1-138. (1986).

- HAMBIDGE, M.K.; KREBS, N.F.; JACOBS, M.A.; FAVIER, A.; GUYETTE, L. and IKLE, D.N. "Zinc nutritional status during



pregnancy: a longitudinal study". Am. J. Clin. Nutr. 37: 429-442, (1983).

- HANSON, W.R. and OSBORNE, J.W. "Epithelial cell kinetics in the small intestine of the rat 60 days after resection of 70 percent of the ileum and jejunum". Gastroenterology, 1087-1097, (1971).

- HANSON, W.R.; OSBORNE, J.W. and SHARP, J.G. "Compensation by the residual intestine after intestinal resection in the rat. I. Influence of amount of tissue removed". Gastroenterology, 72: 692-700, (1977a).

- HANSON, W.R.; OSBORNE, J.W. and SHARP, J.G. "Compensation by the residual intestine after intestinal resection in the rat. II. Influence of postoperative time interval". Gastroenterology, 72: 701-705, (1977b).

- HARRIS, E.D. "Copper transport: an overview". Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 196: 130-140, (1991).

- HARRIS, E. D. and DISILVESTRO, R.A. "Correlation of lysyl oxidase activation with the p-phenylenediamine oxidase activity (ceruloplasmin) in serum". Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 166: 528-531, (1981).

- HARRIS, D.I.M. and SASS-KORTSAK, A. "The influence of aminoacids on copper uptake by rat liver slices". J. Clin. Invest. 46: 659-677, (1967).

- 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 hemoglobin building in the rat". J. Biol. Chem. 77: 797-812, (1928).

- 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 Ernährungsmedizin, 13 (2): 57-61, (1988).

- HASCHKE, F.; ZIEGLER, E.E.; EDWARDS, B.B. and FOMAN, S.J. "Effect of fortification of infant formula on trace mineral absorption". J. Pediat. Gastroenterol. Nutr., 5: 768-773, (1986).

- HATTON D.; MUNTZEL, M.; ABSALON, J.; LASHLEY, D. and MC CARRON, D.A. "Dietary calcium and iron: effects on blood pressure and hematocrit in young spontaneously hypertensive rats". Am. J. Clin. Nutr., 53: 542-546, (1991).

- HAZELL, T. "Minerals in foods: dietary sources, chemical forms, interactions, bioavailability". Wld. Rev. Nutr. Diet., 46: 1-123, (1985).

- HAZEL, C.; MC CULLOCH, C. and BJERKNES, M. "Effects of 30 % intestinal resection on whole population cell kinetics of mouse intestinal epithelium". The Anatomical Record, 215: 35-41 (1986).

- HELMUT, A.; HUEBERS and FINCH, A.C. "Transferrin and transferrin receptors". Physiological Reviews, 67 (2): 520-582, (1987).

- HEMPE, J.M. and COUSINS, R.J. "Cysteine-rich intestinal protein binds zinc during transmucosal zinc transport". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 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". J. Nutr. 122 (1): 89-95, (1992).

- HENKIN, R.I.; FOSTER, D.M.; AAMODT, R.L. and BERMAN, M. "Zinc metabolism in adrenalcortical insufficiency: effects of carbohydrate active steroids". Metabolism, 33: 491-501, (1984).



- HENTZE, M.W.; ROUAULT, T.A.; CAUGHMAN, S.W.; DANCIS, A.; HARFORD, J.B. and KLAUSNER, R.D. "A cis-acting element is necessary and sufficient for translational regulation of human ferritin expression in response to iron". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 84: 6730-6734, (1987).

- HENTZE, M.W.; ROUAULT, T.A.; HARFORD, J.B. and KLAUSNER, R.D. "Oxidation-reduction and the molecular mechanism of regulatory RNA-protein interaction". Science, 244: 357-359, (1989).

- HERBERT, V. "Recommended dietary intakes (R.D.I.) of iron in humans". Am. J. Clin. Nutr. 45: 679-686, (1987).

- HERCBERG, S.; SOUSTRE, Y.; GALAN, P.; BERTHIER, A.M. SUQUET, J.P. and DUPIN, H. "Apports alimentaires en fer dans une population de femmes francaises en age de procreer". Ann. Nutr. Met., 28: 77, (1983).

- HIDALGO, J.; GIRALT, M.; GARVEY, J.S. and ARMARIO, A. "Physiological role of glucocorticoids on rat serum and liver metallothionein in basal and stress conditions". Am. J. Physiol., 254: E71-78, (1988).

- 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. Prasad, A.S. and Brewer, G.J. pag. 141-155, Alan, R. Liss, NY. (1988).

- HOADLEY, J.E. LEINART, A.S. and COUSINS, R.J. "Relationship of <sup>65</sup>Zn absorption kinetics to intestinal metallothionein in rats: Effects of zinc depletion and fasting". J. Nutr. 118: 497-502, (1988).

- HOFFMAN, K.E.; YANELLI, K. and BRIDGES, K.R. "Ascorbic acid and iron metabolism: alterations in lysosomal function". Am. J. Clin. Nutr. 54: 1188-1192, (1991).

- HOLMBERG, C.G. and LAURELL, C.B. "Investigations in serum copper. II isolation of the copper-containing protein and the description of some of its properties". Acta Chem. Scand., 2: 550-555, (1948).

- HSIEH, H.S. and FRIEDEN, E. "Evidence for ceruloplasmine as a copper transport protein". Biochem. Biophys. Res. Commun., 67: 1326-1331, (1975).

- HU, W-L.; MAZURIER, J.; SAWATZKI, G.; MONTREUIL, J. and SPIK, G. "Lactotransferrin receptor of mouse small-intestinal brush border". Biochem. J., 249: 435-441, (1988).

- HUEBERS, H.; BAUER, W.; HUEBERS, E.; CSIBA, E. and FINCH, C.A. "The behavior of transferrin iron in the rat". Blood, 57: 218-228, (1981).

- HUEBERS, H.A.; BEGUIN, Y.; POOTRAKUL, P.; EINSPAHR, D. and FINCH, C.A. "Intact transferrin receptors in human plasma and their relation to erythropoiesis". Blood, 75 (1): 102-107, (1990).

- HUEBERS, H.; CBISA, E. HUEBERS, E. and FINCH, C.A. "Competitive advantage of diferric transferrin in delivering iron to reticulocytes". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80: 300-304, (1983).

- HUEBERS, H.; CSIBA, E.; JOSEPHSON, B.; HUEBERS, E. and FINCH, C.A. "Interaction of human diferric transferrin with reticulocytes". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78: 621-625 (1982).

- HUEBERS, H.A. and FINCH, C.A. "The physiology of transferrin and transferrin receptors". Physiol. Rev., 67: 520-582, (1987).



- HUEBERS, H.A.; HUEBERS, E.; CSIBA, E.; RUMMEL, W. and FINCH, C.A. "The significance of transferrin for intestinal iron absorption". *Blood*, 61 (2): 283-290, (1983).

- HUEBERS, H.A.; JOSEPHSON, B.; HUEBERS, E.; CSIBA, E. and FINCH, C.A. "Occupancy of the iron binding sites of transferrin in human serum". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81: 4326-4330, (1984).

- HUMPHRIES, W.R.; BREMNER, I. and PHILLIPPO, M. "The influence of dietary iron on copper metabolism in the calf". In "Trace elements in man and animals" tama - 5. eds. Mills, C.F.; Bremner, I.; chester, J.K. Farnham Royal, Slough: Common Wealth Agricultural Bureaux, pág. 371-374, (1985).

- 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, J.R. AND JOHNSON, L.K. "Dietary protein, as egg albumen: Effects on bone composition, zinc bioavailability and requirements of rats, assessed by modified broken-line model". *J. Nutr.* 122: 161-169, (1992).

- HUNT, J.R. and LARSON, B.J. "Meal protein and zinc level interact to influence zinc retention by the rat". *Nutr. Res.* 697-705, (1990).

- HURLEY, L.S.; KEEN, C.L.; YOUNG, H.M AND LÖNNERDAL, B. "Effect of chelates on zinc concentration in rat maternal and pup tissues". *Federation proc.*, 41: 2982, (1982).

- IACOPETA, B.J. and MORGAN, E.H. "The kinetics of transferrin endocytosis and iron uptake from transferrin in rabbit reticulocyte". *J. Biol. Chem.*, 258: 9108-9115, (1983).

- IDZERDA, R.L.; HUEBERS, H.; FINCH, C.A. and MC KNIGHT, G.S. "rat transferrin gene expression: tissue-specific regulation by iron deficiency". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83: 3723-3727, (1986).

- INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE (I.L.S.I) EUROPE. "Recommended daily amounts of vitamins and minerals in Europe". *Nutrition Abstracts and Reviews (A)*, 60 (10): 827-842, (1990).

- ISOBE, K.; ISOBE, Y.; HUEBERS, H. and FINCH, C. "Immunohistochemical demonstration of transferrin in rat intestinal mucosa". In "structure and function of iron storage and transport proteins", eds. Urushizaki, I.; Aisen, P.; Listowsky, L. and Drysdale, J.W., pág. 423-424, Elsevier Sciences, Amsterdam. (1983).

- JACKSON, M.J.; JONES, D.A. and EDWARDS, R.H.T. "Zinc absorption in the rat". *Br. J. Nutr.* 46: 15-27, (1981).

- JACOBS, R.A.; SKALA, J.H.; OMAJE, S.T. and TURNLUND, J.R. "Effect of varying ascorbic acid intakes on copper absorption and ceruloplasmin levels of young men". *J. Nutr.* 117: 2109-2115, (1987).

- JACOBS, L.R.; POLAK, J.M.; BLOOM, S.R. and DOWLING, R.H. "Intestinal mucosal and fasting plasma levels of immunoreactive enteroglucagon in three models of intestinal adaptation: resection, hypothermic hyperphagic, and lactation in the rat". In "Mechanisms of intestinal adaptation". eds. Robinson, J.W.L.; Dowling, R.H. and Riecken, G.O., pág. 231-240, MTP. LANCASTER, U.K. (1981).

- 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).



- JANDL, J.H.; INMAN, J.H.; SIMMONS, R.L. and ALLEN, D.W. "Transfer of iron from serum iron-binding protein to human reticulocytes". *J. Clin. Invest.*, 38: 161-185, (1959).
- JANSUITTIVECHAKUL, O.; MAHONEY, A.W.; CORNFORTH, D.P.; HENDRICKS, D.G. and KANGSADALAMPAI, K. "Effect of treatment on bioavailability of meat and hemoglobin iron fed to anemic rats". *J. Food. Sci.*, 50 (2): 407-409, (1985).
- JANSUITTIVECHAKUL, O.; MAHONEY, A.W.; CORNFORTH, D.P.; HENDRICKS, D.G. and SISSON, D.V. "Effect of heat treatment on meat enhancement of dietary iron bioavailability of meat/ferrous sulfate and meat/hemoglobin mixtures fed to anemic rats". *J. Food. Sci.*, 51 (2): 263-267, (1986).
- 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.E. "Effect of various dietary carbohydrates on absorption and excretion of copper in the rat as measured by isotope dilution". *J. Trace Elem. Exp. Med.*, 143-155, (1988).
- JOHNSON, P.H. "Factors affecting copper absorption in humans and animals" In "Copper bioavailability and metabolism", edited by Constance, Kies, pág. 71-79, Plenum Publishing Corporation. (1990).
- JOHNSON, W.T. and CANFIELD, D.K. "Intestinal absorption and excretion of zinc in streptozotocin-diabetic rats as affected by dietary zinc and protein". *J. Nutr.* 115: 1217-1227, (1985).
- 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, M.A. and HOVE, S.S. "Development of anemia in copper-deficient rats fed high levels of dietary iron and sucrose". *J. Nutr.* 116: 1225-1238, (1986).
- JOHNSON, M.A. and MURPHY, C.L. "The adverse effects of dietary iron and ascorbic acid on copper utilization by copper-deficient and copper-adequate rats". *Am. J. Clin. Nutr.*, 47: 96-101, (1988a).
- JOHNSON, M.A. and MURPHY, C.L. "Anemia associated with changes in iron and iron-59 utilization in copper-deficient rats fed high levels of dietary ascorbic acid and iron". *Biol. Trace. Elem. Res.*, 17: 69-80, (1988b).
- JOHNSON, G.; JACO S, P. and PURVES, L.R. "Iron binding proteins of iron-absorbing rat intestinal mucosa". *J. Clin. Invest.*, 71: 1467-1467, (1983).
- JOHNSON, G.; JACOBS, P. and PURVES, L.R. "The effects of cytoskeletal inhibitors on intestinal iron absorption in the rat". *Biochem. Biophys. Acta.*, 843: 83-91, (1985).
- JOHNSON, P.E.; STUART, M.A. and BOWMAN, T.D. "Bioavailability of copper to rats from various foodstuffs and in the presence of diferent carbohydrates". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 187: 44-50, (1988a).
- JOHANSSON, C.; WALDIUS, G. and ROSSNER, S. "Fatty acid composition in serum lipids and adipose tissue in patients with morbus crohn after ileal resection". *Digestion*, 37: 171-177, (1987).
- JOSHI, J.G. and ZIMMERMAN, A. "Ferritin: an expanted role in metabolic regulation". *Toxicology*, 48 (1): 21-29, (1988).
- KÄGI, J.H.R. and KOJIMA, Y. eds. "Metallothionein II" In "Experientia Supplementum", vol. 7. Basel/Boston: Birkhäuser Verlag. pág. 754, (1987).



- KALPALATHIKA MRUDULA, P.V.; MAHONEY, A.; WHITTAKER, P. and HENDRICKS, D. "Incorporation of absorbed iron from different dietary sources into hemoglobin". *Nutrition Research*, 11: 185-195, (1991).
- KANE, A.P. and MILLER, D.D. "In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability". *Am. J. Clin. Nutr.* 39: 393-401, (1984).
- KARBACH, U. and RUMMEL, W. "Trans and paracellular calcium transport across the colonic mucosa after short and long term treatment with 1, 25-dihydroxy vitamin D<sub>3</sub>". *Eur. S. Clin. Invest.*, 16: 347-351, (1986).
- KATAOKA, M. and TAVASSOLI, M. "Ceruloplasmin receptors in liver cell suspensions are limited to the endothelium". *Exp. Cell. Res.*, 155: 232-240, (1984).
- KATAOKA, 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, (1985).
- KATAOKA, M. and TAVASSOLI, M. "Identification of ceruloplasmin receptors on the surface of human blood monocytes, granulocytes and lymphocytes". *Exp. Hematol.* 13: 806-810, (1985).
- KAWAKAMI, H. and LÖNNERDAL, B. "Isolation and function of a receptor for human lactoferrin in human intestinal brush-border membranes". *American Journal of Physiology*, 261 (5, I): G841-G846, (1991).
- KEELAN, M.; WALTER, K. and THOMSON, A.B.R. "Resection of rabbit ileum: effect on brush border membrane enzyme markers and lipids". *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 63: 1528-1532, (1985).
- KEEN, C.L. and GERSHWIN, M.E. "Zinc deficiency and immune function". *Annual Review of Nutrition*, (1990).
- KEEN, C.L.; SALTMAN, P. and HURLEY, L. "Copper nitriloacetate: a potent therapeutic agent in the treatment of a genetic disorder of copper metabolism". *Am. J. Clin. Nutr.*, 33: 1789-1800, (1980).
- KING, J.C. and TURNLUND, J.R. "Human zinc requirements" In "Zinc in human biology", Mills, C.F. ed. In 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., pág. 277-286, Edinburgh: Livingstone, (1970).
- KLEVAY, L.M. "The role of copper, zinc and other chemical elements in ischemic heart disease". In "Metabolism of trace element in man". vol. 1. edited by Rennert, O.M. and Chan, W.Y. pág. 129-157, Developmental Aspects. CRC Press, Boca Raton, Fla. (1984).
- KLEVAY, L.M.; INMAN, L.; JOHNSON, K.; LAWLER, M.; MAHALKO, J.R.; MILNE, D.B.; LUKASKI, H.C.; BOLONCHUK, W. and SANDSTEAD, H.H. "Increased cholesterol in plasma in a young man during experimental copper depletion". *Metabolism*, 33: 1112-1118, (1984).
- KOIVISTO, P. and MIETTINEN, T.A. "Adaptation of cholesterol and bile acid metabolism and vitamin B<sub>12</sub> absorption in the longterm followup after partial ileal bypass". *Gastroenterol.*, 90: 984-989, (1986).
- KONDO, H.; SAITO, K.; GRASO, J.P. and AISEN, P. "Iron metabolism in the erythrophagocytosing kupffer cell". *Hepatology*, 8 (1): 32-38, (1988).



- KOO, S.I.; FULLMER, C.S. and WASERMAN, R.H. "Effect of cholecalciferol and 1, 25-dihydroxycholesterol on the intestinal absorption of zinc in the chick". *J. Nutr.*, 110: 1813-1818, (1980).

- KOPP, S.L.; KLEVAY, L.M. and FLIKSIK, J.M. "Physiological and metabolic characterization of a cardiomyopathy induced by chronic copper deficiency". *Am. J. Physiol.*, 245: H855-H866, (1983).

- KORUDA, M.J.; ROLANDELLI, R.H.; SETTLE, R.G.; SAUL, S.H. and ROMBEADU, J.L. "The effect of a pectin-supplemented elemental diet on intestinal adaptation to massive small bowel resection". *J. Parenteral and Enteral Nutr.*, 10: 343-350, (1986).

- KOWARSKI, S.; BLAIN-STANEK, C.S. and SCHACTER, D. "Active transport of zinc and identification of zinc-binding protein in rat jejunal mucosa". *Am. J. Physiol.* 226: 401-407, (1974).

- KREZOSKI, S.K.; VILLALOBOS, J.; SHAW, C.F. and PETERING, D.H. "Kinetic lability of zinc bound to metallothionein in Ehrlich cells". *Biochem. J.* 255: 483-491, (1988).

- KRIEGER, I. "Picolinic acid in the treatment of disorders requiring zinc supplementation". *Nutrition Reviews*, 38: 148-180, (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. Pediatr.*, 96: 32-35, (1980).

- KÜHN, L.C. "The transferrin receptor: a key function in iron metabolism". *Schweiz Med. Wochenschr.*, 119 (39): 1319-1326, (1989).

- KÜHN, L.C. "Annotation. mRNA-protein interactions regulate critical pathway in cellular iron metabolism". *British Journal of Haematology*, 79: 1-5, (1991).

- KÜHN, L.C. "Iron-transferrin requirements and transferrin receptor expression in proliferating cells" In "Iron transport and storage", edited by Ponka, P.; Schulman, H.M. and Woodworth, R.C., pág. 149-191, CRC Press, Boca Raton, Florida, (1990).

- KUIPERS, P.J. and COUSINS, R.J. "Zinc accumulation in rat liver parenchymal cells in primary culture and response to glucagon and dexamethasone" (abstr.). *Federation Proc.*, 43: 1403, (1984).

- KURTIS, K.J.; SLEISENGER, M.H. and KIM, Y.S. "Protein digestion and absorption after massive small bowel resection". *Digestive Diseases and Sciences*, 29 (9): 834-840, (1984).

- KWAN, W.C.; QUAMNE, C.A. and FREEMAN, H.J. "Sodium dependent D-glucose transport in brush-border membrane vesicles following massive distal small bowel resection in the rat". *Gastroenterology*, 92: 1987-1993, (1987).

- LAU, S-J. and SARKAR, B. "Ternary co-ordination complex between human serum albumin, copper (II) and L-histidine". *J. Biol. Chem.* 246: 5938-5943, (1971).

- LAURIE, S.H. and PRATT, D.E. "Copper-albumin: what is its functional role?". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 135: 1064-1068 (1986).

- LAYRISSE, M.; MARTINEZ-TORRES, C.; LEETS, I.; TAYLOR, P. and RAMIERZ, J. "Effect of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans". *J. Nutr.* 114: 217-223, (1984).

- LEE, H.H.; PRASAD, A.S.; BREWER, G.J. and OWYANG, C. "Zinc absorption in human small intestine". *Am. J. Physiol.*,



256 (1, 5): G87-G91, (1989).

- LEI, K.Y. "Dietary copper: cholesterol and lipoprotein metabolism". Annual Reviews of Nutrition, 11: 265-283, (1991).

- LEIBOLD, E.A. and MUNRO, H.N. "Cytoplasmic protein binds in vitro to highly conserved sequence in the 5' untranslated region of ferritin heavy- and light-subunit mRNAs". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85: 2171-2175, (1988).

- LI, T-K. y VALLEE, B.L. "Papel bioquímico y nutricional de los oligoelementos". In "Nutrition en la salud y en la enfermedad" ed. Goodhart, R.S. y Shills, M.E., pág. 386-394, (1987).

- LINDER, M.C. "Nutrición y metabolismo de los elementos traza". In: "Nutrición aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Ed. Eunsa ediciones universidad de Navarra, S.A. Pamplona. pág. 189-241, (1988).

- LOMBECK, I.; SCHNIPPERING, H.G.; RITZL, F.; FEINENDEGEN, L.E. and BRAMNER, H.J. "Absorption of zinc in acrodermatitis enteropathica". Lancet, 1:855, (1975).

- LÖNNERDAL, B. "Trace element absorption in infants as a foundation to setting upper limits for trace elements in infant formulas". J. Nutr., 119: 1839-1845, (1989).

- LÖNNERDAL, B.; HOFFMAN, B. and HURLEY, L.S. "Zinc and copper binding proteins in humans milk". Am. J. Clin. Nutr., 1170-1176, (1982).

- LÖNNERDAL, B.; SANDBERG, 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 (2): 211-214, (1989).

- LÓPEZ-ALIAGA, I.; BARRIONUEVO, M.; CAMPOS, M.S.; COVES, F. and LISBONA, F. "Influence of intestinal resection and type of diet on digestive utilization of magnesium in rats". Internat. J. Vit. Nutr. Res., 61: 61-66, (1991).

- LÓPEZ-ALIAGA, I.; CAMPOS, M.S.; BARRIONUEVO, M.; LISBONA, F. and COVES, F. "Influence of medium chain triglycerides and vitamin D<sub>3</sub> on digestive and metabolic utilization of protein in rats with intestinal resection". Die Nahrung, 34 (2): 181-188, (1990).

- LÓPEZ-ALIAGA, I.; CAMPOS, M.S.; BARRIONUEVO, M.; COVES, F. and LISBONA, F. "Influence of dietary fat on nutritive utilization of protein in intestinally resected rats". Die Nahrung, 35 (3): 285-292, (1991).

- LOZOFF, B. and BRITTENHAM, G.M. "Behavioral aspects of iron deficiency". Prog. Haematol., 14: 23-53, (1986).

- LSRO (LIFE SCIENCES RESEARCH OFFICE). "Summary of a report on assessment of the iron nutritional status of the united states population". Am. J. Clin. Nutr. 42: 1318-1330, (1985).

- MAC FARLANE, B.J.; BAYNES, R.D.; BOTHWELL, T.H. and SCHMIDT, U. "The effect of lupines on iron absorption". Eur. J. Clin. Nutr., 42: 683-687, (1988).

- MAK, V.; POWELL, L.W. and HALLIDAY, Y.W. "Detection and isolation of a hepatic membrane receptor for ferritin". J. Biol. Chem., 258: 4672-4675, (1983).

- MACKLER, B.; PERSON, R. and GRACE, R. "Iron deficiency in the rat: effects on energy metabolism in brown adipose tissue". Pediatric Research. 19 (10): 989-991, (1985).

- MARCEAU, N. and ASPIN, N. "Distribution of ceruloplasmin-bound <sup>67</sup>Cu in the rat". Am. J. Physiol. 222: 106-110, (1972).



- MARCEAU, N.; ASPIN, N. and SASS-KORTSAK, A. "Absorption of <sup>64</sup>Cu from gastrointestinal tract of the rat". *Am. J. Physiol.* 218: 377-383, (1970).
- MARTIN, M.T.; LICKLIDER, K.F.; BRUSH-MILLER, J.G. and JACOBS, F.A. "Detection of low-molecular-weight copper (II) and zinc (II) interactions following ethambutol administration. *Agents actions*, 11: 296-305, (1981).
- MARTINEZ-TORRES, C.; LEEB, I.; TAYLOR, P.; RAMIREZ, J.; CAMACHO, M.V. and LAYRISSE, M. "Heme, ferritin and vegetable iron absorption in humans from meals denatured of heme iron during the cooking of beef". *J. Nutr.* 116: 1720-1725, (1986).
- MASON, K.E. "A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man". *J. Nutr.* 109: 1979-2066, (1979).
- MAY, B.K.; BHASKER, C.R.; BAWDEN, M.J. and COX, T.C. "Molecular regulation of 5-aminolevulinate synthase. Diseases related to heme biosynthesis". *Molecular Biology and Medicine*, 7: 405-421, (1990).
- 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).
- MAZZANTI, R.; SRAI, K.S.; DEBNAM, E.S.; ROSS, A.M. and GENTILINI, P. "The effect of chronic ethanol consumption on iron absorption in rats". *Alcohol. Alcohol*, 22 (1): 47-52, (1987).
- MC ARDLE, H.J.; GROSS, S.M. and DANKS, D.M. "The role of albumin in copper uptake by hepatocytes and fibroblasts" In "Proceeding of trace element metabolism in man and animals (tema 6). In Press, (1988).
- MC CANCE, R.A. and WIDDOWSON, E.M. "Absorption and excretion of iron". *Lancet*, 2: 680-684, (1937).
- MC GINNISS, M.H.; DEAN, A "Expression of red cell antigens by K<sub>562</sub> human leukemia cells before and after induction of hemoglobin synthesis by hemin". *Transfusion*, 25: 105-109, (1985).
- MEADOWS, N.J.; GRAINGER, S.L.; RUSE, W.; KEELING, P.W.N. and THOMPSON, R.P.H. "Oral iron and bioavailability of zinc". *Br. Med. J.* 287: 1013-1014, (1983).
- MEHRA, R.K. and BREMNER, I. "Species differences in the occurrence of copper-metallothionein in the particulate fractions of the liver of copper-loaded animals". *Biochem. J.* 219: 539-546, (1984).
- 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).
- MENARD, M.P.; OESTREICHER, P. and COUSINS, R.J. "Zinc transport by isolated, vascularly perfused rat intestine and brush border vesicles". In "Nutritional bioavailability of zinc", edited by Inglett, G.C.; Washington, D.C: Am. Chem. Soc., pág. 233-246, (1983).
- MILNE, D.B.; CANFIELD, W.K.; GALLAGER, S.K.; HUNT, J.R. and KLEVAG, L.M. "Ethanol metabolism in post menopausal women fed a diet marginal in zinc". *Am. J. Clin. Nutr.*, 46: 688-693, (1987).



- MONTEIRO, H.P.; VILE, G.F. and WINTERBOURN, C.C. "An iron chelator is not required for reductive iron release from ferritin by radical generating systems". *Fre Radic. Res. Commun.*, 7 (1): 33-35, (1989).

- MONSEN, E.R. "Iron nutrition and absorption: dietary factors which impact iron bioavailability". *Journal of the American Dietetic Association*, 88 (7): 786-790, (1988).

- MORGAN, E.H. "Inhibition of reticulocyte iron uptake by  $\text{NH}_4\text{Cl}$  and  $\text{CH}_3\text{NH}_2$ ". *Biochem. Biophys. Acta.*, 642: 119-134, (1981b).

- MORGAN, W.T. "Interactions of the histidine-rich glycoprotein of serum with metals". *Biochemistry*, 20: 1504-1061 (1981b).

- MORGAN, R.F. and O'DELL, B.L. "Effect of deficiency on the concentration of catecholamines and related enzyme activities in the rat brain". *J. Neurochem.* 28: 207-213, (1977).

- MORGAN, E.H.; SMITH, G.D. and PETERS, T.J. "Uptake and subcellular processing of  $^{59}\text{Fe}$ - $^{125}\text{I}$ -labeled transferrin by rat liver". *Biochem. J.* 237: 163-173 (1986).

- MUGITANI, K. "Detection of transferrin in the digestive juices of rat and its possible role in iron absorption from the small intestine". *Nippon Ika Daigaku Zasshi*, 56 (2): 144-145, (1989).

- MUIR, A. and HOPFER, U. "Regional specificity of iron uptake by small intestine brush-border membranes from normal and iron-deficient mice". *American Journal of Physiology*, 248 (3,I): G376-G379, (1985).

- 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 cytoplasm". *Cell*, 53: 815-825, (1988).

- MÜLLNER, E.W.; NEUPERT, B. and KÜHN, L.C. "A specific mRNA-binding factor regulates the iron-dependent stability of cytoplasmic transferrin receptor mRNA". *Cell*, 58: 373-382, (1989).

- MURILLO, M.L.; CAMPOS, M.S.; MATAIX, F.J. and VARELA, G. "Influencia de las resecciones intestinales en la rata sobre algunos aspectos de las secreciones digestivas". *Revista Española de Fisiología*, 34: 365-370, (1978).

- MURRAY, E.J.; LANGHAUS, B. and MESSER, H.H. "The effects of zinc and calcium deficiencies on the rate of bone resorption in the rat". *Nutr. Res.* 1: 107-115, (1981).

- NAKAGAWA, Y. "Regulation of ferritin and transferrin synthesis in hepatocytes depending on iron status of rats". *Nippon Ika Daigaku Zasshi*, 56 (5): 494-500, (1989).

- NATHANSON, M.H. and MC LAREN, G.D. "Computer simulation of iron absorption: regulation of mucosal and systemic iron kinetics in dogs". *J. Nutr.*, 117 (6): 1067-1075, (1987).

- NAVEH, Y.; BENTUR, L. and DIAMOND, E. "Site of zinc absorption in dog small intestine". *J. Nutr.*, 118 (1): 61-64, (1988).

- NICHOLS, G.M.; PEARCE, A.R.; ALVEREZ, X.; BIBB, N.K.; NICHOLS, K.Y.; CHARLOTTE, B.; GLASS, A. and GLASS, J. "The mechanisms of nonheme iron uptake determined in IEC-6 rat intestinal cells". *J. Nutr.* 122: 945-952, (1992).

- NIELSEN, F.H.; ZIMMERMAN, T.J. and SHULER, T.R. "Interactions among nickel, copper and iron in rats". *Biol. Trace. Elem. Res.*, 4: 125-143, (1982).



- NUNEZ, M.T.; COLE, E.S. and GLASS, J. "The reticulocyte plasma membrane pathway of iron uptake as determined by the mechanism of  $\text{O}, \text{O}'$ -dipyridyl inhibition". *J. Biol. Chem.*, 258: 1146-1151, (1983).
- NUNEZ, M.T. and GLASS, J. "The transferrin cycle and uptake in rabbit reticulocytes". *J. Biol. Chem.*, 258: 9676-9680, (1983).
- O'DELL, B.L. "Roles for iron and copper in connective tissue biosynthesis". *Philos. Trans. R. Soc.*, 294: 91-104, (1981).
- O'DELL, B.L. "Mineral interactions relevant to nutrient requirements". *J. Nutr.*, 119: 1832-1838, (1989).
- O'DONNELL, M.W. and COX, T.M. "Microvillar iron-binding glycoproteins isolated from the rabbit small intestine". *Biochem. J.*, 202: 107-115, (1982).
- 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).
- OESTREICHER, P. and COUSINS, R.J. "Zinc uptake by basolateral membrane vesicles from rat small intestine". *J. Nutr.* 119: 639-646, (1989).
- OHKOHCHI, N.; IGARASHI, Y.; TAZAWA, Y.; ABE, H.; KOBAYASHI, Y.; OHI, R. and KASAI, M. "Evaluation of the nutritional condition and absorptive capacity of nine infants with short bowel syndrome". *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 5: 198-206, (1986).
- OMAJE, S.T.; POTTER, B.D. and POOVAIAH, B.P. "Alteration of guinea pigs erythrocyte superoxide dismutase activity by dietary antioxidants". *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 56: 161-164, (1986).
- O'NEIL-CUTTING, M.A.; BOMFORD, A. and MUNRO, H.N. "Effect of excess dietary zinc on tissue storage of iron in rats". *J. Nutr.*, 111: 1969-1979, (1981).
- ORANE, S.J.; GOODE, C.A. and LINDER, M.C. "Binding and uptake of copper from ceruloplasmin". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 139: 822-829, (1986).
- OWEN, C.A. "Metabolism of radiocopper ( $\text{Cu}^{64}$ ) in the rat". *Am. J. Physiol.*, 209: 900-904, (1985).
- PADRÓN, H.M.; GONZÁLEZ, P.L.; REBOSO, P.J.; MORALEZA, C.N. and GARCÍA, P.C. "Effect of oral contraceptives on zinc and copper nutritional state of young women". *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 2 (2): 219-299, (1988).
- PALLARÉS, I.; LISBONA, F.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M.J.M. and CAMPOS, M.S. "Effects of iron deficiency on the digestive utilization of iron, phosphorus, calcium and magnesium in rats". *Br. J. Nutr.*, (en prensa).
- PALLAUF, J.; KRAMER, K.; MARKWITAN, A. and EBEL, D. "Effect of a citric acid supplement on the bioavailability of zinc from maize germe". *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 29 (1): 27-38, (1990).
- PARMLEY, R.T.; BARTON, J.C. and CONRAD, M.E. "Ultrastructural cytochemical identification of the siderophilic enterocyte". *J. Histochem. Cytochem.* 32: 724-730, (1984).
- PATTISON, S.E. and COUSINS, R.J. "Characterization of a labile intracellular zinc pool and its relationship to zinc uptake/exchange in rat hepatocytes (abstr). *Federation. Proc.* 43: 3712, (1984).



- PERCIVAL, S.S. and HARRIS, E.D. "Ascorbate enhances copper transport from ceruloplasmin into human K<sub>562</sub> cells". J. Nutr., 119: 779-784, (1989).
- PERCIVAL, S.S. and HARRIS, E.D. "Copper transport from ceruloplasmin: characterization of the cellular uptake mechanism". Am. J. Physiol. 258: C140-C146, (1990).
- PILACZYNSKA, E.; ZACHARA, B. and RYBAKOWSKI, J. "Selenium and zinc in alcohol dependence: clinical and biochemical correlates". In "International trace element symposium" 6<sup>th</sup> ed. VOL.3, pág. 938-944, (1989).
- PLANELLS, E.; ARANDA, P.; LERMA, A. and LLOPIS, J. "Changes in bioavailability and tissular distribution of zinc caused by Mg-deficiency in rats". Am. J. Clin. Nutr., en prensa.
- POLLITT, E. "Effects of iron deficiency on mental development: methodological considerations and substantive finding". In "Nutritional anthropology", edited by Johnson, F.E. pág. 225-254, Alan, R. Liss, New York, (1987).
- PORTER, H. "The particulate half-cystine-rich copper protein of newborn liver". Biochem. Biophys. Res. Commun. 56: 661-668, (1974).
- PRASAD, A.S. "Deficiency of zinc in man and its toxicity". In "Trace elements in health and disease" . vol. I, Zinc and copper, edited by Prasad, A.S., pág. 1-20, Academic Press, New York. (1976).
- PRASAD, A.S. "Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model". Am. J. Clin. Nutr., 53: 403-412, (1991).
- PRASAD, A.S.; BREWER, G.J.; SCHOOMAKER, E.B. and RABBANI, P. "Hypocupremia induced by zinc therapy in adults". J. Am. Med. Assoc. 240: 2166-2168, (1978).
- QUATERMAN, J. "Metal absorption and the intestinal mucus layer". Digestion, 37: 1-9, (1987).
- RAFFIN, S.B.; WOO, C.H.; ROOST, K.T.; PRICE, D.C. and SCHMID, R. "Intestinal absorption of hemoglobin iron-heme receptor of the pig". Biochem. Biophys. Acta., 700: 137-142, (1982).
- RAMA, R.; SANCHEZ, J. and OCTAVE, J.N. "Iron mobilization from cultured rat bone marrow macrophages". Biochem. Biophys. Acta., 968 (1): 51-58, (1988).
- RAO, B.S. and PRABHAVATHI, T. "Tannin content of foods commonly consumed in India and its influence on ionisable iron". J. Sci. Food. Agric., 33: 1-8, (1982).
- READ, N.R.; MC FARLANE, A.; KINSMAN, R.J.; BATES, T.E.; BLACKALL, N.W.; FARRAR, G.B.J.; HALL, J.C.; MOS, G.; MORRIS, A.P.; O'NEIL, B.; WELCH, J.; LEE, Y. and BLOOM, S.R. "Effects of infusion of nutrient solutions into the ileum on gastrointestinal transit and plasma levels of neurotensin and enteroglucagon". Gastroenterol. 86: 274-280, (1984).
- RECOMMENDED DIETARY ALLOWANCES. "Oligoelementos". In "Raciones dietéticas recomendadas" 1<sup>a</sup> edición española de la 10<sup>a</sup> edición original, (1991).
- REFSUM, S.B.; SCHREINER, BB-I. "Regulation of iron balance by absorption and excretion. A critical review and a new hypothesis". Scand. J. Gastroenterol., 19: 867-874, (1984).
- REISER, S.; SMITH, J.C.; MERTZ, W.; HOLBROOK, J.T.; SCHOLFIELD, D.J. "Metallothionein and its relationship to the metabolism of dietary zinc in the rat". J. Nutr. 106: 1591-1599, (1976).



- REISER, S.; SMITH, J.C.; MERTZ, W.; HOLBROOK, J.T.; SCHOLFIELD, D.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).
- ROCHE, C.; BELLATON, C.; PANSU, D.; MILLER, A.III and BRONNER, F. "Localization of vitamin D-dependent active  $Ca^{2+}$  transport in rat duodenum and relationship to CaBP". *Am. J. Physiol.* 251, G314-G320, (1986).
- ROCKWAY, S.W.; BRANNON, P.M. and WEBER, C.W. "Bioavailability of copper to dietary fiber in mice and rats". *J. Food. Sci.*, 52: 1423-1427, (1987).
- RUDO, N.D. and ROSENBERG, I.H. "Chronic glucagon administration enhances intestinal transport in the rat". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 142: 521-525, (1973).
- ROSENBLUM, C.I. and LEACH, R.M. "Biology copper excretion in the chicken". *Biol. Trace. Elem. Res.* 8: 47-63, (1985).
- ROSSANDER, L. "Effect of dietary fiber on iron absorption in man". *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.*, 129: 68-72, (1987).
- ROUAULT, T.A.; HENTZE, M.W.; CAUGHMAN, S.W.; HARFORD, L.B. and KLAUSNER, R.D. "Binding of a cytosolic protein to the iron-responsive element of human ferritin messenger RNA". *Science*, 241: 1207-1210, (1988).
- RUDOLPH, J.R.; REGOECZI, E.; SOUTHWARD, S. "Quantification of hepatocytes transferrin receptors with poly and monoclonal antibodies and protein A". *Histochemistry*, 88: 187-192, (1988).
- SAENKO, E.L. and YAROLOV, A.I. "Studies on receptor interaction of ceruloplasmin with human red blood cells". *Biochem. Int.*, 20:215-225, (1990).
- SAHAGIAN, B.M.; HARDING-BARLOW, I. and PERRY, H.M. "Transmural movements of zinc, manganese, cadmium and mercury by rat small intestine". *J. Nutr.* 93: 291-300.
- SALTMAN, P.; ALEX, T. and MC CORMACK, B. "The accumulation of copper by rat liver slices". *Arch. Biochem. Biophys.* 83: 538-547, (1959).
- SANDSTEAD, H.H. "Zinc nutrition in the United States". *Am. J. Clin. Nutr.*, 26: 1251-1260, (1973).
- SANCHEZ, J.; CASAS, M. and RAMA, R. "Effect of chronic ethanol administration on iron metabolism in the rat". *Eur. J. Haematol.*, 41 (4): 321-325, (1988).
- SARKAR, B.; DIXON, H.B.F. and WEBSTER, D. "Removal of transamination and scission of residues from peptides representing the copper-transport site of serum albumin". *Biochem. J.* 173: 895-897, (1978).
- SARNA, S.; CONDON, R.E. and COWLES, V. "Enteric mechanism of initiation of migrating myoelectric complexes in dogs". *Gastroenterol.* 84, 814-822, (1983).
- SATO, M.; BREMNER, I. "Biliary excretion of metallothionein and a possible degradation product in rats injected with copper and zinc". *Biochem. J.* 223: 475-479, (1984).
- SATO, M.; MEHRA, R.K. and BREMNER, I. "Measurement of plasma metallothionein I in the assessment of zinc status of zinc-deficient and stressed rats". *J. Nutr.*, 114: 1683-1689, (1984).
- SCHMITT, R.C.; DARWISH, H.M.; CHENEY, J.C. and ETTINGER, M.J. "Copper transport kinetics by isolated rat hepatocytes". *Am. J. Physiol.* 244 (Gastrointest. Liver Physiol. 7): G183-G191, (1983).



- SHULL, G.E. and THEIL, E.C. "Translational control of ferritin synthesis by iron in embryonic reticulocytes of the bullfrog". *Journal of Biological Chemistry*, 257: 14187-14191, (1982).

- SCHÜMANN, K.; ELSENHANS, B.; EHTECHAMI, C. and FORTH, W. "Rat intestinal iron transfer capacity and the longitudinal distribution of its adaptation to iron deficiency". *Digestion* 46 (1): 35-45, (1990).

- SCHÜMANN, K.; ELSENHANS, B.; HUNDER, G.; STRUGALA, G. and FORTH, W. "The increase of the intestinal iron absorption in growing rats and mice after 8 days of iron-deficient feeding". *Z. Versuchstierkd.* 32: 261-267, (1989).

- SCHWARZ, F. J. and KIRCHGESSNER, M. "Metabolic dependence of intestinal uptake and transfer of different zinc compounds after deficient and adequate zinc intake". *J. Am. Physiol. Am. Nutr. and Feed.* 39, 68-83, (1977).

- SCHWARZ, G. and PALLAUF, J. "Influence of dietary zinc deficiency on the activity of various zinc metalloenzymes in growing rabbits". *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 61 (2-3): 129-138, (1989).

- SCOTT, B.J. and BRADWELL, A.R. "Identification of the serum binding proteins for iron, zinc cadmium, nickel and calcium". *Clin. Chem.* 29: 629-633, (1983).

- SCOTT, A.K.; DE PAULA, J.A.; BERMAN, J.M.; FOX, A.D.; ROMBEAU, J.L. and SETTLE, R.G. "Experimental short-bowel syndrome: effect of an elemental diet supplemented with short chain triglycerides". *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 954-962, (1991).

- 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).

- SHAH, B.G. and BELONJE, B. "Marginal or excess dietary iron and rat tissue trace element levels". *Trace Elements in Medicine*, 8 (3): 143-148, (1991).

- SHARMA, G.; SANDHIR, R.; NATH, R. and GILL, K. "Effect of ethanol on cadmium uptake and metabolism of zinc and copper in rats exposed to cadmium". *J. Nutr.*, 121: 87-91, (1991).

- SIBILLE, J.C.; OCTAVE, J.N.; SCHNEIDER, Y.-J. "Transferrin protein and iron uptake by cultured hepatocytes". *FEBS Lett.*, 150: 365-369, (1982).

- SIBILLE, J.C.; OCTAVE, J.N.; SCHNEIDER, Y. "Subcellular localization of transferrin protein and iron in the perfused rat liver". *Eur. J. Biochem.*, 155: 47-55, (1986).

- SIEGENBERG, D.; BAYNES, R.D.; BOTHWELL, T.H.; MAC FARLANE, B.J. and LAMPARELLI, R.D. "Factors involved in the regulation of iron transport through reticuloendothelial cells". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 193 (1): 65-72, (1990).

- SIEGENBERG, D.; BAYNES, R.D.; BOTHWELL, T.H.; MAC FARLANE, B.J.; LAMPARELLI, R.D.; CAR, N.G.; MAC PHAIL, P.; SCHMIDT, U.; TAL, A. and MAYET, F. "Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption". *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 537-541, (1991).

- SIMON, S.R.; BRANDA, R.F.; TINDLE, B. H. and BURNS, S.L. "Copper deficiency and sideroblastic anemia associated with zinc ingestion". *Am. J. Haematol.*, 28: 181-183, (1988).

- SMITH, K.T. and COUSINS, R.J. "Quantitative aspects of zinc absorption by isolate, vascularly perfused rat intestine". *J. Nutr.*, 110: 316-323, (1980).



- SMITH, K.T.; FAILLA, M.L. and COUSINS, R.J. "Identification of albumin as the plasma carrier for zinc absorption by perfused rat intestine". *Biochem. J.* 184: 627-633, (1979).
- SOARES, J.H.; SHERMAN, S. and SINHA, R. "Effect of cholecalciferol, 1, 25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and zinc on bone metabolism in the rat". *Nutrition Research*, 7: 151-164, (1987).
- SOLOMONS, N.W. "Zinc and copper". In: "Modern nutrition in health and disease". edited by Shils, M. E. and Young, V.R., 7<sup>th</sup> ed. pág. 238-262, (1988).
- SOLOMONS, N.W. and COUSINS, R.J. "Zinc". In "Absorption and metabolism of mineral nutrients", edited by Solomons, N.W. and Rosenberg, I. H. pág. 125-197, New York: Liss, (1984).
- SOLOMONS, N.W. and JACOB, R.A. "Studies on 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 ADHAM, N.F. "Role of prostaglandin E<sub>2</sub> in zinc absorption in the rat". *Am. J. Physiol.* 234 (Endocrinol. Metab. Gastrointest. Physiol. 3): E99-E105, (1978).
- SONG, M.K. and ADHAM, 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 (3): 417-428, (1988).
- STACEY, N.H. and KLAASEN, C.D. "Zinc uptake by isolated rat hepatocytes". *Biochem. biophys. Acta.* 640: 693-697, (1981).
- STACK, T.; AGGETT, P.J. aITKEN, E. and LLOYD, D.J. "Routine L-ascorbic acid supplementation does not alter iron, copper AND zinc balance in low birth-weight infants fed a cow's-milk formula". *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 10 (3): 351-356, (1990).
- STEEL, L. and COUSINS, R.J. "Kinetics of zinc absorption by luminally and vascularly perfused rat intestine". *Am. J. Physiol.* 248: G46-G53, (1985).
- STEVENS, M.D.; DISILVESTRO, R.A. and HARRIS, E.D. "Specific receptor for ceruloplasmin in membrane fragments from aortic and heart tissues". *Biochemistry*, 23: 261-266, (1984).
- STIEHL, A.; RAEDSCH, R. and RUDOLPH, G. "Ileal excretion of acids: comparison with biliary bile composition and effecte of urso-deoxycholic acid treatment". *Gastroenterol*, 99: 1201-1206, (1988).
- STUART, M.A. and JOHNSON, P.E. "Intrinsic labeling of confinement-reared gosling with <sup>65</sup>Cu for use in human absorption studies". *Nutr. Res.*, 6: 203-213, (1987).
- SUSO, F.A. and EDWARDS, H.M. "Ethylenediaminetetraacetic 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 of EDTA, histidine and acetylsalicylic acid to zinc-protein complex in intestinal content mucosa and blood plasma". *Nature*, 236: 230- 232, (1972).
- TAKASHI, S. "Stimulatory effect of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors". *Br. J. Nutr.*, 58: 95-103 (1987).



- TASMAN-JONES, C.; KAY, R.G. and LEE, S.P. "Zinc and copper deficiency with particular reference to parenteral nutrition". *Sug. 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).

- TAYLOR, P.G.; MARTINEZ-TORRES, C.; ROMANO, E.L. and LAYRESSE, M. "The effect of cysteine-containing peptides released during meat digestion on iron absorptin in humans". *Am. J. Clin. Nutr.*, 43: 68-71, (1986).

- THANNOUN, A. M.; MAHONEY, A.W.; HENDRICKS, D.G. and ZHANG, D. "Effect of meat-bread mixtures on bioavailability of total dietary iron for Anemic Rats". *Cereal. Chem.* 64 (6): 399-403, (1987).

- THOMPSON, R.P.H. "Assessment of zinc status". *Proceeding of the nutrition society*, 50 (1): 19-28, (1991).

- THOMSON, A.B.R. "The level of dietary protein and carbohydrate has a different effect on intestinal uptake of hexoses and lipids in rabbits with an ileal resection than in those with an intact intestinal tract". *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 65: 219-225, (1987).

- THORSTENSEN, K. and ROMSLO, I. "Uptake of iron from transferrin by isolated hepatocytes". *Biochem. Biophys. Acta.*, 804: 200-208, (1984).

- THORSTENSEN, K. and ROMSLO, I. "Uptake of iron from transferrin by isolated hepatocytes: the effect of cellular energy metabolism on intracellular distribution of iron and transferrin". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 47: 837-846, (1987).

- TODD, W.R.; ELVEHJEM, C.A. and HART, E.B. "Zinc in the nutrition of the rat". *Am. J. Physiol.*, 107: 146-156, (1934).

- 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 <sup>65</sup>Cu". *Am. Clin. Nutr.*, 49: 870-878, (1989).

- 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  $\alpha$ -cellulose". *Am. J. Clin. Nutr.*, 42: 18-23, (1985).

- TURNLUND, J.R.; SWANSON, C.A. and KING, J.C. "Copper absorption and retention in pregnant women fed diets based on animal and plant proteis". *J. Nutr.*, 113: 2346-2352, (1983).

- TURNLAND, 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).

- TYRALA, E.E.; BRODSKY, N.L. and AUERBACH, V.H. "Urinary copper losses in infants receving free aminoacid solutions". *Am. J. Clin. Nutr.*, 35: 542-545, (1982).

- 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).

- VALBERG, L.S.; FLANAGAN, P.R. and CHAMBERLAIN, M.J. "Effects of iron, tin and copper on zinc absorption in human". *Am. J. Clin. Nutr.*, 40: 536-541, (1984).

- VALLE, B.L.; COLEMAN, J.E. and AULD, D.S. "Zinc fingers, zinc clusters AND zinc twists in DNA- protein domains". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 88: 999-1003, (1991).



- VAN CAMPEN, D. GROSS, E. "Influence of ascorbic acid on the absorption of copper by rats". *J. Nutr.*, 95: 617-622, (1968).
- VAN CAMPEN, D. and HOUSE, W.A. "Effects of a low protein diet on retention of an oral dose of <sup>65</sup>Zn and on tissue concentrations of zinc, iron and copper in rats". *J. Nutr.*, 104: 84-90, (1974).
- VAN DEN BERG, G.J.; VAN WOUSE, J.P. and BEYNEN, A.C. "Ascorbic acid supplementation and copper status in rats". *Biological Trace Element Research*, 23: 165-172, (1990).
- VANDERHOOF, J.A.; GRANDJEAN, C.L.; KAUFMAN, S.S.; BURKLEY, K.T. and ANTONSON, D.L. "Effect of high percentage medium-chain triglyceride diet in mucosal adaptation following massive bowel resection in rats". *J. Parenter. Enteral Nutr.*, 8: 685-689, (1984).
- VAN EIJEK, H.G. and VAN NOORT, W.L. "A non-random distribution of transferrin iron in fresh human sera". *Clin Chim Acta.*, 157: 299-304, (1986).
- VAN WOUWE, J.P. "Clinical and laboratory diagnosis of acrodermatitis enteropathica". *Eur. J. Pediatr.* 149 (1): 2-8, (1989).
- VARS, H.M.; KORUDA, M.J.; ROLANDELLI, R.H.; SETTLE, R.G.; SAUL, S.H. and ROMBEAU, J.L. "The effect of a pectin-supplemented elemental diet on intestinal adaptation to massive small bowel resection". *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 343-350, (1986).
- URBAN, E. and CAMPBELL, M.E. "In vivo zinc transport by rat small intestine after extensive small bowel resection". *Am. J. Physiol.*, 247: G88-G94, (1984).
- URBAN, E. and MICHEL, A.M. "Separation of adaptive mucosal growth and transport after small bowel resection". *Am. J. Physiol.* 244 (Gastrointest. Liver Physiol. 7): G295-G300, (1983).
- URBAN, E. and WESER, E. "Intestinal adaptation to bowel resection". In: "Advances in internal medicine", Stollerman, G.H. ed. Chicago, IL: Year Book Medical Publishers, 26: pag. 265-291, (1980).
- WALDEN, W.E.; PATINO, M.M. and GAFFIELD, L. "Purification of a specific repressor of ferritin mRNA translation from rabbit liver". *Journal of Biological Chemistry*, 264, 13765-13769, (1989).
- WALI, R.K.; BAUM, C.L.; SITRIN, M.D. and BRASITUS, T.A. "1, 25-(OH)<sub>2</sub> vitamin-D<sub>3</sub> stimulates membrane phosphoinositide turnover, activates protein kinase-C, and increases cytosolic calcium in rat colonic epithelium". *J. Clin. Invest.*, 85 (4): 1296, (1990).
- WALLING, A.; HOUSEHOLDER, M. and WALLING, A. "Acrodermatitis enteropathica". *Am. Fam. Physician.*, 39 (2): 151-154, (1989).
- 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).
- WEIGAND, E. 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).



- WEINER, A.L, and COUSINS, R.J. "Copper accumulation and metabolism in primary monolayer cultures of rat liver parenchymal cells". *Biochem. Biophys. Acta.*, 629: 113-125, (1980).
- WEINER, A.L. and COUSINS, R.J. "Hormonally produced changes in caeruloplasmin synthesis and secretion in primary cultured rat hepatocytes". *Biochem. J.*, 212: 297-304, (1983).
- WESER, E. "Nutritional aspects of malabsorption: short gut adaptation". *Am. J. Med.*, 67 (6): 1014-1020, (1979).
- WESER, E. "Nutritional aspects of malabsorption: short gut adaptation". *Clin. Gastroenterol.*, 12: 443-461, (1983).
- WESER, E. and TAWIL, T. "Epithelial cell loss in remaining intestine after small bowel resection in the rat". *Gastroenterology*, 71: 412-415, (1976).
- WESER, E.; VANDERVENTER, A. and TAWIL, T. "Non hormonal regulation of intestinal adaptation". *Scand. J. Gastroenterol.*, 17 (suppl. 74): 105-113, (1982).
- WHEBY, M.S. "Regulation of iron absorption". *Gastroenterology*, 50: 888-892, (1966).
- WIEN, E.M. and VAN CAMPEN, D.R. "Mucus and iron absorption regulation in rats fed various levels of dietary iron". *J. Nutr.*, 121 (1): 92-100, (1991).
- WILLIAMS, J and MORETON, K. "The distribution of iron between the metal-binding sites of transferrin in human serum". *Biochem. J.*, 185: 483-488, (1980).
- WILSON, H.D.; MILLER, T.; OGESEN, B. SCHEDL, H.P.; FAILLA, M.L. and LOVEN, D.P. "Adaptation of the duodenum and ileum of the rat to mid-gut resection: enzyme activity and trace metal status". *Am. J. Clin. Nutr.*, 43: 185-193, (1986).
- WILSON, H.D. and SCHEDL, H.P. "Rat large bowel maintains calcium transport after small bowel resection". *Digestion*, 26 (4): 224-230, (1983).
- WINGATE, D.L. "Complex clocks". *Dig. Dis. Sci.*, 28: 1133-1140, (1983).
- WITTMANN, T.; CRENNER, F.; POUSE, A. and GRENIER, J.F. "Changes in motility after jejunal and ileal resection: electromyographic study in rats". *Digestion*, 32: 114-123, (1985).
- WOLMAN, S.L.; ANDERSON, G.H.; MARLISS, E.B. and JEEJEEBHOY, K.N. "Zinc in total parenteral nutrition: requirements and metabolic effects". *Gastroenterology*, 73: 458-467, (1979).
- WOOLF, G.M.; MILLER, C.; KURIAN, R. and JEEJEEBHOY, K.N. "Diet for patients with a short bowel high fat or high carbohydrate?". *Gastroenterology*, 84: 823-828, (1983).
- WOOLF, G.M.; MILLER, C.; KURIAN, R. and JEEJEEBHOY, K.N. "Nutritional absorption in short bowel syndrome: evaluation on fluid, calorie and divalent cation requirements". *Dig. Dis. Sci.* 32 (1): 8-15, (1987).
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), "Nutritional Anaemias". Report of a WHO Scientific Groups. WHO Technical Report Series No. 405. World Health Organization, Geneva., (1968).
- YIP, R.; REEVES, J.D.; LÖNNERDAL, B.; KEEN, C.L. and DALLMAN, P.R. "Does iron supplementation compromise zinc nutrition in healthy infants?". *Am. J. Clin. Nutr.*, 42: 683-687, (1985).
- YUNICE, A.A.; KING, R.W.; KRAIKITPANITCH, S.; HAYGOOD, C.C. and LINDEMAN, R.D. "Urinary zinc excretion following infusions of zinc sulfate, cysteine, histidine, or glycine". *Am.*



J. Physiol. 235 (Renal fluid Electrolyte Physiol. 4): F40-F45, (1978).

- ZÄHRINGER, J.; BALIGA, B.S. and MUNRO, H.N. "Novel mechanism for translational control in regulation of ferritin synthesis by iron". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73: 857-861, (1976).

- ZHANG, D.; HENDRICKS, D.G. and MAHONEY, A.W. "Bioavailability of total iron meat, spinach (spinacea oleracea L.) and meat-spinach mixtures by anaemic and non anaemic rats". Br. J. Nutr. 61: 331-343, (1989).

- ZHANG, D.; HENDRICKS, D.G. and MAHONEY, A.W.; YU, Y.; THANNOUN, A.M. and SISSON, D.V. "Bioavailability of total dietary iron from beef and soy protein isolate, alone or combined, in anemic and healthy rats". Cereal. Chem., 68 (2): 194-200, (1991).

- ZLATKIN, S.H. "Intaracciones de nutrientes con nutrición parenteral total: efecto de toma de histidina y cisteina sobre la excreción urinaria". J. Pediatric., 114 (5): 859-864, (1989).

- ZLATKIN, S.H. and BUCHANAN, B.E. "Toma de aminoácidos y excreción urinaria de zinc en niños recién nacidos recibiendo nutrition parenteral total". Am. J. Clin. Nutr., 48 (2): 330-334, (1988).

- ZIDENBOG-CHER, S.B.; HURLEY, P.A.; KEN, L.S. "Altered mineral metabolism a mechanism undering the fetal alcholol syndrome in rats". Drap. Nutr. Interact., 5: 1-18, (1988).