



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

“EFECTO DEL CALCIO SOBRE LA BIODISPONIBILIDAD DE DOSIS CRECIENTES DE  
HIERRO”

CHRISTIAN FABIAN LEIVA FUENTES

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario

PROFESOR GUÍA: FERNANDO PIZARRO AGUIRRE  
Laboratorio de Micronutrientes, INTA, Universidad de Chile

Financiamiento: FONDECYT 1095038

SANTIAGO, CHILE  
2014



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

“EFECTO DEL CALCIO SOBRE LA BIODISPONIBILIDAD DE DOSIS CRECIENTES DE  
HIERRO”

CHRISTIAN FABIAN LEIVA FUENTES

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Fomento de la  
Producción Animal

Nota Final

|  |        |         |
|--|--------|---------|
| Profesor Guía: Fernando Pizarro Aguirre            | (Nota) | (Firma) |
| Profesor Corrector: Dra. Carolina Valenzuela Parra | (Nota) | (Firma) |
| Profesor Corrector: Dra. María Sol Morales Silva   | (Nota) | (Firma) |

SANTIAGO, CHILE  
2014

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres, Julia Fuentes Oñate y Alejandro Olea Toro, por haberme sabido transmitir mediante su ejemplo, lo que es la disciplina y la fuerza de voluntad en el trabajo. Si no hubiera sido por ellos no habría llegado hasta aquí.

En cuanto a la realización de mi Memoria de Título, quiero agradecer enormemente a mi profesor guía Fernando Pizarro, por haber sido un excelente tutor y haber confiado en mí para formar parte de su gran proyecto de investigación.

La Dra. María Sol Morales merece una mención especial, porque fue (y sigue siendo) un pilar muy importante en la realización de todo esto y por supuesto durante todos mis años de alumno en la facultad. También le agradezco su cariño incondicional y su apoyo tanto en lo académicos como en lo extracurricular. Fue como una madre para mí en los momentos más difíciles como en los de alegría.

Gracias a la Dra. Carolina Valenzuela por llenarme de optimismo y ser una consejera íntegra y de calidad, además de entregarme de forma generosa todos sus conocimientos para realizar todo esto.

No puedo quedarme sin agradecer a mi segunda madre Edi Oñate, quien veló por mi bienestar físico y mental desde que nací, sé que para ella esto la llena de orgullo y felicidad.

Especialmente quiero agradecer a mi amiga y compañera de toda mi vida universitaria Daniela Hormazábal, con la que pasé muchas noches de estudio, risas y también llantos.

Y por último, pero no menos importante a todos aquellos que estuvieron cerca de mí y que de una u otra forma aportaron a que hoy en día sea un profesional íntegro y de calidad, mi familia en general, mis compañeros de universidad, mis amigos y en especial a Juan Sabogal quién me dio el impulso final para que este proceso terminara de la mejor forma posible, el cual a veces parecía interminable e imposible.

## ABSTRACT

**Introduction:** It has been described that 800 mg of calcium (Ca) does not inhibit the acute absorption of 5 mg of iron (Fe) (molar ratio Fe:Ca, 1:223). However, there is no evidence to support a potential effect of Ca on Fe bioavailability at higher molar ratios.

**Objective:** To determine the effect of 800 mg of Ca on the bioavailability of 5, 15, 30 and 60 mg Fe doses (molar ratio, 1:223, 1:74, 1:37 and 1:19).

**Methodology:** Experimental study, conducted in 13 apparently healthy women ( $38 \pm 4$  y) with 28 days follow-up. All participants received 5, 15, 30 and 60 mg Fe as  $\text{FeSO}_4$  ( $^{55}\text{Fe}$  or  $^{59}\text{Fe}$  labeled) with 800 mg Ca ( $\text{CaCl}_2$ ). Blood samples were obtained at 14 and 28 day follow-up to determine both Fe bioavailability and status. ANOVA for repeated measures was used to determine differences between Fe concentrations.

**Results:** The absorption of Fe expressed as geometric mean (range  $\pm$  1SD) was 25,5% (12,7-51,1%), 29,6% (15,9-55,1%), 22,1 % (12,3-39,8%) and 22,7% (11,8-43,6%) for doses of 5, 15, 30 and 60 mg Fe, respectively ( $F= 1.53$ , N.S.). The absolute Fe absorption was 1,3; 4,4; 6,6 and 13,6 mg Fe, respectively.

**Conclusion:** The administration of 800 mg Ca did not affect the bioavailability of increasing doses of Fe. The concentrations of absorbed Fe were consistent with previously reported values when 5, 50 and 100 mg Fe were provided without Ca (1,2; 6,7 and 13,0 mg Fe respectively).

**Key Word:** calcium supplements, iron absorption, iron status.

## RESUMEN

**Introducción:** Se ha descrito que 800 mg de calcio (Ca) no inhiben la absorción aguda de 5 mg de hierro (Fe) (relación molar Fe:Ca, 1:223). Sin embargo, no existen evidencias sobre el efecto del Ca sobre la biodisponibilidad de Fe a mayores relaciones molares.

**Objetivo:** Determinar el efecto de 800 mg de calcio sobre la biodisponibilidad de dosis de 5, 15, 30 y 60 mg de Fe (relaciones molares, 1:223, 1:74, 1:37 y 1:19).

**Metodología:** Estudio experimental realizado en 13 mujeres aparentemente sanas ( $38 \pm 4$  años): En un periodo de 28 días, se suministró 5, 15, 30 and 60 mg Fe como  $\text{FeSO}_4$  (marcado con  $^{55}\text{Fe}$  o  $^{59}\text{Fe}$ ) junto a 800 mg de Ca ( $\text{CaCl}_2$ ). Se obtuvo muestras sanguíneas a los 14 y 28 días de seguimiento, para determinar biodisponibilidad y estado de nutrición de Fe. ANOVA para muestras repetidas fue utilizada para determinar diferencias entre distintas concentraciones de Fe.

**Resultados:** La absorción de Fe expresada en promedios geométricos (rango  $\pm 1\text{DE}$ ) fue de 25,5% (12,7-51,1%), 29,6% (15,9-55,1%), 22,1 % (12,3-39,8%) y 22,7% (11,8-43,6%) para dosis de 5, 15, 30 y 60 mg Fe, respectivamente ( $F= 1.53$ , N.S.). La absorción absoluta de Fe fue de 1,3; 4,4; 6,6; y 13,6 mg Fe, respectivamente.

**Conclusión:** La administración de 800 mg de Ca no afectó la biodisponibilidad de dosis crecientes de Fe. Las concentraciones de Fe absorbidas concuerdan con valores reportados previamente al administrar 5, 50 and 100 mg Fe sin Ca (1,2; 6,7 y 13,0 mg Fe, respectivamente).

**Palabras Claves:** suplementación de calcio, absorción de hierro, nivel de hierro.

## INTRODUCCIÓN

La malnutrición es uno de los problemas de salud pública más relevantes en la actualidad. Dentro de la deficiencia de nutrientes, la del hierro (Fe), es la de mayor prevalencia, ya que del total de la población, aproximadamente un 30% sufre anemia por deficiencia de hierro, debido principalmente a factores inhibidores que impiden su absorción eficaz a nivel de duodeno (OMS, 2004). Esta deficiencia también coexiste con la de calcio (Ca), debido a que ambos nutrientes se encuentran en alimentos de origen animal, por lo que las personas que tienen acceso limitado a una nutrición completa están deficientes en ambos. La homeostasis del Fe depende principalmente de su absorción a nivel intestinal, por lo tanto, es dependiente de inhibidores o facilitadores que pueden estar presentes en la dieta, sin embargo, la biodisponibilidad del hierro está en función de su forma química y su interacción con otros componentes dietarios (Cook, 1990).

El Fe se encuentra en los alimentos presente en dos formas, como Fe hemínico u orgánico y Fe no hemínico o inorgánico, este último ha sido descrito como de baja biodisponibilidad, debido a los posibles inhibidores de su absorción, como el Ca (Hallberg, 1998).

El hierro inorgánico a nivel de estómago es liberado por acción del ácido clorhídrico (HCl), que además lo reduce del estado férrico ( $Fe^{+3}$ ) al ferroso ( $Fe^{+2}$ ). Una vez en intestino es atacado por el jugo pancreático que es de pH alcalino, produciendo la oxidación de hierro, y dejándolo expuesto a quelantes que lo precipitan. El hierro en estado férrico que no fue quelado es reducido por la enzima citocromo duodenal b (Dcytb) en el ribete estriado del enterocito a nivel de duodeno. Una vez reducido el Fe es capturado por el transportador de metales divalentes (DMT 1) que lo internaliza a la célula (Gunshin *et al.*, 1997).

En relación al Ca su absorción se realiza en el intestino delgado a nivel yeyunal por dos mecanismos, uno por transporte activo cuando el Ca es normal en la dieta por la vía transcelular saturable y otro cuando el Ca es alto en la dieta por un proceso de difusión pasiva que no es saturable (Bronner, 2003).

En un estudio anterior se demostró que 800 mg de Ca no producía un efecto inhibitor en la absorción de 5 mg de Fe (Gaitán *et al.*, 2006), sin embargo, no existe evidencia de lo que sucede a mayores concentraciones de Fe. Debido a que en muchas ocasiones los suplementos de Ca se ingieren en presencia de Fe, es de gran importancia a nivel de salud pública dilucidar si es factible la suplementación de Ca en presencia de Fe y si hay alteración en su biodisponibilidad.

El propósito de este estudio fue generar antecedentes para dilucidar el efecto que tiene el Ca sobre la absorción y biodisponibilidad del Fe inorgánico.



## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Micronutrientes del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.

Participaron 13 mujeres entre 35 y 45 años, como sujetos de estudio, aparentemente sanas, sin haber recibido ningún suplemento mineral en los últimos 6 meses previos al estudio. Dado que se utilizaron isótopos radioactivos para la medición de la biodisponibilidad de hierro, las mujeres debieron estar con un método anticonceptivo eficaz (DIU, anticonceptivos orales o ligadura de trompas), con prueba de embarazo negativa (BHCG en orina). Los criterios de exclusión fueron obesidad (BMI>30) y cualquier enfermedad aguda o crónica conocida.

Todos los participantes fueron informados en detalle acerca del estudio antes de participar, y firmaron un consentimiento informado.

### *Estudio Isotópico*

Como trazadores de la absorción de hierro se utilizaron isótopos de hierro  $^{55}\text{Fe}$  y  $^{59}\text{Fe}$  (NEN, Life Science Products, Inc., Boston, MA). Las dosis de isótopos administradas fueron autorizadas por la Comisión Chilena de Energía Nuclear.

### *Diseño del estudio.*

En la Figura 1 se presenta el diseño del estudio. El estudio fue realizado para caracterizar la curva de dosis respuesta de Ca (como cloruro de calcio) en la biodisponibilidad de niveles graduales de Fe inorgánico (como sulfato ferroso).

Las diferentes dosis de Fe fueron asignadas en forma aleatoria.

**Día 0:** Presentación y explicación del proyecto. Firma consentimiento informado y antropometría (edad, peso, talla e IMC).

**Día 1:** Los sujetos ingirieron 15 mg de Fe como  $\text{FeSO}_4$  marcado con 3 uCi de  $^{55}\text{Fe}$  junto a 800 mg de Ca como cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ).

**Día 2:** Los sujetos ingirieron 5 mg de Fe como  $\text{FeSO}_4$  marcado con 1 uCi de  $^{59}\text{Fe}$  junto a 800 mg de Ca como  $\text{CaCl}_2$ .

**Día 14:** Se tomó una muestra de 30 mL de sangre venosa previo ayuno con el propósito de evaluar el estado nutricional del Fe y radioactividad circulante. Luego, los sujetos ingirieron 30 mg de hierro como FeSO<sub>4</sub> marcado con 3 uCi de <sup>55</sup>Fe junto a 800 mg de Ca como CaCl<sub>2</sub>.

**Día 15:** Los sujetos ingirieron 60 mg de Fe como FeSO<sub>4</sub> marcado con 1 uCi de <sup>59</sup>Fe junto a 800 mg de Ca como CaCl<sub>2</sub>.

**Día 28:** Se tomó una muestra de 20 mL de sangre venosa previo ayuno con el propósito de evaluar radioactividad circulante sobrepuesta.

Las muestras de sangre y las ingestas de los compuestos se efectuaron luego de un ayuno nocturno, para trabajar a estómago vacío y así evitar la interferencia de otros factores dietarios en los resultados. Sólo después de 3 horas de administrados los compuestos estuvo permitida la ingesta de alimentos.

#### *Muestra de sangre*

Los días 14 y 28 se extrajeron 30 y 20 mL de sangre, respectivamente. Con 10 mL de sangre del día 14 se determinó el estado de nutrición de hierro de los voluntarios: hemoglobina (Hb) y volumen corpuscular medio (VCM) (Contador electrónico de células CELL-DYN 3200, ABBOTT Diagnostics, Abbott Park, IL), Fe sérico, capacidad total de unión del Fe (TIBC), porcentaje de saturación de la transferrina, protoporfirina libre eritrocitaria (Hematofluorímetro ZP-M206D, AVIV Biomedical Inc., Lakewood, NJ) y ferritina sérica por ELISA (Flowers *et al.*, 1986). La anemia fue definida como Hb por debajo de 120 g/L y la anemia con deficiencia de hierro (ADH) como Hb por debajo de lo normal, más 2 o más mediciones de laboratorio anormales (VCM <80 fL, SF <15 g/L, Zn-protoporfirina >70 ug/L RBC o TS <15%) (CDC, 1998). La deficiencia de hierro sin anemia (IDWA) fue definida como Hb normal más 2 o más resultados anormales de laboratorio; reservas agotadas Fe (DIS) se definió como SF <15 mg/L. Estado de Fe se considera normal cuando todos estos índices de laboratorio estaban dentro del rango de referencia (CDC, 1998).

#### *Análisis de radioisótopos*

Con 20 mL de sangre de los días 14 y 28 se midió la radioactividad circulante (cpm/mL) según técnica doble isotópica de Eakins y Brown (1966). Para el cálculo de la

radiactividad ingerida se contaron cuadruplicados de los compuestos marcados con  $^{55}\text{Fe}$  y  $^{59}\text{Fe}$ . La biodisponibilidad de Fe se calculó a partir de duplicados de sangre de los voluntarios, asumiendo que el 80% del hierro absorbido es destinado a la síntesis de hemoglobina de los eritrocitos circulantes (*Bothwell et al., 1979*). La volemia se estimó de las tablas de Tulane (*Nadler et al., 1962*).

### *Biodisponibilidad*

En términos generales, cada una de las muestras (sangre y compuestos) se digirió en medio ácido y se precipitó el contenido total de hierro. Luego se determinó la radioactividad emitida en un contador de centelleo líquido LS 5000 TD, para lo cual se utilizaron 2 muestras blanco, triplicados de dos estándares ( $^{55}\text{Fe}$  y  $^{59}\text{Fe}$ ) y duplicados de las muestras de cada sujeto. Las muestras permanecieron en el contador el tiempo necesario para tener un error menor al 3%; el equipo reportó las cuentas por minuto (cpm) de radioactividad emitida de  $^{55}\text{Fe}$  (carril A) y de  $^{59}\text{Fe}$  (carril B).

Debido a que existe un traslape de las cuentas en cada uno de los carriles del contador de centelleo, se hizo necesario determinar la magnitud de este traslape y calcular a partir de esto la biodisponibilidad de Fe de la siguiente manera: 1) corrección de las cpm totales en cada carril por las muestras blanco; 2) corrección de las cpm para cada uno de los isótopos según el traslape; 3) cálculo de las cpm por mL de sangre para cada isótopo; 4) cálculo de las cpm de cada isótopo por mg de solución ingerida; 5) cálculo del total de cpm circulantes de cada uno de los isótopos; 6) cálculo del total de cuentas ingeridas de cada isótopo; 7) cálculo del porcentaje de absorción de cada isótopo y 8) cálculo de la biodisponibilidad de los isótopos. La tabla 1 muestra las fórmulas utilizadas en cada uno de los pasos mencionados anteriormente.

### *Análisis estadístico*

La variable absorción de hierro presentó una distribución asimétrica con desviación a la izquierda. Por ello los datos de absorción de Fe fueron transformados a su logaritmo natural (Ln). Luego, los Ln de los porcentajes de biodisponibilidad de Fe fueron sometidos a análisis de varianzas para muestras repetidas y al Test post hoc de Dunnett a través del programa Stata 11 (StataCorp, College Station, TX). De acuerdo al tamaño de

muestra se aceptó como nivel de significancia un  $p \leq 0.05$ . Las causas de la variabilidad fisiológica o variación día a día que presenta la absorción de Fe en un mismo individuo (intra-sujeto) se asocia con cambios en la motilidad gastrointestinal y las cantidades de secreción gástrica, pancreáticas o biliares. Sin embargo, es posible controlarla incluyendo grupos entre 12 y 13 sujetos, con un mínimo de 8, por estudio de absorción (Layrisse y Martínez-Torres, 1972). Asumiendo encontrar diferencias de 5% de hierro absorbido entre las pruebas y la dosis de hierro, el N calculado para un ANOVA fue de 9 voluntarios (error  $\alpha=0,05$  y poder=80%).

Se determinó un grupo de 13 sujetos a modo de cubrir posibles pérdidas por rechazo a la ingesta; diarrea y/o vómito después de la ingesta.

## RESULTADOS

Los resultados de los parámetros del estado de nutrición de Fe de los individuos utilizados en el ensayo: Hb, VCM, Fe sérico, TIBC, porcentaje de saturación de la transferrina, protoporfirina libre eritrocitaria y ferritina sérica, se presentan en la tabla 2.

Un voluntario presentó anemia con deficiencia de Fe y tres voluntarios presentaron deficiencia de hierro sin anemia. No hubo otras diferencias en el índice de masa corporal y el estado nutricional de hierro entre los voluntarios.

La absorción de Fe para la dosis de 5 mg fue de 25,5%(12,7-51,1%), la de 15 mg fue de 29,6%(15,9-55,1%), la de 30 mg fue de 22,1%(12,3-39,8%) y la de 60 mg de 22,7%(11,8-43,6%) sin existir diferencias significativas en la absorción de Fe para las diferentes dosis administradas ( $F=1,53$ , N.S). La absorción absoluta de Fe fue de 1,3; 4,4, 6,6, y 13,6 mg de Fe, respectivamente para 5, 15, 30 y 60 mg de Fe. **(Tabla 3)**.

La **Figura 2** muestra la curva ajustada para el efecto de 800 mg de Ca sobre la biodisponibilidad de Fe en las diferentes dosis utilizadas, sin observarse diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la absorción de Fe en las diferentes dosis evaluadas.

## DISCUSIÓN

Este estudio se realizó con 800 mg de Ca como Cloruro de Calcio administrados conjuntamente con 5, 15, 30 y 60 mg de Fe como Sulfato Ferroso a estómago vacío y en diferentes días, que corresponden a relaciones molares de 1:223, 1:74, 1:37 y 1:19 respectivamente. Los resultados sugieren que no hubo un efecto de la dosis de Ca sobre la biodisponibilidad de Fe ( $p>0,05$ ) administrado en diferentes concentraciones cuando dichos nutrientes se consumieron a estómago vacío luego de un ayuno nocturno.

La evidencia que sugiere un efecto inhibitor del Ca en la biodisponibilidad de Fe, a diferencia del presente estudio, fue obtenida en que los individuos experimentales ingirieron el Fe y Ca conjuntamente con una comida (Hallberg *et al.*, 1991). Otros estudios, al igual que lo encontrado en este estudio tampoco encontraron un efecto del Ca sobre la biodisponibilidad de Fe. Así cuando se administró 300 mg de calcio, como carbonato de Ca y 37 mg de Fe, como  $\text{FeSO}_4$ , (relación molar Fe:Ca 1:11) a voluntarios saludables no afectó la biodisponibilidad de Fe. Al evaluar una relación Fe:Ca más alta de 1:46, tampoco encontraron efecto sobre la biodisponibilidad de Fe (Cook *et al.*, 1991). Gaitán *et al.*, (2006) a su vez, tampoco encontró que dosis de Ca  $<800$  mg afectaran la absorción de 5 mg de Fe inorgánico (relación molar Fe:Ca  $\leq 1:223$ ); sin embargo, al utilizar dosis de Ca  $\geq 1000$  mg observaron una disminución de la absorción de Fe inorgánico de un 49,6%, lo que indicaría que una relación molar Fe:Ca de  $\sim 1:280$  y por encima de esto se produciría un efecto inhibitor del Ca sobre el Fe inorgánico (Gaitán *et al.*, 2006). El presente estudio fue diseñado para clarificar el efecto de una dosis constante de Ca (800 mg), como carbonato de Ca, y dosis crecientes de Fe, como sulfato ferroso. Se decidió comenzar la evaluación con 5 mg de Fe basándose en trabajos previos realizados por Hallberg *et al.* (1991), quienes publicaron los datos más relevantes que apoyarían la hipótesis de un efecto inhibitor del Ca sobre la biodisponibilidad de Fe; siendo esta dosis la que representa el contenido típico de Fe en una comida.

Este estudio utilizó el modelo a estómago vacío para evitar la interacción de otros componentes dietarios en la biodisponibilidad del Fe, por lo cual estos resultados expresan directamente la acción de Ca por sí solo, así estudios en los que el Ca inhibía la biodisponibilidad de Fe a estómago lleno indicarían que probablemente otros nutrientes dietarios interactuarían con el Ca y el Fe disminuyendo la biodisponibilidad del Fe.

La dosis de 15 mg de Fe arrojó una absorción de Fe de un 25,5%; sin embargo, esta diferencia no fue significativa ( $p > 0,05$ ) al igual que la absorción de Fe en otras dosis.

El mecanismo por el cual el Ca ejerce un efecto inhibitor en la absorción del Fe en el duodeno a estómago lleno aún no está claro. La absorción de Fe inorgánico en la membrana apical del enterocito ocurre por la vía del transportador de metales divalentes 1 (DMT1) (Gunshin *et al.*, 1997). El Fe inorgánico dietario forma parte de un “pool” de Fe en el citoplasma del enterocito. Este “pool” de Fe es almacenado como ferritina o transportada a los vasos sanguíneos por la ferroportina, la cual se localiza en la membrana basolateral del enterocito (McKie *et al.*, 2000). Así, en base a los resultados obtenidos, se sugiere que el Ca en presencia de otros elementos dietarios, puede modular negativamente DMT1 localizado en ambos endosomas y en la membrana apical del enterocito, disminuyendo la biodisponibilidad de Fe inorgánico al enterocito, no así cuando se administran ambos nutrientes a estómago vacío, postulando que pueden ser otros factores dietarios diferentes al Ca que disminuyan la biodisponibilidad de Fe inorgánico reportado en estudios a estómago lleno, y que no es el Ca *per se* quien ejercería el efecto inhibitor sobre la biodisponibilidad del Fe. Un estudio con más componentes dietarios además del Ca reportó que el incremento de dosis de Ca junto con otros nutrientes disminuía la expresión de DMT1 en la membrana apical, sugiriendo que en estos casos el Ca generaría un efecto inhibitorio en la absorción de Fe inorgánico, pero al no describir los demás nutrientes participantes, se concluye que el Ca *per se* no ejerce un efecto negativo en la absorción de Fe inorgánico (Thompson *et al.*, 2010). Por otro lado, el Ca puede modular algún proceso involucrado en el tráfico de hierro en el citoplasma; sin embargo, este proceso no es entendido del todo. El efecto del Ca en estos mecanismos debe ser estudiado de forma futura.

Es importante enfatizar que en este estudio se evaluó el efecto del Ca como cloruro de Ca y a diferencia de otras sales de Ca, el cloruro de Ca se disocia en gran proporción en el tracto gastrointestinal. Algunos trabajos sugieren que el efecto del Ca en la biodisponibilidad de Fe depende de la sal de Ca administrada. Cook *et al.* (1991) demostró que 600 mg de Ca, ya sea como citrato o fosfato de Ca, disminuyeron la biodisponibilidad de 18 mg de Fe (como sulfato ferroso) en un 50% cuando fueron ingeridos en estómago vacío. Este efecto no fue observado cuando el Ca fue suministrado como carbonato de Ca (Cook *et al.*, 1991). Debido a estas diferencias entre los efectos de

las sales de Ca sobre la absorción de Fe, es que los presentes resultados no deberían extrapolarse a otras sales.

Debido al efecto inhibidor en la absorción de Fe que ha sido atribuido al Ca, algunos estudios han evaluado el impacto de un incremento en la ingesta de Ca como complemento de Ca en el nivel de Fe, pero en este estudio se demostró que no hay un efecto inhibidor del Ca sobre el Fe en ausencia de una matriz alimenticia.

Mujeres provenientes de regiones con alta prevalencia de anemia tienen como causa principal la pobre ingesta de Fe, por lo que deben ser suplementadas con este nutriente (INACG, 1998), esta deficiencia al ser de origen nutricional coexiste con la de Ca, por lo que la suplementación es una estrategia necesaria, por no consumir la cantidad de Ca ni la de Fe recomendada (Looker, 2006). Basado en los resultados obtenidos, sería posible proveer de suplementos de dosis terapéuticas combinadas de Fe y Ca en ayuno.

En conclusión, 800 mg de Ca (como cloruro de calcio) no produce un efecto inhibidor en la biodisponibilidad de dosis de 5, 15, 30 y 60 Fe (como sulfato) a estómago vacío.

## ANEXOS

**Tabla 1.** Fórmulas utilizadas para el cálculo de la biodisponibilidad de Fe mediante la utilización de los isótopos  $^{55}\text{Fe}$  y  $^{59}\text{Fe}$ .

| Pasos | Ecuación   |
|-------|--|
| 1     | $\text{cpm A} = \text{cpm en A} - \text{Promedio de los blancos en A}$<br>$\text{cpm B} = \text{cpm en B} - \text{Promedio de los blancos en B}$   |
| 2     | $\text{cmp } ^{55}\text{Fe} = \text{cpm en A} - \text{cpm de traslape de B a A}$<br>$\text{cmp } ^{59}\text{Fe} = \text{cpm en B} - \text{cpm de traslape de A a B}$   |
| 3     | $\text{cmp } ^{55}\text{Fe}/\text{mL sangre} = \text{cmp } ^{55}\text{Fe}/\text{ mL sangre analizada}$<br>$\text{cmp } ^{59}\text{Fe}/\text{mL sangre} = \text{cmp } ^{59}\text{Fe}/\text{ mL sangre analizada}$   |
| 4     | $\text{cmp } ^{55}\text{Fe}/\text{mg solución} = \text{cmp Standard } ^{55}\text{Fe}/\text{mg solución analizados}$<br>$\text{cmp } ^{59}\text{Fe}/\text{mg solución} = \text{cmp Standard } ^{59}\text{Fe}/\text{mg solución analizados}$                 |
| 5     | $\text{cmp circulantes } ^{55}\text{Fe} = \text{cmp } ^{55}\text{Fe}/\text{mL sangre} * \text{volemia}$<br>$\text{cmp circulantes } ^{59}\text{Fe} = \text{cmp } ^{59}\text{Fe}/\text{mL sangre} * \text{volemia}$   |
| 6     | $\text{cmp ingeridas } ^{55}\text{Fe} = \text{mg de solución ingeridos} * \text{cpm } ^{55}\text{Fe}/\text{mg de solución}$<br>$\text{cmp ingeridas } ^{59}\text{Fe} = \text{mg de solución ingeridos} * \text{cpm } ^{59}\text{Fe}/\text{mg de solución}$ |
| 7     | $\% ^{55}\text{Fe absorbidas} = \text{cmp ingeridas } ^{55}\text{Fe}/\text{cmp circulantes } ^{55}\text{Fe} * 100$<br>$\% ^{59}\text{Fe absorbidas} = \text{cmp ingeridas } ^{59}\text{Fe}/\text{cmp circulantes } ^{59}\text{Fe} * 100$                   |
| 8     | $\text{Biodisponibilidad de } ^{55}\text{Fe} = \% ^{55}\text{Fe absorbido} * 0,8^1$<br>$\text{Biodisponibilidad de } ^{59}\text{Fe} = \% ^{59}\text{Fe absorbido} * 0,8^1$   |

<sup>1</sup>Corrección de Bothwell (80% del hierro ingerido se destina a eritropoyesis)



**Tabla 2.** Antropometría y estado de nutrición de Fe en mujeres no embarazadas participantes del estudio.

| Sujetos | Edad (a) | Peso (kg) | Talla (m) | IMC | Hb (g/L) | VCM (fL) | Zpp (ug/dLGR) | Fe (ug/dL) | TIBC (ug/dL) | Sat (%) | FS (ug/L) | rTf (mg/L) |
|---------|----------|-----------|-----------|-----|----------|----------|---------------|------------|--------------|---------|-----------|------------|
| PMV     | 40       | 55        | 1,59      | 22  | 139      | 86       | 77            | 50         | 304          | 16,3    | 25        | 7,0        |
| GMV     | 39       | 65        | 1,52      | 28  | 144      | 87       | 52            | 60         | 304          | 19,7    | 39        | 6,5        |
| AVS     | 41       | 56        | 1,56      | 23  | 139      | 87       | 77            | 67         | 333          | 20,2    | 35        | 2,9        |
| MAM     | 37       | 59        | 1,51      | 26  | 151      | 92       | 80            | 83         | 318          | 25,9    | 41        | 3,0        |
| LMY     | 42       | 66        | 1,60      | 26  | 87       | 52       | 140           | 15         | 426          | 3,6     | 8         | 19,6       |
| BAV     | 39       | 70        | 1,59      | 28  | 133      | 79       | 117           | 73         | 441          | 16,6    | 10        | 12,0       |
| TVF     | 45       | 61        | 1,62      | 24  | 141      | 84       | 74            | 112        | 406          | 27,7    | 29        | 5,5        |
| VAF     | 34       | 62        | 1,59      | 25  | 146      | 89       | 51            | 73         | 339          | 21,6    | 42        | 6,3        |
| MAI     | 34       | 70        | 1,67      | 25  | 141      | 93       | 83            | 37         | 304          | 12,2    | 41        | 6,9        |
| EIG     | 30       | 61        | 1,58      | 24  | 138      | 75       | 94            | 11         | 412          | 2,7     | 10        | 13,1       |
| OTM     | 39       | 71        | 1,58      | 29  | 131      | 79       | 71            | 39         | 383          | 10,1    | 41        | 12,0       |
| JMA     | 43       | 62        | 1,61      | 24  | 147      | 85       | 72            | 69         | 339          | 20,5    | 25        | 3,9        |
| MCM     | 38       | 66        | 1,49      | 30  | 144      | 92       | 83            | 86         | 333          | 25,9    | 117       | 4,5        |
| Media   | 39       | 64        | 1,58      | 26  | 137      | 83       | 82            | 60         | 357          | 17,2    | 28*       | 7,9        |
| DE      | 4        | 5         | 0,05      | 2   | 16       | 11       | 24            | 29         | 50           | 8,1     | 13-59     | 4,9        |

\* Promedio geométrico y rango de  $\pm 1$  DE.

IMC: Índice de Masa Corporal; Hb: Hemoglobina; VCM: Volumen Corpuscular Medio; Zpp: Zinc Protoporfirina; Fe: Hierro; TIBC: Capacidad total de unión de hierro; Sat: Porcentaje de Saturación de Transferrina; FS: Hierro Sérico; rTf: Receptor para transferrina.

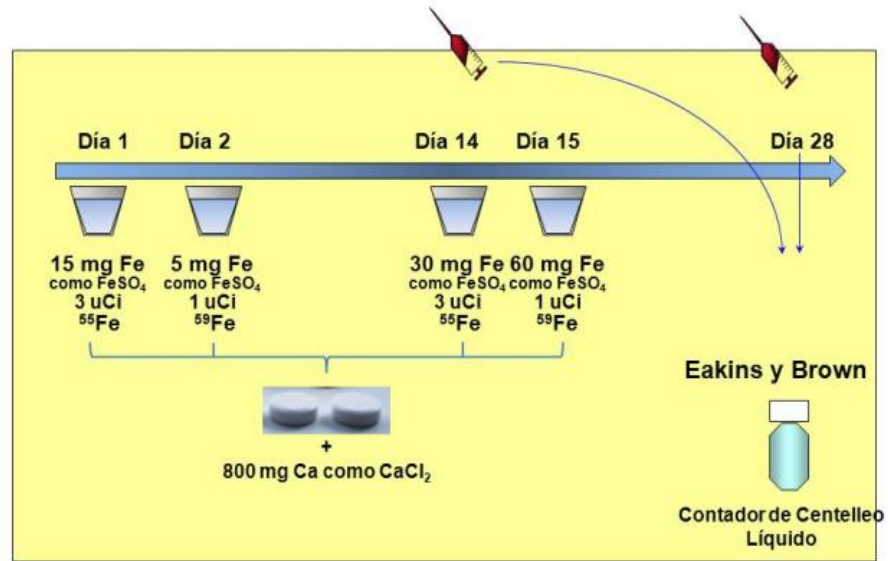
**Tabla 3.** Efecto de dosis estándar de 800 mg de calcio sobre biodisponibilidad de dosis crecientes de hierro.

| Sujetos | BIODISPONIBILIDAD DE FE (%)                               |  |  |  | Razón de absorción |      |      |
|---------|---|--|--|--|--------------------|------|------|
|         | FE NO HEMÍNICO  |  |  |  |                    |      |      |
|         | Día 2(A)<br><sup>59</sup> Fe-nohem<br>(1μCi) +<br>5 mg Fe | Día 1(B)<br><sup>55</sup> Fe-nohem<br>(3μCi) +<br>15 mg Fe | Día 14 (C)<br><sup>59</sup> Fe-nohem<br>(1μCi) +<br>30 mg Fe | Día 15 (D)<br><sup>55</sup> Fe-nohem<br>(3μCi) +<br>60 mg Fe | B/A                | C/A  | D/A  |
| PMV     | 18,9  | 22,2   | 18,0   | 19,4   | 1,18               | 0,95 | 1,03 |
| GMV     | 52,5  | 49,2   | 27,6   | 32,8   | 0,94               | 0,53 | 0,62 |
| AVS     | 18,4  | 10,4   | 8,1  | 9,9  | 0,56               | 0,44 | 0,54 |
| MAM     | 15,9  | 19,6   | 18,9   | 16,0   | 1,23               | 1,19 | 1,01 |
| LMY     | 40,4  | 52,5   | 52,8   | 74,6   | 1,30               | 1,31 | 1,85 |
| BAV     | 76,2  | 73,9   | 43,3   | 32,1   | 0,97               | 0,57 | 0,42 |
| TVF     | 33,8  | 31,0   | 37,1   | 22,7   | 0,92               | 1,10 | 0,67 |
| VAF     | 34,6  | 42,5   | 13,4   | 7,4  | 1,23               | 0,39 | 0,21 |
| MAI     | 5,3   | 19,7   | 10,1   | 13,5   | 3,69               | 1,90 | 2,54 |
| EIG     | 29,2  | 27,9   | 29,3   | 23,8   | 0,95               | 1,01 | 0,82 |
| OTM     | 44,4  | 64,7   | 20,1   | 31,3   | 1,46               | 0,45 | 0,70 |
| JMA     | 20,5  | 29,6   | 41,2   | 58,8   | 1,44               | 2,01 | 2,87 |
| MCM     | 13,1  | 11,1   | 14,5   | 17,5   | 0,84               | 1,10 | 1,33 |
| PG*     | 25,5  | 29,6   | 22,1   | 22,7   | 1,16               | 0,87 | 0,89 |
| -1DE    | 12,7  | 15,9   | 12,3   | 11,8   | 0,75               | 0,50 | 0,43 |
| +1DE    | 51,1  | 55,1   | 39,8   | 43,6   | 1,79               | 1,51 | 1,84 |

\*Promedio Geométrico y valores  $\pm$  1 desviación estándar

ANOVA para muestra repetidas  $F=1,53$ ,  $p=0,36$ , N.S.

**Figura 1.** Diseño del estudio de biodisponibilidad de Fe en mujeres no embarazadas



**Figura 2.** Curva dosis respuesta de la biodisponibilidad de diferentes dosis de Fe en presencia de una misma dosis de Ca (800 mg).



El efecto de una misma dosis de Ca (como cloruro) en la absorción de diferentes dosis de Fe inorgánico en mujeres no embarazadas.

Los puntos de datos son medias geométricas; las barras son -1DE, +1DE. La prueba de Fisher arrojó un valor de 1,53 lo que indica que las diferencias en las diferentes absorciones de hierro fueron no significativas (N.S).

## REFERENCIAS

1. BRONNER, F. 2003. Mechanisms of intestinal calcium absorption. *J. Cell. Biochem.* 88: pp. 387-393.
2. BOTHWELL, T.H.; CHARLTON, R.W.; COOK, J.D.; FINCH, C.A. 1979. Iron metabolism in man. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
3. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). 1998. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States.
4. COOK, J.D. 1990. Adaptation in iron metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 51: pp. 301-308.
5. COOK, J.D.; DASSENKO, S.A.; WHITTAKER, P. 1991. Calcium supplementation: effect on iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: pp. 106–11.
6. EAKINS, J.; BROWN, D. 1966. An improved method for the simultaneous determination of iron-55 and iron-59 in blood by liquid scintillation counting. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 17: pp. 391-397.
7. FLOWERS, CA.; KUIZON, M.; BEARD, JL.; SKIKNE, BS.; COVELL, AM.; COOK JD. 1986. A serum ferritin assay for prevalence studies of iron deficiency. *Am. J. Hematol.* 23: pp. 141–51.
8. GAITAN, D.; OLIVARES, M.; ARREDONDO, M.; PIZARRO, F. 2006. Biodisponibilidad de hierro en humanos. *Rev. Chil. Nutr.* 33: 142-148.
9. GUNSHIN, H.; MACKENZIE, B.; BERGER, U.V.; GUNSHIN, Y.; ROMERO, M.F.; BORON, W.F.; NUSSBERGER, S.; GOLLAN, J.L.; HEDIGER, M.A. 1997. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature.* 388: pp. 482–488.

10. HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ERLANDSSON, M.; SANDBERG, A.S.; ROSSANDER-HULTEN, L. 1991. Calcium: effect of different amounts on nonheme- and heme-iron absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: pp. 112–119.
11. HALLBERG, L. 1998. Does calcium interfere with iron absorption? *Am. J. Clin. Nutr.* 68: pp. 3-4.
12. INACG. 1998. Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anemia. Stoltzfus R, Dreyfuss M, editors. Washington, DC: International Life Sciences Institute. pp. 18–21.
13. LAYRISSE, M.; MARTINEZ-TORRES, C. 1972. Model for measuring dietary absorption of heme iron: test with a complete meal. *Am. J. Clin. Nutr.* 25: pp. 401-441.
14. LOOKER, A. 2006. Dietary calcium. In: Weaver C, Heaney R, editors. *Calcium in human health*. Totawa, NJ: Humana Press. pp. 105–27.
15. MCKIE, A.T.; MARCIANI, P.; ROLFS, A.; BRENNAN, K.; WEHR, K.; BARROW, D.; MIRET, S.; BOMFORD, A.; PETERS, T.J.; FARZANEH, F. 2000. A novel duodenal iron regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell.* 5: pp. 299–309.
16. NADLER, S.B.; HIDALGO J.H.; BLOCH, T. 1962. Prediction of blood volume in normal human adults. *Surgery.* 51: pp. 224-232.
17. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). 2004. Declaración. La anemia como centro de atención. Hacia un enfoque integrado para el control eficaz de la anemia. Ginebra.
18. THOMPSON, B.A.; SHARP, P.A.; ELLIOTT, R.; FAIRWEATHER-TAIT, S.J. 2010. Inhibitory effect of calcium on nonheme iron absorption may be related to translocation of DMT-1 at the apical membrane of enterocytes. *J. Agric Food Chem.* 58: pp. 8414–8417.