



TESIS DOCTORAL

**CONCENTRACIONES DE ELEMENTOS
MINERALES EN DIFERENTES
COMPARTIMENTOS BIOLÓGICOS DURANTE
UNA TEMPORADA DEPORTIVA EN
FUTBOLISTAS: DIFERENCIAS ENTRE SEXOS**

VÍCTOR TORO ROMÁN

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMARCADORES DE SALUD
Y ESTADOS PATOLÓGICOS**

Conformidad con el director y los codirectores

Dr. Marcos Maynar Mariño Dra. María Concepción Robles Gil Dr. Diego Muñoz Marín

Esta tesis cuenta con la autorización del director/a y codirector/a de la misma y de la Comisión Académica del programa. Dichas autorizaciones constan en el Servicio de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Extremadura.

2023



DOCTORAL THESIS

**MINERAL ELEMENTS CONCENTRATIONS IN
DIFFERENT BIOLOGICAL COMPARTMENTS
DURING A SPORTS SEASON IN FOOTBALL
PLAYERS: SEX DIFFERENCES**

VÍCTOR TORO ROMÁN

**DOCTORAL PROGRAM IN HEALTH BIOMARKERS AND
PATHOLOGICAL STATES**

Agreement with the Advisors

Dr. Marcos Maynar Mariño Dra. María Concepción Robles Gil Dr. Diego Muñoz Marín

This thesis has the authorization of its advisors and of the academic committee of the program. These authorizations are on file at the International Doctoral School Service of the University of Extremadura.

2023

“Yo creo bastante en la suerte. Y he constatado que, cuanto más duro trabajo, más suerte tengo”

Thomas Jefferson

Esta tesis va dedicada:

A mis abuelos Julia, Agustín y Agustina.

A mis padres y mi hermana.

A mi familia.

Hasta el rabo, todo es toro.

Refranero español

Agradecimientos

Estas líneas van dedicadas a todas aquellas personas que me han ayudado en este largo camino.

En primer lugar, a mis padres y mi hermana por el apoyo y la confianza durante este transcurso. También a mis abuelos y tíos, quienes siempre se preocupaban por mí y cada fin de semana me preguntaban cuando iba a finalizar esta etapa.

A todos los miembros del laboratorio de fisiología del ejercicio por el aprendizaje que he adquirido durante este tiempo. En primer lugar, a mi director y catedrático Dr. Marcos Maynar Mariño quién me dio la oportunidad de iniciarme en el mundo de la investigación. A mis codirectores Dr. María Concepción Robles Gil y Dr Diego Muñoz Marín por su tiempo y dedicación. A mis compañeros de laboratorio, Dr Francisco Javier Grijota Pérez, Dr Ignacio Bartolomé, Dr Jesús Siquier Coll, Ángel García, Mario Pérez Quintero y Sara Clemente por los numerosos momentos compartidos y todas las maravillosas horas que hemos pasado juntos realizando diversas investigaciones y trabajando codo con codo.

A mis amigos/as, por todo el apoyo y los momentos inolvidables. Lo mejor está por venir.

A los sujetos que participaron e hicieron posible la realización de la presente tesis doctoral.

“El agradecimiento es la parte principal de un hombre de bien”

Francisco de Quevedo

Financiación

Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Economía, Ciencia y Agenda Digital de la Junta de Extremadura para la realización de proyectos de investigación en centros públicos de I+D+i (IB20152) dirigido por la Dra. María Concepción Robles Gil, Marcos Maynar Mariño y Diego Muñoz Marín.

Los financiadores no han intervenido en el diseño del estudio, la recogida y el análisis de los datos.

Producción científica

1. Toro-Román, V., Robles-Gil, M. C., Muñoz, D., Bartolomé, I., Siquier-Coll, J., & Maynar-Mariño, M. (2022). Extracellular and Intracellular Concentrations of Molybdenum and Zinc in Soccer Players: Sex Differences. *Biology*, 11(12), 1710.
2. Toro-Román, V.; Grijota, F.J.; Muñoz, D.; Maynar-Mariño, M.; Clemente-Gil, S.; Robles-Gil, M.C. (2023). Anthropometry, Body Composition, and Physical Fitness in Semi-Professional Soccer Players: Differences between Sexes and Playing Position. *Applied Sciences*, 13(3), 1249.
3. Toro-Román, V.; Muñoz, D.; Maynar-Mariño, M.; Clemente-Gil, S.; Robles-Gil, M.C. (2023). Sex Differences in Copper Concentrations during a Sports Season in Soccer Players. *Nutrients*, 15(3), 495.

ÍNDICES

CONTENTS

Índice

Resumen	27
Palabras claves.....	28
1. Introducción	35
1.1. Minerales	35
1.2. Primeras definiciones de esencialidad	41
1.3. Modo de actuación de los elementos minerales.....	45
1.4. Cobre.....	48
1.5. Hierro	58
1.6. Manganeso	75
1.7. Molibdeno	83
1.8. Selenio	89
1.9. Zinc	100
1.10. Elementos minerales: diferencias entre sexos	118
1.11. Importancia de los elementos minerales en el deportista.....	122
1.12. Ingestas de elementos minerales en deportistas	130
1.13. Consecuencias del déficit nutricional de los elementos minerales en el rendimiento deportivo.....	135
1.14. Influencia del ejercicio físico en las concentraciones de elementos minerales en diferentes compartimentos	143
1.15. Fútbol	152
1.16. Concentraciones de elementos minerales en futbolistas	155
2. Hipótesis y objetivos	161
3. Material y métodos.....	167
3.1. Diseño de estudio.....	167
3.2. Protocolo de seguridad.....	169
3.3. Participantes del estudio	169
3.4. Control de los entrenamientos, partidos y lesiones de los participantes.....	171
3.5. Control del ciclo menstrual.....	172
3.6. Evaluación de la actividad física	173

3.7.	Ingesta nutricional.....	173
3.8.	Valoración de la antropometría y composición corporal.....	174
3.9.	Valoración de la condición física.....	176
3.10.	Recolección de las muestras sanguíneas y urinarias.....	179
3.11.	Parámetros hematológicos, bioquímicos, hormonales y hierro sérico.....	180
3.12.	Determinación de los elementos minerales.....	181
3.13.	Análisis estadísticos.....	185
4.	Resultados y discusión.....	189
4.1.	Antropometría, composición corporal y actividad física.....	189
4.2.	Condición física.....	192
4.3.	Ingesta nutricional.....	199
4.4.	Valoraciones analíticas sanguíneas.....	206
4.5.	Hormonas femeninas: progesterona y estradiol-17 β	216
4.6.	Concentraciones extracelulares e intracelulares de los elementos minerales analizados.....	218
5.	Conclusiones.....	257
6.	Limitaciones, aplicaciones prácticas y prospectivas de estudio.....	265
7.	Referencias bibliográficas.....	271
8.	Anexos.....	343
8.1.	Aceptación comité de bioética.....	343
8.2.	Consentimiento informado.....	344
8.3.	Cuestionario sobre el ciclo menstrual.....	348
8.4.	Cuestionario sobre la actividad física.....	349
8.5.	Formulario ingesta nutricional.....	350

Índice de tablas

N.º	Título	Pág.
Tabla 1	Elementos de interés para la salud humana.....	44
Tabla 2	Valores estimados de la ingesta adecuada de selenio.....	97
Tabla 3	Concentración y contenido de zinc en varios órganos y tejidos.....	101
Tabla 4	Características de los participantes del estudio.....	170
Tabla 5	Número de entrenamientos, partidos y lesiones de los participantes	172
Tabla 6	Características del ciclo menstrual.....	173
Tabla 7	Condiciones de operación del ICP-MS.....	182
Tabla 8	Programa de digestión de muestras eritrocitarias.....	183
Tabla 9	Límite de detección y cuantificación de los elementos minerales.....	184
Tabla 10	Resultados de antropometría, composición corporal y actividad física.....	190
Tabla 11	Resultados obtenidos en las pruebas de salto vertical en los participantes.....	193
Tabla 12	Resultados obtenidos en la fuerza de prensión manual y fuerza isométrica máxima de espalda y piernas.....	195
Tabla 13	Resultados en el test incremental máximo en tapiz.....	197
Tabla 14	Resultados de las ingestas de agua y macronutrientes.....	200
Tabla 15	Resultados de la ingesta de micronutrientes.....	202
Tabla 16	Resultados obtenidos en los parámetros hematológicos.....	207
Tabla 17	Resultados de los parámetros bioquímicos sanguíneos.....	208
Tabla 18	Resultados de las hormonas femenina.....	216

Tabla 19	Resultados de las concentraciones de cobre en las diferentes matrices biológicas.....	220
Tabla 20	Resultados de las concentraciones de hierro en las diferentes matrices biológicas.....	228
Tabla 21	Resultados de las concentraciones de manganeso en las diferentes matrices biológicas.....	234
Tabla 22	Resultados de las concentraciones de molibdeno en las diferentes matrices biológicas.....	239
Tabla 23	Resultados de las concentraciones de selenio en las diferentes matrices biológicas.....	243
Tabla 24	Resultados de las concentraciones de zinc en las diferentes matrices biológicas.....	248

Índice de figuras

N.º	Título	Pág.
Figura 1	Composición elemental del adulto humano expresada en una escala logarítmica. Primeras clasificaciones.....	36
Figura 2	Tabla periódica que muestra elementos seleccionados que son de importancia clínica y/o de salud pública.....	37
Figura 3	Intervalo dosis-respuesta de un elemento esencial.....	38
Figura 4	Requerimiento promedio, ingesta diaria recomendada y la ingesta tolerable.....	40
Figura 5	Distribución de cobre en el organismo.....	49
Figura 6	Distribución y dinámica de hierro en el cuerpo humano.....	59
Figura 7	Regulación hormonal de la salida de hierro de macrófagos reticuloendoteliales y enterocitos duodenales.....	63
Figura 8	Descripción general de las funciones multifacéticas del hierro en diversos órganos y procesos moleculares.....	67
Figura 9	Índices para evaluar el estado de hierro en varias etapas de la anemia por deficiencia de hierro.....	74
Figura 10	Homeostasis del manganeso en vertebrados.....	78
Figura 11	Funciones del selenio en varios organismos.....	93
Figura 12	La respuesta en forma de "U" de los riesgos de enfermedad a varios niveles de ingesta de selenio en la dieta.....	99
Figura 13	Componentes del metabolismo humano de zinc.....	105
Figura 14	Diagrama de los cambios en las reservas funcionales de hierro en distintas fases del estado de hierro	139

Figura 15	Glucógeno muscular en condiciones de control y recuperación después de un partido de fútbol competitivo de alto nivel.....	154
Figura 16	Diseño de investigación de la presente tesis doctoral.....	168
Figura 17	Ilustración de los procedimientos a seguir a lo largo del estudio (Anexo 8.2).....	345

ABREVIATURAS

NOMENCLATURE

Abreviaturas

ADA	American Dietetic Association	GPR	Receptor acoplado a proteínas G
ADN	Ácido desoxirribonucleico	GSH	Glutati3n
Al	Aluminio	GSH-Px	Glutati3n peroxidasa
AO	Aldehído oxidasa	GTP	Guanosina trifosfato
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero	H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
As	Arsénico	HCM	Hemoglobina corpuscular media
B	Boro	Hg	Mercurio
Ca	Calcio	HIF	Factor inducible de hipoxia
Cd	Cadmio	HIF1a	Factor inducible de hipoxia 1 alfa
CK	Creatina kinasa	I	Yodo
Cl	Cloro	IA	Ingesta adecuada
Co	Cobalto	ICP-MS	Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente
cPMP	Piranopterina cíclica monofosfato	IDR	Ingesta diaria recomendada
Cr	Cromo	IT	Ingesta tolerable
Cu	Cobre	K	Postasio
DMT1	Transportador de iones metálicos divalentes-1	LC	Límite de cuantificaci3n
F	Flúor	LD	Límite de detecci3n
FC_{max}	Frecuencia cardíaca máxima	LDH	Lactato deshidrogenasa
Fe	Hierro	LDL	Lipoproteínas de baja densidad
Ge	Germanio	Li	Litio
GOT	Transaminasa glutámico oxalacética	mARC	componente reductor de amidoxima mitocondrial

mg	Miligramos	PRF	Proteínas reguladoras de hierro
Mg	Magnesio	Rb	Rubidio
Mn	Manganeso	Re	Renio
MnSOD	Manganeso superóxido dismutasa	RP	Requisito promedio estimado
Mo	Molibdeno	Rpm	Revoluciones por minuto
Moco	Cofactor de Molibdeno	S	Azufre
MOCS1A	Proteína 1A de la síntesis de cofactor molibdeno	Se	Selenio
MOCS1B	Proteína 1B de la síntesis de cofactor molibdeno	Se⁻²	Seleniuro
MOCS2A	Proteína 2A de la síntesis de cofactor molibdeno	SeO₃⁻²	Selenito
MOCS2B	Proteína 2B de la síntesis de cofactor molibdeno	SeO₄⁻²	Selenato
MoO₄⁻²	Oxoanión molibdato	Si	Silicio
Na	Sodio	Sn	Estaño
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido	SO	Sulfito oxidasa
NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato	SOD	Superóxido dismutasa
Nb	Niobio	V	Vanadio
NCCLS	Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico	VCM	Volumen corpuscular medio
Ni	Níquel	VCO_{2max}	Consumo máximo de dióxido de carbono
OH	Hidróxido	VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
Pb	Plomo	VO_{2max}	Consumo máximo de dióxido de carbono
PCr	Fosfocreatina	W	Wolframio

XDH Xantina deshidrogenasa

XO Xantina oxidasa

Zn Zinc

RESUMEN Y PALABRAS CLAVES

ABSTRACT AND KEYWORDS

Resumen

Introducción: Los elementos minerales (EM) esenciales son fundamentales para la salud y el rendimiento deportivo. Aunque se ha avanzado durante los últimos años en el conocimiento de la funcionalidad de los EM y la influencia del ejercicio físico, los trabajos se han planteado sobre todo en hombres y en disciplinas deportivas aeróbicas individuales, analizando mayormente dos compartimentos biológicos.

Objetivos: Los objetivos principales del presente estudio son: i) analizar los cambios en las concentraciones de EM esenciales (cobre, hierro, manganeso, molibdeno, selenio y zinc) en diferentes matrices biológicas (eritrocito, plaqueta, plasma y orina) a lo largo de una temporada deportiva en jugadores de fútbol masculinos y femeninos y ii) analizar las posibles diferencias entre sexos en las concentraciones de EM esenciales (cobre, hierro, manganeso, molibdeno, selenio y zinc) en futbolistas en las diferentes matrices biológicas analizadas.

Métodos: Un total de 46 jugadores, divididos en 22 futbolistas masculinos y 24 futbolistas femeninas, participaron en la presente tesis doctoral. Se realizaron 3 valoraciones a lo largo de la temporada deportiva regular. Las valoraciones fueron las siguientes: antropometría, composición corporal, ingesta nutricional, condición física (salto vertical, fuerza isométrica, capacidad aeróbica máxima, hormonas femeninas (ciclo menstrual), análisis hematológicos y bioquímicos. Además, las determinaciones de EM (cobre, hierro, manganeso, molibdeno, selenio y zinc) fueron realizadas en diferentes matrices biológicas (plasma, orina, eritrocitos y plaquetas). También, Fe evaluado en suero. La determinación de los EM fue realizada mediante espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente.

Resultados: Se observaron diferencias entre sexos en todos los parámetros de condición física evaluados ($p \leq 0,05$). Igualmente, se encontraron diferencias significativas en los parámetros hematológicos y bioquímicos ($p \leq 0,05$). No hubo diferencias entre sexos en la ingesta de EM.

Respecto a las diferencias a lo largo de la temporada en las concentraciones de EM, existían discrepancias significativas en las concentraciones plasmáticas, urinarias, eritrocitarias y plaquetarias de cobre y molibdeno ($p \leq 0,05$). Igualmente, se observaron diferencias en las concentraciones urinarias y eritrocitarias de hierro ($p \leq 0,05$). En cuanto

a las concentraciones de manganeso, se observaron diferencias en orina, eritrocitos y plaquetas ($p \leq 0,05$). También, se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de molibdeno en todos los compartimentos biológicos analizados ($p \leq 0,05$). Respecto a las concentraciones de selenio, se observaron diferencias en plasma, orina y plaquetas ($p \leq 0,05$). Por último, en lo que respecta a las concentraciones de zinc, hubo diferencias en orina y plaquetas ($p \leq 0,05$).

En cuanto a las diferencias en las concentraciones de EM, hubo diferencias entre sexos en las concentraciones plasmáticas de hierro, manganeso, molibdeno, selenio y zinc ($p \leq 0,05$). En cuanto a las concentraciones urinarias, se observaron diferencias entre sexos en cobre, hierro, manganeso, selenio y zinc ($p \leq 0,05$). En lo que respecta a las concentraciones eritrocitarias, hubo diferencias entre sexos en cobre, hierro, manganeso, selenio y zinc ($p \leq 0,05$). En cuanto a las concentraciones plaquetarias, se observaron diferencias en cobre, hierro, selenio y zinc ($p \leq 0,05$).

Conclusiones: A la vista de los resultados, durante una temporada deportiva se producen cambios en las concentraciones extracelulares e intracelulares de EM (cobre, hierro, manganeso, molibdeno, selenio y zinc). Además, las concentraciones en las diferentes matrices biológicas son diferentes según el sexo.

La valoración de estatus de EM durante una temporada deportiva regular es importante para conocer la posible necesidad de incorporar suplementación nutricional ya que el déficit en EM podría influir negativamente en el rendimiento si se mantiene durante largos períodos. Por otro lado, debido a las discrepancias entre compartimentos biológicos, es importantes utilizar varios marcadores para evaluar el estado de EM con el objetivo de realizar una valoración completa.

Palabras claves

Plasma, orina, eritrocitos, plaquetas, nutrición, entrenamiento físico, condición física.

Abstract

Introduction: Essential mineral elements (MEs) are fundamental for health and sports performance. Although progress has been made during the last years in the knowledge of the functionality of MEs and the influence of physical exercise, the work has been focused on men and individual aerobic sports disciplines, analyzing mostly two biological compartments.

Aims: The general objectives of the present study are: (i) to analyze changes in essential MEs concentrations (copper, iron, manganese, molybdenum, selenium and zinc) in different biological matrices (erythrocyte, platelet, plasma and urine) throughout a sports season in male and female soccer players and (ii) to analyze sex differences in essential MEs concentrations (copper, iron, manganese, molybdenum, selenium and zinc) in male and female soccer players in the different biological matrices analyzed.

Methods: A total of 46 players, divided into 22 male and 24 female soccer players, participated in the present doctoral thesis. Three assessments were carried out during the regular sports season. The assessments were as follows: anthropometry, body composition, nutritional intake, physical condition (vertical jump, isometric strength, maximal aerobic capacity, female hormones (menstrual cycle), hematological and biochemical analyses. In addition, MEs determinations (copper, iron, manganese, molybdenum, selenium, and zinc) were carried out in different biological matrices (plasma, urine, erythrocytes and platelets). Also, Fe assessed in serum. The determination of MEs was performed by inductively coupled plasma mass spectrometry.

Results: Differences between sexes were observed in all the physical condition parameters evaluated ($p \leq 0.05$). Likewise, there were differences in hematological and biochemical parameters ($p \leq 0.05$). There were no sex differences in MEs intake.

Regarding seasonal differences in MEs concentrations, there were significant differences in plasma, urinary, erythrocyte and platelet copper and molybdenum concentrations ($p \leq 0.05$). Likewise, differences were observed in urinary and erythrocyte iron concentrations ($p \leq 0.05$). As for manganese concentrations, differences were observed in urine, erythrocytes, and platelets ($p \leq 0.05$). Also, there were significant differences in molybdenum concentrations in all biological compartments analyzed ($p \leq 0.05$). Regarding selenium concentrations, differences were observed in plasma, urine, and platelets ($p \leq 0.05$). Finally, regarding zinc concentrations, there were differences in urine

and platelets ($p \leq 0.05$). Conclusions: In view of the results, changes in extracellular and intracellular concentrations of MEs (copper, iron, manganese, manganese, molybdenum, selenium, and zinc) occur during a sports season. Also, concentrations in different biological matrices are different according to sex.

Regarding sex differences in MEs concentrations, there were differences in plasma concentrations of iron, manganese, molybdenum, selenium, and zinc ($p \leq 0.05$). Regarding urinary concentrations, sex differences were observed in copper, iron, manganese, selenium, and zinc ($p \leq 0.05$). Regarding erythrocyte concentrations, there were differences between sexes in copper, iron, manganese, selenium, and zinc ($p \leq 0.05$). Regarding platelet concentrations, differences were observed in copper, iron, selenium, and zinc ($p \leq 0.05$).

The assessment of MEs status during a regular sports season is essential to know the possible need to incorporate nutritional supplementation since MEs deficit could negatively influence performance if maintained for long periods. On the other hand, due to the discrepancies between biological compartments, it is important to use several markers to evaluate the MEs status to perform a complete assessment.

Keywords

Plasma, urine, erythrocytes, platelets, nutrition, physical training, physical fitness

INTRODUCCIÓN

INTRODUCTION

1. Introducción

1.1. *Minerales*

La calidad de la vida humana depende de la composición química de los alimentos y del entorno (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007). Todas las células del cuerpo humano requieren cantidades relativamente pequeñas de ciertos elementos atómicos para permitir que todos los sistemas corporales utilicen los nutrientes necesarios para la supervivencia y el correcto funcionamiento, incluido el rendimiento físico (Driskell & Wolinsky, 2005). El notable desarrollo de la biología molecular ha generado un aumento del conocimiento sobre los elementos esenciales para la vida (Collins, 2016).

La ciencia de la nutrición distingue principalmente dos clases diferentes de nutrientes: macronutrientes y micronutrientes (Savarino et al., 2021). Los macronutrientes son considerados como los componentes principales de diferentes tejidos y constituyen la cantidad total del aporte calórico, es decir, la principal fuente de energía del cuerpo humano. Los macronutrientes se dividen principalmente en carbohidratos, proteínas y lípidos (Carreiro et al., 2016). Por otro lado, los micronutrientes son aquellos componentes de la dieta que no proporcionan una contribución significativa a la ingesta calórica, pero que aún pueden considerarse cruciales para la salud y las funciones vitales, incluso si se necesitan en cantidades reducidas. En este grupo se incluyen principalmente vitaminas (liposolubles e hidrosolubles) y minerales (Shergill-Bonner, 2017).

Del conjunto de nutrientes que el organismo necesita, unos deben ser aportados necesariamente por la dieta, ya que no se pueden sintetizar en el organismo, denominándose nutrientes esenciales. Por otro lado, otros nutrientes sí pueden sintetizarse endógenamente, conocidos como no esenciales. Atendiendo a lo anterior, es importante controlar la ingesta de los nutrientes esenciales, sin olvidar los nutrientes no esenciales, debido a sus propiedades (Tako, 2019).

Las recientes mejoras y los nuevos métodos de la química analítica, así como el aumento de los campos de investigación medioambiental, han permitido llevar a cabo estudios exhaustivos sobre la biogeoquímica de los minerales. En las últimas décadas se ha producido un incremento de la investigación y de las publicaciones científicas sobre la presencia y el comportamiento de casi todos los minerales, incluidos los elementos

minerales de funciones fisiológicas conocidas y desconocidas en los organismos (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

Los minerales engloban solamente el 5% de la dieta humana normal, pero son esenciales para la salud y el funcionamiento óptimo del organismo. Los elementos minerales se pueden clasificar en (Tako, 2019):

- Macrominerales: minerales que los adultos necesitan en cantidades superiores a 100 mg/día o que constituyen menos del uno por ciento del peso corporal total.
- Minerales traza u oligoelementos: minerales que los adultos requieren en cantidades de 1 a 100 mg/día o que constituyen menos del 0,01% del peso corporal total.
- Minerales ultratrazas: aquellos elementos minerales que se requieren en cantidades inferiores a 1 µg/día.

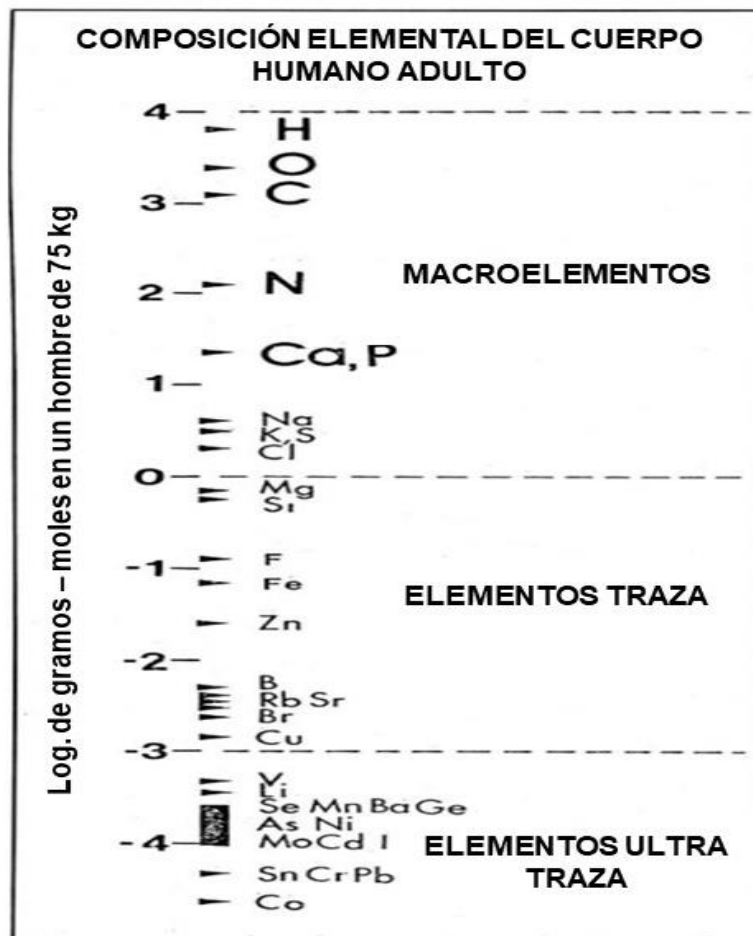


Figura 1. Composición elemental del adulto humano expresada en una escala logarítmica. Primeras clasificaciones. Adaptado de Frieden, (1985).

Se han propuesto varias clasificaciones para los elementos minerales, en la presente tesis se utilizará la clasificación del Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (NCCLS) (Lockitch et al., 1997).

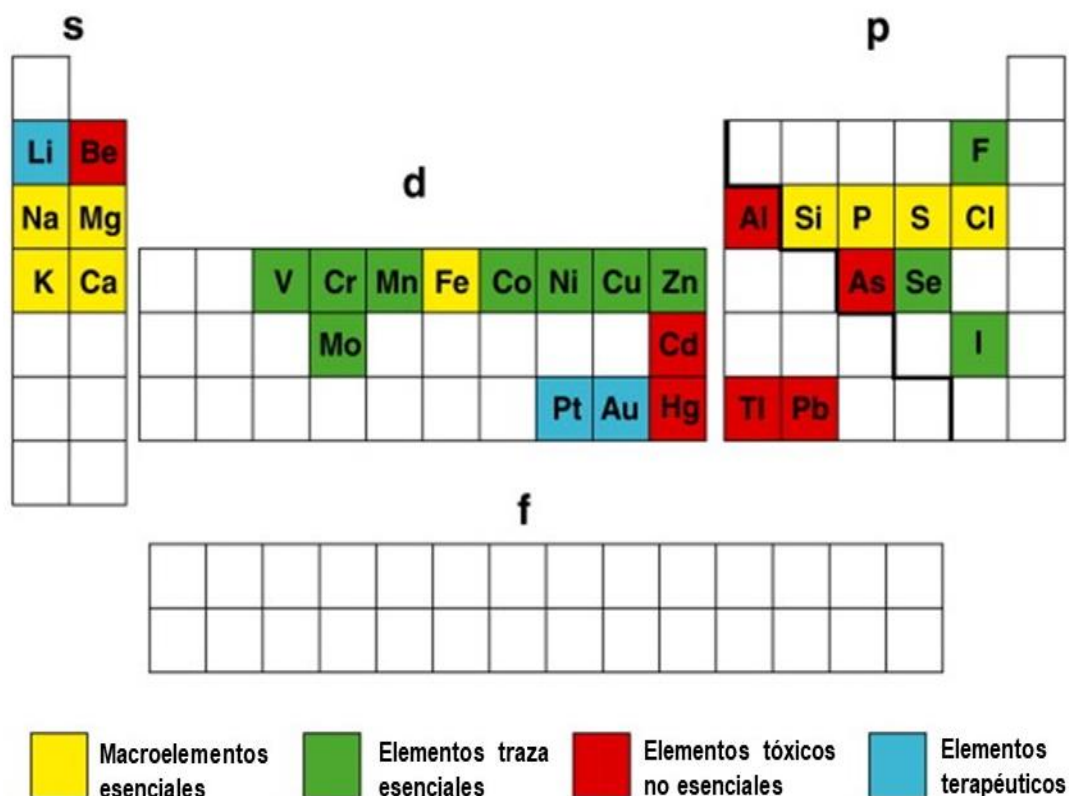


Figura 2. Tabla periódica que muestra elementos seleccionados que son de importancia clínica y/o de salud pública. Los elementos esenciales se subdividen en principales y trazas (0,01 a 100 $\mu\text{g/g}$ o 10 $\mu\text{g/L}$ a 104 $\mu\text{g/L}$) según la clasificación del NCCLS. Las letras S, p, d y f corresponde al orbital que están ocupando los electrones más externos Adaptado de Parsons & Barbosa, (2007).

Diversos elementos no esenciales son tan omnipresentes en el medio ambiente que se detectan fácilmente en los tejidos y fluidos del cuerpo humano. Algunos son relativamente benignos, pero otros, como el plomo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg) y arsénico (As), son bastante tóxicos incluso en concentraciones que se consideran trazas. Los elementos tóxicos no esenciales más comunes aparecen en la figura 2 sombreado en rojo. Sin embargo, cabe señalar que todos los elementos, incluidos los considerados esenciales, pueden ejercer efectos tóxicos si están presentes por encima de un umbral de concentración crítico (Savory & Wills, 1992). Por el contrario, cuando un elemento esencial está presente en una concentración inferior a la requerida para un crecimiento saludable normal, dicha deficiencia también se asocia con efectos adversos

para la salud (Patriarca et al., 1998) . Por lo tanto, la toxicidad de cualquier elemento dependerá de su concentración, duración y vía de exposición.

Un organismo pasa por varias etapas a medida que la concentración de un nutriente esencial progresa de la carencia al exceso (Figura 3). En caso de carencia absoluta, puede producirse la muerte. Con una ingesta limitada, el organismo sobrevive, pero puede mostrar una insuficiencia marginal. Al aumentar el nutriente, se alcanza una meseta que representa la función óptima (Frieden, 2012). A medida que el nutriente se administra en exceso, se alcanza primero una toxicidad marginal y después una toxicidad mortal. Aunque esta curva puede variar cuantitativamente para cada nutriente esencial, el patrón básico se mantiene para prácticamente todos los elementos (Frieden, 1985). En el caso de selenio (Se) y flúor (F), apenas hay un intervalo corto entre la ingesta diaria para la supervivencia y la de aparición de efectos tóxicos. Cada elemento mineral (EM) tiene un rango de exposiciones seguras que mantienen las concentraciones y funciones tisulares óptimas. Además, cada EM tiene un rango tóxico cuando se supera su exposición segura (Mertz, 1981). Una toxicidad elevada no excluye la esencialidad biológica. Se y F son dos ejemplos en los que una toxicidad relativamente alta ha retrasado, pero no impedido, su reconocimiento definitivo como EM esenciales (Frieden, 1985).

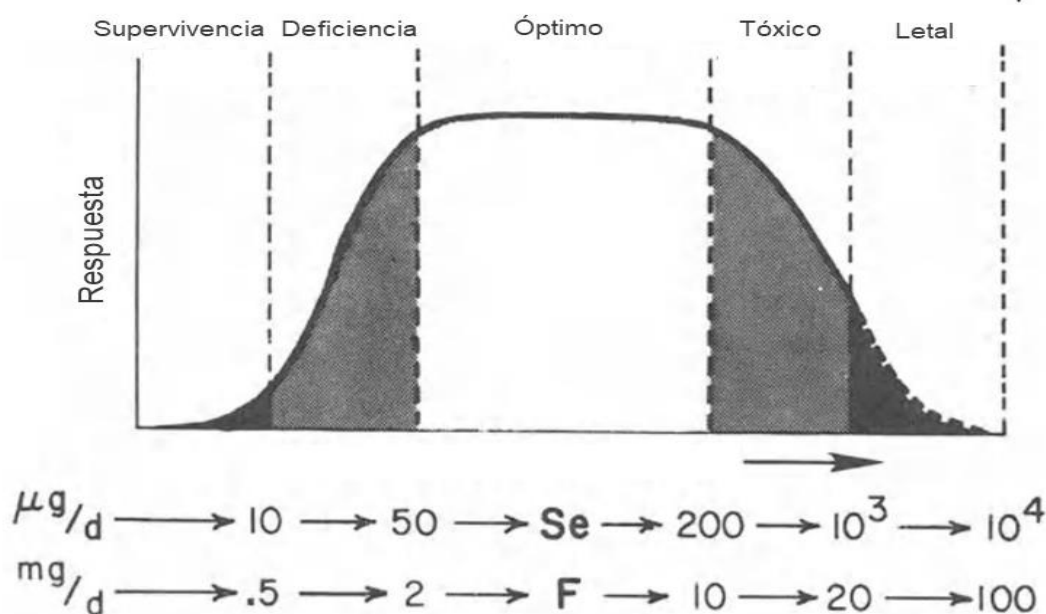


Figura 3. Intervalo dosis-respuesta de un elemento esencial. Se incluyen estimaciones de las necesidades específicas en términos de microgramos al día para el selenio o miligramos al día para el flúor. Adaptado de Frieden, (1985).

1.1.1. Ingestas de referencia

Los niveles de ingesta de referencia para una población son aquellos a partir de los cuales se pueden elaborar recomendaciones dietéticas con el fin de asegurar el aporte nutricional equilibrado para el mantenimiento del buen estado de salud y permitan prevenir enfermedades carenciales y crónicas (Calleja et al., 2019).

Muchos países han desarrollado recomendaciones para la ingesta de micronutrientes en la dieta normal. Estos se han basado en las ingestas observadas en la población sana, junto con una pequeña cantidad de estudios detallados de balance de nutrientes y estimaciones de laboratorio del estado de la sangre y los tejidos asociados con niveles particulares de ingesta (Shenkin, 2006). En España las recomendaciones de la Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética establecen las Ingestas Dietéticas de Referencia (Calleja et al., 2019)

Los valores de referencia, denominados colectivamente Ingestas Dietéticas de Referencia, incluyen la Ingesta Dietética Recomendada (IDR), la Ingesta Adecuada (IA), el Nivel Superior de Ingesta Superior Tolerable (IT) y el Requisito Promedio Estimado (RP). Cada tipo de ingesta dietética de referencia se refiere a la ingesta diaria promedio de nutrientes de las personas a lo largo del tiempo. La cantidad tomada puede variar sustancialmente de un día a otro sin efectos nocivos en la mayoría de los casos.

Ingesta Dietética Recomendada

Nivel de ingesta dietética diaria promedio que es suficiente para cumplir con los requisitos de nutrientes de casi todas las personas sanas (97-98% de la población) en una etapa de la vida y sexo en particular. IDR es utilizado como un objetivo para la ingesta diaria de las personas. El proceso para establecer la IDR depende de RP (Institute of Medicine, 1998).

Requisito promedio estimado

Valor de ingesta diaria que se estima para cumplir con el requerimiento en la mitad de las personas sanas en una etapa de la vida y sexo (Institute of Medicine, 1998).

Ingesta adecuada

Si no se dispone de suficiente evidencia científica para calcular RP, se utiliza IA. IA es un valor basado en niveles de ingesta derivados experimentalmente o aproximaciones de la ingesta media de nutrientes observada por un grupo (o grupos) de personas sanas (Institute of Medicine, 1998).

Ingesta superior tolerable

IT es el nivel más alto de ingesta diaria de nutrientes que probablemente no presente ningún riesgo de efectos adversos para la salud en casi todos los individuos en el grupo de etapa de vida especificado. A medida que la ingesta aumenta por encima del IT, aumenta el riesgo de efectos adversos. La IT no pretende ser un nivel recomendado de ingesta, y no existe un beneficio establecido para las personas sanas si consumen un nutriente en cantidades que excedan a IDR.

IT se basa en una evaluación realizada utilizando la metodología para la evaluación de riesgos de nutrientes. La necesidad de establecer IT surgió de la mayor fortificación de los alimentos con nutrientes y el mayor uso de suplementos dietéticos.

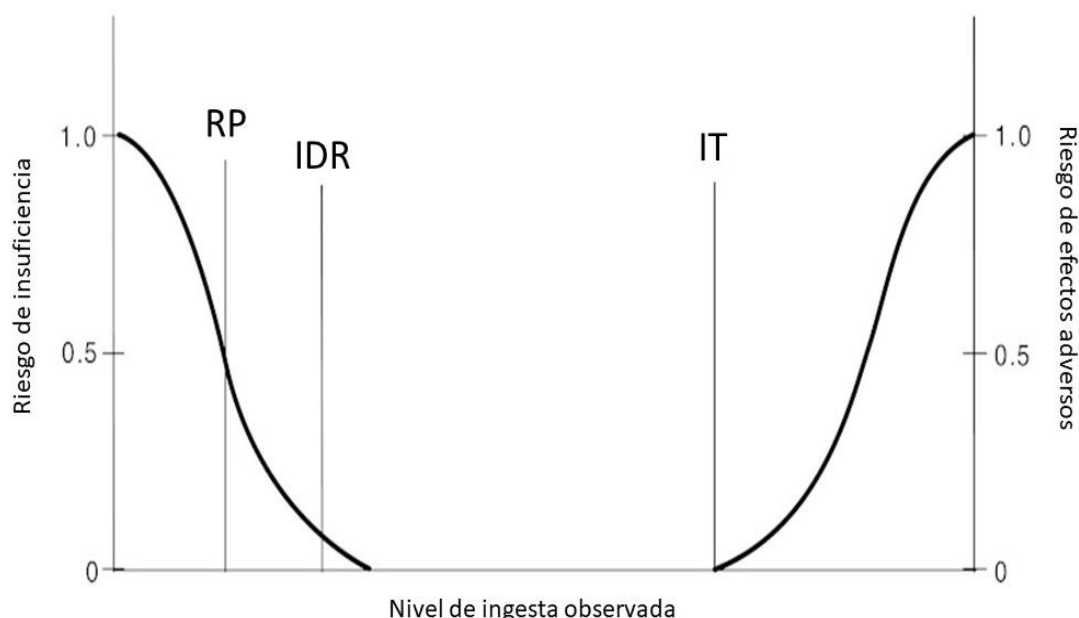


Figura 4. Esta figura muestra que el requerimiento promedio (RP) es la ingesta en la que el riesgo de insuficiencia es de 0,5 (50%) para un individuo. La ingesta diaria recomendada (IDR) es la ingesta en la que el riesgo de insuficiencia es muy pequeño: solo 0,02 a 0,03 (2% a 3%). En ingestas entre la IDR y la ingesta tolerable (IT), los riesgos de insuficiencia y exceso son cercanos a 0. En ingestas superiores a IT, el riesgo de efectos adversos puede aumentar. Adaptado de Institute of Medicine, (1998).

1.2. *Primeras definiciones de esencialidad*

Según el Consejo de Alimentación y Nutrición (Institute of Medicine Food and Nutrition Board, 1994), el concepto de nutriente esencial estaba establecido en 1940. Como se ha informado anteriormente, los nutrientes se definían como sustancias químicas presentes en los alimentos que son necesarias para la vida, el crecimiento y la reparación de los tejidos. Aquellos que el organismo no puede sintetizar se denominaban esenciales.

El uso de modelos de crecimiento animal para identificar los nutrientes esenciales y cuantificar las necesidades fue la base de la nutrición experimental inicial. En las décadas de los 60 y 70, los criterios para establecer la esencialidad de EM solían incluir lo siguiente (Bogden & Klevay, 2000):

1. El elemento debe reaccionar con material biológico o formar quelatos.
2. El elemento debe ser ubicuo en el agua de mar y en la corteza terrestre. En otras palabras, debía estar presente durante la evolución de los organismos para que pudiera incorporarse cuando se desarrollaran funciones esenciales que requirieran el elemento.
3. El elemento debe estar presente en una cantidad significativa en los animales.
4. El elemento debe ser tóxico para los animales sólo en ingestas relativamente altas en comparación con las ingestas nutricionales.
5. Deben existir mecanismos homeostáticos para el elemento, de modo que se mantenga en el organismo en una cantidad bastante constante durante las variaciones a corto plazo de la ingesta.
6. Por último, y lo que es más importante, una deficiencia dietética debe alterar de forma consistente y adversa una función biológica respecto a la óptima, y esta alteración debe ser evitable o reversible mediante cantidades fisiológicas del elemento. Con el tiempo, este criterio se convirtió por sí solo en una definición de esencialidad.

En las décadas de los 80 y 90, el establecimiento de la esencialidad sobre la base de los criterios anteriores empezó a cuestionarse cuando se sugería que un gran número de elementos eran esenciales basándose en algún pequeño cambio en una variable fisiológica o bioquímica. El uso del criterio número 6 parecía aplicarse con demasiada liberalidad a los cambios detectados en animales de experimentación que supuestamente habían sido alimentados con una dieta deficiente en algún elemento. Se cuestionó si

muchos de estos cambios eran necesariamente el resultado de una función subóptima, y a veces se sugirió que eran consecuencia de una acción farmacológica o toxicológica en el organismo, incluido un efecto sobre los microorganismos intestinales (Bogden & Klevay, 2000).

A raíz de lo anterior, si no se puede demostrar que la falta de un elemento causa la muerte o interrumpe el ciclo vital, muchos científicos no consideraban esencial un elemento a menos que tenga una función bioquímica definida. Sin embargo, todavía hay científicos que basan la esencialidad en los criterios más antiguos. Así pues, no existe una lista universalmente aceptada de oligoelementos considerados esenciales. Esto explica por ejemplo, que los elementos cromo (Cr) y F se consideran esenciales, pero basándose en la definición de esencialidad aparentemente más aceptada hoy en día, probablemente sólo deberían considerarse posiblemente esenciales (Bogden & Klevay, 2000).

1.2.1. Esencialidad condicional

Un número considerable de EM han recibido atención por su posible importancia en la prevención de enfermedades con raíces nutricionales o para la mejora de la salud y la longevidad. Debido a algún hallazgo fisiológico o clínico prometedor, la mayoría de las veces en un modelo animal o en una situación humana especial, estos elementos son promocionados por la industria de los suplementos.

Al menos 15 elementos podrían considerarse posiblemente esenciales: aluminio (Al), As, boro (B), bromo (Br), Cd, Cr, F, germanio (Ge), Pb, litio (Li), níquel (Ni), rubidio (Rb), silicio (Si), estaño (Sn) y vanadio (V). La característica clave de estos elementos es que, aunque existen pruebas circunstanciales que sugieren su esencialidad, no tienen una función bioquímica específica definida (Bogden & Klevay, 2000).

La calidad de las pruebas circunstanciales de la esencialidad nutricional de estos elementos varía mucho. Las pruebas son sustanciales para el As, Bo, Cr, Ni, Si y V. Las pruebas de la esencialidad de los demás elementos enumerados son de naturaleza más limitada y a menudo incluyen resultados de carencias aparentes en animales de experimentación que no eran muy marcadas o no indicaban necesariamente una función biológica subóptima o se obtuvieron en condiciones experimentales menos que satisfactorias (Bogden & Klevay, 2000).

Atendiendo a lo anterior, apareció el concepto de "nutriente esencial condicional" en la literatura de la nutrición. En 1993, se definió este término como nutrientes, normalmente prescindibles, que se hacen indispensables en determinadas condiciones patológicas (Harper, 1993). Los nutrientes esenciales condicionales también se han definido como nutrientes que deben aportarse en la dieta para el mantenimiento de la salud de determinadas personas, o en edades, etapas o estados patológicos específicos (McCormick, 1993). Este término se ha aplicado a varios de los EM posiblemente esenciales porque se ha demostrado que tienen acciones de tipo esencial cuando un animal/humano está expuesto a un estresor ambiental, nutricional, fisiológico u hormonal.

1.2.2. Categorización de los nutrientes con esencialidad condicional

Las pruebas circunstanciales utilizadas para apoyar la afirmación de que un EM esencial suelen clasificarse en cuatro categorías. Éstas son (Bogden & Klevay, 2000):

1. Una privación dietética en algún modelo animal produce sistemáticamente un cambio en la función biológica, la estructura corporal o la composición tisular que es evitable o reversible mediante la ingesta de una cantidad fisiológica aparente del elemento en cuestión.

2. El elemento satisface la necesidad en concentraciones fisiológicas para que una acción bioquímica in vivo conocida se produzca in vitro.

3. El elemento es un componente de moléculas biológicamente importantes conocidas en alguna forma de vida.

4. El elemento tiene una función esencial en formas de vida inferiores.

En este debate, se considera que un elemento tiene un fuerte apoyo circunstancial de esencialidad si tiene los cuatro tipos de pruebas, y un apoyo circunstancial limitado o débil si sólo tiene uno o dos tipos de pruebas.

Tabla 1. EM con interés para la salud humana.

Tipo de mineral	Minerales
Macroelementos esenciales	Fe, Mg, Si, P, Na, K, Ca, S y Cl
Elementos traza esenciales	Co, Cr, Cu, F, Mn, Mo, Ni, Se, I y Zn
Elementos traza esencialidad condicionada	As, B, Br, Li, Sn, V
Elementos minerales tóxicos	Al, Be, Cd, Hg, Nb, Pb, Re

Adaptado de Parsons & Barbosa, (2007). Mg: magnesio; Si: silicio; Na: sodio; K: potasio; Ca: calcio; S: azufre; Cl: cloro; Co: cobalto; Cr: cromo; Cu: cobre; F: flúor; Mn: manganeso; Mo: molibdeno; Ni: níquel; Se: selenio; I: yodo; Zn: zinc; Fe: hierro; As: arsénico; B: boro; Br: bromo; Li: litio; Sn: estaño; V: vanadio; Al: aluminio; Be: berilio; Cd: cadmio; Hg: mercurio; Nb: niobio; Pb: plomo; Re: renio.

1.2.3. Variables fisiológicas que influyen en la utilización de EM

Entre las variables que influyen en la utilización de EM en el organismo destacan las siguientes (World Health Organization, 1996):

Intrínsecas

1. Procesos de absorción
 - Cambios en el desarrollo:
 - Infancia: absorción postnatal inmediata mal regulada hasta que se establecen mecanismos reguladores homeostáticos con el aumento de la madurez intestinal.
 - Senectud: probable disminución de la eficacia de la absorción de cobre (Cu) y zinc (Zn).
 - Regulación homeostática:
 - Adaptación a un estado de EM bajo o a una demanda elevada (por ejemplo, durante el embarazo) modificando la actividad/concentración de los receptores implicados en la absorción desde el tracto gastrointestinal.
 - Relación del contenido soluble intraluminal del EM con la saturación proporcional de los receptores implicados en la absorción.

2. Interacciones metabólicas/funcionales
 - Interdependencia de los elementos minerales en los procesos implicados en el almacenamiento y el metabolismo.
 - Interrelaciones metabólicas que aumentan la pérdida de elementos minerales o reducen la movilidad de los elementos almacenados (por ejemplo, el anabolismo tisular secuestra Zn; la actividad física favorece la pérdida de Cr; las lesiones tisulares favorecen la pérdida de Zn).
 - Interrelaciones metabólicas que favorecen la liberación del elemento almacenado (por ejemplo, un nivel bajo de calcio (Ca) favorece la liberación de Zn esquelético; el catabolismo tisular favorece la redistribución del Zn).

Extrínsecas (dieta)

1. Solubilidad y dimensiones moleculares de las especies portadoras de oligoelementos en los alimentos, la digestión y la luz intestinal que influyen en la absorción por la mucosa.
2. Sinergistas que mejoran la movilidad del elemento:
 - Mejoran la absorción.
 - Mantienen el transporte sistémico y la movilidad de algunos elementos.
3. Antagonistas que limitan la movilidad del elemento:
 - Disminuyen la solubilidad del elemento en la luz gastrointestinal.
 - Compiten con el elemento por los receptores implicados en la absorción, el transporte, el almacenamiento o la función.
 - Mecanismos desconocidos.

1.3. *Modo de actuación de los elementos minerales*

Los EM esenciales son universalmente necesarios para el crecimiento y la supervivencia de células y organismos. Normalmente se encuentran y funcionan en las células en concentraciones extremadamente bajas, normalmente muy inferiores a 1 μM y tan bajas como 10^{-8} a 10^{-9} m (Frieden, 1985).

¿Cómo pueden los EM servir de átomos o moléculas esenciales en las células? Hay un número considerable de EM, especialmente entre los iones de metales de transición, que han demostrado servir como factores de crecimiento necesarios a concentraciones extremadamente bajas. Quizás exista un sitio de unión universal de

metales de transición que pueda responder individualmente a una variedad de iones metálicos diferentes siempre que no estén bloqueados por otro ion metálico. Así, cuando la dieta y el entorno están controlados, el sitio general de unión de metales de transición se vuelve accesible a nuevos iones metálicos que fueron eliminados previamente por la dieta (Frieden, 1985).

La mayoría de los datos disponibles sobre la función de los EM se centran en su papel como metaloenzimas. Los EM son esenciales porque sirven como grupos de unión necesarios en sitios activos y/o como coenzimas para metaloenzimas indispensables o enzimas activadas por iones metálicos. En las metaloenzimas, un número fijo de átomos metálicos específicos (normalmente Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, Co y Ni) están asociados a una proteína específica. Esta combinación produce una función catalítica única. Se calcula que entre una cuarta y una tercera parte de todas las enzimas conocidas requieren un ion metálico como participante funcional (Frieden, 1985).

1.3.1. Metaloenzimas

Cuando el ion metálico funcional sirve para promover la catálisis, la metaloproteína se puede clasificar como una metaloenzima (Chen et al., 2018). La catalasa y diversas peroxidasas son enzimas hemo típicas que requieren Fe. La metaloenzima, superóxido dismutasa (SOD), aislada del citoplasma contiene dos átomos de Cu y dos átomos de Zn por molécula (Valentine et al., 1979). Algunos elementos minerales ultratraza esenciales, como Mn, Mo, Co y Ni han sido claramente identificados como formadores de metaloenzimas. Las metaloenzimas de Mn están presentes en varias enzimas importantes: SOD (mitocondrial), arginasa, piruvato carboxilasa y glicosil transferasa. El Mn también parece estar directamente implicado en enzimas del metabolismo de los hidratos de carbono, con una posible relación con el metabolismo de los lípidos. En todas las molibdo-metaloenzimas, el metal existe como cofactor Mo, un complejo del metal con una molécula orgánica nueva, llamada molibdopterina (Rajagopalan, 1984). La función del Co, a pesar de su complejidad, es la mejor comprendida de todos los metales esenciales de ultratraza. Tanto la vitamina B12 como la coenzima B12 tienen un ion cobalto complejado en sus posiciones ecuatoriales por cuatro N de un ligando macrocíclico llamado corrina (Frieden, 1985).

Hasta ahora, las metaloenzimas han proporcionado el mejor modelo para determinar el funcionamiento de los iones metálicos traza. Sin embargo, faltan datos que respalden este modelo para otros metales ultratraza (Cr, V, Cd, Sn, Pb y Li) (Frieden, 1985).

La función biológica de Cr es potenciar la actividad de la insulina. Los compuestos de V inhiben numerosas enzimas, en particular las ATPasas y las fosfotransferasas. Esto ha sugerido un papel del ion vanadato en el control de la bomba de Na. V también sirve como biocatalizador para la oxidación de sustratos implicados en el metabolismo del colesterol. A excepción de la inducción de metalotioneína, la mayoría de los efectos biológicos del Cd han sido inhibitorios. Los paliativos de la deficiencia de Pb dieron lugar a la corrección o prevención de cambios en el metabolismo del hierro (Fe) y la hematología. Faltan datos sobre las posibles acciones del estaño y el litio (Frieden, 1985).

1.3.2. No metales

Los no metales esenciales constituyen un grupo mucho más heterogéneo que los metales de transición, cuyas propiedades están estrechamente relacionadas. Entre ellos, los dos halógenos esenciales, F e I, son muy específicos y diferentes. F tiene un notable efecto anticaries. Esto puede estar relacionado con su capacidad para sustituir al hidróxido (OH), estabilizando así la matriz estructural de huesos y dientes. F también puede inhibir fuertemente ciertas enzimas clave: enolasa, pirofosfatasa (Frieden, 1985).

Una de las mayores sorpresas entre los no metales la proporciona el Se. A pesar de su elevada toxicidad (0,2 mg/día), se ha demostrado que Se es un componente de varias enzimas implicadas en reacciones esenciales de oxidación-reducción. Una enzima, la glutatión peroxidasa (GSH-Px) parece desempeñar un papel importante en la protección de los glóbulos rojos contra los efectos del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) que se genera fácilmente en el interior de la célula. Por lo tanto, la GSH es una enzima que depende de un ion no metálico ultratraza para su actividad biológica (Rotruck et al., 1971).

Atendiendo a los puntos anteriores, los EM juegan un papel importante en diversas funciones metabólicas del organismo (Speich et al., 2001). La regulación de los EM en sangre y tejidos es importante para controlar dichas funciones tanto en reposo como

durante el ejercicio físico (Heffernan et al., 2019). El estado de EM puede afectar el rendimiento de los atletas (McClung, 2019).

En relación con lo anterior, alguno de los EM más estudiados han sido Cu, Fe, Mn, Mo, Se y Zn. Los anteriores EM son el epicentro de la presente tesis y sus características serán descritas a continuación.

1.4. Cobre

Cu es el elemento número 29 en la tabla periódica con 2 isótopos estables y 9 radiactivos (Wolinsky & Driskell, 2005). Es un metal de transición que tiene estados de valencia $+1$ y $+2$. Es muy reactivo en las reacciones de oxidación-reducción y, debido a esta propiedad, la naturaleza ha ideado medios para asegurar que haya muy poco Cu libre en los tejidos vivos. La mayor parte del Cu está unido a proteínas, péptidos y aminoácidos. La esencialidad de Cu para animales y humanos se conoce desde hace casi un siglo (Collins & Klevay, 2011).

1.4.1. Contenido y localización

El cuerpo humano contiene alrededor de 1,6 mg de Cu/Kg de peso corporal con distribuciones variables en varios órganos y en la sangre. Algunos ejemplos de concentraciones de Cu en diversos tejidos son: riñón, 12 mg/Kg; hígado, 6 mg/Kg; cerebro, 5 mg/Kg; corazón, 5 mg/Kg; hueso, 4 mg/Kg; y músculo 0,9 mg/Kg (Wolinsky & Driskell, 2005).

El hueso contiene el 40% del Cu corporal, el mayor porcentaje en el organismo; el tejido muscular es el segundo, con un 23%. La sangre contiene aproximadamente 6% del Cu corporal total. La concentración de Cu en los glóbulos rojos es de aproximadamente $16,1 \pm 2,0 \mu\text{mol/L}$ y el plasma tiene una concentración media de $16,5 \pm 2,5 \mu\text{mol/L}$ para los hombres y $18,3 \pm 2,5 \mu\text{mol/L}$ para las mujeres. El rango normal de Cu de los glóbulos rojos para hombres y mujeres es de 12,5 a 23,6 $\mu\text{mol/L}$, mientras que el rango normal de Cu en plasma es de 8,8 a 17,5 $\mu\text{mol/L}$ para los hombres y de 10,8 a 26,6 $\mu\text{mol/L}$ para las mujeres. Valores plasmáticos de 8,8 $\mu\text{mol/L}$ podrían considerarse un signo de deficiencia de Cu (Wolinsky & Driskell, 2005).

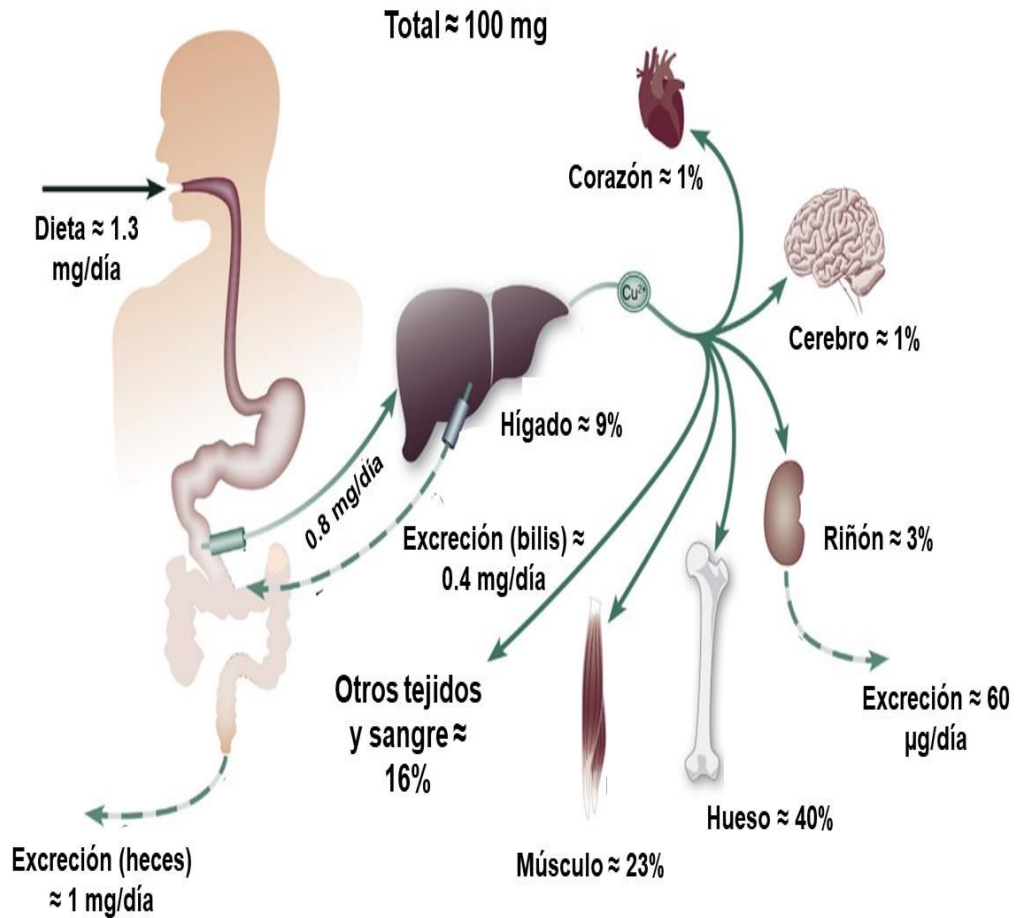


Figura 5. Distribución de Cobre en el organismo. Adaptado de Collins, (2016).

1.4.2. Metabolismo

Absorción

La ingesta media de Cu es de aproximadamente 1,3 mg/día (Figura 5). De esa cantidad, se absorben aproximadamente 0,8 mg diarios que llegan primero al hígado. La absorción de Cu es considerablemente más alta que la de otros EM (Collins & Klevay, 2011). La absorción se produce principalmente en la parte superior del intestino delgado. La excreción ($\sim 0,4$ mg/día) se produce predominantemente en la bilis a través del exportador ATP7B, con pérdidas totales en las heces de aproximadamente 1 mg/día. Cu se incorpora a la ceruloplasmina en el hígado y se secreta a la sangre junto con el Cu atómico, que se une a las proteínas séricas (Wolinsky & Driskell, 2005). El control homeostático de Cu corporal incluye la modulación de la absorción intestinal de Cu y la excreción hepática de Cu.

Transporte de cobre a través de la mucosa intestinal

El Cu dietético y Cu endógeno procedente de la saliva, el jugo pancreático y la bilis contribuyen a la reserva de Cu intestinal. Sin embargo, el Cu biliar puede estar complejo con sales biliares y, por tanto, no estar disponible para su absorción. El Cu dietético se reduce de Cu^{2+} a Cu^+ para su transporte a través de la membrana de los enterocitos en el intestino delgado proximal. Este proceso es mediado por reductasas cúpricas (Collins et al., 2010).

Una vez reducido, Cu^+ es transportado a los enterocitos por el transportador de Cu^+ . El transportador de iones metálicos divalentes-1 (DMT1), también puede estar implicado en la absorción del Cu dietético (Arredondo et al., 2003).

Tras la absorción en los enterocitos, el Cu se une a una de varias proteínas chaperonas. Finalmente, es transportado fuera de los enterocitos por ATP7A. Una vez que es expulsado de los enterocitos, el entorno oxidante de los fluidos intersticiales convierte el Cu^+ en Cu^{2+} , que se une a la albúmina o a la α 2-macroglobulina, que luego entra en la circulación (Collins, 2016).

Transporte y transferencia de cobre

La albúmina y la α 2-macroglobulina pueden entregar Cu de forma diferencial a las proteínas de la superficie de los hepatocitos (Collins et al., 2010). El Cu^{2+} derivado de la sangre tiene que reducirse primero porque el transportador Ctr1, el importador de Cu en los hepatocitos, interactúa con el Cu^+ . Dentro de los hepatocitos, Cu se une a las chaperonas y se distribuye a varios compartimentos intracelulares. ATP7B transporta el Cu a la red trans del aparato de Golgi, donde se incorpora a la ceruloplasmina y a otras cuproproteínas. El ATP7B se transloca de la red trans del aparato de Golgi a la membrana del hepatocito cuando hay un exceso de Cu, facilitando la excreción de Cu en la bilis (Collins et al., 2010).

Excreción de cobre

Cu endógeno se excreta a través de los hepatocitos en la bilis, un proceso en el que interviene el ATP7B. Cu excretado se une a las sales biliares y, por tanto, no está disponible para su reabsorción. La excreción de Cu no es totalmente funcional durante los periodos fetal y neonatal, lo que puede explicar por qué los niveles de Cu hepático están aumentados durante estas etapas de desarrollo (Collins et al., 2010). La pérdida de

Cu en la orina es baja (30-50 $\mu\text{g}/\text{día}$), pero la disfunción renal puede aumentar las pérdidas de Cu (Danks, 1988).

Mecanismos homeostáticos del cobre

Los estudios de isótopos estables en humanos muestran que se han desarrollado mecanismos adaptativos eficientes para proteger contra la deficiencia y la toxicidad del Cu, independientemente de los niveles de ingesta dietética. Estos mecanismos incluyen la regulación de la absorción intestinal de Cu y la excreción biliar de Cu (Collins et al., 2010).

La absorción de Cu en la dieta se regula según los niveles de ingesta dietética y el estado de Cu en el cuerpo. El aumento de la absorción durante la privación de Cu es el resultado del aumento de la expresión de Ctr1 en el borde de la membrana de los enterocitos (Nose et al., 2010) y de ATP7A en la superficie basolateral (Nose et al., 2010).

Cuando la ingesta de Cu es elevada, Cu puede estar ligado a la metiltransferasa en los enterocitos, lo que equivale a un bloqueo de la absorción por parte de la mucosa. Además, la excreción biliar puede aumentar con niveles de ingesta elevados. Normalmente, se absorbe aproximadamente el 10% del Cu de la dieta (Harvey et al., 2005). La retención de Cu en el cerebro y el corazón aumenta significativamente en ratas privadas de Cu (Levenson & Janghorbani, 1994). Estos mecanismos de adaptación mantienen las concentraciones de Cu en los tejidos para garantizar una homeostasis normal, pero se vuelven ineficaces cuando la ingesta de Cu se aproxima a menos de 0,7 mg/día.

1.4.3. Funciones generales en el organismo

El papel bioquímico del Cu es principalmente catalítico, con diversas metaloenzimas actuando como oxidasas para lograr la reducción del oxígeno molecular. Se han identificado varias metaloenzimas de Cu en humanos (Da Silva & Williams, 1999).

En primer lugar, las amina oxidasas (proteínas de Cu) participan en reacciones importantes que tienen efectos diferentes.

- La diamina oxidasa inactiva la histamina liberada durante las reacciones alérgicas.
- La monoamino oxidasa (MAO) es importante en la degradación de la serotonina a metabolitos excretables y en el metabolismo de las catecolaminas (epinefrina, norepinefrina y dopamina).
- La lisil oxidasa utiliza la lisina y la hidroxilisina que se encuentran en el colágeno y la elastina como sustratos para el procesamiento posterior a la traducción para producir los enlaces cruzados necesarios para el desarrollo de los tejidos conectivos, incluidos los de los huesos, los pulmones y el sistema circulatorio.

Por otro lado, las ferroxidasas son enzimas de Cu que se encuentran en el plasma, con una función en la oxidación del Fe ferroso ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$) que se necesita para lograr la unión del Fe a la transferrina (Linder & Hazegh-Azam, 1996).

La ferroxidasa I, también llamada ceruloplasmina, es la proteína de Cu predominante en el plasma y también puede tener funciones antioxidantes. Los defectos en la función de la ceruloplasmina producen la acumulación de Fe celular, resultado que respalda su función de ferroxidasa (Harris & Gitlin, 1996). La ferroxidasa II se encuentra en el plasma humano, pero puede tener un papel en el metabolismo del Fe en sitios celulares específicos (Vulpe et al., 1999).

La citocromo C oxidasa es una enzima de múltiples subunidades en las mitocondrias que cataliza la reducción de O_2 a H_2O . Esto establece un gradiente de protones de alta energía requerido para la síntesis de trifosfato de adenosina (ATP). Esta enzima es particularmente abundante en los tejidos de mayor actividad metabólica, incluidos el músculo, el corazón, el cerebro y el hígado.

Dos formas de SOD se expresan en células de mamíferos, una forma de Mn y otra de Cu/Zn (Morris, 1998). La Cu/Zn SOD utiliza dos átomos de Cu para la conversión del anión superóxido (O_2^-) en H_2O_2 y O_2 . Los átomos de Zn tienen un papel estructural en la enzima. La enzima se localiza en el citosol y, junto con la forma mitocondrial que contiene Mn, proporciona una defensa contra el daño oxidativo de los radicales superóxidos que, si no se controlan, pueden dar lugar a otras especies reactivas de oxígeno (ROS) dañinas.

Por último, el Cu es necesario también para el desarrollo del cerebro y contribuye a las funciones del sistema nervioso central. Así, la privación de Cu en roedores durante

el desarrollo gestacional y perinatal provoca anomalías en el comportamiento, que pueden persistir en la edad adulta (Collins, 2017).

1.4.4. Interacción con otros micronutrientes

La composición de la dieta tiene poco efecto sobre la biodisponibilidad del Cu, excepto en circunstancias inusuales. La biodisponibilidad del Cu está marcadamente influenciada por la cantidad de Cu en la dieta. La biodisponibilidad oscila entre el 75 % del Cu de la dieta absorbido cuando la dieta contiene sólo 400 µg/día y el 12 % absorbido cuando la dieta contiene 7,5 mg/día (Turnlund et al., 1998).

La cantidad absoluta de Cu absorbido es mayor con el aumento de la ingesta. Además, la excreción de Cu en el tracto gastrointestinal regula la retención de Cu. A medida que se absorbe más Cu, la renovación es más rápida y se excreta más Cu en el tracto gastrointestinal. Esta excreción es probablemente el punto principal de regulación del Cu corporal total. Esta eficiente regulación homeostática de absorción y retención ayuda a proteger contra la deficiencia y toxicidad del Cu (Wolinsky & Driskell, 2005).

Zinc

La ingesta de Zn, muy por encima de la cantidad que normalmente se encuentra en la dieta, puede disminuir la absorción de Cu en adultos (Institute of Medicine, 2001c). Se han usado dosis muy altas de Zn para tratar pacientes con la enfermedad de Wilson, un error congénito del metabolismo del Cu que provoca toxicidad por Cu (Brewer et al., 1983). Esta inhibición de la absorción de Cu inducida por Zn podría ser el resultado de la competencia por un transportador común orientado apicalmente o la inducción de metalotioneína en las células intestinales por parte del Zn. Debido a que esta proteína tiene una mayor afinidad de unión por el Cu que por el Zn, Cu se retiene dentro de los enterocitos y se reduce su absorción.

Hierro

Fe es necesario en la dieta de ser humano y la anemia por deficiencia de Fe es uno de los problemas de salud más destacados del mundo (Chaparro & Suchdev, 2019). En la mayoría de los casos, la deficiencia está causada por una baja ingesta o biodisponibilidad de Fe en la dieta. Sin embargo, pueden intervenir otros factores. Por ejemplo, existe una

relación directa entre el estado de Cu de los individuos y su capacidad para absorber y utilizar el Fe de la dieta (Fox, 2003).

A mediados del siglo XIX se conocía que Cu estaba asociado a la curación de ciertos tipos de anemia resistente al Fe. A principios y mediados del siglo XX, se descubrió que Fe dietético no evitaban la anemia inducida por la deficiencia de Cu (Wolinsky & Driskell, 2005). No fue hasta la era de la biología molecular, a finales de los años 90 y principios de los 2000, cuando se descubrió que una ferroxidasa dependiente del Cu, la hefaestina, similar a la ceruloplasmina, residía en los enterocitos del intestino delgado y ayudaba a la absorción del Fe de la dieta (Collins et al., 2010). Así pues, el Cu afecta al metabolismo del Fe, y un estado bajo de Cu puede reducir la absorción del mismo y dificultar su utilización en el organismo.

Los individuos que presenten una anemia que no responda al tratamiento con Fe probablemente deban someterse a una evaluación del estado del Cu. Los atletas son especialmente sensibles a los efectos de la anemia, ya que el rendimiento del ejercicio depende de la máxima eficiencia de la capacidad de transporte de oxígeno y de la utilización del oxígeno en los músculos activos (Landahl et al., 2005).

1.4.5. Valoración del estado nutricional

Diferentes indicadores son utilizados para valorar el estatus de Cu. Entre ellos destacan: concentración de Cu en suero, concentración de ceruloplasmina y actividad de SOD eritrocitaria (Gropper et al., 2003).

Generalmente, estos marcadores son bajos durante la deficiencia de Cu y responden a la suplementación con Cu. Sin embargo, durante el embarazo y estados patológicos, las concentraciones séricas de Cu y ceruloplasmina aumentan. Por lo tanto, la deficiencia de Cu podría enmascararse en estas condiciones (Milne & Johnson, 1993).

La concentración plaquetaria de Cu y citocromo pueden ser más sensible a las ingestas marginales de Cu dietético en comparación con los marcadores anteriormente citados. Sin embargo, hay pocos estudios hasta la fecha. Es importante destacar que ningún indicador único proporciona una base adecuada sobre la cual estimar el requerimiento de Cu (Russell et al., 2001).

Concentraciones séricas de cobre

La concentración sérica de Cu es un indicador confiable de la deficiencia de Cu, cayendo a concentraciones muy bajas en individuos con deficiencia de Cu. Se ha informado que el extremo inferior del rango normal para la concentración sérica de Cu es de 10 $\mu\text{mol/L}$.

La concentración sérica de Cu vuelve a la normalidad a los pocos días de la suplementación con Cu (Danks, 1988). Aunque la concentración sérica de Cu es un índice de deficiencia de Cu, no refleja la ingesta dietética excepto cuando la ingesta está por debajo de cierto nivel.

Concentración de ceruloplasmina

La concentración de ceruloplasmina también es un indicador confiable de la deficiencia de Cu. La ceruloplasmina transporta el 60-95 % de Cu sérico, mientras que el resto está en disposición iónica con los aminoácidos y la albúmina (Hellman & Gitlin, 2002).

La ceruloplasmina se sintetiza en el hígado y se libera en la sangre, donde su actividad amino oxidasa en el plasma es proporcional a la cantidad de Cu presente. Sin embargo, no es correcto señalarlo como un indicador específico ya que en ciertas condiciones de estrés e inflamación hacen que la actividad de la ceruloplasmina en el plasma aumente, lo que podría dar lugar a una falsa indicación del estado del Cu (Hellman & Gitlin, 2002).

Los cambios en la concentración sérica de Cu suelen ser paralelos a la concentración de ceruloplasmina en la sangre. La ceruloplasmina también cae a concentraciones bajas con deficiencia de Cu, muy por debajo del límite inferior del rango normal de 180 mg/L, y responde rápidamente a la reposición (Danks, 1988). La ceruloplasmina no responde a la ingesta dietética, a menos que la ingesta sea muy baja.

Actividad de superóxido dismutasa de eritrocitos

La SOD eritrocitaria, aunque no es tan específica como la concentración sérica de Cu o ceruloplasmina, puede ser un indicador confiable del estado del Cu, siendo más sensible según algunos investigadores (Milne, 1998). La SOD no aumenta con la misma tendencia que las concentraciones séricas de Cu y ceruloplasmina. Además, los rangos normales para la actividad de SOD, hasta donde nosotros sabemos, no han sido reportado

en la literatura científica. Aunque la actividad de la SOD se valoró en menos estudios que los dos indicadores anteriores, hay suficientes datos disponibles para incluirlo como un indicador del cambio en el estado del Cu (Harvey et al., 2009).

Concentración plaquetaria y actividad de citocromo C oxidasa

Estudios previos en mujeres sugirieron que tanto la concentración plaquetaria de Cu como la actividad del citocromo C oxidasa plaquetaria pueden responder más rápidamente a una dieta baja en Cu que los anteriores indicadores (Russell et al., 2001).

En un estudio, ambos indicadores disminuyeron cuando la ingesta de Cu fue de 570 $\mu\text{g}/\text{día}$ (Milne & Nielsen, 1996). La concentración plaquetaria de Cu aumentó después de la reposición, pero no la actividad del citocromo C oxidasa plaquetaria.

En otro estudio, tanto la concentración de Cu plaquetario como el citocromo C oxidasa plaquetaria la actividad oxidasa aumentó después de la suplementación de una dieta que contenía 670 $\mu\text{g}/\text{día}$ de Cu, pero no se realizaron mediciones de referencia, por lo que no se sabe si estos parámetros disminuyeron (Milne et al., 1988).

Cobre urinario

La excreción urinaria de Cu es baja y no contribuye significativamente a la retención de Cu, pero se ha observado que disminuye la excreción de Cu cuando las dietas son lo suficientemente bajas en Cu como para que cambien otros índices del estado de Cu (Turnlund et al., 1998). Por encima de esos niveles de ingesta dietética, el Cu urinario no responde a aumentos en el Cu dietético.

Concentración de cobre en leucocitos

En un estudio se encontró que la concentración de Cu en los leucocitos disminuyó junto con otros índices del estado del Cu (Turnlund et al., 1998), pero no se informó en otros. Actualmente hay muy pocos datos disponibles para usarlos para establecer recomendaciones dietéticas para el Cu.

1.4.6. Consumo de referencias y fuentes naturales

Las ingestas dietéticas de referencia para el Cu se establecieron hace casi una década (Collins & Klevay, 2011). Se han establecido niveles adecuados de ingesta de Cu para bebés de 0 a 6 meses de edad (200 $\mu\text{g}/\text{día}$) y para aquellos entre 7 y 12 meses

(220 µg/día). La IDR aumenta a lo largo de la infancia y la adolescencia: 1 a 3 años, 340 µg/d; 4 a 8 años, 440 µg/d; 9 a 13 años, 700 µg/d; 19 a 50+ años, 900 µg/d. Las necesidades de Cu aumentan durante el embarazo (1000 µg/d) y la lactancia (1300 µg/d). También se han establecido niveles máximos de IT que varían de 1000 µg/día a los 1 a 3 años a 10000 µg/día en adultos.

La concentración de Cu de los alimentos es una característica importante que determina la utilidad nutricional. En orden de concentración creciente según el peso, las grasas y aceites, los productos lácteos, el azúcar, el atún y la lechuga son bajos en Cu (todos <0,4 µg/g); las legumbres, los champiñones, el chocolate, las nueces y las semillas y el hígado tienen un alto contenido de Cu (>2,4 µg/g). Aunque no tienen un alto contenido de Cu, el consumo de pan, patatas y tomates en cantidades suficientemente grandes podrían contribuir sustancialmente a la ingesta de Cu.

1.4.7. Déficit y excesos

La ingesta baja de Cu produce efectos adversos sobre el metabolismo del colesterol y la glucosa, el control de la presión arterial y la función cardíaca, la mineralización de los huesos y la inmunidad. También se sabe que los isoprostanos (compuestos similares a las prostaglandinas) aumentan durante la deficiencia de Cu (Collins & Klevay, 2011). Además, es aceptado que los seres humanos con deficiencia de Cu también sufren de osteoporosis, que se puede curar con suplementación con Cu.

La ingesta adecuada de Cu permite la utilización normal del Fe de la dieta porque la absorción intestinal de Fe, la liberación de Fe de las reservas y la incorporación de Fe a la hemoglobina son procesos dependientes del Cu. Además de prevenir la anemia, el Cu ayuda a la coagulación sanguínea y al control de la presión arterial; entrecruzamiento de tejidos conectivos en arterias, huesos y corazón; defensa contra el daño oxidativo; transformación de energía; mielinización del cerebro y la médula espinal; reproducción; y síntesis de hormonas (Kies, 1989).

La toxicidad de Cu es bastante rara en humanos y animales ya que los mamíferos han desarrollado un control homeostático preciso debido a la alta reactividad del metal libre (Collins & Klevay, 2011). El Cu libre en las células y en el cuerpo es extremadamente bajo. El Cu casi siempre existe en sistemas biológicos unidos a

proteínas. Sin embargo, la ingestión de altos niveles de Cu puede afectar a los puntos de unión con las proteínas, anulando el control homeostático diseñado para regular los niveles generales de Cu en el cuerpo, que incluyen, entre otros, una mayor absorción intestinal en ausencia de una demanda fisiológica de Cu.

Debido a las posibles consecuencias adversas de la ingestión alta de Cu, se ha establecido un nivel máximo de IT (Russell et al., 2001). Los riesgos de toxicidad por Cu son mayores para los recién nacidos y los lactantes debido a un sistema de excreción biliar inmaduro y una mayor absorción intestinal.

El incremento de las concentraciones de Cu se observa clínicamente en la actualidad en el marco de la enfermedad de Wilson y otros trastornos en los que se altera la excreción biliar de Cu, como la cirrosis y la atresia biliar.

1.5. Hierro

Desde la antigüedad, el ser humano ha reconocido el papel especial del Fe en la salud y la enfermedad (Abbaspour et al., 2014). Es sabido que el papel medicinal de Fe estaba instaurado en la época de los egipcios, hindúes, griegos y romanos. Sin embargo, no fue hasta 1932 cuando se estableció que Fe era necesario para la síntesis de hemoglobina (Abbaspour et al., 2014). Durante muchos años, el interés nutricional de Fe se centró en su función en la formación de hemoglobina y el transporte de oxígeno (de Waal, 1999).

Fe es uno de los principales elementos que componen nuestro planeta. Este metal de transición existe en varios estados de oxidación diferentes, siendo los más comunes el Fe²⁺ (ferroso) y el Fe³⁺ (férrico). La capacidad de Fe para pasar de un estado de oxidación a otro es la base de su importancia biológica en diferentes funciones catalíticas. Con pocas excepciones, Fe es necesario para todos los organismos vivos y desempeña un papel especialmente crítico en la salud humana (Driskell & Wolinsky, 2016).

1.5.1. Contenido y localización

El contenido de Fe del cuerpo humano adulto oscila entre 3 y 5 g (Wilkinson & Pantopoulos, 2014). La mayor parte (~70 %) se utiliza en la hemoglobina de los glóbulos rojos, en las células progenitoras eritroides en la médula ósea y en los macrófagos tisulares.

Una cantidad importante de Fe corporal (hasta 1 g) se almacena dentro de la ferritina en el hígado. Los músculos contienen ~300 mg de Fe (principalmente en mioglobina) y todos los demás tejidos (excepto el duodeno) sólo ~8 mg (Wang & Pantopoulos, 2011).

Fe circulante unido a la transferrina representa una fracción pequeña (~3 mg) pero dinámica que se renueva ~10 veces al día (Cavill, 2002). La reserva de Fe, ferritina, se repone principalmente con el Fe de los glóbulos rojos viejos que se reciclan a través de los macrófagos y, en menor medida, con el Fe absorbido de la dieta a través de los enterocitos duodenales.

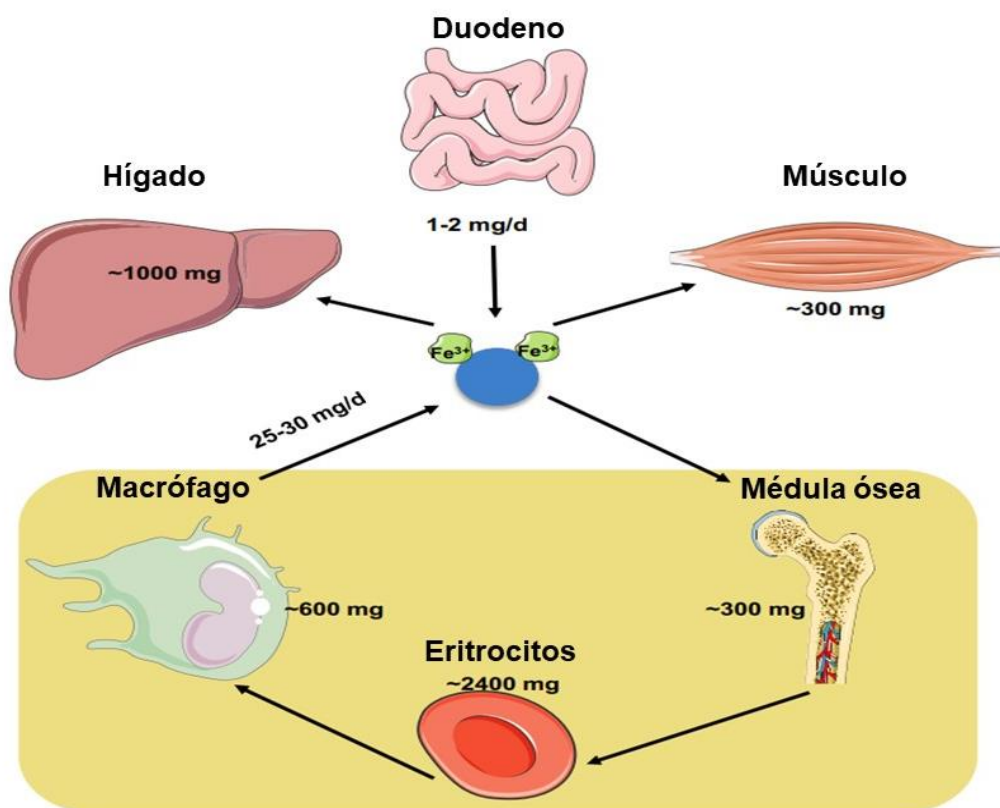


Figura 6. Distribución y dinámica de Hierro en el cuerpo humano. Adaptado de Wilkinson & Pantopoulos, (2014).

1.5.2. Metabolismo

Absorción

La fracción de Fe absorbido de la ingesta nutricional suele ser baja, pero puede oscilar entre el 5 % y el 35 % según las circunstancias y el tipo de Fe (Abbaspour et al., 2014). En adultos, la absorción de Fe de la dieta (1-2 mg/día) sirve para compensar las pérdidas de Fe por descamación o sangrado (Wilkinson & Pantopoulos, 2014). Fe dietético se encuentra en formas hemo (10%) y no hemo (90%). La forma hemo de Fe se absorbe a un ritmo mayor que la forma no hemo por los enterocitos (Grijota et al., 2022).

Los enterocitos absorben el Fe mediante DMT1. Esto tiene lugar predominantemente en el duodeno y el yeyuno superior (Muir & Hopfer, 1985). Luego, se transfiere a través de la mucosa duodenal hacia la sangre, donde se transporta mediante transferrina a las células o la médula ósea para la eritropoyesis (Hurrell, 1997). Existe un mecanismo de retroalimentación que mejora la absorción de Fe en personas con deficiencia de Fe. Por el contrario, las personas con sobrecarga de Fe disminuyen la absorción de Fe a través de la estimulación de la hepcidina.

También es sabido que la absorción de Fe está controlada por la ferroportina, que permite el paso de Fe de la célula mucosa al plasma (Abbaspour et al., 2014). La ferroportina es un transportador de Fe presente en las células del duodeno intestinal, los macrófagos y las células de la placenta.

El estado físico de Fe que ingresa al duodeno influye considerablemente en su absorción. A pH fisiológico, el Fe ferroso (Fe^{+2}) se oxida rápidamente a la forma férrica insoluble (Fe^{+3}). El ácido gástrico reduce el pH en el duodeno proximal reduciendo el Fe^{+3} en la luz intestinal mediante reductasas férricas, lo que permite el transporte posterior de Fe^{+2} a través de la membrana apical de los enterocitos. Este proceso mejora la solubilidad y la absorción del Fe férrico. Cuando la producción de ácido gástrico se ve afectada, la absorción de Fe se reduce sustancialmente (Abbaspour et al., 2014).

El hemo de la dieta también puede ser transportado a través de la membrana apical y posteriormente metabolizado en los enterocitos por la hemooxigenasa 1 para liberar Fe^{+2} (J. Wang & Pantopoulos, 2011). Este proceso es más eficiente que la absorción de Fe inorgánico y es independiente del pH duodenal. Por lo tanto, no está influenciado por

inhibidores como el fitato y los polifenoles. En consecuencia, las carnes rojas ricas en hemoglobina son excelentes fuentes de nutrientes de Fe.

El Fe^{+2} directamente internalizado es procesado por los enterocitos y eventualmente exportado a través de la membrana basolateral al torrente sanguíneo a través de la ferroportina. El flujo de Fe^{+2} mediado por ferroportina está acoplado por su reoxidación a Fe^{+3} , catalizada por la hefestina ferroxidasa unida a la membrana que interactúa físicamente con la ferroportina (Yeh et al., 2009).

Fe exportado es eliminado por la transferrina, que mantiene el Fe^{+3} en un estado redox-inerte y lo entrega a los tejidos. El contenido total de Fe de la transferrina (≈ 3 mg) corresponde a menos del 0,1 % de Fe corporal, pero es muy dinámico y sufre una renovación diaria de más de 10 veces para mantener la eritropoyesis. La transferrina se repone principalmente con Fe reciclado de glóbulos rojos debilitados y, en menor medida, con Fe dietético recién absorbido. Los glóbulos rojos senescentes son eliminados por los macrófagos reticuloendoteliales, que metabolizan la hemoglobina y el hemo, y liberan Fe en el torrente sanguíneo. Por analogía con los enterocitos intestinales, los macrófagos exportan Fe^{+2} desde su membrana plasmática a través de la ferroportina, en un proceso acoplado a la reoxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} por ceruloplasmina y seguida de la carga de Fe^{+3} a la transferrina (Theil et al., 2012).

Almacenamiento

La concentración de ferritina junto con la de hemosiderina refleja las reservas corporales de Fe. Almacenan Fe en una forma insoluble y están presentes principalmente en el hígado, el bazo y la médula ósea (Ross et al., 2020). La mayor parte del Fe se une a la ferritina, la proteína fijadora de Fe ubicua y altamente conservada (Nadadur et al., 2008). La hemosiderina libera menos Fe para las necesidades del cuerpo. Las concentraciones de ferritina sérica se correlacionan significativamente con las reservas corporales totales de Fe (Hunt, 2001). Por lo tanto, la ferritina sérica es la prueba de laboratorio más conveniente para estimar las reservas de Fe

Excreción

La excreción de Fe se produce a través de cuatro vías principales: el tracto gastrointestinal, el tracto urinario, la descamación de las células dérmicas, la sudoración,

y la pérdida de sangre menstrual en las mujeres. A pesar de las diferentes vías, Fe se conserva en gran medida y no se pierde fácilmente del cuerpo (Hunt et al., 2009).

En los adultos, la pérdida media diaria de Fe por el tracto gastrointestinal, incluida la descamación de las células mucosas y la hemoglobina, es de 0,51 mg/día (Driskell & Wolinsky, 2016). La mayor parte (74%) del Fe fecal se debe a la pérdida de sangre en el tracto gastrointestinal. La pérdida de Fe en las mucosas es de 0,14 mg/día por término medio, mientras que la eliminación de Fe en la orina es de aproximadamente 0,1 mg/día por término medio (Driskell & Wolinsky, 2016).

La pérdida de Fe en las células dérmicas es de 0,24 mg/día por término medio. Por otro lado, las mediciones de la pérdida de sudor de todo el cuerpo durante 24 horas en los hombres promediaron 0,33 mg de Fe/día. Es probable que el sudor de todo el cuerpo contuviera células cutáneas descamadas además de sudor (Driskell & Wolinsky, 2016).

La pérdida de sangre en la menstruación es una fuente importante de pérdida de Fe en las mujeres entre la menarquia y la menopausia. Las pérdidas de Fe a través del sangrado es la causa más común de deficiencia de Fe en las mujeres (Abbaspour et al., 2014). La pérdida media de Fe en la menstruación es de 0,6 mg/día. Sin embargo, aproximadamente el 10% de las mujeres pierden más de 1,4 mg de Fe al día durante la menstruación. Aproximadamente, la pérdida media de Fe en hombres y mujeres posmenopáusicas es de 0,9 mg/día (Driskell & Wolinsky, 2016).

Regulación de la homeostasis del hierro

Dado que Fe es necesario para diversas funciones celulares, se requiere un equilibrio constante entre la absorción, el transporte, el almacenamiento y la utilización de Fe para mantener su homeostasis (Lieu et al., 2001). Como el cuerpo carece de un mecanismo definido para la excreción activa de Fe, el equilibrio se regula principalmente en el punto de absorción (Hurrell & Egli, 2010).

La hepcidina es una hormona peptídica circulante secretada por el hígado que juega un papel central en la regulación de la homeostasis de Fe. Es el principal regulador de la homeostasis de Fe sistémico, coordinando el uso y el almacenamiento de Fe (Nemeth & Ganz, 2006). Esta hormona es producida principalmente por los hepatocitos

y es un regulador negativo de la entrada de Fe en el plasma. La hepcidina actúa uniéndose a la ferroportina y esta unión induce la internalización y degradación de la ferroportina (Nemeth & Ganz, 2006). La pérdida de ferroportina de la superficie celular impide la entrada de Fe en el plasma. La disminución de la entrada de Fe en el plasma da como resultado una baja saturación de transferrina y se libera menos Fe al eritroblasto en desarrollo. Por el contrario, la disminución de la expresión de hepcidina conduce a un aumento de la ferroportina en la superficie celular y a una mayor absorción de Fe (De Domenico et al., 2007).

En todas las especies, la concentración de Fe en los fluidos biológicos está estrictamente regulada para proporcionar Fe según sea necesario y para evitar la toxicidad, ya que el exceso de Fe puede conducir a la generación de ROS.

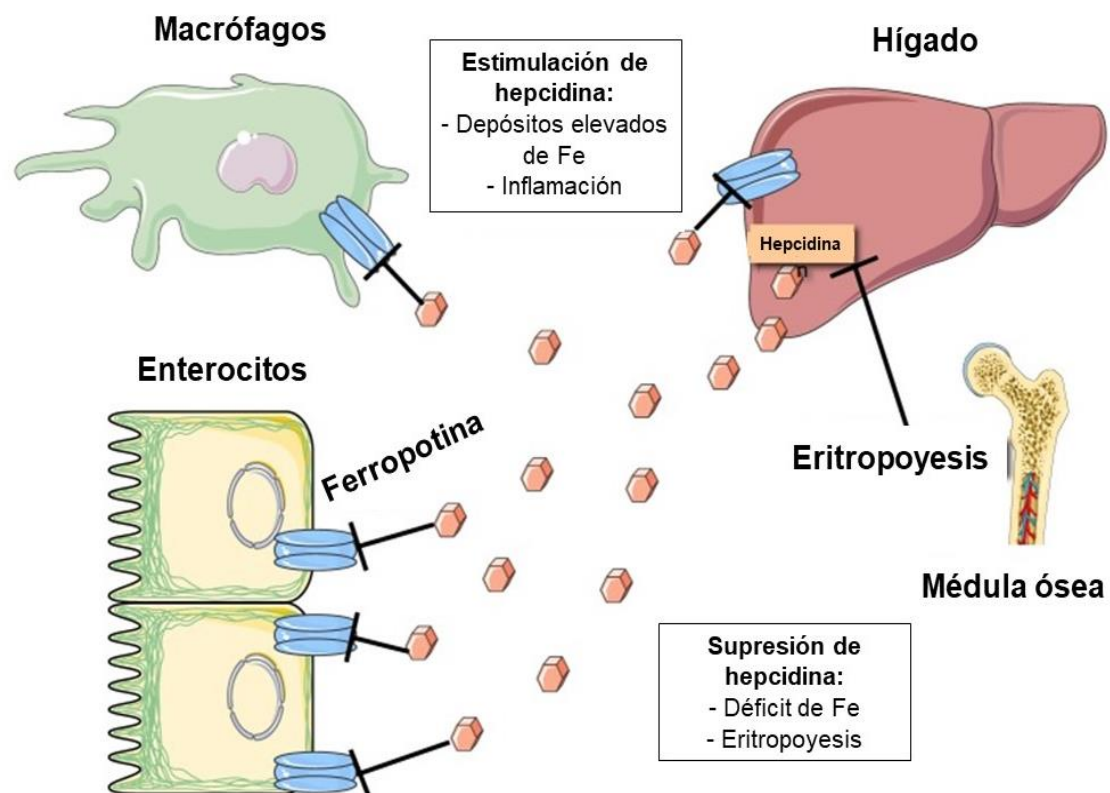


Figura 7. Regulación hormonal de la salida de Hierro de macrófagos reticuloendoteliales y enterocitos duodenales. La hormona reguladora del Fe, hepcidina, es secretada por los hepatocitos hepáticos y se dirige al transportador de Fe ferroportina en la membrana plasmática de las células exportadoras de Fe. La unión de hepcidina promueve la degradación de ferroportina en los lisosomas. La expresión de hepcidina se induce en respuesta a altas reservas de Fe y señales inflamatorias. Por el contrario, la expresión de hepcidina se suprime en respuesta a la deficiencia de Fe y al aumento del impulso eritropoyético. Adaptado de Wilkinson & Pantopoulos, (2014).

Los niveles plasmáticos de hepcidina están regulados por diferentes estímulos, que incluyen citocinas, Fe plasmático, estado de anemia e hipoxia. La desregulación de la expresión de hepcidina da como resultado trastornos del Fe. La sobreexpresión de hepcidina conduce a la anemia de la enfermedad crónica, mientras que la baja producción de hepcidina da como resultado hemocromatosis hereditaria con la consiguiente acumulación de Fe en órganos vitales (De Domenico et al., 2007).

La mayoría de los trastornos hereditarios del Fe resultan de una producción inadecuada de hepcidina en relación con el grado de acumulación tisular de Fe. Se ha demostrado que la expresión alterada de hepcidina es el resultado de mutaciones en diferentes genes (Abbaspour et al., 2014).

1.5.3. Funciones generales en el organismo

Hierro y oxígeno

La íntima relación entre el Fe y el oxígeno constituye la base de la vida humana. El grupo hemo que contiene Fe sirve de cofactor para las proteínas hemoglobina y mioglobina. Ambas desempeñan funciones esenciales de transporte de oxígeno en nuestro organismo. La hemoglobina de los glóbulos rojos alberga aproximadamente dos tercios del contenido total de Fe del organismo, ayudando a transportar el oxígeno desde los pulmones al resto del cuerpo. La mioglobina proporciona un almacenamiento a corto plazo de oxígeno en los músculos para proporcionar un suministro en momentos de gran demanda (Collins, 2016).

Curiosamente, Fe también es importante para detectar la hipoxia, condición que surge debido a un suministro inadecuado de oxígeno (Hentze et al., 2010). La hipoxia puede ser inducida por altitudes elevadas o por enfermedades pulmonares, y nuestro cuerpo responde aumentando la producción de glóbulos rojos (eritropoyesis), el crecimiento de los vasos sanguíneos (angiogénesis) y el metabolismo anaeróbico (glucólisis). Los factores inducibles por la hipoxia (HIF) se unen a un elemento específico de los genes implicados en estas respuestas, una enzima dependiente de Fe llamada prolil hidroxilasa regula el factor inducible de hipoxia 1 alfa (HIF1 α). En condiciones de normoxia, el oxígeno junto con el Fe, el ascorbato y el 2-oxoglutarato favorecen la modificación de HIF1 α con grupos hidroxilos por parte de las prolil hidroxilasas. El HIF1 α hidroxilado es degradado y no puede inducir la expresión génica. En condiciones

de hipoxia, la hidroxilación se bloquea y HIF1 α se estabiliza para activar los genes implicados en las respuestas compensatorias (Collins, 2016)

Se sabe que las proteínas reguladoras del Fe (PRF) se unen a los elementos que responden a Fe en una serie de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que codifican proteínas implicadas en el mantenimiento del equilibrio de Fe. Dado que muchos de los elementos que responden a Fe desempeñan funciones directas en el equilibrio de Fe, este mecanismo de retroalimentación ayuda a mantener la homeostasis de manera que "Fe controla Fe" (Kühn, 2015).

Hierro y metabolismo energético

Muchas proteínas de Fe son esenciales para el consumo de oxígeno y el metabolismo. Entre estas enzimas clave se encuentran las proteínas hemo, incluidos los citocromos que participan en la cadena de transporte de electrones mitocondrial. Estos factores son necesarios para la generación de ATP, sirviendo como portadores de electrones a lo largo de esta vía. Las proteínas que no contienen Fe hemo, como la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) deshidrogenasa y la succinato deshidrogenasa, también funcionan en el metabolismo energético. Estas proteínas que contienen grupos de Fe y S están implicadas en las reacciones de oxidación/reducción. Tanto el complejo mitocondrial I como el II, que apoyan la fosforilación oxidativa, contienen Fe-S. Un suministro inadecuado de Fe puede perjudicar claramente a las vías implicadas en el metabolismo energético al desactivar las enzimas implicadas. De hecho, Fe es necesario para la peroxidasa tiroidea, una enzima sintética clave necesaria para producir hormonas tiroideas que regulan el metabolismo energético, el crecimiento, el desarrollo y la temperatura corporal (Collins, 2016).

A medida que evoluciona la anemia por deficiencia de Fe, el rendimiento físico se ve perjudicado con la disminución de la capacidad oxidativa del músculo, la reducción de la producción de energía oxidativa y, en los casos más graves, la acidosis con el aumento de la producción de lactato. La deficiencia de Fe se ha relacionado de forma causal con la reducción de la capacidad aeróbica y del trabajo físico (Haas & Brownlie, 2001).

Hierro y sistema inmune

Fe desempeña también un papel importante durante la inflamación y la respuesta inmunitaria a la infección. Dado que los patógenos invasores también necesitan Fe para sobrevivir, el organismo se somete a una "retirada de Fe" como parte de la respuesta inmunitaria innata. Se reduce la absorción de Fe y se evita su reciclaje tras la eritrofagocitosis de los glóbulos rojos como medio para reducir los niveles circulantes del metal. Así, durante la respuesta de fase aguda, los niveles de Fe sérico disminuyen rápidamente mientras que los niveles de la proteína de almacenamiento de Fe aumentan (Wessling-Resnick, 2010).

Diversas funciones inmunitarias importantes son llevadas a cabo por proteínas que contienen hemo, incluida la mieloperoxidasa, una enzima de los neutrófilos que sintetiza ROS para eliminar los patógenos invasores. Otras enzimas que contienen hemo, como la catalasa y la peroxidasa, nos protegen contra las ROS dañinas.

Es importante destacar que Fe es necesario para el ribonucleótido reductasa, una enzima que limita la velocidad de síntesis de los ácidos nucleicos. Por lo tanto, Fe es necesario para la proliferación de los linfocitos T que defienden nuestro cuerpo contra virus y otros patógenos. Por todas estas razones, es fundamental equilibrar adecuadamente la nutrición de Fe con la respuesta a la infección.

Hierro y cerebro

Fe es necesario para apoyar la función del cerebro humano, pero el mecanismo o mecanismos precisos que subyacen a las necesidades de este micronutriente en el desarrollo intelectual son poco conocidos. El desarrollo motor, cognitivo y conductual se ve afectado por el estado de Fe (Prado & Dewey, 2014).

Además, se ha demostrado que Fe cerebral es necesario para la ramificación dendrítica en el hipocampo. Estos efectos son persistentes incluso después de la repleción de Fe (Alnuwaysir et al., 2021).

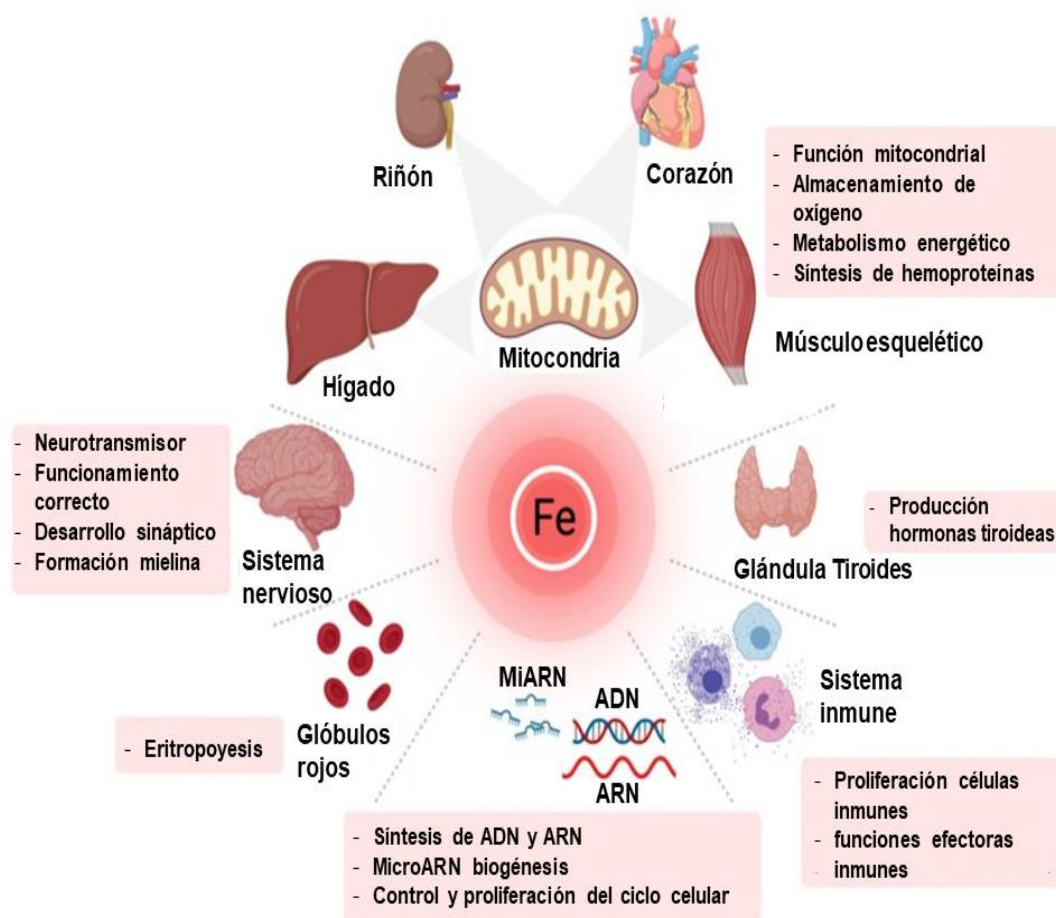


Figura 8. Descripción general de las funciones multifacéticas del Hierro en diversos órganos y procesos moleculares. miARN: microARN. Adaptado de Alnuwaysir et al., (2021).

1.5.4. Interacción con otros micronutrientes

Ácido ascórbico

Cuando se añade ácido ascórbico a una comida vegetal, el porcentaje de absorción aumenta en proporción aproximada a la relación molar entre el ácido ascórbico y Fe, independientemente de que el ácido ascórbico se introduzca como compuesto purificado o en forma de frutas con un alto contenido de ácido ascórbico (Lynch, 1997).

El ácido ascórbico actúa manteniendo el Fe en una forma soluble y biodisponible a medida que el pH luminal aumenta una vez que el contenido gástrico entra en el duodeno. Fe, especialmente cuando está en forma férrica, es soluble sólo a pH ácido (Lynch, 1997).

Fitatos

La reducida absorción de Fe de las comidas que contienen salvado de trigo llevó a Widdowson y MCance a sospechar que el fitato es un importante factor inhibidor. Un gran número de estudios posteriores han demostrado que el fitato es, de hecho, un inhibidor importante en los alimentos de cereales como el trigo, la avena, el arroz y las judías (Hurrell et al., 1992).

No se han caracterizado los detalles de los mecanismos por los que los fitatos inhiben la absorción de Fe. El fitato monoférrico, que constituye sólo una pequeña proporción del fitato presente en el salvado, no es inhibidor. Sin embargo, la formación de complejos de fitato diférrico y tetraférrico en el tracto gastrointestinal puede hacer que Fe no esté disponible para su absorción (Lynch, 1997).

Polifenoles

Los polifenoles parecen tener la misma importancia que los fitatos como inhibidores de la absorción de Fe no hemo. El grado de inhibición varía de forma inversa al contenido de polifenoles condensados. Al igual que en el caso de los fitatos, el efecto máximo se produce a concentraciones relativamente bajas de polifenoles.

Se cree que los polifenoles actúan mediante la formación de complejos entre los grupos hidroxilos de los compuestos fenólicos y las moléculas de Fe, lo que hace que el Fe no esté disponible para su absorción (Lynch, 1997). Los polifenoles del té son uno de los inhibidores de Fe más conocidos (Disler et al., 1975).

Calcio

La adición de Ca en forma de leche o de una sal inorgánica a una comida reduce el porcentaje de absorción de Fe no hemo en los seres humanos. Sin embargo, el efecto del calcio es complejo y no se conocen bien los mecanismos por los que interfiere en la absorción del Fe.

El mecanismo exacto de la interacción Ca-Fe no es conocido. El mecanismo podría implicar la inhibición de la expulsión de Fe desde el enterocito (Whiting, 1995). Estudios sugieren que el Ca compite por los sitios de unión del Fe en la proteína intestinal mobilferrina, que puede ser importante para la captación intestinal de Fe (Wolf & Wessling-Resnick, 1994).

Cadmio y Plomo

Es sabido que Cd y Pb tiene mecanismos de absorción similares a Fe (Lee & Kim, 2014) y los experimentos con animales han demostrado que pueden tener lugar interacciones metabólicas (Goyer, 1997).

El DMT1, responsable de la absorción de Fe en las células de la mucosa y regulado al alza por la deficiencia de Fe, tiene afinidad por el Cd (Gunshin et al., 1997). Atendiendo a lo anterior, se han observado mayores concentraciones de Cd en sangre cuando las reservas de Fe eran deficientes en mujeres (Åkesson et al., 2002; Olsson et al., 2002).

1.5.5. Valoración del estado nutricional

El estudio del estado de Fe es comúnmente realizado para valorar la deficiencia de Fe. Aunque algunas enzimas del Fe son sensibles a la deficiencia de Fe (Abbaspour et al., 2014) su actividad no se ha utilizado como una medida de rutina exitosa del estado de Fe.

Las mediciones de laboratorio son esenciales para un diagnóstico adecuado de la deficiencia de Fe. Son más informativos cuando se examinan y evalúan múltiples medidas del estado de Fe en el contexto de la historia médica y nutricional (Cook & Finch, 1979).

Plasma y suero

La reserva de Fe en plasma o suero refleja la fracción de todo el Fe en el cuerpo que circula unido principalmente a la transferrina.

El intervalo de referencia para el Fe sérico en los hombres es de 9-29 $\mu\text{mol/L}$ con un intervalo ligeramente inferior para las mujeres (7-27 $\mu\text{mol/L}$), lo que puede reflejar simplemente un menor almacenamiento de Fe en el organismo de muchas mujeres jóvenes (Sherwood et al., 1998).

Fe sérico es más elevado en los neonatos, con un descenso rápido hasta los niveles de adultos, mientras que una proporción significativa de los ancianos tiene concentraciones de Fe sérico por debajo del intervalo de referencia de los adultos (Sherwood et al., 1998). En una revisión se descubrió que la concentración de Fe sérico suele tener un coeficiente de variación intraindividual del 25-30% (Worwood, 1997). Por

lo tanto, es poco probable que la medición del Fe en suero sea útil excepto en casos de deficiencia o sobrecarga grave de Fe, especialmente en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas coexistentes o infecciones intercurrentes, en las que las concentraciones de Fe en suero a menudo se reducen sin deficiencia excesiva de Fe.

Protoporfirina de Zn

La protoporfirina de Zn refleja la escasez de suministro de Fe en las últimas etapas de la síntesis de hemoglobina, por lo que el Zn se inserta en la molécula de protoporfirina en lugar del Fe. La protoporfirina de Zn se puede detectar en los glóbulos rojos mediante fluorimetría y es una medida de la gravedad de la deficiencia de Fe (Abbaspour et al., 2014).

Cuando disminuye la formación de hemoglobina, la protoporfirina utilizada en la formación del hemo se libera a la sangre. El aumento de esta protoporfirina eritrocitaria libre es un indicador de eritropoyesis deficiente en Fe.

Ferritina

La ferritina sérica es un buen indicador de las reservas corporales de Fe en la mayoría de las circunstancias. Cuando la concentración de ferritina sérica es ≥ 15 $\mu\text{g/L}$ las reservas de Fe son óptimas. Cuando la concentración es baja (< 12 $\mu\text{g/L}$ para < 5 años de edad y < 15 $\mu\text{g/L}$ para > 5 años de edad) indican que las reservas de Fe se están agotando (Abbaspour et al., 2014).

Se debe tener en cuenta que la ferritina es una proteína reactiva de fase aguda y en suero las concentraciones pueden ser elevadas, independientemente de un cambio en las reservas de Fe por infección o inflamación (Abbaspour et al., 2014). Por lo tanto, puede ser difícil interpretar la concentración de ferritina donde las enfermedades infecciosas son comunes.

Transferrina

Otro indicador del estado de Fe es la concentración de transferrina en suero. Dado que transferrina se deriva principalmente del desarrollo de glóbulos rojos, la transferrina refleja la intensidad de la eritropoyesis y la demanda de Fe. A medida que se agotan las reservas de Fe, la concentración de transferrina aumenta, siempre que no haya otras

causas de eritropoyesis anormal (World Health Organization, 2004). A medida que disminuye el contenido de Fe en las células, aumenta el número de receptores de transferrina en las células.

Los estudios clínicos indican que la transferrina se ve menos afectada por la inflamación que la ferritina sérica (Beguin, 2003). La principal ventaja de la transferrina como indicador es la posibilidad de estimar la magnitud del déficit de Fe funcional una vez que se agotan las reservas de Fe (Baynes, 1996).

El índice transferrina/ferritina se diseñó para evaluar los cambios tanto en el Fe almacenado como en el Fe funcional (Cook et al., 2003). Este índice se ha utilizado para estimar el Fe corporal tanto en niños como en adultos (Cook et al., 2003). Sin embargo, el alto costo y la falta de estandarización han limitado la aplicabilidad de este método (Cook et al., 2003).

Hierro urinario

La excreción urinaria de Fe en los individuos normales es relativamente pequeña (1 $\mu\text{mol}/24\text{h}$) (Worwood, 1997).

La medición de la excreción de Fe basal no es útil desde el punto de vista clínico y la función de las mediciones de Fe urinario consiste en evaluar a los pacientes que siguen un tratamiento (Worwood, 1997).

Hemoglobina

La concentración baja de hemoglobina es un indicador de anemia en la etapa final de la deficiencia de Fe (Abbaspour et al., 2014). La anemia ferropénica se produce cuando la concentración de hemoglobina cae por debajo de lo normal.

El criterio de anemia en las mujeres se ha fijado en niveles de hemoglobina inferiores a 12,0 g/dL. En los varones, el valor de corte para la anemia es de 13,0 o 14,0 g/dL (Newhouse & Clement, 1988).

La etiología de los niveles bajos de hemoglobina puede implicar: (a) deficiencia de Fe; (b) otras formas de anemia como deficiencia de folato o vitamina B12; (c) aumento del volumen plasmático/hemólisis de glóbulos rojos (Newhouse & Clement, 1988).

1.5.6. Consumo de referencias y fuentes naturales

La cantidad necesaria de Fe que se requiere diariamente varía según la edad, el sexo y otros factores de salud (Collins, 2016). Para los hombres adultos se recomiendan 8 mg/día, mientras que para las mujeres que están menstruando este valor es mayor, llegando incluso a 18 mg/día. Como ya se ha comentado, los niños pequeños y las mujeres embarazadas o en edad fértil son los que más riesgo corren de padecer una carencia de Fe. Sin embargo, hay otros factores que aumentan el riesgo de carencia de Fe (Collins, 2016).

Los atletas masculinos parecen tener pocos problemas para cumplir con la IDR de 8 mg/día de Fe. La prevalencia de agotamiento de Fe y anemia por deficiencia de Fe es muy baja entre los hombres. Dado que el nivel de Fe tiende a ser bajo y que muchas mujeres deportistas no cumplen la IDR de Fe de 18 mg/día, algunas mujeres deportistas pueden beneficiarse de tomar un pequeño suplemento de Fe regularmente (Collins, 2016).

La dieta de los atletas debe incluir en mayor medida alimentos que contengan Fe hemo. Las atletas que corren un mayor riesgo de quedarse son las que siguen una dieta vegetariana y las que restringen su consumo de energía para mantener un peso corporal bajo (Hunt, 2001).

Fe dietético se presenta en dos formas: hemo y no hemo (Hurrell & Egli, 2010). Las principales fuentes de Fe hemo son la hemoglobina y la mioglobina del consumo de carne, aves y pescado, mientras que el Fe no hemo se obtiene de cereales, legumbres, legumbres, frutas y verduras (Abbaspour et al., 2014). Fe hemo es altamente biodisponible (15%-35%) y los factores dietéticos tienen poco efecto sobre su absorción, mientras que la absorción de Fe no hemo es mucho menor (2%-20%) y está fuertemente influenciada por la presencia de otros componentes de los alimentos (Hurrell & Egli, 2010). Por el contrario, la cantidad de Fe no hemo en la dieta es muchas veces mayor que la cantidad de Fe hemo en la mayoría de las comidas. Por lo tanto, a pesar de su menor biodisponibilidad, Fe no hemo generalmente contribuye más a la nutrición de Fe que Fe hemo (Noda et al., 2009).

1.5.7. Déficit y excesos

La deficiencia de Fe en la dieta afecta a más de 1600 millones de personas en todo el mundo. Es más frecuente en las partes en desarrollo del mundo, pero todavía afecta al 10% de los niños pequeños, las niñas y las mujeres en edad fértil. La deficiencia de Fe se desarrolla en diversas etapas (Pfeiffer & Looker, 2017):

1. **Vaciado de las reservas de hierro:** en esta etapa temprana, las reservas de Fe del cuerpo comienzan a reducirse sin afectar funcionalmente al cuerpo. Aunque los indicadores de diagnóstico como el nivel de ferritina disminuyen, las moléculas de transporte de Fe, como la transferrina, aumentan y la capacidad total de unión al Fe aumenta (Pfeiffer & Looker, 2017).
2. **Deficiencia de hierro funcional temprana:** en esta etapa, la disponibilidad de Fe ha disminuido lo suficiente como para afectar los compartimentos del cuerpo donde Fe es necesario para una función adecuada, por ejemplo, la eritropoyesis. Aunque es posible que aún no se haya desarrollado anemia clínica, Fe disminuye significativamente, y esto es detectable midiendo los niveles de transferrina y su saturación. Hay más transferrina y menos Fe en la sangre y un menor porcentaje de saturación de transferrina con una deficiencia de Fe. Además, existen altos niveles de protoporfirinas eritrocitarias libres en circulación (Pfeiffer & Looker, 2017).
3. **Anemia por deficiencia de hierro:** Es la deficiencia nutricional más común a nivel mundial. Clínicamente provoca síntomas como debilidad. Los niveles de hemoglobina disminuyen y los glóbulos rojos desarrollan una forma y forma más pequeña, volviéndose microcíticos. Debido a que Fe es crítico para múltiples funciones celulares, la deficiencia de Fe puede resultar en déficits que afectan a varios sistemas y causar problemas funcionales, que incluyen alteración de la hematopoyesis, trastornos gastrointestinales, alteración de la cognición, disminución de la función inmunológica, alteración de la resistencia al ejercicio o del rendimiento laboral y alteración de la regulación de la temperatura corporal (Clark, 2008).

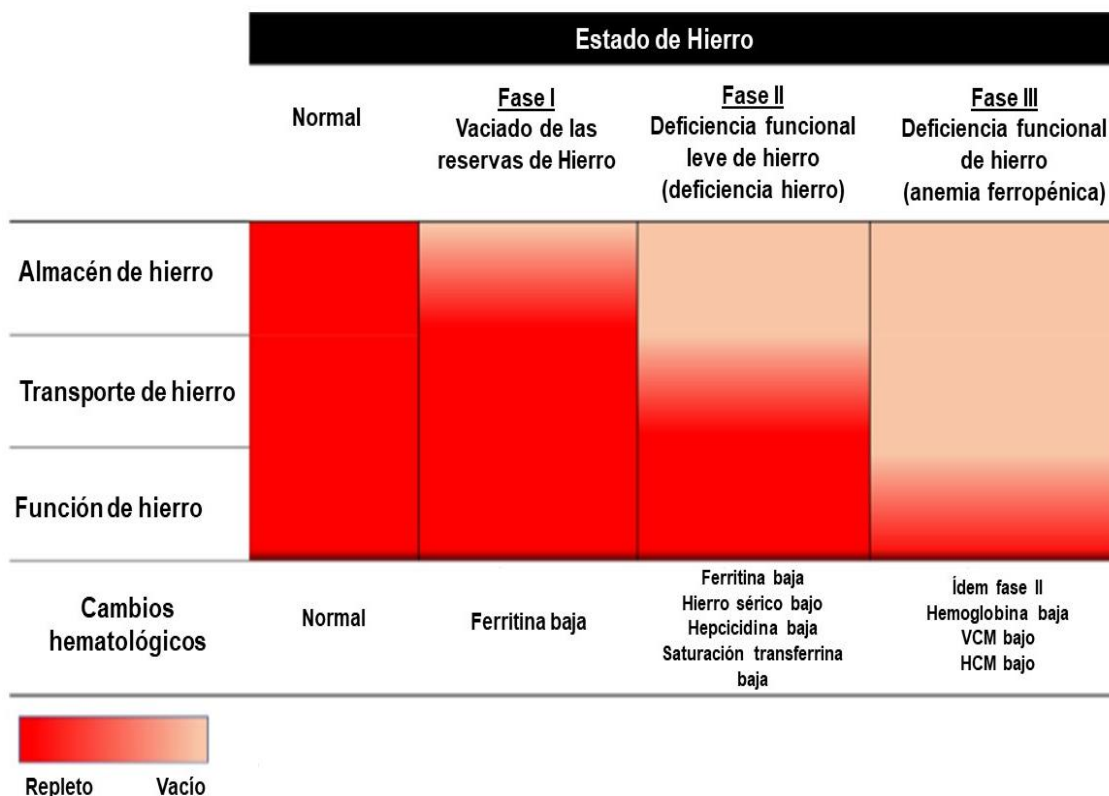


Figura 9. Índices para evaluar el estado de hierro en varias etapas de la anemia por deficiencia de Hierro; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media. Adaptado de Sundararajan & Rabe, (2021).

Por otro lado, la toxicidad por Fe es menos probable que ocurra con fuentes dietéticas de ingesta de Fe debido a la capacidad del cuerpo para controlar la absorción de Fe. Sin embargo, la toxicidad de Fe podría ser un problema cuando una persona consume suplementos de Fe en exceso. Los efectos adversos se detallan a continuación (Pfeiffer & Looker, 2017):

1. La toxicidad aguda causa síntomas gastrointestinales como vómitos y diarrea. Además, podría producir toxicidad cardiovascular, sistema nervioso central, renal o hepática específicamente debido al daño celular por los radicales libres de Fe.
2. El suplemento de Fe en dosis alta generalmente causa efectos secundarios gastrointestinales como estreñimiento, náuseas o vómitos.
3. Ciertos trastornos hematológicos o transfusiones de sangre repetidas pueden causar una sobrecarga de Fe secundaria.

1.6. *Manganeso*

Mn es un metal del grupo 7 de la tabla periódica y es el duodécimo elemento más abundante en la corteza terrestre. Se encuentra en varias formas químicas y físicas en las partículas de la atmósfera y en el agua (Avila et al., 2013).

Mn se encuentra en forma de compuestos inorgánicos y orgánicos, siendo la forma inorgánica la más común. Debido a que la capa de electrones externa de Mn puede donar hasta 7 electrones, Mn se puede encontrar en 11 estados de oxidación diferentes, que varían de -3 a +7 (Avila et al., 2013). En tejido vivo, Mn se ha encontrado como Mn²⁺, Mn³⁺, y posiblemente como Mn⁴⁺, mientras que Mn⁵⁺, Mn⁶⁺, Mn⁷⁺, y otros complejos de Mn en estados de oxidación más bajos, no se observan en materiales biológicos.

Mn es un nutriente esencial necesario para una variedad de funciones metabólicas, incluidas las involucradas en el desarrollo humano normal, la activación de ciertas metaloenzimas, el metabolismo energético, la función del sistema inmunológico, la función del sistema nervioso, la función de la hormona reproductiva y en enzimas antioxidantes que protegen las células del daño debido a los radicales libres (Avila et al., 2013). Mn también juega un papel esencial en la regulación de la energía celular, el crecimiento del tejido conectivo y óseo, y la coagulación de la sangre. Además, Mn es un cofactor importante para una variedad de enzimas, incluidas las involucradas en la síntesis y el metabolismo de los neurotransmisores (Erikson & Aschner, 2003). De hecho, en el cerebro de los mamíferos, se requieren pequeñas cantidades de Mn para el desarrollo del cerebro, la homeostasis celular y para la actividad de múltiples enzimas (Prohaska, 1987)

1.6.1. Contenido y localización

Mn está presente en todos los tejidos de los organismos terrestres y acuáticos. Los rangos comunes de Mn en los órganos de los mamíferos varían, dependiendo de la fuente, de 0,2 a 3,8 mg/Kg o de 0,04 a 1,3 mg/Kg, siendo siempre los más bajos en los músculos y los más altos en los riñones.

Los datos sobre las concentraciones medias de Mn en los fluidos humanos varían considerablemente. En el caso de la sangre, de 0,008 a 0,05 mg/L, y en el de la leche materna, de 0,0032 a 0,12 mg/L. El contenido más alto de Mn en el organismo se

encuentran en los huesos de los mamíferos terrestres (hasta 10 mg/Kg) y en los tejidos duros de los animales acuáticos (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

1.6.2. Metabolismo

Absorción y transporte

Para el ser humano adulto, la absorción de Mn de la dieta se ha afirmado a menudo que no es superior al 5% (Avila et al., 2013). Esta estimación se complica por el hecho de que el Mn endógeno se excreta casi totalmente a través de las secreciones biliares, pancreáticas e intestinales. Si el estado del Mn es adecuado, la excreción endógena del Mn absorbido en el intestino es tan rápida que es difícil determinar la porción de Mn fecal no absorbido de la dieta y la porción excretada endógenamente.

Alrededor del 3 al 5% del Mn de la dieta se absorbe en el tracto gastrointestinal como Mn^{2+} y Mn^{4+} (Barceloux & Barceloux, 1999). Mn^{2+} se oxida a Mn^{3+} por la ceruloplasmina del hígado y el plasma y se transporta a través de la sangre (Foradori et al., 1967). Mn tiende a formar complejos con proteínas. Una variedad de proteínas plasmáticas han sido implicadas como proteínas portadoras específicas de Mn, incluidas la transglutaminasa, la beta-globulina, la albúmina y transferrina (Cotzias et al., 1968). Como resultado, las concentraciones plasmáticas y tisulares de Mn libres tienden a ser extremadamente bajas (Avila et al., 2013).

La absorción de Mn disminuye a medida que aumenta la ingesta dietética. Por otro lado, la absorción de Mn aumenta con un bajo estatus de Mn (Weigand et al., 1986). Por lo tanto, la absorción variable aparentemente es un factor significativo en la regulación de la homeostasis de Mn, a lo que contribuye su excreción.

La absorción del Mn aparentemente se produce por igual en todo el intestino delgado. Hay indicios de que Mn se absorbe a través de un mecanismo de transporte activo y rápidamente saturable que implica un sistema de alta afinidad y baja capacidad (Garcia-Aranda et al., 1983). La difusión también se ha implicado en la absorción de Mn. Quizás, ambos procesos estén implicados en el movimiento del Mn a través del intestino.

Mn puede ser absorbido por un mecanismo de dos pasos con la captación inicial desde el lumen seguida de la transferencia a través de las células de la mucosa. Cabe

destacar que Fe compite con Mn por los sitios de unión comunes en ambos procesos. Así, uno de estos metales, si está presente en cantidades elevadas, puede ejercer un efecto inhibitorio sobre la absorción del otro (García-Aranda et al., 1983). Se ha sugerido que tanto el Mn^{2+} unido a la α -2-macroglobulina plasmática como el Mn^{2+} unido a la albúmina (Weigand et al., 1986) son la forma de Mn que entra en la sangre portal desde el tracto gastrointestinal. Independientemente de la forma, Mn es eliminado rápidamente de la sangre por el hígado. Una fracción se oxida a Mn^{3+} y se transporta en el plasma unido a la transferrina (Keen, 1994). Mn unido a la transferrina es absorbido por el tejido extrahepático.

Como se ha comentado anteriormente, dentro de las células, Mn se encuentra predominantemente en las mitocondrias y, por tanto, el hígado, el riñón y el páncreas tienen concentraciones de Mn relativamente altas. El Mn^{2+} intracelular se secuestra en las mitocondrias del cerebro y el hígado a través del uniportador de Ca^{2+} (Zwingmann et al., 2003). Por lo tanto, las mitocondrias son el grupo principal de Mn intracelular. Sin embargo, también se ha informado que los núcleos acumulan preferentemente este metal (Sepúlveda et al., 2012). Además, también se demostró que Mn^{2+} puede inducir la fragmentación del aparato de Golgi, lo que indica un papel específico de este compartimento en el mantenimiento de la homeostasis de Mn (Ton et al., 2002). Por otro lado, Mn está presente en concentraciones extremadamente bajas en el plasma y la orina de los seres humanos.

Excreción

La excreción endógena de Mn aparentemente no está influenciada por la ingesta dietética o el estatus. Mn se excreta principalmente en las heces. La excreción urinaria de Mn es baja y parece que no se relaciona con la ingesta dietética de Mn (Davis & Greger, 1992).

La excreción urinaria en cinco hombres sanos varió del 0,04 al 0,14 % de su ingesta (Freeland-Graves et al., 1988). El riesgo potencial de toxicidad por Mn es mayor cuando la excreción de bilis es baja, como en los recién nacido o durante una enfermedad hepática (Hauser et al., 1994). Las concentraciones plasmáticas de Mn pueden elevarse en lactantes con enfermedad hepática que reciben Mn suplementario (Kelly, 1998).

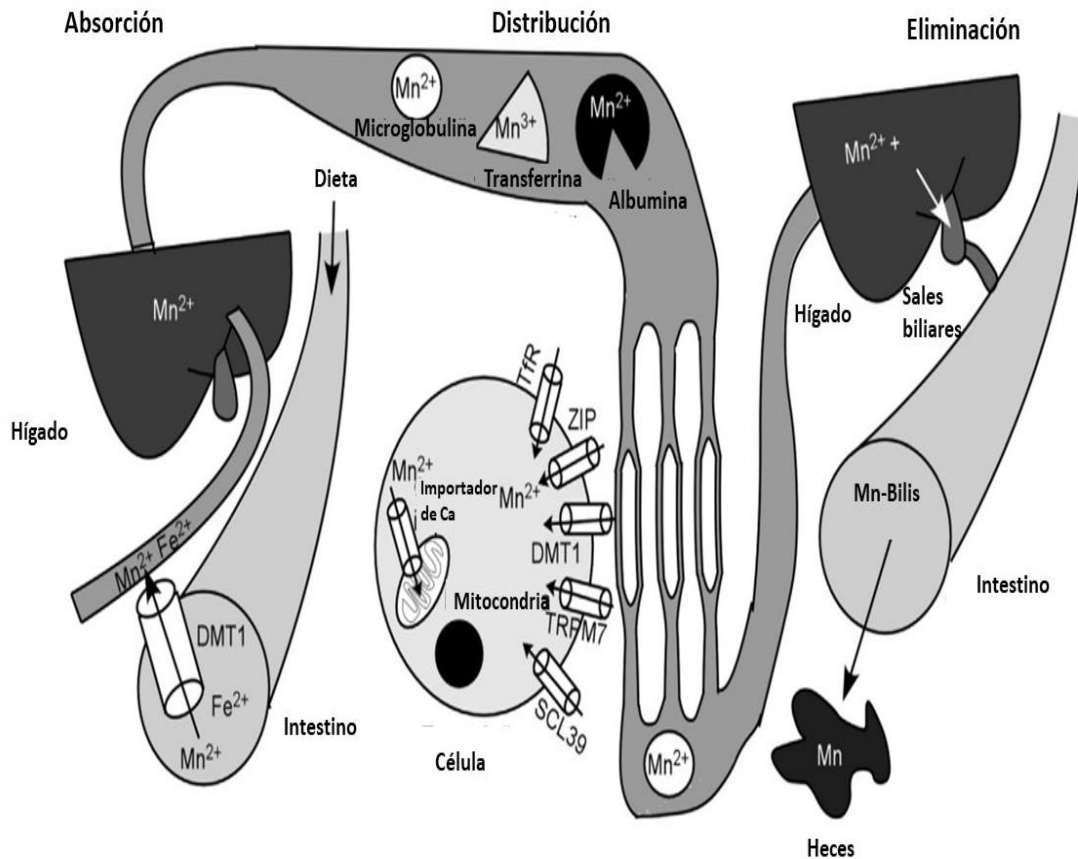


Figura 10. Homeostasis del manganeso en vertebrados. El manganeso es absorbido en el intestino por DMT-1 y transportado al hígado. Desde el hígado, el manganeso se distribuye por el organismo a través del torrente sanguíneo, donde se transporta unido a la β 1-microglobulina, la albúmina y la transferrina. El manganeso se introduce en las células a través de diversos transportadores repartidos por todo el organismo y se secuestra en las mitocondrias. El manganeso se excreta del organismo en la bilis; el Mn interactúa con las sales biliares, lo que limita su reabsorción; por lo tanto, se excreta en las heces; DMT-1: el transportador de iones metálicos divalentes-1; SLC39: transportador de soluto-39; TRPM7: melastatina de potencial receptor transitorio-7; ZIP: Proteína transportadora zinc. Adaptado de Collins, (2016).

1.6.3. Funciones generales en el organismo

Mn es un nutriente esencial involucrado en la formación del tejido óseo y en el metabolismo de aminoácidos, colesterol y carbohidratos. Las metaloenzimas de Mn incluyen arginasa, glutamina sintetasa, fosfoenolpiruvato descarboxilasa y SOD. Las glicosiltransferasas y las xilosiltransferasas, importantes en la síntesis de proteoglicanos y, por lo tanto, en la formación de hueso, son sensibles al estado de Mn en los animales (Institute of Medicine, 2001a).

La piruvato carboxilasa y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa son enzimas importantes en la vía gluconeogénica. Dado que la piruvato carboxilasa es una metaloenzima de Mn y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa es una enzima activada por el Mn, Mn influye sobre metabolismo de los carbohidratos a través de la modificación de la actividad de estas enzimas en el hígado (Wolinsky & Driskell, 2005).

También, Mn influye en el metabolismo de los carbohidratos a través de un efecto sobre la producción, secreción o degradación de la insulina. La deficiencia de Mn también provoca un defecto en la respuesta a la insulina en los tejidos periféricos. Según se ha informado, los adipocitos aislados de ratas con deficiencia de Mn presentaban una disminución del transporte de glucosa estimulado por la insulina in vitro, así como de la oxidación y la conversión en ácidos grasos (Baly et al., 1990). Las bases bioquímicas de los cambios en el metabolismo y la acción de la insulina inducidos por la deficiencia de Mn no se han definido claramente (Baly et al., 1990).

Por otro lado, Mn superóxido dismutasa (MnSOD) es el principal antioxidante de las mitocondrias (Speich et al., 2001). El estrés fisiológico, incluido el ejercicio físico, aumenta la actividad de la MnSOD en el miocardio y, por tanto, aparentemente protege contra las arritmias, el aturdimiento del miocardio y el infarto inducidos por la isquemia-perfusión (Hamilton et al., 2004). Estos hallazgos indican que el Mn es importante para la protección contra el daño oxidativo inducido por el entrenamiento de alta intensidad y promueve la recuperación del entrenamiento (Abella et al., 1987).

Por último, Mn tiene efectos sobre el tejido óseo. Mn participa en la síntesis de proteoglicanos secundaria y en la actividad de las glicosil transferasas (Wolinsky & Driskell, 2005). Además, se ha observado que Mn afecta a las actividades de los osteoblastos y los osteoclastos. La deficiencia de Mn puede dar lugar a una alteración del crecimiento y la remodelación óseos que contribuyen a las deformidades óseas. Asimismo, la deficiencia de Mn disminuye el factor de crecimiento similar a la insulina circulante, que tiene acciones osteotróficas (Strause et al., 1987).

1.6.4. Interacción con otros micronutrientes

Hierro

En general, Fe tiene una fuerte influencia en la homeostasis del Mn, ya que ambos metales comparten unión y captación a través de transferrina y DMT-1. La absorción de iones metálicos en los enterocitos tiene lugar a través de transportadores transmembrana. Por lo tanto, durante la deficiencia de Fe, el número de transportadores en las membranas de los enterocitos aumenta para maximizar la absorción de Fe. Esto inevitablemente dará como resultado una mayor absorción de Mn, particularmente en ausencia de Fe (Avila et al., 2013).

1.6.5. Valoración del estado nutricional

Plasma y suero

Las concentraciones de Mn en suero o plasma parecen ser algo sensibles a las grandes variaciones en la ingesta de Mn, pero se necesitan estudios más prolongados para evaluar la utilidad de las concentraciones de Mn en suero o plasma como indicadores del estado de Mn (Aschner, 2018). La hemólisis leve de las muestras puede aumentar notablemente las concentraciones de Mn en plasma o suero (Institute of Medicine, 2001a).

Sangre

Debido a la corta vida media de Mn, los niveles en sangre también son difíciles de cuantificar, y las exposiciones crónicas no producen de manera consistente los resultados esperados y clínicamente significativos (O'Neal et al., 2014). Además, la Mn en sangre total parece ser extremadamente variable, lo que puede descartarlo como un indicador de estado viable (Institute of Medicine, 2001a).

Orina

Mn urinario responde a la depleción severa de Mn. Sin embargo, existen controversia sobre el uso de Mn urinario para evaluar el estado cuando se consumen cantidades normales de Mn (Chen et al., 2018).

Mn urinario disminuyó significativamente a medida que la ingesta de Mn disminuía progresiva de 2,9 a 2,1 y 1,2 mg/día (Freeland-Graves et al., 1988). Después de la reposición con 3,8 mg/día, la excreción urinaria de Mn aumentó. Sin embargo, en contraste con los hallazgos anteriores, cuando diez hombres consumieron de 0,52 a 5,33 mg/día, la excreción urinaria de Mn no se correspondió con su ingesta (Davis & Greger, 1992).

Saliva, cabello y uñas

El muestreo de saliva también produce variaciones significativas en personas expuestas a los mismos niveles de Mn, lo que lo convierte en un marcador no específico (Wang et al., 2008). Además, los estudios que utilizan concentraciones de Mn en el cabello y las uñas como marcadores de toxicidad nuevamente muestran resultados inconsistentes, con algunos estudios que sugieren una correlación confiable y otros que muestran falta de confiabilidad (de Sousa Viana et al., 2014).

Tejido óseo

El hueso es un reservado natural de Mn, lo que lo convierte en un órgano ideal para estudiar los efectos de la exposición al metal natural (O'Neal et al., 2014).

Enzimas

Respecto a la valoración indirecta de Mn, la arginasa y la MnSOD son uno de los parámetros más estudiados. La arginasa podría verse afectada por una variedad de factores, incluida la dieta rica en proteínas y enfermedad hepática. Por otro lado, factores como el etanol y los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta pueden afectar la actividad de la MnSOD (Institute of Medicine, 2001a).

1.6.6. Consumo de referencias y fuentes naturales

Se han fijado las siguientes IA de Mn (en mg/día) para los siguientes colectivos: lactantes de 0 a 6 meses, 0,003; lactantes de 7 a 12 meses, 0,6; niños de 1 a 3 años, 1,2; niños de 4 a 8 años, 1,5; niños de 9 a 13 años, 1,9; niños de 14 a 18 años, 2,2; niñas de 9 a 18 años, 1,6; hombres adultos, 2,3; mujeres adultas, 1,8; mujeres embarazadas, 2; y mujeres lactantes, 2,6. El ejercicio intenso puede aumentar la necesidad de Mn (Driskell & Wolinsky, 2005).

Las fuentes vegetales tienen concentraciones de Mn mucho más altas que las fuentes animales. Los cereales integrales, el arroz y los frutos secos (avellanas, almendras y pecanas) contienen grandes cantidades de Mn. El chocolate, el té, los mejillones, las almejas, las legumbres, las frutas, la espinaca, las semillas (lino, sésamo, calabaza, girasol y piñones) y las especias (chile en polvo, clavo y azafrán) también son ricos en Mn (Aschner, 2018).

1.6.7. Déficit y excesos

Debido a sus numerosas fuentes dietéticas, la deficiencia de Mn es excepcionalmente rara. La ingesta dietética inadecuada de Mn da como resultado un atraso en el crecimiento, formación ósea deficiente con defectos esqueléticos, tolerancia anormal a la glucosa y metabolismo alterado de lípidos y carbohidratos (Aschner, 2018). Además, los hombres sometidos experimentalmente a dietas empobrecidas en Mn desarrollaron una erupción cutánea transitoria en el torso y tenían concentraciones séricas de colesterol reducidas (Horning et al., 2015).

También, se ha demostrado que las concentraciones insuficientes de Mn afectan negativamente la salud reproductiva y el desarrollo. El consumo de <1 mg Mn/día provocó un estado de ánimo alterado (Horning et al., 2015). Las bajas concentraciones de Mn en los niños (<8,154 µg/L) también se han asociado con puntuaciones bajas en la prueba Stroop Color-Word Test, test de flexibilidad cognitiva y velocidad de procesamiento (Horning et al., 2015).

El nivel máximo de IT de Mn es de 9 a 11 mg/día para adultos y de 2 a 6 mg Mn/día para niños, variando los valores según la edad. No se ha informado toxicidad por exposición dietética de Mn. La toxicidad del Mn es debido en gran parte a la exposición ambiental, incluida la exposición en el aire y el agua potable.

Las exposiciones ambientales de Mn se concentran en el aire debido al escape de los automóviles. El tricarbonilo de metilciclopentadienil Mn es un aditivo antidetonante en la gasolina sin plomo que contiene ~24,4 % de Mn en peso. Por otro lado, las ocupaciones en riesgo de exposición al Mn son los soldadores y los trabajadores de la industria de las ferrocarriles y los fabricantes de baterías (Aschner, 2018).

1.7. *Molibdeno*

Mo es un EM esencial para los microorganismos, las plantas y los animales descubierto en 1778. La esencialidad de Mo se estableció en la década de 1950 con el descubrimiento de las primeras enzimas que contenían Mo (Novotny & Peterson, 2018).

Mo es el único EM de la segunda fila de la tabla periódica que presenta actividad biológica cuando se liga a un cofactor. En la naturaleza es muy abundante en el mar, con una concentración media de 100 nM, y se encuentra sobre todo en forma del oxianión molibdato (MoO_4^{2-}), única fuente conocida de Mo que pueden captar los organismos (Schwarz & Belaidi, 2013).

1.7.1. Contenido y localización

La cantidad de Mo presente en un adulto es de aproximadamente 9 mg. El nivel total de Mo en la sangre humana varía con la ingesta dietética pero promedia aproximadamente 5 ng / mL, mientras que en suero contiene aproximadamente 0,55 ng / mL (Sardesai, 1993).

En el ser humano, Mo se encuentra principal y constantemente en el hígado, el riñón, tejido graso y la sangre (Schroeder et al., 1970).

1.7.2. Metabolismo

Absorción

Mo presente en los alimentos y en forma de complejos solubles se absorbe fácilmente. Los seres humanos podrían absorber entre el 88 y el 93% de Mo suministrado (Wolinsky & Driskell, 2005). La alta eficiencia de la absorción de Mo sugiere que la absorción de Mo es un proceso pasivo (Nielsen, 1999).

La absorción Mo se produce rápidamente en el estómago y en todo el intestino delgado, siendo la tasa de absorción mayor en las partes proximales que en las distales. El molibdato puede ser transportado a través del tracto gastrointestinal tanto por difusión como por transporte activo, pero a altas concentraciones la contribución relativa del transporte activo al flujo de Mo es pequeña. La absorción y la retención de Mo están

influenciadas por las interacciones entre el Mo y varias formas dietéticas de S (Wolinsky & Driskell, 2005).

Transporte

El molibdato se transporta vagamente unido a los eritrocitos en la sangre, donde tiende a unirse específicamente a la α -2-macroglobulina (Lener & Bibr, 1984). Los órganos que retienen las mayores cantidades de Mo son el hígado y el riñón. Mo en el hígado está presente en su totalidad en asociación macromolecular, por un lado como molibdoenzimas y por otro lado como cofactor de Mo (Moco) (Novotny & Turnlund, 2007). Después de la absorción, la mayor parte del Mo se elimina como molibdato a través del riñón (Turnlund et al., 1995).

Las concentraciones de Mo en sangre total varían ampliamente, pero tienen un promedio de alrededor de 5 nmol/L (Versieck et al., 1978). Mo unido a proteínas constituye entre el 83-97 % de Mo total en los eritrocitos.

Excreción

La excreción urinaria es un reflejo directo del nivel de ingesta de Mo en la dieta (Turnlund et al., 1995). Por otro lado, Mo fecal podría incluir Mo biliar. Los estudios de isótopos muestran mayor retención de Mo cuando las ingestas son bajas y excreción elevada con ingestas altas (Turnlund et al., 1995). Estos datos sugieren que el riñón es el sitio principal de regulación homeostática del Mo.

1.7.3. Funciones generales en el organismo

Mo actúa como un cofactor de enzimas formando Moco. Más de 50 enzimas de Mo (molibdenzimas) se han descrito en la naturaleza (Schwarz et al., 2009). En todas las molibenzimas de mamíferos, Mo funcional está presente como un componente orgánico llamado molibdopterina (Williams & Da Silva, 2002).

La biosíntesis de Moco comienza con la conversión de guanosina trifosfato (GTP) en piranopterina cíclica monofosfato (cPMP) en una reacción catalizada por dos proteínas: proteína 1A de la síntesis de Moco (MOCS1A) y proteína 1B de la síntesis de Moco (MOCS1B). En el segundo paso, dos átomos de S se transfieren a cPMP para formar el ditiolato de molibdopterina mediante la enzima molibdopterina-sintasa, un complejo de dos pequeñas proteínas 2B de la síntesis de Moco (MOCS2B) y dos grandes

proteínas 2A de la síntesis de Moco (MOCS2A) en humanos. El tercer y cuarto paso de la biosíntesis de Moco consisten en dos reacciones sucesivas, que reside en la adenilación de molibdopterina y la subsiguiente inserción de Mo (Guenter Schwarz, 2016).

En humanos se se conocen las siguientes molibenzimas: sulfito oxidasa (SO), xantina deshidrogenasa y oxidasa (XDH y XO), aldehído oxidasa (AO) y el componente reductor de amidoxima mitocondrial (mARC) (Schwarz & Belaidi, 2013). Estas enzimas están involucradas en el catabolismo de aminoácidos azufrados y compuestos heterocíclicos, incluyendo purinas y piridinas.

Sulfito oxidasa

SO se localiza en el espacio de la intermembrana mitocondrial, donde cataliza la oxidación de sulfito a sulfato en un ciclo catalítico que involucra la transferencia de electrones desde el sulfito al dominio Moco, seguido de dos pasos de transferencia de electrones individuales desde el grupo hemo (Johnson-Winters et al., 2010).

La deficiencia de SO se caracteriza por generar convulsiones, retraso mental y retraso en el desarrollo. SO es la molibdenzima más importante para asegurar la supervivencia durante el período neonatal de la vida (Schwarz & Belaidi, 2013).

Xantina deshidrogenada y oxidasa

XDH y XO desempeñan funciones importantes en el catabolismo de la purina y catalizan las dos últimas reacciones oxidativas que convierten la hipoxantina en xantina y la xantina en ácido úrico (Schroeder et al., 1970). XDH y XO se originan a partir del mismo gen y ambas formas pueden denominarse xantina oxidoreductasas. XDH se convierte en XO a través de la oxidación de cisteína, mientras que la rotura de la XDH convierte la enzima de forma irreversible a la forma XO (Hille et al., 2011). A diferencia de la XDH, la XO produce aniones superóxido y H_2O_2 , lo que sugiere un papel importante de la XO en la respuesta al estrés celular y un importante factor de riesgo de lesión por reperfusión isquémica (Kelley et al., 2010).

Las ROS generadas por la XO pueden regular parte del aumento de la biogénesis mitocondrial en respuesta a un episodio agudo de ejercicio muy exhaustivo, generando dicho aumento mitocondrial como adaptación. La inhibición de la XO atenúa la señalización de la biogénesis mitocondrial del músculo esquelético después del ejercicio agudo (Wadley et al., 2013).

Cabe destacar que un incremento en la actividad de estas enzimas puede traer como consecuencia un incremento en la concentración de ácido úrico en el suero, generando la conocida enfermedad como gota (Wang et al., 2016).

Aldehído oxidasa

AO es estructuralmente similar a XO. AO cataliza la oxidación de aldehídos en ácido carboxílico. Durante la reacción de AO, también se producen superóxidos y H₂O₂. AO también juega un papel importante en el metabolismo de numerosos fármacos, (Garattini et al., 2009).

AO participa en la disposición de lípidos, así como en el metabolismo de otros sustratos endógenos, como el retinaldehído y el piridoxal. Las ROS generadas por la AO pueden ser importantes en el estrés redox celular, las toxicidades y diversos estados de enfermedades humanas (Barr et al., 2013).

Componente reductor de amidoxima mitocondrial

Se han descrito dos isoformas diferentes de mARC: mARC1 y mARC2. Las proteínas mARC están involucradas en el metabolismo de los medicamentos, ya que se descubrió que metabolizan varios compuestos N hidroxilados comúnmente utilizados como profármacos (Havemeyer et al., 2011). Debido a la gran abundancia en el hígado y el riñón, la estructura característica del mARC podría desempeñar un papel en la desintoxicación de sustratos N-hidroxilados (Schwarz & Belaidi, 2013).

1.7.4. Interacción con otros micronutrientes

Tungsteno

El tungsteno (W) y Mo tienen un tamaño atómico y estados de valencia similares. W se ha utilizado como antagonista de la absorción de Mo en estudios con animales para producir deficiencia de Mo medida por la actividad de molibdoenzima (Institute of Medicine, 2001a). La interacción no se considera significativa en la nutrición humana.

Cobre

Se ha documentado que la ingesta excesiva de Mo produce deficiencia de Cu en los rumiantes y es un problema práctico de alimentación potencial en algunas áreas del

mundo (Institute of Medicine, 2001a). El mecanismo podría ser una interacción que implique la formación de un complejo de tiomolibdato con Cu. Al igual que W, la interacción no se considera significativa para los seres humanos.

Hierro

Fe puede tener un papel importante en el metabolismo del Mo. Se ha observado que la biosíntesis de Moco y el funcionamiento de la mayoría de las molibenzimas en organismos superiores dependen estrictamente del metabolismo de Fe para proporcionar grupos de sulfuro de Fe y grupos hemo. Cualquier alteración del metabolismo del Fe también podría afectar al metabolismo de Mo (Mendel & Kruse, 2012).

1.7.5. Valoración del estado nutricional

Plasma y suero

Las concentraciones de Mo en plasma y suero son muy bajas en humanos y son difíciles de medir. Como consecuencia, existen pocos informes sobre las concentraciones de Mo en plasma o suero (Cantone et al., 1995; Toro-Román et al., 2022).

Orina

La ruta principal de excreción de Mo es la orina (Turnlund et al., 1995). Aunque está relacionado con la ingesta dietética, Mo urinario por sí solo no refleja el estado (Institute of Medicine, 2001a).

Indicadores bioquímicos

Se han observado varios cambios bioquímicos que informan sobre el estado de Mo. En un estudio, durante la deficiencia de Moco, el sulfato urinario estaba bajo y el sulfito urinario estaba presente. Las concentraciones séricas de ácido úrico eran bajas, la xantina y la hipoxantina urinarias aumentaban y la metionina plasmática aumentaba (Abumrad et al., 1981).

1.7.6. Consumo de referencias y fuentes naturales

Como otros EM, los consumos de referencias se establecen según la edad ($\mu\text{g}/\text{día}$): niños de 1 a 3 años, 17; de 4 a 8 años, 22; de 9 a 13 años, 34; y de 14 a 18 años, 43. La IDR para hombres y mujeres de más de 19 años se fijó en $45 \mu\text{g}/\text{día}$, excepto $50 \mu\text{g}/\text{día}$ durante el embarazo y la lactancia (Schwarz & Belaidi, 2013).

El contenido de Mo en los alimentos vegetales varía según el contenido del suelo en el que se cultivan. Las legumbres son los principales contribuyentes de Mo en la dieta, seguido de los cereales y las nueces. Los productos animales, las frutas y verduras son generalmente bajos en Mo (Kabata-Pendias & Szteke, 2015).

1.7.7. Déficit y excesos

La deficiencia de Mo no es común en personas sanas. Solo se ha informado un caso de deficiencia de Mo en humanos que podría considerarse una deficiencia dietética (Russell et al., 2001). Después de la administración de molibdato de amonio, las anomalías bioquímicas se revirtieron. En 1993, se identificó un defecto metabólico grave debido a la deficiencia de Moco en 47 pacientes. Pocos bebés con estos defectos sobreviven los primeros días de vida (Novotny, 2011), y los que sobreviven tienen anomalías neurológicas graves y una variedad de otras anomalías.

Los compuestos de Mo parecen tener baja toxicidad en humanos. Las formas más solubles de Mo tienen mayor toxicidad que las formas insolubles o menos solubles (Novotny, 2011). La mayoría de los datos de toxicidad son para animales, especialmente rumiantes. Dado que ninguno de estos efectos se ha observado en humanos, es prácticamente imposible determinar cuáles podrían considerarse más relevantes para los humanos. La toxicidad de Mo en animales varía según la edad, la especie, el sexo y la duración de la exposición (Vyskočil & Viau, 1999).

1.8. Selenio

Se es un metaloide de la misma familia que el O y S. Se es un semimetal y por lo tanto posee propiedades intermedias entre un metal y un no metal. Está presente en la naturaleza y en los organismos en forma orgánica y/o inorgánica. Las principales formas orgánicas son la selenometionina y la selenocisteína. Las formas inorgánicas son selenito (SeO_3^{-2}), seleniuro (Se^{2-}), selenato (SeO_4^{-2}) y el elemento Se (Mehdi et al., 2013). La mayoría de los tejidos de plantas y animales contienen trazas de Se ya que este mineral está muy extendido en la corteza terrestre, donde la concentración media es de 0,09 mg/Kg (Collins, 2016).

1.8.1. Contenido y localización

La cantidad total de Se en un organismo humano es aproximadamente entre 3 y 20 mg. En el organismo, la selenometionina constituye la reserva de Se y se almacena en los órganos y tejidos con una cantidad variable: 30 % en el hígado, 30 % en el músculo, 15 % en el riñón, 10 % en el plasma y 15 % en otros órganos (Mistry et al., 2012).

La homeostasis de Se es logrado principalmente por las reservas de selenometionina en el riñón y el hígado. Se almacenado se utiliza cuando la ingesta de Se es demasiado baja para la síntesis de selenoproteínas (Schrauzer, 2000).

1.8.2. Metabolismo

Absorción

La eficiencia de la absorción intestinal de Se es mucho menor en los rumiantes que en las especies monogástricas. La absorción de SeO_3^{-2} es del 80 % en aves y cerdos, mientras que en ovejas es solo del 29 %. Para la selenometionina y selenato (SeO_4^{-2}), la absorción es superior al 90 % en monogástricos. Estas diferencias parecen ser el resultado de la reducción de SeO_3^{-2} y SeO_4^{-2} en seleniuro Se^{2-} que están menos disponibles en los rumiantes (Mehdi et al., 2013).

La absorción preintestinal de Se es insignificante. Por lo tanto, la absorción opera principalmente en el duodeno y el ciego. La absorción ocurre principalmente por transporte activo a través de una bomba de Na. Los mecanismos de absorción intestinal

del Se no son bien conocidos y parecen diferentes según la forma química del elemento. SeO_3^{-2} se absorbe por difusión simple, mientras que SeO_4^{-2} sería por un cotransporte de SeO_4^{-2} Na e intercambio SeO_4^{-2} /hidróxido (Mehdi et al., 2013).

Las formas orgánicas de Se (selenometionina y selenocisteína) siguen los mecanismos de absorción de aminoácidos. La selenometionina ingerida se absorbe en el intestino delgado mediante un mecanismo activo similar al utilizado para la metionina a través del sistema de transporte de aminoácidos neutros Na^+ (Vendeland et al., 1994).

Como se detallará a continuación, algunos elementos disminuyen la tasa de absorción de Se. Es el caso del S, Pb, As, Ca y el Fe. Fe^{+3} precipita el Se a una forma compleja inasimilable por los enterocitos (Mehdi et al., 2013).

Transporte

El SeO_3^{-2} es captado por los eritrocitos y es reducido por el glutatión (GSH) y la glutatión reductasa. Después, es transportado en el plasma en forma de Se^{-2} que se une selectivamente a la albúmina (Seale et al., 2018) y posteriormente se transporta al hígado. El Se es transportado por la sangre en forma de selenoproteína (Baltaci et al., 2016). Se también se une a las globulinas α y β , que tienen una gran afinidad por Se, y a las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad). Del 1 al 2 % de Se en el plasma se une a la GSH-Px (Dubois & Belleville, 1988)

Excreción

El porcentaje de eliminación de Se en la orina depende de la cantidad de Se ingerido, la forma química, la composición del alimento, el estado de Se y el porcentaje de filtración glomerular (Toro-Román, et al., 2022). La orina es la ruta dominante de excreción de Se en monogástricos. En rumiantes, la excreción urinaria de Se es generalmente baja. También, Se es excretado a través de las heces debido a una baja absorción intestinal (Yoneyama et al., 2008).

1.8.3. Funciones generales en el organismo

La importancia biológica esencial de Se está asociada con su presencia en proteínas y enzimas. Se han identificado varias enzimas dependientes de Se en las que el centro activo contiene Se en forma de fracción selenocisteína (Kieliszek et al., 2022).

Las selenoenzimas mejor caracterizadas que ocurren comúnmente en los mamíferos son GSH-Px, la selenoproteína P y la tiroxina 5-desyodasa. GSH-Px y la selenoproteína P catalizan reacciones redox (Brigelius-Flohé & Flohé, 2017). Otras proteínas enzimáticas que están implicadas en funciones importantes de los organismos son la formiato deshidrogenasa, el ácido nicotínico hidroxilasa, la glicina reductasa, la tiolasa y la XDH (Kieliszek, 2019).

GSH-Px es la primera selenoenzima identificada y consta de cuatro subunidades, cada una de las cuales contiene un átomo de Se en forma de selenocisteína. Este último es un agente antioxidante, perteneciente a los llamados captadores de ROS (Kieliszek et al., 2015). Esta enzima cataliza la biosíntesis del glutatión, el cual tiene un papel importante en la protección de los organismos contra la acción oxidativa de H_2O_2 y los peróxidos orgánicos. En presencia de glutatión, los peróxidos se reducen a compuestos de hidroxilo, es decir, alcohol o agua. A través de la eliminación de H_2O_2 del cuerpo, esta enzima protege los ácidos grasos, los glóbulos rojos y la hemoglobina contra la oxidación y protege los componentes celulares como las membranas celulares y el ácido desoxirribonucleico (ADN) de los efectos destructivos de la oxidación (Kieliszek et al., 2018). La actividad de GSH-Px es mayor en el hígado (65,6%), seguido de los eritrocitos (21,2%) y el músculo (6,1%) (Driskell & Wolinsky, 2005).

GSH-Px previene el llamado estrés oxidativo que conduce a diversas enfermedades (Kieliszek, 2019). Las propiedades antioxidantes tanto de la enzima como del Se y su efecto protector contra el ADN se utilizan en terapias contra el cáncer. El Se, al neutralizar el efecto negativo de las aflatoxinas, reduce su efecto cancerígeno y teratogénico e inhibe el crecimiento de células cancerosas (Cai et al., 2019). Potencialmente, los mecanismos anticancerígenos de la interacción de Se se relacionan con la introducción de cambios en el metabolismo de los carcinógenos, el cambio del mecanismo de interacción entre los carcinógenos y el ADN, el aumento de la cantidad de glutatión, la intensificación de los procesos de desintoxicación, la

ralentización selectiva del metabolismo energético en las células tumorales, la modificación de la permeabilidad de las membranas celulares, y estimulando el sistema inmunológico del organismo (Hatfield et al., 2017).

La glutatión reductasa es otra enzima que contiene Se. Esta enzima cataliza el proceso de reducción de la forma oxidada del glutatión a una forma reducida, estando involucrada en la descomposición de peróxidos orgánicos e hidrógeno. La glutatión reductasa es responsable del mantenimiento del nivel adecuado de glutatión reducido para proteger las células de la acumulación de peróxido y su daño (Kieliszek, 2019).

De todos los órganos del cuerpo humano, el alto contenido de Se por unidad de masa se encuentra en la glándula tiroidea. El Se influye sobre la síntesis, la activación y el metabolismo adecuados de las hormonas tiroideas. Es un componente de la tiroxina 5-desyodasa. Esta enzima es responsable de la catalización de la desyodación de la tiroxina a su forma activa conocida como 3,3,5-triyodotironina. La desyodación ocurre en los tejidos periféricos, particularmente en los riñones, el hígado y los músculos esqueléticos. Este proceso puede estar desregulado por la deficiencia de Se en el organismo. Esto indica el importante papel del Se en el metabolismo adecuado de las hormonas tiroideas. En el diagnóstico de enfermedades tiroideas se deben considerar los niveles de este elemento (Driskell & Wolinsky, 2005).

El Se es un micronutriente que es importante para la reproducción masculina y femenina (Kieliszek et al., 2022). El factor principal en el mantenimiento de la fertilidad masculina es el daño oxidativo de los espermatozoides, mientras que el Se protege a los espermatozoides de esta destrucción y, como resultado, actúa como un factor clave en el mantenimiento de la fertilidad masculina (Chen et al., 2013). La baja concentración de Se puede aumentar la susceptibilidad de los espermatozoides a los radicales libres, lo que puede alterar los procesos bioquímicos que tienen lugar en el acrosoma (Alabi et al., 2000). Se encontró que la reducción de la concentración de Se reduce la motilidad de los espermatozoides, da como resultado daños en la parte central del látigo de espermatozoides, también aumenta las anomalías relacionadas con la estructura morfológica (principalmente con una cabeza de espermatozoides anormal o cola doblada) (Piagentini et al., 2017).

Durante muchos años, ha aumentado el interés por el papel del Se en trastornos médicos y neurológicos. Además, se afirmó en algunos estudios con animales que los cambios en el nivel de compuestos que contienen Se afectan la actividad metabólica de los neurotransmisores (Castaño et al., 1997). Se han observado los vínculos entre el Se y los factores de riesgo neurodegenerativos. Las interacciones entre Se y la apolipoproteína E y la presenilina 2 se consideran factores genéticos hereditarios de la enfermedad de alzheimer (Gao et al., 2007). Estudios epidemiológicos y clínicos sobre Se han indicado consecuencias estratificadas en la prevención primaria y secundaria de la enfermedad de Alzheimer (Kieliszek et al., 2022).

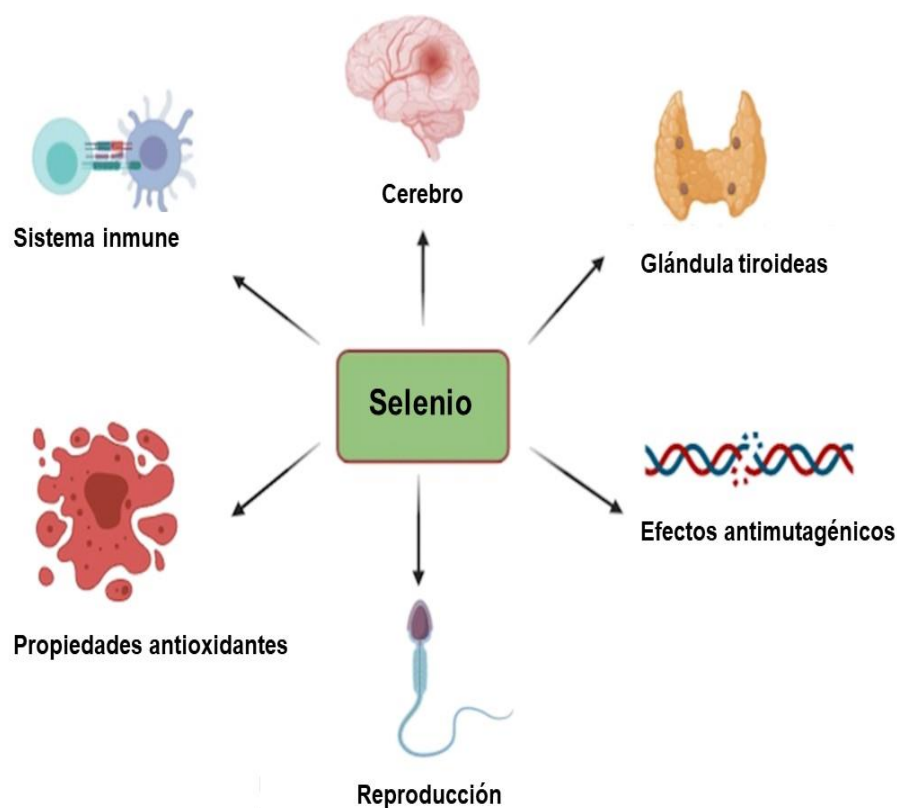


Figura 11. Funciones del selenio en varios organismos. Adaptado de Kieliszek et al., (2022).

1.8.4. Interacción con otros micronutrientes

Azufre

S disminuye la absorción de Se debido a la competitividad estérica (Eroglu et al., 2012) a una concentración superior a 2,4 g/Kg. De manera similar, la concentración de Se hepático se reduce cuando el contenido de S de la dieta es superior a 2,15 a 4,0 g/Kg (Kieliszek et al., 2022). La concentración de Se hepático refleja el nivel de absorción intestinal.

Vitamina E

La vitamina E y el Se funcionan como antioxidantes sinérgicos, y muchos de los signos y síntomas de una doble deficiencia de estos dos nutrientes pueden prevenirse o mejorarse mediante la administración de suplementos de cualquiera de ellos (Yang et al., 1988).

La sinergia de Se con la vitamina E da los mejores resultados en la protección de los órganos contra los efectos destructivos de los radicales libres. La combinación de estos compuestos protege eficazmente las mitocondrias, el citocromo y las membranas microsomales de la oxidación de los ácidos grasos, lo que determina el crecimiento y la fertilidad adecuados. La administración combinada de Se y vitamina E produce un efecto inmunoestimulador (Kieliszek, 2019).

Vitamina C

Se también actúa de forma sinérgica con la vitamina C como antioxidante. La tioredoxina reductasa dependiente del Se ayuda a proteger la célula de los oxidantes y cataliza la regeneración del ácido ascórbico a partir del ácido deshidroascórbico (Robinson et al., 1985). Sin embargo, en lo que respecta a la absorción de Se, cuando se tomaba $\text{SeO}_3^{-2} \text{Na}$ por vía oral, una comida ligera tenía poco efecto sobre la absorción del Se. Sin embargo, 200 mL de zumo de naranja mejoraban ligeramente la absorción, pero la disponibilidad de SeO_3^{-2} se reducía casi a cero cuando se tomaba con 1 g de vitamina C (Robinson et al., 1985).

Yodo

Los efectos de la deficiencia de I pueden verse exacerbados por la deficiencia de Se debido al papel que desempeña Se en las deiodinasas de yodotironina que convierten la tiroxina en triyodotironina activa. La utilización sistémica del I se ve afectada en sujetos con deficiencia de Se (Driskell & Wolinsky, 2005).

Riboflavina

La riboflavina es necesaria para garantizar niveles adecuados de glutatión reducido para el ciclo de la GSH-Px. En los cerdos, un suplemento de riboflavina hizo

que la actividad de la GSH-Px en los riñones, los músculos, el corazón y el cerebro aumentara cuando los cerdos recibieron $\text{SeO}_3^{-2} \text{Na}$ (Parsons et al., 1985).

Folato

Se comprobó que la carencia de Se disminuía algunos de los efectos de la carencia de folato y se especuló con la posibilidad de que se produjera una desviación de la acumulación de homocisteína debida a la carencia de folato hacia la cisteína y el glutatión (Driskell & Wolinsky, 2005).

1.8.5. Valoración del estado nutricional

El estado de Se puede evaluarse utilizando una variedad de métodos que incluyen la medición del Se en la sangre, el plasma, el suero, la orina, los glóbulos rojos, las plaquetas, el cabello y las uñas (Thomson, 2004a). El estado también puede evaluarse utilizando una prueba funcional como GSH-Px de la sangre, el plasma o los glóbulos rojos o la selenoproteína-P.

Plasma y suero

El Se plasmático o sérico refleja el estado a corto plazo. Se plasmático es el marcador más utilizado en la literatura, aunque generalmente no se considera un biomarcador ideal del estado del Se (Ashton et al., 2009). La sensibilidad del Se plasmático a las variaciones en el estado del Se no está clara (Neve, 1995). La interpretación de los resultados podría ser difícil en participantes con una respuesta inflamatoria sistémica (Duncan et al., 2012).

Sangre

La concentración de Se en sangre se considera generalmente una medida útil tanto del estado como de la ingesta de Se (Thomson, 2004a). Se eritrocitario refleja el estado a más largo plazo, debido a la incorporación de Se durante la síntesis de estas células. Sin embargo, no existen intervalos de referencia "normales" aceptados.

Orina

La excreción urinaria diaria está estrechamente relacionada con Se plasmático y la ingesta dietética en poblaciones con bajo nivel de Se (Griffiths & Thomson, 1974). Por

lo tanto, puede utilizarse para evaluar el estado del Se reflejando la ingesta dietética reciente. Los estudios de balance muestran que, en una amplia gama de ingestas, la excreción urinaria representa el 50-60% de la cantidad total excretada (Robinson et al., 1973).

Cabello y uñas

El cabello y las uñas de los pies se han utilizado para evaluar el estado de Se a largo plazo en estudios epidemiológicos, lo que ofrece la ventaja de un almacenamiento de muestras simple y de bajo costo. Su análisis requiere una limpieza cuidadosa, con especial preocupación por el cabello en cuanto a si los sujetos pueden haber usado champús anticaspa que contienen sulfuro de Se (Combs Jr, 2015).

Selenoproteínas

La medición de las selenoproteínas individuales proporciona información más precisa y útil que Se total por sí solo (Patching & Gardiner, 1999). Aun así, la determinación de la concentración de una sola selenoproteína puede ser insuficiente y engañosa.

Las estrechas relaciones entre las actividades de la GPx plasmática y de la GPx eritrocitaria con las concentraciones totales de Se son útiles para la evaluación en personas con un estado relativamente bajo (Neve, 1991). Sin embargo, debido a la metodología utilizada en los laboratorios, resulta difícil comparar los resultados. La GPx también se utiliza para evaluar el efecto de la suplementación con diferentes formas de Se, siendo efectivo en sujetos con un bajo nivel de Se.

1.8.6. Consumo de referencias y fuentes naturales

En la siguiente tabla aparece detallado los valores estimados para IA de Se (Kipp et al., 2015).

Tabla 2. Valores estimados de ingesta adecuada de Se.

Edad	Selenio ($\mu\text{g}/\text{día}$)		
	H	G	M
0-4 meses		10	
4-12 meses		15	
1-4 años		15	
4-7 años		20	
7-10 años		30	
10-15 años		45-60	
15-19 años	70		60
19-25 años	70		60
25-51 años	70		60
51-65 años	70		60
>65 años	70		60
Embarazadas			60
Lactantes			75

H: hombre; G: general; M: mujer. Adaptado de Kipp et al., (2015).

El contenido de Se de los cereales y hortalizas generalmente depende del contenido de Se en los suelos correspondientes. Verduras como nabos, guisantes, judías, zanahorias, tomates, remolachas, patatas y pepinos contienen un máximo de $6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de Se (Mehdi et al., 2013). Las verduras como las cebollas y los espárragos pueden acumular hasta $17 \mu\text{g}/\text{g}$. El ajo y las brasicáceas también pueden acumular Se de forma eficaz. Las frutas generalmente contienen solo cantidades bajas de Se, que rara vez superan los $10 \mu\text{g}/\text{Kg}$. Las nueces de Brasil tienen altos niveles de proteína y son conocidas por sus concentraciones muy altas de Se (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique, 2008).

Del mismo modo, el contenido de Se de los alimentos de origen animal varía según la dieta de estos animales. El pollo, cerdo y cordero son las proteínas animales que presentan mayor cantidad de Se (Dumont et al., 2006).

1.8.7. Déficit y excesos

La deficiencia prolongada de Se en el organismo humano conduce a enfermedades graves. La deficiencia de este elemento afecta negativamente el funcionamiento del sistema cardiovascular y puede ser una causa directa de infarto de miocardio (Shahid et al., 2018). Se asocia a enfermedades como Keshan y Kashin-Beck. Estas enfermedades se identificaron por primera vez en mujeres en edad fértil y niños en el área de China, donde se encontró una cantidad muy baja de Se en el suelo y los cultivos. Durante la enfermedad de Keshan, se observa la degeneración del músculo cardíaco. En el caso de Kashin-Beck, se informa que la osteoartritis conduce a la degeneración del cartílago en las articulaciones de los brazos o las piernas (Kieliszek, 2019).

La deficiencia de Se en la dieta diaria puede afectar negativamente el funcionamiento del sistema nervioso (Steinbrenner & Sies, 2013). Entre las personas con deficiencia de Se, se observa el desarrollo de depresión o intensificación de la ansiedad o el Alzheimer (Pillai et al., 2014). También, este elemento se considera crucial en la reducción de la virulencia del virus de la inmunodeficiencia humana y en la disminución de la progresión del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (Lipinski, 2005).

Cubrir la demanda de Se reduce el riesgo de cáncer (Kieliszek, 2019). El Se, a través de la glutatión reductasa y otras selenoproteínas, controla el funcionamiento de sustancias caracterizadas por su actividad antioxidante, desempeñando así un papel clave en la protección del organismo. La participación del Se en las rutas metabólicas asociadas con la protección de las células contra el estrés oxidativo provoca cambios en la actividad de las selenoproteínas. La expresión de selenoproteína está regulada por la concentración de este elemento (Lammi & Qu, 2018).

Como se ha comentado anteriormente, el estatus de Se afecta el funcionamiento de la glándula tiroidea (Ventura et al., 2017). Los cambios en la función tiroidea resultantes de una cobertura insuficiente de la demanda de este elemento pueden provocar un empeoramiento del estado de ánimo, así como un deterioro del comportamiento y las

funciones cognitivas (Kieliszek, 2019). El suministro insuficiente de este elemento en la dieta disminuye la actividad de la 5'-tironina desyodasa, lo que conduce a una disminución de la concentración de triyodotironina en sangre.

En 1979, el Grupo de Investigación de la Enfermedad de Keshan, en China, informó formalmente de una enfermedad humana relacionada con la deficiencia de Se, a la que siguieron informes sobre la enfermedad de Kashin y el cretinismo. El Se puede ejercer impactos distintivos sobre la salud a niveles de ingesta deficientes, nutricionales, supranutricionales y tóxicos (Collins, 2016).

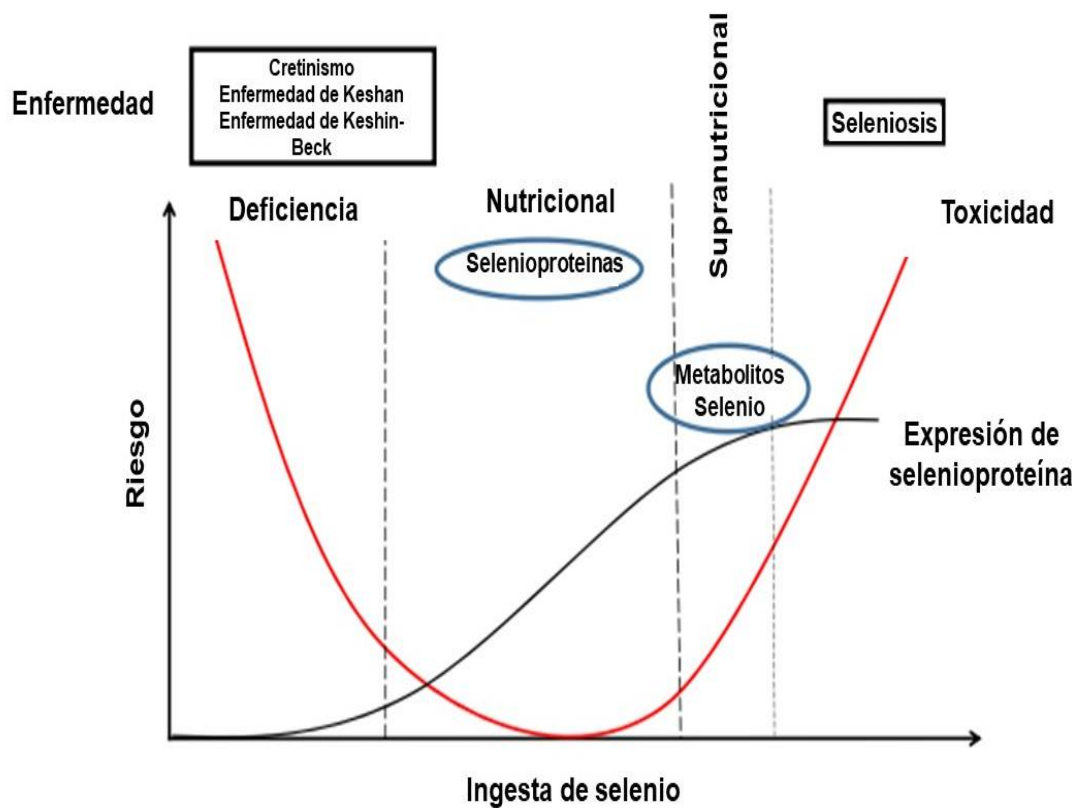


Figura 12. La respuesta en forma de "U" de los riesgos de enfermedad a varios niveles de ingesta de selenio en la dieta. Adaptado de Collins, (2016).

Por otro lado, el exceso de Se puede ser tóxico para el organismo. Rara vez se observa intoxicación aguda por Se. Tanto las formas orgánicas como las inorgánicas de Se pueden ejercer un efecto tóxico sobre el organismo (Nuttall, 2006). La toxicidad del Se está asociada con la inhibición competitiva entre el Se y el S, lo que lleva al inicio del metabolismo del S. El Se puede sustituir al S en los aminoácidos (cisteína y metionina), mientras que los compuestos inorgánicos desplazan al S durante la síntesis de los ácidos

mercaptúricos y durante la reacción de SeO_3^{-2} con los grupos tiol (Kieliszek, 2019). Como resultado, podemos observar enzimas y moléculas de proteína distorsionadas y disfuncionales, que provocan la aparición de alteraciones en el funcionamiento bioquímico de la célula (Kieliszek et al., 2015). Los síntomas del envenenamiento por Se causan pérdida de cabello y lesiones en la piel y las uñas (Kieliszek, 2019).

Otros síntomas de intoxicación por Se son anemia, tos seca, fiebre e hipersalivación. El envenenamiento conduce a una mayor permeabilidad de los capilares y nefrosis (Aldosary et al., 2012)

1.9. Zinc

Zn es el segundo EM esencial más abundante en el cuerpo humano después del Fe. La esencialidad del Zn se estableció en 1869 para las plantas, en 1934 para los animales de experimentación y en 1961 para los seres humanos (Hernández-Camacho et al., 2020). Desde el descubrimiento de la deficiencia de Zn como un problema de salud humana en 1961 el interés en los aspectos bioquímicos y clínicos de la nutrición con Zn ha aumentado notablemente (Hernández-Camacho et al., 2020).

1.9.1. Contenido y localización

El Zn está presente en todos los órganos, tejidos, fluidos y secreciones del cuerpo. Más del 95% del Zn en el cuerpo se encuentra dentro de las células. El Zn está asociado a todos los orgánulos de la célula, pero sólo entre el 60 y el 80% del Zn celular se localiza en el citosol; se ha demostrado que el resto está específicamente unido a las membranas (Cousins et al., 2006; Vallee & Gibson, 1948)

La concentración de Zn en los fluidos extracelulares es muy baja. La concentración plasmática de Zn es de aproximadamente $0,65 \mu\text{mol/L}$, mientras que la concentración de Zn en diversos órganos y tejidos del cuerpo es muy variable. La mayor concentración se encuentra en el músculo esquelético, seguido del tejido óseo (Wolinsky & Driskell, 2005).

Tabla 3. Concentración y contenido de Zn en varios órganos y tejidos de un hombre adulto de 70 kg de peso.

Tejido u órgano	Concentración de Zn		Contenido total de Zn		% de Zn total
	$\mu\text{mol/g}$	$\mu\text{g/g}$	nmol	g	
M. Esquelético	0,78	51	24	1,53	57
Hueso	1,54	100	12	0,77	29
Piel	0,49	32	2	0,16	6
Hígado	0,89	58	2	0,13	0
Cerebro	0,17	11	0,6	0,04	1,5
Riñones	0,85	55	0,3	0,02	0,7
Corazón	0,35	23	0,15	0,01	0,4
Pelo	2,30	150	<0,15	<0,01	0,1
Plasma	0,02	1	<0,15	<0,01	0,1

Zn: zinc. Adaptado de Wolinsky & Driskell, (2005).

La concentración de Zn en los músculos varía según sus funciones metabólicas. Las mayores concentraciones se encuentran en los músculos esqueléticos con una gran proporción de fibras de contracción lentas ya que son altamente oxidativas (Wolinsky & Driskell, 2005).

La concentración de Zn de los músculos esqueléticos generalmente no se reduce con la restricción de Zn en la dieta, excepto por pequeñas disminuciones (~5%) en el sóleo. Sin embargo, el tamaño y el número de los distintos tipos de fibras musculares pueden reducirse y su distribución relativa puede verse alterada, con una disminución característica de las fibras oxidativas de contracción lenta y un aumento de las fibras glucolíticas de contracción rápida (Chu & Samman, 2014).

La concentración de Zn en el hueso es bastante grande en relación con otros tejidos y órganos del cuerpo. El Zn óseo se ve afectado negativamente por la restricción de Zn en la dieta, especialmente en los animales en crecimiento. La disminución del Zn óseo es más sensible a la ingesta de Zn en la dieta que la de otros tejidos y puede reflejar mejor la disminución gradual del estado general del Zn en el organismo que la concentración de Zn en el plasma (Wolinsky & Driskell, 2005).

1.9.2. Metabolismo

Absorción

Zn se absorbe en el intestino delgado mediante un mecanismo mediado por un transportador (Roohani et al., 2013). En condiciones fisiológicas normales, los procesos de transporte de absorción no están saturados. La fracción de Zn absorbida es difícil de determinar porque el Zn también se secreta en el intestino. Zn administrado en soluciones acuosas a sujetos en ayunas se absorbe de manera eficiente (60-70 %), mientras que la absorción de dietas sólidas es menos eficiente y varía según el contenido de Zn y la composición de la dieta (Roohani et al., 2013). En general, se acepta un 33 % como la absorción promedio de Zn en humanos (Turnlund et al., 1984). La absorción de Zn depende de su concentración en los alimentos y aumenta con el incremento de Zn en la dieta hasta una tasa máxima. El estado de Zn puede influir en la absorción (Krebs, 2000).

Zn se libera de los alimentos en forma de iones libres durante la digestión. Estos iones liberados pueden luego unirse a ligandos secretados de forma endógena antes de su transporte a los enterocitos en el duodeno y el yeyuno (Roohani et al., 2013). Los gradientes de iones se generan mediante dos mecanismos principales: (1) una bomba primaria, que utiliza la energía de la hidrólisis de ATP o (2) un mecanismo activo secundario que usa un gradiente de iones, como Na^+ , para generar gradientes de Zn^{+2} (Sekler et al., 2007).

Las proteínas de transporte específicas pueden facilitar el paso del Zn a través de la membrana celular hacia la circulación portal. Con altas ingestas, Zn también se absorbe a través de una ruta paracelular pasiva. El sistema portal transporta Zn absorbido directamente al hígado y luego lo libera a la circulación sistémica para su entrega a otros tejidos. Alrededor del 70% del Zn en circulación se une a la albúmina, y cualquier

condición que altere la concentración de albúmina sérica puede tener un efecto secundario en los niveles séricos de Zn. Aunque el Zn sérico representa solo el 0,1 % del Zn corporal total, Zn circulante se renueva rápidamente para satisfacer las necesidades de los tejidos (Wastney et al., 1986).

Otro transportador potencialmente involucrado en la absorción de Zn y otros metales es el transportador de cationes divalentes 1, un polipéptido transmembrana que se encuentra en el duodeno en las criptas y las vellosidades inferiores y puede estar disponible para la absorción de varios iones metálicos (McMahon & Cousins, 1998).

Transporte

Respecto al transporte de Zn, hay al menos 10 transportadores de Zn en las células humanas (Cousins et al., 2006). La expresión y distribución celular de los transportadores de Zn está altamente regulada por cambios en el nivel de Zn. Los transportadores reducen la disponibilidad de Zn intracelular al promover la salida de Zn de las células o hacia las vesículas intracelulares (Sekler et al., 2007).

La distribución del Zn absorbido a los tejidos extrahepáticos se produce principalmente en el plasma, que contiene aproximadamente 3 mg de Zn o alrededor del 0,1% del Zn corporal total. En el plasma, el Zn se reparte entre la α 2-macroglobulina (40%), la albúmina (57%) y los aminoácidos (3%) (Wolinsky & Driskell, 2005).

El Zn está poco unido a la albúmina y a los aminoácidos. Estas fracciones son responsables del transporte del Zn desde el hígado a los tejidos. El Zn unido a aminoácidos constituye la fracción ultrafiltrable que se filtra en los riñones y se excreta en la orina. Dado que la cantidad total de Zn presente en los tejidos es mucho mayor que el Zn presente en el plasma, cambios relativamente pequeños en el contenido tisular de Zn, como en el hígado, pueden tener efectos importantes en la concentración plasmática de Zn. Cabe destacar que, dado que todo el Zn absorbido se transporta del plasma a los tejidos, el intercambio de Zn del plasma a los tejidos es muy rápido para mantener relativamente constantes las concentraciones plasmáticas de Zn (Wolinsky & Driskell, 2005).

Excreción

La pérdida de Zn a través del tracto gastrointestinal representa aproximadamente la mitad de todo el Zn eliminado del cuerpo. Una cantidad considerable de Zn es secretada a través de las secreciones biliares e intestinales, pero la mayor parte se reabsorbe. Este es un proceso importante en la regulación del balance de Zn.

Otras rutas de excreción de Zn incluyen la orina y las pérdidas superficiales (piel descamada, cabello y sudor) (Roohani et al., 2013). Las mediciones en humanos del Zn intestinal endógeno se han realizado principalmente como excreción fecal. Dichas mediciones indican que las cantidades excretadas responden a la ingesta de Zn, el Zn absorbido y la necesidad fisiológica (Krebs, 2000).

Homeostasis

Mantener un estado constante de Zn celular es esencial para la supervivencia. En animales y humanos, los ajustes en la absorción total de Zn y la excreción intestinal endógena son los principales medios para mantener la homeostasis del Zn (Hambidge & Krebs, 2001). Los ajustes en la absorción gastrointestinal de Zn y la excreción endógena son sinérgicos. Los cambios en la excreción endógena parecen ocurrir rápidamente con cambios en la ingesta justo por encima o por debajo de la ingesta óptima, mientras que la absorción de Zn responde más lentamente, pero tiene la capacidad de hacer frente a grandes fluctuaciones en la ingesta (King et al., 2000).

Con ingestas extremadamente bajas de Zn o con ingestas marginales prolongadas, los ajustes homeostáticos secundarios pueden aumentar los cambios gastrointestinales. Estos ajustes secundarios incluyen cambios en la excreción urinaria de Zn, un cambio en las tasas de recambio de Zn en plasma y una considerable retención de Zn liberado de tejidos como el hueso, en otros tejidos para mantener la función (Roohani et al., 2013).

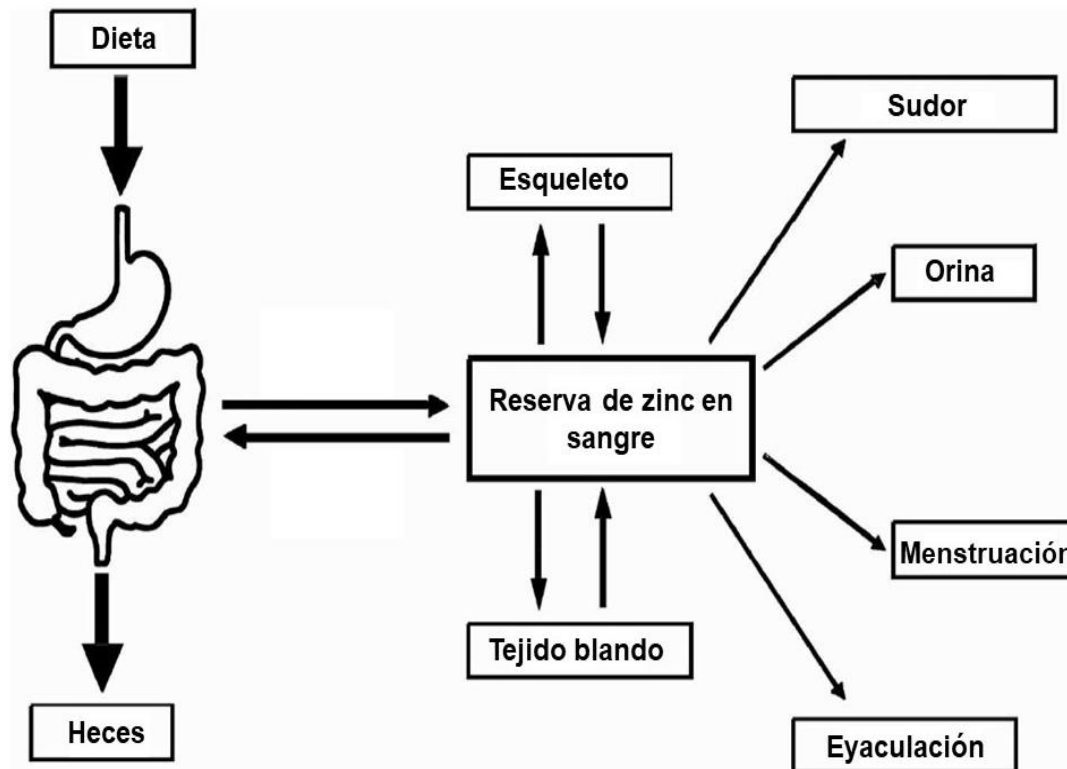


Figura 13. Componentes del metabolismo humano de Zinc. Adaptado de Wolinsky & Driskell, (2005).

1.9.3. Funciones generales en el organismo

El Zn desempeña tres funciones biológicas principales en el organismo: función catalítica, función estructural y función reguladora (Chasapis et al., 2012).

Función catalítica

El Zn es esencial y está directamente involucrado en la catálisis y la cocatálisis de las enzimas que controlan diversos procesos celulares, incluida la síntesis de ADN, el crecimiento normal, el desarrollo del cerebro, la respuesta conductual, la reproducción, el desarrollo fetal, la estabilidad de la membrana, la formación de huesos y la cicatrización de heridas (Chasapis et al., 2012).

Función estructural

Debido a sus propiedades fisicoquímicas, Zn desempeña funciones estructurales y funcionales en varias proteínas involucradas en la replicación y transcripción inversa

del ADN, siendo fundamental para la función de varias metaloproteínas (Tapiero et al., 2003). Los iones de Zn son hidrófilos y no atraviesan las membranas celulares por difusión pasiva. Se ha descrito que el transporte tiene componentes tanto saturables como no saturables, dependiendo de las concentraciones de Zn presentes. Los iones de Zn existen en la expresión de la información genética, en el almacenamiento, la síntesis y la acción de las hormonas peptídicas y en el mantenimiento de la estructura de la cromatina y las biomembranas (Tapiero & Tew, 2003).

Función reguladora

Al Zn regula tanto la actividad enzimática como la estabilidad de las proteínas como activador o como ión inhibidor (Mocchegiani et al., 2000). Para regular dinámicamente la disponibilidad de Zn, los eucariotas primero han compartimentado Zn y, al mismo tiempo, tienen el par metalotioneína/tioneína, que controla el Zn celular (Maret, 2003). También se ha encontrado que el Zn modula los procesos de transducción de señales celulares e incluso funciona como un modulador de la neurotransmisión sináptica en el caso de las neuronas que contienen Zn en el cerebro anterior (Chasapis et al., 2012).

En relación con las anteriores funciones biológicas, Zn presenta un papel crucial en el organismo. Entre ellos se pueden destacar:

Zinc y proliferación

El Zn juega un papel esencial en la proliferación celular en diferentes tejidos y tipos de células (Corniola et al., 2008). La regulación de la proliferación celular por Zn puede ocurrir a diferentes niveles, incluido el requerimiento de Zn para la actividad de las enzimas involucradas en la síntesis de ADN y la modulación de las señales reguladoras directa o indirectamente, a través de sus efectos sobre la regulación hormonal de la división celular. El eje hipofisario de la hormona de crecimiento responde al estado de Zn (MacDonald, 2000).

Zinc y apoptosis

Al Zn se le han atribuido funciones en el metabolismo y la interacción de las células malignas, particularmente en la apoptosis en diferentes tejidos y tipos de células (Chasapis et al., 2012). La apoptosis es un mecanismo importante de muerte celular

programada implicado en varios eventos biológicos durante el desarrollo, la remodelación o la involución de los tejidos. Es un mecanismo biológico regulado requerido para la remoción y eliminación de células superfluas, mutantes o moderadamente dañadas en respuesta a agentes tóxicos (Nath et al., 2000). En lugar del 'homicidio' celular que ocurre en la muerte celular necrótica, la apoptosis es una vía de 'suicidio' celular.

La apoptosis es morfológicamente distinta de la muerte celular debida a la descomposición y/o necrosis lisosomal (Kumar et al., 2003). La apoptosis es inducida por varios estímulos extracelulares o intracelulares con un papel importante para el Zn o Ca (Seve et al., 2002). La desregulación de la apoptosis es fundamental para los mecanismos patogénicos en muchas enfermedades, como los trastornos neurodegenerativos, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, las enfermedades autoinmunes y el cáncer. El aumento de la apoptosis in vivo puede ocurrir como consecuencia directa o indirecta de una disminución en las concentraciones de Zn intracelular. Por lo tanto, el Zn celular se describe como un inhibidor de la apoptosis, mientras que su agotamiento induce la muerte en muchas líneas celulares (Seve et al., 2002). Las bajas concentraciones de Zn celular pueden desencadenar la apoptosis en numerosos tipos de células, incluidos fibroblastos, hepatocitos, precursores de células T, glioma y células testiculares

Zinc y el sistema inmunológico

El Zn se considera crucial para las respuestas inmunitarias. Influye e interactúa específicamente con los componentes del sistema inmunológico (Wellinghausen & Rink, 1998). Zn es relevante para la inmunocompetencia, porque se une a enzimas, proteínas y péptidos con diferente afinidad de unión. Zn se transporta a las células unido a proteínas, predominantemente albúmina, α 2-macroglobulina y transferrina, pero solo los iones Zn libres parecen ser biológicamente activos (Vallee & Falchuk, 1993). La función de la macroglobulina α 2 está regulada por el propio Zn. Zn altera la estructura de la macroglobulina α 2 y mejora su interacción con las citocinas y las proteasas, lo que influye indirectamente en la función inmunitaria. El deterioro de la función inmunológica se ha atribuido a la deficiencia de Zn y puede ser la causa más común de estados de inmunodeficiencia secundaria en humanos (Tapiero & Tew, 2003). La deficiencia de Zn da como resultado una disfunción inmunitaria en la inmunidad innata. Específicamente, la deficiencia de Zn reduce la señalización inmunitaria, afecta la vía inmunitaria

neuroendocrina y altera la producción de citoquinas en los mastocitos (Tapiero & Tew, 2003).

Zinc y estrés oxidativo

En todos los sistemas vivos, las células requieren niveles adecuados de defensas antioxidantes para evitar el efecto nocivo de una producción excesiva de ROS y prevenir el daño a las células inmunitarias. Durante los procesos inflamatorios, la activación de los fagocitos es capaz de promover el ensamblaje de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa, que cataliza la producción de altas cantidades del radical O_2^- . En estas circunstancias particulares, se reconoce que los neutrófilos y los macrófagos producen radicales libres superóxido y H_2O_2 , que son esenciales para la defensa contra microbios fagocitados o invasores (Chasapis et al., 2012).

El Zn protege a la célula del daño por oxidación de los radicales libres. Esto puede deberse a varios factores: actuando como estabilizador de la estructura de la membrana celular, actuando como componente esencial de SOD, actuando como agente protector de los tioles, y en la prevención de la interacción entre grupos químicos con el Fe para formar radicales libres, además de actuar como inhibidor de la NADPH oxidasa (Tapiero & Tew, 2003).

Zinc y cáncer

Se ha considerado que muchos compuestos dietéticos contribuyen a la prevención del cáncer, incluido Zn, que desempeña un papel fundamental en la defensa contra el inicio y la promoción de varias neoplasias malignas (Dhawan & Chadha, 2010). Los niveles de Zn en suero y tejidos malignos de pacientes con varios tipos de cáncer son anormales, lo que respalda la participación del Zn en el desarrollo del cáncer. Los estudios han demostrado que los niveles séricos de Zn se reducen en pacientes con cáncer de mama, vesícula biliar, pulmón, colon, cabeza y cuello y bronquios (Chasapis et al., 2012). Curiosamente, mientras que los niveles séricos de Zn son bajos en el entorno de la mayoría de los cánceres, el tejido tumoral en el cáncer de mama y de pulmón tiene niveles elevados de Zn en comparación con los tejidos normales correspondientes (Chasapis et al., 2012).

Zinc y envejecimiento

El envejecimiento es un proceso biológico inevitable asociado con cambios bioquímicos y fisiológicos graduales y una mayor susceptibilidad a las enfermedades. En el envejecimiento, la pérdida de respuestas inmunológicas puede tener varios orígenes, entre ellos la disminución de la función neuroendocrina y el aumento de la apoptosis regulada por la deficiencia de Zn (Mocchegiani et al., 2000).

Durante el envejecimiento, la condición similar al estrés es persistente y provoca un secuestro de Zn intracelular con la subsiguiente baja biodisponibilidad de iones de Zn para la eficiencia inmunológica y para la actividad de enzimas y proteínas dependientes de Zn. Por lo tanto, la baja biodisponibilidad del ión Zn constituyen factores de riesgo para las recaídas de la infección en los ancianos, ya que el organismo viejo se convierte en un 'bajo respondedor' a los estímulos nocivos externos con la aparición de enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (Chasapis et al., 2012).

El suministro de Zn se considera necesario en el envejecimiento, ya que la mejora de las funciones inmunitarias y los sistemas de respuesta al estrés se produce en los ancianos después de la suplementación con Zn (Chasapis et al., 2012). En aquellos casos en los que el Zn se considere necesario, su papel se duplica (Mocchegiani et al., 2000).

1.9.4. Interacción con otros micronutrientes

Hierro

La ingesta diaria de Fe en niveles como los que se encuentran en algunos suplementos podría disminuir la absorción de Zn (O'Brien et al., 2000). Esta relación es motivo de preocupación en el manejo de la suplementación con Fe durante el embarazo y la lactancia (Fung et al., 1997). La afinidad comparable de este transportador por el Zn sugiere que, durante la ingesta baja de Fe, la absorción de Zn puede estimularse y sugiere un posible lugar para una interacción Zn-Fe. La influencia del Fe hemo en la absorción de Zn no ha recibido mucha atención. La actividad de otros transportadores de metales divalentes también puede afectar la absorción de Zn (Russell et al., 2001).

Calcio

La importancia del Ca en la dieta y la masa del elemento que debe consumirse diariamente para mantener la máxima densidad ósea sugiere que se debe prestar especial atención a su potencial efecto inhibitor sobre la absorción de Zn.

Los experimentos de nutrición con animales han demostrado de manera concluyente que el exceso de Ca en la dieta produce una disminución en la absorción de Zn, lo que conduce a una condición de la piel llamada paraqueratosis. Los experimentos en humanos han sido equívocos, con fosfato de calcio (1,360 mg/día de calcio) disminuyendo la absorción de Zn (Wood & Zheng, 1997) y Ca como el complejo citrato-malato (1,000 mg/día de calcio) sin efecto estadísticamente significativo sobre absorción de Zn.

Las diferencias podrían estar relacionadas con las fuentes de Ca, las técnicas utilizadas y el grado de solubilidad del Zn. Actualmente, los datos sugieren que el consumo de una dieta rica en Ca no tiene un efecto importante en la absorción de Zn en un nivel de ingesta adecuado del nutriente (Russell et al., 2001).

Cobre

No se han realizado estudios a gran escala sobre la influencia de la ingesta dietética de Cu en la absorción y utilización de Zn en sujetos humanos. Varios enfoques experimentales con animales no han revelado una influencia uniforme del Cu en la absorción intestinal de Zn (Russell et al., 2001). Más bien, la evidencia de una interacción se deriva del efecto terapéutico del Zn en la reducción de la absorción de Cu en pacientes con enfermedad de Wilson. Esta acción incluye la inducción de metalotioneína intestinal por el Zn y la posterior unión del exceso de Cu por esta metaloproteína, lo que puede limitar la absorción transcelular de Cu. La relación puede tener relevancia en situaciones en las que los suplementos de Zn se consumen con una ingesta dietética marginal de Cu (Nishito & Kambe, 2018).

Folato

La biodisponibilidad del folato aumenta cuando el folato de poliglutamato es hidrolizado por la enzima dependiente de Zn, poliglutamato hidrolasa, a monoglutamato. Esto sugiere una posible interacción. Algunos estudios han demostrado una relación entre el folato y el Zn (Milne et al., 1984), con una ingesta baja de Zn que

reduce la absorción/el estado del folato. Estudios posteriores no respalda ningún efecto de la baja ingesta de Zn sobre la utilización de folato y muestra que la suplementación con folato no afecta negativamente el estado del Zn (Kauwell et al., 1995). No se han realizado estudios extensos sobre esta relación potencial en mujeres. Dado que estos nutrientes tienen funciones importantes tanto en el desarrollo fetal como posnatal, la relación requiere más estudio.

Proteína

El Zn se une fijamente a las proteínas a un pH casi neutro. En consecuencia, la cantidad de proteína en la dieta es un factor que contribuye a la eficiencia de la absorción de Zn (Russell et al., 2001). A medida que avanza la digestión de proteínas, Zn se vuelve más accesible para los mecanismos de transporte de Zn de las células intestinales. La abundancia relativa de Zn como complejos de bajo peso molecular y baja afinidad de unión mejora el proceso. Pequeños cambios en la digestión de proteínas pueden producir cambios significativos en la absorción de Zn (Russell et al., 2001). Estos cambios en la absorción pueden explicar la correlación entre los síntomas de deficiencia de Zn y ciertos trastornos de malabsorción. En general, la absorción de Zn de una dieta rica en proteínas animales será mayor que la de una dieta rica en proteínas de origen vegetal como la soja (Krebs, 2000).

Ácido fítico

Las plantas contienen ácido fítico como forma de almacenamiento de P. En consecuencia, los alimentos de origen vegetal, en particular los cereales y las legumbres, tienen un contenido significativo de ácido fítico. La acción enzimática de la levadura durante la fermentación del pan y otras fermentaciones reduce los niveles de fitato, mientras que los procesos de extrusión pueden no hacerlo (Russell et al., 2001).

Se ha demostrado que la unión de Zn al fitato es un factor que contribuye a la deficiencia de Zn (Prasad, 2017). El efecto general del fitato es reducir la absorción de Zn en el tracto gastrointestinal a través de la formación de complejos y la precipitación. Estos efectos químicos parecen potenciarse por la unión simultánea de Ca (Prasad, 2017).

La unión de fitato en la luz intestinal incluye Zn tanto de origen alimentario como de origen endógeno. Dado que la homeostasis del Zn está controlada en parte por las

secreciones endógenas, el consumo de alimentos ricos en fitato puede tener una importancia práctica como factor que limita la absorción y el mantenimiento del equilibrio del Zn. Mientras que los alimentos ricos en fibra tienden a ser ricos en fitato, la fibra sola puede no tener un efecto importante en la absorción de Zn (Maares & Haase, 2020).

1.9.5. Valoración del estado nutricional

Las pruebas de laboratorio para evaluar el estado del Zn pueden clasificarse en dos grupos: las que implican el análisis del Zn en un tejido o fluido corporal y las que evalúan una función dependiente del Zn. Las pruebas útiles de la primera categoría incluyen determinaciones del contenido de Zn en el plasma o suero, células sanguíneas, orina y saliva. Entre las pruebas funcionales se incluyen las mediciones de las actividades de las enzimas que contienen Zn (Bogden & Klevay, 2000).

La evidencia de una deficiencia moderada o leve de Zn es difícil de demostrar debido a la falta de un indicador sensible y específico de la nutrición humana de Zn (Solomons, 1979).

Plasma y suero

La concentración de Zn en plasma y suero son los biomarcadores más utilizados para determinar el estado del Zn. Las concentraciones plasmáticas de Zn normalmente responden a la suplementación con Zn, especialmente en sujetos con un nivel inicial bajo o moderadamente bajo (Wieringa et al., 2015).

Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de Zn se ven afectadas por muchos otros factores, como la inflamación, el ayuno o la alimentación, el embarazo, el uso de anticonceptivos orales y el ritmo diurno (Wieringa et al., 2015).

Orina

En circunstancias normales, el Zn excretado con la orina representa alrededor del 15% de las pérdidas diarias. Sin embargo, cuando se consume una dieta baja en Zn, la cantidad de Zn excretado a través de la orina se reduce en un 96% (King et al., 2001). Por lo tanto, las concentraciones de Zn en la orina podrían ser un indicador valioso del estado del Zn.

Sin embargo, actualmente no hay suficientes datos sobre el Zn urinario (a menudo expresado en relación con la creatinina urinaria) para hacer recomendaciones sólidas sobre la validez y utilidad como indicador del estado del Zn (Wieringa et al., 2015).

Eritrocitos

Revisiones previas observaron que ningún estudio individual sugirieron una respuesta de este biomarcador a los cambios en la ingesta de Zn (Lowe et al., 2009). La concentración de Zn en los glóbulos rojos es relativamente insensible a la deficiencia leve o moderada del mismo (Solomons, 1979).

Metalotioneína

Se ha demostrado que varias enzimas dependientes de Zn se ven afectadas por la ingesta o el estado de Zn. La metalotioneína es una proteína de almacenamiento de metales que está presente en el suero en una concentración baja. La concentración circulante de metalotioneína parece correlacionarse con la ingesta de Zn (Roohani et al., 2013).

Sin embargo, la metalotioneína puede verse afectada por otros factores, como infecciones y estrés, aunque esto no ha sido confirmado por estudios directos. Debido a estas limitaciones y la dificultad relativa de realizar estos ensayos fuera del laboratorio de investigación, actualmente es poco probable que sean útiles para evaluar el estado del Zn a nivel de la población (Lowe et al., 2009).

Cabello

Se han documentado concentraciones bajas de Zn en el pelo de personas con deficiencia de Zn, en lactantes y niños estadounidenses con deficiencia de Zn y en afecciones asociadas a la deficiencia de Zn, como la anemia falciforme, la acrodermatitis enteropática y la enfermedad celíaca (Bogden & Klevay, 2000).

La contaminación ambiental también puede provocar concentraciones aparentemente elevadas de Zn en el cabello. Las correlaciones entre el Zn capilar y el Zn sanguíneo o tisular suelen ser escasas. Por lo tanto, el Zn capilar parece ser una medida fiable del estado de su estado nutricional (Bogden & Klevay, 2000).

Leucocitos

Ciertos estudios han indicado reducciones en el contenido aparente de Zn de los leucocitos periféricos en la depleción experimental de Zn y otras afecciones relacionadas con la deficiencia de Zn (Prasad, 1985).

Sin embargo, otros investigadores que utilizaron diferentes técnicas de separación celular no pudieron confirmar estos hallazgos (Milne, 2000). Los cambios aparentes en el contenido de Zn de las fracciones de leucocitos aparentemente estaban relacionados con el grado de contaminación por plaquetas sanguíneas (Bogden & Klevay, 2000).

Enzimas que contienen Zinc

Varias enzimas dependientes del Zn, como la fosfatasa alcalina, la anhidrasa carbónica, la nucleósido fosforilasa y la ribonucleasa, son indicadores útiles del estado de Zn (Bogden & Klevay, 2000).

Se ha observado una disminución de la actividad de la fosfatasa alcalina en el suero o en los neutrófilos en varios casos de deficiencia de Zn en humanos. Sin embargo, al igual que ocurre con el Zn sérico, las actividades de la fosfatasa alcalina son inespecíficas y se ven afectadas por afecciones no relacionadas con el estado del zinc (Bogden & Klevay, 2000).

En pacientes con anemia falciforme cuya nutrición de Zn estaba alterada, las actividades de la anhidrasa carbónica y la nucleósido fosforilasa estaban relacionadas con el estado del Zn y respondían a la administración de suplementos de Zn (Prasad, 1985).

1.9.6. Consumo de referencias y fuentes naturales

Los valores dietéticos de referencia para la ingesta de Zn (en mg/día) establecidos por la organización mundial de la salud son los siguientes: 5,5-7,5 para los niños (1-10 años), 12-13 para los niños (11-18 años), 9,5 para el hombre adulto y 6,5 para la mujer adulta (Institute of Medicine, 2001a).

El contenido de Zn es un factor determinante de la adecuación de diversos alimentos como fuentes de Zn para una persona (Driskell & Wolinsky, 2016). Los productos de origen animal (carne, pescado y aves de corral) tienen la mayor

concentración de Zn y constituyen la principal fuente de Zn en la dieta (Driskell & Wolinsky, 2016).

El pescado tiene una menor concentración de Zn que la mayoría de las carnes de animales. La leche y los productos lácteos son fuentes importantes de Zn, sobre todo para los lactantes y los niños, y aportan el 19% de la ingesta diaria. Es importante destacar que el tejido adiposo o la grasa de los productos animales y lácteos tiene un contenido de Zn insignificante. En consecuencia, el contenido de Zn es alto en el queso y bajo en la mantequilla y la nata (Driskell & Wolinsky, 2016).

Los cereales representan importantes fuentes de energía y Zn en muchas zonas del mundo. Se han registrado grandes diferencias en el contenido de Zn, dependiendo del tipo de cereal e incluyendo la variedad, la clase y el lugar de producción. Por ejemplo, se ha comprobado que el contenido de Zn del trigo oscila entre 15-102 mg/Kg, dependiendo de la variedad, y entre 219-61 mg/Kg para la misma variedad de trigo cultivada en diferentes lugares y años (Davis et al., 1984).

1.9.7. Déficit y excesos

En general, la ingesta insuficiente de un nutriente induce inicialmente una movilización de las reservas corporales o funcionales. A medida que la depleción persiste, las concentraciones de nutrientes en los tejidos disminuyen, lo que provoca el deterioro de una o más funciones metabólicas dependientes de los nutrientes (Golden, 1989).

Cuando se disminuye el Zn en la dieta, la respuesta inicial es una reducción del crecimiento y una disminución de las pérdidas endógenas de Zn como medio para conservar el Zn tisular. Si la deficiencia dietética es leve, la homeostasis puede restablecerse tras ajustar el crecimiento y la excreción de Zn, sin que se produzcan más alteraciones funcionales o bioquímicas. Sin embargo, cuando el Zn en la dieta está severamente restringido, el cuerpo no puede restaurar la homeostasis ajustando las pérdidas endógenas y el crecimiento, por lo que se desarrolla rápidamente un deterioro generalizado de la función de los órganos y tejidos (Collins, 2016).

Debido a la multitud de funciones bioquímicas básicas del Zn en las células del cuerpo humano, existe una amplia gama de signos fisiológicos de deficiencia de este EM. Estos signos varían según la gravedad de la afección. Los sistemas que se ven

afectados clínicamente por estados de deficiencia de Zn incluyen los sistemas epidérmico, gastrointestinal, nervioso central, inmunitario, esquelético y reproductivo (Hambidge & Walravens, 1982). A continuación, se detallan algunas consecuencias de la deficiencia de Zn en la dieta.

Crecimiento y desarrollo

Una de las características clínicas más estudiadas relacionadas con la deficiencia de Zn es el deterioro del crecimiento y desarrollo físico. Sin embargo, los mecanismos involucrados no se comprenden bien. Este efecto es de mayor importancia durante los períodos de rápido crecimiento, como el embarazo, la infancia y la pubertad, durante los cuales los requisitos de Zn son más altos (Hambidge, 2000).

Relación entre la deficiencia de zinc y la edad

Los cambios degenerativos asociados con el envejecimiento pueden deberse en parte a la deficiencia de Zn, incluida la disminución de la inmunocompetencia, el retraso en la cicatrización de heridas y ciertos cambios neurológicos y psicológicos (Whittaker, 1998).

En general, las manifestaciones clínicas de la deficiencia de Zn varían con la edad. En la primera infancia, la diarrea es un síntoma prominente. La deficiencia de Zn también provoca deterioro de la función cognitiva, problemas de comportamiento, deterioro de la memoria, problemas de aprendizaje y atrofia neuronal (Brown et al., 2004).

Los problemas de la piel se vuelven más frecuentes a medida que el niño crece. La alopecia, el retraso del crecimiento y las infecciones recurrentes son comunes en los niños en edad escolar. Las úlceras cutáneas crónicas que no cicatrizan y también las infecciones recurrentes son comunes entre los ancianos. Estos efectos se observaron en ensayos clínicos controlados que mostraron una respuesta positiva a los suplementos de Zn (Brown et al., 2004).

Estrés oxidativo

La deficiencia de Zn, después de una reducción prolongada de la ingesta o pérdidas excesivas no compensadas, se asocia con mayores niveles de daño oxidativo, incluido un aumento de la oxidación de lípidos, proteínas y ADN (Prasad, 2009). La

privación a largo plazo de Zn hace que un organismo sea más susceptible al daño inducido por el estrés oxidativo.

La deficiencia de Zn aumenta los niveles de peroxidación lipídica en las membranas mitocondriales y microsomales, así como la fragilidad osmótica de las membranas de los eritrocitos. Sin embargo, la presencia de Zn impide la peroxidación lipídica. Por lo tanto, el Zn juega un papel importante en la protección de la célula contra el estrés oxidativo (Vallee & Falchuk, 1993).

Causas de la deficiencia de zinc

Las causas generales de la deficiencia de Zn incluyen ingesta inadecuada, aumento de los requisitos, malabsorción, aumento de las pérdidas y utilización deficiente (Abbaspour et al., 2014). La ingesta dietética inadecuada de Zn absorbible es la causa principal de la deficiencia de Zn en la mayoría de las situaciones (Lonnerdal, 2000).

La malabsorción de Zn puede ocurrir en una serie de situaciones, por ejemplo, la acrodermatitis enteropática. Los síndromes de malabsorción y las enfermedades inflamatorias del intestino, que resultan en una mala absorción y pérdida de Zn, pueden conducir a una deficiencia secundaria de Zn, particularmente en presencia de dietas marginales (Abbaspour et al., 2014). La utilización de Zn se ve afectada en presencia de infección, ya que la disminución de la circulación de Zn reduce su biodisponibilidad en los tejidos.

Las condiciones de alteración de la integridad intestinal no solo reducen la absorción, sino que también provocan un aumento de las pérdidas endógenas de Zn. La excreción fecal de Zn aumenta durante la diarrea aguda. No está claro en qué medida esto representa Zn no absorbido o de origen endógeno (Brown et al., 2004).

Por otro lado, la toxicidad por Zn es rara debido a la regulación homeostática de las concentraciones corporales de Zn en los sitios de absorción de Zn (intestino delgado) y excreción endógena (tracto intestinal y riñones) (Maret & Sandstead, 2006).

Las altas concentraciones de Zn en las bebidas, hasta 2500 mg/L con una dosis estimada de 325-650 mg, se han relacionado con la intoxicación de individuos, causando náuseas, calambres abdominales, vómitos, tenesmo y diarrea con o sin sangrado (Maret & Sandstead, 2006). La toxicidad aguda por el consumo de bebidas o alimentos

contaminados es inusual. El exceso de Zn durante la embriogénesis puede ser teratogénico o letal (Maret & Sandstead, 2006).

1.10. Elementos minerales: diferencias entre sexos

Los efectos sobre la salud de determinados EM se manifiestan de forma diferente en hombres y mujeres debido a diferencias en la cinética y el modo de acción (Vahter et al., 2007). Los factores biológicos que pueden influir en el metabolismo y la toxicidad de EM en el organismo femenino incluyen cambios relacionados con la menarquia, el embarazo, la lactancia y la menopausia (Silbergeld & Flaws, 1999). Por ejemplo, la menstruación puede causar una deficiencia de Fe que, a su vez, puede estar relacionada con una mayor absorción gastrointestinal de algunos EM como se han descrito anteriormente (Vahter et al., 2007).

Aunque existen estudios que han investigado concentraciones de EM en ambos sexos, estos no han sido estudiados en profundidad en deportistas.

Cobre

La influencia del sexo sobre las concentraciones extracelulares de Cu ha sido analizada previamente. Es sabido que la mujeres muestran mayores concentraciones séricas y urinarias de Cu en comparación con los hombres (Helgeland et al., 1982; Rahil-Khazen et al., 2000).

Otros estudios reportaron que la media general de Cu sérico fue de 14,29 $\mu\text{mol/L}$ y este valor varió según el sexo, ya que los hombres presentaron una concentración de Cu de 13,25 $\mu\text{mol/L}$ y las mujeres de 15,61 $\mu\text{mol/L}$, siendo estadísticamente significativo (Clark et al., 2007). La edad no afectó significativamente los niveles séricos de Cu (Clark et al., 2007). Autores previos reportaron que las mujeres estaban expuestas a niveles más altos de Cu que los hombres (Nan & Bai, 2022)

Las diferencias hormonales podrían explicar la distribución diferencial de Cu entre los sexos. Las hormonas endógenas pueden afectar el metabolismo del Cu a nivel celular y corporal (Arredondo et al., 2010). Los estudios en animales sugieren que niveles más altos de estrógeno pueden mejorar la producción de ceruloplasmina, y por lo tanto, aumentar la absorción y elevar los niveles séricos de Cu (Johnson et al., 1992; Nan & Bai, 2022).

También, la ingesta de anticonceptivos orales podría influir en las concentraciones de Cu. En estudios previos, incluso después de excluir a las mujeres que tomaban anticonceptivos orales, el Cu sérico en las mujeres seguía siendo mayor que en los hombres. De acuerdo con Grandjean et al., (1992), las mujeres que tomaban anticonceptivos orales tenían un mayor contenido sérico de Cu. Según los autores anteriores, el embarazo y el uso de anticonceptivos orales afectan a las proteínas fijadoras de Cu en el suero, dando lugar así a un aumento de las concentraciones séricas (Grandjean et al., 1992).

Hierro

Es comúnmente sabido que los hombres tienen niveles más alto de Fe sérico en comparación con las mujeres (Clark et al., 2007; Constantini et al., 2000; Cook & Finch, 1979; Sandström et al., 2012), siendo la deficiencia de Fe más frecuente en las mujeres (Looker, 1997). Aproximadamente, el 11% de las mujeres en los Estados Unidos entre las edades de 16 y 49 años experimentan deficiencia de Fe, en comparación con <1% de los hombres de la misma edad (Looker, 1997). Igualmente, en jóvenes, las concentraciones séricas de Fe son menores en chicas entre 14-17 años en relación a los chicos (Bergström et al., 1995). Igualmente, en jóvenes suecos se mostraron mayores concentraciones de Fe sérico, hemoglobina y saturación de las transferrina (Hallberg et al., 1993).

La homeostasis del Fe difiere entre hombres y mujeres premenopáusicas (M Worwood, 2007). Las necesidades de Fe son muy elevadas en los adolescentes de ambos sexos, especialmente durante los periodos de crecimiento (Hallberg et al., 1993). En las chicas, la menarquía impone necesidades adicionales para cubrir las pérdidas menstruales de Fe. En los chicos, también existen necesidades adicionales relacionadas con el aumento de la concentración de hemoglobina en el momento de la pubertad. Por ello, es fundamental considerar el estado del Fe al hacer comparaciones de sexo en fisiología. Se han descrito las diferencias entre sexos en el estado del Fe y el impacto asociado sobre el organismo, particularmente en mujeres premenopáusicas (Ryan et al., 2022).

La actividad física puede exacerbar las diferencias sexuales en el estado de Fe, ya que se han descrito disminuciones en el estado del Fe asociadas con el entrenamiento en mujeres atletas y personal militar (Ryan et al., 2022). De hecho, un estudio informó que la deficiencia de Fe era predominante en más del 30 % de las atletas de resistencia

femeninas entrenadas, en comparación con ~6 % en los hombres entrenados (Sinclair & Hinton, 2005). La menstruación es una de las principales causas del bajo nivel de Fe en las mujeres, aunque también pueden contribuir la ingesta inadecuada de Fe en la dieta y el embarazo, entre otros factores (Pasricha et al., 2021).

Manganeso

Los estudios que han analizado las concentraciones sanguíneas de Mn en ambos sexos de Mn han reportado mayores concentraciones en mujeres. Concretamente, los hombres tenían un nivel de 176,8 nmol/L en comparación con 217,8 nmol/L en las mujeres (Clark et al., 2007). En sangre, la evidencia previa también muestra que las mujeres tienen niveles más altos de Mn en sangre que los hombre (Baldwin et al., 1999; Oulhote et al., 2014).

Mn presenta complejos mecanismos homeostáticos que regulan su absorción, disposición y excreción biliar. Estos mecanismos tienden a mantener los niveles óptimos de Mn circulante, que pueden variar según el sexo y la edad. De hecho, los estudios indican que los niveles de Mn en la sangre varían de manera diferente en hombres y mujeres a lo largo de la vida. Por ejemplo, los niveles son más altos durante la infancia que durante la edad adulta, y las mujeres tienen niveles ligeramente más altos que los hombres (Baldwin et al., 1999). La concentración de Mn en sangre aumenta durante el embarazo, y los niveles al final de la gestación son de tres a cuatro veces más altos que en mujeres no embarazadas (Zota et al., 2009). Como se ha mencionado anteriormente, los niveles más bajos de Fe aumentan la absorción de Mn, lo que podría explicar en parte los niveles más altos de Mn observados en las mujeres (Finley, 1999), posiblemente debido a la regulación positiva de los mecanismos de absorción gastrointestinal compartidos por el Fe y Mn (Oulhote et al., 2014). Como era de esperar, los niveles de Fe y Mn en sangre estaban inversamente correlacionados (Clark et al., 2007).

Molibdeno

Respecto a Mo, se han reportado recientemente altas concentraciones en plasma y orina en futbolistas varones en comparación con futbolistas femeninas (Toro-Román, et al., 2022). Este hecho podría facilitar la formación de ácido úrico, evitando el daño de ROS generados por XO en los procesos de isquemia-reperfusión generados durante el ejercicio físico de alta intensidad (Novotny & Peterson, 2018). En relación con lo anterior, las concentraciones de ácido úrico parecen ser más altas en hombres activos

(Huang et al., 2021) y atletas masculinos (Díaz Martínez et al., 2022). Además, las mujeres parecen ser menos susceptibles al estrés oxidativo, en particular las mujeres premenopáusicas, debido al papel antioxidante de los estrógenos (Kander et al., 2017).

Respecto a las concentraciones urinarias, los hombres tenían concentraciones más bajas de Mo en comparación con las mujeres (Lewis et al., 2016). Además, hubo una asociación inversa significativa entre la excreción urinaria de Mo y la densidad mineral ósea de la columna lumbar, así como una asociación con el cuello femoral.

Selenio

En lo referente a las concentraciones de Se, un estudio analizó las concentraciones séricas de Se en más de 13 sujetos franceses de diferentes rangos de edad y reportaron que las mujeres presentaban concentraciones séricas de Se significativamente inferiores a las de los hombres (Arnaud et al., 2006). Además, en ambos sexos, la concentración sérica de Se aumentaba con el consumo de alcohol, carne y pescado, y disminuía con el tabaquismo. Por otro lado, en las mujeres premenopáusicas, la concentración sérica de Se fue mayor en las usuarias de píldoras anticonceptivas que en las no usuarias. Estos resultados concuerdan con los reportados por otros autores (Bizerea-Moga et al., 2021; Clark et al., 2007).

Las diferencias entre sexos en las concentraciones de Se han sido atribuidas a las diferencias en el peso corporal, el estado hormonal y los hábitos alimentarios (Alfthan & Neve, 1996). También, el estado hormonal puede explicar en parte las diferencias observadas entre el sexo y la edad. De hecho, las mujeres posmenopáusicas muestran concentraciones de Se en suero más elevadas que las mujeres premenopáusicas (Arnaud et al., 2006). Sin embargo, como informó Verlinden et al., (1983), las mujeres que tomaban anticonceptivos orales presentaban concentraciones de Se en suero más altas que otros grupos premenopáusicos. Esta observación concuerda con la fuerte relación positiva entre los estrógenos plasmáticos y las concentraciones de Se en plasma (Smith et al., 2000).

Zinc

En cuanto a las concentraciones de Zn, autores previos mostraron mayores concentraciones de Zn plasmáticos en hombres, siendo mayor igualmente tras un test en tapiz rodante (Bordin et al., 1993). También se ha observado que, en condiciones de

hipertermia y normotermia, los hombres tuvieron pérdidas de Zn significativamente mayores por sudor en comparación con las mujeres (Tipton et al., 1993). Del mismo modo, las concentraciones séricas de Zn fueron superiores en hombres en una población japonesa (Wai et al., 2020), así como en una población noruega (Rahil-Khazen et al., 2000).

Las diferencias en las concentraciones de Zn entre sexos podría deberse a diferentes factores (Toro-Román et al., 2022). En primer lugar, a la diferencia de masa muscular entre sexos, ya que como se mencionó anteriormente, la mayor parte del Zn se encuentra en el músculo esquelético (Hernández-Camacho et al., 2020). En segundo lugar, específicamente en deportistas, al daño muscular producido durante el entrenamiento deportivo ya que genera una mayor liberación de Zn del músculo al plasma (Lukaski et al., 1984), y un aumento en la excreción urinaria de Zn (Cuthbertson et al., 1972)

1.11. Importancia de los elementos minerales en el deportista

Los cimientos del rendimiento deportivo son el entrenamiento y la nutrición/dieta del atleta, con estrategias nutricionales que brindan un papel de apoyo para mejorar la adaptación al entrenamiento (Beck et al., 2021). En línea con la evolución de los métodos para optimizar el entrenamiento, ha habido igualmente una evolución simultánea en las estrategias de nutrición para atletas.

Los EM están involucrados en cientos de procesos biológicos relevantes para el ejercicio y el rendimiento deportivo, como el almacenamiento/utilización de energía, el metabolismo de las proteínas, la inflamación, el transporte de oxígeno, los ritmos cardíacos, el metabolismo óseo y la función inmunitaria (Heffernan, Horner, De Vito, & Conway, 2019; Volpe, 2007). A continuación, se detallan la importancia de los diferentes EM descritos anteriormente sobre el organismo de los deportistas.

Cobre

Cu interviene como cofactor de enzimas que participan en una amplia gama de funciones fisiológicas especialmente vitales para los deportistas.

Cu forma parte del citocromo C oxidasa, enzima terminal en el transporte de electrones siendo importante para la producción de energía. El citocromo C oxidasa está compuesta por 13 subunidades proteicas. Contiene tres iones de Cu, necesarios para su funcionamiento. También contiene Zn, Mg y dos grupos hemo. La citocromo C oxidasa funciona como componente terminal de la cadena de transporte de electrones en la membrana mitocondrial interna, donde reduce el oxígeno molecular para formar agua, permitiendo así la producción de ATP (N. Robinson & Winge, 2010)

Por otro lado, la reducción de la SOD puede comprometer significativamente la defensa del organismo contra los daños causados por ROS. Los lípidos, las proteínas y el ADN son objetivos intracelulares para el ataque de las ROS. Las proteínas SOD conocidas eliminan ROS para proteger contra el daño oxidativo. Dos proteínas SOD, Cu/Zn-SOD y la SOD extracelular, necesitan Cu ya que Cu desempeña la función catalítica de SOD (Fattman et al., 2003; Jung et al., 2003).

Las mitocondrias pueden ser una fuente importante de las ROS que se elevan en el músculo durante el ejercicio. Como se ha comentado anteriormente, las mitocondrias convierten en superóxido alrededor del 1-5% del oxígeno consumido por la cadena de transporte de electrones. Durante el ejercicio, el consumo de oxígeno por parte de las células musculares aumenta sustancialmente, y si el porcentaje de oxígeno que se convierte en superóxido permanece igual, la generación de superóxido mitocondrial aumentará. Por lo tanto, atendiendo a lo anterior, la producción mitocondrial de ROS aumentará durante el ejercicio agudo y de corta duración causando daño oxidativo a las proteínas mitocondriales. Este hecho estimularía la acción defensiva de SOD en el estadio de la intermembrana mitocondrial. Aunque es probable que la generación mitocondrial de ROS contribuya al aumento de la producción de ROS musculares durante el ejercicio, la ingesta de Cu en la dieta puede afectar a la magnitud de las ROS mitocondriales (Bejma & Ji, 1999; Jackson et al., 1985).

Por otro lado, la lisil oxidasa, otra enzima dependiente del Cu, es necesaria para la reticulación de la elastina y el colágeno, para garantizar la resistencia de los tejidos conectivos para las funciones del sistema cardiovascular y respiratorio, entre otras (Gropper et al., 2003).

Cu también es necesario para prevenir la anemia, estado hematológico que disminuye el rendimiento (Gropper et al., 2003). Cu afecta al metabolismo del Fe, y un estado bajo de Cu puede reducir la absorción del Fe y dificultar su utilización en el organismo. Los atletas son especialmente sensibles a los efectos de la anemia, ya que el rendimiento del ejercicio depende de la máxima eficiencia de la capacidad de transporte de oxígeno y de la utilización del oxígeno en los músculos activos (Driskell & Wolinsky, 2005).

Aunque el conocimiento del papel exacto del Cu en la formación de las células sanguíneas es limitado, las observaciones en animales y humanos con déficits de Cu muestran conexiones prominentes entre el estado del Cu y la producción, supervivencia y función de las células sanguíneas. Estas funciones podrían verse comprometidas durante el ejercicio extenuante (Myint et al., 2018). La función principal de los eritrocitos es transportar oxígeno desde los pulmones a otros tejidos. El déficit fisiológico de oxígeno asociado al ejercicio físico de resistencia provoca un aumento de la expresión de la eritropoyetina, generando un aumento de la eritropoyesis y de la capacidad de oxígeno de la sangre (Lukaski et al., 1983). Sin embargo, la formación de eritrocitos depende en gran medida de la maduración de las unidades formadoras de colonias en la médula ósea. Cu desempeña claramente un papel en la maduración de las células sanguíneas en la médula ósea y una ingesta baja de Cu en la dieta puede perjudicar la formación de eritrocitos en respuesta al déficit de oxígeno creado por el ejercicio de resistencia (Driskell & Wolinsky, 2005).

Hierro

Fe es esencial para el metabolismo oxidativo y, por lo tanto, es especialmente importante para el atleta de resistencia cuyo rendimiento deportivo depende de una alta capacidad aeróbica (Hinton, 2014). Fe participa en el transporte y almacenamiento de oxígeno, el metabolismo energético y la cognición (McClung, 2019). La mayor parte del Fe en el músculo esquelético se encuentra dentro de las fibras musculares de contracción lenta que abundan en mioglobina, en las que se produce el metabolismo oxidativo (Buratti et al., 2015)

La hemoglobina y la mioglobina fijan el oxígeno mediante el anillo de porfirina del hemo. La hemoglobina de los glóbulos rojos transporta el oxígeno de los pulmones a

los músculos esqueléticos durante el ejercicio. Por otro lado, la mioglobina transfiere el oxígeno de los eritrocitos a las células musculares. La cadena de transporte de electrones, que es el paso final en la síntesis oxidativa de ATP, depende de citocromos que contienen hemo (A, A3, B, B5, C, C1) y de enzimas de Fe-S no hemo (NADH deshidrogenasa, succinato deshidrogenasa y ubiquinona-citocromo C reductasa) (Beard & Tobin, 2000).

Por lo tanto, el estatus de Fe afecta a la producción oxidativa de ATP, disminuyendo la dependencia del metabolismo anaeróbico de la glucosa para producir ATP (McKay et al., 2020). Dadas las funciones esenciales de estas proteínas que contienen Fe tanto en la utilización del oxígeno como en el metabolismo aeróbico, el estado del Fe puede afectar a la capacidad de ejercicio máximo y submáximo.

Los efectos del estado del Fe en la capacidad aeróbica se han demostrado mediante la comparación con deportistas con deficiencia de Fe con los que tienen un estado normal de Fe. Los seres humanos con anemia inducida experimentalmente también presentan reducciones del consumo máximo de oxígeno ($VO_{2\text{máx}}$), que son proporcionales a las concentraciones de hemoglobina (Hinton, 2014). En uno de los primeros ensayos de suplementación para examinar los efectos de la deficiencia de Fe en el rendimiento físico demostraron que la suplementación con Fe de mujeres anémicas mejoraba el estado de Fe, el rendimiento durante una prueba estandarizada en cinta rodante de varias etapas, reducía la frecuencia cardíaca durante el ejercicio y las concentraciones de lactato en sangre (Gardner et al., 1975).

También, en las últimas décadas, la evidencia científica ha puesto de manifiesto la estrecha relación entre el Fe y la función inmunitaria (Bonilla et al., 2022). En condiciones fisiológicas, las células inmunocompetentes capturan el ion Fe^{3+} circulante en plasma unido a la transferrina (Allden et al., 2019). Los macrófagos en reposo en un ambiente rico en Fe, aumentan la cantidad de estos receptores para tener depósitos de Fe, necesarios en su actividad fagocítica y citotóxica (es decir, eritrofagocitosis) (Hamilton et al., 1984).

Manganeso

La piruvato carboxilasa y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa son enzimas importantes en la vía gluconeogénica ya que catalizan el primer paso limitante de la vía gluconeogénica (Baly et al., 1986). Ambas enzimas parecen estar reguladas por diversos

factores, como la disponibilidad de sustrato y las hormonas (Baly et al., 1986). Mn es esencial para la actividad tanto de la piruvato carboxilasa y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa. La piruvato carboxilasa es una metaloenzima de Mn que contiene 4 moles de Mn por enzima, y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa es una enzima activada por Mn. Schramm propuso en 1982 que los flujos intracelulares en las concentraciones de Mn libre dentro de la célula pueden actuar como una señal reguladora y afectar a la actividad de enzimas como la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (Schramm, 1982).

Mn también afecta al metabolismo de los carbohidratos a través de un efecto sobre la producción, secreción o degradación de la insulina. Las bases bioquímicas de los cambios en el metabolismo y la acción de la insulina inducidos por la deficiencia de Mn no se han definido claramente (Driskell & Wolinsky, 2005) .

Debido a que ROS son importantes para las actividades celulares normales, la modulación de las concentraciones basales de ROS, ya sea por una mayor producción de ROS de fuentes endógenas, agentes exógenos generadores de ROS, disminución de la capacidad antioxidante celular o una combinación de los tres, tendrá un efecto dramático sobre la célula (Holley et al., 2011). La MnSOD es la principal enzima desintoxicante de ROS en las células debido a su localización en las mitocondrias. La función o expresión alterada de MnSOD puede tener consecuencias notables en la función mitocondrial y la salud general de las células debido al daño oxidativo de varios procesos metabólicos localizados en las mitocondrias, lo que lleva al desarrollo de diferentes enfermedades (Holley et al., 2011).

Los complejos mitocondriales I, II y III son fuentes y víctimas potenciales de superóxidos, en parte, debido a la presencia de Fe y S (Holley et al., 2011). La inactivación de los complejos de transporte de electrones por ROS puede estar involucrada en condiciones patológicas tan diversas como el daño celular o el desarrollo y progresión de varios trastornos neurológicos (Erikson & Aschner, 2003). MnSOD es importante para la eliminación del superóxido generado por los complejos de la cadena de transporte de electrones y puede ser importante para prevenir la inactivación de estos complejos inducida por ROS. La eliminación de MnSOD en innumerables sistemas modelo demuestra una actividad alterada de los complejos I, II y III (Holley et al., 2011).

El estrés fisiológico, incluido el ejercicio, aumenta la actividad MnSOD en el miocardio y, por lo tanto, parece que protege contra las arritmias, el aturdimiento del

miocardio y el infarto inducidos por la isquemia-perfusión. Los diferentes hallazgos indican que el Mn es importante para la protección contra el daño oxidativo inducido por el entrenamiento de alta intensidad y promueve la recuperación del entrenamiento (Heffernan, Horner, De Vito, & Conway, 2019; Speich et al., 2001)ma:

Molibdeno

Mo tiene relativamente poco interés para las personas físicamente activas. Es un elemento que cambia fácilmente su estado de oxidación y, por lo tanto, puede actuar como agente de transferencia de electrones en reacciones de oxidación-reducción. Esta es la base para que las molibdoenzimas catalicen la hidroxilación de varios sustratos utilizando el oxígeno del agua (Novotny, 2011).

Como se ha comentado anteriormente, la enzima XO tiene un papel importante en la producción de ácido úrico en las situaciones de isquemia/reperfusión que ocurren durante el ejercicio físico. También, la XDH cataliza la transformación de la hipoxantina a xantina y esta última en ácido úrico (Chan et al., 1998). Este proceso bioquímico aumenta en el metabolismo de los deportistas, especialmente entre los ejercicios anaeróbicos.

La necesidad orgánica de producir estas enzimas en atletas puede ser la razón de las concentraciones más altas de Mo, ya que sugieren que la enzima protege a las células contra los radicales libres producidos en las células musculares en funcionamiento (Maynar et al., 2022). Las concentraciones aumentadas de Mo facilitarían la formación de ácido úrico y disminuirían el daño causado por los aniones superóxido generados por la XO en los procesos de isquemia-reperfusión, situación inducida por actividades musculares de alta intensidad (Maynar et al., 2018).

Existen algunas pruebas limitadas de que el Mo puede tener efectos miméticos de la insulina (Rovenko et al., 2014). Tratamientos en ratas con molibdato de Na (100 mg / kg peso corporal por día) revirtió significativamente los cambios en las enzimas que metabolizan los carbohidratos (tanto la oxidación como el almacenamiento) y las concentraciones reguladas de azúcar en la sangre en ratas con diabetes inducida (Panneerselvam & Govindaswamy, 2002).

Selenio

El papel biológico principal del Se radica en dos propiedades fundamentales: (i) la función antioxidante protectora del daño oxidativo; y (ii) inmunomodulación. Estas propiedades de Se pueden ser potencialmente aplicables para mejorar el rendimiento deportivo y la recuperación del entrenamiento entre individuos físicamente activos (Fernández-Lázaro et al., 2020). La mayor parte de la investigación dedicada a la influencia de Se durante el ejercicio físico se ha centrado en el papel del Se en la enzima antioxidante GSH-Px que, utilizando el GSH, convierte el H_2O_2 en agua y la glutatión reductasa (Margaritis et al., 2005).

Durante el ejercicio físico, el consumo de oxígeno aumenta entre 10 y 15 veces por encima de los valores de reposo y puede desencadenar una producción elevada de (ROS). Bajo condiciones fisiológicas, los sistemas antioxidantes (sistemas enzimáticos y no enzimáticos) neutraliza los efectos nocivos de ROS (Powers & Hamilton, 1999). La familia de las selenoproteínas está codificada por 25 genes (Fernández-Lázaro et al., 2020), y dos de estos genes codifican la enzima GSH-Px y la enzima glutatión reductasa. Estas enzimas comprenden el ciclo redox del GSH, probablemente un sistema antioxidante fisiológico esencial (Nikolaidis & Jamurtas, 2009). El GSH sirve como sustrato de GSH-Px para evitar la degradación de las estructuras celulares, reduciendo la acción de los radicales libres y los peróxidos lipídicos. La glutatión reductasa permite mantener concentraciones de glutatión en la célula, no solo para ser utilizado por la GSH-Px en la eliminación de peróxidos sino también para detoxificar ROS.

En circunstancias de consumo elevado de oxígeno, como el ejercicio intenso, las ROS pueden exceder la capacidad antioxidante del cuerpo para neutralizarlas (Baltaci et al., 2016). Probablemente, el riesgo de daño celular causado por los radicales libres pueda verse atenuado por la acción de las enzimas antioxidantes del músculo esquelético. Los radicales libres pueden causar lesiones en las membranas celulares del músculo esquelético (Nikolaidis & Jamurtas, 2009).

En los tejidos que experimentan isquemia durante el ejercicio, la reperusión y la reoxigenación contribuyen a una explosión de producción de ROS. Cuando los ácidos grasos poliinsaturados de la biomembrana se ven afectados por las ROS en condiciones aeróbicas, se produce una reacción en cadena peroxidativa que provoca un aumento de la

excreción de etano y pentano en el aire espirado y un aumento de los niveles de malondialdehído (Driskell & Wolinsky, 2005).

Zinc

Los primeros informes directos de un vínculo entre el Zn y el rendimiento físico provinieron de estudios en animales. Richardson y Drake informaron que proporcionar suplementos de Zn a ratas resultó en un tiempo más largo para la fatiga muscular en las ratas suplementadas con Zn (Richardson & Drake, 1979). Posteriormente, Krotkiewski et al., realizaron un ensayo en humanos y observaron que la suplementación con Zn dio como resultado una mayor fuerza y resistencia muscular (Krotkiewski et al., 1982).

Se ha demostrado que el Zn desempeña un papel importante en la miogénesis in vitro (Hernández-Camacho et al., 2020). En el músculo esquelético de ratones se demostró que la adición de Zn en el medio de crecimiento promovió la proliferación y activación de mioblastos (Mnatsakanyan et al., 2018), así como la diferenciación y maduración de miofibras (Mnatsakanyan et al., 2018). Esto conlleva a plantear la interesante posibilidad de que la liberación de Zn del músculo tras el daño muscular in vivo podría contribuir a la activación y proliferación de células satélite musculares para reparar el daño (Ohashi et al., 2015).

Es sabido que el ejercicio físico activa diferentes vías metabólicas que modulan los niveles de muchos metabolitos y minerales, incluido el Zn (Hernández-Camacho et al., 2020). El ejercicio físico agudo, tanto de fuerza muscular como de resistencia aeróbica genera cambios en las concentraciones de Zn (King et al., 2001; Maynar et al., 2019; Toro-Román, et al., 2022). Estos cambios también se han observado durante el periodo de recuperación, por lo que podría estar relacionado con los procesos de reparación muscular que intervienen durante esta fase (Chu et al., 2016).

La realización de actividad física extenuante, como se ha indicado anteriormente, aumenta la demanda de oxígeno entre 10 y 15 veces en comparación con las condiciones de reposo. El elevado consumo de oxígeno mitocondrial resultante y el flujo de transporte de electrones producen un estrés oxidativo que conduce a la generación de radicales libres y como consecuencia de lo anterior a una posible peroxidación de lípidos. Los radicales libres son mediadores de la inflamación y el daño muscular (Micheletti et al., 2001). Zn tiene un papel importante en las defensas celulares antioxidantes, siendo un elemento estructural de la enzima SOD (Micheletti et al., 2001).

Las propiedades antioxidantes del Zn se han relacionado con su papel como componente integral de SOD, como estabilizador de las membranas celulares, como protector de los grupos tiol de las proteínas contra la oxidación y como competidor del Cu y Fe para unirse a los ligandos de oxígeno reduciendo el potencial de producción de radicales hidroxilos a partir de los fosfolípidos de membrana. En particular, el entrenamiento parece aumentar la abundancia de ARNm de SOD en tejidos aeróbicos como el hígado, el corazón y la porción profunda del músculo vasto lateral (Gore et al., 1998).

En general, los atletas hipozincémicos tienen un índice de rigidez de eritrocitos más alto, siendo más susceptibles a lesiones en el lecho circulatorio capilar provocando posibles hemólisis (Ohno et al., 1990). Además, la producción de potencia durante el rendimiento es más baja y tienen un mayor aumento de lactato sanguíneo durante el ejercicio, presentando un umbral anaeróbico más bajo (Lukaski et al., 1996).

1.12. Ingestas de elementos minerales en deportistas

La baja ingesta de micronutrientes en los atletas puede resultar en deficiencias que afectan la salud y el rendimiento, en particular cuando esto ocurre durante períodos de tiempo más prolongados (Wardenaar et al., 2017). Algunos estudios informan que muchos atletas no cumplen con las recomendaciones de micronutrientes (Heaney et al., 2010; Julian-Almarcegui et al., 2013). Cambios y variaciones en los patrones alimentarios a lo largo del tiempo, mayor disponibilidad de suplementos nutricionales y puntos de vista cambiantes con respecto a los requisitos justifican la necesidad de un seguimiento regular de la ingesta dietética hacia los atletas (Wardenaar, Brinkmans, et al., 2017). Los rápidos avances en las herramientas de valoración nutricional facilitan el estudio de las ingestas nutricionales en grandes grupos de atletas (Baker et al., 2014).

No existe consenso sobre si los requerimientos de micronutrientes son diferentes en los atletas en comparación con la población general (Potgieter, 2013). En la práctica, actualmente se suele recomendar a los atletas que alcancen las IDR generales recomendadas para todos los micronutrientes mediante el consumo de una dieta diversa para garantizar la adecuación de los nutrientes. En teoría, la práctica de ejercicio físico podría generar un aumento de la necesidad de la ingesta de micronutrientes en atletas (Manore, 2000). Desafortunadamente, los atletas toman malas decisiones dietéticas ya

que la ingesta de micronutrientes es más baja de lo esperado (Manore, 2000), debido principalmente a una baja densidad de micronutrientes (Heaney et al., 2010).

Los atletas usan con frecuencia suplementos nutricionales aunque el uso puede ser irregular y variar con el tiempo (Wardenaar et al., 2017). Los suplementos dietéticos comprenden principalmente suplementos de micronutrientes como vitaminas y minerales. Estos suplementos pueden promover la salud general de los atletas a través de la prevención y el tratamiento de las deficiencias de la ingesta de nutrientes mediante los alimentos. Los productos de nutrición deportiva contienen principalmente macronutrientes, como carbohidratos y proteínas, pero también pueden contener micronutrientes. Estos productos de nutrición deportiva incluyen, entre otros, bebidas deportivas, geles, bebidas de recuperación y barras deportivas. Finalmente, la categoría de suplementos ergogénicos, como la creatina y la cafeína, puede contener micronutrientes adicionales, aunque estos productos también están disponibles como productos de una sola sustancia bioactiva (Wardenaar et al., 2017). Por lo tanto, los suplementos nutricionales podrían ser una fuente importante de micronutrientes.

Aunque muchos atletas usan múltiples suplementos nutricionales a la vez, esto no garantiza necesariamente una ingesta dietética adecuada de micronutrientes (Ceelen, et al., 2017). Además, los informes de casos han demostrado que algunos atletas consumen dosis muy altas de ciertos micronutrientes que exceden la IT, lo que posiblemente resulte en una reducción de la salud y el rendimiento a largo plazo (Carlsohn et al., 2011).

A continuación, se desarrolla la ingesta de los diferentes EM estudiados en deportistas de diferentes modalidades deportivas.

Cobre

Es sabido que la ingesta de alimentos es la principal fuente para la obtención de Cu (Kabata-Pendias & Szeke, 2015). En deportistas femeninas, las ingesta de Cu eran superiores en las de modalidades de resistencia (corredoras de campo a través y nadadoras), siendo más bajas en modalidades mixtas (fútbol y beisbol) (Gropper et al., 2003). Otro estudio realizado en mujeres deportistas observaron que las jugadoras de baloncesto ($2,45 \pm 1,63$ mg/día) y las corredoras de fondo ($2,29 \pm 2,14$ mg/día) ingerían mayores cantidad de Cu en comparación con las jugadoras de balonmano y voleibol (Nuviala et al., 1999). En jugadoras universitarias de hockey hielo se reportaron ingestas media durante 7 días de $0,9 \pm 0,3$ mg/día (Vermeulen et al., 2021). Otro estudio que

observó los patrones dietéticos y evaluó los conocimientos nutricionales de triatletas recreativos descubrieron que, durante un periodo de entrenamiento de 11 semanas, las mujeres consumían una media de $1,5 \pm 0,5$ mg de Cu/día y los hombres $1,8 \pm 0,7$ mg/día (Worme et al., 1990). En un estudio de corredores de ultramaratón se informó que, sin tener en cuenta el uso de suplementos, los atletas ingerían 1,8 mg/día; cuando los autores tuvieron en cuenta los suplementos, el valor aumentó a 2,9 mg/día (Singh et al., 1993).

Hierro

La IDR de Fe es de 8 mg para hombres y 18 mg para mujeres (Sim et al., 2019). La mayor ingesta en mujeres se atribuye a las pérdidas de Fe asociadas a la menstruación (McClung, 2012). Sin embargo, debido a los mecanismos que afectan a la pérdida de Fe como resultado del ejercicio físico, es probable que los atletas tengan un requerimiento de Fe más alto que la población general. A pesar de consumir IDR de Fe (13–18 mg/día), se demostró que un bloque de entrenamiento intenso reduce las concentraciones de ferritina entre un 25–40 % en un grupo de atletas de resistencia de nivel internacional (McKay et al., 2019). Por lo tanto, las recomendaciones actuales sobre la ingesta de Fe para la población general pueden no ser suficientes para los atletas, lo que respalda el desarrollo de recomendaciones específicas para atletas (Thomas et al., 2016).

Los requerimientos de Fe para todas las atletas femeninas pueden incrementarse hasta en un 70% del requerimiento promedio estimado (Thomas et al., 2016). Los atletas que corren el mayor riesgo, como son los corredores de fondo, los atletas vegetarianos o los donantes de sangre regulares, deben someterse a exámenes de detección con regularidad e ingerir una ingesta de Fe superior a IDR (Thomas et al., 2016).

Se observaron ingestas inadecuadas de Fe en más de la mitad de las atletas femeninas, con ingestas por debajo de las recomendaciones en la fase preparatorio y competitiva en deportistas de diferentes modalidades. El Fe fue uno de los micronutrientes con menor porcentaje de desajuste para los hombres, no así para las mujeres, que se encontraban por debajo de los valores recomendados (Nunes et al., 2018). De manera similar al estudio anterior, una investigación realizada en Brasil también mostró que la ingesta insuficiente de Fe era mayor en las mujeres que en los hombres (de Sousa et al., 2008) Por otro lado, atletas paralímpicos ingerían Fe por encima del RDA. Sin embargo, diferenciando entre sexo, las mujeres ingerían el 70% de la RDA mientras que los hombres era 172% de la RDA (Madden et al., 2017). Un estudio que tuvo como

muestra futbolistas españoles jóvenes evaluaron la ingesta dietética y el estado nutricional observando que los jugadores consumían una cantidad adecuada de Fe. Sin embargo, el 48% de estos deportistas presentaban deficiencia de Fe (sin anemia) (Iglesias-Gutiérrez et al., 2005).

Manganeso

Respecto a la ingesta de Mn, atletas paralímpicos no llegaron a ingerir más del 50% de IDR, tanto hombres como mujeres (Jeoung & Kim, 2021). El consumo diario de Mn fue un 10% superior al IDR en 45 finalistas de maratón amateurs brasileños de entre 30 a 55 años (Passos et al., 2019). Personas que realizaban entre 4 y 7 horas/semanales de práctica deportiva moderada y ciclistas profesionales de alto nivel ingirieron 3115,4 y 3156 µg/día respectivamente (Maynar et al., 2020). Por otro lado, grupos de corredores de larga distancia, judokas y futbolistas ingirieron 3367, 3200 y 2998 µg/día de media (Maynar et al., 2018). Por otro lado, al igual que en los estudios previos, atletas de larga distancia ingirieron una media de 3216,8 µg/día. Por último, la ingesta de Mn fue superior en kayakista en comparación con un grupo control (3,44 mg vs 2,09 mg) (Teixeira et al., 2009). El ejercicio intenso puede aumentar la necesidad de Mn ya que se ha observado que una carrera de campo través de 30 km aumenta la excreción intestinal e induce un balance negativo (Nasolodin et al., 2001).

Molibdeno

En cuanto a la ingesta de Mo, un grupo de atletas paralímpicos ingirió menos del 10% de la IDR llegaron ni al 10% de RDA de la ingesta de Mo, tanto hombres como mujeres (Jeoung & Kim, 2021). Similar a Mn, grupos de corredores de larga distancia, judokas y futbolistas consumían 232, 212 y 224 µg/día de media (Maynar et al., 2018). Por otro lado, las ingestas media de Mo fue menor de IDR, concretamente 44,5% de RDA en luchadores (Daneshvar et al., 2013). En otro estudio, atletas de fondo no modificaron significativamente la ingesta de Mo tras 6 meses de entrenamiento (0,27 mg/día y 0,33 mg/día) (Maynar et al., 2019).

Selenio

La ingesta excesiva de Se podría ser perjudicial. Sin embargo, cantidades inadecuadas podrían aumentar el estrés oxidativo inducido por el ejercicio físico (Heffernan, 2019). Previamente, se informó que los atletas requieren una mayor ingesta

de Se para aumentar la funcionalidad y la actividad de los sistemas antioxidantes (Margaritis et al., 2005). Además, la respuesta adaptativa del sistema antioxidante endógeno al entrenamiento físico también depende de factores nutricionales (Margaritis et al., 2003).

Un estudio realizado en 553 atletas de élite observó deficiencias en la ingesta de Se (Wardenaar et al., 2017). Sin embargo, en otro estudio se informó que, de 304 atletas representantes de los equipos nacionales portugueses en 13 deportes (ciclismo, atletismo, triatlón, gimnasia, rugby, baloncesto, voleibol, judo, natación, béisbol, balonmano, boxeo y esgrima), solo el 1% no ingerían las cantidades recomendadas de Se (de Sousa et al., 2016). En un grupo de futbolistas la ingesta de Se fue de media 101,2 ($\mu\text{g}/\text{día}$), superior a un grupo de personas sedentaria (97,3 $\mu\text{g}/\text{día}$) (Toro-Román et al., 2022). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en las ingesta de Se entre deportistas de diferentes niveles de entrenamiento, siendo ligeramente superior en los deportistas con un nivel medio de entrenamiento (102,4 $\mu\text{g}/\text{día}$) (Maynar et al., 2020).

Zinc

Las ingestas de Zn suelen ser adecuadas generalmente en deportistas. La participación del Zn en el metabolismo energético y el incremento de las pérdidas de Zn durante el esfuerzo físico destacan la necesidad de una ingesta adecuada de Zn en la dieta para aquellos que son físicamente activos (Chu & Samman, 2014),

Un metaanálisis publicado en 2018 reportó que los atletas consumieron una mayor ingesta de Zn en la dieta en comparación con una población de control (2,57 mg/día) (Chu et al., 2018). En el metaanálisis anterior también se informó que la ingestas dietéticas medias de Zn de todos los grupos de atletas estaban por encima de la IDR de Zn de 8 mg/día para las mujeres y 14 mg/día para los hombres (Chu et al., 2018).

Wardenaar et al., (2017) reportaron en 553 atletas de élites alemanes que el 100% de los participantes ingerían Zn por encima de lo recomendado (6 μg). Otros autores reportaron en nadadores ingestas medias de 15 mg de Zn (De Carvalho et al., 2012), siendo superior también a lo recomendado. La ingesta dietética de Zn (mg/día) en triatletas fue 16,7 en atletas con bajo porcentaje graso y 12,0 en triatletas con un % graso elevado (Bazzarre et al., 1989). Por otro lado, la ingesta en mujeres entrenada fue ligeramente superior a las ingestas de mujeres no entrenadas (10,3 mg vs 10,0 mg) (Deuster et al., 1989). Por último, se ha reportado que grupos con diferentes niveles de

ejercicio reportaron una ingesta media de (17,7 mg/día), superior a una población sedentaria (14,1 mg/día) (Fogelholm et al., 1991).

Sin embargo, otros autores reportaron que las mujeres que practicaban deporte recreativo ingerían menos cantidad de Zn en comparación con un grupo control (Lloyd et al., 1992). Informes dietéticos realizados durante siete días revelaron que ningún grupo de mujeres atletas (kárate, balonmano, baloncesto y corredoras de fondo) alcanzó la ingesta mínima recomendada de Zn (12 mg/día), aunque sus valores fueron superiores a los del grupo control (Nuviala et al., 1999). Por último, la ingesta de Zn fue superior en kayakista en comparación con un grupo control (22,5 mg vs 14 mg) (Teixeira et al., 2009)

1.13. Consecuencias del déficit nutricional de los elementos minerales en el rendimiento deportivo

Las publicaciones que informan de deficiencias de elementos minerales en diversas circunstancias clínicas en niños y adultos, con repercusiones negativas en los resultados clínicos, son cada vez más numerosas (Akşit et al., 2013; Medeiros, 2016; Zemrani & Bines, 2020). Las manifestaciones clínicas de las deficiencias de elementos minerales son inespecíficas y pueden afectar a todos los órganos y sistemas. Las deficiencias de oligoelementos pueden deberse a uno o a una combinación de mecanismos que incluyen un aporte dietético insuficiente, un aumento de las pérdidas con o sin malabsorción y un aumento de las necesidades dietéticas (Zemrani & Bines, 2020).

Las encuestas dietéticas realizadas a deportistas informan a menudo de una ingesta dietética inadecuada o inapropiada en comparación con las recomendaciones dietéticas de referencia para la nutrición deportiva o la población general (Heaney et al., 2010). Esto se observa sistemáticamente en diferentes deportes (Heaney et al., 2010).

En los siguientes párrafos se desarrollará las consecuencias del déficit nutricional de los EM estudiados sobre el rendimiento deportivo.

Cobre

La deficiencia de Cu en deportistas podría deberse en mayor medida a las ingestas insuficientes de Cu, malabsorción y a una posible excreción aumentada debido al ejercicio físico (Altarelli et al., 2019).

La deficiencia de Cu conduce a anomalías hematológicas, inmunológicas, cardiovasculares y esqueléticas que pueden afectar al rendimiento deportivo (Halfdanarson et al., 2008). La fatiga es una consecuencia de la deficiencia de Cu en deportistas ya que el déficit de Cu genera una posible anemia.

La hematopoyesis normal está alterada en un estado deficiente de Cu. Este estado genera un estado de anemia que puede ser microcítica, normocítica o macrocítica (Myint et al., 2018). El mecanismo de la anemia en la deficiencia de Cu podría explicarse por la alteración de las enzimas ferroxidasas (hefestina y ceruloplasmina), lo que provoca una alteración de la síntesis de hemoglobina (Myint et al., 2018).

Cu es importante en la homeostasis del Fe. La homeostasis del Fe está regulada principalmente por la expresión de hepcidina y la eritropoyesis. Un aumento en la eritropoyesis suprime la producción de hepcidina. La anemia de cualquier etiología estimula la eritropoyesis a través del factor 2 alfa inducible por hipoxia, que estimula la expresión del transportador de metales divalentes duodenales ubicado en la membrana apical de los enterocitos para aumentar la absorción de Fe (Myint et al., 2018).

Fe usa la ferroportina para cruzar a los vasos sanguíneos y luego se une a la transferrina para producir glóbulos rojos maduros. Alternativamente, Fe se absorbe en los hepatocitos para su almacenamiento. La eritropoyesis disminuye la expresión de hepcidina, que libera Fe del enterocito (Linder & Hazegh-Azam, 1996). Cu es un componente importante de las enzimas ferroxidasa, hefestina y ceruloplasmina. La hefestina se encuentra en la mucosa duodenal y ayuda en la oxidación de Fe⁺², liberado por la ferroportina de los enterocitos, a Fe⁺³. Fe⁺³ se une a la apotransferrina y entra en la circulación sanguínea, y finalmente se une a la transferrina, jugando un papel importante en la síntesis de hemoglobina (Myint et al., 2018).

La ceruloplasmina es esencial para la transferencia de Fe de los monocitos-macrófagos al plasma (Bleackley et al., 2009). La deficiencia de Cu conduce al deterioro de las enzimas ferroxidasa, lo que provoca un deterioro de la síntesis de hemoglobina.

Por otro lado, en condiciones de deficiencia de Cu, varios componentes del sistema de defensa oxidante pueden verse comprometidos. Las actividades de CuZn-SOD y ceruloplasmina son sensibles al Cu tisular, ya que estas enzimas requieren Cu como cofactor catalítico. Una deficiencia de Cu también puede disminuir las actividades de

ciertas enzimas del sistema de defensa oxidante que no contienen Cu, incluidas la catalasa y la glutatión peroxidasa dependiente de Se (Uriu-Adams & Keen, 2005).

Se ha demostrado que la deficiencia de Cu disminuye la actividad de la SOD y aumenta los aniones superóxido. Además de la disminución de la actividad de SOD, se postula que la disminución de la actividad de la citocromo C oxidasa inducida por la deficiencia de Cu y la inactivación oxidativa del complejo I (NADH: ubiquinona oxidorreductasa) contribuyen al aumento de la producción de ROS (Uriu-Adams & Keen, 2005).

Hierro

Dada la alta incidencia de deficiencia de Fe reportada en atletas, es probable que el ejercicio físico y/o la disponibilidad dietética/energética puedan influir en el metabolismo del Fe en este colectivo (Sim et al., 2019). Revisiones anteriores que exploran los mecanismos subyacentes de la deficiencia de Fe en atletas han considerado perspectivas como la hemólisis exacerbada por las fuerzas de impacto del suelo y la contracción muscular, hematuria, hemorragia gastrointestinal, sudoración y respuestas inflamatorias/hormonas reguladoras del Fe (hepcidina) (Peeling et al., 2008).

Atendiendo a lo anterior, los atletas tienden a tener reservas de Fe comprometidas. Como tal, es posible que se requieran estrategias para aumentar rápidamente las reservas de Fe para superar este problema (Jadwiga Malczewska et al., 2001). Es esencial que los profesionales conozcan y evalúen la multitud de factores que contribuyen a la deficiencia de Fe cuando trabajan con atletas con altas demandas fisiológicas.

Las manifestaciones físicas de la deficiencia de Fe incluyen los síntomas genéricos de la anemia como cansancio y sensación general de falta de energía (Beard, 2001). Por otro lado, las manifestaciones fisiológicas de la deficiencia de Fe se han observado en la función inmunológica, el rendimiento de la termorregulación, el metabolismo energético y el rendimiento en ejercicio físico o laboral (Beard, 2001).

Los datos experimentales y clínicos sugieren que existe un mayor riesgo de infección durante la deficiencia de Fe. Fe es esencial para la diferenciación celular adecuada y el crecimiento celular. Además, Fe es un componente crítico de las enzimas

generadoras de peróxido y las enzimas generadoras de óxido nítrico que son fundamentales para el funcionamiento enzimático adecuado de las células inmunitarias (Sim et al., 2019).

Hay varios mecanismos posibles que podrían explicar los efectos de la deficiencia de Fe en el sistema inmunológico. La síntesis de ADN, iniciada por la enzima ribonucleótido reductasa que contiene Fe, es un factor limitante de la velocidad en la replicación celular y puede verse limitada por la deficiencia de Fe. El control de la diferenciación de las células está influenciado por Fe disponible y el transporte de Fe hacia las células (Beard, 2001). Autores previos informaron una reducción en la producción de interleucina-2 por linfocitos activados en sujetos con deficiencia de Fe (Galan et al., 1992). La liberación de interleucina-2 es fundamental para la comunicación entre los subconjuntos de linfocitos y las células asesinas naturales.

El letargo y la apatía son síntomas que se observan con frecuencia en la anemia grave por deficiencia de Fe y quizás en la anemia en general. Sin embargo, desde varias décadas se sabe que la deficiencia de Fe está asociada con una disminución de la actividad física (Dallman, 1982; Finch & Huebers, 1982).

Las manifestaciones de agotamiento de Fe corporal esencial también tienen efectos profundos en el músculo esquelético, con una disminución significativa en el contenido de Fe-S mitocondrial (Maguire et al., 1982), contenido de citocromo mitocondrial (McKay et al., 1983) y la capacidad oxidativa mitocondrial total (Davies et al., 1982). El piruvato y la malato oxidasa se redujeron al 35 % de lo normal en el músculo con deficiencia de Fe. El rendimiento durante el ejercicio físico en el momento de la anemia severa por deficiencia de Fe disminuyó un 80% en un protocolo de ejercicio breve e intenso en comparación con un estatus normal de Fe (Willis et al., 1987).

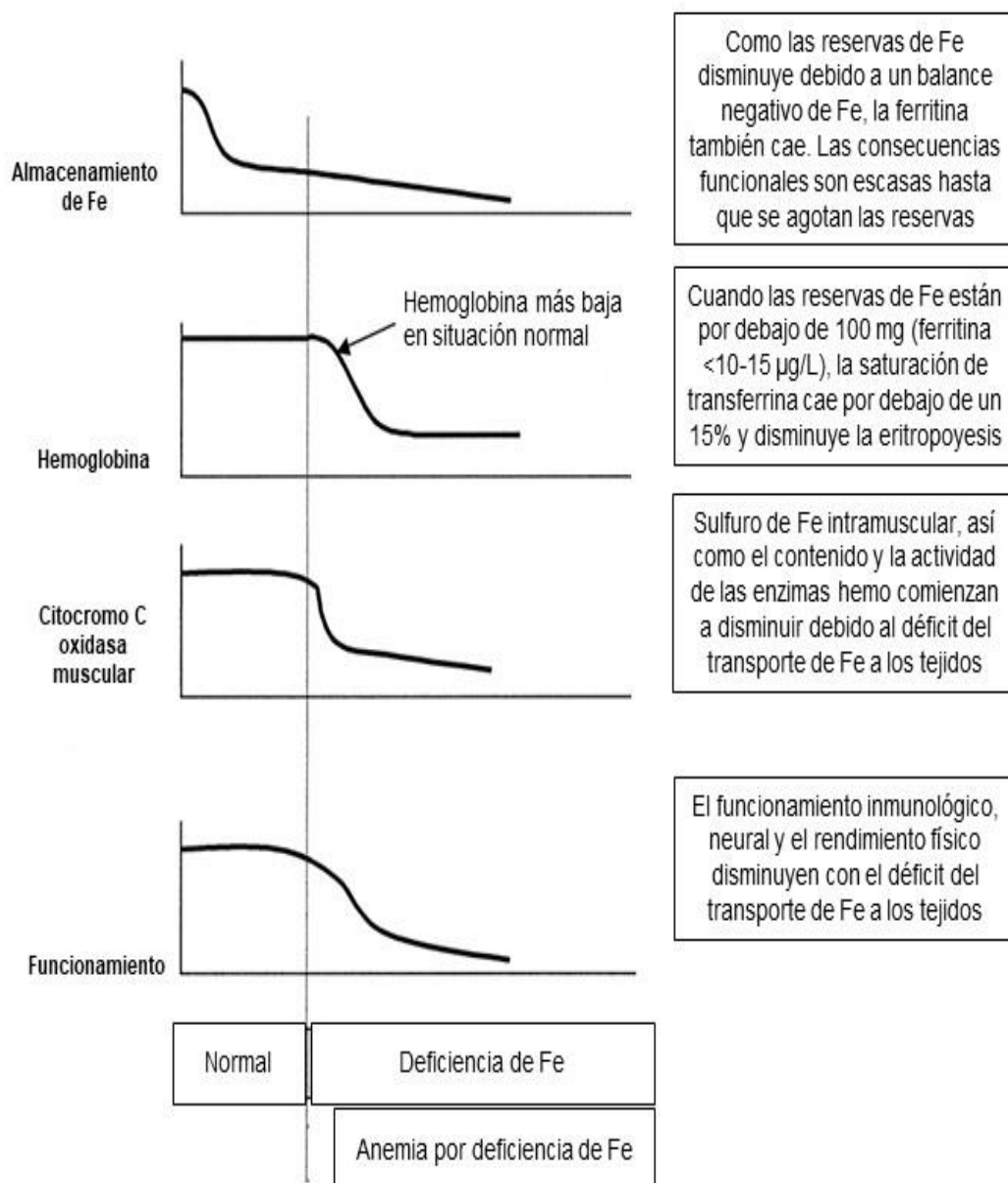


Figura 14. Diagrama de los cambios en las reservas funcionales de hierro en distintas fases del estado del hierro. Resultados funcionales y gravedad de la deficiencia de Fe. Adaptado de Beard, (2001).

Es importante destacar que Dallman estableció una diferencia entre la anemia y la deficiencia de Fe tisular (Figura 14) (Dallman, 1982). La anemia limita la capacidad del individuo para suministrar oxígeno al músculo en ejercicio, mientras que la deficiencia de Fe tisular limita la capacidad del individuo para realizar el metabolismo oxidativo (Dallman, 1986, 1982). Las enzimas que contienen Fe en el músculo esquelético se alteran en la deficiencia de Fe y promueven una mayor tasa de producción de lactato en el músculo (Beard, 2001).

Manganeso

La deficiencia de Mn en atletas podría alterar el metabolismo de los lípidos y los carbohidratos y causar una tolerancia anormal a la glucosa (Li & Yang, 2018).

Por otro lado, la glutamina sintetasa es la manganoproteína más abundante en el organismo. Se expresa predominantemente en los astrocitos, donde convierte el glutamato en glutamina. Debido a que la glutamina sintetasa contiene cuatro iones Mn por octámero (Avila et al., 2013), Mn regula la actividad de la glutamina sintetasa. Mn insuficiente aumenta el transporte de glutamato, la señalización glutamatérgica y la excitotoxicidad (Avila et al., 2013), influyendo en el rendimiento del deportista.

La arginasa regula la eliminación de amoníaco del cuerpo al convertir la L-arginina, sintetizada a partir del amoníaco, en L-ornitina y urea como parte del ciclo de la urea. Además, en el cerebro, la L-arginina se convierte en óxido nítrico por la óxido nítrico sintetasa neuronal. La deficiencia de Mn podría influir en el ciclo de la urea incrementando los niveles de amoniaco en el organismo (Li & Yang, 2018).

Por último, la deficiencia de Mn se ha asociado con una masa ósea reducida, posiblemente debido a su papel en la formación de hormonas reguladoras óseas y algunas enzimas involucradas en el metabolismo óseo. Por lo tanto, los atletas deben asegurar una ingesta adecuada de Mn con el fin de apoyar otros procesos metabólicos importantes para la salud ósea (Sale & Elliott-Sale, 2019).

Molibdeno

Existe poca información sobre la influencia del déficit de Mo en el rendimiento deportivo. Autores previos reportaron que durante el déficit de Mo una gran parte de parte de S se retenía como sulfito en sangre o se excretaba en la orina como tiosulfato, un metabolito anormal formado a partir del sulfito por una vía alternativa. Este hecho podría significar un bloqueo en la oxidación del sulfito a sulfato. Los bajos niveles séricos y urinarios de ácido úrico se asociaron con una excreción urinaria excesiva de hipoxantina y xantina, lo que sugiere que existía un bloqueo similar en la conversión de estas purinas en ácido úrico. Se ha sugerido que el ácido úrico es una molécula antioxidante importante (González et al., 2008; Pradas et al., 2020). Las propiedades antioxidantes del ácido úrico se han atribuido a la capacidad de reaccionar con oxidantes biológicos (Deminice et al.,

2010). Por lo tanto, la deficiencia de Mo podría disminuir las concentraciones de ácido úrico y reducir en parte la capacidad antioxidante del organismo.

Selenio

En los atletas, diferentes factores etiológicos como la pérdida gastrointestinal, el aumento de la pérdida de Se a través del sudor y la orina, la malabsorción intestinal y la desnutrición pueden explicar el agotamiento del almacenamiento de Se, puede conducir a deficiencias en Se (Fernández-Lázaro et al., 2020).

Como resultado de estudios epidemiológicos, se concluyó que la deficiencia moderada de Se en la dieta diaria influye en el desarrollo de enfermedades resultantes de una inmunidad reducida (Kieliszek et al., 2022).

Se, a través de la glutatión reductasa y otras selenoproteínas, controla el funcionamiento de sustancias caracterizadas por su actividad antioxidante, desempeñando así un papel clave en la protección del organismo. La participación de Se en las rutas metabólicas asociadas con la protección de las células contra el estrés oxidativo provoca cambios en la actividad de las selenoproteínas. La expresión de selenoproteína está regulada por la concentración de este elemento (Lammi & Qu, 2018).

Informes de investigadores previos indicaron una relación entre el Se, la actividad antioxidante y el ejercicio. Ji et al., (1988) estudiaron el efecto de la deficiencia de Se en las enzimas oxidantes del hígado y el músculo esquelético en el ejercicio crónico y agudo y establecieron que la deficiencia de Se disminuía las concentraciones de GPx en el hígado y el músculo (Baltaci et al., 2016).

También, es sabido que la deficiencia de Se provoca fatiga muscular en individuos que hacían ejercicio físico (Miliás et al., 2006). Se observó que los niveles de selenoproteína que disminuían como resultado de la deficiencia de Se se correlacionaban con varias patologías musculares (Hornberger et al., 2003).

Zinc

La deficiencia de Zn puede ser común en deportistas: los altos niveles de ejercicio físico, el estrés y los hábitos dietéticos pueden estar involucrados en un complejo de factores que crea una absorción de Zn subóptima. Si no se corrige, esta carencia puede permanecer por mucho tiempo, reduciendo el rendimiento deportivo (Micheletti et al., 2001).

Los niveles de Zn se mantienen en el músculo esquelético incluso si la ingesta de Zn es baja. Sin embargo, un estado deficiente de Zn tiene un impacto negativo en la función muscular. Es importante mencionar que el desarrollo de la composición del tipo de fibra muscular depende parcialmente de la entrada de las neuronas motoras durante el desarrollo prenatal y posnatal y el Zn puede afectar este proceso. De hecho, las neuronas motoras diferenciadas de las células madre inducidas por humanos con bajo niveles de Zn exhiben una función sináptica alterada (Hernández-Camacho et al., 2020).

La deficiencia de Zn reduce la actividad de algunas metaloenzimas. Las metaloenzimas podrían verse afectada en algunos tejidos pero no en otros (Maret, 2013). La disminución de la actividad de las metaloenzimas de Zn podría deberse a la ausencia de cantidades apropiadas de Zn para usar como cofactor, o simplemente a que se reduce la concentración de estas proteínas, ya sea por una reducción en la expresión de sus genes o por un aumento de la misma. su tasa de degradación (Grider et al., 2007). Por lo tanto, incluso si los niveles de Zn se mantienen principalmente en el músculo en condiciones de deficiencia de Zn en la dieta, la función muscular se ve afectada en cierta medida debido a la disminución de la actividad de proteínas específicas de Zn (Hernández-Camacho et al., 2020).

Se ha propuesto que la deficiencia de Zn podría conducir a niveles más altos de peroxidación de lípidos en diferentes tejidos, mientras que la administración de Zn produce un aumento en los niveles de glutatión en diferentes tejidos, lo que resulta en una mayor capacidad antioxidante. Además, la deficiencia de Zn se ha relacionado con una menor integridad del ADN, más estrés oxidativo y alteración de la capacidad de reparación del ADN (Ozturk et al., 2003).

Particularmente en el rendimiento deportivo, la deficiencia de Zn se ha asociado con un VO_{2max} , una producción de dióxido de carbono y una relación de intercambio respiratorio más bajos y con una reducción en la capacidad de trabajo total del músculo esquelético (Lukaski, 2005). La deficiencia de Zn en hombres físicamente activos conduce a una reducción de la actividad de la anhidrasa carbónica en los glóbulos rojos, lo que afecta las respuestas metabólicas durante el ejercicio y contribuye a un menor rendimiento físico observado en condiciones de deficiencia de Zn en la dieta (Lukaski, 2005). El agotamiento del Zn en humanos conduce a una disminución en la capacidad de trabajo total de los extensores y flexores de la rodilla y el hombro y una reducción en el rendimiento físico que se correlaciona con la disminución del Zn plasmático (Van Loan

et al., 1999). La razón por la cual el rendimiento muscular no se mantuvo bajo la depleción de Zn podría estar relacionada con la acumulación de lactato debido a que la actividad de la lactato deshidrogenasa se reduce bajo la depleción de Zn, lo que conduce a un aumento del lactato y fatiga muscular (Van Loan et al., 1999).

1.14. Influencia del ejercicio físico en las concentraciones de elementos minerales en diferentes compartimentos

El ejercicio y la actividad física han sido la piedra angular de las recomendaciones de estilo de vida para la población sana y con enfermedades crónicas (Hegde & Solomon, 2015; Mcphee et al., 2016; Pedersen & Saltin, 2015). Las recomendaciones de salud pública para la actividad física se basan en los beneficios del ejercicio físico sobre la salud metabólica, musculoesquelética y neuromotora (Garber et al., 2011).

Los biomarcadores pueden proporcionar una evaluación objetiva del estado nutricional de EM. Sin embargo, entre otras limitaciones, pocos nutrientes tienen rangos de referencia para atletas bien entrenados (Larson-Meyer et al., 2018). En situaciones de alta demanda metabólica, como el ejercicio o el entrenamiento atlético, los EM circulantes y celulares inadecuados pueden afectar el rendimiento fisiológico óptimo (Heffernan 2019; Speich et al., 2001). Las adaptaciones metabólicas del ejercicio físico pueden ser moduladas por el estado nutricional, como la disponibilidad de macronutrientes, específicamente proteínas y carbohidratos (Heffernan 2019). El papel del estado adecuado de micronutrientes en el apoyo a las adaptaciones beneficiosas del ejercicio físico ha sido investigado previamente (Speich et al., 2001). Sin embargo, se necesita más información al respecto.

Normalmente, para evaluar el efecto del ejercicio físico en las concentraciones de EM se tiene en consideración dos momentos temporales: influencia aguda y crónica. Los efectos agudos se valoran directamente después de una exposición, mientras que los efectos crónicos son evaluados después de un período de tiempo más prolongado bajo una exposición constante de varios días, semanas o años.

Diferentes modalidades deportivas han sido analizadas en función del metabolismo energético predominantes (aeróbico, anaeróbico y mixto). A la hora de evaluar la influencia del ejercicio físico sobre el estado de EM, diversos compartimentos biológicos son igualmente estudiados, entre los que se pueden destacar:

Plasma y suero

A pesar de la tendencia a utilizar muestras de plasma/suero tanto en la práctica clínica como en la investigación epidemiológica de los EM, solo parece tener cierta validez a la hora de valorar el estado de Se. Existen biomarcadores más sensibles para evaluar el estado de EM. Esto puede atribuirse a mecanismos homeostáticos que mantienen los niveles plasmáticos/séricos cuando la ingesta es marginal o inadecuada, lo que da como resultado una falta de sensibilidad adecuada. La falta de especificidad también puede comprometer el valor de los niveles de plasma/suero como biomarcadores. En otros casos, como Mn o Mo, el valor del plasma/suero carece de una evaluación adecuada (Hambidge, 2003).

Agudo

Los estudios que analizan el efecto agudo del ejercicio físico sobre las concentraciones de EM en plasma son diversos.

Los cambios en los niveles de Cu circulante debidos al ejercicio físico son variados. Los niveles de Cu sérico aumentaron un 37,3% en los hombres entrenados y un 21,5% en los no entrenados, en respuesta a la ergometría graduada en bicicleta hasta el agotamiento. Durante el ciclismo prolongado los niveles aumentaron un 32,2 y un 14,9%, respectivamente (Campbell & Anderson, 1987). Otros autores informaron en 19 sujetos disminuciones en las concentración plasmática de Cu y aumentos en las concentraciones plasmáticas de Zn después del ejercicio, en ambos sexos (Bordin et al., 1993). González-Haro et al., (2011) no observaron cambios en las concentraciones plasmáticas de Zn, Se y Mn durante y tras un ejercicio submáximo en cicloergómetro. Soria et al., (2015) reportaron también durante y después de un entrenamiento en cicloergómetro que no se encontraron diferencias significativas en los niveles de Mn o Co en función de la intensidad del ejercicio. Sin embargo, los niveles de Zn y Se al final del protocolo de ejercicio y durante el tiempo de recuperación fueron significativamente superiores al valor inicial. Chu et al., (2016) reportaron en 12 estudios que, durante la recuperación del ejercicio, la concentración sérica de Zn fue significativamente menor que los valores previos al ejercicio. Después de 30 min de recuperación, ambos valores de concentración de EM se desplazan hacia los valores de reposo en ambos sexos en tapiz rodante. Igualmente, otros autores registraron aumentos similares en el Zn plasmático debido al

ejercicio extenuante en 11 estudiantes varones sedentarios y sanos sometidos a un período de trabajo de 30 minutos en un cicloergómetro a un consumo del 75% de VO_{2max} (Ohno et al., 1985). Por último, después de una prueba incremental máxima en tapiz en atletas, se observaron disminuciones de Cu (Muñoz 2019), Se y Zn (Maynar et al., 2018).

Crónico

Se ha reportado que los niveles de Cu en plasma o suero en reposo son más altos (Lukaski et al., 1983), no se modifican (Campbell & Anderson, 1987) o son más bajos (Toro-Román et al., 2021) en los atletas entrenados en comparación con sujetos controles sedentarios. Igualmente, se ha demostrado que los futbolistas presentan mayores concentraciones plasmáticas de Zn en comparación con un grupo control (Toro-Román et al., 2022). En las concentraciones de Fe, un grupo de futbolista mostró mayores concentraciones de Fe en comparación con un grupo control (Grijota et al., 2022). Igualmente, en otro estudio previo al anterior, las personas con niveles moderados y altos de actividad física presentaron mayores concentraciones de Fe en comparación con las personas sedentarias (Rakhra et al., 2017).

Orina

El biomonitoreo de la exposición, que estima la exposición humana midiendo sustancias químicas u otros agentes de interés o sus productos metabólicos en diferentes medios biológicos, como sangre y orina, se ha convertido en un enfoque fundamental utilizado en la evaluación de la exposición y la epidemiología ambiental (Ashrap et al., 2021). La orina es una matriz muy utilizada debido a su facilidad para la recolección y porque es un método no invasivo.

Agudo

Se ha observado que las concentraciones urinarias de Cu descienden tras la realización de un test incremental máximo en tapiz rodante (Muñoz et al., 2019). Las pérdidas de Cu en la orina también aumentan debido al ejercicio físico, pero, esto puede ser de menor importancia ya que la excreción urinaria de Cu es pequeña en comparación con la excreción fecal. Hubo un descenso significativo de la excreción de Cu en los días de descanso en comparación con los días de ejercicio intenso (Mason, 1979). Tras un partido de pádel, Cu y Zn aumentaron significativamente su excreción urinaria

(Bartolomé et al., 2016). Con una metodología similar al primer estudio citado, los resultados mostraron que no hubo cambios estadísticos en las concentraciones urinarias en Mo y Se tras una prueba incremental máxima en atletas. Sin embargo, la concentración urinaria de Zn aumentó al final del ejercicio (Maynar et al., 2018). Siquier-Coll et al., (2020) observaron un aumento de la eliminación de Zn y Se tras una prueba incremental en condiciones de altas temperatura. Igualmente, las pérdidas urinarias de Zn aumentaron significativamente en un día de carrera frente a un día sin correr en los corredores masculinos (Campbell & Anderson, 1987). Las concentraciones urinarias medias de Zn y Cu aumentaron significativamente después de las sesiones con ejercicio físico (Kikukawa & Kobayashi, 2002). Igualmente, la excreción urinaria de Zn y Cu aumentó tras un entrenamiento aeróbico de 40 minutos de duración y tras un circuito de fuerza de 8 ejercicios (Granell, 2014)

Crónico

Tras un periodo de entrenamiento de 6 meses, se han observado descensos en las concentraciones urinaria de Cu y Se e incrementos en Zn y Mn en atletas de fondo (Maynar et al., 2019). Tras un periodo de entrenamiento en jugadores de voleibol de dos meses de duración se observó un incremento de la excreción urinaria de Zn (Cordova et al., 1998). El ejercicio de entrenamiento intensivo militar de 34 días duración produjo una elevada excreción urinaria de Zn (Miyamura et al., 1987). Por último, respecto a los EM tóxicos, tras 6 meses de entrenamiento se observaron mayores excreciones urinarias de Cd y Pb en atletas (Muñoz et al., 2020).

Eritrocitos

Los componentes celulares de la sangre se utilizan muy raramente para evaluar el estatus nutricional de EM desde punto de vista médico. Principalmente, este compartimento es utilizado con fines de investigación. La combinación de la exigente preparación de muestras y, en general, su potencial limitado y/o inadecuadamente definido ha restringido el entusiasmo por estos materiales de muestra (Ashrap et al., 2021).

Debido a que el eritrocito humano sobrevive en la circulación durante un intervalo de tiempo de 120 días de media con una desaparición total de la circulación a los 130 días, el estudio de EM en este compartimento podría otorgar una información sobre el

estatus nutricional de EM a largo plazo (Toro-Román et al., 2021; Toro-Román et al., 2022). A continuación, se detalla información adicional sobre el metabolismo de los eritrocitos.

Metabolismo de los eritrocitos

Los glóbulos rojos o eritrocitos son discos bicóncavos imprescindibles para el intercambio gaseoso. Desempeñan un papel clave en la función de la sangre transportando oxígeno desde los pulmones a los tejidos para la respiración celular. Cada discocito tiene un diámetro de aproximadamente 7,5 μm ; un espesor máximo de 2,0 a 2,5 μm ; una relación diámetro/espesor de $\sim 3,4$; un volumen corpuscular de 83 a 98 fl; y una superficie de aproximadamente 140 μm^2 (Klinken, 2002).

A diferencias de otras células, los eritrocitos no presentan núcleo ni mitocondrias. La presencia de un núcleo podría evitar que los eritrocitos grandes nucleados circulen por los pequeños capilares. Por lo tanto, durante el desarrollo evolutivo, la naturaleza descubrió que era mejor eliminar el núcleo y también otros orgánulos celulares, como el retículo endoplásmico (Klinken, 2002). Para explicar lo anterior, se debe prestar atención a la glucemia. Los niveles de azúcar en la sangre fluctúan durante el día. La hiperglucemia y la diabetes inducidas por el estrés aumentan sustancialmente la glucosa en sangre. La acumulación de glucosa 6-fosfato conduce a grandes aumentos en la generación de ROS que podrían agravar el estado de los eritrocitos. Por ello, la ausencia de núcleo y mitocondrias beneficia a los eritrocitos de mamíferos contra el estrés oxidativo inducido por la glucemia (Klinken, 2002). En relación con lo anterior, los glóbulos rojos humanos dependen completamente de la glucólisis para producir ATP. El transportador de glucosa GLUT-1, expresado en los glóbulos rojos, tiene una alta afinidad por la glucosa extracelular y permanece saturado incluso cuando las concentraciones de glucosa son mínimas. La hexocinasa, que cataliza el paso inicial de la glucólisis en los glóbulos rojos, también tiene una alta afinidad por la glucosa intracelular. Por lo tanto, la tasa de inicio de la glucólisis está asegurada incluso cuando la concentración de glucosa en plasma es baja (Corrons et al., 2021).

La producción de eritrocitos, o eritropoyesis, tiene lugar en el compartimento hematopoyético de la médula ósea. La producción continua de eritrocitos se desarrolla dentro de un tejido tridimensional complejo establecido por redes de células estromales

altamente organizadas de origen mesenquimatoso, neural y vascular dentro de las cavidades de la médula ósea (Klinken, 2002).

Se ha demostrado que las células del estroma desempeñan dos funciones principales: primero, como participantes principales de la remodelación y el metabolismo óseo, y segundo, como reguladores principales de las diferentes etapas del desarrollo y la producción de células sanguíneas. Los precursores de los eritrocitos se denominan eritroblastos, un grupo de células generadas a partir de la proliferación y diferenciación de células más tempranas e inmaduras denominadas progenitores eritroides (Ingle & Klinken, 2022).

El mantenimiento de la eritropoyesis se produce principalmente a través de la acción de eritropoyetina que promueve tanto la proliferación como la aceleración de la maduración terminal de los eritrocitos. Es necesario un mecanismo eritropoyético bien equilibrado para mantener la respuesta a una variedad de situaciones normales y anormales. La eritropoyetina se sintetiza en el riñón bajo el estímulo de la hipoxia. En consecuencia, un cambio en la concentración de hemoglobina en sangre conduce a un cambio en el oxígeno del tejido renal y, en respuesta a la hipoxia, el riñón secreta eritropoyetina, que induce la diferenciación de las células progenitoras eritroides, la expansión de la médula eritroide y el aumento de la producción de glóbulos rojos. Esto, a su vez, conduce a un aumento compensatorio de los niveles de oxígeno en los tejidos (Corrons et al., 2021).

El mecanismo de salida de los eritrocitos de la médula ósea al torrente sanguíneo aún no se comprende bien, pero parece estar determinado por la llamada barrera de restricción de la médula ósea que separa el compartimento hematopoyético de los sinusoides. Esta barrera está formada por una fina capa (0,2-0,4 μm) de células endoteliales muy planas que cubren completamente los senos paranasales (Corrons et al., 2021).

La célula adventicia proporciona un área para los glóbulos rojos maduros deformados, pero solo los poros de las células endoteliales permiten su salida al torrente sanguíneo. Los poros de las células endoteliales son ranuras delgadas con un diámetro de 1 a 5 μm , más pequeño que el de los glóbulos rojos y, en condiciones normales, esta barrera de la médula ósea asegura que los glóbulos rojos, liberados en el torrente

sanguíneo, tengan el estándar requerido de calidad (Weiss, 1965). El movimiento celular a través de la barrera es muy intenso con unos 200000 millones de glóbulos rojos; 10000 millones de granulocitos; y 400000 millones de plaquetas pasando de media cada día. Varios estudios indican que solo los glóbulos rojos maduros pueden atravesar los poros de la membrana de barrera en comparación con las células inmaduras debido a su deformabilidad y desnucleación.

Los glóbulos rojos tienen una vida media aproximada de 120 días en el torrente sanguíneo impulsados por la fuerza de bombeo del corazón y recorren más de 300 km proporcionando oxígeno y nutrientes a todas las células de los tejidos. Gran parte de su paso es a través de las arterias y las arteriolas con tamaños de diámetro superiores a 50 μm , pero también a través de capilares con un diámetro que oscila entre 3 y 8 μm , menor que su diámetro celular medio. Para llegar a todos los tejidos y células, los glóbulos rojos tienen que adaptarse a estos estrechos canales vasculares cambiando su forma y sufriendo una gran deformación (Corrons et al., 2021). En consecuencia, la deformabilidad es la propiedad física clave de los glóbulos rojos para asegurar una adecuada oxigenación de los tejidos y es el resultado de tres características geométricas y fisicoquímicas: (a) forma: discocito bicóncavo, (b) viscosidad: en función de la densidad intracelular, la concentración de hemoglobina y su estado fisicoquímico, y (c) la viscoelasticidad: determinada en gran medida por el citoesqueleto (Corrons et al., 2021).

Después de la circulación diaria y la verificación continua de la deformabilidad por parte del bazo, durante los aproximadamente 120 días de vida, los glóbulos rojos comienzan a envejecer. Todo el proceso de envejecimiento de los glóbulos rojos se caracteriza por la expresión de vías de señalización después de varios cambios bioquímicos progresivos, principalmente debido a una reducción de la maquinaria metabólica que implica la formación de vesículas en la membrana, modificaciones de la hemoglobina y un fallo progresivo tanto de la homeostasis celular como de las defensas antioxidantes (Bernhardt & Ellory, 2013). Los anteriores procesos desencadenan directa o indirectamente la eritrofagocitosis a través del estrés oxidativo, común a todo envejecimiento celular, y su consecuencia, la disminución de la deformabilidad de los eritrocitos.

La disminución de la deformabilidad de los glóbulos rojos se debe principalmente a la arquitectura esquelética y la remodelación de la membrana como consecuencia del envejecimiento. Se sabe que las distorsiones de la forma normal del disco bicóncavo de los eritrocitos pueden ser la consecuencia de defectos de envejecimiento en la arquitectura esquelética de la membrana de los glóbulos rojos. En consecuencia, los glóbulos rojos mueren en la médula ósea, el mismo lugar donde han nacido, y sus componentes estructurales se reciclan para producir nuevos glóbulos rojos en una espléndida forma de renovación (Corrons et al., 2021).

Agudo

Las concentraciones eritrocitarias de Zn disminuyeron en 38 corredoras altamente entrenadas tras correr 26,2 millas (Deuster et al., 1991). Mas recientemente, otros autores no observaron cambios en las concentraciones eritrocitarias de Fe, Cu, Se y Zn tras una prueba incremental máxima en cicloergómetro a diferentes temperaturas ambientales (22°C y 42°C) (Siquier-Coll et al., 2019).

Crónico

Se ha observado que los futbolistas presentan menores concentraciones de Fe en eritrocitos (Grijota et al., 2022). Igualmente, se apreciaron menores concentraciones de Cu, Mn, Mo y Zn en personas con niveles moderados y elevados de actividad física en comparación con un grupo control (Maynar et al., 2020). Similar al anterior estudio, en la misma población, se observaron concentraciones más bajas estadísticamente significativas de Fe, Mg y P eritrocitario en personas con niveles moderados y elevados de actividad física en comparación con un grupo control (Maynar-Mariño et al., 2020). Fogelholm et al., (1991) encontraron concentraciones más altas de Zn eritrocitario en atletas en comparación con el grupo control. Del mismo modo, Ohno et al., (1990), observaron concentraciones más altas de Zn en eritrocitos en personas sedentarias después de un programa de entrenamiento aeróbico de 10 semanas. Tras un programa de entrenamiento aeróbico de 16 semanas, los niveles de magnesio se mantuvieron bajos en personas con síndrome de Down (Monteiro et al., 1997). En chicas, Fogelholm, (1992) informó que las concentraciones de Zn incrementaron durante 24 semanas de entrenamientos. Por último, en el año 2005 se reportó que aquellas personas con una dieta

baja en Zn mostraban menores concentraciones eritrocitarias del mismo EM tras una prueba incremental máxima (Lukaski, 2005).

Plaquetas

Las plaquetas son un compartimento intracelular poco utilizado en la literatura científica. Debido a la vida media (10 días aproximadamente), las plaquetas pueden otorgar una información sobre el estado de EM más actual en comparación con los eritrocitos. Para conocer más este compartimento biológico, en el siguiente punto se describen las características y el metabolismo de las plaquetas.

Metabolismo

Las plaquetas son células sanguíneas anucleadas pequeñas (de 2 a 4 μm de diámetro) con una forma discoide. Tienen múltiples funciones y una vida útil de 7 a 10 días en humanos. Son producidas por megacariocitos, principalmente en la médula ósea. Las plaquetas son producidas diariamente y su función principal es participar en el proceso fisiológico de la hemostasia, permitiendo que se detenga el sangrado en el lugar de la lesión, mientras se mantiene el flujo sanguíneo normal en otras partes de la circulación (El-Sayed, 2002). La superficie interna de los vasos sanguíneos está cubierta por células endoteliales que actúan como anticoagulantes. Después de una lesión en un vaso, la matriz subendotelial se expone a la sangre y se permitirá que varios componentes de la sangre interactúen con esta matriz. Entre estos componentes de la sangre se encuentran las plaquetas. Las plaquetas están presentes en 150 a 400 millones por mililitro (mL) de sangre (Josefsson et al., 2020).

El bazo y el hígado son los órganos donde se destruyen las plaquetas envejecidas, si no han sido utilizadas para la hemostasia después de los 10 días de vida. Además, no todas las plaquetas circulan en el flujo sanguíneo, pero aproximadamente el 30 % de la masa total de plaquetas existe como una reserva intercambiable que reside en el bazo. Esto explica por qué el aumento de la masa del bazo (esplenomegalia) se puede asociar con un recuento de plaquetas más bajo y por qué la ausencia de bazo (asplenia) se asocia con un recuento de plaquetas aumentado (Josefsson et al., 2020).

Agudo

Hasta la fecha, no se han reportado datos sobre los cambios agudos debidos al ejercicio físico en las concentraciones intraplaquetarias de EM.

Crónico

Se han reportado menores concentraciones de Fe intraplaquetarias en deportistas en comparación con un grupo control sedentario (Grijota et al., 2022), así como Se (Toro-Román et al., 2022). No se han observado diferencias entre futbolistas y grupo control en las concentraciones intraplaquetarias de Cu y Zn (Toro-Román et al., 2021; Toro-Román et al., 2022).

1.15. Fútbol

El fútbol es el deporte más popular del mundo (Stølen et al., 2005). Es una modalidad deportiva de carácter intermitente donde el metabolismo energético aeróbico es predominante, con frecuencias cardíacas medias y máximas en torno al 85% y al 98% de los valores máximos, respectivamente (Bangsbo, 2014), lo que corresponde a un consumo medio de oxígeno en torno al 70% del VO_{2max} . Más importante para el rendimiento que el consumo medio de oxígeno durante un partido puede ser el aumento de la tasa de consumo de oxígeno durante muchas acciones cortas e intensas. La frecuencia cardíaca de un jugador durante un partido rara vez está por debajo del 65% de la frecuencia cardíaca máxima (FC_{max}), lo que sugiere que el flujo sanguíneo a los músculos de las piernas es continuamente mayor que en reposo, por lo que el suministro de oxígeno es alto. Sin embargo, la cinética del oxígeno durante las variaciones de baja y alta intensidad parece estar limitada por factores locales y depende, entre otros factores, de la capacidad oxidativa de los músculos que se contraen (Bangsbo et al., 2001).

Aunque el metabolismo aeróbico domina el suministro de energía durante un partido de fútbol, las acciones más decisivas están cubiertas por el metabolismo anaeróbico. Para realizar sprints cortos, saltos, placajes y juegos de duelo, la liberación de energía anaeróbica es determinante con respecto a quién corre más rápido o salta más alto. Esto suele ser crucial para el resultado del partido (Wragg et al., 2000). Es sabido que los jugadores de fútbol de élite realizan entre 150 y 250 acciones breves e intensas durante un partido (Mohr et al., 2003), lo que indica que la tasa de recambio energético

anaeróbico es alta durante un partido. El ejercicio intenso durante un partido llevaría a una alta tasa de descomposición del fosfocreatina (PCr), que en gran medida se vuelve a sintetizar en los períodos de ejercicio de baja intensidad (Bangsbo, 2014). Las mediciones de PCr en biopsias musculares obtenidas tras periodos de ejercicio intenso durante un partido han mostrado valores en torno al 75% en comparación con los niveles en reposo. Sin embargo, es probable que esta cifra sea significativamente menor durante el partido, ya que estos valores se obtuvieron de biopsias tomadas entre 15 y 30 segundos después de las acciones del partido, durante las cuales se podrían producir una resíntesis PCr (Krustrup et al., 2006). Por lo tanto, utilizando valores adecuados para la resíntesis de PCr, se puede esperar que, durante cierto momento de un partido, especialmente cuando se realizan varias acciones cortas y muy intensas con cortos períodos de recuperación, los niveles de PCr podrían llegar a estar por debajo del 30% en comparación con los niveles de reposo. Por otro lado, se han observado concentraciones medias de lactato en sangre de 2-10 mMol durante los partidos de fútbol, con valores individuales superiores a 12 mMol (Krustrup et al., 2006).

Respecto a las reservas energéticas, el glucógeno muscular es un sustrato importante en este deporte. Saltin, (1973) observó que las reservas de glucógeno muscular estaban casi agotadas en el descanso cuando los niveles previos al partido eran bajos (~45 mmol/kg de peso). Los análisis de fibras musculares individuales después de un partido han revelado que un número significativo de fibras tienen agotada o parcialmente agotadas las reservas de glucógeno al final del partido, lo que puede ser una de las razones por las que la fatiga aparece al final de un partido, entre otros factores (Krustrup et al., 2006).

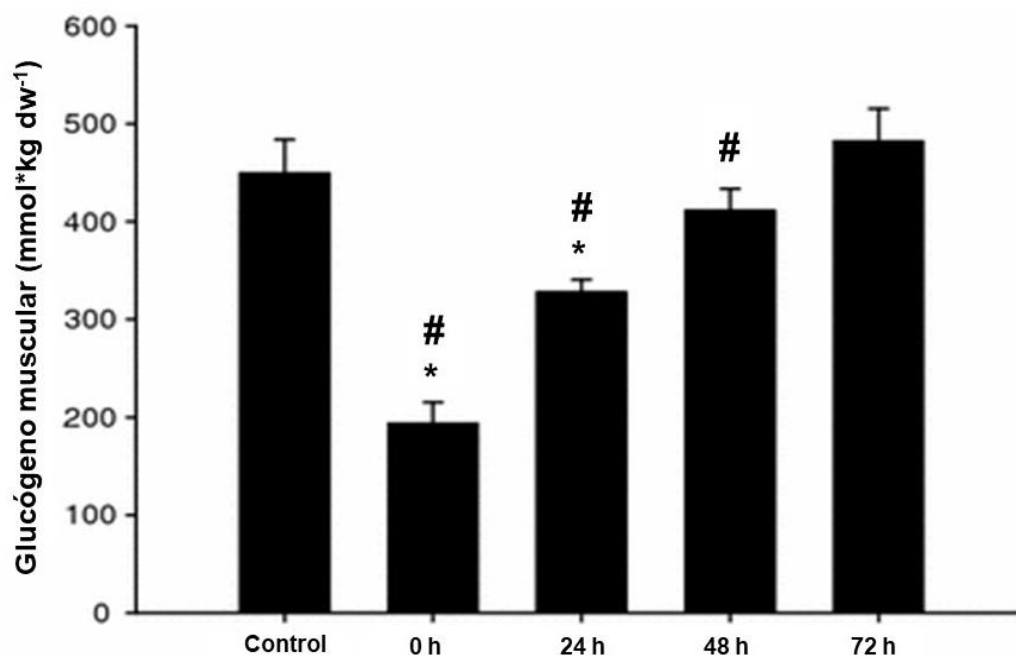


Figura 15. Glucógeno muscular en condiciones de control y recuperación después de un partido de fútbol competitivo de alto nivel. Los valores representan la media y la desviación típica (n = 7). * p<0,001 respecto a los valores control; # p<0,05 respecto a los valores de 72 horas. Adaptado de Krstrup et al., (2011).

La concentración de ácidos grasos libres en la sangre aumenta durante un partido, más aún durante el segundo tiempo (Krstrup et al., 2006). Los frecuentes períodos de descanso y de baja intensidad de un partido permiten un importante flujo sanguíneo hacia el tejido adiposo, lo que favorece la liberación de los ácidos grasos. Este efecto también queda ilustrado por el hallazgo de altas concentraciones de ácidos grasos en el descanso y después del partido (Bangsbo, 2014). Los cambios hormonales pueden desempeñar un papel importante en el aumento progresivo del nivel de los ácidos grasos en sangre. Las concentraciones de insulina se reducen y los niveles de catecolaminas se elevan progresivamente durante un partido (Bangsbo, 2014), estimulando una alta tasa de lipólisis y, por tanto, la liberación de los ácidos grasos (Galbo, 1983). El efecto se ve reforzado por la disminución de los niveles de lactato hacia el final del partido, lo que conduce a una menor supresión de la movilización de ácidos grasos del tejido adiposo (Krstrup et al., 2006). Los cambios en los ácidos grasos libres durante un partido pueden provocar una mayor captación y oxidación de los mismos por parte de los músculos en contracción, especialmente durante los periodos de recuperación de un partido (Turcotte et al., 1991). Además, podría producirse una mayor utilización de los triglicéridos musculares en el segundo tiempo debido a las elevadas concentraciones de catecolaminas.

Ambos procesos pueden ser mecanismos compensatorios de la disminución progresiva del glucógeno muscular y son favorables para mantener la concentración de glucosa en sangre.

Durante un partido de fútbol, la fatiga puede ocurrir temporalmente después de períodos cortos e intensos durante ambas mitades y progresivamente hacia el final de cada mitad (Oliveira et al., 2017). Respecto al estudio de las acciones prevalentes durante un partido de fútbol, los análisis sugieren que la distancia recorrida en carreras de alta intensidad por jugadores de élite en los últimos 15 minutos de un partido es entre un 14% y un 45% menor que la observada durante los primeros 15 minutos (Bangsbo, 2014). Sin embargo, la distancia recorrida a intensidades altas puede permanecer constante durante la segunda mitad, debido a las estrategias de ritmo, en las que los jugadores realizan menos acciones a intensidades bajas o moderadas para ahorrar esfuerzos (Bangsbo, 2014). Finalmente, el rendimiento de saltos, carreras de velocidad y ejercicio intermitente, cuando se evalúa después de un partido, parece ser significativamente más bajo, en comparación con los valores de referencia en reposo (Mohr et al., 2005).

Con respecto a las diferencias de posición, se ha demostrado que los centrocampistas y extremos cubren una distancia total significativamente mayor durante los partidos de fútbol de élite (entre 12-13 km), mientras que los defensores centrales han demostrado consistentemente que completan la menor distancia total del equipo (alrededor de 10 km o menos). En consecuencia, los defensores centrales también cubren la distancia más corta con carreras de alta intensidad y carreras de velocidad de alta intensidad combinadas (Mohr et al., 2005). En cuanto a las actividades de velocidad, los centrocampistas y los atacantes son los que recorren mayor distancia durante los partidos. El tiempo medio de recuperación entre acciones de alta intensidad también ha mostrado diferencias posicionales, ya que los defensores centrales generalmente tienen más tiempo para recuperar en comparación con otras posiciones (Krustrup et al., 2006).

1.16. Concentraciones de elementos minerales en futbolistas

Se han realizado diversos estudios con diferentes diseños experimentales, incluyendo ejercicios cíclicos para obtener información sobre las relaciones entre los EM y la influencia del ejercicio físico. Sin embargo, no hay demasiada información sobre los

cambios inducidos en futbolistas durante un partido de fútbol o un periodo de entrenamiento en el mismo colectivo.

En relación con lo anterior, existen investigaciones que han evaluados los cambios en las concentraciones de EM tras un partido disputado en diferentes momentos del día. Algunos de estos autores reportaron que en los partidos de fútbol matutinos y nocturnos, los niveles de Fe (37,4% y 38,9%) y Cu (34,8% y 26,8%) aumentaron en todos los sujetos, respectivamente. Sin embargo, el nivel de Zn disminuyó un -4,5% en los partidos de fútbol matutinos y un -9,4% en los nocturnos. Además, la relación Cu/Zn aumentó significativamente un 46,6% en los partidos de fútbol matutinos y un 36,6% en los nocturnos (Algul et al., 2019).

Similar al anterior, otros autores observaron aumentos significativos en Fe en todos los partidos independiente de la hora. Sin embargo, Zn disminuyó por la mañana, pero aumentó en el partido de fútbol nocturno, contrariamente al Cu. Los autores concluyeron que la hora del partido de fútbol podría tener cierta influencia opuesta en los niveles de Zn y Cu (Algul et al., 2022).

Igualmente, otros autores observaron que las concentraciones plasmáticas de Fe disminuyeron 2 horas después del partido y se normalizó a partir de entonces, concluyendo que los marcadores del estado del Fe sólo se ven afectados transitoriamente por un partido de fútbol (Jamurtas et al., 2015). En futbolistas femeninas de élite que no se suplementaban con Fe, se observó tras 4 semanas de entrenamiento que las concentraciones plasmática de Fe incrementaron un 14% (Kang & Matsuo, 2004). En 35 futbolistas profesionales serbios masculinos no se observaron cambios en las concentraciones séricas de Fe a lo largo de las 4 valoraciones realizadas durante la temporada deportiva (Ostojic & Ahmetovic, 2009). Igualmente, en 19 jugadores de fútbol masculinos serbio las concentraciones séricas de Fe no cambiaron durante 45 y 90 días respecto a los valores iniciales (Anđelković et al., 2015). Comparando entre posiciones, las concentraciones de Fe plasmático fue significativamente menor en el grupo centrocampista/defensor que en el grupo portero/suplente durante toda la temporada (Nowakowska et al., 2019), posiblemente debido a las diferencias en las demandas físicas durante los partidos disputados.

Otros trabajos han evaluado las diferencias en las concentraciones de EM entre futbolistas y sedentarios u otras modalidades deportivas. Por ejemplo, Metin et al., (2003) reportaron que los futbolistas presentaban menores concentraciones plasmáticas de Cu en relación al grupo control, estando en la misma línea que lo reportado por (Toro-Román et al., 2021). En relación a Fe, se ha observado que los futbolista mostraron mayores concentraciones de Fe en plasma y suero, pero menores concentraciones en eritrocitos y plaquetas en comparación con el GC (Grijota et al., 2022). Sin embargo, anteriormente otros autores no reportaron diferencias en las concentraciones sérica de Fe (Resina et al., 1991). Respecto al Zn, se ha observado que los futbolistas mostraron concentraciones plasmáticas elevadas en relación con un grupo control. Sin embargo, mostraron concentraciones de Zn reducidas en los eritrocitos (Toro-Román et al., 2022). En cuanto a Se, se ha reportado que los futbolistas presentaban menores concentraciones de Se en eritrocitos y plaquetas en comparación con el grupo control (Toro-Román et al., 2022).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HYPOTHESIS AND AIMS

2. Hipótesis y objetivos

Como se ha desarrollado anteriormente en la introducción, los EM esenciales son fundamentales para el mantenimiento de determinadas funciones vitales, la salud y, por tanto, el rendimiento deportivo.

Aunque es cierto que se ha avanzado durante los últimos años en el conocimiento de la funcionalidad de los EM y la influencia del ejercicio físico, aún se disponen de datos escasos y contradictorios sobre esta temática en la literatura científica.

Un gran número de trabajos sobre el tópico se han planteado sobre disciplinas deportivas de carácter individual, predominantemente aeróbicas (atletas y ciclistas) y mayoritariamente en hombres. Además, los estudios que analizan las concentraciones de EM para evaluar la influencia del ejercicio o estudiar la cinética de estos suelen determinar y analizar una o dos matrices biológicas, mayoritariamente plasma, suero y orina. Las diferencias en las demandas físicas y fisiológicas de los deportes colectivos en comparación con las modalidades deportivas individuales podrían influir en las concentraciones de EM como se han reportado en algunos estudios (Maynar et al., 2018; Maynar et al., 2020).

Estudios previos concluyeron que es importante valorar tanto las concentraciones intracelulares como extracelulares para evaluar el estatus de EM debido a las posibles discrepancias entre matrices biológicas (Grijota et al., 2022; Toro-Román et al., 2021; Toro-Román et al., 2022). La investigación en el compartimento celular aún está incompleta, especialmente en las plaquetas. Como se ha comentado anteriormente, se sabe que la vida media de los eritrocitos es de aproximadamente 120 días (Piomelli & Seaman, 1993), mientras que las plaquetas tienen una vida media de aproximadamente 10 días (Harker, 1977). Por tanto, el estudio de EM eritrocitario podría aportar una información retrospectiva del estado de EM (2 a 3 meses antes), mientras que la valoración de las concentraciones de EM en plaquetas podría aportar información más actual del estado de EM (aproximadamente 2 semanas).

Resulta fundamental conocer la cinética de los EM en el organismo para poder entender su comportamiento y respuesta a diferentes estímulos, como puede ser el ejercicio físico, así como las posibles diferencias biológicas entre sexos en la cinética de los EM.

Aunque en los últimos años nuestro grupo de investigación ha publicado diversos estudios que analizan la influencia del ejercicio físico, tanto a nivel agudo como crónico, aún no hemos estudiado las concentraciones de EM y la influencia del ejercicio físico en mujeres.

En relación con los EM tóxicos, es sabido que los efectos sobre la salud se manifiestan de forma diferente en hombres y mujeres debido posiblemente a diferencias en la cinética y el modo de acción de los EM (Vahter et al., 2007). Los factores biológicos que pueden influir en el metabolismo y la toxicidad de EM en el organismo femenino incluyen cambios relacionados con la menarquia, el embarazo, la lactancia y la menopausia (Silbergeld & Flaws, 1999). Sin embargo, la información sobre la cinética de EM esenciales no ha sido investigada. Las diferencias biológicas entre sexo, así como las variaciones hormonales a lo largo del ciclo menstrual podrían afectar a las concentraciones de EM (Deuster et al., 1987; Michos et al., 2010).

Por lo tanto, debido a la escasa literatura en futbolistas y en mujeres, así como estudios longitudinales a lo largo de una temporada deportiva, los objetivos que se persiguen en la presente tesis doctoral son los siguientes:

1. Valorar y comparar la antropometría, composición corporal y condición física a lo largo de la temporada deportiva y entre sexos en futbolistas.
2. Analizar y comparar la ingesta de macronutrientes y micronutrientes a lo largo de una temporada deportiva y entre sexos en futbolistas.
3. Analizar y comparar las diferencias entre sexos y a lo largo de la temporada deportiva en los parámetros hematológicos y bioquímicos de futbolistas.
4. Analizar las concentraciones de EM esenciales (Cu, Fe, Mn, Mo, Se y Zn) en diferentes matrices biológicas (eritrocito, plaqueta, plasma, orina y suero [solo para Fe]) a lo largo de una temporada deportiva en jugadores y jugadoras de fútbol.
5. Analizar las diferencias entre sexos en las concentraciones de EM esenciales (Cu, Fe, Mn, Mo, Se y Zn) en diferentes compartimentos biológicos (eritrocito, plaqueta, plasma, orina y suero [solo para Fe]) en futbolistas.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIALS AND METHODS

3. Material y métodos

3.1. *Diseño de estudio*

La presente investigación observacional está basada en un diseño de tipo longitudinal-cuasiexperimental. Se realizaron tres valoraciones a lo largo de una temporada regular en dos equipos de fútbol senior de la ciudad de Cáceres: CD Diocesano Masculino y Cacereño Femenino. A lo largo del estudio se realizaron comparaciones longitudinales entre los jugadores así como entre los dos equipos de fútbol para poder observar posibles diferencias entre sexos. Las valoraciones fueron realizadas en los siguientes momentos de la temporada deportiva regular:

- 1ª valoración: realizada la primera semana de entrenamientos (agosto).
- 2ª valoración: llevada a cabo a mitad de temporada, entre el final de la primera y segunda vuelta de la temporada (enero).
- 3ª valoración: realizada la última semana de entrenamientos de ambos equipos, una vez finalizada la temporada (mayo/junio).

Todas las valoraciones se realizaban en el laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la Facultad de Ciencias del Deporte de la Universidad de Extremadura la misma semana de cada mes, por la mañana y en el mismo orden a todos los participantes para evitar los efectos de los ciclos circadianos. Además, las valoraciones se llevaron a cabo en condiciones atmosféricas similares (18 a 25 °C y 45 a 55 % de humedad relativa). Los dos días previos a las valoraciones correspondientes los participantes realizaban un cuestionario para evaluar los niveles de actividad física y un cuestionario nutricional para conocer la ingesta de macronutrientes y micronutrientes. Cabe destacar que los dos días previos a las valoraciones se bajó la carga de entrenamiento de ambos conjuntos para que los participantes ejecutasen las diferentes valoraciones con la menor fatiga posible.

El día de valoración, a primera hora de la mañana, se realizaban las extracciones sanguíneas por parte de un personal médico y las recolecciones de orina. Después, se realizaban las siguientes valoraciones de condición física en el siguiente orden:

- Antropometría y composición corporal.
- Fuerza isométrica y salto vertical.
- Test incremental máximo en tapiz rodante.

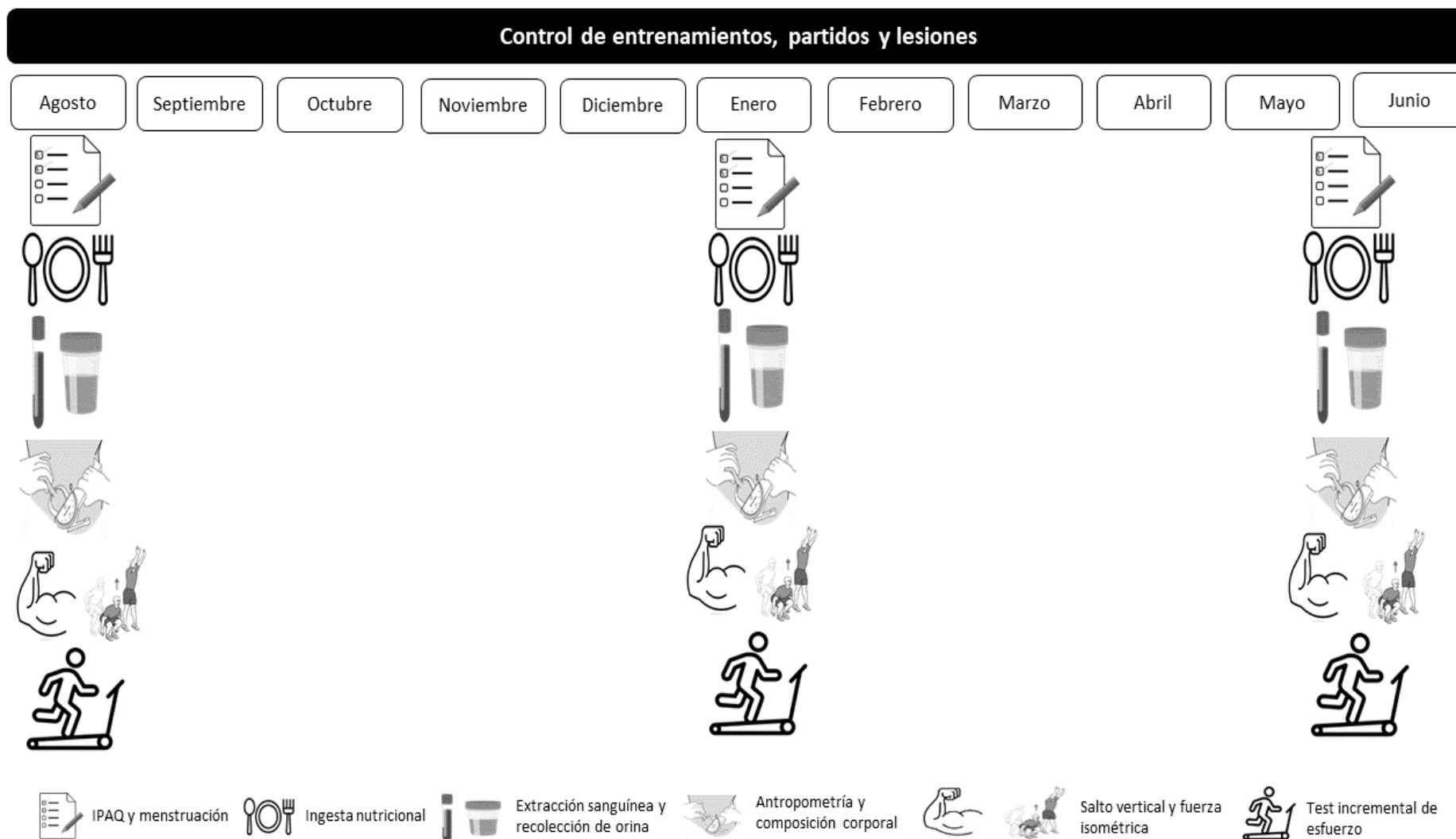


Figura 16. Diseño de investigación de la presente tesis doctoral; IPAQ: cuestionario internacional de actividad física.

3.2. *Protocolo de seguridad*

Antes de la primera valoración, todos los participantes fueron sometidos a un reconocimiento médico para detectar cualquier patología o contraindicación para participar en el estudio. El protocolo de seguridad consistió en una evaluación del sistema cardiocirculatorio en condiciones de reposo mediante la evaluación del electrocardiograma (Sanro BTL-08 SD ECG) y tensión arterial (Visiomat; comodidad 20/40). Antes de las pruebas, los electrocardiogramas basales fueron analizados por un médico.

3.3. *Participantes del estudio*

La muestra participante en la presente investigación la componen un total 46 jugadores de fútbol. Todos los participantes fueron informados sobre el propósito del estudio y firmaron un formulario de consentimiento antes de inscribirse (Anexo 8.1).

El protocolo fue revisado y aprobado por el Comité de Ética Biomédica de la Universidad de Extremadura (Cáceres, España) (código 135/2020) siguiendo las directrices de la declaración ética de Helsinki, actualizada en la Asamblea Médica Mundial de Fortaleza (2013), para investigación con seres humanos (Anexo 8.1). A cada participante se le asignó un código para la recolección y tratamiento de las muestras con el fin de mantener su anonimato.

Los participantes fueron divididos en función del sexo y el equipo al que pertenece: futbolistas masculinos (n=22) y futbolistas femeninas (n=24). Los futbolistas masculinos pertenecían al equipo CD Diocesano que competía en 3º RFEF (Real Federación Española de Fútbol) grupo XIV, quedando campeón de la temporada 21/22. Por otro lado, las futbolistas femeninas pertenecían al Cacereño Femenino las cuales competían en la 2º división a nivel nacional, quedando en segunda posición la temporada 21/22. Las características generales de los participantes aparecen recogidas en la Tabla 4.

Tabla 4. Características de los participantes.

	Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas
Número de participantes (n)	22	24
Edad (años)	20,61±2,66	23,37±3,95
Altura (m)	1,76±0,061	1,65±0,06
Peso corporal inicial (kg)	71,50±5,93	59,58±7,17
Experiencia (años)	14,73±3,13	14,51±4,94
Posición en el campo (%)	Portero/a	7,70
	Defensa	30,80
	Centrocampista	38,50
	Delantero	23,10
		11,10
		33,30
		29,60
		25,90

Para la inclusión en el presente estudio, los participantes debían cumplir los siguientes criterios que fueron divididos según el sexo:

Criterios de inclusión futbolistas masculinos

- Residir en la ciudad de Cáceres durante la investigación.
- No padecer ninguna enfermedad crónica.
- No tomar ningún tipo de medicamento que pueda interferir en los parámetros de estudio o suplementación nutricional que incluya elementos minerales durante el periodo de investigación.
- No ser fumador
- No consumir drogas.
- Tener más de 5 años de experiencia compitiendo en fútbol.
- No modificar los hábitos de actividad física ni nutricionales a lo largo del estudio
- No seguir una dieta especial (vegana, cetogénica, vegetariano, etc).
- No estar más de 30 días sin realizar entrenamientos con el equipo.
- Haber firmado el consentimiento informado para participar en el estudio

Criterios de inclusión futbolistas femeninos

- Residir en la ciudad de Cáceres durante la investigación.
- No padecer ninguna enfermedad crónica.

- No tomar ningún tipo de medicamento que pueda interferir en los parámetros de estudio o suplementación nutricional que incluya elementos minerales durante el periodo de investigación.
- No fumador.
- No consumir drogas.
- Más de 5 años de experiencia compitiendo en fútbol.
- No modificar los hábitos de actividad física ni nutricionales a lo largo del estudio
- No seguir una dieta especial (vegana, cetogénica, vegetariano, etc).
- No estar más de 30 días sin realizar entrenamientos con el equipo.
- Haber firmado el consentimiento informado para participar en el estudio
- Presentar ciclos menstruales regulares durante al menos seis meses previos al inicio del estudio
- No padecer problemas asociados al ciclo menstrual.
- No utilizar métodos anticonceptivos hormonales

3.4. *Control de los entrenamientos, partidos y lesiones de los participantes*

Se realizó un control de los partidos disputados y los entrenamientos realizados para conocer la carga externa de ambos conjuntos a lo largo de la temporada deportiva (Tabla 5). La carga interna no se ha podido añadir al presente documento ya que cada cuerpo técnico utilizaba diferentes metodologías que no podían ser comparables. Por otro lado, se contabilizó el número de lesiones y los días de ausencia a los entrenamientos para confirmar que los jugadores realizaban el máximo número de entrenamientos posibles con el equipo. Los datos individuales de los participantes fueron facilitados por los preparadores físicos de cada equipo.

Tabla 5. Entrenamientos realizados, partidos disputados y lesiones sufrida a lo largo de la temporada deportiva.

	Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas
Entrenamientos realizados por el equipo (semanas)	36	39
Entrenamientos (n°)	128,27±18,59	133,54±25,86
Entrenamientos (min)	11814,23±1673,4	10578,46±3227,80
Convocatorias (n°)	24,70±7,83	19,46±8,30
Partidos disputados por equipo (n°)	34	36
Tiempo partido disputado (min)	1415,50±785,47	1295,15±681,14
Lesiones (n°)	7	8
Ausencia entrenamientos (días)	12,07±9,34	14,14±10,79

3.5. *Control del ciclo menstrual*

Para conocer las características del ciclo menstrual las futbolistas completaron un cuestionario anteriormente utilizado en una tesis doctoral (Ramírez-Balas, 2014) (Anexo 8.3). El cuestionario se realizó de forma online y una integrante del grupo de investigación estaba disponible para ayudar a las participantes a responder en caso de posibles dudas. No es común en la literatura científica referente al presente tópico investigaciones que controlen este factor.

Es importante conocer las características del ciclo menstrual ya que algunos estudios han observado que pueden existir variaciones en las concentraciones de algunos minerales a lo largo del ciclo (Deuster et al., 1987; Michos et al., 2010). Por ello, todas las valoraciones, en la medida de lo posible, se realizaron en la misma fase del ciclo menstrual.

Tabla 6. Características del ciclo menstrual

		Futbolistas femeninas
Edad de aparición (años)		13,5±1,15
Menstruación regular (%)		100,00
Duración del sangrado (días)		4,77±1,47
Cantidad de sangrado (%)	Poco	11,11
	Moderado	77,77
	Mucho	11,11
Ciclo menstrual (días)		27,93±2,78
Cese de menstruación (%)	Nunca	88,88
	Alguna vez	12,22

3.6. *Evaluación de la actividad física*

La actividad física se evaluó utilizando el Cuestionario Internacional de Actividad Física – Versión Corta en español (Aibar et al., 2016; Craig et al., 2003). El cuestionario se realizó online mediante Google Formulario y constaba de preguntas sobre la frecuencia y duración de actividades físicas vigorosas, moderadas y el tiempo dedicado a caminar. Un investigador ayudó a los participantes a responder. El tiempo dedicado a la actividad vigorosa, moderada y caminar se ponderó por la energía gastada para producir MET-horas/semana. Se seleccionó la actividad física total para su posterior análisis. Este cuestionario fue realizado con el objetivo de conocer si durante el periodo de lesiones o los días de descanso los jugadores mantenían niveles elevado de actividad física.

3.7. *Ingesta nutricional*

Todos los participantes completaron una encuesta nutricional para garantizar que seguían una dieta similar. La encuesta consistió en un registro nutricional diario de 3 días, dos días de semana preasignados y un día de fin de semana. Los participantes indicaron individualmente el tipo, la frecuencia y la cantidad (en gramos) de cada alimento consumido cada día y la composición nutricional de sus dietas se evaluó mediante tablas

de composición de alimentos (Moreiras et al., 2016). Los investigadores realizaron la conversión de proporciones para estimar el consumo de cada nutriente utilizando las tablas de alimentos anteriores. Para mayor precisión se envió un documento adjunto a los participantes para facilitar la estimación de las cantidades de cada alimento ingerido según el envase utilizado con el fin de reducir el sesgo de medición. Se obtuvieron los datos de la energía total, el agua, los macronutrientes (carbohidratos, proteínas y lípidos) y los micronutrientes (ácido fólico, B12, Cu, Fe, Mn, Mo, Se y Zn) para su posterior análisis.

3.8. Valoración de la antropometría y composición corporal

Las características antropométricas de los participantes fueron evaluadas por la mañana y en idénticas condiciones (ayuno) y con la menor ropa posible. Todas las mediciones fueron realizadas por el mismo evaluador y en el lado derecho del cuerpo siguiendo las directrices del Grupo Español de Cineantropometría (Porta et al., 1993). Se realizaron las siguientes valoraciones antropométrica:

- Altura corporal: fue valorada mediante un tallímetro (Seca 220. Hamburgo. Alemania) con una precisión de 0,1 m.
- Peso corporal: se midió mediante una báscula digital calibrada (Seca 769. Hamburgo, Alemania) con una precisión de 0,01 kg.
- Pliegues cutáneos: se evaluaron mediante un plicómetro Holtain© 610ND (Holtain, Crymych, Reino Unido), con una precisión de 0,2 mm. Se midieron los siguientes seis pliegues:
 - Pliegue abdominal: medido paralelo al eje del abdomen 2-3 cm del ombligo.
 - Pliegue suprailíaco: evaluado por encima de la cresta ilíaca con el brazo derecho elevado perpendicularmente.
 - Pliegue del tríceps braquial: medido en el centro de la línea del acromion y olécrano paralelo al eje del brazo.
 - Pliegue subescapular: evaluado en el ángulo inferior de la escápula.
 - Pliegue del muslo: medido en la parte media del eje longitudinal con el sujeto sentado y la rodilla flexionada 90°.
 - Pliegue del gemelo:

- Diámetros óseos: fueron evaluados mediante paquímetro Holtain© 604 (Holtain, Crymych, Reino Unido), con una precisión de ± 1 mm. Se evaluaron 3 diámetros óseos:
 - Biestiloideo: evaluado con el codo y la muñeca flexionados 90° grados.
 - Biepicondiloideo humeral: brazo horizontal en antepulsión y el antebrazo flexionado a 90° en supinación.
 - Biepicondiloideo femoral: medido con el sujeto sentado y la rodilla flexionada 90°.
- Perímetros musculares: se midieron mediante una cinta métrica de la marca Seca© 201 (Seca, Hamburgo, Alemania), con precisión de ± 1 mm. Se midieron los siguientes perímetros:
 - Perímetro del brazo relajado: perímetro del punto media del bíceps con el codo flexionado 90° relajado.
 - Perímetro del muslo relajado: parte media del muslo con el sujeto sentado y la rodilla en 90°.
 - Perímetro del gemelo relajado: parte media del gemelo con el sujeto sentado y la rodilla 90°.

Para determinar el porcentaje graso se utilizaron las ecuaciones de Yushasz, tanto para sexo masculino como femenino (Porta et al., 1993).

Hombre

$$3,64 + (\text{suma } 6 \text{ pliegues} \times 0,097)$$

Mujer

$$4,56 + (\text{suma } 6 \text{ pliegues} \times 0,143)$$

El peso graso se determinó con la siguiente fórmula:

$$(\text{Peso total} \times \% \text{ graso}) / 100$$

Por otro lado, el porcentaje óseo se calculó mediante la fórmula de Von Döbenl-Rocha (Porta et al., 1993).

$$3,02 \times (\text{Talla}^2 \times \text{Diámetro biestoloideo} \times \text{Diámetro biepicondileo humeral} \times 400)^{0,712}$$

El peso óseo fue determinado mediante la siguiente fórmula:

$$(Peso\ total\ x\ \% \text{ óseo}) / 100$$

El peso residual, en hombres y mujeres, se calculó según la ecuación de Wurch, sabiendo que el porcentaje en mujeres es del 20,9% y 24,1% en hombres.

Hombres

$$(Peso\ total\ x\ 24,1) / 100$$

Mujeres

$$(Peso\ total\ x\ 20,9) / 100$$

El peso y porcentaje muscular se determinó conociendo los anteriores valores mediante la siguiente fórmula

Peso muscular

$$Peso\ total - Peso\ Graso - Peso\ Óseo - Peso\ Residual$$

% Muscular

$$(Peso\ muscular / Peso\ total) x 100$$

También, para realizar comparaciones entre sexos y expresar los parámetros en valores relativo, el volumen corporal fue estimado mediante la fórmula de Ward (Porta et al., 1993).

$$- 4,7573 + 1,0153 * Masa\ corporal\ (Kg)$$

3.9. Valoración de la condición física

3.9.1. Valoración del salto vertical

La fuerza explosiva del miembro inferior fue evaluada mediante la realización de dos tests de salto vertical. Para realizar las pruebas se utilizó una plataforma de células fotoeléctricas (Optojump, Mycrogate, Mahopac, Nueva York). Se ejecutaron un test de salto vertical sin contra movimiento (SJ) y un test de salto vertical con contra movimiento siguiendo los directrices de Komi & Bosco, (1978) que se desarrollan a continuación. Los

test anteriores fueron elegidos debido al alto grado de confiabilidad (Bosco et al., 1982; Rodríguez-Rosell et al., 2017).

Previamente a las ejecuciones de los saltos verticales se llevó a cabo un calentamiento que consistía en realizar movilidad de rodilla y cadera. Tras ello, los participantes realizaron 4-5 media sentadillas sin carga y seguidamente sentadilla isométrica durante 5 segundos. Después, cada participante realizó dos saltos de prueba. Cada prueba de salto vertical se repitió 2 veces y se seleccionó el mejor para su posterior análisis. Hubo 30 segundos de descanso entre repeticiones. En todo momento había dos evaluadores para controlar que la acción de salto vertical se realizaba correctamente.

Tras el calentamiento y los saltos de prueba, se llevó a cabo el primer salto SJ. Los participantes iniciaban el movimiento desde una posición de sentadilla isométrica de 90°, la cual fue medida mediante un goniómetro verificar el ángulo de las rodillas, y las manos apoyadas en la cadera en forma de jarra para evitar la influencia de los brazos en el salto. Partiendo desde esa posición, los sujetos debían realizar un salto sin contra movimiento a la mayor intensidad posible extendiendo las rodillas y los tobillos.

Respecto al salto CMJ, los participantes iniciaron la ejecución partiendo desde una posición erguida, con los pies abiertos a la altura de la anchura de los hombros y las manos apoyadas en la cadera en forma de jarra. Desde esta posición, los sujetos realizaban una flexión-extensión de rodilla en una sola secuencia seguida de un salto de máxima intensidad posible.

Mediante la plataforma de células fotoeléctricas se obtuvieron datos de la altura y tiempo de vuelo. Además, se calculó la potencia de ambos saltos de forma indirecta mediante las fórmulas de Sayers et al., (1999) que se presentan a continuación:

Pico de potencia SJ

$$(60,7) \times (\text{altura de salto [cm]}) + 45,3 \times (\text{peso corporal [kg]}) - 2055$$

Pico de potencia CMJ

$$(51,9) \times (\text{altura de salto [cm]}) + 48,9 \times (\text{peso corporal [kg]}) - 2007$$

3.9.2. Valoración de la fuerza isométrica

La fuerza isométrica fue evaluada en el miembro superior e inferior. A continuación, se detallan los procedimientos.

Fuerza isométrica del miembro superior

La fuerza isométrica del miembro superior fue evaluada mediante prensión manual. Para ello, se realizó un calentamiento que consistía en movilidad de brazo y muñeca seguida de 10 presiones continuadas a una pelota de goma. Para la valoración se utilizó un dinamómetro (Takei A5401, Tokio, Japón) el cual era adaptado en función del tamaño de su mano según la comodidad subjetiva del participante.

Tras la adaptación, los participantes debían realizar una contracción máxima con el codo extendido y el dinamómetro próximo a la parte externa de la cadera. La contracción tenía una duración de 3 segundos sin flexionar el codo. Se valoró la mano izquierda y derecha de cada participante. Cada participante realizó dos intentos y se seleccionó el mejor resultado para su análisis. Hubo 30 segundos de descanso entre intentos.

Fuerza isométrica del miembro inferior

Se realizaron valoraciones de la fuerza isométrica de la espalda y piernas mediante un dinamómetro (Takei tkk 5402, Tokio, Japón). Al igual que en la anterior valoración, se realizaron dos intentos y se seleccionó el mejor para el análisis. Además, hubo 30 segundos de descanso entre intentos.

Para la valoración de la fuerza isométrica de piernas los participantes se subían al dinamómetro cogiendo el mango de agarre mientras mantenían una posición de sentadilla flexionando las rodillas hasta aproximadamente 90° y manteniendo la espalda recta. La altura del mango de agarre se reguló atendiendo a las características antropométricas del participante (altura de la rodilla). Manteniendo la posición descrita anteriormente, se animó a los sujetos a realizar la máxima contracción isométrica con las piernas manteniendo la posición de sentadilla.

Respecto a la valoración isométrica de la espalda, al igual que en el anterior procedimiento, los sujetos debían subirse al dinamómetro. Sin embargo, en esta ocasión debían mantener las rodillas extendidas y flexionar la columna aproximadamente 15°

hacia adelante en relación con la cadera. Manteniendo esa posición, los sujetos debían realizar una máxima extensión de columna sujetando el mango de agarre del dinamómetro.

3.9.3. Test incremental máximo en tapiz rodante

Después de realizar las anteriores valoraciones los participantes del estudio realizaron un test de esfuerzo máximo en tapiz rodante (Ergofit Trac Alpin 4000, Germany) equipado con un analizador de gases (Geratherm Respiratory GMBH, Ergostik, Ref 40.400, Corp Bad Kissingen) y pulsómetro (Polar® H10, Kempele, Finland). Todas las pruebas se realizaron en condiciones atmosféricas similares (18 a 25 °C y 45 a 55 % de humedad relativa).

El protocolo del test de esfuerzo máximo consistía en incrementos de 1 km/h cada minuto hasta llegar a la extenuación comenzando a una velocidad de 7 km/h con una pendiente estable de 1%. Previamente, los participantes realizaban un calentamiento durante 15 minutos a una velocidad de 6 km/h. Para considerar la prueba válida se establecieron los siguientes parámetros: a) coeficiente respiratorio superior a 1,05 y b) meseta en el parámetro de consumo de oxígeno. Se registraron los siguientes parámetros para su posterior análisis: frecuencia cardíaca en reposo, frecuencia cardíaca máxima, tiempo total, velocidad máxima, consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}) (absoluto y relativo), consumo absoluto máximo de dióxido de carbono (VCO_{2max}), pulso de oxígeno y volumen expirado.

3.10. *Recolección de las muestras sanguíneas y urinarias*

Los días previos a las valoraciones se les facilitaba a los preparados físicos de cada conjunto el kit aposán (envase + tubo) para repartirlos a los jugadores con el objetivo de recolectar la orina. Los participantes acudían al laboratorio los días de valoración entre las 8:00 y 8:30 a.m en ayunas, con los botes y tubos llenos con la primera orina del día.

Se recolectaron 9 mL con la primera orina del día en tubos BD Vacutainer. Los tubos y envases (100 mL) con la orina sobrante se congelaron a -80 °C hasta su análisis. Antes del día de análisis, todas las muestras se descongelaron y homogeneizaron mediante agitación.

Respecto a la extracción sanguínea, se obtuvieron 15 mL de sangre venosa de cada participante utilizando una jeringa de 20 mL de plástico (Injekt, Braun, Melgusen, Alemania) y una aguja de palomilla esteril G21 (Mirage Pic Solution, Trieste, Italia). Del total, 2 mL se recolectaron en tubos vacutainer con ácido etilendiaminotetraacético para determinar los parámetros hematológicos y 5 mL se recolectaron en tubos con aceleradores de coagulación para el análisis bioquímico y hormonal. Los 8 mL restantes se recolectaron en dos tubos vacutainer de 4 mL con citrato sódico para la determinación de los EM en los diferentes compartimentos biológicos. Se recolectaron dos tubos para la determinación de EM con el objetivo de tener muestras sobrantes en el caso de que hubiera alguna pérdida/error de análisis. Las técnicas para obtener el plasma, eritrocitos y plaquetas son similares a las reportadas en otros estudios del grupo de investigación previamente publicados (Toro-Román et al., 2021; Toro-Román et al., 2022).

Para la obtención del plasma, se tomó uno de los dos tubos vacutainer con citrato sódico libre de metal obtenidos previamente y se centrifugó a 1800 revoluciones por minuto (rpm) durante 8 min a temperatura ambiente. El plasma rico en plaquetas obtenido se recogió en un tubo de polipropileno libre de metal (previamente lavado con ácido nítrico diluido) mediante una pipeta (Steinber Systems, SBS-PIP100, Polonia) y se centrifugó durante 10 min a 3000 rpm. El plasma se alicuotó en tubos Eppendorf de 1,5 mL (previamente lavado con ácido nítrico diluido) mediante pipeta y se dejó reposar a -80 °C hasta su posterior análisis. A las plaquetas que quedaban adheridas al fondo del tubo se le añadieron un mililitro de agua pura (Mili-Q) y se agitó en un vortex para su mezcla. La mezcla se traspasó a un tubo Eppendorf y se almacenó a -80 °C.

Los eritrocitos se extrajeron del resto de la sangre que quedaba tras separar el plasma rico en plaquetas. Los eritrocitos se lavaron tres veces con cloruro de sodio (NaCl) al 0,9%. Luego se alicuotaron mediante pipetas en tubos Eppendorf de 1,5 mL (previamente lavados con ácido nítrico diluido) y se conservaron a -80 °C hasta el análisis bioquímico

3.11. Parámetros hematológicos, bioquímicos, hormonales y hierro sérico

Para determinar los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales se utilizaron 2 mL de sangre. Todas las determinaciones fueron realizadas en un laboratorio

de análisis clínico, debidamente acreditado, de la ciudad de Cáceres. Los equipos y las técnicas fueron facilitadas por el personal de dicho laboratorio.

Para la determinación de los parámetros hematológicos se utilizó un contador de células automático (Coulter Electronics LTD, Model CPA; Northwell Drive, Luton, Reino Unido).

Por otro lado, para determinar los parámetros bioquímicos se separó el suero de los eritrocitos y la determinación en suero fue realizada mediante técnicas espectrofotométricas (UV/Vis, 4260/50). Mediante la misma técnica, el laboratorio clínico determinó las concentraciones de Fe en el suero obtenido.

Por último, las hormonas femeninas fueron analizadas también en suero mediante técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas con un espectrofotómetro.

3.12. *Determinación de los elementos minerales*

Las técnicas para obtener los EM en los diferentes compartimentos biológicos son similares a las reportados en otros estudios del grupo de investigación previamente publicados (Toro-Román et al., 2021; Toro-Román et al., 2022). El método ha sido desarrollado íntegramente en el Servicio de Análisis Elemental y Molecular de los Servicios de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Extremadura en Badajoz.

La determinación de los EM fue realizada mediante espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) (7900; Agilent Tech., California, Estados Unidos). El equipo dispone de un detector de masas simultáneo dual rápido, un cuadrupolo hiperbólico de alta frecuencia y un sistema de octópodo de reacción de cuarta generación permite el funcionamiento en dos modos: sin gas de reacción o de discriminación por energía cinética (con helio como gas de colisión). Tanto el gas de colisión como el argón para el plasma tienen una pureza del 99.999% y han sido suministrados por Praxair (Madrid, Spain).

Además, posee un generador de frecuencia de 27MHz de frecuencia variable, cámara de nebulización refrigerada por Peltier y sistema de introducción de muestra de bajo flujo, lentes iónicas Off-Axis y una interfase de extracción con alta transmisión y tolerancia a matriz.

La linealidad de las curvas de calibración para indio en plasma, orina, eritrocitos y plaquetas fueron superior a 0,985. Los valores de los materiales estándar de este elemento (10 µg/L) utilizados para los controles de calidad coincidieron con coeficientes de variación intra e interensayo inferiores al 5%.

Tabla 7. Condiciones de operación del ICP-MS.

Parámetros	Valores
Potencia RF (W)	1550
Plasma Mode	General Purpose
Omega Bias (V)	-120
Omega lens (V)	9,3
Extract 2 (V)	-245
Deflect Lens (V)	1.0
Energy discrimination (V)	5
Gas de Colisión (mL/min)	5
Cell Entrance (V)	-40
Cell Exit (V)	-60

3.12.1. Preparaciones de las muestras

Muestras plasmáticas y urinarias

Los reactivos utilizados en el desarrollo del método y análisis de las muestras fueron ácido nítrico 69% Trace select de Fluka y agua ultrapura obtenida de un sistema Milli-Q fabricado por Millipore (USA). Como patrón interno se usó una disolución de Rhodio de 400 µg/L que se introdujo de forma continua en el equipo con ayuda de la bomba peristáltica de tres canales.

Se pasó de 0,20 mL de las muestras a un volumen de 5 mL con una disolución ácido nítrico al 1% preparada a partir de uno comercial del 69% Trace select de Fluka.

El equipo se calibró con varios patrones preparados a partir de disoluciones comerciales multielementales de patrones certificados.

Muestras eritrocitarias y plaquetarias

Los reactivos utilizados en el desarrollo del método y análisis de las muestras fueron ácido nítrico 69%, H₂O₂, ambos de Trace Select de Fluka de y agua ultrapura obtenida de un sistema Milli-Q fabricado por Millipore (USA). Como patrón interno se usó una disolución de Ytrio y Rhodio de 400 µg/L que se introdujo de forma continua en el equipo con ayuda de la bomba peristáltica de tres canales.

Las muestras fueron pesadas en una balanza de precisión y se trasvasaron en los tubos de vidrio para su digestión por microondas. Se añadieron 3,5 mL de una mezcla 3:1 de ácido nítrico 69% Trace Select de Fluka y H₂O₂ también Trace Select.

Las muestras fueron digeridas por un microondas Milestone Ultrawave con el siguiente programa:

Tabla 8. Programa de digestión de muestras eritrocitarias.

Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Potencia (W)	Presión (bar)
5	100	1200	70
7	130	1300	100
8	170	1300	120
10	200	1500	120
15	200	1400	120

Una vez digeridas las disoluciones resultantes se diluyeron hasta 25 mL con agua MilliQ. Tras ello, las muestras estaban listas para su análisis. El equipo se calibró con varios patrones preparados a partir de disoluciones comerciales multielementales de patrones certificados.

Límites de detección y límites de cuantificación de las muestras

Los límites de detección (LD) y los límites de cuantificación (LC) de los minerales en las diferentes matrices a lo largo de la investigación son:

Tabla 9. Límites de detección y límites de cuantificación de los minerales en las diferentes matrices.

Minerales	Matriz	LD (µg/L)	LC (µg/L)
Mn	Plasma	0,001	0,01
Fe		0,706	7,06
Cu		0,005	0,05
Zn		0,056	0,56
Se		0,110	1,10
Mo		0,018	0,18
Mn	Orina	0,005	0,05
Fe		0,630	6,30
Cu		0,012	0,12
Zn		0,019	0,19
Se		0,090	0,90
Mo		0,002	0,02
Mn	Eritrocitos	0,002	0,02
Fe		0,100	1,00
Cu		0,002	0,02
Zn		0,034	0,34
Se		0,044	0,44
Mo		0,004	0,04
Mn	Plaquetas	0,006	0,06
Fe		0,190	1,90
Cu		0,010	0,10
Zn		0,157	1,57
Se		0,023	0,23
Mo		0,0016	0,02

Mn; manganeso; Fe: hierro; Cu: cobre; Zn: zinc; Se: selenio; Mo: molibdeno; LC: límite cuantificación; LD: límite detección.

3.13. *Análisis estadísticos*

Los datos se procesaron en el programa IBM SPSS 25.0 Statistics (IBM Corp., Armonk, NY, EE. UU.) y se expresaron como media \pm desviación estándar. La normalidad de la distribución de las variables se analizó mediante el test de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante el test de Levene.

Se realizó una T de student para valorar las diferencias entre grupo en aquellos parámetros que se valoraron en una ocasión. Por otro lado, se empleó la prueba de ANOVA de dos vías (efecto de sexo y efecto valoración) para mostrar las diferencias cuando se evaluaba a ambos grupos (efecto sexo) en las diferentes valoraciones (efecto valoración), así como la interacción entre las dos variables independientes (valoración y sexo). Igualmente, se empleó el test de ANOVA de una vía para determinar las diferencias a lo largo de las valoraciones en las hormonas femeninas. En la variable valoración (momentos temporales en el análisis longitudinal) se aplicó la prueba post-hoc de Bonferroni con el objetivo de determinar las diferencias específicas ya que se realizaron más de dos valoraciones.

El tamaño del efecto se analizó en las tabla de resultados de los EM usando eta cuadrado parcial (η^2), donde 0,01–0,06 era un tamaño de efecto pequeño, 0,06–0,14 era un tamaño de efecto moderado y $>0,14$ era un tamaño de efecto grande (Hopkins et al., 2009). Las diferencias de $p \leq 0,05$ y $p \leq 0,01$ se consideraron estadísticamente significativas y muy significativas respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTS AND DISCUSSION

4. Resultados y discusión

Con el objetivo de facilitar la comprensión de los hallazgos de la investigación, los resultados serán expuestos junto con su respectiva discusión. Se mostrarán inicialmente los resultados obtenidos en las diferentes valoraciones de condición física. Tras ello, se reflejarán los resultados hematológicos, bioquímicos y hormonales. Por último, siendo la temática de la presente tesis, se mostrarán las concentraciones de EM en los diferentes compartimentos en orden alfabético.

4.1. *Antropometría, composición corporal y actividad física*

En la tabla 10 se presentan los resultados obtenidos en la antropometría, composición corporal y actividad durante la investigación. Cuando se comparó entre sexos, se observó que había diferencias significativas en la altura, peso, $\Sigma 6$ pliegues, y volumen corporal, porcentajes graso, muscular y óseo, así como el peso graso, muscular y óseo ($p \leq 0,05$). Respecto a las diferencias entre las valoraciones, hubo diferencias en $\Sigma 6$ pliegues, porcentaje graso y porcentaje muscular ($p \leq 0,05$). Concretamente, entre la valoración 1 y 2 ($p \leq 0,05$). La actividad física a lo largo de la investigación fue similar en ambos grupos. Hubo interacciones (sexo x medida) significativas en el sumatorio de pliegues, peso graso porcentaje graso y porcentaje muscular ($p \leq 0,05$).

Tabla 10. Antropometría, composición corporal y actividad física a lo largo del estudio en los diferentes grupos.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Altura (m)	1ª valoración	1,76±0,061	1,65±0,06++			
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-			
Peso (kg)	1ª valoración	71,50±5,93	59,58±7,17			
	2ª valoración	71,95±5,87	60,44±6,77	<0,001	0,748	0,931
	3ª valoración	72,80±5,68	66,39±8,99			
Σ6 pliegues (mm)	1ª valoración	60,34±12,35	94,62±18,54			
	2ª valoración	60,12±12,61	76,72±15,13*	<0,001	0,009	0,016
	3ª valoración	56,85±12,12	83,81±18,75			
Grasa (%)	1ª valoración	9,46±1,30	18,16±2,74			
	2ª valoración	9,45±1,31	15,56±2,16*	<0,001	0,005	0,007
	3ª valoración	9,14±1,23	16,54±2,68			
Músculo (%)	1ª valoración	50,80±1,67	45,62±3,03			
	2ª valoración	50,62±1,34	48,36±2,76*	<0,001	0,022	0,013
	3ª valoración	51,04±1,28	47,54±3,54			
Óseo (%)	1ª valoración	15,76±1,25	15,14±1,29			
	2ª valoración	15,73±1,17	15,23±1,62	0,014	0,849	0,960
	3ª valoración	15,64±1,09	15,00±1,55			
Grasa (kg)	1ª valoración	6,65±1,16	10,91±2,2			
	2ª valoración	6,87±1,26	9,40±1,82	<0,001	0,127	0,029
	3ª valoración	6,71±1,14	9,95±1,75			
Músculo (kg)	1ª valoración	36,42±3,41	27,37±3,93			
	2ª valoración	36,41±3,22	29,24±4,06	<0,001	0,285	0,465
	3ª valoración	37,28±3,27	28,86±4,74			
Óseo (kg)	1ª valoración	11,26±0,89	9,07±0,98			
	2ª valoración	11,31±0,87	9,15±0,92	<0,001	0,915	0,879
	3ª valoración	11,33±0,91	8,98±0,98			
Volumen corporal (L)	1ª valoración	67,70±5,97	55,80±7,35			
	2ª valoración	68,58±5,92	56,59±6,88	<0,001	0,777	0,999
	3ª valoración	68,52±6,54	56,63±7,38			
AF Total (MET min/semana)	1ª valoración	5646±2917	6271±3801			
	2ª valoración	5596±2063	5851±2751	0,555	0,123	0,144
	3ª valoración	5644±3026	6051±2961			

*p≤0,05 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++ p≤0,01 diferencias entre grupo (T-student); Σ; sumatorio; AF: actividad física; MET: Metabolic Equivalent of Task/Equivalente Metabólico de Tarea.

El éxito en los deportes se ha asociado con características morfológicas específicas (Eston & Reilly, 2001). Las características morfológicas y la composición corporal son aspectos claves en deportes colectivos como el fútbol (Gardasevic et al., 2019). Es importante realizar un seguimiento de las características antropométricas y de composición corporal de los jugadores y jugadoras ya que son modificados a lo largo de la temporada deportiva (Devlin et al., 2017). El nivel de juego, la edad, la posición en el campo y el sexo, entre otros, son factores que influyen en la antropometría y composición corporal (Reilly et al., 1990).

La composición corporal está estrechamente relacionada con el rendimiento en test de condición física en futbolistas (Canhadas et al., 2010). Valores aumentados de grasa actúan como un peso adicional disminuyendo el rendimiento (Gil et al., 2007). Un bajo porcentaje de grasa está relacionado con mejores tiempos en sprint, aceleración, cambio de dirección y salto (Dodd & Newans, 2018). Es sabido que un aumento de la masa grasa compromete el rendimiento, mientras que un aumento de la masa muscular puede promover el desarrollo de la fuerza y la potencia, que son importantes para el rendimiento de los jugadores (Silvestre et al., 2006).

En general, los futbolistas masculinos del presente estudio mostraron menor porcentaje y peso graso en comparación con futbolistas serbios (Spehnyak et al., 2021), australianos (Devlin et al., 2017) e italianos seniors (Milanese et al., 2015). Sin embargo, en los dos últimos trabajos la composición corporal se determinó mediante absorciometría de rayos X de energía dual. Respecto a las jugadoras femeninas, en general, las participantes del presente estudio mostraban menor peso a lo largo de las tres valoraciones en comparación con jugadoras portuguesas de similar categoría (Oliveira et al., 2021) o estadounidenses de segunda división (Peart et al., 2018).

Al igual que ocurre en el presente estudio, otros autores reportaron cambios a lo largo de la temporada deportiva en la composición corporal. Por ejemplo, Devlin et al., (2017) reportaron descensos en el porcentaje y peso graso y aumento en la masa libre de grasa a lo largo de la temporada deportiva en futbolistas masculinos australianos. Igualmente, Oliveira et al., (2021) observaron cambios positivos durante tres valoraciones realizadas a lo largo de la temporada deportiva en el porcentaje y peso graso.

Las diferencias entre sexos mostradas en la tabla anterior están en la misma línea que las reportadas por autores previos en futbolistas. Las diferencias entre sexos en la

antropometría y composición corporal están en línea con estudios previos en futbolistas (Mascherini et al., 2018) y otros deportes (Cichy et al., 2020; Fields et al., 2018; Melvin et al., 2014; Pradas et al., 2021). Mascherini et al., (2018) observaron diferencias significativas entre sexos en altura, peso, suma de pliegues, masa grasa, masa muscular y masa libre de grasa. Igualmente, Baker et al., (2020) reportaron diferencias en el peso corporal, talla, masa grasa y porcentaje graso. Del mismo modo, Taketomi et al., (2021) informó que los futbolistas masculinos eran más altos, más pesados y tenían menor masa grasa y porcentaje de grasa corporal, y mayor masa muscular esquelética en comparación con las futbolistas femeninas.

Las diferencias entre sexos en composición corporal se hacen evidentes durante la pubertad, donde los hombres presentan un mayor peso muscular en comparación a las mujeres (Kanehisa et al., 1994). Estas diferencias se atribuyen en gran parte a la acción de las hormonas esteroides sexuales, impulsores de los dimorfismos durante el desarrollo (Bredella, 2017). Sin embargo, a pesar de existir diferencias fisiológicas entre sexos (Charkoudian & Joyner, 2004), la hipótesis de que estas diferencias disminuyen cuando se hacen comparaciones entre hombres y mujeres altamente entrenados existe desde hace tiempo (Mascherini et al., 2018).

4.2. Condición física

4.2.1. Salto vertical y fuerza isométrica

En la tabla 11 y 12 se muestran los resultados obtenidos en el salto vertical, fuerza de prensión manual y fuerza isométrica del miembro inferior en las diferentes valoraciones realizadas. Hubo diferencias muy significativas entre sexos en todos los parámetros analizados ($p \leq 0,01$). Respecto a las diferencias entre las valoraciones realizadas a lo largo del estudio, se observaron diferencias significativas en la fuerza isométrica máxima de piernas y espalda ($p \leq 0,05$). Concretamente, las diferencias en la fuerza isométrica máxima de piernas fueron entre las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$) y en la fuerza isométrica máxima de espalda fueron entre las valoraciones 1 y 2 ($p \leq 0,01$), así como las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$), tanto en niveles absolutos como relativo a la masa muscular.

Tabla 11. Resultados obtenidos las pruebas de salto vertical a lo largo del estudio.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
SJ (cm)	1ª valoración	50,52±6,48	35,65±5,82	<0,001	0,515	0,602
	2ª valoración	49,73±4,21	37,08±5,14			
	3ª valoración	50,90±6,2	38,00±5,49			
SJ (seg)	1ª valoración	0,641±0,041	0,539±0,045	<0,001	0,496	0,823
	2ª valoración	0,639±0,030	0,530±0,064			
	3ª valoración	0,645±0,038	0,555±0,040			
SJ (W)	1ª valoración	4239,73±554,97	2802,65±545,09	<0,001	0,365	0,754
	2ª valoración	4231,86±338,68	2947,41±462,16			
	3ª valoración	4336,95±461,58	3014,55±563,76			
SJ (W/Kg masa corporal)	1ª valoración	59,68±5,28	47,13±6,2	<0,001	0,581	0,576
	2ª valoración	58,91±3,94	48,41±5,00			
	3ª valoración	59,80±5,09	49,30±5,36			
SJ (W/Kg masa muscular)	1ª valoración	117,02±11,84	102,97±13,61	<0,001	0,614	0,537
	2ª valoración	115,71±8,51	99,83±10,17			
	3ª valoración	114,67±9,40	103,49±10,76			
CMJ (cm)	1ª valoración	56,94±6,39	40,21±7,46	<0,001	0,571	0,717
	2ª valoración	55,34±4,72	39,70±4,18			
	3ª valoración	56,05±6,39	41,45±5,80			
CMJ (seg)	1ª valoración	0,683±0,037	0,569±0,055	<0,001	0,618	0,600
	2ª valoración	0,670±0,028	0,569±0,299			
	3ª valoración	0,675±0,039	0,572±0,043			
CMJ (W)	1ª valoración	4424,47±438,38	2974,60±625,69	<0,001	0,630	0,852
	2ª valoración	4382,60±315,18	3028,08±449,84			
	3ª valoración	4460,70±424,49	3122,20±591,34			
CMJ (W/Kg masa corporal)	1ª valoración	62,26±4,85	50,04±6,92	<0,001	0,770	0,704
	2ª valoración	61,13±3,76	49,87±3,55			
	3ª valoración	61,35±4,76	50,95±4,81			
CMJ (W/Kg masa muscular)	1ª valoración	122,07±10,15	108,90±14,70	<0,001	0,124	0,318
	2ª valoración	119,83±8,46	102,17±8,37			
	3ª valoración	118,35±9,16	107,31±10,89			

SJ: squat jump ; CMJ: counter movement jump.

Como se comentó anteriormente, el fútbol es un deporte intermitente donde se combinan acciones cortas de alta intensidad con acciones duraderas de baja intensidad (Stølen et al., 2005). La fuerza explosiva en forma de salto vertical es funcional para un rendimiento óptimo en el fútbol y se ha considerado dentro de las valoraciones de condición física y selección de talentos en el mundo futbolístico (Stølen et al., 2005). SJ

y CMJ están relacionados con el rendimiento en diferentes pruebas en equipos de fútbol de élite (Mujika et al., 2009). El test de salto vertical es muy utilizado en el mundo del fútbol por su viabilidad, confiabilidad de mediciones a corto plazo y sensibilidad en los cambios durante la temporada de fútbol competitivo (Arnason et al., 2004).

A lo largo de las valoraciones no se produjeron cambios significativos en SJ y CMJ. Estos resultados son contradictorios con los reportados en futbolistas masculinos israelíes (Meckel et al., 2018) o ingleses (Caldwell & Peters, 2009). El rendimiento en el salto vertical y fuerza muscular podría mantenerse o incrementar a lo largo de la temporada debido a la ejecución regular de entrenamientos orientados a la fuerza y a la pliometría (Wisløff et al., 2004).

Los valores observados en futbolistas masculinos y masculinos eran superiores a los reportados por Loturco et al., (2020) en jugadores seniors brasileños y en jugadoras italianas (Castagna & Castellini, 2013). Las diferencias entre sexos en la altura y el tiempo de vuelo de SJ y CMJ observados en el presente estudio coinciden con trabajos previos en futbolistas italianos (Castagna & Castellini, 2013). De Araújo et al., (2020) reportaron diferencias en la altura en CMJ y SJ, estando en relación con los resultados del presente estudio. Igualmente, Mujika et al., (2009) informaron que los futbolistas masculinos mostraron mayores valores CMJ y sprint en comparación con las futbolistas femeninas. En la misma línea, (Ramírez-Campillo et al., 2016) reportaron diferencias entre sexos en el salto vertical, velocidad y lanzamiento de balón medicinal.

Los valores significativamente más altos obtenidos por lo futbolistas masculinos en SJ y CMJ podrían deberse a las diferencias antropométricas, de composición corporal y de fuerza muscular entre ambos sexos, circunstancia que también se presenta en otras disciplinas deportivas (Pradas et al., 2021). Igualmente, las diferencias en la masa muscular entre sexos también podrían explicar las discrepancias obtenidas en los datos de fuerza isométrica. Es bien sabido que los hombres tienden a tener más masa magra que las mujeres, lo que influye en los niveles de fuerza. Esta diferencia en la masa muscular podría deberse en parte al aumento significativo de hormonas como la hormona del crecimiento, el factor de crecimiento similar a la insulina-1 y los esteroides sexuales (Malina et al., 2004). Las diferencias observadas entre sexos también podrían deberse a una fuerza vertical concéntrica relativa más baja y una tasa excéntrica de desarrollo de la fuerza baja también en las mujeres a la hora de saltar (de Araújo et al., 2020). Las

diferencias en la morfología muscular de las extremidades inferiores, como el tamaño de los músculos y el ángulo de peneación podrían explicar también estas diferencias (Alegre et al., 2009).

Tabla 12. Resultados obtenidos en la fuerza de prensión manual y fuerza isométrica máxima de espalda y piernas.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Dinamometría derecha (kg)	1ª valoración	43,31±5,43	29,47±4,81	<0,001	0,505	0,870
	2ª valoración	44,56±4,66	30,54±5,29			
	3ª valoración	44,00±5,25	29,05±4,54			
Dinamometría derecha (Kg/ Kg masa muscular)	1ª valoración	1,17±0,16	1,08±0,18	<0,001	0,531	0,231
	2ª valoración	1,22±0,15	1,04±0,11			
	3ª valoración	1,19±0,15	1,00±0,15			
Dinamometría izquierda (kg)	1ª valoración	41,26±4,78	28,26±4,64	<0,001	0,149	0,628
	2ª valoración	42,21±5,25	29,70±4,72			
	3ª valoración	41,15±5,13	26,65±5,00			
Dinamometría izquierda (kg/Kg masa muscular)	1ª valoración	1,13±0,15	1,04±0,19	<0,001	0,104	0,600
	2ª valoración	1,15±0,14	1,00±0,13			
	3ª valoración	1,09±0,12	0,94±0,20			
Fuerza isométrica piernas (Kg)	1ª valoración	137,47±25,60	92,78±23,17	<0,001	0,024	0,667
	2ª valoración	148,65±24,39	101,08±19,11			
	3ª valoración	156,50±23,10++	102,45±28,66++			
Fuerza isométrica piernas (Kg/Kg masa muscular)	1ª valoración	3,83±0,70	3,34±0,72	<0,001	0,176	0,587
	2ª valoración	4,05±0,63	3,39±0,57			
	3ª valoración	4,24±0,50	3,46±0,78			
Fuerza isométrica espalda (Kg)	1ª valoración	116,42±19,78	79,60±16,35	<0,001	<0,001	0,145
	2ª valoración	131,69±16,21**	96,04±20,18**			
	3ª valoración	137,75±23,10++	87,10±19,43++			
Fuerza isométrica espalda (Kg/Kg masa muscular)	1ª valoración	3,29±0,53	2,90±0,52	<0,001	0,011	0,219
	2ª valoración	3,58±0,53**	3,24±0,59**			
	3ª valoración	3,70±0,50++	2,98±0,48			

**p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 3ª.

Respecto a los valores obtenidos en la fuerza isométrica inferior y superior, los participantes del estudio mostraron valores similares a estudiantes universitarios físicamente activos (Ben Mansour et al., 2021) o sujetos sano (Angst et al., 2010). Las diferencias de fuerza entre sexos dependen de los grupos musculares estudiados. A nivel de los miembros inferiores, el nivel de fuerza de la mujer corresponde al 60-80% del desarrollado por el hombre frente al 60% a nivel de los miembros superiores (Miller et

al., 1993). Las variaciones de fuerza y potencia en hombres y mujeres aparecen tanto en los miembros inferiores como en los miembros superiores cuando el rendimiento se expresan en valores absolutos (Heyward et al., 1986). Sin embargo, cuando son expresados en relación con la masa corporal o la masa magra, estas diferencias desaparecen para las extremidades inferiores mientras que persisten para las extremidades superiores (Weber et al., 2006). Contrariamente a lo anterior, este hecho no se produjo en el presente estudio ya que las diferencias se mantenían. Otros factores (estructurales, hormonales, enzimáticos y neurológicos) podrían explicar las diferencias entre sexos incluso cuando los parámetros se expresaban en valores relativos a la masa muscular (Weber et al., 2006). Entre los factores estructurales, el área de la sección transversal del músculo, la tensión específica (fuerza por área de la sección transversal), la rigidez del tendón, el ángulo de penetración, la longitud de la fibra y la longitud del fascículo podrían explicar las diferencias entre sexos en las capacidades de generación de fuerza (Perez-Gomez et al., 2008). Además, los hombres tienen una potencia muscular absoluta más alta que las mujeres, lo cual es un factor clave en el rendimiento (Green, 1995).

4.2.2. Test incremental máximo en tapiz

En la tabla 13 se representan los valores obtenidos en las pruebas incrementales máximas realizadas a lo largo del estudio. Se observaron diferencias significativas entre grupos en el tiempo total, velocidad máxima, VO_{2max} absoluto, VO_{2max} en relación a la masa corporal, VO_{2max} en relación a la masa muscular, VO_{2max} relativo a la altura y VO_{2max} relativo al número de hemoglobina, VCO_{2max} , coeficiente respiratorio, FC_{max} , pulso de oxígeno y volumen expirado ($p \leq 0,05$). Respecto a las diferencias entre las valoraciones realizadas, hubo diferencias significativas en VO_{2max} relativo al peso corporal y coeficiente respiratorio ($p \leq 0,05$). Concretamente, las anteriores diferencias se observaron entre las valoraciones 1 y 2 en VO_{2max} ($p \leq 0,05$) y entre las valoraciones 1 y 2, así como 1 y 3 en el caso de los valores del coeficiente respiratorio ($p \leq 0,01$). Además, cuando se analizó la interacción entre el sexo y la medida hubo diferencias significativas en el coeficiente respiratorio ($p \leq 0,05$).

Tabla 13. Resultados obtenidos en las pruebas incrementales máximas a lo largo del estudio en ambos equipos.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Tiempo total (min)	1ª valoración	12,41±1,58	9,18±1,12			
	2ª valoración	12,38±1,48	8,57±1,21	<0,001	0,117	0,345
	3ª valoración	12,16±1,89	8,11±1,64			
Velocidad máxima (km/h)	1ª valoración	19,17±1,72	15,73±1,16			
	2ª valoración	19,22±1,44	15,20±1,10	<0,001	0,289	0,315
	3ª valoración	19,15±1,98	14,91±1,37			
VO_{2max} (L/min)	1ª valoración	3,64±0,30	2,28±0,40			
	2ª valoración	3,78±0,39	2,46±0,28	<0,001	0,143	0,420
	3ª valoración	3,58±0,40	2,45±0,28			
VO_{2max} (L/min/gr hemoglobina/dL)	1ª valoración	2,57±0,033	1,84±0,041			
	2ª valoración	2,58±0,026	1,80±0,025	<0,001	0,067	0,157
	3ª valoración	2,28±0,023	1,78±0,023			
VO_{2max} (L/m)	1ª valoración	2,10±0,20	1,40±0,25			
	2ª valoración	2,15±0,22	1,48±0,18	<0,001	0,337	0,296
	3ª valoración	2,00±0,29	1,48±0,17			
VO_{2max} (ml/min/Kg masa corporal)	1ª valoración	52,21±2,91	39,72±6,22			
	2ª valoración	54,79±3,70*	42,32±4,19*	<0,001	0,032	0,268
	3ª valoración	53,30±5,11	41,06±4,51			
VO_{2max} (ml/min/Kg masa muscular)	1ª valoración	101,51±8,86	82,86±20,12			
	2ª valoración	104,54±5,88	86,41±10,49	<0,001	0,253	0,245
	3ª valoración	96,37±8,75	87,59±8,91			
Volumen máximo de dióxido de carbono (L/min)	1ª valoración	4,05±0,36	2,68±0,44			
	2ª valoración	3,85±0,80	2,64±0,31	<0,001	0,377	0,710
	3ª valoración	3,87±0,41	2,61±0,30			
Coefficiente respiratorio	1ª valoración	1,12±0,03	1,16±0,04			
	2ª valoración	1,07±0,02**	1,08±0,02**	0,042	<0,001	0,017
	3ª valoración	1,08±0,02++	1,09±0,03++			
Frecuencia cardíaca (lpm)	1ª valoración	187,78±6,52	183,33±7,34			
	2ª valoración	188,90±5,82	179,75±8,11	<0,001	0,177	0,204
	3ª valoración	186,90±7,42	176,90±8,00			
Pulso de oxígeno (mL/latido)	1ª valoración	19,44±1,85	12,48±2,24			
	2ª valoración	20,08±2,34	13,80±1,63	<0,001	0,109	0,287
	3ª valoración	19,21±2,221	13,90±1,66			
Volumen máximo expirado (L/min)	1ª valoración	134,73±13,75	81,40±15,89			
	2ª valoración	136,04±17,07	89,90±12,06	<0,001	0,304	0,542
	3ª valoración	134,65±15,93	83,40±11,36			

*p≤0,05 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; **p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 3ª; VO_{2max}: volumen máximo de oxígeno.

La capacidad aeróbica es uno de los aspectos más importantes de la condición física en el fútbol. Una aptitud aeróbica bien desarrollada ayuda a los jugadores a mantener acciones repetitivas de alta intensidad durante un partido de fútbol, a acelerar el proceso de recuperación y a mantener su condición física en un nivel óptimo durante todo el partido y la temporada (Stølen et al., 2005). En relación a lo anterior, Wisloeff et al., (1998) demostraron una diferencia significativa en VO_{2max} entre los equipos de elite que ocupaban los puestos más alto y bajo en la clasificación.

Los resultados obtenidos en VO_{2max} en jugadores masculinos se encuentra dentro del rango reportado en el metaanálisis de Slimani et al., (2019). Sin embargo, las jugadoras del presente estudio presentaron valores más bajo en comparación con otros estudios (Esco et al., 2014; Miller et al., 2007). Respecto a la evolución a lo largo de la temporada, Kalapotharakos et al., (2011) reportaron incrementos en VO_{2max} y velocidad máxima alcanzada en futbolistas masculinos griegos. Igualmente, Metaxas et al., (2006) reportaron mejoras en VO_{2max} tras la pretemporada.

Es posible que los cambios observados en los parámetros ergoespirométricos sean debido a la combinación de una menor frecuencia de entrenamiento de resistencia y volumen semanal a lo largo de la temporada. En pretemporada y al inicio de la temporada, es característico el trabajo aeróbico con el objetivo de crear una base que permita mantener los esfuerzo durante toda la temporada. También existe la posibilidad de que la disminución del rendimiento se deba por un aumento de la fatiga a lo largo de la temporada de competición (Miller et al., 2007).

A la hora de comparar entre sexos se produjo diferencias entre sexos en un gran número de parámetros ergoespirométricos analizados. La ventaja masculina en el rendimiento del ejercicio de resistencia se ha atribuido principalmente a la diferencia de sexo observada en VO_{2max} (Bassett Jr, 2002), un determinante clave del rendimiento aeróbico. Incluso las mujeres elite tienen valores de VO_{2max} aproximadamente 10 % más bajos que los observados en hombres de categoría elite similar cuando se expresan en mL/kg/min (Bassett Jr, 2002). Un metaanálisis desarrollado en 1980 reportó que los hombres presentaban de promedio un VO_{2max} del 12 a 15 % más alto en comparación con las mujeres (Sparling, 1980).

Las mujeres tienden a tener pulmones más pequeños en comparación con los hombres de la misma altura y edad y vías respiratorias más pequeñas cuando se comparan

con la altura (Dominelli et al., 2018). Debido a la disminución del tamaño de las vías respiratorias, las mujeres deben superar mayores fuerzas de resistencia que conducen a un mayor trabajo de respiración para la ventilación dada. Además, los diámetros de las vías respiratorias y los volúmenes pulmonares más pequeños dan como resultado tasas de flujo espiratorio máximo más bajas, reduciendo la capacidad de ventilación de las mujeres en comparación con los hombres (Santisteban et al., 2022). Por todo lo anterior, se optó por expresar los valores de VO_{2max} en relación con parámetros antropométricos (altura, peso corporal y peso muscular), así como la hemoglobina. Sin embargo, las diferencias entre sexos seguían persistiendo. Por lo tanto, es posible que, como se han comentado anteriormente, factores hormonales o enzimáticos expliquen las diferencias entre sexos obtenidas en el presente estudio.

Durante el ejercicio de alta intensidad, las mujeres alcanzan volúmenes sistólicos máximos más bajos en comparación con los hombres. Como consecuencia, se produce un gasto cardíaco máximo más bajo, ya que la FC_{max} es similar en todos los sexos (Santisteban et al., 2022). Esto a menudo se atribuye al tamaño corporal y del corazón más pequeño de las mujeres en comparación con los hombres, incluso a pesar del entrenamiento físico prolongado. Varios estudios han examinado las dimensiones del corazón en grandes grupos de atletas de élite. En un estudio, los corazones de 947 atletas italianos (~22 % mujeres) se midieron mediante ecocardiografía para caracterizar los límites superiores de la hipertrofia inducida por el ejercicio en estos sujetos (Pelliccia et al., 1991). Descubrieron que los hombres que participaban en modalidades aeróbicas tenían un grosor de la pared del ventrículo izquierdo sustancialmente mayor que cualquiera de los otros atletas, alcanzando hasta 16 mm de diámetro. Por otro lado, las mujeres, independientemente de la modalidad deportiva, nunca excedieron un grosor de la pared del ventrículo izquierdo de 11 mm (Pelliccia et al., 1991).

4.3. *Ingesta nutricional*

Las tablas 14 y 15 reflejan los resultados obtenidos en la ingesta de agua, macronutrientes y micronutrientes (ácido fólico, vitamina B12, Cu, Fe, Mn, Mo, Se, Zn) a lo largo de la temporada en ambos equipos. Se observaron diferencias significativas entre sexos en la ingesta de energía y proteínas, siendo superior en los futbolistas masculinos ($p \leq 0,05$).

Tabla 14. Ingesta diaria estimada de agua y macronutrientes de los participantes durante la investigación.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Agua (mL)	1ª valoración	764,3±226,5	731,4±165,5	0,461	0,926	0,518
	2ª valoración	791,7±201,3	756,7±216,4			
	3ª valoración	779,5±225,6	760,4±201,1			
Energía (Kcal)	1ª valoración	1796,0±420,0	1578,1±316,2	0,038	0,497	0,317
	2ª valoración	1932,2±312,5	1681,5±427,3			
	3ª valoración	1882,7±358,6	1697,3±386,1			
Proteínas (g)	1ª valoración	106,1±25,5	90,4±21,6	0,047	0,469	0,218
	2ª valoración	115,5±23,4	96,2±18,3			
	3ª valoración	108,9±24,8	92,6±20,4			
Lípidos (g)	1ª valoración	54,8±19,1	48,3±12,3	0,116	0,241	0,471
	2ª valoración	64,1±15,4	55,6±15,3			
	3ª valoración	58,6±17,4	60,3±20,6			
Hidratos de carbono (g)	1ª valoración	231,0±69,1	206,1±81,3	0,471	0,856	0,683
	2ª valoración	235,8±60,3	241,5±56,1			
	3ª valoración	242,0±57,0	235,8±61,7			

La nutrición es importante para optimizar el rendimiento durante el entrenamiento y la competición, mejorar y acelerar la recuperación, lograr y mantener un peso corporal y una condición física óptimos, y minimizar el riesgo de lesiones y enfermedades (García-Rovés et al., 2014). La naturaleza de los entrenamientos, los partidos y los períodos de recuperación contribuyen a realizar diferentes estrategias nutricionales.

En el fútbol, las demandas fisiológicas se basan en los sistemas de producción de energía aeróbicas y anaeróbicas, generando una reducción de las reservas de glucógeno muscular (Leão et al., 2022). Los enfoques nutricionales para garantizar reservas adecuadas de glucógeno para cubrir los costos de energía del entrenamiento y/o la competencia están altamente respaldados para mejorar el rendimiento, retrasar la aparición de la fatiga, reducir el riesgo de lesiones y apoyar la adaptación y recuperación fisiológica (Thomas et al., 2016).

La ingesta de macronutrientes en el fútbol ha sido objeto de estudio durante años (Steffl et al., 2019). Al inicio, en los años ochenta, la discusión se ha centrado principalmente en la mayor ingesta diaria de carbohidratos (Hawley et al., 1994; Shephard

& Leatt, 1987). En los años 90, se sugirió que la cantidad correcta de ingesta de carbohidratos para un óptimo rendimiento y maximizar el almacenamiento de glucógeno era de 7-10 g/Kg de masa corporal (Clark, 1994). Mas tarde, la Asociación Americana de Dietética recomendó 6–10 g/Kg/día de carbohidratos (Thomas et al., 2016), siendo una de las recomendaciones actuales más evidentes. Respecto a las proteínas, en 1994 se afirmó que una ingesta de proteínas de 1,4 a 1,7 g/Kg/día debería ser adecuada para los jugadores de fútbol (Lemon, 1994). Sin embargo, en 2016 la Asociación Americana de Dietética informó que la ingesta de proteínas en la dieta necesaria para apoyar la adaptación metabólica y el recambio de proteínas (reparación y remodelación) debe oscilar entre 1,2 a 2,0 g/Kg/día (Thomas et al., 2016). Por último, de acuerdo con la Asociación Americana de Dietética, la ingesta de grasas debe oscilar entre el 20 % y el 35 % de la ingesta total de energía (Kerksick et al., 2018).

Atendiendo a las recomendaciones anteriores, en el presente estudio, aproximadamente, ningún colectivo cumple con las recomendaciones en la ingesta de carbohidratos, siendo inferior a lo recomendado. Estos resultados son similares a los reportados por autores anteriores en futbolistas malteses (Bonnici et al., 2018) y australianos (Devlin et al., 2017). Como se ha comentado anteriormente, las demandas físicas del fútbol influyen en el almacenamiento del glucógeno muscular. Al final del juego, aproximadamente la mitad de las fibras musculares pueden estar casi vacías o vacías de glucógeno (Krustrup et al., 2006). El desarrollo de fatiga durante un partido de fútbol se ha asociado con la falta de glucógeno muscular, y se ha demostrado que elevar el glucógeno muscular antes del ejercicio a través de una dieta con carbohidratos eleva el rendimiento durante este tipo de ejercicio (Oliveira et al., 2017). Los déficits acumulativos de alrededor del 10% en la reposición de glucógeno podrían provocar disminuciones en el rendimiento (Zehnder et al., 2001). Por ello, con el objetivo de aumentar el rendimiento, es importante ingerir una gran cantidad de carbohidratos antes y después de los entrenamientos/partidos. En cuanto a las proteínas, los participantes del presente estudio ingirieron cantidades dentro del rango recomendado siguiendo las líneas de anteriores estudios (Briggs et al., 2015; Mullinix et al., 2003). Las proteínas juegan un papel importante en la dieta del deportista, participando en la regulación de la síntesis de proteínas musculares, la estimulación del crecimiento y la regeneración post-entrenamiento (Tipton & Wolfe, 2004).

Tabla 15. Ingesta diaria estimada de micronutrientes de los futbolistas durante el estudio.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Ácido fólico (µg)	1ª valoración	461,5±75,5	521,4±61,8	0,085	0,744	0,377
	2ª valoración	478,5±60,2	511,6±49,1			
	3ª valoración	472,6±76,1	500,8±61,8			
Vitamina B12 (µg)	1ª valoración	6,2±2,3	5,8±1,7	0,351	0,739	0,621
	2ª valoración	6,5±2,5	6,1±1,9			
	3ª valoración	5,9±2,5	6,4±2,1			
Cu (µg)	1ª valoración	1267,3±494,6	1341,6±502,4	0,489	0,688	0,576
	2ª valoración	1331,3±399,0	1401,5±431,8			
	3ª valoración	1315,6±502,6	1415,8±491,0			
Fe (mg)	1ª valoración	13,0±3,8	12,5±2,5	0,153	0,540	0,348
	2ª valoración	14,0±2,6	12,6±1,8			
	3ª valoración	14,0±3,6	12,7±2,6			
Mn (mg)	1ª valoración	2,5±1,1	1,9±0,6	0,258	0,732	0,487
	2ª valoración	2,7±1,3	2,2±0,5			
	3ª valoración	2,7±1,6	2,1±0,4			
Mo (µg)	1ª valoración	240,9±99,1	201,5±67,2	0,175	0,905	0,618
	2ª valoración	246,8±76,0	214,7±53,1			
	3ª valoración	253,8±97,7	241,7±87,5			
Se (µg)	1ª valoración	150,0±61,1	136,6±71,6	0,141	0,920	0,538
	2ª valoración	156,0±31,7	141,7±69,2			
	3ª valoración	159,0±81,7	140,6±49,5			
Zn (mg)	1ª valoración	10,7±3,1	9,3±2,5	0,367	0,732	0,581
	2ª valoración	11,4±2,4	10,1±3,4			
	3ª valoración	11,1±2,9	10,5±2,7			

Cu: cobre; Fe: hierro; Mn: manganeso; Mo: molibdeno; Se: selenio; Zn: zinc.

Los micronutrientes son necesarios para muchos procesos metabólicos en el cuerpo y son importantes para apoyar el crecimiento y el desarrollo (Volpe, 2007). Las vitaminas y los minerales también son necesarios en numerosas reacciones relacionadas con el ejercicio físico y la actividad física, como el metabolismo energético, los hidratos de carbono, las grasas y las proteínas, la transferencia y el suministro de oxígeno y la reparación de los tejidos (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007). Las necesidades de vitaminas y minerales de los deportistas siempre han sido un tema de debate. Algunos investigadores afirman que los atletas necesitan más vitaminas y minerales que las personas sedentarias, mientras que otros investigadores no informan de mayores

necesidades de micronutrientes. La intensidad, la duración y la frecuencia del deporte/entrenamiento, así como la ingesta general de energía y nutrientes del individuo, influyen en la necesidad de mayores cantidades de micronutrientes (Volpe, 2007).

La vitamina B12 es esencial para el funcionamiento de todas las células y desempeña un papel importante en la formación de glóbulos rojos, el metabolismo del ácido fólico, la síntesis del ADN y el desarrollo de los nervios (Günay Eskici, 2016). La IDR de vitamina B12 es de 2 µg/día para los adultos (Calleja et al., 2019). Los deportistas que siguen dietas de restricción calórica, así como los vegetarianos, corren el riesgo de sufrir una depleción de vitamina B12 (Leitzmann, 2005). La deficiencia de vitamina B12 puede provocar trastornos neurológicos y hematológicos (anemia megaloblástica). La deficiente absorción de la vitamina y la inadecuación de la dieta conducen a la deficiencia de vitamina B12 (Eskici, 2016). La anemia causada por un déficit de vitamina B12 tendría un claro impacto en el rendimiento (Benardot, 2000). Autores previos reportaron ingestas superiores a la IDR y a las observadas en el presente estudio en futbolistas masculinos y femeninos (Eskici, 2016).

El folato se halla de forma natural en los alimentos mientras que el ácido fólico es la forma de la vitamina que se encuentra mayormente en el organismo procedente de los alimentos y la suplementación (Günay Eskici, 2016). El ácido fólico es una coenzima importante en el metabolismo energético y en la formación de glóbulos rojos (Wolinsky & Driskell, 2005). Además, previene el desarrollo de la anemia megaloblástica y la anemia macrocítica. La IDR en los colectivos del estudio es de 300 µg/día (Calleja et al., 2019). Por lo tanto, los participantes de la presente investigación ingerían cantidades muy por encima de la IDR. La IA de folato es importante para los atletas y las personas activas debido a su papel en la producción de glóbulos rojos y en la reparación y el mantenimiento de los tejidos. El ácido fólico desempeña un papel importante en la división celular, especialmente en los tejidos de rápida rotación, como los glóbulos rojos (Manore et al., 2011). La ingesta inadecuada se manifiesta inicialmente como una disminución de la concentración de ácido fólico en suero, y después como una disminución de la concentración en los eritrocitos y un aumento de la concentración de homocisteína. Esta situación podría conducir a anemia megaloblástica (Lukaski, 2004). La ingesta de ácido fólico en futbolistas femeninas era inferior a la IDR (<75%) (Jain et al., 2008).

Respecto a la ingesta de EM, es importante evaluar la ingesta nutricional ya que autores anteriores informaron que la evaluación del estado nutricional de EM podría estimar el rendimiento físico (Lukaski et al., 1996), destacando la importancia de la evaluación de EM para optimizar el rendimiento físico. En situaciones de alta demanda metabólica, como el entrenamiento físico, los EM circulantes y celulares inadecuados pueden afectar el rendimiento fisiológico óptimo y la recuperación (Speich et al., 2001).

La ingesta de alimentos es la principal fuente para la obtención de Cu (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007). En el presente estudio, ambos grupos ingirieron cantidades de Cu superiores a las ingestas dietéticas de referencia (IDR = 1100 µg/día) (Calleja et al., 2019). La ingesta de Cu en las futbolistas femeninas eran inferiores a las reportadas por Nuviala et al., (1999) en deportistas femeninas de diferentes modalidades deportivas. Sin embargo, eran superiores cuando se comparaba con otro grupo de futbolistas féminas (Gropper et al., 2003). Respecto a los futbolistas masculinos, Toro-Román et al., (2021) reportaron una ingesta más elevada de Cu en futbolistas masculinos. Igualmente, Koury et al., (2004) reportaron mayores ingesta de Cu en triatletas y corredores de diferentes distancias.

Fe es el EM más abundante en el organismo y está involucrado en el metabolismo celular y el crecimiento (Zimmermann & Hurrell, 2007). Cuando la ingesta y la reserva de Fe es deficiente, el rendimiento físico y cognitivo disminuyen (Maynar-Mariño et al., 2020). Los individuos no tienen mecanismos para restaurar las pérdidas de Fe debidas al ejercicio físico. Por lo tanto, una ingesta dietética adecuada es esencial para los atletas durante los períodos de entrenamiento intenso (Ottomano & Franchini, 2012). La deficiencia de Fe es uno de los déficits más comunes en la población general y entre los atletas, principalmente en mujeres (Clénin et al., 2015). La ingesta de Fe en ambos grupos fue mayor que la ingesta dietética de referencia (DRI) (9-11 mg/día) (Calleja et al., 2019). Las ingestas en los participantes masculinos en el presente estudio eran superiores a las reportadas por Noda et al., (2009). Sin embargo, Gomez-Hixson et al., (2022), informaron en jugadores de tercera división estadounidense mayores ingestas de Fe, tanto en chicos como en chicas, en comparación con el presente estudio. La ingesta nutricional es el primer paso para corregir la deficiencia de Fe. Las mujeres suelen tener una ingesta dietética total más baja y, a su vez, una ingesta de Fe en comparación con los hombres (Vandevijvere et al., 2013). Las mujeres jóvenes, en particular, corren el riesgo de una ingesta baja de Fe debido a comportamientos dietéticos características como la restricción

de energía o de grupos de alimentos, y la alimentación desordenada, lo que puede aumentar el riesgo de deficiencias nutricionales (Fayet-Moore et al., 2014). La restricción dietética a menudo implica una ingesta reducida de carne roja y debe explorarse al estudiar la relación entre la dieta y el riesgo de deficiencias (Young et al., 2018).

Respecto al Mn, en la presente investigación la ingesta era superior a la IDR (2,3 mg/día hombres – 1,8 mg/día mujeres) (Calleja et al., 2019). La mayoría de las ingestas medias diarias de Mn oscilan entre 0,52 y 10,8 mg/día (Wolinsky & Driskell, 2005). Los casos de deficiencia de Mn son escasos. Las ingestas observadas eran inferiores a la reportadas por Maynar et al., (2020) en participantes con diferentes niveles de entrenamientos. Igualmente, Muñoz et al., (2019) mostraron ingestas más elevadas en atletas y grupo control a diferencias de los participantes del presente estudio. Por último, Maynar et al., (2018) informaron de mayores ingestas en atletas de diferentes modalidades deportivas en comparación con el presente estudio.

Por otro lado, las ingestas de Mo en ambos grupos eran similares y superiores a las IDR (45 µg/día) (Calleja et al., 2019). Las ingestas de Mo fueron superiores a la media reportada en Estados Unidos, Corea o Japón (Novotny, 2011), así como en deportistas paralímpicos (Jeoung & Kim, 2021). Sin embargo, Alves et al., (2020) reportaron mayores concentraciones en atletas de fondo y medio fondo españoles. Los cereales, incluidos el trigo, la avena y el arroz, son una gran fuente de Mo. Un gran porcentaje de la ingesta nutricional de los futbolistas corresponde a los carbohidratos (Oliveira et al., 2017), por ello las ingestas de Mo podrían ser tan elevadas en relación a los valores de referencia.

En la presente investigación los participantes de ambos grupos ingirieron Se por encima de IDR (55 µg/día) (Calleja et al., 2019). En comparación con el presente estudio, McCrink et al., (2021) informaron de una menor ingesta en jugadores de fútbol gaélico. Por otro lado, Anđelković et al., (2015) reportaron una mayor ingesta en futbolistas serbios. Un estudio realizado en 553 atletas alemanes de élite de diferentes modalidades observó deficiencias en la ingesta de Se (Wardenaar, Brinkmans, et al., 2017). Los atletas requieren una mayor ingesta de Se para aumentar la funcionalidad y la actividad de los sistemas antioxidantes (Margaritis et al., 2005). Además, como se ha mencionado anteriormente, la respuesta adaptativa del sistema antioxidante al entrenamiento físico también depende de factores nutricionales (Margaritis et al., 2003).

Por último, respecto a Zn, es sabido que juega un papel importante en diferentes funciones del organismo como cofactor de más de 300 metaloenzimas (Chu & Samman, 2014). La disminución de la ingesta de Zn es uno de los factores que pueden afectar el metabolismo de Zn en los atletas (Cordova & Navas, 1998). Los atletas generalmente tienen concentraciones séricas más bajas de Zn a pesar de una mayor ingesta total de Zn en la dieta. Por lo tanto, los deportistas requieren una mayor ingesta de Zn en comparación con las personas físicamente inactivas (Chu et al., 2018). En la presente investigación, ambos grupos ingirieron Zn por encima de las ingestas dietéticas de referencia (DRI = 9,5 mg/día) (Calleja et al., 2019). Książek et al., (2020) mostraron ingestas superiores de Zn en jugadores polaco durante la pretemporada en comparación con el presente estudio. En jugadoras polacas, la ingesta era menor a las reportadas en la presente investigación (Dobrowolski & Włodarek, 2019). La participación de Zn en el metabolismo energético enfatiza la necesidad de una ingesta dietética adecuada de Zn para aquellos que son físicamente activos (Chu & Samman, 2014). La deficiencia de Zn se ha asociado con un $VO_{2m\acute{a}x}$ disminuido, mayor producción de dióxido de carbono y mayor tasa de intercambio respiratorio (Lukaski, 2005). Cabe destacar que las recomendaciones actuales sobre la ingesta nutricional antes y después del ejercicio físico se basan en la ingesta de alimentos altos en carbohidratos que incluyen fuentes de alimentos bajos en Zn (De Carvalho et al., 2012). Por lo tanto, para evitar un posible déficit, es importante controlar la ingesta de Zn en los deportistas de modalidades colectivas.

4.4. Valoraciones analíticas sanguíneas

Las tablas 16 y 17 reflejan los valores sanguíneos hematológicos y bioquímicos de los jugadores de ambos equipos a lo largo de la investigación. A la hora de comparar entre grupos, se pueden observar diferencias significativas en los valores de eritrocitos, eritrocitos en relación al volumen corporal, hemoglobina, hematocrito, urea, transaminasa glutámica oxalacética (GOT), transaminasa glutámico pirúvica (GPT), lactato deshidrogenasa (LDH), creatina kinasa (CK) y ácido fólico ($p \leq 0,05$). Por otro lado, cuando se comparan los resultados obtenidos a lo largo de las valoraciones, se apreciaron diferencias significativas en eritrocitos, hemoglobina, hemoglobina corpuscular media (HCM), GOT, LDH y CK ($p \leq 0,05$). Concretamente, las diferencias que se hallaron entre las valoraciones 1 y 2 fueron en eritrocitos, hematocrito, HCM, GOT, CK ($p \leq 0,05$). Igualmente, las diferencias halladas entre las valoraciones 1 y 3 fueron establecidas en

eritrocitos, hemoglobina, HCM y GOT ($p \leq 0,05$). Por último, hubo diferencias entre las valoraciones 2 y 3 en LDH y CK ($p \leq 0,01$).

Tabla 16. Valores hematológicos obtenidos a lo largo de la temporada deportiva en cada conjunto.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Eritrocitos (millones)	1ª valoración	4,92±0,36	4,37±0,22	<0,001	0,031	0,063
	2ª valoración	4,83±0,32**	4,19±0,27**			
	3ª valoración	4,99±0,29++	4,35±0,27++			
Eritrocitos (millones/L)	1ª valoración	0,071±0,005	0,076±0,010	<0,001	0,784	0,764
	2ª valoración	0,071±0,006	0,078±0,010			
	3ª valoración	0,072±0,006	0,078±0,010			
Hemoglobina (gr/dL)	1ª valoración	14,76±1,21	12,79±0,92	<0,001	<0,001	0,103
	2ª valoración	14,46±0,90	12,29±0,93			
	3ª valoración	15,68±0,87+	13,82±0,95+			
Hematocrito (%)	1ª valoración	42,33±3,16	36,34±2,43	<0,001	0,237	0,125
	2ª valoración	40,49±2,69*	34,89±2,61*			
	3ª valoración	42,73±2,26	35,88±2,43+			
VCM (fL)	1ª valoración	86,09±3,36	87,01±3,48	0,117	0,926	0,851
	2ª valoración	85,93±3,79	86,55±3,22			
	3ª valoración	85,62±3,56	87,04±3,17			
HCM (Pg)	1ª valoración	30,23±1,71	29,90±1,39	0,293	<0,001	0,237
	2ª valoración	30,59±1,63	31,43±1,45**			
	3ª valoración	31,41±1,42++	31,75±1,38++			
Plaquetas (miles)	1ª valoración	204,50±57,65	196,00±38,01	0,274	0,542	0,222
	2ª valoración	196,60±39,79	219,08±34,19			
	3ª valoración	195,13±37,82	204,39±31,52			
Plaquetocrito (%)	1ª valoración	0,208±0,066	0,191±0,041	0,789	0,505	0,227
	2ª valoración	0,187±0,034	0,196±0,041			
	3ª valoración	0,182±0,038	0,195±0,020			
VPM (fl)	1ª valoración	9,03±1,24	9,18±0,64	0,775	0,3755	0,187
	2ª valoración	9,07±0,70	8,77±0,70			
	3ª valoración	8,73±0,68	8,99±0,81			

* $p \leq 0,05$ diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ** $p \leq 0,01$ diferencias entre valoración 1ª y 2ª; + $p \leq 0,05$ diferencias entre valoración 1ª y 3ª; ++ $p \leq 0,01$ diferencias entre valoración 1ª y 3ª; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; VPM: volumen plaquetar medio.

Tabla 17. Resultados bioquímicos sanguíneos obtenidos durante la investigación en ambos sexos.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Urea (mg/dL)	1ª valoración	33,76±7,71	25,69±8,27	<0,001	0,137	0,062
	2ª valoración	38,10±9,21	29,30±7,26			
	3ª valoración	37,88±8,16	28,17±5,99			
Urea (mg/dL/Kg masa muscular)	1ª valoración	1,18±0,24	1,02±0,37	0,555	0,092	0,058
	2ª valoración	1,04±0,26	0,96±0,20			
	3ª valoración	0,88±0,25	1,02±0,29			
GOT (U/I)	1ª valoración	21,91±5,50	21,43±9,14	0,018	<0,001	0,204
	2ª valoración	35,60±9,25**	29,80±11,01**			
	3ª valoración	40,86±24,22++	28,95±13,60++			
GPT (U/I)	1ª valoración	21,50±6,41	18,69±11,25	0,096	0,193	0,454
	2ª valoración	26,78±9,19	21,20±9,70			
	3ª valoración	23,69±9,38	23,17±10,40			
LDH (U/I)	1ª valoración	512,41±32,11	495,43±31,95	0,002	0,002	0,683
	2ª valoración	528,65±18,71^^	499,12±55,70^^			
	3ª valoración	494,91±31,79	477,00±39,30			
CK (U/L)	1ª valoración	318,08±119,11	173,75±114,03	0,003	0,048	0,055
	2ª valoración	484,73±290,02**	214,80±173,03**			
	3ª valoración	291,13±163,42^^	172,86±137,19^^			
CK (U/L/Kg masa muscular)	1ª valoración	8,80±3,11	11,77±3,56	0,322	0,136	0,072
	2ª valoración	13,22±8,18	7,14±4,55			
	3ª valoración	7,68±4,39	6,05±4,03			
Vitamina B12 (pg/mL)	1ª valoración	444,00±227,75	447,95±137,16	0,365	0,593	0,747
	2ª valoración	491,21±152,62	443,28±103,48			
	3ª valoración	495,73±183,04	466,34±96,96			
Ácido Fólico (ng/mL)	1ª valoración	4,36±1,42	5,24±2,08	0,001	0,137	0,761
	2ª valoración	4,99±1,99	6,15±2,16			
	3ª valoración	4,22±1,35	5,72±1,67			
Ferritina (mcg/L)	1ª valoración	58,79±29,55	32,26±15,31	<0,001	<0,001	0,063
	2ª valoración	155,04±74,82**	21,62±7,80^^			
	3ª valoración	83,21±51,83++	28,00±13,23++			
Transferrina (mcg/L)	1ª valoración	258,33±23,55	270,82±37,92	<0,001	0,394	0,660
	2ª valoración	259,86±22,74	273,16±36,60			
	3ª valoración	256,73±33,48	259,08±26,93			

**p<0,01 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++p<0,01 diferencias entre valoración 1ª y 3ª; ^^p<0,01 diferencias entre valoración 2ª y 3ª; GOT: glutámico oxalacético transaminasa; GPT: glutámico pirúvica transaminasa; LDH: lactato deshidrogenasa; CK: creatina kinasas.

Los deportistas son, por definición, sujetos sanos, pero a menudo presentan parámetros hematológicos o bioquímicos fuera de rango debido a diversos factores como el entrenamiento físico regular, al estrés fisiológico y psicológico o las condiciones ambientales, entre otros (Damian et al., 2021).

Las demandas del fútbol de élite moderno requieren que los jugadores puedan competir hasta 40 partidos por temporada, aproximadamente un partido cada 4-5 días durante una temporada competitiva. Tanto los entrenamientos como los partidos inducen cambios fisiológicos importantes que deben ser evaluados (Saidi et al., 2019). El control de dichos cambios otorga información a los entrenadores sobre la carga de entrenamiento, permitiendo modificar las cargas a lo largo de la planificación deportiva.

Se han utilizado una amplia variedad de marcadores fisiológicos para el seguimiento a largo plazo de los atletas (Saidi et al., 2021). En particular, los marcadores hematológicos se han considerado indicadores importantes de la adaptación del organismo en respuesta a diferentes cargas de entrenamiento (Saidi et al., 2019). La estabilidad de los índices hematológicos es uno de los determinantes claves del rendimiento óptimo del ejercicio físico, particularmente en deportes como el fútbol.

Respecto a los valores de eritrocitos, Silva et al., (2008) reportaron en futbolistas masculinos incrementos en el número de eritrocitos a lo largo de 44 sesiones de entrenamientos. Por otro lado, Requena et al., (2017) no observó cambios durante la temporada. Sin embargo, observó un incremento en los valores de eritrocitos tras finalizar la misma. Owen et al., (2018) informaron en futbolistas europeos aumentos de eritrocitos a mitad de temporada produciéndose un descenso de los mismo al final de la temporada, contrariamente a lo ocurrido en la presente investigación. El monitoreo regular de los parámetros hematológicos en atletas de élite durante toda una temporada previene la aparición de deficiencia de Fe y anemia (Banfi et al., 2005).

En cuanto a los valores de hemoglobina, en el presente estudio se apreció un descenso en la segunda valoración con un incremento final de la misma. Los resultados observado en las dos primera valoraciones de la presente investigación coinciden con el trabajo de Requena et al., (2017) en futbolistas españoles de primera división evaluados a mitad y final de temporada. Otros autores también observaron descenso en los valores de hemoglobina tras seis semanas de entrenamiento (Saidi et al., 2019). Sin embargo,

Heisterberg et al., (2013) no observaron diferencias en los valores de hemoglobina tras seis valoraciones a lo largo de la temporada.

Respecto a los valores de hematocrito, se observó un descenso en la segunda valoración y un incremento en la tercera valoración en ambos grupos. Estos resultados son similares a los reportados por Ostojic & Ahmetovic, (2009) en futbolistas serbios. Igualmente, aunque en un periodo de tiempo más reducido, Clemente et al., (2021) mostraron en jugadores cataríes una reducción del hematocrito tras el periodo de pretemporada. Del mismo modo, Heisterberg et al., (2013) reportaron una disminución en la segunda valoración que se mantuvo constante a lo largo de la temporada deportiva.

En cuanto a los valores de volumen corpuscular medio (VCM) y HCM, en la presente investigación no se observaron cambios en VCM. Sin embargo, HCM incrementó a lo largo de las valoraciones. Heisterberg et al., (2013) mostraron disminuciones de MCV y MCH al final de un período competitivo caracterizado por una exposición frecuente a los partidos. Saidi et al., (2019) no informaron de cambios a lo largo de seis semanas de entrenamientos.

Debido a las diferencias biológicas, se observaron diferencias entre sexos en la serie roja analizadas. Estas diferencias han sido observadas en futbolistas (Saidi et al., 2021) y en otras modalidades deportivas (Malczewska-Lenczowska et al., 2013; Pradas et al., 2020). Las diferencias relacionadas con el sexo podrían deberse, entre otros, a las diferencias en la secreción de testosterona (Telford & Cunningham, 1991), ya que no solo está relacionado con la síntesis de proteínas y el crecimiento de tejidos, sino también con la eritropoyesis (Bachman et al., 2014; Hero et al., 2005). Además, las diferencias en los valores de masa muscular podrían explicar las discrepancias observadas en los valores hematológicos, así como los volúmenes corporales (Gligoroska et al., 2020). Curiosamente, cuando los valores se expresaron según el volumen corporal las jugadoras obtuvieron mayores resultados.

Como se ha observado en los estudios anteriores, existe un cambio significativo en los marcadores hematológicos a largo periodo de entrenamiento. Normalmente, el entrenamiento de resistencia provoca una disminución de los eritrocitos, la hemoglobina y el hematocrito (Thirup, 2003). Esto podría ser debido en parte a la expansión del volumen plasmático (Sawka & Montain, 2000) que resulta de un aumento en la producción de aldosterona acompañada de proteínas plasmáticas osmóticamente activas.

Aunque no se ha analizado en la presente investigación, autores previos observaron incrementos en el volumen plasmático junto con una disminución de hemoglobina y hematocrito en futbolistas (Anđelković et al., 2015), similar a lo que ocurre en las primeras dos valoraciones en el presente estudio.

La disminución de los valores de hematocrito y hemoglobina durante los períodos de entrenamiento podría deberse a una posible "anemia del deportista" (Meyer & Meister, 2011). Este mecanismo podría deberse en parte al aumento del volumen plasmático (Saidi et al., 2021). También, es sabido que el ejercicio físico provoca un incremento de la tasa de hemólisis como resultado de un traumatismo, de un daño oxidativo debido a la elevada producción de superóxido, o de cambios osmóticos que inducen cambios en el volumen de los glóbulos rojos, aumentando su fragilidad (Hinton, 2014). La hemólisis inducida por el ejercicio se ha asociado con la intensidad del ejercicio (McInnis et al., 1998). Durante las actividades que implican correr o saltar, los glóbulos rojos de los capilares de la planta del pie se destruyen por las fuerzas mecánicas que se experimentan al impactar con el suelo. Estos mecanismos pueden explicar por qué tanto la duración como la intensidad del ejercicio se asocian negativamente con las concentraciones de hemoglobina, hematocrito y ferritina sérica en atletas altamente entrenados (Schumacher et al., 2002).

Respecto al recuento de plaquetas, no se observaron diferencias entre grupos ni a lo largo de las valoraciones, estando en concordancia con los resultados mostrado por (Anđelković et al., 2015). Sin embargo, otros autores observaron incrementos en el número de plaquetas durante la temporada (Requena et al., 2017). Es sabido que el número de plaquetas aumenta con el ejercicio (El-Sayed et al., 2004). Existe una gran relación entre el ejercicio y la activación plaquetaria relacionada con la intensidad del ejercicio (El-Sayed, 2002), y varios estudios han sugerido que el aumento del recuento de plaquetas inducido por el ejercicio se debe a la liberación de plaquetas de la médula ósea, el bazo y los pulmones (El-Sayed et al., 2004, 2005).

Respecto a las transaminasas y urea, estudios previos reportaron en futbolistas incrementos de urea sin ser también significativas, al igual que las transaminasas GOT y GPT (Meyer & Meister, 2011). Como en la presente investigación, Heisterberg et al., (2013) observaron incrementos en los valores de urea a lo largo de la temporada regular. Igualmente, Andersson et al., (2008) observaron incrementos en los valores de urea tras

un partido. Los aumentos observados en la presente investigación en la urea lo largo de las valoraciones podrían estar asociados a un mayor catabolismo proteico debido a los entrenamientos físicos regulares o a una mayor ingesta proteica (Lee et al., 2017). Cabe destacar que cuando los valores de urea se relacionaron con la masa muscular las diferencias entre sexos no fueron significativas. Por otro lado, GOT y GPT han sido reportados como marcadores del estado hepático. Sin embargo, también están presentes en los músculos, el corazón, los riñones, los glóbulos rojos, el cerebro y el intestino delgado (Pavletic & Wright, 2015). De hecho, el músculo esquelético tiene más GOT y GPT en comparación con el hígado debido a una masa de tejido más grande (Pavletic & Wright, 2015). En consecuencia, los niveles de transaminasas pueden estar elevados debido a diversos tipos de trastornos o lesiones musculares, hemólisis e isquemia del intestino delgado (Pettersson et al., 2008). Concretamente, una elevación significativa de GOT sin incrementos significativos de GPT podría ser un indicador adicional del daño muscular.

Durante un partido, los jugadores de fútbol realizan una multitud de movimientos que involucran contracciones musculares que eventualmente pueden causar daño muscular (Mougios, 2007). El daño inducido por el ejercicio físico en los sarcómeros, el citoesqueleto y el sarcolema se acompaña de una pérdida transitoria de la fuerza muscular y conduce a un dolor muscular de aparición tardía (comúnmente llamado “agujetas”) (Khaitin et al., 2021). Diferentes parámetros bioquímicos han sido analizados en numerosas investigaciones para valorar la inflamación (proteína C reactiva) o el daño muscular (CK o LDH) después de diferentes períodos de entrenamientos físicos (Silva et al., 2014).

En la presente investigación observamos incrementos en la valoración 2ª de CK y LDH y una disminución de las mismas en la valoración 3ª. Estos resultados están en concordancia con el estudio de Anđelković et al., (2015) los cuales observaron incrementos tras 45 días de entrenamiento y una disminución en los 45 días siguientes (90 días en total) en CK y LDH. Igualmente, Silva et al., (2014), observaron incrementos en la segunda valoración (mitad de temporada) y descensos en las dos siguientes (final de temporada y final del periodo de transición) en los valores de CK. Coppalle et al., (2019) informaron que CK y LDH no sufrieron cambios tras una pretemporada en futbolistas franceses de segunda división.

La posible diferencias entre sexos en los valores de CK y LDH podrían deberse en gran parte a las diferencias en la masa muscular y volumen corporal entre sexos (Pradas et al., 2020; Silva et al., 2020). Como se han comentado previamente, CK y LDH son enzimas que se encuentran en mayor medida en el tejido muscular. Las acciones musculares excéntricas de alta fuerza suelen producir alteraciones musculares ultraestructurales, daño y dolor muscular, aumento de proteínas intramusculares específicas en circulación, hinchazón de la extremidad afectada, disminución de la amplitud de movimiento y deterioro de la capacidad de producción de fuerza muscular. El daño de la membrana causado por el alargamiento excéntrico conduce a un aumento de la permeabilidad de la membrana y a la fuga de proteínas musculares a la circulación como CK y LDH (Owens et al., 2019). Respecto a las diferencias a lo largo de la temporada, el incremento de los valores de CK y LDH en la segunda valoración podrían deberse al entrenamiento regular realizado durante la primera mitad de la temporada teniendo en cuenta que la primera valoración se realizó la primera semana de entrenamiento (McLellan et al., 2010). La magnitud del daño muscular en los participantes de la investigación se redujo significativamente en la tercera valoración debido posiblemente a la adaptación del músculo esquelético a través del entrenamiento regular, no viéndose comprometida por los cambios proinflamatorios (Powers & Jackson, 2008). En relación con lo anterior, se optó por expresar los parámetros de urea y CK en relación con la masa muscular, desapareciendo las diferencias entre sexos observadas.

Otros parámetros como la vitamina B12 y el ácido fólico presentan un papel importante en la formación y crecimiento de los glóbulos rojos, síntesis de hemoglobina y, por consiguiente, el transporte de oxígeno (Koury & Ponka, 2004). Concretamente, se recomienda una concentración entre 400-700 pg/mL de vitamina B12 para alcanzar una formación óptima de hemoglobina (Krzywański et al., 2020). Las anomalías persistentes en los glóbulos rojos y en la concentración de hemoglobina también pueden indicar condiciones patológicas, como déficit de Fe, ácido fólico o vitamina B12 (Mercer & Densmore, 2005) provocando fatiga, anemia, deterioro cognitivo y deficiencias inmunitarias (Lukaski, 2004).

No se observaron diferencias en los niveles de vitamina B12 y folato entre atletas amateurs de larga distancia y sujetos sedentarios (Herrmann et al., 2005). Respecto a las diferencias entre sexo, Habte et al., (2015) no observaron diferencias entre corredores etíopes de diferentes modalidades. Las diferencias en las concentraciones de la vitamina

B12 y ácido fólico podrían deberse a las diferencias en la ingesta de dichos micronutrientes.

A pesar de la importancia biológica, la deficiencia de Fe es un problema muy investigado en deportistas, con una prevalencia documentada entre el 15-35 % en las mujeres y entre 3-11% en los atletas masculinos (Sim et al., 2019). Las atletas femeninas tienden a experimentar una mayor incidencia de deficiencia de Fe posiblemente como resultado de una mayor demanda de Fe para compensar la menstruación (Pedlar et al., 2018). Sin embargo, la ingesta baja de energía, las dietas vegetarianas y el ejercicio de resistencia también se han propuesto como factores potenciales que afectan las reservas de Fe de los atletas masculinos y femeninos (Sim et al., 2019). Los síntomas de un estado de Fe comprometido incluyen fatiga y estados de ánimo negativos, teniendo un impacto negativo en el rendimiento y el sistema inmunitario (Peeling et al., 2008). En consecuencia, es importante que el estado de Fe de un atleta se controle de forma rutinaria y que se tomen las medidas adecuadas en caso de que se requiera la corrección de una deficiencia.

Como se comentó anteriormente, las vías metabólicas dependientes de Fe involucran a la hemoglobina y mioglobina para el transporte de oxígeno al músculo esquelético durante el ejercicio físico y a la producción oxidativa de ATP en la cadena de transporte de electrones que depende en gran medida de enzimas de S, de Fe no hemo, y citocromos que contienen hemo (Beard & Tobin, 2000). La deficiencia de Fe generalmente se asocia con una potencia aeróbica disminuida. Específicamente, es probable que el rendimiento aeróbico se vea más afectado cuando se agotan las reservas de Fe y se compromete la producción de hemoglobina (Myhre et al., 2016). En consecuencia, la reducción del transporte de oxígeno al músculo esquelético durante el ejercicio físico puede generar mayores demandas en el metabolismo anaeróbico, lo que podría influir negativamente en el rendimiento (p. ej., pH sanguíneo más bajo, agotamiento del glucógeno muscular) (Sim et al., 2019).

La ferritina y la transferrina han sido parámetros utilizados para evaluar indirectamente el estado de Fe junto con la hemoglobina (Ostojic & Ahmetovic, 2009). El estado de Fe se ha asociado con el rendimiento deportivo (DellaValle & Haas, 2012; Lukaski et al., 1996). La evaluación indirecta de Fe a través de otros marcadores podría tener ciertas limitaciones en poblaciones como los atletas (Baynes, 1996). Los niveles de

ferritina solo podrían indicar la magnitud de las reservas de Fe y no su reserva funcional (cantidad de Fe en la hemoglobina, mioglobina y otras enzimas) (Malczewska et al., 2000). La detección de la deficiencia de Fe basada en la evaluación de la ferritina es limitada en los atletas, ya que el entrenamiento físico podría inducir respuestas inflamatorias, especialmente en las fases agudas (Malczewska et al., 2000). Se ha informado que los aumentos en la ferritina plasmática podrían mantenerse durante varios días después del ejercicio físico extenuante (Malczewska et al., 2000, 2001). Por otro lado, la evaluación de la hemoglobina para analizar el estado de Fe tiene ciertas limitaciones porque un nivel bajo de hemoglobina podría deberse a una expansión del volumen plasmático, entre otros factores (Cowell et al., 2003).

En relación a los datos reportado en la bibliografía, Ostojic & Ahmetovic, (2009) no encontró diferencias significativas a lo largo de la temporada en ferritina y transferrina en futbolistas masculinos. Por otro lado, Escanero et al., (1997) reportaron descenso significativos de la ferritina por debajo de los valores iniciales al final de temporada, sin observar cambios significativos en la saturación de transferrina o Fe sérico en futbolistas masculinos españoles. Los valores de ferritina y transferrina aumentaron tras un periodo de recuperación tras la temporada deportiva (Reinke et al., 2012). Al igual que en el presente estudio, Anđelković et al., (2015) mostraron incrementos, tras 45 días de temporada, en los valores de ferritina. Sin embargo, observaron un descenso en los valores de transferrina. Del mismo modo, Owen et al., (2018) informaron de un aumento a la mitad de temporada de los valores de ferritina con un descenso al final de la misma, siendo superior a los valores iniciales.

Los valores de ferritina en futbolistas masculinos de la presente tesis presentaron una tendencia diferente a la observada en futbolistas de élite (Malcovati et al., 2003). Los incrementos de ferritina observados en futbolistas masculinos podrían deberse a dos motivos: i) en primer lugar, a un incremento de la ingesta de Fe (Casgrain et al., 2012; Young et al., 2018). Los estudios realizados en atletas masculinos y femeninos con deficiencia de Fe no anémica han demostrado que la ingestión de 20 a 100 mg de Fe durante 6-12 semanas aumentaron eficazmente las concentraciones de ferritina sérica (Hinton, 2014); ii) en segundo lugar, a una respuesta adaptativa al aumento de estrés oxidativo producido por el incremento de Fe extracelular. Previamente se ha observado correlaciones positivas entre los niveles de ferritina y bilirrubina en jugadores de fútbol (Anđelković et al., 2015). Los niveles elevados de bilirrubina podrían indicar hemólisis y

liberación de Fe libre en la sangre. El exceso de Fe podría ser potencialmente dañino, ya que puede catalizar la formación de ROS. Por lo tanto, el aumento de los niveles de ferritina sérica podría ser una respuesta adaptativa al aumento del estrés oxidativo mediado por el Fe, ya que la ferritina secuestra el Fe en la sangre o en las células y atenúa su actividad prooxidante (Orino et al., 2001).

Respecto a las chicas, no parece existir diferencias cuando se comparan diferentes modalidades deportivas en los valores de ferritina (Gropper et al., 2006). A lo largo de la temporada, se han reportado descensos paulatinos desde la pretemporada hasta el final de la temporada en futbolistas estadounidenses (Walker et al., 2019). En un estudio transversal, Landahl et al., (2005) informaron que 11 de 28 jugadoras de fútbol analizadas (39%) presentaron concentraciones de ferritina inferiores a 15 µg/L. Igualmente, Ashenden et al., (1998), observaron en jugadoras de baloncesto y remeras descensos en los valores de ferritina a mitad de temporada, produciéndose un incremento leve al final de la misma respecto a la mitad de la temporada.

4.5. *Hormonas femeninas: progesterona y estradiol-17β*

En la tabla 18 se exponen los resultados obtenidos en las hormonas femeninas progesterona y estradiol-17beta en las futbolistas femeninas a lo largo de la temporada. No se observaron diferencias significativas a lo largo de la temporada en ninguna hormona.

Tabla 18. Hormonas femeninas a lo largo de la temporada deportiva.

	Futbolistas femeninas		<i>p</i>
Progesterona (ng/mL)	1ª valoración	2,65±3,88	0,998
	2ª valoración	2,38±3,21	
	3ª valoración	2,31±2,89	
Estradiol-17beta (pg/mL)	1ª valoración	74,04±45,30	0,894
	2ª valoración	71,32±39,25	
	3ª valoración	68,30±40,93	

Además de la función reproductiva, se sabe que las hormonas sexuales femeninas afectan numerosos parámetros cardiovasculares, respiratorios, termorreguladores y metabólicos. También, es sabido que tiene implicaciones en la fisiología del ejercicio, por ejemplo, a través de la retención de líquidos, los cambios en la temperatura corporal y el

metabolismo energético (Constantini et al., 2005). Las fluctuaciones en las hormonas durante el ciclo generan una serie de variables de confusión que afectan el rendimiento, lo que dificulta el diseño del estudio y la posterior interpretación de los resultados (Meignié et al., 2021).

Mientras que algunas atletas femeninas sienten una disminución en su capacidad física a lo largo de su ciclo menstrual, otras atletas han realizado actuaciones ganadoras de medallas olímpicas durante todas las fases del ciclo menstrual (Meignié et al., 2021). Diversos estudios han demostrado la influencia del ciclo menstrual en el rendimiento de deportistas (Castanier et al., 2021).

Atendiendo a los datos de la tabla anterior, todas las valoraciones se realizaron, aproximadamente, en la misma fase del ciclo menstrual. Este hecho es clave ya que, como se ha comentado anteriormente, el ciclo menstrual podría influir en las concentraciones de algunos EM (Michos et al., 2010; Singh et al., 1990).

Las concentraciones de Cu y Zn variaban inversamente a lo largo del ciclo menstrual ya que Cu desciende hasta la fase de ovulación y Zn aumenta hasta la misma fase (Michos et al., 2010). Por otro lado, Singh et al., (1990) observaron que las concentraciones plasmáticas de Mg disminuían hasta la fase ovulatoria, mientras el Zn seguía una tendencia similar al estudio anterior. Sin embargo, cuando se evaluaba las concentraciones en eritrocitos, Zn se mantenía estable mientras que Mg disminuía en la fase folicular, incrementándose de nuevo en la fase ovulatoria y lútea.

Cu y Zn desempeñan un papel importante en la regulación de las hormonas sexuales femeninas mientras que Zn desempeña un papel en el desarrollo sexual, la ovulación y el ciclo menstrual (Ebisch et al., 2007). Por otro lado, Cu está implicado en la reproducción femenina ya que parece actuar a nivel del hipotálamo mediante la modulación de la actividad neuronal, la modificación de la estabilidad de los gránulos de la hormona liberadora de gonadotropina y la modulación de la liberación de neurohormonas (Michaluk & Kochman, 2007).

Hay pruebas de que el metabolismo del Cu difiere entre los animales machos y hembras. Los estudios demuestran que en el plasma humano las concentraciones de Cu y ceruloplasmina son mayores en las mujeres que en los hombres (Johnson et al., 1992). Las diferencias en el metabolismo del Cu entre sexos se han atribuido al efecto de las hormonas femeninas (principalmente el estradiol). Dado que el Cu y el Zn se antagonizan

mutuamente, las hormonas sexuales femeninas podrían desempeñar también un papel indirecto en la regulación de la homeostasis del Zn a través de su influencia en la homeostasis del Cu.

Las concentraciones plasmáticas más altas de estrógenos dan lugar a concentraciones más altas de Cu en plasma (Michos et al., 2010). Estos sugieren que las altas concentraciones plasmáticas de estrógenos podrían causar un aumento en la producción de ceruloplasmina resultando así en mayores concentraciones de Cu.

Las elevadas concentraciones plasmáticas de Cu observadas durante la menstruación podrían facilitar una mayor absorción de Zn en el intestino delgado, en un esfuerzo del organismo por bloquear la absorción de Cu. Al mismo tiempo, las células podrían responder al estrés oxidativo al que están expuestas debido a las mayores concentraciones de Cu, con la movilización de Zn intracelular. Los niveles más altos de Zn en el plasma podrían así reflejar también un reordenamiento del Zn que es empujado al espacio extracelular para proteger a la mujer contra el estrés causado por los niveles plasmáticos más altos de Cu (Michos et al., 2010).

Desde una perspectiva de equilibrio pro-antioxidativo, la mujer se beneficia de las altas concentraciones plasmáticas de Zn y bajas de Cu durante la ovulación. El periodo de ovulación es un reto oxidativo para la mujer. El Zn, que tiene propiedades antioxidantes, contribuye a la defensa antioxidante durante un periodo en el que la mujer está más expuesta al estrés oxidativo. Al mismo tiempo, los niveles plasmáticos de Cu (que puede actuar como pro-oxidante) son bajos. Por lo tanto, todo lo anterior podría indicar que todo el mecanismo antioxidante en la mujer muestra una variación cíclica y es más potente durante el momento de la ovulación (Michos et al., 2006).

4.6. *Concentraciones extracelulares e intracelulares de los elementos minerales analizados*

4.6.1. Cobre

A continuación, se presenta los datos sobre la temática principal de la presente tesis doctoral. La tabla 19 muestra los resultados obtenidos en las concentraciones de Cu en diferentes matrices.

En plasma, se observaron diferencias significativas a lo largo de la investigación ($p \leq 0,01$), presentando un tamaño del efecto grande. Concretamente, se observaron diferencias entre las valoraciones 2 y 3, así como las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$).

En cuanto a las concentraciones de Cu en orina, se han reportado diferencias entre grupo ($p \leq 0,05$) con un tamaño del efecto moderado y a lo largo de las valoraciones ($p \leq 0,01$) con un tamaño del efecto grande. Particularmente, las diferencias se observaron entre las valoraciones 1 y 2 ($p \leq 0,01$) y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$).

Respecto a las concentraciones en eritrocitos, en la siguiente tabla se muestran diferencias a lo largo de la investigación en las concentraciones de Cu en valores absolutos ($p \leq 0,01$) y diferencias entre sexos en las concentraciones expresada en valores relativos ($p \leq 0,01$) con tamaños del efecto grandes. Las diferencias en las concentraciones eritrocitarias de Cu en valores absolutos se observaron entre las valoraciones 1 y 2 ($p \leq 0,05$).

Por último, en cuanto a las concentraciones intraplaquetarias, hubo diferencias a lo largo del estudio en las concentraciones expresado en valores absolutos ($p \leq 0,01$) con tamaño del efecto grande y entre sexos en las concentraciones relativas al número de plaquetas ($p \leq 0,01$) con tamaño del efecto grande.

Tabla 19. Concentraciones de cobre en diferentes compartimentos en ambos grupos.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Cu Plasma (µg/L)	1ª valoración	952,10±309,35	1008,34±206,43	0,956	<0,001#	0,103
	2ª valoración	944,89±229,85^^	965,38±133,96^^			
	3ª valoración	1231,97±237,29++	1163,18±240,17++			
Cu Orina (µg/L)	1ª valoración	6,20±3,33	4,80±3,04	0,045\$	<0,001#	0,053\$
	2ª valoración	8,71±3,91**	6,08±3,01**			
	3ª valoración	4,58±1,51^^	4,15±2,32^^			
Cu Eritrocitos absoluto (µg/L)	1ª valoración	610,07±75,41	589,40±132,16	0,111\$	<0,001#	0,209
	2ª valoración	680,46±72,35**	687,22±71,52**			
	3ª valoración	673,43±57,32	609,08±53,21			
Cu eritrocitos relativo (pg/cell⁻⁶)	1ª valoración	130,69±14,49	143,67±28,89	0,009#	0,161	0,331
	2ª valoración	138,24±14,00	153,33±13,56			
	3ª valoración	138,20±15,54	140,52±12,76			
Cu plaquetas absoluto (µg/L)	1ª valoración	64,41±13,95	58,07±25,08	0,158	0,002#	0,461
	2ª valoración	62,71±34,15	55,79±30,30			
	3ª valoración	54,40±14,08++	52,24±10,07++			
Cu plaquetas relativo (pg/cell⁻³)	1ª valoración	0,347±0,092	0,288±0,142	0,003#	0,082\$	0,142
	2ª valoración	0,340±0,142	0,261±0,154			
	3ª valoración	0,279±0,073	0,257±0,070			

#: tamaño del efecto grande (>0,14); \$: tamaño del efecto moderado (0,06-0,14); **p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 3ª; ^^ p≤0,01 diferencias entre valoración 2ª y 3ª; Cu: cobre.

Dentro de los aportes al mundo científico que presenta la presente tesis doctoral destacan el análisis multicompartimental simultáneo de los EM y la comparación longitudinal y transversal de dichos EM.

Los estudios que han investigado la influencia del ejercicio sobre las concentraciones de Cu en deportistas o personas sedentarias han analizado uno (Maynar et al., 2020; Maynar et al., 2018; Rodríguez Tuya et al., 1996), dos (Maynar et al., 2019; Muñoz et al., 2019) o tres compartimentos (Siquier-Coll et al., 2019). Recientemente, y como investigación preliminar a la presente tesis, Toro-Román et al., (2021), estudiaron las concentraciones de Cu hasta en cinco compartimentos en futbolistas y sedentarios masculinos, observando discrepancias importantes entre matrices biológicas analizadas.

Las concentraciones de Cu detectadas en cada compartimento están dentro de los rangos reportados en otras investigaciones donde determinaron dichas concentraciones con técnicas similares, tanto en una población en general (Heitland & Köster, 2006, 2021;

Lu et al., 2015) como diferenciando entre hombres (Maynar et al., 2019; Rodríguez Tuya et al., 1996) y mujeres (Koury et al., 2007; Nuviala et al., 1999).

Cu tiene un rol importante para la salud humana ya que participa en innumerables procesos biológicos, incluido el metabolismo del Fe, la defensa antioxidante, la síntesis de neuropéptidos y la función inmunitaria (Uriu-Adams & Keen, 2005). Debido a la importancia de Cu en el organismo, este EM ha sido objeto de una intensa investigación durante varias décadas, pero a pesar de estos esfuerzos, no existe consenso sobre el biomarcador ideal para analizar su estatus (Harvey & McArdle, 2008).

A pesar de la opinión generalizada de que faltan biomarcadores sensibles y específicos del estado del Cu, varios índices como las cuproenzimas, Cu sérico o Cu plasmático se analizan de forma rutinaria en estudios con humanos que presenten este objetivo (Harvey et al., 2009). Dentro de la célula, se han utilizado marcadores como SOD y GPX en eritrocitos (Harvey et al., 2009).

La mayoría de los enfoques actuales utilizan cuproenzimas, como ceruloplasmina, para evaluar el estado de Cu. Sin embargo, es sabido que la capacidad de respuesta y la concentración de ceruloplasmina pueden verse afectadas por una variedad de factores no dietéticos como la edad y el sexo del individuo. Además, la ceruloplasmina también es una proteína de fase aguda regulada por hormonas inflamatorias y, en consecuencia, las personas con afecciones inflamatorias crónicas, por ejemplo, artritis reumatoide, tienen niveles elevados (Hellman & Gitlin, 2002). La homeostasis de Cu se mantiene estrechamente mediante cambios tanto en la eficiencia de absorción como en la excreción biliar en el intestino. Los estudios de intervención han mostrado poco o ningún efecto de la deficiencia de Cu marginal o a corto plazo en las concentraciones o actividad de la ceruloplasmina en plasma (Milne et al., 1990). Sin embargo, se ha informado que su actividad disminuye en respuesta a una deficiencia severa de Cu en ratas, por lo que podría tener valor para indicar una deficiencia moderada/severa de Cu (Feillet-Coudray et al., 2000).

La revisión de Harvey et al., (2009) concluyó que el Cu sérico puede ser el biomarcador más útil del estado de Cu y parece ser efectivo tanto en individuos con las reservas repletas como agotadas. La estricta regulación homeostática de las concentraciones de Cu en el torrente sanguíneo y otros tejidos generalmente restringe las principales perturbaciones en la concentración a los extremos de la ingesta dietética, lo

que potencialmente restringe las respuestas de biomarcadores a estados de deficiencia o sobrecarga. Cabe señalar que es probable que las concentraciones de Cu sérico y proteína total de ceruloplasmina respondan de manera similar porque la mayoría (60-95%) del Cu sérico está unido a ceruloplasmina (Smith et al., 1985). Se informó que las concentraciones de Cu en plasma son consistentemente más bajas que los valores séricos (Wirth & Linder, 1985), lo que posiblemente contribuyó a la falta de respuesta con este biomarcador en individuos repletos de Cu.

Los informes muestran que las concentraciones de Cu y la actividad de la ceruloplasmina en el suero, y las concentraciones de Cu en la sangre y el plasma cambian cuando se realiza varios tipos de ejercicio vigoroso y actividades deportivas. En 1975, se informó por primera vez que la actividad de la ceruloplasmina en suero se elevaba después de realizar un entrenamiento físico (Haralambie, 1975). Mas tarde, otros autores descubrieron que las concentraciones de Cu en plasma eran un 11% más altas en los atletas universitarios masculinos entrenados en comparación con los no atletas del mismo grupo de edad (Lukaski et al., 1983). Por otro lado, en otro estudio se encontraron un pequeño aumento del Cu en plasma de los corredores después de una maratón cuando se comparó con los valores de los mismos sujetos antes de la carrera (Marrella et al., 1993). Lukaski, (1989) demostró que la concentración de Cu y la actividad de ceruloplasmina de mujeres jóvenes nadadoras no se modificaron durante una temporada de natación competitiva. Además, no se encontraron diferencias entre las nadadoras y los sujetos controles. Las incoherencias entre los distintos estudios pueden deberse en parte a los diferentes tipos de ejercicio o entrenamiento, la duración y la intensidad del ejercicio, el estado nutricional de los sujetos al inicio del programa y la edad y el sexo de los voluntarios.

En primer lugar, teniendo en consideración los cambios a lo largo de las evaluaciones (longitudinal), en la tabla 19 se observó en ambos grupos que las concentraciones plasmáticas de Cu disminuían a mitad de temporada y luego incrementaban por encima de los valores iniciales. Son escasas las investigaciones que estudian el efecto crónico del entrenamiento físico. En atletas de fondo y medio fondo, tras seis meses de entrenamiento, se produjo un descenso de las concentraciones séricas de Cu (Maynar et al., 2019). En jugadores de baloncesto, no se observaron cambios significativos después de tres semanas de entrenamientos de alta intensidad (Wang et al., 2012). En nadadores, Lukaski et al., (1990), no observaron cambios en las

concentraciones plasmáticas de Cu cuando analizaban al inicio y al final de la temporada, tanto en chicos como en chicas. Durante una carrera de ruta de 20 días y 500 km se observaron incrementos progresivos de Cu plasmáticos en corredores masculinos (Dressendorfer et al., 1982). Cuando se comparaba a una población general según los niveles de actividad física y la edad, se observó que el grupo con edades comprendida entre 31-35 años con niveles moderados de actividad física presentaban mayores concentraciones de Cu en comparación con los diferentes grupos (Rakhra et al., 2017).

Los incrementos de Cu observados al final del periodo de medición podrían deberse a diferentes motivos. Por un lado, a un incremento en la ingesta de Cu por parte de ambos participantes (Milne, 1998). Por otro lado, a un aumento en las concentraciones plasmáticas de ceruloplasmina (Keen, 1993; Ohno et al., 1985). Dadas las propiedades antioxidantes de la ceruloplasmina, una explicación del aumento de la concentración de esta proteína plasmática inducido por el ejercicio es una respuesta a la lesión tisular asociada con el daño oxidativo o a la presencia de una mayor concentración de radicales libres (Keen, 1993). Una posibilidad adicional es que el aumento de la producción de ceruloplasmina del hígado y, por lo tanto, el aumento de los niveles en el plasma sea una respuesta adaptativa del organismo a un aumento de la necesidad de Cu. Se sabe que los valores más altos de VO_{2max} en individuos entrenados se correlacionan con un aumento de las enzimas oxidativas (Lukaski et al., 1983). Una de las enzimas aumentadas es la citocromo oxidasa (Terjung et al., 1973). Cu es crucial para mantener la actividad de la citocromo C oxidasa y se han identificado sitios receptores celulares para la ceruloplasmina (Keen, 1993; Toro-Román et al., 2021). También se sabe que Cu es importante para la formación SOD Cu-Zn (Koury et al., 2004). Un aumento en la actividad de SOD Cu-Zn podría representar una respuesta adaptativa al estrés oxidativo intracelular inducido por el ejercicio (Lukaski et al., 1990).

En orina, contrariamente a las concentraciones plasmáticas, se produjo un incremento en la segunda valoración respecto a la primera medición. En la última valoración las concentraciones disminuyeron llegando a ser inferiores a las de la primera valoración. A diferencia de la presente investigación, Maynar et al., (2019) observaron en atletas de fondo menores excreciones de Cu tras seis meses de entrenamiento. Cuando se analizaba el efecto agudo del ejercicio físico se observaron disminuciones en la excreción de Cu en deportistas (Muñoz et al., 2019). Granell, (2014) observó incrementos

en la excreción de Cu tras dos tipos de entrenamientos (resistencia aeróbica y fuerza muscular).

Cu está bajo controles homeostáticos debido a las consecuencias patológicas de la dishomeostasis (Gromadzka et al., 2020). El aumento en la excreción de Cu podría indicar un incremento del metabolismo de Cu con el objetivo de equilibrar las demandas energéticas y antioxidantes como consecuencia del entrenamiento físico (Buchman et al., 1998). Por otro lado, la disminución en la excreción urinaria podría ser una medida adaptativa para evitar una disminución en el contenido de Cu corporal con el objetivo de favorecer procesos adaptativos del entrenamiento (Muñoz et al., 2019).

Respecto a las concentraciones de Cu en eritrocitos, se ha observado un incremento en ambos grupos en la segunda valoración en los valores absolutos. Cuando se analizaban los valores relativos, no se apreciaron diferencias a lo largo de las valoraciones. Cabe destacar que no se han encontrado estudios que evalúen los cambios en las concentraciones eritrocitarias de Cu a lo largo del tiempo. Los estudios relacionados con la temática se basan en analizar las diferencias basales. En relación con lo anterior, Maynar et al., (2020), reportaron que los sujetos con niveles de entrenamiento físicos moderados y altos presentaban menores concentraciones de Cu en eritrocitos en comparación con sujetos sedentarios. Recientemente, Toro-Román et al., (2021) reportaron resultados similares. En chicas, Singh et al., (1990), reportaron que las corredoras mostraban menores concentraciones de Cu en eritrocitos en comparación con mujeres sedentarias.

El incremento de las concentraciones de Cu en los eritrocitos podría deberse a un incremento en los 2-3 meses anteriores a la valoración. Ya que, como se ha comentado anteriormente, la vida media de los eritrocitos es de aproximadamente 120 días (Piomelli & Seaman, 1993). Quizás, durante la valoración se han extraído eritrocitos antiguos, aportando una información retrospectiva del estado de Cu en los eritrocitos. Por otro lado, debido a un incremento de la actividad de los sistemas antioxidantes de los eritrocitos dependientes de Cu (SOD). En relación a la intensidad y la duración del ejercicio, es sabido que se produce un incremento de las especies reactivas de oxígeno y por ende, una estimulación de los mecanismos antioxidantes, tanto en el músculo como en los eritrocitos (Koury et al., 2004). Estos mecanismos incluyen formación de metaloproteínas como SOD que necesita Cu. La SOD en eritrocitos para aumentar su actividad como

resultado de un aumento a su vez de los radicales libres (Radak, 2000). Por lo tanto, el incremento de Cu en eritrocitos estaría relacionado con un posible incremento de SOD para contrarrestar el incremento de los radicales libres (Powers & Hamilton, 1999).

Respecto a las variaciones a lo largo de la investigación de las concentraciones intraplaquetarias de Cu, se observaron diferencias significativas entre la primera y tercera valoración. Estas diferencias significativas desaparecían cuando los valores se expresaban en valores absolutos. Como se han comentado anteriormente, no es común analizar los EM en este tipo de compartimentos. En deportistas, recientemente se ha observado que los sujetos físicamente activos presentan menores concentraciones de Cu en comparación con sujetos sedentarios (Toro-Román et al., 2021). La mayoría de estudios encontrados que comparan las concentraciones plaquetarias de Cu tenían como sujetos a personas con patologías (Abella et al., 1987; Laškaj et al., 2009). Lamentablemente, debido a la escasa información sobre las concentraciones plaquetarias de Cu en deportistas, no podemos justificar los cambios producidos durante el estudio.

En segundo lugar, atendiendo a las diferencias entre sexos en cada una de las matrices biológicas analizadas, no se observaron diferencias entre sexos en las concentraciones plasmáticas de Cu. Estos resultados son similares a los reportados por Casimiro-Lopes et al., (2009) en judokas y Lukaski et al., (1990) en nadadores. Sin embargo, Milne & Johnson, (1993) observaron diferencias significativas entre sexos dividido por diferentes rangos de edades, siendo superior en la mayoría de los rangos en las chicas. Igualmente, García et al., (2000), observaron mayores concentraciones en mujeres en todas las estaciones del año en comparación con los hombres. Esta discrepancia podría deberse a las diferencias en la exposición de Cu, estando las mujeres expuestas a niveles más altos de Cu en comparación con los hombres (Nan & Bai, 2022). Las diferencias hormonales entre sexos podrían influir en las concentraciones de Cu. Las hormonas endógenas pueden afectar el metabolismo del Cu a nivel celular y corporal (Arredondo et al., 2010). Estudios en animales sugieren que niveles más altos de estrógeno pueden mejorar la producción de ceruloplasmina, y por lo tanto, aumentar la absorción y las concentraciones de Cu (Nan & Bai, 2022). Sin embargo, algunos estudios que reportaron concentraciones plasmáticas y séricas de Cu superiores en mujeres también informaron que tomaban anticonceptivos orales (Rahil-Khazen et al., 2000). En el presente estudio ninguna participante afirmó emplear métodos anticonceptivos

hormonales. Por lo tanto, creemos que este hecho influyó en la ausencia de diferencias significativas entre sexos en las concentraciones plasmáticas. También, a diferencias de los anteriores estudios citados, la población de la presente investigación eran deportistas lo que podría ser un factor a considerar.

En orina, en el presente estudio se han reportado diferencias significativas entre sexo. Concretamente, los hombres excretaban mayor cantidad de Cu en comparación con las mujeres. En relación con lo anterior, previamente se ha observado resultados similares en una población general, sin ser significativo (Rodríguez & Díaz, 1995). Sin embargo, un trabajo publicado en 1994 reportó en una población general española de diferentes áreas demográficas que las mujeres excretaban mayor cantidad de Cu independientemente del área de residencia (Schuhmacher et al., 1994), al igual que otro trabajo realizado por Folch et al., (1998). La diferencias entre sexos en el Cu urinario podría estar relacionado con la movilización biológica de este mineral inducida por el entrenamiento físico (Kikukawa & Kobayashi, 2002). Es sabido que la intensidad y la carga de los partidos es superior en los futbolistas masculinos en comparación con las futbolistas femeninas (Bradley et al., 2014). Las diferencias en las exigencias física de los entrenamientos y partidos podrían influir en la excreción de Cu.

Respecto a las concentraciones intracelulares, se han observado diferencias significativas entre sexos en las concentraciones de Cu en eritrocitos, siendo superior en chicas, expresados en valores absolutos. Sin embargo, estas diferencias desaparecen cuando los valores se expresan en valores relativos al número de células. No se han observado diferencias en la captación de Cu por los eritrocitos entre sexo, aunque la tendencia mostraba una mayor captación en las chicas a medida que aumentaba el rango de edad (Milne & Johnson, 1993). En una población española y japonesa de edades comprendidas entre 7 y 11 años observaron que las chicas mostraban mayor cantidad de Cu en eritrocitos (Manser et al., 1989). Las chicas podrían tener una captación de Cu por parte de los eritrocitos superior a los chicos (Milne & Johnson, 1993), lo que podría influir en el recuento de Cu. Cabe destacar que, tras observar los resultados, es importante expresar las concentraciones de Cu en valores absolutos y relativos ya que, debido al menor número de eritrocitos característicos en las mujeres, los datos pueden malinterpretarse.

En cuanto a las concentraciones de Cu en plaquetas, se observaron descensos en las concentraciones a lo largo de los valores cuando los resultados se expresaron en valores absolutos. Por otro lado, cuando los valores fueron expresados en valores relativos al número de plaquetas, hubo diferencias significativas entre sexos ($p \leq 0,05$). Lamentablemente, no hemos encontrado estudios que justifiquen este hecho.

4.6.2. Hierro

En la tabla 20 se presentan los resultados obtenidos en las concentraciones de Fe en los diferentes compartimentos biológicos analizados.

Se observaron diferencias entre sexos en las concentraciones plasmáticas de Fe, siendo superiores en futbolistas masculinos ($p \leq 0,01$). Además, estas diferencias mostraban un tamaño del efecto grande.

Respecto a las concentraciones urinarias de Fe, hubo diferencias significativas entre sexos y a lo largo del estudio ($p \leq 0,01$) con tamaños del efecto grandes. Específicamente, hubo diferencias entre las valoraciones 1 y 2 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$).

En cuanto a las concentraciones eritrocitarias, se apreciaron diferencias entre sexos ($p \leq 0,05$) y a lo largo del estudio ($p \leq 0,01$) en las concentraciones absolutas de Fe con tamaños del efecto grandes. Concretamente, las diferencias se observaron entre las valoraciones 1 y 2, valoraciones 2 y 3 y las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$). Respecto a las concentraciones relativas al número de eritrocitos, se observaron diferencias muy significativas con tamaños del efecto grandes entre sexos y a lo largo del estudio ($p \leq 0,01$). Las diferencias se hallaron entre las valoraciones 1 y 2, valoraciones 2 y 3 y las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$).

En relación con las concentraciones plaquetarias de Fe, se observaron diferencias entre sexos, tanto en las concentraciones absolutas de Fe como en las concentraciones de Fe relativas al número de plaquetas ($p \leq 0,01$).

Por último, como novedad en la valoración de EM, se añadió la concentración sérica de Fe ya que también era determinada por el laboratorio clínico. Se observaron diferencias entre sexos con un tamaño del efecto grande ($p \leq 0,01$).

Tabla 20. Concentraciones de Fe en los diferentes compartimentos biológicos analizados en ambos grupos a lo largo del estudio.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Fe Plasma ($\mu\text{g/L}$)	1ª valoración	1057,63 \pm 424,88	780,50 \pm 212,11			
	2ª valoración	1110,06 \pm 336,18	808,17 \pm 231,94	0,004#	0,253	0,181
	3ª valoración	1225,29 \pm 219,76	973,12 \pm 277,56			
Fe Orina ($\mu\text{g/L}$)	1ª valoración	13,64 \pm 4,72	8,39 \pm 3,37			
	2ª valoración	18,23 \pm 7,74**	12,79 \pm 7,26**	0,006#	0,003#	0,102\$
	3ª valoración	16,96 \pm 7,74^^	15,01 \pm 9,26^^			
Fe Eritrocitos absoluto (mg/L)	1ª valoración	1058,58 \pm 62,61**	1053,79 \pm 127,32**			
	2ª valoración	1033,10 \pm 46,90^^	1105,69 \pm 88,35^^	0,031#	<0,001#	0,062
	3ª valoración	901,63 \pm 71,73++	1036,28 \pm 48,81++			
Fe eritrocitos relativo ($\mu\text{g}/\text{cell}^{-6}$)	1ª valoración	218,17 \pm 19,98**	251,31 \pm 27,54**			
	2ª valoración	207,56 \pm 20,57^^	243,70 \pm 25,40^^	<0,001#	<0,001#	0,104\$
	3ª valoración	183,45 \pm 24,81++	239,97 \pm 13,12++			
Fe plaquetas absoluto ($\mu\text{g/L}$)	1ª valoración	1044,03 \pm 446,45	734,86 \pm 227,13			
	2ª valoración	1068,80 \pm 154,53	741,20 \pm 176,41	<0,001#	0,114	0,990
	3ª valoración	1215,51 \pm 399,66	884,23 \pm 395,55			
Fe plaquetas relativo ($\text{pg}/\text{cell}^{-3}$)	1ª valoración	6,29 \pm 2,71	3,84 \pm 1,61			
	2ª valoración	5,59 \pm 1,66	3,45 \pm 0,92	<0,001#	0,242	0,846
	3ª valoración	6,34 \pm 2,49	4,52 \pm 2,49			
Fe suero (mcg/L)	1ª valoración	96,71 \pm 34,64	84,56 \pm 25,27			
	2ª valoración	103,87 \pm 29,63	79,77 \pm 25,75	<0,001#	0,468	0,071
	3ª valoración	108,19 \pm 35,11	81,66 \pm 31,58			

#: tamaño del efecto grande ($>0,14$); \$: tamaño del efecto moderado (0,06-0,14); ** $p \leq 0,01$ diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++ $p \leq 0,01$ diferencias entre valoración 1ª y 3ª; ^^ $p \leq 0,01$ diferencias entre valoración 2ª y 3ª.

Los jugadores de fútbol expuestos a un calendario exigente durante un período competitivo pueden estar predispuestos a una deficiencia de Fe que podría comprometer su rendimiento y salud metabólica hacia el final de la temporada (Escanero et al., 1997). La fatiga acumulada y el tiempo de recuperación inadecuado durante un período competitivo pueden predisponer a los futbolistas a alteraciones en el estado de Fe (Reinke et al., 2012).

El estado de Fe se ha asociado con el rendimiento deportivo (DellaValle & Haas, 2012; Lukaski et al., 1996). La evaluación indirecta de Fe a través de otros marcadores podría tener ciertas limitaciones en poblaciones como los atletas (Baynes, 1996). Como se ha comentado anteriormente, los niveles de ferritina solo podrían indicar la magnitud

de las reservas de Fe y no su reserva funcional (Malczewska et al., 2000). La detección de la deficiencia de Fe basada en la evaluación de la ferritina es limitada en los atletas, ya que el entrenamiento físico podría inducir respuestas inflamatorias, especialmente en las fases agudas (Malczewska et al., 2000). Igualmente, la evaluación de la hemoglobina para analizar el estado de Fe tiene ciertas limitaciones porque un nivel bajo de hemoglobina podría deberse a una expansión del volumen plasmático (Cowell et al., 2003). Según los autores previos, es necesario desarrollar e implementar protocolos estándar para la evaluación y el tratamiento de la deficiencia de Fe en atletas femeninas. En cuanto a la evaluación del Fe sérico, se sabe que tiene una alta variabilidad diurna. Los valores diurnos de Fe son más altos en comparación con los valores obtenidos por la tarde, lo que puede no ser una medida fiable del estado de Fe (Dale et al., 2002). Por lo tanto, debido a las diferentes limitaciones de los marcadores del estado de Fe, parece ser necesario un análisis de Fe total multicompartimental para una evaluación más completa. Las concentraciones de Fe obtenidas en cada compartimento, por ICP-MS, estuvieron dentro de los rangos reportados en otras investigaciones con técnicas similares (Grijota et al., 2022; Heitland & Köster, 2006, 2021; Lu et al., 2015).

A la hora de analizar las diferencias a lo largo de temporada, se observaron diferencias significativas en las concentraciones urinarias y eritrocitarias de Fe. Concretamente, se observó un incremento en la excreción urinaria de Fe y un descenso de las concentraciones eritrocitarias de Fe. Se ha observado incrementos en la eliminación de Fe tras un ejercicio extenuantes en ambiente normotérmico e hipertérmico (Siquier-Coll et al., 2019). Durante 4 días de ejercicio físico liviano en personas mayores se observaron incrementos en el porcentaje de personas con pérdidas de Fe mediante orina (Terink et al., 2018). Por otro lado, se ha observado en corredores de campo a través durante dos meses de entrenamiento pérdidas leves de Fe en la orina sin aumentar en los corredores con deficiencia de Fe (Nickerson et al., 1989).

Los aumentos de Fe en orina podrían estar relacionado con incrementos en los niveles de hematuria. La hematuria puede ser el resultado de un traumatismo de la pared de la vejiga durante el ejercicio. Fe también puede eliminarse por la orina debido a un aumento de la excreción de transferrina después del ejercicio o a una hemólisis intravascular rápida (Weaver & Rajaram, 1992). Se han notificado pérdidas de Fe en la orina de un promedio de 0,18 mg/día (Magnusson et al., 1984). La hemoglobinuria también puede causar pérdidas de Fe mediante la orina (Dallongeville et al., 1989). El

traumatismo de la vejiga en los corredores y la hemólisis intravascular, especialmente en los atletas sometidos a traumatismos capilares (Dufaux et al., 1981; Paulev et al., 1983), se han implicado como factores de pérdida de hemoglobina en la orina. También, se ha descrito la pérdida de sangre gastrointestinal (Stewart et al., 1984). Sin embargo, esto se ha atribuido a la ingestión de medicamentos antiinflamatorios.

Respecto al decremento de las concentraciones intracelulares de Fe, se ha reportado que los sujetos con bajos niveles de actividad física presentan mayor cantidad de Fe en este compartimento (Grijota et al., 2022; Maynar-Mariño et al., 2020). Otros autores no reportaron cambios significativos en las concentraciones de Fe tras un ejercicio incremental máximo en condiciones de hipertermia y normotermia (Siquier-Coll et al., 2019). En futbolistas, el contenido de Fe disminuyó durante 60 h posteriores a un partido de fútbol (Jamurtas et al., 2015).

Las deficiencias de Fe eritrocitario podrían deberse a una ingesta insuficiente de Fe en los meses previos a la segunda y tercera valoración. Como se mencionó anteriormente, la vida media de los eritrocitos es de aproximadamente 120 días (Piomelli & Seaman, 1993). La concentración intracelular de EM en los eritrocitos no se ve afectada por la respuesta inflamatoria aguda ni por las dietas a corto plazo (Oakes et al., 2008). Por lo tanto, los datos informados sobre las concentraciones de Fe en eritrocitos pueden no ser recientes. Por otro lado, podría estar relacionado con la hemólisis producida durante los entrenamientos físicos regulares a lo largo de la temporada. Se sabe que el ejercicio físico regular conduce a un envejecimiento más rápido de los eritrocitos. La vida media de los eritrocitos en los atletas podría ser significativamente más corta que en los sujetos que no hacen ejercicio físico (Szygula, 1990). La hemólisis inducida por el ejercicio podría estar implicada en el estado subóptimo de Fe eritrocitaria de los atletas (Weight et al., 1991). Esto podría desencadenar la pérdida de Fe como consecuencia de la destrucción de la membrana de los eritrocitos y la posterior liberación de hemoglobina y Fe a los compartimentos extracelulares (Ottomano & Franchini, 2012). La tasa de destrucción de eritrocitos podría verse alterada como consecuencia del entrenamiento físico repetitivo (Córdova-Martínez et al., 2006). Relacionado con lo anterior, el ejercicio físico regular provoca situaciones fisiológicas estresantes, como el aumento del estrés oxidativo, que puede alterar las propiedades de la membrana de los glóbulos rojos y desencadenar la eriptosis (Nader et al., 2020). Al igual que con la muerte celular nucleada programada o apoptosis, la eriptosis es una muerte suicida coordinada que finalmente

elimina las células defectuosas sin ruptura de la membrana celular y liberación de material intracelular. Se considera un mecanismo valioso para evitar una complicación de la hemólisis al iniciar un programa de muerte celular con eliminación controlada antes de ocasionar una hemólisis descontrolada (Lang et al., 2006). Se sabe que los eritrocitos con deficiencia de Fe son más sensibles a la eriptosis (Kempe et al., 2006). Por lo tanto, las concentraciones de Fe en los eritrocitos son esenciales para promover la eriptosis y reducir las complicaciones de la hemólisis.

Respecto a las diferencias entre sexo, se han observado diferencias significativas en todos los compartimentos analizados. Concretamente, los hombres mostraron mayores concentraciones de Fe en plasma, suero, orina y plaquetas. Sin embargo, las futbolistas femeninas mostraron mayores concentraciones en eritrocitos, tanto valores absolutos como relativos al número eritrocitos.

En relación a las concentraciones plasmáticas y séricas, autores previos reportaron diferencias entre sexos en esquiadores de fondo durante una temporada deportiva (Haymes et al., 1986), en jugadores de baloncesto (Dubnov & Constantini, 2004) y futbolistas. Sin embargo, no se observaron diferencias entre género en luchadores de élite (Khlif et al., 2019) y en corredores de maratón (Mettler & Zimmermann, 2010). No obstante, en el último artículo la cantidad total de Fe en el cuerpo era mayor en hombres. Durante la infancia y la adolescencia, existen diferencias en el estado de Fe debido a factores como la menstruación o la ingesta de Fe (Wieringa et al., 2007).

No se conoce el mecanismo subyacente de la diferencia entre sexos en las concentraciones plasmáticas y séricas de Fe. Estas diferencias podrían estar influenciadas por los factores anteriormente descritos como la pérdida de Fe menstrual y la baja ingesta de Fe en mujeres (Heath et al., 2001). También, la diferencia entre sexos en la expresión de hepcidina podría influir en dichas concentraciones. Se ha observado que la hepcidina sérica era significativamente más baja en hombres en comparación con las mujeres (Jaeggi et al., 2013), así como en ratas macho en relación a las ratas hembras (Kong et al., 2014).

Respecto a las concentraciones urinarias de Fe, los futbolistas masculinos excretaban mayor cantidad de Fe en comparación con las futbolistas femeninas. Contrariamente, autores previos reportaron mayor excreción de Fe en chicas en comparación con chicos (Berglund et al., 2011). Sin embargo, no eran atletas. Las

pérdidas de sangre en el tracto gastrointestinal y urinario, debido a lesiones microscópicas por la circulación visceral reducida durante el ejercicio podría incrementar la excreción urinaria de Fe. Los movimientos repetitivos causan hematuria por impactos repetidos entre la vejiga posterior y la base de la vejiga, lo que da lugar al desarrollo de malformaciones vasculares y la consiguiente hemorragia (Abarbanel et al., 1990). La hemólisis causada por el ejercicio físico (posiblemente debida a los traumas del aumento de la frecuencia circulatoria, el aumento de la temperatura corporal, la compresión de los glóbulos rojos por la actividad muscular, el impacto del pie o la acidosis aguda del ejercicio) produce cantidades excesivas de hemoglobina circulante que puede excretarse por la orina (Newhouse & Clement, 1988). Quizás, las diferencias entre sexos en las demandas físicas durante los entrenamientos físicos y los partidos (Bradley et al., 2014), confirmadas por marcadores de daño muscular, podrían influir en la excreción de Fe. Además, la pérdida de sangre a través de la degradación muscular, es decir, la mioglobinuria, también pueden producirse después del ejercicio físico, estando relacionado con el daño muscular (Terink et al., 2018).

Respecto a las diferencias entre sexos en las concentraciones eritrocitarias de Fe, se ha observado que el 45% del Fe ingerido fue incorporado a los eritrocitos por las mujeres en comparación con el 35,2% entre los hombres (Soldin & Mattison, 2009). Las diferencias hormonales sexuales podrían influir en los resultados. La testosterona parece aumentar la susceptibilidad a la hemólisis (Kanas et al., 2016), lo que podría disminuir las concentraciones eritrocitarias y aumentar las concentraciones extracelulares de Fe, como ha podido ocurrir en el presente estudio, confirmado en un estudio anterior (Córdova-Martínez et al., 2006).

En cuanto a las concentraciones plaquetarias de Fe, los futbolistas masculinos mostraron mayores concentraciones en comparación con las futbolistas femeninas. La deficiencia de Fe podría influir en los parámetros plaquetarios (Park et al., 2013). No se ha informado sobre las posibles causas en las diferencias entre sexos en las concentraciones plaquetarias de Fe debido a la limitación de estudios.

4.6.3. Manganeso

La tabla 21 recoge los datos obtenidos en las concentraciones de Mn en los compartimentos extracelulares e intracelulares.

En primer lugar, en cuanto a las concentraciones extracelulares de Mn, se observaron diferencias significativas entre sexos ($p \leq 0,01$) con un tamaño del efecto grande. Respecto a las diferencias entre las valoraciones, aunque no fueron significativas, tuvieron un efecto del tamaño moderado.

En cuanto a la excreción urinaria de Mn, hubo diferencias significativas entre sexos ($p \leq 0,01$) y entre valoraciones ($p \leq 0,01$) con tamaños del efecto grandes. Concretamente, se observaron diferencias entre las valoraciones 1 y 2 y las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$).

En relación a las concentraciones eritrocitarias de Mn, se observaron diferencias entre sexos y a lo largo de la valoración en las concentraciones expresada en valores absoluto y relativos al número de eritrocitos con tamaños del efecto grandes y moderados ($p \leq 0,05$). Las concentraciones eran superiores en futbolistas femeninas. Respecto a las diferencias a lo largo de la investigación, se observaron diferencias específicas entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,05$).

Por último, respecto a las concentraciones intraplaquetarias de Mn, se observaron diferencias a lo largo de las valoraciones con un tamaño de efecto grande ($p \leq 0,05$). Específicamente, las diferencias se hallaron entre las valoraciones 1 y 3 cuando se analizaba las concentraciones de Mn expresada en valores absolutos y entre las valoraciones 1 y 2 cuando se analizaban las concentraciones de Mn expresada en valores relativos al número de plaquetas ($p \leq 0,01$).

Tabla 21. Concentraciones de Mn en los compartimentos evaluados a lo largo del estudio en los dos grupos de estudio.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Mn Plasma (µg/L)	1ª valoración	3,05±1,48	0,94±0,43	<0,001#	0,182\$	0,061
	2ª valoración	2,00±0,30	1,32±0,28			
	3ª valoración	1,69±0,55	2,05±0,49			
Mn Orina (µg/L)	1ª valoración	0,228±0,196	0,088±0,185	0,005#	<0,001#	0,055\$
	2ª valoración	0,565±0,102**	0,381±0,172**			
	3ª valoración	0,421±0,197++	0,433±0,261++			
Mn Eritrocitos absoluto (µg/L)	1ª valoración	40,40±12,60	65,45±24,78	0,002#	0,007#	0,150
	2ª valoración	50,95±7,52^^	54,90±10,14^^			
	3ª valoración	44,56±5,22++	47,01±5,76++			
Mn eritrocitos relativo (pg/cell⁻⁶)	1ª valoración	8,60±2,57	15,46±5,39	<0,001#	0,019\$	0,079\$
	2ª valoración	10,99±1,59	13,15±2,21			
	3ª valoración	9,27±1,16++	12,02±1,34++			
Mn plaquetas absoluto (µg/L)	1ª valoración	10,01±4,26	15,25±13,98	0,245	0,037#	0,079#
	2ª valoración	12,37±3,37	13,20±3,47			
	3ª valoración	13,21±2,48++	12,41±4,76++			
Mn plaquetas relativo (pg/cell⁻³)	1ª valoración	0,071±0,025	0,079±0,059	0,256	<0,001#	0,132
	2ª valoración	0,065±0,022**	0,059±0,012**			
	3ª valoración	0,071±0,031	0,54±0,022			

#: tamaño del efecto grande (>0,14); \$: tamaño del efecto moderado (0,06-0,14); **p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 3ª; ^^ p≤0,01 diferencias entre valoración 2ª y 3ª; Mn: manganeso.

Las concentraciones de Mn en deportistas han sido previamente analizados en suero, orina (Maynar et al., 2019; Muñoz et al., 2019) y eritrocitos (Maynar et al., 2020). Sin embargo, la literatura respecto a las plaquetas es escasa. Al igual que los anteriores EM, las concentraciones de Mn se encuentra dentro del rango reportados en otros estudios (Heitland & Köster, 2006, 2021).

Las concentraciones de Mn en suero o plasma parecen ser más sensibles a las grandes variaciones en la ingesta de Mn, pero se necesitan estudios más prolongados para evaluar la utilidad de las concentraciones de Mn en suero como indicadores del estado del Mn (Russell et al., 2001). Por otro lado, una ventaja de la concentración de Mn en sangre total en comparación al análisis en plasma o suero como indicador es que la hemólisis leve de las muestras puede aumentar notablemente las concentraciones de Mn en plasma o suero, sobreestimando los valores. Sin embargo, Mn en sangre total parece

ser extremadamente variable (Russell et al., 2001). Por otro lado, como marcadores indirectos, se han utilizado diferentes enzimas como la arginasa o MnSOD. En primer lugar, la arginasa se ve afectada por una variedad de factores, incluida la dieta rica en proteínas y la enfermedad hepática (Morris, 1992). Respecto a MnSOD, es sabido que los animales con deficiencia de Mn tienen una baja actividad de SOD (Russell et al., 2001). Sin embargo, otros factores como el etanol y los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta (Davis et al., 1990) pueden afectar la actividad de la MnSOD (Russell et al., 2001).

Cuando se analizaban las diferencias a lo largo de las valoraciones en los compartimentos extracelulares, no se observaron diferencias en las concentraciones plasmáticas. Sin embargo, hubo un incremento en la excreción urinaria de Mn en ambos grupos. En relación con los valores urinarios de Mn, previamente se ha reportado incrementos en la excreción en atletas tras un periodo de entrenamiento de seis meses (Maynar et al., 2019). Igualmente, en el estudio anterior observaron descenso en las concentraciones séricas de Mn tras los seis meses de entrenamiento. No obstante, cuando se evaluó el efecto agudo del ejercicio físico se produjo un descenso de la excreción de Mn (Maynar et al., 2019; Muñoz et al., 2019).

Mn es una parte integral de otras enzimas metabólicas importantes como la piruvato carboxilasa, una enzima clave en el proceso de gluconeogénesis (Linder et al., 1983). Esta enzima actúa regulando toda la actividad del ciclo de Krebs, utilizando la acetil-CoA como activador alostérico. Mn es también un componente integral de la arginasa. Esta enzima requiere dos moléculas de Mn para desarrollar una función apropiada. Participa en el metabolismo de la urea, convirtiendo la L-arginina en L-ornitina y la L-ornitina en urea (Gibala, 2007). El metabolismo de la urea es un punto crítico en el ejercicio de resistencia, ya que este compuesto químico es un producto final en el metabolismo de las proteínas. A este respecto, se ha informado que el ejercicio de resistencia puede conducir a un aumento del catabolismo de proteínas y afectar el rendimiento de resistencia, la fuerza muscular y la condición física (Gibala, 2007).

La baja concentración plasmática gradual observada en la presente investigación podría ser causada por un incremento en la absorción de Fe, lo cual podría corroborarse con la tabla anterior (tabla 17) (Maynar et al., 2020; Maynar et al., 2018), lo que estaría relacionado con una mayor excreción de Mn, revelando una posible adaptación renal con el entrenamiento. Otro de los motivos por el cual disminuye las concentraciones

plasmáticas de Mn podría ser un aumento de la actividad de Mn-SOD, la cual se ha demostrado que podría aumentar al final de la temporada (Lukaski et al., 1990). Como se ha mencionado anteriormente, los radicales libres son producidos como resultado del metabolismo oxidativo. El incremento de radicales libres está asociado con un incremento de la peroxidación lipídica y la acumulación de metabolitos que pueden producir lesiones y muerte celular. Entre otras enzimas, la Mn-SOD controla el daño causado por los radicales libres y es sabido que una de las adaptaciones del entrenamiento físico es un incremento de la actividad de la misma (Marklund, 1986).

En cuanto a las concentraciones intracelulares, hubo cambios diferentes según el sexo. En chicos, se han observado un incremento gradual de las concentraciones de Mn en plaquetas y eritrocitos. Sin embargo, en las chicas se observaron descensos de las concentraciones de Mn en ambos compartimentos intracelulares. No se han encontrado estudios que evalúen la evolución a lo largo de una temporada/periodo de entrenamiento de las concentraciones de Mn eritrocitarias y plaquetarias. Previamente, se ha reportado que los sujetos sedentarios mostraban mayores concentraciones de Mn en eritrocitos en comparación con poblaciones activas o muy activas físicamente (Maynar et al., 2020). Cabe destacar que Mn-SOD estaría en proporciones muy pequeñas en el interior de los eritrocitos ya que no existen mitocondrias en este tipo de células. Por lo tanto, la evolución en las concentraciones eritrocitarias de Mn podrían deberse a la diferente ingesta de Mn entre sexos (Maynar et al., 2020). Respecto a las concentraciones de Mn plaquetarias, no hay informado en la literatura científica sobre las concentraciones de Mn en este compartimento a lo largo de la temporada en deportista. Quizás, al igual que ocurre en los eritrocitos, las diferencias entre sexos en la ingesta podrían explicar la tendencia de Mn en esta matriz biológica.

Respecto a las diferencias entre sexo, se han observado mayores concentraciones de Mn en plasma y orina en comparación a las chicas. A pesar de absorber menos Mn, Mn absorbido tuvo una semivida más larga en los hombres en comparación con las mujeres (Finley et al., 1994). Sin embargo, en una población de 1417 personas estadounidense se observó que las chicas excretaban mayor cantidad de Mn en relación a los valores de creatinina urinaria (Yang et al., 2020)

Como se ha mencionado anteriormente, la deficiencia de Fe influye en el metabolismo de Mn aumentando la absorción. Sin embargo, a pesar de que las jugadoras

presentaban menores concentraciones de ferritina y de Fe plasmático, las concentraciones de Mn eran inferiores a los futbolistas masculinos. Dado que la principal vía de eliminación del Mn es la bilis (Finley et al., 1994), estos datos pueden mostrar que la secreción hepática de Mn en la bilis es más activa en las mujeres que en los hombres. La influencia del sexo en el recambio de Mn en todo el organismo justifica una mayor investigación sobre si el sexo influye en el metabolismo hepático del Mn y su excreción en la bilis. Se ha demostrado que el hepatocito mueve el Mn hacia el canalículo biliar en contra de un gradiente de concentración (Klaassen, 1974). Por lo tanto, creemos que la menor concentración extracelular de Mn pueda deberse a una eliminación incrementada de Mn a través de la bilis en futbolistas femeninas.

En cuanto a las concentraciones eritrocitarias, las chicas mostraban mayores concentraciones eritrocitarias en comparación a los chicos, tanto en valores relativos como absolutos. Los datos concuerdan con lo reportado previamente en un estudio con más de 7700 participantes estadounidenses (Oulhote et al., 2014), canadienses (Baldwin et al., 1999) y coreanos (Kim et al., 2017; Kim & Lee, 2011). Según autores, este hecho podría ser debido a una menor concentración de ferritina en sangre por parte de las mujeres (Kim & Lee, 2011). Los niveles más altos de Mn en sangre también se asociaron con niveles más bajos de Fe en sangre total en personas mayores de 12 años (Oulhote et al., 2014). Esto sugiere que podría existir diferencias metabólicas relacionadas con el sexo en los mecanismos homeostáticos que regulan los niveles de Mn en sangre. Un estudio sobre la absorción dietética de Mn mostró que, cuando se consume una dieta adecuada en Mn, las mujeres pueden absorber significativamente más Mn que los hombres (Finley et al., 1994).

4.6.4. Molibdeno

La tabla 22 recoge los datos de las concentraciones de Mo en las matrices extracelulares e intracelulares analizadas.

A la hora de analizar las concentraciones plasmáticas de Mo se observaron diferencias entre sexos y entre las valoraciones realizadas a lo largo de la investigación con tamaños del efecto grandes ($p \leq 0,001$). Las diferencias entre valoraciones se hallaron entre las valoraciones 1 y 2 y las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$).

Cuando se analizaban las concentraciones urinarias de Mo se hallaron diferencias a lo largo de la investigación con tamaño del efecto grande. Las diferencias se observaron entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$). Igualmente, el efecto del sexo tuvo un tamaño del efecto grande mientras que la interacción sexo x medida presentó un tamaño del efecto moderado.

Respecto a las concentraciones urinarias de Mo, se observaron diferencias en a lo largo de las valoraciones realizadas. Concretamente, entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$). Aunque no hubo diferencias significativas, el efecto del sexo tuvo un tamaño del efecto grande, así como un tamaño del efecto moderado en la interacción sexo x medida.

Respecto a las concentraciones intracelulares, tanto en plaquetas como en eritrocitos, se observaron diferencias a lo largo de las valoraciones con un tamaño del efecto grande ($p \leq 0,05$). Las diferencias específicas en las concentraciones eritrocitarias de Mo expresadas en valores absolutos se hallaron entre las valoraciones 1 y 2 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$). Por otro lado, las diferencias específicas en las concentraciones eritrocitarias de Mo expresadas en valores relativos se hallaron entre las valoraciones 1 y 2 y las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$). Por último, en las concentraciones intraplaquetarias de Mo, tanto en valores absolutos como relativos, se observaron diferencias entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$).

Tabla 22. Concentraciones de Mo en plasma, orina, eritrocitos y plaquetas a lo largo del estudio en ambos grupos.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Mo Plasma (µg/L)	1ª valoración	2,07±0,59	1,44±0,71			
	2ª valoración	2,67±0,75**	1,93±0,45**	<0,001#	<0,001#	0,216
	3ª valoración	2,59±0,79++	2,39±0,49++			
Mo Orina (µg/L)	1ª valoración	53,98±40,77	57,55±46,16			
	2ª valoración	67,16±37,14^^	34,33±24,88^^	0,066#	<0,001#	0,057\$
	3ª valoración	24,71±16,63++	19,23±13,80++			
Mo Eritrocitos absoluto (µg/L)	1ª valoración	19,87±6,15	30,97±33,61			
	2ª valoración	42,45±37,61**	44,37±48,36**	0,730	0,003#	0,088\$
	3ª valoración	26,73±20,11++	22,85±9,15++			
Mo eritrocitos relativo (pg/cell⁻⁶)	1ª valoración	2,66±1,01	3,50±5,38			
	2ª valoración	8,77±7,99**	10,26±10,59**	0,574	0,002#	0,121
	3ª valoración	5,60±3,98^^	4,58±1,68^^			
Mo plaquetas absoluto (µg/L)	1ª valoración	7,51±2,51	8,71±4,18			
	2ª valoración	6,94±2,98^^	8,15±5,32^^	0,346	0,041#	0,217
	3ª valoración	3,88±1,53++	4,51±1,42++			
Mo plaquetas relativo (pg/cell⁻³)	1ª valoración	0,040±0,014	0,042±0,017			
	2ª valoración	0,032±0,015^^	0,037±0,027^^	0,991	<0,001#	0,996
	3ª valoración	0,024±0,021++	0,028±0,005++			

#: tamaño del efecto grande (>0,14); \$: tamaño del efecto moderado (0,06-0,14); **p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 3ª; ^^ p≤0,01 diferencias entre valoración 2ª y 3ª; Mo: molibdeno.

Las concentraciones de Mo analizadas en diferentes compartimentos se encuentran dentro del rango reportado en investigaciones previas (Heitland & Köster, 2021; Maynar et al., 2020).

Mo tiene relativamente poco interés para las personas físicamente activas (Driskell & Wolinsky, 2005). Como se ha comentado anteriormente, Mo es un elemento de transición que cambia fácilmente su estado de oxidación y, por lo tanto, puede actuar como agente de transferencia de electrones en reacciones de oxidación-reducción en las que pasa de Mo⁶⁺ a estados reducidos (Driskell & Wolinsky, 2005).

Diferentes marcadores han sido utilizados para valorar el estatus de Mo. Las concentraciones de Mo en plasma y suero son bajas en humanos y por lo tanto complejas de valorar. Como consecuencia, existen pocos estudios sobre las concentraciones de Mo en estos compartimentos biológicos (Institute of Medicine, 2001b). La concentración de

Mo en plasma aumenta con la ingesta dietética, alcanza su punto máximo aproximadamente una hora después de las comidas y luego vuelve a los niveles basales (Cantone et al., 1995). En estudio de protones para analizar la biocinética, los trazadores de Mo infundidos desaparecen rápidamente de la sangre (Cantone et al., 1995). Por lo tanto, las concentraciones plasmáticas de Mo no reflejan el estado nutricional en el organismo y no pueden utilizarse como indicador para estimar los requisitos. Por otro lado, la ruta principal de excreción de Mo es la orina (Rosoff & Spencer, 1964). Las concentraciones de Mo urinarias reflejan la ingesta dietética, aumentando las concentraciones a medida que incrementa la ingesta dietética. Cuando la ingesta de Mo es baja, alrededor del 60% de Mo ingerido se excreta en la orina, pero cuando la ingesta de Mo es alta, más del 90% se excreta en la orina (Turnlund et al., 1995). Sin embargo, Mo urinario por sí solo no refleja el estado del mismo (Institute of Medicine, 2001b).

Mo está presente en todos los tejidos humanos y animales. Se han reportado que el contenido de Mo en los órganos humanos oscila entre 0,001 y 0,4 mg/Kg, siendo el más bajo para la sangre y el más alto para los riñones y el hígado (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007). El medio en los tejidos blandos es de <0,075 mg/Kg y en el esqueleto de <0,48 mg/Kg. Los valores medios de las concentraciones de Mo en la sangre total humana oscilan entre 3,4 y 14,9 µg/L y parecen ser un poco más bajos en las mujeres que en los hombres (Momãiloviõ & Iviãiõ, 2003).

Se han observado diferencias a lo largo de las mediciones en las concentraciones plasmáticas de Mo, incrementando respecto a la primera valoración. Otag et al., (2014) reportaron que las concentraciones séricas de Mo incrementaban después de realizar 2 km en ergómetro. Igualmente, Berger et al., (2002) reportaron concentraciones incrementadas tras una maratón. Por otro lado, Maynar et al., (2019) no observaron cambios significativos en las concentraciones séricas de Mo tras un periodo de entrenamiento aeróbico de 6 meses. Sin embargo, observaron que los atletas tenían mayores concentraciones séricas en comparación con el grupo control. Cuando se analizaban estados basales, se reportaron que los deportistas mostraban mayores concentraciones séricas en comparación con el grupo control, siendo los deportistas anaeróbicos los que mayores concentraciones tenían dentro del grupo de deportista. Respecto a las concentraciones urinarias, no se han observado cambios significativos tras un periodo de entrenamiento de seis meses de duración (Maynar et al., 2019). Igualmente,

cuando se analizaba el efecto agudo de un test incremental máxima no se observaron diferencias en la excreción de Mo (Maynar et al., 2018).

El incremento de las concentraciones de Mo en plasma y orina a lo largo de las valoraciones en los participantes del estudio podrían facilitar la formación de ácido úrico, evitando el daño de los radicales libres (aniones superóxidos) generados por la XO en los procesos de isquemia-reperfusión generados durante la realización de ejercicio físico de alta intensidad (Novotny & Peterson, 2018).

Respecto a los cambios observado a lo largo de las valoraciones en las concentraciones intracelulares de Mo, se han observado incrementos a mitad de temporada y un descenso al final de esta en las concentraciones eritrocitarias. Por otro lado, se mostraron descensos progresivos en las concentraciones intraplaquetarias. En estado basal, los deportistas de nivel medio y alto nivel presentaron menores concentraciones de Mo intracelular en comparación con el grupo control (Maynar et al., 2020; Maynar et al., 2018). No se ha encontrado información respecto a las concentraciones eritrocitarias y plaquetarias de Mo en deportistas.

En cuanto a las diferencias entre sexo, el presente estudio mostró que los futbolistas masculinos tuvieron mayores concentraciones plasmáticas de Mo en comparación con las futbolistas femeninas. Es sabido que las concentraciones de ácido úrico parecen ser superiores en hombres activos (Huang et al., 2021) y en deportistas masculinos (Díaz Martínez et al., 2022; Pradas et al., 2020). Esto podría deberse a las diferencias en las concentraciones plasmáticas de Mo, ya que, como se han comentado anteriormente, Mo facilita la formación de ácido úrico para evitar el daño de los radicales libres. Además, las chicas parecen ser menos susceptibles al estrés oxidativo, concretamente las mujeres premenopáusicas, debido al papel antioxidante de los estrógenos (Kander et al., 2017) por ello los niveles de ácido úrico podrían ser menores.

4.6.5. Selenio

La tabla 23 muestra las concentraciones de Se en los compartimentos extracelulares e intracelulares estudiados en la presente investigación.

Se observaron diferencias entre sexos y a lo largo de la investigación en las concentraciones plasmáticas de Se con tamaños del efecto grandes. Concretamente, las

diferencias a lo largo de las valoraciones se observaron entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$).

Cuando se analizan las concentraciones urinarias de Se ocurre algo similar a las concentraciones plasmáticas de Se ya que también se observaron diferencias significativas entre sexos y a lo largo de las valoraciones con un tamaño del efecto también grande ($p \leq 0,01$). Como ocurre también en las concentraciones plasmáticas de Se, las diferencias se observaron entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$).

Respecto a las concentraciones eritrocitarias de Se, se observaron diferencias entre sexos tanto en las concentraciones absolutas como en las concentraciones relativas al número de eritrocitos ($p \leq 0,01$) con un tamaño del efecto grande.

Por último, cuando se analizaban las concentraciones intraplaquetarias de Se se observaron diferencias significativas entre sexos y entre las valoraciones realizadas con un tamaño del efecto grande, tanto expresados valores absolutos como en valores relativos. Concretamente, las diferencias se hallaron entre las valoraciones 1 y 3 ($p \leq 0,01$).

Tabla 23. Concentraciones de Se en los diferentes compartimentos biológicos estudiados en ambos grupos.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Se Plasma (µg/L)	1ª valoración	80,79±18,90	70,44±19,66			
	2ª valoración	88,88±12,19^^	80,86±15,28^^	0,001#	<0,001#	0,189
	3ª valoración	116,50±16,20++	97,25±16,29++			
Se Orina (µg/L)	1ª valoración	24,09±14,13	29,97±14,92			
	2ª valoración	33,90±16,53^^	12,95±10,66^^	0,006#	<0,001#	0,178
	3ª valoración	14,30±5,79++	9,43±6,35++			
Se Eritrocitos absoluto (µg/L)	1ª valoración	65,23±25,57	70,96±32,94			
	2ª valoración	54,58±25,40	77,23±52,14	<0,001#	0,085\$	0,078
	3ª valoración	46,15±33,08	120,90±32,39			
Se eritrocitos relativo (pg/cell⁻⁶)	1ª valoración	14,98±4,95	16,41±7,01			
	2ª valoración	12,48±5,51^^	16,96±12,17^^	<0,001#	0,212	0,097\$
	3ª valoración	9,58±6,99++	26,98±7,09++			
Se plaquetas absoluto (µg/L)	1ª valoración	5,84±2,25	4,36±2,47			
	2ª valoración	9,07±2,30	6,70±1,66	<0,001#	<0,001#	0,312
	3ª valoración	11,34±4,16++	8,41±3,78++			
Se plaquetas relativo (pg/cell⁻³)	1ª valoración	0,033±0,013	0,023±0,014			
	2ª valoración	0,045±0,012	0,032±0,008	<0,001#	<0,001#	0,056#
	3ª valoración	0,085±0,019++	0,059±0,013++			

#: tamaño del efecto grande (>0,14); \$: tamaño del efecto moderado (0,06-0,14); ++p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 3ª; ^^ p≤0,01 diferencias entre valoración 2ª y 3ª; Se: selenio.

El estado del Se ha sido asociado inversamente con otros problemas de salud, incluidos el cáncer, la infertilidad, la función inmunitaria deteriorada y la mortalidad (Ashton et al., 2009). Dado que existe un rango relativamente estrecho de ingesta de Se entre la toxicidad (>900 µg/día) y la deficiencia (<30 µg/día), los biomarcadores funcionales son críticos para estimar las ingestas asociadas con riesgos y beneficios para la salud (Ashton et al., 2009).

El estado Se puede evaluarse utilizando una variedad de métodos que incluyen la medición en sangre total, el plasma, el suero, la orina, los glóbulos rojos, las plaquetas, el cabello y las uñas (Wolinsky & Driskell, 2005). Los datos de los 18 estudios de suplementos de Se incluidos en una revisión sistemática sugieren que Se en plasma, eritrocitos y sangre total, la selenoproteína P en plasma y la actividad GPx en plasma, plaquetas y sangre total probablemente sean marcadores útiles del estado de Se. No hubo

evidencia suficiente para otros biomarcadores como el Se urinario, la tiroxina en plasma o la homocisteína total en plasma y la actividad de GPx muscular (Ashton et al., 2009).

Más recientemente se reportaron diferentes marcadores en función del objetivo a evaluar respecto al metabolismo de Se (Combs Jr, 2015). Para evaluar el estado de Se, el marcador más utilizado, particularmente en humanos, es el plasma (o suero). Además, tres tipos de células están fácilmente disponibles para su uso en la evaluación del estado de Se como son los eritrocitos y los linfocitos (Combs Jr, 2015). Para evaluar la función de Se, se han utilizado los siguientes marcadores: GPX, reductasa de tiorredoxina, flavoenzimas dependientes de NADPH, yodotironina desiodinasas y selenoproteína P transportadora de Se (Combs Jr, 2015).

Cada parámetro de evaluación tiene ventajas e inconvenientes. El Se plasmático o sérico refleja el estado a corto plazo, mientras que los glóbulos rojos, las plaquetas, el pelo y las uñas son mejores indicadores del estado a largo plazo. Las muestras de cabello pueden estar contaminadas por champús que contengan Se o productos de henna que contengan Se, lo que haría que los niveles de Se en el cabello fueran inexactos y no reflejaran el estado. Según Thomson, los valores de plasma o suero se consideran la herramienta preferida para comparar el estado del Se entre países (Thomson, 2004a). Las proteínas o enzimas que contienen Se aumentarán durante la administración de suplementos en las personas con deficiencia, pero alcanzarán un nivel máximo. Esto hace que estas pruebas sean deficientes indicadores de la exposición a niveles más altos de Se (Wolinsky & Driskell, 2005).

El Se plasmático, aunque generalmente no se considera un biomarcador ideal del estado del Se, es el más utilizado en la literatura (Thomson, 2004a, 2004b). En general, el Se en plasma aumenta tras la suplementación y podría ser útil como biomarcador en adultos de ambos sexos. Además, el Se plasmático refleja los cambios en la ingesta en sujetos con un nivel de Se intermedio o alto. En consecuencia, es probable que el Se plasmático también sea útil para evaluar el estado en individuos agotados. Por otro lado, las concentraciones séricas de Se podrían reflejar el estado del Se con efectos sobre la salud (Thomson, 2004a). Sin embargo, la interpretación de los resultados podría ser difícil en participantes con una respuesta inflamatoria sistémica (Duncan et al., 2012). El Se eritrocitario es utilizado como marcador del estado del Se a largo plazo (Gibson, 2005).

Respecto a los marcadores indirectos del estado de Se, la actividad de GPx en plasma, plaquetas y sangre total reflejaba la ingesta de Se, pero no había datos suficientes para aclarar la actividad de GPx en eritrocitos o músculos. Hay informes en la literatura que diferencian la actividad de GPx según el tipo como marcador del estado de Se. Se cree que las actividades plaquetarias GPx1 y GPx4 son un reflejo preciso del estado de Se (Bibow et al., 1993; Neve, 1995) aunque la respuesta de la actividad GPx1 en las plaquetas alcanza una meseta cuando Se plasmático es relativamente bajo (Neve et al., 1988), por lo que el uso de la actividad de la GPx plaquetaria como biomarcador del estado está potencialmente limitado a poblaciones con un estado basal bajo de Se.

En cuanto a la evaluación a lo largo de la temporada en las concentraciones de Se, se observaron incrementos en las concentraciones plasmáticas y descensos en las concentraciones urinarias en comparación con los valores iniciales. Por otro lado, las concentraciones plaquetarias aumentaron a lo largo de la investigación. Autores previos reportaron menores concentraciones plasmáticas de Se tras 4 semanas de entrenamiento aeróbico (Tessier et al., 1995). En cuanto a las concentraciones urinarias, autores previos informaron de niveles urinarios más bajos de Se en los atletas tras una prueba incremental máxima y un periodo de entrenamiento aeróbico de 6 meses (Maynar et al., 2018, 2019).

Se puede postular que el aumento de las concentraciones plasmáticas de Se podrían indicar una reserva de Se saturada. Se sabe que la cantidad de Se incorporada a los músculos, la principal reserva de Se, se satura con una dieta rica en Se (Margaritis et al., 2005). En el presente estudio se observó un incremento en la ingesta estimada de Se, lo que podría estar relacionado con lo anterior. También, se ha observado descenso en las concentraciones eritrocitarias de Se, lo que significa que algo de Se de los eritrocitos se transfirió al plasma y los tejidos (Pograjc et al., 2012). Respecto a las concentraciones urinaria, la disminución de la eliminación urinaria podría estar relacionado con un posible mecanismo adaptativo para evitar mayores pérdidas de Se (Maynar et al., 2019).

En relación con las diferencias entre sexo, previamente se han reportado en diferentes poblaciones que los hombres presentan mayor concentración plasmáticas de Se. Concretamente, en una población polaca (Hać et al., 2002), coreana (Kim et al., 2017), estadounidense (Jain & Choi, 2015) e italiana (Sesana et al., 1992). Según autores previos, estas diferencias de género pueden deberse a las diferencias en la dieta, la ingesta de estos elementos de la dieta, las diferencias en la exposición ocupacional y las diferencias en el

metabolismo, incluidas las tasas de absorción, distribución y excreción (Jain & Choi, 2015).

Respecto a las diferencias entre sexos en la excreción urinaria en el presente estudio se ha observado mayor excreción en los futbolistas varones en las valoraciones 2 y 3 en comparación con las futbolistas femeninas. La diferencias en la excreción de Se entre hombres y mujeres se suma a la lista de diferencias específicas del sexo en el metabolismo de Se hepático, que se ha observado tanto en roedores como en humanos (Stoedter et al., 2010). Estos resultados están acordes a los reportado por una población japonesa donde evaluaban la influencia de la ingesta de Se en la excreción urinaria de dicho mineral (Yoneyama et al., 2008). Igualmente, otros autores reportaron mayores concentraciones de Se en orina en comparación con mujeres (Urbano et al., 2021)

En cuanto a las diferencias entre sexos en las concentraciones eritrocitarias se observó que las futbolistas femeninas mostraban mayor cantidad de Se, tanto en valores absolutos como relativos al número de células. Estos datos concuerdan con un estudio que analizaba las diferencias entre edad, sexo y raza en el estado de Se (McAdam et al., 1984).

El impacto del sexo en los biomarcadores de Se circulantes en animales se ha observado desde finales de los años 60 (Pinto & Bartley, 1968). En seres humanos, se ha reconocido que las mujeres tienen una mayor actividad de GPX en su circulación que los hombres, pero no un aumento de los niveles de Se (Seale et al., 2018), al igual que en ratones (Schomburg et al., 2007). Más tarde, investigadores determinaron que, en personas con la misma ingesta de Se, las mujeres presentaron un aumento significativo de la albúmina ligada a Se, mientras que los hombres presentaron una mayor proporción de Se total (Letsiou et al., 2014).

4.6.6. Zinc

Por último, la tabla 24 muestra las concentraciones de Zn en las diferentes matrices biológicas analizadas a lo largo de las investigaciones en ambos grupos.

Cuando se analizaron las concentraciones plasmáticas de Zn se observaron diferencias significativas entre sexos con un tamaño del efecto grande ($p \leq 0,01$). El efecto de la medida presentó un tamaño del efecto moderado.

Respecto a las concentraciones urinarias de Zn, hubo diferencias entre sexos y a lo largo de las valoraciones ($p \leq 0,01$) con un tamaño del efecto grande. Concretamente, las diferencias se observaron entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,01$). La interacción sexo x medida presentó un tamaño del efecto moderado.

Respecto a las concentraciones eritrocitarias de Zn, no se observaron diferencias significativas cuando se analizaban las concentraciones absolutas. Sin embargo, se observaron diferencias entre sexos cuando se expresaban las concentraciones eritrocitarias en valores relativos al número de eritrocitos con un tamaño del efecto grande ($p \leq 0,05$).

Finalmente, respecto a las concentraciones intraplaquetarias de Zn, se observaron diferencias a lo largo de la investigación en las concentraciones intraplaquetarias expresadas en valores absolutos ($p \leq 0,01$) con tamaño del efecto grande, al igual que la diferencia entre sexos. Las diferencias se hallaron entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,05$). En cuanto a las concentraciones de Zn intraplaquetarias expresadas en valores relativos al número de plaquetas, se observaron diferencias significativas tanto entre sexos como a lo largo de las valoraciones con tamaños del efecto grandes ($p \leq 0,01$). Las diferencias se hallaron entre las valoraciones 1 y 3 y las valoraciones 2 y 3 ($p \leq 0,05$).

Tabla 24. Concentraciones de Zn en plasma, orina, eritrocitos y plaquetas a lo largo del estudio en los diferentes grupos.

		Futbolistas masculinos	Futbolistas femeninas	Efecto Sexo	Efecto Medida	Sexo x Medida
Zn Plasma (µg/L)	1ª valoración	956,70±194,36	775,15±121,60			
	2ª valoración	998,69±175,85	839,28±136,61	<0,001#	0,124\$	0,676
	3ª valoración	994,87±79,55 [^]	874,09±80,18 [^]			
Zn Orina (µg/L)	1ª valoración	874,48±334,83	734,16±277,19			
	2ª valoración	1172,75±413,28 ^{^^}	300,59±235,07 ^{^^}	<0,001#	0,001#	0,058\$
	3ª valoración	554,54±149,19 ⁺⁺	533,80±275,50 ⁺⁺			
Zn Eritrocitos absoluto (mg/L)	1ª valoración	9,80±1,10	9,90±1,89			
	2ª valoración	10,34±1,02	10,67±1,78	0,556	0,301	0,475
	3ª valoración	10,72±1,14	10,44±1,21			
Zn eritrocitos relativo (µg/cell⁻⁶)	1ª valoración	2,08±0,12	2,37±0,47			
	2ª valoración	2,29±0,27	2,63±0,48	<0,001#	0,218	0,740
	3ª valoración	2,18±0,35	2,42±0,31			
Zn plaquetas absoluto (µg/L)	1ª valoración	270,85±55,02	287,79±48,33			
	2ª valoración	272,90±79,39 ^{^^}	187,65±66,91 ^{**}	0,087#	<0,001#	0,204
	3ª valoración	204,73±61,69 ⁺⁺	184,53±58,54 ⁺⁺			
Zn plaquetas relativo (pg/cell⁻³)	1ª valoración	1,53±0,50	1,45±0,26			
	2ª valoración	1,35±0,25 ^{^^}	0,855±0,269 ^{**}	0,002#	<0,001#	0,163
	3ª valoración	1,02±0,24 ⁺⁺	0,919±0,360 ⁺⁺			

#: tamaño del efecto grande (>0,14); \$: tamaño del efecto moderado (0,06-0,14); **p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 2ª; ++p≤0,01 diferencias entre valoración 1ª y 3ª; [^] p≤0,05 diferencias entre valoración 2ª y 3ª; ^{^^} p≤0,01 diferencias entre valoración 2ª y 3ª; Zn: zinc.

En base a los resultados obtenidos, es importante evaluar las concentraciones intracelulares y extracelulares de Zn simultáneamente (Toro-Román, et al., 2022). Los compartimentos biológicos como el plasma, suero, eritrocitos u orina han sido utilizados para valorar el estado de Zn (Solomons, 1979), además de enzimas y proteínas específicas. Sin embargo, no hay consenso sobre qué indicadores son los apropiados. Esto ha llevado a que se utilicen diversos indicadores, lo que dificulta la comparación entre investigaciones (Wieringa et al., 2015).

Aunque la concentración sérica de Zn es el marcador más utilizado para determinar el estatus de Zn, factores como la edad, hormonas, el estrés, la infección y la inflamación podrían afectar a dichas concentraciones (Chu et al., 2017; Hess et al., 2007). Además, no parece ser un indicador específico del estado de Zn en atletas o en la población general (Couzy et al., 1990; King et al., 2015). Factores como el estrés, la

infección y la inflamación podrían afectar las concentraciones séricas de Zn (Hess et al., 2007). Por lo tanto, atendiendo a lo anterior, es necesario considerar otros compartimentos para evaluar el estado de Zn. Las valoraciones de las concentraciones intracelulares de Zn no son comunes en la literatura científica (Kenney et al., 1984). La valoración de Zn en eritrocitos podría ser aceptada ya que no parece estar influenciada por respuesta inflamatoria aguda o por la dieta a corto plazo (Oakes et al., 2008). Debido a los inconvenientes de algunas matrices biológicas, es importante a la hora de valorar estados de EM determinar las concentraciones extracelulares e intracelulares en diferentes compartimentos simultáneamente.

Todos los valores obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro de un rango reportado en anteriores investigaciones (Heitland & Köster, 2006, 2021).

El entrenamiento físico a largo plazo produce diferentes adaptaciones que podrían influir en la redistribución de Zn entre diferentes compartimentos y órganos (Cordova et al., 1998). Esta redistribución parece depender del tipo de ejercicio físico, el estado del entrenamiento, la duración del ejercicio y la temperatura ambiental (Chu & Samman, 2014).

A la hora de analizar las diferencias a lo largo de las valoraciones, se observaron cambios significativos en las concentraciones urinarias y plaquetarias de Zn. En relación con las concentraciones urinarias, se observó un incremento seguido de un descenso en futbolistas masculinos. Mientras que en las chicas se observó una evolución inversa. Autores previos reportaron mayor concentración de Zn en orina tras la suplementación con Zn (Eskici et al., 2016), tras ejercicio extenuante (Kikukawa & Kobayashi, 2002; Siquier-Coll et al., 2019), tras un periodo de entrenamiento de seis meses de duración (Maynar et al., 2019) y tras un programa de exposición repetida al calor (Siquier-Coll et al., 2020). En futbolistas, se observó un aumento significativo en los niveles de Zn en orina después de un partido de fútbol sala en comparación con los valores previos al partido (Kaya, 2008).

La resistencia aeróbica aguda y el ejercicio de fuerza muscular disminuyen los niveles séricos de Zn mientras aumentan el Zn urinario, especialmente en caso de ejercicio hasta el agotamiento (Chu et al., 2017; Maynar et al., 2018). Estos cambios en los niveles de Zn se han encontrado durante el periodo de recuperación, por lo que podría

estar relacionado con los procesos de reparación muscular que intervienen durante esta fase

El ejercicio físico regular puede aumentar la excreción de Zn por la orina debido a un aumento del catabolismo de las proteínas musculares provocado por el aumento de la carga de aminoácidos filtrados por los riñones (Coates et al., 2010; Siquier-Coll et al., 2019). El proceso catabólico debe implicar la descomposición de una variedad de proteínas, incluidas las metaloproteínas de Zn. Los complejos de Zn producidos serán probablemente quelatos de aminoácidos de Zn que aumentarán la fracción de Zn suelto en el plasma y conducirán a un aumento de la filtración renal y la excreción de Zn en la orina (Fell et al., 1973). Igualmente, los aumentos de Zn en orina también pueden producirse debido al daño muscular (Cordova et al., 1998). Los hallazgos de Granell, (2014) sugirieron que los cambios de Zn en suero y orina están relacionados con el tipo de ejercicio realizado, siendo mayores cuando aparece un gran impacto en los tejidos musculares.

Los descensos urinarios reportados en ambos grupos se han observado en otros estudios previos (Buchman et al., 1998; Eskici et al., 2016). La menor eliminación urinaria de Zn podría corresponder a un mecanismo adaptativo para evitar pérdidas de elementos (Maynar et al., 2018, 2019).

Respecto a las diferencias intraplaquetaria de Zn, se observaron disminuciones progresivas a lo largo del estudio. Pocos estudios han investigado en deportistas las concentraciones de Zn en plaquetas. Uno de ellos reportó que los sujetos con niveles bajos de actividad física mostraban mayor cantidad de Zn intraplaquetario en comparación con futbolistas (Toro-Román et al., 2022). Se ha mencionado que las plaquetas pueden desintegrarse y liberar Zn al suero durante la coagulación (Foley et al., 1968). Además, el artículo anterior documentó que el aumento de la concentración sérica de Zn se puede atribuir a una dilución ligeramente mayor en el plasma, derivada de las plaquetas y la hemólisis.

Respecto a las diferencias entre sexo, los futbolistas masculinos mostraron mayores concentraciones de Zn en plasma y orina. Por otro lado, las futbolistas femeninas obtuvieron mayores concentraciones de Zn en eritrocitos y plaquetas en valores relativos. A la hora de comparar entre sexos, Bordin et al., (1993) mostraron mayores concentraciones de Zn plasmáticos en hombres, siendo mayor igualmente tras un test en

tapiz rodante. Por otro lado, Tipton et al., (1993) observaron que, en condiciones de hipertermia y normotermia, los hombres tuvieron pérdidas de Zn significativamente mayores por sudor en comparación con las mujeres. Sin embargo, otros autores no observaron diferencias entre sexos (Chooi et al., 1976).

Las diferencias entre sexos en las concentraciones de Zn en los diversos compartimentos analizados podrían deberse a diferentes motivos.

En primer lugar, a la diferencia en la masa muscular entre sexo. Como se comentó anteriormente, la mayor parte de Zn se encuentra en el músculo esquelético (~60 %), mientras que en plasma solo se encuentra ~0,1 % del Zn corporal (Hernández-Camacho et al., 2020).

En segundo lugar, debido al daño muscular producido durante la práctica de fútbol generados por las acciones físicas predominantes (aceleraciones, deceleraciones, cambios de dirección) así como a los traumatismo por choques e impacto (Chou et al., 2021; Lazarim et al., 2009). Es sabido que existen diferencias entre género en las demandas física durante un partido, habiendo más acciones de mayor intensidad en los partidos del género masculinos (Bradley et al., 2014). El daño muscular conduciría a una mayor liberación de Zn por parte del músculo hacia el plasma (Lukaski et al., 1984; Mundie & Hare, 2001), así como a un incremento en la excreción urinaria de Zn (Cuthbertson et al., 1972).

Por último, la hemólisis producida por las acciones predominantes en el fútbol, mencionadas anteriormente, podría explicar también las diferencias observadas en el presente estudio. En los eritrocitos, Zn se encuentra en la membrana y es cofactor de la anhidrasa carbónica y SOD (Van Wouwe et al., 1990). Al igual que en el presente estudio, Mundie & Hare, (2001) observaron tras un entrenamiento de fuerza, descensos significativos de concentraciones de Zn en eritrocitos junto con un incremento significativo de Zn plasmático. Es sabido que la hemólisis podría conducir a aumentos en suero y plasma (Killilea et al., 2017; King et al., 2015) ya que la concentración de Zn en los eritrocitos es aproximadamente 10 veces superior en comparación al plasma o suero (Vallee & Gibson, 1948). Las diferencias entre sexos pueden atribuirse a la elevada necesidad de Zn en los hombres, ya que la tasa de crecimiento y la proporción de músculo por kilogramo de peso son mayores en comparación con la necesidad de Zn en las mujeres. La participación del Zn en los mecanismos involucrados en la absorción y

retención de nitrógeno es incuestionable, siendo necesario para la formación de la masa corporal magra y de las estructuras que componen el organismo (Marques et al., 2016).

Cabe destacar que es importante expresar las concentraciones intracelulares de EM en valores relativos a células ya que, como ocurre en el presente estudio, los resultados podrían ser diferentes. Respecto a las plaquetas, previamente en un estudio similar se ha reportado que los hombres muestran mayores concentraciones de Zn en comparación con las chicas (Toro-Román et al., 2022). Sin embargo, no existe demasiada información para justificar estas diferencias entre sexos.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONS

5. Conclusiones

A continuación, se exponen las principales conclusiones obtenidas del presente trabajo enumeradas en base al orden de los objetivos principales de investigación descritos anteriormente.

1. Las medidas antropométricas y la composición corporal difieren entre sexos en futbolistas. Concretamente, los futbolistas masculinos obtuvieron mayores valores de altura, peso corporal, porcentaje y peso musculares, así como menores valores de pliegues cutáneos, porcentaje y peso graso en comparación a las futbolistas femeninas. A lo largo de la temporada deportiva se observaron descensos en el sumatorio de pliegues y en porcentaje graso en comparación con los valores iniciales en ambos sexos.
2. La condición física (salto vertical, fuerza muscular isométrica y capacidad aeróbica máxima) es diferente entre sexos, obteniendo los jugadores masculinos mayores valores en las anteriores pruebas. Se producen cambios significativos a lo largo de la temporada en la fuerza isométrica del miembro inferior y el VO_{2max} en ambos sexos.
3. No hay diferencias en la ingesta nutricional de macronutrientes y micronutrientes entre futbolistas masculinos y femeninas semiprofesionales durante una temporada deportiva. Sin embargo, los futbolistas masculinos ingieren mayores cantidades de energía total y proteínas.
4. Los futbolistas masculinos mostraron mayores valores en los parámetros de la serie roja, urea, GOT, LDH, CK y ferritina. Sin embargo, las futbolistas femeninas presentaron mayores valores en ácido fólico y transferrina. Al final de la temporada deportiva se observan incrementos respecto a los valores iniciales de eritrocitos, hemoglobina, HCM y GOT, así como descensos en CK y LDH en ambos sexos.
5. Las concentraciones urinarias y plaquetarias de Cu son superiores en futbolistas masculinos, mientras que las concentraciones eritrocitarias de

Cu son mayores en futbolistas femeninas. Al final de la temporada se producen incrementos en las concentraciones plasmáticas y eritrocitarias, así como descensos en las concentraciones urinarias y plaquetarias en ambos grupos.

6. Las concentraciones de Fe en todas las matrices analizadas son distintas entre sexos. Las concentraciones extracelulares y las concentraciones plaquetarias de Fe son superiores en futbolistas masculinos. A lo largo de la temporada se producen incrementos en la excreción urinaria y descensos en las concentraciones eritrocitarias de Fe en ambos grupos.
7. Las concentraciones plasmáticas y urinarias de Mn son superiores en futbolistas masculinos, mientras que las concentraciones eritrocitarias de Mn son mayores en futbolistas femeninas. Se producen incrementos en hombres a lo largo de la temporada deportiva en las concentraciones urinarias, eritrocitarias y plaquetarias mientras que en las futbolistas femeninas se observa un descenso en las concentraciones eritrocitarias y plaquetarias respecto a los valores iniciales.
8. Las concentraciones plasmáticas de Mo son superiores en futbolistas masculinos. A lo largo de la temporada deportiva se producen incrementos en las concentraciones plasmáticas y eritrocitarias, así como descensos en las concentraciones urinarias y plaquetarias de Mo respecto a los valores iniciales en ambos sexos
9. Todas las concentraciones de Se analizadas en los diferentes compartimentos biológicos son diferentes según el sexo. Los futbolistas presentan mayores concentraciones en plasma, orina y plaquetas, mientras que las futbolistas femeninas reportan mayores concentraciones en eritrocitos. Se producen incrementos en plasma y plaquetas, y descensos en eritrocitos a lo largo de la temporada en comparación con los valores iniciales en ambos sexos.
10. Las concentraciones plasmáticas, urinarias y plaquetarias de Zn son superiores en futbolistas masculinos. Sin embargo, las concentraciones

eritrocitarias son superiores en futbolistas femeninas. A lo largo de la temporada existen descensos en las concentraciones urinarias y plaquetarias de Zn.

5. Conclusions

The main conclusions obtained from this study, organized according to the primary research objectives, are presented below.

1. Anthropometry and body composition differed between sexes in soccer players. Specifically, male soccer players obtained higher values of height, body weight, muscle percentage and weight, as well as lower values of skin folds, percentage and fat weight compared to female soccer players. Throughout the sports season, decreases were observed in the sum of skinfolds and fat percentage compared to the initial values in both sexes.
2. Physical condition (vertical jump, isometric muscle strength and maximum aerobic capacity) is different between sexes, with male players obtaining higher values in the previous tests. There were significant changes throughout the season in lower limb isometric strength and VO_{2max} in both sexes.
3. There are no differences in the nutritional intake of macronutrients and micronutrients in male and female semi-professional soccer players during a sports season. However, male soccer players consumed higher amounts of total energy and protein.
4. Male soccer players showed higher values for red blood cell parameters, urea, GOT, LDH, CK and ferritin. However, female soccer players presented higher values in folic acid and transferrin. Throughout the sports season, there were increases concerning the initial values of erythrocytes, hemoglobin, MCH and GOT, as well as decreases in CK, LDH and ferritin in both sexes.
5. Urinary and platelet Cu concentrations are higher in male soccer players, while erythrocyte Cu concentrations are higher in female soccer players. At the end of the season there are increases in plasma and erythrocyte concentrations, as well as decreases in urinary and platelet concentrations in both groups.
6. Fe concentrations in all matrices analyzed are different between sexes. Extracellular concentrations and platelet concentrations of Fe are higher in

male soccer players. Throughout the season, urinary excretion increases, and erythrocyte Fe concentrations decrease.

7. Plasma and urinary Mn concentrations are higher in male soccer players, whereas erythrocyte Mn concentrations are higher in female soccer players. There are increases in urinary, erythrocyte and platelet concentrations in men throughout the sports season. In contrast, in female soccer players, there is a decrease in erythrocyte and platelet concentrations with respect to initial values.
8. Plasma Mo concentrations are higher in male soccer players. Throughout the sports season, there are increases in plasma and erythrocyte concentrations, as well as decreases in urinary and platelet concentrations of Mo with respect to initial values.
9. All the Se concentrations analyzed in the different biological compartments are different according to sex. Soccer players show higher concentrations in plasma, urine and platelets, while female soccer players report higher concentrations in erythrocytes. There were increases in plasma and platelets and decreases in erythrocytes throughout the season compared to baseline values.
10. Plasma, urinary and platelet Zn concentrations are higher in male soccer players. However, erythrocyte concentrations are higher in female soccer players. Throughout the season there were decreases in urinary and platelet Zn concentrations.

LIMITACIONES,
APLICACIONES
PRÁCTICAS Y
PROSPECTIVAS DE
ESTUDIO

LIMITATIONS, PRACTICAL APPLICATIONS AND
PROSPECTIVE STUDIES

6. Limitaciones, aplicaciones prácticas y prospectivas de estudio

La presente investigación no está exenta de posibles limitaciones que se deben tenerse en cuenta:

- No se evaluó el volumen plasmático. Durante el ejercicio físico se puede producir pérdidas de agua corporal por sudoración, que pueden inducir deshidratación, hemoconcentración sanguínea y disminución del agua en la orina, lo que podría influir en los resultados obtenidos malinterpretando la información.
- Ausencia de datos complementarios de los diferentes EM analizados (enzimas).
- Escasa información sobre las diferencias entre sexos en las concentraciones EM en diferentes matrices complica la discusión y justificación de los resultados.
- No se realizó el cálculo del tamaño de la muestra para conocer la magnitud de la muestra obtenida.
- No se calculó el error técnico de medición en las valoraciones de condición física y antropometría.

Los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral podrían tener diversas aplicaciones en el ámbito deportivo:

- **Suplementación:** La valoración de estatus de EM durante una temporada es importante para conocer la posible necesidad de incorporar suplementación nutricional ya que el déficit de EM podría influir negativamente en el rendimiento si se mantiene durante largos períodos. Además, esta suplementación podría ser diferentes según el sexo.
- **Valoración de EM:** Debido a las discrepancias observadas en la presente tesis doctoral entre compartimentos intracelulares e intracelulares de EM, los investigadores deben valorar diferentes matrices simultáneamente para conseguir una valoración completa y fiable del estatus de EM.
- **Valores de referencia:** el presente trabajo aporta datos de referencia de EM en mujeres deportistas en las diferentes matrices biológicas, especialmente en plaquetas donde la información es escasa.

Por último, respecto a las prospectivas de futuro, además de incrementar el número de la muestra, añadir un grupo control y comparar entre diferentes niveles de rendimiento, sería de alto interés científico añadir otros compartimentos biológicos

invasivos (suero) y no invasivos (sudor, cabellos o uñas), así como datos bioquímicos complementarios como en enzimas/proteínas específicas de cada EM analizado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCES

7. Referencias bibliográficas

- Abarbanel, J., Benet, A. E., Lask, D., & Kimche, D. (1990). Sports hematuria. *The Journal of Urology*, *143*(5), 887–890.
- Abbaspour, N., Hurrell, R., & Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences*, *19*(2), 164.
- Abella, A., Clerc, D., Chalas, J., Baret, A., Leluc, R., & Lindenbaum, A. (1987). Concentrations of superoxide dismutase (copper and manganese), catalase and glutathione peroxidase in red cells, platelets and plasma in patients with rheumatoid polyarthritis. *Annales de Biologie Clinique*, *45*(2), 152.
- Abumrad, N. N., Schneider, A. J., Steel, D., & Rogers, L. (1981). Amino acid intolerance during prolonged total parenteral nutrition reversed by molybdate therapy. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *34*(11), 2551–2559.
- Aibar, A., García González, L., Abarca Sos, A., Murillo, B., & Zaragoza, J. (2016). Testing the validity of the International Physical Activity Questionnaire in early spanish adolescent: A modified protocol for data collection. *Sport TK: Revista Euroamericana de Ciencias Del Deporte*, *5*(2).
- Åkesson, A., Berglund, M., Schütz, A., Bjellerup, P., Bremme, K., & Vahter, M. (2002). Cadmium exposure in pregnancy and lactation in relation to iron status. *American Journal of Public Health*, *92*(2), 284–287.
- Akşit, T., Turgay, F., Kutlay, E., Özkol, M. Z., & Vural, F. (2013). The relationships between simulated tennis performance and biomarkers for nitric oxide synthesis. *Journal of Sports Science & Medicine*, *12*(2), 267.
- Alabi, N. S., Beilstein, M. A., & Whanger, P. D. (2000). Chemical forms of selenium present in rat and ram spermatozoa. *Biological Trace Element Research*, *76*(2), 161–173.
- Aldosary, B. M., Sutter, M. E., Schwartz, M., & Morgan, B. W. (2012). Case series of selenium toxicity from a nutritional supplement. *Clinical Toxicology*, *50*(1), 57–64.
- Alegre, L. M., Lara, A. J., Elvira, J. L. L., & Aguado, X. (2009). Muscle morphology and jump performance: gender and intermuscular variability. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, *49*(3), 320.

- Alfthan, G., & Neve, J. (1996). Reference values for serum selenium in various areasevaluated according to the TRACY protocol. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *10*(2), 77–87.
- Algul, S., Baltacı, S. B., Bengu, A. S., & Ozcelik, O. (2022). Response of Some Trace Elements to Soccer Match Performed Different Times of Day in Young Sedentary Male. *Progress in Nutrition*, *24*(1), 1–6.
- Algul, S., Bengu, A. S., Baltacı, S. B., & Ozcelik, O. (2019). Effects of morning and nocturnal soccer matches on levels of some trace elements in young trained males. *Cellular and Molecular Biology*, *65*(2), 32–36.
- Allden, S. J., Ogger, P. P., Ghai, P., McErlean, P., Hewitt, R., Toshner, R., Walker, S. A., Saunders, P., Kingston, S., & Molyneaux, P. L. (2019). The transferrin receptor CD71 delineates functionally distinct airway macrophage subsets during idiopathic pulmonary fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *200*(2), 209–219.
- Alnuwaysir, R. I. S., Hoes, M. F., van Veldhuisen, D. J., van der Meer, P., & Grote Beverborg, N. (2021). Iron deficiency in heart failure: mechanisms and pathophysiology. *Journal of Clinical Medicine*, *11*(1), 125.
- Altarelli, M., Ben-Hamouda, N., Schneider, A., & Berger, M. M. (2019). Copper deficiency: causes, manifestations, and treatment. *Nutrition in Clinical Practice*, *34*(4), 504–513.
- Alves, J., Barrientos, G., Toro, V., Grijota, F. J., Muñoz, D., & Maynar, M. (2020). Correlations between Basal Trace Minerals and Hormones in Middle and Long-Distance High-Level Male Runners. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(24), 9473.
- Anđelković, M., Baralić, I., Dorđević, B., Stevuljević, J. K., Radivojević, N., Dikić, N., Škodrić, S. R., & Stojković, M. (2015). Hematological and biochemical parameters in elite soccer players during a competitive half season. *Journal of Medical Biochemistry*, *34*(4), 460.
- Andersson, H. M., Raastad, T., Nilsson, J., Paulsen, G., Garthe, I. N. A., & Kadi, F. (2008). Neuromuscular fatigue and recovery in elite female soccer: effects of active recovery. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *40*(2), 372–380.

- Angst, F., Drerup, S., Werle, S., Herren, D. B., Simmen, B. R., & Goldhahn, J. (2010). Prediction of grip and key pinch strength in 978 healthy subjects. *BMC Musculoskeletal Disorders*, *11*(1), 1–6.
- Arnason, A., Sigurdsson, S. B., Gudmundsson, A., Holme, I., Engebretsen, L., & Bahr, R. (2004). Physical fitness, injuries, and team performance in soccer. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *36*(2), 278–285.
- Arnaud, J., Bertrais, S., Roussel, A. M., Arnault, N., Ruffieux, D., Favier, A., Berthelin, S., Estaquio, C., Galan, P., & Czernichow, S. (2006). Serum selenium determinants in French adults: the SU. VI. M. AX study. *British Journal of Nutrition*, *95*(2), 313–320.
- Arredondo, M., Muñoz, P., Mura, C. V., & Núñez, M. T. (2003). DMT1, a physiologically relevant apical Cu¹⁺ transporter of intestinal cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *284*(6), C1525–C1530.
- Arredondo, M., Núñez, H., López, G., Pizarro, F., Ayala, M., & Araya, M. (2010). Influence of estrogens on copper indicators: in vivo and in vitro studies. *Biological Trace Element Research*, *134*(3), 252–264.
- Aschner, M. (2018). Manganese. *Advances in Hematology*, *8*(3), 520–521.
- Ashenden, M. J., Martin, D. T., Dobson, G. P., Mackintosh, C., & Hahn, A. G. (1998). Serum ferritin and anemia in trained female athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *8*(3), 223–229.
- Ashrap, P., Watkins, D. J., Mukherjee, B., Rosario-Pabón, Z., Vélez-Vega, C. M., Alshawabkeh, A., Cordero, J. F., & Meeker, J. D. (2021). Performance of urine, blood, and integrated metal biomarkers in relation to birth outcomes in a mixture setting. *Environmental Research*, *200*, 111435.
- Ashton, K., Hooper, L., Harvey, L. J., Hurst, R., Casgrain, A., & Fairweather-Tait, S. J. (2009). Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *89*(6), 2025s-2039s.
- Avila, D. S., Puntel, R. L., & Aschner, M. (2013). Manganese in health and disease. *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases*, *13*, 199–227.
- Bachman, E., Travison, T. G., Basaria, S., Davda, M. N., Guo, W., Li, M., Connor

- Westfall, J., Bae, H., Gordeuk, V., & Bhasin, S. (2014). Testosterone induces erythrocytosis via increased erythropoietin and suppressed hepcidin: evidence for a new erythropoietin/hemoglobin set point. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 69(6), 725–735.
- Baker, B. S., Chen, Z., Larson, R. D., Bembien, M. G., & Bembien, D. A. (2020). Sex differences in bone density, geometry, and bone strength of competitive soccer players. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, 20(1), 62.
- Baker, L. B., Heaton, L. E., Stein, K. W., Nuccio, R. P., & Jeukendrup, A. E. (2014). Validity and relative validity of a novel digital approach for 24-h dietary recall in athletes. *Nutrition Journal*, 13(1), 1–11.
- Baldwin, M., Mergler, D., Larribe, F., Bélanger, S., Tardif, R., Bilodeau, L., & Hudnell, K. (1999). Bioindicator and exposure data for a population based study of manganese. *Neurotoxicology*, 20(2–3), 343–353.
- Baltaci, A., Mogulkoc, R., Akil, M., & Bicer, M. (2016a). Review - Selenium - Its metabolism and relation to exercise. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(5), 1719–1725.
- Baly, D. L., Keen, C. L., & Hurley, L. S. (1986). Effects of manganese deficiency on pyruvate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activity and carbohydrate homeostasis in adult rats. *Biological Trace Element Research*, 11(1), 201–212.
- Baly, D. L., Schneiderman, J. S., & Garcia-Welsh, A. L. (1990). Effect of manganese deficiency on insulin binding, glucose transport and metabolism in rat adipocytes. *The Journal of Nutrition*, 120(9), 1075–1079.
- Banfi, G., Dolci, A., Freschi, M., & Verdini, C. (2005). Immature reticulocyte fraction (IRF) monitored in elite athletes during a whole season. *Clinical & Laboratory Haematology*, 27(3), 213–214.
- Bangsbo, J. (2014). Physiological demands of football. *Sports Science Exchange*, 27(125), 1–6.
- Bangsbo, J., Krstrup, P., González-Alonso, J., & Saltin, B. (2001). ATP production and efficiency of human skeletal muscle during intense exercise: effect of previous

- exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 280(6), E956–E964.
- Barceloux, D. G., & Barceloux, D. (1999). Manganese. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37(2), 293–307.
- Barr, J. T., Jones, J. P., Joswig-Jones, C. A., & Rock, D. A. (2013). Absolute quantification of aldehyde oxidase protein in human liver using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Molecular Pharmaceutics*, 10(10), 3842–3849.
- Bartolomé, I., Córdoba, L., Crespo, C., Grijota, F., Maynar, M., & Muñoz, D. (2016). Effects of a paddle match on the urinary excretion of trace minerals in high-level players. *Science & Sports*, 31, 131–137.
- Bassett Jr, D. R. (2002). Scientific contributions of AV Hill: exercise physiology pioneer. *Journal of Applied Physiology*, 93(5), 1567–1582.
- Baynes, R. D. (1996). Assessment of iron status. *Clinical Biochemistry*, 29(3), 209–215.
- Bazzarre, T. L., Marquart, L. F., Wu, S. M. L., & Izurieta, M. I. (1989). Zinc status among low-fat and moderate-fat male triathletes and controls. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 2(4), 277–283.
- Beard, J. (2001). Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *The Journal of Nutrition*, 131(2), 568S-580S.
- Beard, J., & Tobin, B. (2000). Iron status and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2 Suppl.), 594s-7s.
- Beck, K. L., von Hurst, P. R., O'Brien, W. J., & Badenhorst, C. E. (2021). Micronutrients and athletic performance: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 158, 112618.
- Beguin, Y. (2003). Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clinica Chimica Acta*, 329(1–2), 9–22.
- Bejma, J., & Ji, L. L. (1999). Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 87(1), 465–470.
- Ben Mansour, G., Kacem, A., Ishak, M., Grélot, L., & Ftaiti, F. (2021). The effect of body composition on strength and power in male and female students. *BMC Sports*

- Science, Medicine and Rehabilitation*, 13(1), 1–11.
- Benardot, D. (2000). Nutrition for Serious Athletes: An advanced guide to foods, fluids, and supplements for training and performance. *Champaign, IL: Human Kinetics Publishers (C)*, 77–78.
- Berger, C. E., Kröner, A., Kluger, R., Baron, R., Steffan, I., & Engel, A. (2002). Effects of marathon running on the trace minerals chromium, cobalt, nickel, and molybdenum. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 15(4), 201–209.
- Berglund, M., Lindberg, A.-L., Rahman, M., Yunus, M., Grandér, M., Lönnerdal, B., & Vahter, M. (2011). Gender and age differences in mixed metal exposure and urinary excretion. *Environmental Research*, 111(8), 1271–1279.
- Bergström, E., Kernell, O., Lönnerdal, B., & Persson, L. Å. (1995). Sex differences in iron stores of adolescents: what is normal? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 20(2), 215–224.
- Bernhardt, I., & Ellory, J. C. (2013). *Red cell membrane transport in health and disease*. Springer Science & Business Media.
- Bibow, K., Meltzer, H. M., Mundal, H. H., Paulsen, I. T., & Holm, H. (1993). Platelet selenium as indicator of wheat selenium intake. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 7(3), 171–176.
- Bizerea-Moga, T. O., Pitulice, L., Bizerea-Spiridon, O., & Moga, T. V. (2021). Evaluation of serum selenium status by age and gender: A retrospective observational cohort study in western Romania. *Nutrients*, 13(5), 1497.
- Bleackley, M. R., Wong, A. Y. K., Hudson, D. M., Wu, C. H. Y., & MacGillivray, R. T. A. (2009). Blood iron homeostasis: newly discovered proteins and iron imbalance. *Transfusion Medicine Reviews*, 23(2), 103–123.
- Bogden, J. D., & Klevay, L. M. (2000). *Clinical nutrition of the essential trace elements and minerals: the guide for health professionals*. Springer Science & Business Media.
- Bonilla, D. A., Moreno, Y., Petro, J. L., Forero, D. A., Vargas-Molina, S., Odriozola-Martínez, A., Orozco, C. A., Stout, J. R., Rawson, E. S., & Kreider, R. B. (2022). A

- Bioinformatics-Assisted Review on Iron Metabolism and Immune System to Identify Potential Biomarkers of Exercise Stress-Induced Immunosuppression. *Biomedicines*, *10*(3), 724.
- Bordin, D., Sartorelli, L., Bonanni, G., Mastrogiacomo, I., & Scalco, E. (1993). High intensity physical exercise induced effects on plasma levels of copper and zinc. *Biological Trace Element Research*, *36*(2), 129–134.
- Bosco, C., Ito, A., Komi, P. V., Luhtanen, P., Rahkila, P., Rusko, H., & Viitasalo, J. T. (1982). Neuromuscular function and mechanical efficiency of human leg extensor muscles during jumping exercises. *Acta Physiologica Scandinavica*, *114*(4), 543–550.
- Bradley, P. S., Dellal, A., Mohr, M., Castellano, J., & Wilkie, A. (2014). Gender differences in match performance characteristics of soccer players competing in the UEFA Champions League. *Human Movement Science*, *33*, 159–171.
- Bredella, M. A. (2017). Sex differences in body composition. In *Sex and Gender Factors Affecting Metabolic Homeostasis, Diabetes and Obesity* (pp. 9–27). Springer.
- Brewer, G., Hill, G., Prasad, A., Cossack, Z., & Rabbani, P. (1983). Oral zinc therapy for Wilson's disease. *Annals of Internal Medicine*, *99*(3), 314–320.
- Brigelius-Flohé, R., & Flohé, L. (2017). Selenium and redox signaling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *617*, 48–59.
- Briggs, M. A., Cockburn, E., Rumbold, P. L. S., Rae, G., Stevenson, E. J., & Russell, M. (2015). Assessment of energy intake and energy expenditure of male adolescent academy-level soccer players during a competitive week. *Nutrients*, *7*(10), 8392–8401.
- Brown, K., Rivera, J., Bhutta, Z., Gibson, R., & King, J. (2004). International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document: assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin*, *99*–203.
- Buchman, A. L., Keen, C., Commisso, J., Killip, D., Ou, C. N., Rognerud, C. L., Dennis, K., & Dunn, J. K. (1998). The effect of a marathon run on plasma and urine mineral and metal concentrations. *Journal of the American College of Nutrition*, *17*(2), 124–

127.

- Buratti, P., Gammella, E., Rybinska, I., Cairo, G., & Recalcati, S. (2015). Recent Advances in Iron Metabolism: Relevance for Health, Exercise, and Performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *47*(8), 1596–1604.
- Cai, Z., Zhang, J., & Li, H. (2019). Selenium, aging and aging-related diseases. *Aging Clinical and Experimental Research*, *31*(8), 1035–1047.
- Caldwell, B. P., & Peters, D. M. (2009). Seasonal variation in physiological fitness of a semiprofessional soccer team. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *23*(5), 1370–1377.
- Calleja, C. A., Hurtado, M. M. C., Daschner, Á., Escámez, P. F., Abuín, C. M. F., Pons, R. M. G., Fandos, M. E. G., Muñoz, M. J. G., López-García, E., & Vinuesa, J. M. (2019). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre Ingestas Nutricionales de Referencia para la población española. *Revista Del Comité Científico de La AESAN*, *29*, 43–68.
- Campbell, W. W., & Anderson, R. A. (1987). Effects of aerobic exercise and training on the trace minerals chromium, zinc and copper. *Sports Medicine*, *4*(1), 9–18.
- Canhadas, I. L., Silva, R. L. P., Chaves, C. R., & Portes, L. A. (2010). Anthropometric and physical fitness characteristics of young male soccer players. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*, *12*, 239–245.
- Cantone, M. C., de Bartolo, D., Gambarini, G., Giussani, A., Ottolenghi, A., Pirola, L., Hansen, C., Roth, P., & Werner, E. (1995). Proton activation analysis of stable isotopes for a molybdenum biokinetics study in humans. *Medical Physics*, *22*(8), 1293–1298.
- Carlsohn, A., Cassel, M., Linné, K., & Mayer, F. (2011). How much is too much? A case report of nutritional supplement use of a high-performance athlete. *British Journal of Nutrition*, *105*(12), 1724–1728.
- Carreiro, A. L., Dhillon, J., Gordon, S., Higgins, K. A., Jacobs, A. G., McArthur, B. M., Redan, B. W., Rivera, R. L., Schmidt, L. R., & Mattes, R. D. (2016). The macronutrients, appetite, and energy intake. *Annual Review of Nutrition*, *36*, 73–103.
- Caruana Bonnici, D., Akubat, I., Greig, M., Sparks, A., & Mc Naughton, L. R. (2018).

- Dietary habits and energy balance in an under 21 male international soccer team. *Research in Sports Medicine*, 26(2), 168–177.
- Casgrain, A., Collings, R., Harvey, L. J., Hooper, L., & Fairweather-Tait, S. J. (2012). Effect of iron intake on iron status: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(4), 768–780.
- Casimiro-Lopes, G., de Oliveira-Junior, A. V., Portella, E. S., Lisboa, P. C., Donangelo, C. M., de Moura, E. G., & Koury, J. C. (2009). Plasma leptin, plasma zinc, and plasma copper are associated in elite female and male judo athletes. *Biological Trace Element Research*, 127(2), 109–115.
- Castagna, C., & Castellini, E. (2013). Vertical jump performance in Italian male and female national team soccer players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 27(4), 1156–1161.
- Castanier, C., Bougault, V., Teulier, C., Jaffré, C., Schiano-Lomoriello, S., Vibarel-Rebot, N., Villemain, A., Rieth, N., Le-Scanff, C., & Buisson, C. (2021). The specificities of elite female athletes: A multidisciplinary approach. *Life*, 11(7), 622.
- Castaño, A., Ayala, A., Rodríguez-Gómez, J. A., Herrera, A. J., Cano, J., & Machado, A. (1997). Low selenium diet increases the dopamine turnover in prefrontal cortex of the rat. *Neurochemistry International*, 30(6), 549–555.
- Cavill, I. (2002). Erythropoiesis and iron. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 15(2), 399–409.
- Chan, S., Gerson, B., & Subramaniam, S. (1998). The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. *Clinics in Laboratory Medicine*, 18(4), 673–685.
- Chaparro, C. M., & Suchdev, P. S. (2019). Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low-and middle-income countries. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1450(1), 15.
- Charkoudian, N., & Joyner, M. J. (2004). Physiologic considerations for exercise performance in women. *Clinics in Chest Medicine*, 25(2), 247–255.
- Chasapis, C. T., Loutsidou, A. C., Spiliopoulou, C. A., & Stefanidou, M. E. (2012). Zinc

- and human health: an update. *Archives of Toxicology*, 86(4), 521–534.
- Chen, A. Y., Adamek, R. N., Dick, B. L., Credille, C. V., Morrison, C. N., & Cohen, S. M. (2018). Targeting metalloenzymes for therapeutic intervention. *Chemical Reviews*, 119(2), 1323–1455.
- Chen, P., Bornhorst, J., & Aschner, M. (2018). *Role of manganese in humans*. 1655–1679.
- Chen, Y., Prabhu, K., & Mastro, A. (2013). Is selenium a potential treatment for cancer metastasis? *Nutrients*, 5(4), 1149–1168.
- Chooi, M. K., Todd, J. K., & Boyd, N. D. (1976). Influence of age and sex on plasma zinc levels in normal and diabetic individuals. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 20(2), 135–142.
- Chou, T.-Y., Nosaka, K., & Chen, T. C. (2021). Muscle damage and performance after single and multiple simulated matches in university elite female soccer players. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(8), 4134.
- Chu, A, Holdaway, C., Varma, T., Petocz, P., & Samman, S. (2018). Lower Serum Zinc Concentration Despite Higher Dietary Zinc Intake in Athletes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports Medicine*, 48(2), 327–336.
- Chu, A, Petocz, P., & Samman, S. (2016). Immediate Effects of Aerobic Exercise on Plasma/Serum Zinc Levels: A Meta-analysis. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 48(4), 726–733.
- Chu, A, Petocz, P., & Samman, S. (2017). Plasma/serum zinc status during aerobic exercise recovery: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 47(1), 127–134.
- Chu, A, & Samman, S. (2014). Zinc homeostasis in exercise: implications for physical performance. *Vitamins and Minerals*, 3(3), 40–42.
- Chu, A., Varma, T., Petocz, P., & Samman, S. (2017). Quantifiable effects of regular exercise on zinc status in a healthy population—A systematic review. *PloS One*, 12(9), e0184827.
- Cichy, I., Dudkowski, A., Kociuba, M., Ignasiak, Z., Sebastjan, A., Kochan, K., Koziel,

- S., Rokita, A., & Malina, R. M. (2020). Sex differences in body composition changes after preseason training in elite handball players. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(11), 3880.
- Clark, K. (1994). Nutritional guidance to soccer players for training and competition. *Journal of Sports Sciences*, *12*(sup1), S43–S50.
- Clark, N., Teschke, K., Rideout, K., & Copes, R. (2007). Trace element levels in adults from the west coast of Canada and associations with age, gender, diet, activities, and levels of other trace elements. *Chemosphere*, *70*(1), 155–164.
- Clark, S. (2008). Iron deficiency anemia. *Nutrition in Clinical Practice*, *23*(2), 128–141.
- Clemente, F. M., González-Fernández, F. T., Ceylan, H. I., Silva, R., Younesi, S., Chen, Y.-S., Badicu, G., Wolański, P., & Murawska-Ciałowicz, E. (2021). Blood biomarkers variations across the pre-season and interactions with training load: A study in professional soccer players. *Journal of Clinical Medicine*, *10*(23), 5576.
- Clénin, G., Cordes, M., Huber, A., Schumacher, Y. O., Noack, P., Scales, J., & Kriemler, S. (2015). Iron deficiency in sports-definition, influence on performance and therapy. *Swiss Medical Weekly*, *145*, w14196.
- Coates, P. M., Betz, J. M., Blackman, M. R., Cragg, G. M., Levine, M., Moss, J., & White, J. D. (2010). *Encyclopedia of dietary supplements* (M. C. Paul (ed.); 2nd ed.). CRC Press.
- Collins, F., Prohaska, J., & Knutson, M. (2010). Metabolic crossroads of iron and copper. *Nutrition Reviews*, *68*(3), 133–147.
- Collins, J. (2016). *Molecular, Genetic, and Nutritional Aspects of Major and Trace Minerals*. Academic Press.
- Collins, J. (2017). Copper: Basic Physiological and Nutritional Aspects. In *Molecular, Genetic, and Nutritional Aspects of Major and Trace Minerals* (pp. 69–83). Academic Press.
- Collins, J., & Klevay, L. (2011). Copper. *Advances in Nutrition*, *2*(6), 520–522.
- Collins, J., Prohaska, J., & Knutson, M. (2010). Metabolic crossroads of iron and copper. *Nutrition Reviews*, *68*(3), 133–147.

- Combs Jr, F. (2015). Biomarkers of selenium status. *Nutrients*, 7(4), 2209–2236.
- Constantini, N. W., Dubnov, G., & Lebrun, C. M. (2005). The menstrual cycle and sport performance. *Clinics in Sports Medicine*, 24(2), e51–e82.
- Constantini, N. W., Eliakim, A., Zigel, L., Yaaron, M., & Falk, B. (2000). Iron status of highly active adolescents: evidence of depleted iron stores in gymnasts. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 10(1), 62–70.
- Cook, J. D., & Finch, C. A. (1979). Assessing iron status of a population. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 32(10), 2115–2119.
- Cook, J. D., Flowers, C. H., & Skikne, B. S. (2003). The quantitative assessment of body iron. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 101(9), 3359–3363.
- Coppalle, S., Rave, G., Ben Abderrahman, A., Ali, A., Salhi, I., Zouita, S., Zouita, A., Brughelli, M., Granacher, U., & Zouhal, H. (2019). Relationship of pre-season training load with in-season biochemical markers, injuries and performance in professional soccer players. *Frontiers in Physiology*, 409.
- Córdova-Martínez, A., Villa, G., Aguiló, A., Tur, J. A., & Pons, A. (2006). Hand strike-induced hemolysis and adaptations in iron metabolism in Basque ball players. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 50(3), 206–213.
- Cordova, A., & Navas, F. J. (1998). Effect of training on zinc metabolism: changes in serum and sweat zinc concentrations in sportsmen. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 42(5), 274–282.
- Corniola, R. S., Tassabehji, N. M., Hare, J., Sharma, G., & Levenson, C. W. (2008). Zinc deficiency impairs neuronal precursor cell proliferation and induces apoptosis via p53-mediated mechanisms. *Brain Research*, 1237, 52–61.
- Corrons, J. L., Casafont, L. B., & Frasnado, E. F. (2021). Concise review: how do red blood cells born, live, and die? *Annals of Hematology*, 100(10), 2425–2433.
- Cotzias, G. C., Horiuchi, K., Fuenzalida, S., & Mena, I. (1968). Chronic manganese poisoning Clearance of tissue manganese concentrations with persistence of the neurological picture. *Neurology*, 18(4), 376.

- Cousins, R. J., Liuzzi, J. P., & Lichten, L. A. (2006). Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(34), 24085–24089.
- Couzy, F., Lafargue, P., & Guezennec, C. Y. (1990). Zinc metabolism in the athlete: influence of training, nutrition and other factors. *International Journal of Sports Medicine*, *11*(04), 263–266.
- Cowell, B. S., Rosenbloom, C. A., Skinner, R., & Summers, S. H. (2003). Policies on screening female athletes for iron deficiency in NCAA division IA institutions. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *13*(3), 277–285.
- Craig, C. L., Marshall, A. L., Sjöström, M., Bauman, A. E., Booth, M. L., Ainsworth, B. E., Pratt, M., Ekelund, U., Yngve, A., Sallis, J. F., & Oja, P. (2003). International physical activity questionnaire: 12-Country reliability and validity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *35*(8), 1381–1395.
- Cuthbertson, D. P., Fell, G. S., Smith, C. M., & Tilstone, W. J. (1972). Metabolism after injury. 1: effects of severity, nutrition, and environmental temperature on protein potassium, zinc, and creatine. *British Journal of Surgery*, *59*(12), 925–931.
- Da Silva, F., & Williams, R. (1999). Copper: extracytoplasmic oxidases and matrix formation. In *The Biological Chemistry of the Elements. The Inorganic Chemistry of Life*. (pp. 418–435). Oxford Academic.
- Dale, J. C., Burritt, M. F., & Zinsmeister, A. R. (2002). Diurnal variation of serum iron, iron-binding capacity, transferrin saturation, and ferritin levels. *American Journal of Clinical Pathology*, *117*(5), 802–808.
- Dallman, P. (1986). Biochemical basis for the manifestations of iron deficiency. *Annual Review of Nutrition*, *6*(1), 13–40.
- Dallman, P. (1982). Manifestations of iron deficiency. *Seminars in Hematology*, *19*(1), 19–30.
- Dallongeville, J., Ledoux, M., & Brisson, G. (1989). Iron deficiency among active men. *Journal of the American College of Nutrition*, *8*(3), 195–202.
- Damian, M. T., Vulturar, R., Login, C. C., Damian, L., Chis, A., & Bojan, A. (2021). Anemia in sports: a narrative review. *Life*, *11*(9), 987.

- Daneshvar, P., Hariri, M., Ghasvand, R., Askari, G., Darvishi, L., Iraj, B., & Mashhadi, N. S. (2013). Dietary behaviors and nutritional assessment of young male isfahani wrestlers. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(Suppl 1), S48.
- Danks, D. M. (1988). Copper deficiency in humans. *Annual Review of Nutrition*, 8(1), 235–257.
- Davies, K. J., Maguire, J. J., Brooks, G. A., Dallman, P. R., & Packer, L. (1982). Muscle mitochondrial bioenergetics, oxygen supply, and work capacity during dietary iron deficiency and repletion. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 242(6), E418–E427.
- Davis, C., & Greger, J. (1992). Longitudinal changes of manganese-dependent superoxide dismutase and other indexes of manganese and iron status in women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55(3), 747–752.
- Davis, K. R., Peters, L. J., Cain, R. F., LeTourneau, D., & McGinnis, J. (1984). Evaluation of the nutrient composition of wheat. III. Minerals. In *Cereal foods world (USA)*.
- de Araújo, M. C., Baumgart, C., Jansen, C. T., Freiwald, J., & Hoppe, M. W. (2020). Sex differences in physical capacities of German Bundesliga soccer players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 34(8), 2329–2337.
- De Carvalho, F. G., Rosa Vivian, F. T., Miguel Suen, V. M., Freitas, E. C., Padovan, G. J., & Marchini, J. S. (2012). Evidence of zinc deficiency in competitive swimmers. *Nutrition*, 28(11–12), 1127–1131.
- De Domenico, I., Ward, D. M., & Kaplan, J. (2007). Hcpidin regulation: ironing out the details. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(7), 1755–1758.
- de Sousa, E., Da Costa, T. H. M., Nogueira, J. A. D., & Vivaldi, L. J. (2008). Assessment of nutrient and water intake among adolescents from sports federations in the Federal District, Brazil. *British Journal of Nutrition*, 99(6), 1275–1283.
- de Sousa Viana, G. F., de Carvalho, C. F., Nunes, L. S., Rodrigues, J. L. G., Ribeiro, N. S., de Almeida, D. A., Ferreira, J. R. D., Abreu, N., & Menezes-Filho, J. A. (2014). Noninvasive biomarkers of manganese exposure and neuropsychological effects in environmentally exposed adults in Brazil. *Toxicology Letters*, 231(2), 169–178.
- de Waal, H. O. (1999). *The mineral nutrition of livestock* (J. Underwood & N. Suttle

- (eds.); 3rd ed.). Taylor & Francis.
- DellaValle, D. M., & Haas, J. D. (2012). Iron status is associated with endurance performance and training in female rowers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *44*(8), 1552–1559.
- Deminice, R., Sicchieri, T., Payão, P. O., & Jordão, A. A. (2010). Blood and salivary oxidative stress biomarkers following an acute session of resistance exercise in humans. *International Journal of Sports Medicine*, *31*(09), 599–603.
- Deuster, P. A., Day, B. A., Singh, A., Douglass, L., & Moser-Veillon, P. B. (1989). Zinc status of highly trained women runners and untrained women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *49*(6), 1295–1301.
- Deuster, P., Dolev, E., Bernier, L. L., & Trostmann, U. H. (1987). Magnesium and zinc status during the menstrual cycle. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *157*(4), 964–968.
- Deuster, P., Kyle, S., Singh, A., Moser, P. B., Bernier, L. L., Yu-Yahiro, J. A., & Schoemaker, E. B. (1991). Exercise-induced changes in blood minerals, associated proteins and hormones in women athletes. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, *31*(4), 552–560.
- Devlin, B. L., Kingsley, M., Leveritt, M. D., & Belski, R. (2017). Seasonal changes in soccer players' body composition and dietary intake practices. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *31*(12), 3319–3326.
- Devlin, B. L., Leveritt, M. D., Kingsley, M., & Belski, R. (2017). Dietary intake, body composition, and nutrition knowledge of Australian football and soccer players: Implications for sports nutrition professionals in practice. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *27*(2), 130–138.
- Dhawan, D. K., & Chadha, V. D. (2010). Zinc: a promising agent in dietary chemoprevention of cancer. *The Indian Journal of Medical Research*, *132*(6), 676.
- Díaz Martínez, A. E., Alcaide Martín, M. J., & González-Gross, M. (2022). Basal Values of Biochemical and Hematological Parameters in Elite Athletes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(5), 3059.
- Disler, P., Lynch, S. R., Charlton, R. W., Torrance, J. D., Bothwell, T. H., Walker, R.

- B., & Mayet, F. (1975). The effect of tea on iron absorption. *Gut*, *16*(3), 193–200.
- Dobrowolski, H., & Włodarek, D. (2019). Dietary intake of Polish female soccer players. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(7), 1134.
- Dodd, K. D., & Newans, T. J. (2018). Talent identification for soccer: Physiological aspects. *Journal of Science and Medicine in Sport*, *21*(10), 1073–1078.
- Dominelli, P. B., Ripoll, J. G., Cross, T. J., Baker, S. E., Wiggins, C. C., Welch, B. T., & Joyner, M. J. (2018). Sex differences in large conducting airway anatomy. *Journal of Applied Physiology*, *125*(3), 960–965.
- Dressendorfer, R. H., Wade, C. E., Keen, C. L., & Scaff Jr, J. H. (1982). Plasma mineral levels in marathon runners during a 20-day road race. *The Physician and Sportsmedicine*, *10*(6), 113–118.
- Driskell, J., & Wolinsky, I. (2005). *Sports nutrition : vitamins and trace elements*. Taylor & Francis.
- Driskell, J., & Wolinsky, I. (2016). *Nutritional assessment of athletes*. CRC press.
- Dubnov, G., & Constantini, N. W. (2004). Prevalence of iron depletion and anemia in top-level basketball players. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *14*(1), 30–37.
- Dubois, F., & Belleville, F. (1988). Selenium: physiologic role and value in human pathology. *Pathologie-Biologie*, *36*(8), 1017–1025.
- Dufaux, B., Hoederath, A., Streitberger, I., Hollmann, W., & Assmann, G. (1981). Serum ferritin, transferrin, haptoglobin, and iron in middle-and long-distance runners, elite rowers, and professional racing cyclists. *International Journal of Sports Medicine*, *2*(01), 43–46.
- Dumont, E., Vanhaecke, F., & Cornelis, R. (2006). Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *385*(7), 1304–1323.
- Duncan, A., Talwar, D., McMillan, D. C., Stefanowicz, F., & O'Reilly, D. S. J. (2012). Quantitative data on the magnitude of the systemic inflammatory response and its effect on micronutrient status based on plasma measurements. *The American*

- Journal of Clinical Nutrition*, 95(1), 64–71.
- Ebisch, I. M. W., Thomas, C. M. G., Peters, W. H. M., Braat, D. D. M., & Steegers-Theunissen, R. P. M. (2007). The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Human Reproduction Update*, 13(2), 163–174.
- El-Sayed, M. S. (2002). Exercise and training effects on platelets in health and disease. *Platelets*, 13(5–6), 261–266.
- El-Sayed, M. S., Ali, N., & Ali, Z. E.-S. (2005). Aggregation and activation of blood platelets in exercise and training. *Sports Medicine*, 35(1), 11–22.
- El-Sayed, M. S., El-Sayed Ali, Z., & Ahmadizad, S. (2004). Exercise and training effects on blood haemostasis in health and disease. *Sports Medicine*, 34(3), 181–200.
- Erikson, K. M., & Aschner, M. (2003). Manganese neurotoxicity and glutamate-GABA interaction. *Neurochemistry International*, 43(4–5), 475–480.
- Eroglu, C., Unal, D., Cetin, A., Orhan, O., Sivgin, S., & Oztürk, A. (2012). Effect of serum selenium levels on radiotherapy-related toxicity in patients undergoing radiotherapy for head and neck cancer. *Anticancer Research*, 32(8), 3587–3590.
- Escanero, J. F., Villanueva, J., Rojo, A., Herrera, A., del Diego, C., & Guerra, M. (1997). Iron stores in professional athletes throughout the sports season. *Physiology & Behavior*, 62(4), 811–814.
- Esco, M. R., Snarr, R. L., Flatt, A., Leatherwood, M., & Whittaker, A. (2014). Tracking changes in maximal oxygen consumption with the heart rate index in female collegiate soccer players. *Journal of Human Kinetics*, 42, 103.
- Eskici, G., Gunay, M., Baltaci, A. K., & Mogulkoc, R. (2016). The effect of zinc supplementation on the urinary excretion of elements in female athletes. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(1), 125–129.
- Eskici, G. (2016). The importance of vitamins for soccer players. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 85(56), 225–244.
- Eston, R., & Reilly, T. (2001). *Kinanthropometry and exercise physiology laboratory manual* (RG Eston & T. Reilly (eds.); Vol. 1). Routledge London.

- Fattman, C. L., Schaefer, L. M., & Oury, T. D. (2003). Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(3), 236–256.
- Fayet-Moore, F., Petocz, P., & Samman, S. (2014). Micronutrient status in female university students: iron, zinc, copper, selenium, vitamin B12 and folate. *Nutrients*, 6(11), 5103–5116.
- Feillet-Coudray, C., Coudray, C., Bayle, D., Rock, E., Rayssiguier, Y., & Mazur, A. (2000). Response of diamine oxidase and other plasma copper biomarkers to various dietary copper intakes in the rat and evaluation of copper absorption with a stable isotope. *British Journal of Nutrition*, 83(5), 561–568.
- Fell, G. S., Cuthbertson, D. P., Morrison, C., Fleck, A., Queen, K., Bessent, R. G., & Husain, S. L. (1973). Urinary zinc levels as an indication of muscle catabolism. *The Lancet*, 301(7798), 280–282.
- Fernández-Lázaro, D., Fernandez-Lazaro, C. I., Mielgo-Ayuso, J., Navascués, L. J., Córdova Martínez, A., & Seco-Calvo, J. (2020). The Role of Selenium Mineral Trace Element in Exercise: Antioxidant Defense System, Muscle Performance, Hormone Response, and Athletic Performance. A Systematic Review. *Nutrients*, 12(6), 1790.
- Fields, J. B., Merrigan, J. J., White, J. B., & Jones, M. T. (2018). Seasonal and longitudinal changes in body composition by sport-position in NCAA Division I basketball athletes. *Sports*, 6(3), 85.
- Finch, C. A., & Huebers, H. (1982). Perspectives in iron metabolism. *New England Journal of Medicine*, 306(25), 1520–1528.
- Finley, J. W. (1999). Manganese absorption and retention by young women is associated with serum ferritin concentration. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(1), 37–43.
- Finley, J. W., Johnson, P. E., & Johnson, L. K. (1994). Sex affects manganese absorption and retention by humans from a diet adequate in manganese. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60(6), 949–955.
- Fogelholm, M. (1992). Micronutrient status in females during a 24-week fitness-type exercise program. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 36(4), 209–218.

- Fogelholm, M., Laakso, J., Lehto, J., & Ruokonen, I. (1991). Dietary intake and indicators of magnesium and zinc status in male athletes. *Nutrition Research*, *11*(10), 1111–1118.
- Folch, J., Ortega, A., Cabré, M., & Paternáin, J. L. (1998). Urinary levels of metallothioneins and metals in subjects from a semiindustrialized area in Tarragona Province of Spain. *Biological Trace Element Research*, *63*(2), 113–121.
- Foley, B., Johnson, S. A., Hackley, B., Smith Jr, J., & Halsted, J. A. (1968). Zinc content of human platelets. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, *128*(1), 265–269.
- Foradori, A. C., Bertinchamps, A., Gulibon, J. M., & Cotzias, G. C. (1967). The discrimination between magnesium and manganese by serum proteins. *The Journal of General Physiology*, *50*(9), 2255–2266.
- Fox, P. L. (2003). The copper-iron chronicles: the story of an intimate relationship. *Biometals*, *16*(1), 9–40.
- Freeland-Graves, J. H., Behmardi, F., Bales, C. W., Dougherty, V., Lin, P.-H., Crosby, J. B., & Trickett, P. C. (1988). Metabolic balance of manganese in young men consuming diets containing five levels of dietary manganese. *The Journal of Nutrition*, *118*(6), 764–773.
- Frieden, E. (1985). New perspectives on the essential trace elements. *Journal of Chemical Education*, *62*(11), 917.
- Frieden, E. (2012). *Biochemistry of the essential ultratrace elements* (Vol. 3). Springer Science & Business Media.
- Fung, E. B., Ritchie, L. D., Woodhouse, L. R., Roehl, R., & King, J. C. (1997). Zinc absorption in women during pregnancy and lactation: a longitudinal study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *66*(1), 80–88.
- Galan, P., Thibault, H., Preziosi, P., & Hercberg, S. (1992). Interleukin 2 production in iron-deficient children. *Biological Trace Element Research*, *32*(1), 421–426.
- Galbo, H. (1983). Hormonal and metabolic adaptation to exercise. *Georg Thieme*, 2–27.
- Gao, S., Jin, Y., Hall, K. S., Liang, C., Unverzagt, F. W., Ji, R., Murrell, J. R., Cao, J.,

- Shen, J., & Ma, F. (2007). Selenium level and cognitive function in rural elderly Chinese. *American Journal of Epidemiology*, *165*(8), 955–965.
- Garattini, E., Fratelli, M., & Terao, M. (2009). The mammalian aldehyde oxidase gene family. *Human Genomics*, *4*(2), 119–130.
- Garber, C. E., Blissmer, B., Deschenes, M. R., Franklin, B. A., Lamonte, M. J., Lee, I.-M., Nieman, D. C., & Swain, D. P. (2011). Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Columbia Academic Commons*.
- Garcia-Aranda, J. A., Wapnir, R. A., & Lifshitz, F. (1983). In vivo intestinal absorption of manganese in the rat. *The Journal of Nutrition*, *113*(12), 2601–2607.
- García-Rovés, P. M., García-Zapico, P., Patterson, Á. M., & Iglesias-Gutiérrez, E. (2014). Nutrient intake and food habits of soccer players: analyzing the correlates of eating practice. *Nutrients*, *6*(7), 2697–2717.
- García, M. J., Alegría, A., Barberá, R., Farré, R., & Lagarda, M. J. (2000). Selenium, copper, and zinc indices of nutritional status. *Biological Trace Element Research*, *73*(1), 77–83.
- Gardasevic, J., Bjelica, D., & Vasiljevic, I. (2019). Morphological Characteristics and Body Composition of Elite Soccer Players in Montenegro. *International Journal of Morphology*, *37*(1).
- Gardner, G. W., Edgerton, V. R., Barnard, R. J., & Bernauer, E. M. (1975). Cardiorespiratory, hematological and physical performance responses of anemic subjects to iron treatment. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *28*(9), 982–988.
- Gibala, M. J. (2007). Protein metabolism and endurance exercise. *Sports Medicine*, *37*(4), 337–340.
- Gibson, R. S. (2005). *Principles of nutritional assessment*. Oxford university press, USA.
- Gil, S. M., Gil, J., Ruiz, F., Irazusta, A., & Irazusta, J. (2007). Physiological and anthropometric characteristics of young soccer players according to their playing position: relevance for the selection process. *The Journal of Strength & Conditioning*

- Research*, 21(2), 438–445.
- Golden, M. H. N. (1989). The diagnosis of zinc deficiency. In *Zinc in human biology* (pp. 323–333). Springer.
- Gomez-Hixson, K., Biagioni, E., & Brown, M. L. (2022). Significant differences in dietary intake of NCAA Division III soccer players compared to recommended levels. *Journal of American College Health*, 70(1), 150–157.
- González-Haro, C., Soria, M., López-Colón, J. L., Llorente, M. T., & Escanero, J. F. (2011). Plasma trace elements levels are not altered by submaximal exercise intensities in well-trained endurance euhydrated athletes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25(SUPPL. 1).
- González, D., Marquina, R., Rondón, N., Rodríguez-Malaver, A. J., & Reyes, R. (2008). Effects of aerobic exercise on uric acid, total antioxidant activity, oxidative stress, and nitric oxide in human saliva. *Research in Sports Medicine*, 16(2), 128–137.
- Gore, M., Fiebig, R., Hollander, J., Leeuwenburgh, C., Ohno, H., & Ji, L. L. (1998). Endurance training alters antioxidant enzyme gene expression in rat skeletal muscle. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 76(12), 1139–1145.
- Goyer, R. A. (1997). Toxic and essential metal interactions. *Annual Review of Nutrition*, 17(1), 37–50.
- Grandjean, P., Nielsen, G. D., Jørgensen, P. J., & Hørder, M. (1992). Reference intervals for trace elements in blood: significance of risk factors. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 52(4), 321–337.
- Granell, J. (2014). Zinc and copper changes in serum and urine after aerobic endurance and muscular strength exercise. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 54(2), 232–237.
- Green, S. (1995). Measurement of anaerobic work capacities in humans. *Sports Medicine*, 19(1), 32–42.
- Grider, A., Mouat, M. F., & Scrimgeour, A. G. (2007). Consumption of a moderately Zn-deficient and Zn-supplemented diet affects soluble protein expression in rat soleus muscle. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(11), 753–759.

- Griffiths, N. M., & Thomson, C. D. (1974). Selenium in whole blood of New Zealand residents. *The New Zealand Medical Journal*, *80*(523), 199–202.
- Grijota, F. J., Toro-Román, V., Siquier-Coll, J., Robles-Gil, M. C., Muñoz, D., & Maynar-Mariño, M. (2022). Total Iron Concentrations in Different Biological Matrices—Influence of Physical Training. *Nutrients*, *14*(17), 3549.
- Gromadzka, G., Tarnacka, B., Flaga, A., & Adamczyk, A. (2020). Copper dyshomeostasis in neurodegenerative diseases—therapeutic implications. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(23), 9259.
- Gropper, S. S., Blessing, D., Dunham, K., & Barksdale, J. M. (2006). Iron status of female collegiate athletes involved in different sports. *Biological Trace Element Research*, *109*(1), 1–13.
- Gropper, S. S., Sorrels, L. M., & Blessing, D. (2003). Copper status of collegiate female athletes involved in different sports. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *13*(3), 343–357.
- 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*(6641), 482–488.
- Haas, J. D., & Brownlie, T. (2001). Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. *The Journal of Nutrition*, *131*(2), 676S-690S.
- Habte, K., Adish, A., Zerfu, D., Kebede, A., Moges, T., Tesfaye, B., Challa, F., & Baye, K. (2015). Iron, folate and vitamin B12 status of Ethiopian professional runners. *Nutrition & Metabolism*, *12*(1), 1–10.
- Hać, E., Krechniak, J., & Szyszko, M. (2002). Selenium levels in human plasma and hair in northern Poland. *Biological Trace Element Research*, *85*(3), 277–285.
- Halfdanarson, T. R., Kumar, N., Li, C., Phyliky, R. L., & Hogan, W. J. (2008). Hematological manifestations of copper deficiency: a retrospective review. *European Journal of Haematology*, *80*(6), 523–531.
- Hallberg, L., Hultén, L., Lindstedt, G., Lundberg, P.-A., Mark, A., Puren, J., Svanberg, B., & Swolin, B. (1993). Prevalence of iron deficiency in Swedish adolescents.

- Pediatric Research*, 34(5), 680–687.
- Hambidge, M., & Walravens, P. (1982). Disorders of mineral metabolism. In *Clinics in Gastroenterology* (Vol. 11, Issue 1, pp. 87–117). Elsevier.
- Hambidge, Michael. (2000). Human zinc deficiency. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1344S-1349S.
- Hambidge, Michael. (2003). Biomarkers of trace mineral intake and status. *The Journal of Nutrition*, 133(3), 948S-955S.
- Hambidge, Michael, & Krebs, N. F. (2001). Interrelationships of key variables of human zinc homeostasis: relevance to dietary zinc requirements. *Annual Review of Nutrition*, 21, 429.
- Hamilton, K., Quindry, J., French, J., Staib, J., Hughes, J., Mehta, J., & Powers, S. (2004). MnSOD antisense treatment and exercise-induced protection against arrhythmias. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(9), 1360–1368.
- Hamilton, T. A., Weiel, J. E., & Adams, D. O. (1984). Expression of the transferrin receptor in murine peritoneal macrophages is modulated in the different stages of activation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 132(5), 2285–2290.
- Haralambie, G. (1975). Changes in electrolytes and trace elements during long-lasting exercise. In *Metabolic adaptation to prolonged physical exercise* (pp. 340–351). Springer.
- Harker, L. A. (1977). The kinetics of platelet production and destruction in man. *Clinics in Haematology*, 6(3), 671–693.
- Harper, A. (1993). Evaluating the concept of nutritional essentiality. Nutritional essentiality: Historical perspective. In *Nutritional essentiality: A changing paradigm* (pp. 3–11).
- Harris, Z. L., & Gitlin, J. D. (1996). Genetic and molecular basis for copper toxicity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 63(5), 836S-841S.
- Harvey, L. J., Ashton, K., Hooper, L., Casgrain, A., & Fairweather-Tait, S. J. (2009). Methods of assessment of copper status in humans: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(6), 2009S-2024S.

- Harvey, L. J., Dainty, J. R., Hollands, W. J., Bull, V. J., Beattie, J. H., Venelinov, T. I., Hoogewerff, J. A., Davies, I. M., & Fairweather-Tait, S. J. (2005). Use of mathematical modeling to study copper metabolism in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *81*(4), 807–813.
- Harvey, L. J., & McArdle, H. J. (2008). Biomarkers of copper status: a brief update. *British Journal of Nutrition*, *99*(S3), S10–S13.
- Hatfield, D. L., Carlson, B. A., Tsuji, P. A., Tobe, R., & Gladyshev, V. N. (2017). Selenium and cancer. In *Molecular, genetic, and nutritional aspects of major and trace minerals* (pp. 463–473). Elsevier.
- Hauser, R. A., Zesiewicz, T. A., Rosemurgy, A. S., Martinez, C., & Olanow, C. W. (1994). Manganese intoxication and chronic liver failure. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, *36*(6), 871–875.
- Havemeyer, A., Lang, J., & Clement, B. (2011). The fourth mammalian molybdenum enzyme mARC: current state of research. *Drug Metabolism Reviews*, *43*(4), 524–539.
- Hawley, J. A., Dennis, S. C., & Noakes, T. D. (1994). Carbohydrate, Fluids and Electrolyte Requirements of the Soccer Player: A Stewiew. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *4*(3), 221–236.
- Haymes, E. M., Puhl, J. L., & Temples, T. E. (1986). Training for cross-country skiing and iron status. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *18*(2), 162–167.
- Heaney, S., O'Connor, H., Gifford, J., & Naughton, G. (2010). Comparison of strategies for assessing nutritional adequacy in elite female athletes' dietary intake. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *20*(3), 245–256.
- Heath, A.-L. M., Skeaff, C. M., Williams, S., & Gibson, R. S. (2001). The role of blood loss and diet in the aetiology of mild iron deficiency in premenopausal adult New Zealand women. *Public Health Nutrition*, *4*(2), 197–206.
- Heffernan, S., Horner, K., De Vito, G., & Conway, G. E. (2019). The role of mineral and trace element supplementation in exercise and athletic performance: a systematic review. *Nutrients*, *11*(3), 696.

- Hegde, S. M., & Solomon, S. D. (2015). Influence of Physical Activity on Hypertension and Cardiac Structure and Function. *Current Hypertension Reports*, 17(10), 77.
- Heisterberg, M. F., Fahrenkrug, J., Krstrup, P., Storskov, A., Kjær, M., & Andersen, J. L. (2013). Extensive monitoring through multiple blood samples in professional soccer players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 27(5), 1260–1271.
- Heitland, P., & Köster, H. D. (2006). Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP–MS. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(4), 253–262.
- Heitland, P., & Köster, H. D. (2021). Human Biomonitoring of 73 elements in blood, serum, erythrocytes and urine. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 64, 126706.
- Helgeland, K., Haider, T., & Jonsen, J. (1982). Copper and zinc in human serum in Norway: Relationship to geography, sex and age. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 42(1), 35–39.
- Hellman, N. E., & Gitlin, J. D. (2002). Ceruloplasmin metabolism and function. *Annual Review of Nutrition*, 22(1), 439–458.
- Hentze, M. W., Muckenthaler, M. U., Galy, B., & Camaschella, C. (2010). Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*, 142(1), 24–38.
- Hernández-Camacho, J. D., Vicente-García, C., Parsons, D. S., & Navas-Enamorado, I. (2020). Zinc at the crossroads of exercise and proteostasis. *Redox Biology*, 101529.
- Hero, M., Wickman, S., Hanhijärvi, R., Siimes, M. A., & Dunkel, L. (2005). Pubertal upregulation of erythropoiesis in boys is determined primarily by androgen. *The Journal of Pediatrics*, 146(2), 245–252.
- Herrmann, M., Obeid, R., Scharhag, J., Kindermann, W., & Herrmann, W. (2005). Altered vitamin B12 status in recreational endurance athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15(4), 433–441.
- Hess, S. Y., Peerson, J. M., King, J. C., & Brown, K. H. (2007). Use of serum zinc concentration as an indicator of population zinc status. *Food & Nutrition Bulletin*, 28(3 Suppl), S403-29.

- Heyward, V. H., Johannes-Ellis, S. M., & Romer, J. F. (1986). Gender differences in strength. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 57(2), 154–159.
- Hille, R. (2013). The molybdenum oxotransferases and related enzymes. *Dalton Transactions*, 42(9), 3029–3042.
- Hille, R., Nishino, T., & Bittner, F. (2011). Molybdenum enzymes in higher organisms. *Coordination Chemistry Reviews*, 255(9–10), 1179–1205.
- Hinton, P. S. (2014). Iron and the endurance athlete. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 39(9), 1012–1018.
- Holley, A. K., Bakthavatchalu, V., Velez-Roman, J. M., & St. Clair, D. K. (2011). Manganese superoxide dismutase: guardian of the powerhouse. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), 7114–7162.
- Hopkins, W. G., Marshall, S. W., Batterham, A. M., & Hanin, J. (2009). Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41(1), 3–13.
- Horning, K. J., Caito, S. W., Tipps, K. G., Bowman, A. B., & Aschner, M. (2015). Manganese is essential for neuronal health. *Annual Review of Nutrition*, 35, 71.
- Huang, C.-H., Wang, C.-W., Chen, H.-C., Tu, H.-P., Chen, S.-C., Hung, C.-H., & Kuo, C.-H. (2021). Gender Difference in the Associations among Heavy Metals with Red Blood Cell Hemogram. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(1), 189.
- Hunt, J. R. (2001). How important is dietary iron bioavailability? In *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(1), 3-4. Oxford University Press.
- Hunt, J. R., Zito, C. A., & Johnson, L. K. (2009). Body iron excretion by healthy men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(6), 1792–1798.
- Hurrell, R. (1997). Bioavailability of iron. *European Journal of Clinical Nutrition. Supplement*, 51(1), S4–S8.
- Hurrell, R., & Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 1461S-1467S.
- Hurrell, R., Juillerat, M., Reddy, M., Lynch, S., Dassenko, S., & Cook, J. (1992). Soy

- protein, phytate, and iron absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 56(3), 573–578.
- Iglesias-Gutiérrez, E., García-Rovés, P. M., Rodríguez, C., Braga, S., García-Zapico, P., & Patterson, Á. M. (2005). Food habits and nutritional status assessment of adolescent soccer players. A necessary and accurate approach. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30(1), 18–32.
- Ingley, E., & Klinken, P. (2022). Erythrocytes. In S. Jane (Ed.), *Encyclopedia of Respiratory Medicine* (second, pp. 232–237). Academic Press.
- Institute of Medicine. (1998). Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. In *National Academies Press*. Washington, DC: National Academies Press.
- Institute of Medicine. (2001a). *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc: A Report of the Panel on Micronutrients*. National Academy Press.
- Institute of Medicine. (2001b). *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. The National Academies Press.
- Institute of Medicine. (2001c). *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. The National Academies Press.
- Institute of Medicine Food and Nutrition Board. (1994). *How should the recommended dietary allowances be revised?* National Academies.
- Jackson, M. J., Edwards, R. H. T., & Symons, M. C. R. (1985). Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 847(2), 185–190.
- Jaeggi, T., Moretti, D., Kvalsvig, J., Holding, P. A., Tjalsma, H., Kortman, G. A. M., Joosten, I., Mwangi, A., & Zimmermann, M. B. (2013). Iron status and systemic inflammation, but not gut inflammation, strongly predict gender-specific concentrations of serum hepcidin in infants in rural Kenya. *PloS One*, 8(2), e57513.

- Jain, R., & Choi, Y. (2015). Normal reference ranges for and variability in the levels of blood manganese and selenium by gender, age, and race/ethnicity for general US population. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 30, 142–152.
- Jain, R., Puri, S., & Saini, N. (2008). Dietary profile of sportswomen participating in team games at state/national level. *Indian Journal of Public Health*, 52(3), 153–155.
- Jamurtas, A. Z., Douroudos, I. I., Deli, C. K., Draganidis, D., Chatzinikolaou, A., Mohr, M., Avloniti, A., Barbero-Álvarez, J. C., Margonis, K., & Mavropalias, G. (2015). Iron status markers are only transiently affected by a football game. *Journal of Sports Sciences*, 33(20), 2088–2099.
- Jeoung, B., & Kim, J. (2021). Analysis and evaluation of nutritional intake and nutrition quotient of Korean athletes with disabilities in the Tokyo paralympic games. *Nutrients*, 13(10), 3631.
- Ji, L. L., Stratman, F. W., & Lardy, H. A. (1988). Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle: influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 263(1), 150–160.
- Johnson-Winters, K., Nordstrom, A. R., Davis, A. C., Tollin, G., & Enemark, J. H. (2010). Effects of large-scale amino acid substitution in the polypeptide tether connecting the heme and molybdenum domains on catalysis in human sulfite oxidase. *Metallomics*, 2(11), 766.
- Johnson, P. E., Milne, D. B., & Lykken, G. I. (1992). Effects of age and sex on copper absorption, biological half-life, and status in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 56(5), 917–925.
- Josefsson, E. C., Vainchenker, W., & James, C. (2020). Regulation of platelet production and life span: role of Bcl-xL and potential implications for human platelet diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7591.
- Julian-Almarcegui, C., Gómez-Cabello, A., González-Agüero, A., Olmedillas, H., Gomez-Bruton, A., Matute-Llorente, A., Casajús, J. A., & Vicente-Rodríguez, G. (2013). The nutritional status in adolescent Spanish cyclists. *Nutricion Hospitalaria*, 28(4), 1184–1189.
- Jung, O., Marklund, S. L., Geiger, H., Pedrazzini, T., Busse, R., & Brandes, R. P. (2003).

- Extracellular superoxide dismutase is a major determinant of nitric oxide bioavailability: in vivo and ex vivo evidence from ecSOD-deficient mice. *Circulation Research*, 93(7), 622–629.
- Kabata-Pendias, A., & Mukherjee, A. B. (2007). *Trace Elements from soil to human*. Springer: Berlin/Heidelberg, Germany
- Kabata-Pendias, A., & Szteke, B. (2015). *Trace elements in abiotic and biotic environments*. CRC Press.
- Kalapotharakos, V. I., Ziogas, G., & Tokmakidis, S. P. (2011). Seasonal aerobic performance variations in elite soccer players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 25(6), 1502–1507.
- Kander, M. C., Cui, Y., & Liu, Z. (2017). Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 21(5), 1024–1032.
- Kanehisa, H., Ikegawa, S., Tsunoda, N., & Fukunaga, T. (1994). Cross-sectional areas of fat and muscle in limbs during growth and middle age. *International Journal of Sports Medicine*, 15(07), 420–425.
- Kang, H. S., & Matsuo, T. (2004). Effects of 4 weeks iron supplementation on haematological and immunological status in elite female soccer players. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13(4), 353–358.
- Kanias, T., Sinchar, D., Osei-Hwedieh, D., Baust, J. J., Jordan, A., Zimring, J. C., Waterman, H. R., de Wolski, K. S., Acker, J. P., & Gladwin, M. T. (2016). Testosterone-dependent sex differences in red blood cell hemolysis in storage, stress, and disease. *Transfusion*, 56(10), 2571–2583.
- Kauwell, G. P. A., Bailey, L. B., Gregory III, J. F., Bowling, D. W., & Cousins, R. J. (1995). Zinc status is not adversely affected by folic acid supplementation and zinc intake does not impair folate utilization in human subjects. *The Journal of Nutrition*, 125(1), 66–72.
- Kaya, M. (2008). Comparison of urine and blood zinc levels of futsal players before and after the match. *Asian Journal of Chemistry*, 20(4), 3203–3208.
- Keen, C. (1993). The Effect of Exercise and Heat on Mineral Metabolism and

- Requirements. *Nutritional Needs in Hot Environments: Applications for Military Personnel in Field Operations*, 117–135.
- Keen, C. (1994). Nutritional and toxicological aspects of manganese intake: an overview. *Risk Assessment of Essential Elements*, 221–235.
- Kelley, E. E., Khoo, N. K. H., Hundley, N. J., Malik, U. Z., Freeman, B. A., & Tarpey, M. M. (2010). Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(4), 493–498.
- Kelly, D. A. (1998). Liver complications of pediatric parenteral nutrition—epidemiology. *Nutrition*, 14(1), 153–157.
- Kempe, D. S., Lang, P. A., Durantón, C., Akel, A., Lang, K. S., Huber, S. M., Wieder, T., & Lang, F. (2006). Enhanced programmed cell death of iron-deficient erythrocytes. *The FASEB Journal*, 20(2), 368–370.
- Kenney, M. A., Ritchey, S. J., Culley, P., Sandoval, W., Moak, S., & Schilling, P. (1984). Erythrocyte and dietary zinc in adolescent females. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 39(3), 446–451.
- Kerksick, C. M., Wilborn, C. D., Roberts, M. D., Smith-Ryan, A., Kleiner, S. M., Jäger, R., Collins, R., Cooke, M., Davis, J. N., & Galvan, E. (2018). ISSN exercise & sports nutrition review update: research & recommendations. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15(1), 38.
- Khaitin, V., Bezuglov, E., Lazarev, A., Matveev, S., Ivanova, O., Maffulli, N., & Achkasov, E. (2021). Markers of muscle damage and strength performance in professional football (soccer) players during the competitive period. *Annals of Translational Medicine*, 9(2).
- Khelif, R., Marrakchi, R., Jamoussi, K., Sahnoun, Z., Chtourou, H., & Souissi, N. (2019). Plasma iron status in elite weightlifters after four weeks of intensive training. *Science & Sports*, 34(5), 328-e1.
- Kieliszek, M. (2019). Selenium—fascinating microelement, properties and sources in food. *Molecules*, 24(7), 1298.
- Kieliszek, M., Bano, I., & Zare, H. (2022). A comprehensive review on selenium and its effects on human health and distribution in Middle Eastern countries. *Biological*

- Trace Element Research*, 200(3), 971–987.
- Kieliszek, M., Błażej, S., Gientka, I., & Bzducha-Wróbel, A. (2015). Accumulation and metabolism of selenium by yeast cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(13), 5373–5382.
- Kieliszek, M., Błażej, S., Piwowarek, K., & Brzezicka, K. (2018). Equilibrium modeling of selenium binding from aqueous solutions by *Candida utilis* ATCC 9950 yeasts. *Biotech*, 8(9), 1–13.
- Kies, C. (1989). *Copper bioavailability and metabolism*. Springer Science & Business Media.
- Kikukawa, A., & Kobayashi, A. (2002). Changes in urinary zinc and copper with strenuous physical exercise. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, 73(10), 991–995.
- Killilea, D. W., Rohner, F., Ghosh, S., Otoo, G. E., Smith, L., Siekmann, J. H., & King, J. C. (2017). Identification of a hemolysis threshold that increases plasma and serum zinc concentration. *The Journal of Nutrition*, 147(6), 1218–1225.
- Kim, H., Lim, H., Lee, K., Choi, M. H., Kang, N. M., Lee, C. H., Oh, E. J., & Park, H. K. (2017). Determination of trace metal levels in the general population of Korea. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(7), 702.
- Kim, Y., & Lee, B.-K. (2011). Iron deficiency increases blood manganese level in the Korean general population according to KNHANES 2008. *Neurotoxicology*, 32(2), 247–254.
- King, J. C., Brown, K. H., Gibson, R. S., Krebs, N. F., Lowe, N. M., Siekmann, J. H., & Raiten, D. J. (2015). Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—zinc review. *The Journal of Nutrition*, 146(4), 858S–885S.
- King, J. C., Shames, D. M., & Woodhouse, L. R. (2000). Zinc homeostasis in humans. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1360S–1366S.
- King, J., Shames, D., Lowe, N., Woodhouse, L., Sutherland, B., Abrams, S., Turnlund, J., & Jackson, M. (2001). Effect of acute zinc depletion on zinc homeostasis and plasma zinc kinetics in men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(1), 116–124.

- Kipp, A. P., Strohm, D., Brigelius-Flohé, R., Schomburg, L., Bechthold, A. ea, Leschik-Bonnet, E., Hesecker, H., & (DGE, G. N. S. (2015). Revised reference values for selenium intake. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 32, 195–199.
- Klaassen, C. D. (1974). Biliary excretion of manganese in rats, rabbits, and dogs. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 29(3), 458–468.
- Klinken, S. P. (2002). Red blood cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 34(12), 1513–1518.
- Komi, P. V, & Bosco, C. (1978). Utilization of stored elastic energy in leg extensor muscles by men and women. *Medicine and Science in Sports*, 10(4), 261–265.
- Kong, W.-N., Niu, Q.-M., Ge, L., Zhang, N., Yan, S.-F., Chen, W.-B., Chang, Y.-Z., & Zhao, S.-E. (2014). Sex differences in iron status and hepcidin expression in rats. *Biological Trace Element Research*, 160(2), 258–267.
- Koury, J. C., de Oliveira, K. de J. F., Lopes, G. C., de Oliveira, A. V., Portella, E. S., de Moura, E. G., & Donangelo, C. M. (2007). Plasma zinc, copper, leptin, and body composition are associated in elite female judo athletes. *Biological Trace Element Research*, 115(1), 23–30.
- Koury, J., de Oliveira, A. V., Portella, E. S., De Oliveira, C. F., Lopes, G. C., & Donangelo, C. M. (2004). Zinc and copper biochemical indices of antioxidant status in elite athletes of different modalities. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 14(3), 358–372.
- Koury, M., & Ponka, P. (2004). New insights into erythropoiesis: the roles of folate, vitamin B12 and Iron. *Annual Review of Nutrition*, 24, 105–131.
- Krebs, N. F. (2000). Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1374S-1377S.
- Krotkiewski, M., Gudmundsson, M., Backström, P., & Mandroukas, K. (1982). Zinc and muscle strength and endurance. *Acta Physiologica Scandinavica*, 116(3), 309–311.
- Krustrup, P., Mohr, M., Steensberg, A., Bencke, J., Kjær, M., & Bangsbo, J. (2006). Muscle and blood metabolites during a soccer game: implications for sprint performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38(6), 1165–1174.

- Krustrup, P., Ørtenblad, N., Nielsen, J., Nybo, L., Gunnarsson, T. P., Iaia, F. M., Madsen, K., Stephens, F., Greenhaff, P., & Bangsbo, J. (2011). Maximal voluntary contraction force, SR function and glycogen resynthesis during the first 72 h after a high-level competitive soccer game. *European Journal of Applied Physiology*, *111*(12), 2987–2995.
- Krzywański, J., Mikulski, T., Pokrywka, A., Młyńczak, M., Krysztofiak, H., Frączek, B., & Ziemia, A. (2020). Vitamin B12 status and optimal range for hemoglobin formation in elite athletes. *Nutrients*, *12*(4), 1038.
- Książek, A., Zagrodna, A., & Słowińska-Lisowska, M. (2020). Assessment of the dietary intake of high-rank professional male football players during a preseason training week. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(22), 8567.
- Kühn, L. C. (2015). Iron regulatory proteins and their role in controlling iron metabolism. *Metallomics*, *7*(2), 232–243.
- Kumar, V., Cotran, R., & Robbins, S. L. (2003). Cell injury, adaptation, and death. In Saunders (Ed.), *Robbins basic pathology* (7th ed.). Elsevier.
- Lammi, M. J., & Qu, C. (2018). Selenium-related transcriptional regulation of gene expression. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(9), 2665.
- Landahl, G., Adolfsson, P., Börjesson, M., Mannheimer, C., & Rödger, S. (2005). Iron deficiency and anemia: a common problem in female elite soccer players. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *15*(6), 689–694.
- Lang, F., Lang, K. S., Lang, P. A., Huber, S. M., & Wieder, T. (2006). Mechanisms and significance of eryptosis. *Antioxidants & Redox Signaling*, *8*(7–8), 1183–1192.
- Larson-Meyer, D. E., Woolf, K., & Burke, L. (2018). Assessment of nutrient status in athletes and the need for supplementation. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *28*(2), 139–158.
- Laškaj, R., Dodig, S., Čepelak, I., & Kuzman, I. (2009). Superoxide dismutase, copper and zinc concentrations in platelet-rich plasma of pneumonia patients. *Annals of Clinical Biochemistry*, *46*(2), 123–128.
- Lazarim, F. L., Antunes-Neto, J. M. F., Da Silva, F. O. C., Nunes, L. A. S., Bassini-

- Cameron, A., Cameron, L.-C., Alves, A. A., Brenzikofer, R., & de Macedo, D. V. (2009). The upper values of plasma creatine kinase of professional soccer players during the Brazilian National Championship. *Journal of Science and Medicine in Sport, 12*(1), 85–90.
- Leão, C., Mendes, A. P., Custódio, C., Ng, M., Ribeiro, N., Loureiro, N., Araújo, J. P., Afonso, J., Rocha-Rodrigues, S., & Tavares, F. (2022). Nutritional Intake and Training Load of Professional Female Football Players during a Mid-Season Microcycle. *Nutrients, 14*(10), 2149.
- Lee, B., & Kim, Y. (2014). Sex-specific profiles of blood metal levels associated with metal–iron interactions. *Safety and Health at Work, 5*(3), 113–117.
- Lee, E., Fragala, M., Kavouras, S. A., Queen, R. M., Pryor, J. L., & Casa, D. J. (2017). Biomarkers in sports and exercise: tracking health, performance, and recovery in athletes. *Journal of Strength and Conditioning Research, 31*(10), 2920.
- Leitzmann, C. (2005). Vegetarian diets: what are the advantages? *Diet Diversification and Health Promotion, 57*, 147–156.
- Lemon, P. W. R. (1994). Protein requirements of soccer. *Journal of Sports Sciences, 12*(sup1), S17–S22.
- Lener, J., & Bibr, B. (1984). Effects of molybdenum on the organism (a review). *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology, and Immunology, 28*(4), 405–419.
- Letsiou, S., Nomikos, T., Panagiotakos, D. B., Pergantis, S. A., Fragopoulou, E., Pitsavos, C., Stefanadis, C., & Antonopoulou, S. (2014). Gender-specific distribution of selenium to serum selenoproteins: Associations with total selenium levels, age, smoking, body mass index, and physical activity. *Biofactors, 40*(5), 524–535.
- Levenson, C. W., & Janghorbani, M. (1994). Long-term measurement of organ copper turnover in rats by continuous feeding of a stable isotope. *Analytical Biochemistry, 221*(2), 243–249.
- Lewis, R. C., Johns, L. E., & Meeker, J. D. (2016). Exploratory analysis of the potential relationship between urinary molybdenum and bone mineral density among adult men and women from NHANES 2007–2010. *Chemosphere, 164*, 677–682.
- Li, L., & Yang, X. (2018). The essential element manganese, oxidative stress, and

- metabolic diseases: links and interactions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Lieu, P. T., Heiskala, M., Peterson, P. A., & Yang, Y. (2001). The roles of iron in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 22(1–2), 1–87.
- Linder, M., & Hazegh-Azam, M. (1996). Copper biochemistry and molecular biology. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 63(5), 797S-811S.
- Linder, P., Torrington, R., & Seemann, U. (1983). Formation constants for the complexes of levulinate and acetate with manganese (II), cobalt (II), nickel (II), copper (II), zinc (II) and hydrogen ions. *Talanta*, 30(4), 295–298.
- Lipinski, B. (2005). Rationale for the treatment of cancer with sodium selenite. *Medical Hypotheses*, 64(4), 806–810.
- Lloyd, T., Dolence, L. A., & Bartholomew, M. J. (1992). Nutritional characteristics of recreational women runners. *Nutrition Research*, 12(3), 359–366.
- Lockitch, G., Fassett, J., Gerson, B., Nixon, D. E., Parsons, P. J., & Savory, J. (1997). *Control of Preanalytical Variation in Trace Element Determinations: Approved Guideline*. NCCLS.
- Lonnerdal, B. (2000). Dietary factors influencing zinc absorption. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1378S-1383S.
- Looker, A. C. (1997). Prevalence of iron deficiency in the United States. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 277(12), 973–976.
- Loturco, I., Jeffreys, I., Abad, C. C. C., Kobal, R., Zanetti, V., Pereira, L. A., & Nimphius, S. (2020). Change-of-direction, speed and jump performance in soccer players: a comparison across different age-categories. *Journal of Sports Sciences*, 38(11–12), 1279–1285.
- Lowe, N., Fekete, K., & Decsi, T. (2009). Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(6), 2040S-2051S.
- Lu, Y., Ahmed, S., Harari, F., & Vahter, M. (2015). Impact of Ficoll density gradient centrifugation on major and trace element concentrations in erythrocytes and blood

- plasma. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 29, 249–254.
- Lukaski, H. (1989). Effects of exercise training on human copper and zinc nutriture. In *Copper Bioavailability and Metabolism* (pp. 163–170). Springer.
- Lukaski, H. (2005). Low dietary zinc decreases erythrocyte carbonic anhydrase activities and impairs cardiorespiratory function in men during exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(5), 1045–1051.
- Lukaski, H., Bolonchuk, W., Klevay, L. M., Milne, D. B., & Sandstead, H. H. (1983). Maximal oxygen consumption as related to magnesium, copper, and zinc nutriture. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 37(3), 407–415.
- Lukaski, H., Bolonchuk, W., Klevay, L., Milne, D., & Sandstead, H. (1984). Changes in plasma zinc content after exercise in men fed a low-zinc diet. *The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 247(1), E88–E93.
- Lukaski, H. C. (2004). Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*, 20(7–8), 632–644.
- Lukaski, H., Hoverson, B., Gallagher, S. K., & Bolonchuk, W. W. (1990). Physical-training and copper, iron, and zinc status of swimmers. *American Journal of Clinical Nutrition*, 51(6), 1093–1099.
- Lukaski, H., Siders, W., Hoverson, B., & Gallagher, S. (1996). Iron, copper, magnesium and zinc status as predictors of swimming performance. *International Journal of Sports Medicine*, 17(07), 535–540.
- Lynch, S. R. (1997). Interaction of iron with other nutrients. *Nutrition Reviews*, 55(4), 102–110.
- Maares, M., & Haase, H. (2020). A guide to human zinc absorption: General overview and recent advances of in vitro intestinal models. *Nutrients*, 12(3), 762.
- MacDonald, R. S. (2000). The role of zinc in growth and cell proliferation. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1500S-1508S.
- Madden, R. F., Shearer, J., & Parnell, J. A. (2017). Evaluation of dietary intakes and supplement use in paralympic athletes. *Nutrients*, 9(11), 1266.
- Magnusson, B., Hallberg, L., Rossander, L., & Swolin, B. (1984). Iron metabolism and

- “sports anemia” II. A hematological comparison of elite runners and control subjects. *Acta Medica Scandinavica*, 216(2), 157–164.
- Maguire, J. J., Davies, K. J. A., Dallman, P. R., & Packer, L. (1982). Effects of dietary iron deficiency on iron-sulfur proteins and bioenergetic functions of skeletal muscle mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 679(2), 210–220.
- Malcovati, L., Pascutto, C., & Cazzola, M. (2003). Hematologic passport for athletes competing in endurance sports: a feasibility study. *Haematologica*, 88(5), 570–581.
- Malczewska-Lenczowska, J., Sitkowski, D., Orysiak, J., Pokrywka, A., & Szygula, Z. (2013). Total haemoglobin mass, blood volume and morphological indices among athletes from different sport disciplines. *Archives of Medical Sciences*, 9(5), 780.
- Malczewska, J., Bach, W., & Stupnicki, R. (2000). The effects of physical exercise on the concentrations of ferritin and transferrin receptor in plasma of female judoists. *International Journal of Sports Medicine*, 21(03), 175–179.
- Malczewska, J., Raczynski, G., & Stupnicki, R. (2000). Iron Status in Female Endurance Athletes and in Non-Athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 10(3), 260–276.
- Malczewska, J., Szczepańska, B., Stupnicki, R., & Senddecki, W. (2001). The assessment of frequency of iron deficiency in athletes from the transferrin receptor-ferritin index. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 11(1), 42–52.
- Malina, R. M., Eisenmann, J. C., Cumming, S. P., Ribeiro, B., & Aroso, J. (2004). Maturity-associated variation in the growth and functional capacities of youth football (soccer) players 13–15 years. *European Journal of Applied Physiology*, 91(5–6), 555–562.
- Manore, M. (2000). Effect of physical activity on thiamine, riboflavin, and vitamin B-6 requirements. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2), 598S-606S.
- Manore, M., Meeusen, R., Roelands, B., Moran, S., Popple, A. D., Naylor, M. J., Burke, L. M., Stear, S. J., & Castell, L. M. (2011). BJSM reviews: A–Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for

- health and performance—Part 16. *British Journal of Sports Medicine*, 45(1), 73–74.
- Manser, W. W., Haider, S., Lalani, R., & Khan, M. A. (1989). Trace element studies on Karachi population, part II: normal ranges for blood copper, zinc and magnesium for children and adolescents. *Journal of Pakistan Medical Association*, 39, 205–208.
- Maret, W. (2003). Cellular zinc and redox states converge in the metallothionein/thionein pair. *The Journal of Nutrition*, 133(5), 1460S-1462S.
- Maret, W. (2013). Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. *Advances in Nutrition*, 4(1), 82–91.
- Maret, W., & Sandstead, H. H. (2006). Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(1), 3–18.
- Margaritis, I., Palazzetti, S., Rousseau, A. S., Richard, M. J., & Favier, A. (2003). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(2), 147–156.
- Margaritis, I., Rousseau, A., Hininger, I., Palazzetti, S., Arnaud, J., & Roussel, A.-M. (2005). Increase in selenium requirements with physical activity loads in well-trained athletes is not linear. *BioFactors*, 23(1), 45–55.
- Marklund, S. L. (1986). Superoxide dismutase in human tissues, cells, and extracellular fluid. *Clinical Implications, Free Radical, Aging, and Degenerative Disease*, 509–526.
- Marques, A. G., Sarni, R. O. S., Lopes, L. A., Lopes, E., & Amancio, O. M. S. (2016). Erythrocyte zinc and serum copper in male and female adolescents according to puberty stage at different growth phases. *Nutrire*, 41(1), 1–8.
- Marrella, M., Guerrini, F., Solero, P. L., Tregnaghi, P. L., Schena, F., & Velo, G. P. (1993). Blood copper and zinc changes in runners after a marathon. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 7(4), 248–250.
- Mascherini, G., Castizo-Olier, J., Irurtia, I., Petri, C., & Galanti, G. (2018). Differences between the sexes in athletes' body composition and lower limb bioimpedance values. *Muscles Ligaments Tendons Journal*, 7(4), 573–581.

- Mason, K. E. (1979). A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. *Journal of Nutrition*, 109(11), 1979-2066.
- Maynar-Mariño, M., Grijota, F. J., Bartolomé, I., Siquier-Coll, J., Román, V. T., & Muñoz, D. (2020). Influence of physical training on erythrocyte concentrations of iron, phosphorus and magnesium. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 17(1), 1–7.
- Maynar, M., Bartolomé, I., Alves, J., Barrientos, G., Grijota, F. J., Robles, M. C., & Muñoz, D. (2019). Influence of a 6-month physical training program on serum and urinary concentrations of trace metals in middle distance elite runners. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 16(1), 53.
- Maynar, M., Muñoz, D., Alves, J., Barrientos, G., Grijota, F. J., Robles, M. C., Llerena, F., Muñoz, D., Alves, J., Barrientos, G., Grijota, F. J., Robles, M. C., & Llerena, F. (2018). Influence of an Acute Exercise Until Exhaustion on Serum and Urinary Concentrations of Molybdenum, Selenium, and Zinc in Athletes. *Biological Trace Element Research*, 186(2), 361–369.
- Maynar, M., Grijota, F. J., Siquier-Coll, J., Bartolomé, I., Robles, M. C., & Muñoz, D. (2020). Erythrocyte concentrations of chromium, copper, manganese, molybdenum, selenium and zinc in subjects with different physical training levels. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 17(1), 1–9.
- Maynar, M., Llerena, F., Bartolomé, I., Alves, J., Robles, M.-C., Grijota, F.-J., & Muñoz, D. (2018). Serum concentrations of copper, chromium, manganese, nickel and selenium in aerobic, anaerobic and mixed professional sportsmen. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15, 8.
- Maynar, M., Llerena, F., Grijota, F. J., Pérez-Quintero, M., Bartolomé, I., Alves, J., Robles, M. C., & Muñoz, D. (2018). Serum concentration of cobalt, molybdenum and zinc in aerobic, anaerobic and aerobic-anaerobic sportsmen. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15(1), 28.
- Maynar, M., Muñoz, D., Alves, J., Barrientos, G., Grijota, F. J., Robles, M. C., & Llerena, F. (2018). Influence of an Acute Exercise Until Exhaustion on Serum and Urinary Concentrations of Molybdenum, Selenium, and Zinc in Athletes. *Biological Trace Element Research*, 186(2), 361–369.

- McAdam, P. A., Smith, D. K., Feldman, E. B., & Hames, C. (1984). Effect of age, sex, and race on selenium status of healthy residents of Augusta, Georgia. *Biological Trace Element Research*, 6(1), 3–9.
- McClung, J. P. (2012). Iron status and the female athlete. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26(2–3), 124–126.
- McClung, J. P. (2019). Iron, Zinc, and Physical Performance. *Biological Trace Element Research*, 188(1), 135–139.
- McCormick, D. (1993). The meaning of nutritional essentiality in today's context of health and disease. *Nutritional Essentiality: Paradigm, Report of the Twelfth Ross Conference on Medical Research*, 11–15.
- McCrink, C. M., McSorley, E. M., Grant, K., McNeilly, A. M., & Magee, P. J. (2021). An investigation of dietary intake, nutrition knowledge and hydration status of Gaelic Football players. *European Journal of Nutrition*, 60(3), 1465–1473.
- McKay, A. K. A., Pyne, D. B., Burke, L. M., & Peeling, P. (2020). Iron Metabolism: Interactions with Energy and Carbohydrate Availability. *Nutrients*, 12(12), 3692.
- McKay, A., Peeling, P., Pyne, D. B., Welvaert, M., Tee, N., Leckey, J. J., Sharma, A. P., Ross, M. L. R., Garvican-Lewis, L. A., & van Swelm, R. P. L. (2019). Acute carbohydrate ingestion does not influence the post-exercise iron-regulatory response in elite keto-adapted race walkers. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 22(6), 635–640.
- McKay, R. H., Higuchi, D. A., Winder, W. W., Fell, R. D., & Brown, E. B. (1983). Tissue effects of iron deficiency in the rat. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 757(3), 352–358.
- McLellan, C. P., Lovell, D. I., & Gass, G. C. (2010). Creatine kinase and endocrine responses of elite players pre, during, and post rugby league match play. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 24(11), 2908–2919.
- McInnis, M. D., Newhouse, I. J., von Duvillard, S. P., & Thayer, R. (1998). The effect of exercise intensity on hematuria in healthy male runners. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 79(1), 99–105.
- McMahon, R. J., & Cousins, R. J. (1998). Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by

- dietary zinc. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(9), 4841–4846.
- Mcphee, J., French, D., Jackson, D., Nazroo, J., Pendleton, N., & Degens, H. (2016). Physical activity in older age: perspectives for healthy ageing and frailty. *Biogerontology*, 17(3), 567–580.
- Meckel, Y., Doron, O., Eliakim, E., & Eliakim, A. (2018). Seasonal variations in physical fitness and performance indices of elite soccer players. *Sports*, 6(1), 14.
- Medeiros, D. M. (2016). Copper, iron, and selenium dietary deficiencies negatively impact skeletal integrity: A review. *Experimental Biology and Medicine*, 241(12), 1316–1322.
- Mehdi, Y., Hornick, J.-L., Istasse, L., & Dufrasne, I. (2013). Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules*, 18(3), 3292–3311.
- Meignié, A., Duclos, M., Carling, C., Orhant, E., Provost, P., Toussaint, J.-F., & Antero, J. (2021). The effects of menstrual cycle phase on elite athlete performance: a critical and systematic review. *Frontiers in Physiology*, 12, 654585.
- Melvin, M. N., Smith-Ryan, A. E., Wingfield, H. L., Ryan, E. D., Trexler, E. T., & Roelofs, E. J. (2014). Muscle Characteristics and Body Composition of NCAA Division I Football Players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 28(12), 3320–3329.
- Mendel, R. R., & Kruse, T. (2012). Cell biology of molybdenum in plants and humans. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(9), 1568–1579.
- Mercer, K. W., & Densmore, J. J. (2005). Hematologic disorders in the athlete. *Clinics in Sports Medicine*, 24(3), 599–621.
- Mertz, W. (1981). The essential trace elements. *Science*, 213(4514), 1332–1338.
- Metaxas, T., Sendelides, T., Koutlianos, N., & Mandroukas, K. (2006). Seasonal variation of aerobic performance in soccer players according to positional role. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 46(4), 520.
- Metin, G., Atukeren, P., Alturfan, A., Gulyasar, T., Kaya, M., & Gumustas, K. (2003). Lipid peroxidation, erythrocyte superoxide-dismutase activity and trace metals in

- young male footballers. *Yonsei Medical Journal*, 44(6), 979–986.
- Mettler, S., & Zimmermann, M. B. (2010). Iron excess in recreational marathon runners. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(5), 490–494.
- Meyer, T., & Meister, S. (2011). Routine blood parameters in elite soccer players. *International Journal of Sports Medicine*, 32(11), 875–881.
- Michaluk, A., & Kochman, K. (2007). Involvement of copper in female reproduction. *Reproductive Biology*, 7(3), 193–205.
- Micheletti, A., Rossi, R., & Rufini, S. (2001). Zinc status in athletes. *Sports Medicine*, 31(8), 577–582.
- Michos, C., Kalfakakou, V., Karkabounas, S., Kiortsis, D., & Evangelou, A. (2010). Changes in copper and zinc plasma concentrations during the normal menstrual cycle in women. *Gynecological Endocrinology*, 26(4), 250–255.
- Michos, C., Kiortsis, D. N., Evangelou, A., & Karkabounas, S. (2006). Antioxidant protection during the menstrual cycle: the effects of estradiol on ascorbic–dehydroascorbic acid plasma levels and total antioxidant plasma status in eumenorrhoeic women during the menstrual cycle. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 85(8), 960–965.
- Milanese, C., Cavedon, V., Corradini, G., De Vita, F., & Zancanaro, C. (2015). Seasonal DXA-measured body composition changes in professional male soccer players. *Journal of Sports Sciences*, 33(12), 1219–1228.
- Milias, G. A., Nomikos, T., Fragopoulou, E., Athanasopoulos, S., & Antonopoulou, S. (2006). Effects of baseline serum levels of Se on markers of eccentric exercise-induced muscle injury. *Biofactors*, 26(3), 161–170.
- Miller, A., MacDougall, J. D., Tarnopolsky, M. A., & Sale, D. G. (1993). Gender differences in strength and muscle fiber characteristics. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 66(3), 254–262.
- Miller, T., Thierry-Aguilera, R., Congleton, J. J., & Amendola, A. A. (2007). Seasonal changes in VO₂max among division 1A collegiate women soccer players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 21(1), 48.

- Milne, D. (1998). Copper intake and assessment of copper status. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 67(5), 1041S-1045S.
- Milne, D. (2000). Laboratory assessment of trace element and mineral status. In *Clinical nutrition of the essential trace elements and minerals* (pp. 69–90). Springer.
- Milne, D., Canfield, W., Mahalko, J., & Sandstead, H. (1984). Effect of oral folic acid supplements on zinc, copper, and iron absorption and excretion. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 39(4), 535–539.
- Milne, D., & Johnson, P. (1993). Assessment of copper status: effect of age and gender on reference ranges in healthy adults. *Clinical Chemistry*, 39(5), 883–887.
- Milne, D., Johnson, P., Klevay, L., & Sandstead, H. (1990). Effect of copper intake on balance, absorption, and status indices of copper in men. *Nutrition Research*, 10(9), 975–986.
- Milne, D., & Nielsen, F. (1996). Effects of a diet low in copper on copper-status indicators in postmenopausal women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 63(3), 358–364.
- Mistry, H. D., Pipkin, F. B., Redman, C. W. G., & Poston, L. (2012). Selenium in reproductive health. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 206(1), 21–30.
- Miyamura, J. B., McNutt, S. W., Lichton, I. J., & Wenkam, N. S. (1987). Altered zinc status of soldiers under field conditions. *Journal of the American Dietetic Association*, 87(5), 595–597.
- Mnatsakanyan, H., Rico, P., & Salmerón-Sánchez, M. (2018). Zinc uptake promotes myoblast differentiation via Zip7 transporter and activation of Akt signalling transduction pathway. *Scientific Reports*, 8(1), 1–14.
- Mocchegiani, E., Muzzioli, M., & Giacconi, R. (2000). Zinc, metallothioneins, immune responses, survival and ageing. *Biogerontology*, 1(2), 133–143.
- Mohr, M., Krstrup, P., & Bangsbo, J. (2003). Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. *Journal of Sports Sciences*, 21(7), 519–528.

- Mohr, M., Krstrup, P., & Bangsbo, J. (2005). Fatigue in soccer: a brief review. *Journal of Sports Sciences*, 23(6), 593–599.
- Momãiloviõ, B., & Iviãio, N. (2003). The analysis of human blood molybdenum (Mo6+) with differential pulse anodic stripping voltammetry. 4th Intern Symp trace elements in human: New perspectives. *Momãiloviõ B.(2004). Manganese Whole Body Retention and the Gastrointestinal Transit Time of the Women in Their Reproductive Age Are Intensively Related to the Ferritin Status. 22. Workshop, Macro and Trace Elements, Jena, 2, 1715–1722.*
- Monteiro, C. P., Varela, A., Pinto, M., Neves, J., Felisberto, G. M., Vaz, C., Bicho, M. P., & Laires, M. J. (1997). Effect of an aerobic training on magnesium, trace elements and antioxidant systems in a Down syndrome population. *Magnesium Research*, 10(1), 65–71.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., & Cuadrado, C. (2016). *Tablas De Composicion De Alimentos: guia de prácticas*. Pirámide.
- Morris, D. (1998). Handbook of nutritionally essential mineral elements. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 98(4), 482.
- Morris, S. (1992). Regulation of enzymes of urea and arginine synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 12(1), 81–101.
- Mougios, V. (2007). Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *British Journal of Sports Medicine*, 41(10), 674–678.
- Muir, A., & Hopfer, U. (1985). Regional specificity of iron uptake by small intestinal brush-border membranes from normal and iron-deficient mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 248(3), G376–G379.
- Mujika, I., Santisteban, J., Impellizzeri, F. M., & Castagna, C. (2009). Fitness determinants of success in men's and women's football. *Journal of Sports Sciences*, 27(2), 107–114.
- Mullinix, M. C., Jonnalagadda, S. S., Rosenbloom, C. A., Thompson, W. R., & Kicklighter, J. R. (2003). Dietary intake of female US soccer players. *Nutrition Research*, 23(5), 585–593.
- Mundie, T. G., & Hare, B. (2001). Effects of resistance exercise on plasma, erythrocyte,

- and urine Zn. *Biological Trace Element Research*, 79(1), 23–28.
- Muñoz, D., Grijota, F. J., Bartolomé, I., Siquier-Coll, J., Toro-Román, V., & Maynar, M. (2020). Serum and urinary concentrations of arsenic, beryllium, cadmium and lead after an aerobic training period of six months in aerobic athletes and sedentary people. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 17(1), 1–10.
- Muñoz, D., Maynar, M., Barrientos, G., Siquier-Coll, J., Bartolomé, I., Grijota, F. J., & Robles, M. C. (2019). Effect of an Acute Exercise Until Exhaustion on the Serum and Urinary Concentrations of Cobalt, Copper, and Manganese Among Well-Trained Athletes. *Biological Trace Element Research*, 189(2), 387–394.
- Myhre, K. E., Webber, B. J., Cropper, T. L., Tchandja, J. N., Ahrendt, D. M., Dillon, C. A., Haas, R. W., Guy, S. L., Pawlak, M. T., & Federinko, S. P. (2016). Prevalence and impact of anemia on basic trainees in the US air force. *Sports Medicine-Open*, 2(1), 1–7.
- Myint, Z. W., Oo, T. H., Thein, K. Z., Tun, A. M., & Saeed, H. (2018). Copper deficiency anemia: review article. *Annals of Hematology*, 97(9), 1527–1534.
- Nadadur, S. S., Srirama, K., & Mudipalli, A. (2008). Iron transport & homeostasis mechanisms: their role in health & disease. *Indian Journal of Medical Research*, 128(4), 533.
- Nader, E., Monedero, D., Robert, M., Skinner, S., Stauffer, E., Cibiel, A., Germain, M., Hugonnet, J., Scheer, A., & Joly, P. (2020). Impact of a 10 km running trial on eryptosis, red blood cell rheology, and electrophysiology in endurance trained athletes: A pilot study. *European Journal of Applied Physiology*, 120(1), 255–266.
- Nan, Y., & Bai, Y. (2022). Sex-Based Differences in the Association between Serum Copper and Kidney Function: Evidence from NHANES 2011–2016. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(21), 14086.
- Nasolodin, V. V., Gladkikh, I. P., & Meshcheriakov, S. I. (2001). Providing athletes with trace elements during intensive exercise. *Gigiena i Sanitariia*, 1, 54–57.
- Nath, R., Kumar, D., Li, T., & Singal, P. K. (2000). Metallothioneins, oxidative stress and the cardiovascular system. *Toxicology*, 155(1–3), 17–26.
- Navarro-Alarcon, M., & Cabrera-Vique, C. (2008). Selenium in food and the human

- body: a review. *Science of the Total Environment*, 400(1–3), 115–141.
- Nemeth, E., & Ganz, T. (2006). Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annual Review of Nutrition*, 26, 323–342.
- Neve, J. (1991). Methods in determination of selenium states. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 5(1), 1–17.
- Neve, J. (1995). Human selenium supplementation as assessed by changes in blood selenium concentration and glutathione peroxidase activity. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 9(2), 65–73.
- Neve, J., Vertongen, F., & Capel, P. (1988). Selenium supplementation in healthy Belgian adults: response in platelet glutathione peroxidase activity and other blood indices. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 48(1), 139–143.
- Newhouse, I. J., & Clement, D. B. (1988). Iron status in athletes. *Sports Medicine*, 5(6), 337–352.
- Nickerson, H. J., Holubets, M. C., Weiler, B. R., Haas, R. G., Schwartz, S., & Ellefson, M. E. (1989). Causes of iron deficiency in adolescent athletes. *The Journal of Pediatrics*, 114(4), 657–663.
- Nielsen, F. H. (1999). Ultratrace minerals. *Modern Nutrition in Health and Disease*, 284–303.
- Nikolaidis, M. G., & Jamurtas, A. Z. (2009). Blood as a reactive species generator and redox status regulator during exercise. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 490(2), 77–84.
- Nishito, Y., & Kambe, T. (2018). Absorption mechanisms of iron, copper, and zinc: an overview. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 64(1), 1–7.
- Noda, Y., Iide, K., Masuda, R., Kishida, R., Nagata, A., Hirakawa, F., Yoshimura, Y., & Imamura, H. (2009). Nutrient intake and blood iron status of male collegiate soccer players. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 18(3), 344–350.
- Nose, Y., Wood, L. K., Kim, B.-E., Prohaska, J. R., Fry, R. S., Spears, J. W., & Thiele, D. J. (2010). Ctr1 is an apical copper transporter in mammalian intestinal epithelial cells in vivo that is controlled at the level of protein stability. *Journal of Biological*

- Chemistry*, 285(42), 32385–32392.
- Novotny, J. A. (2011). Molybdenum nutriture in humans. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 16(3), 164–168.
- Novotny, J. A., & Peterson, C. A. (2018). Molybdenum. *Advances in Nutrition*, 9(3), 272–273.
- Novotny, J. A., & Turnlund, J. R. (2007). Molybdenum intake influences molybdenum kinetics in men. *The Journal of Nutrition*, 137(1), 37–42.
- Nowakowska, A., Kostrzewa-Nowak, D., Buryta, R., & Nowak, R. (2019). Blood biomarkers of recovery efficiency in soccer players. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(18), 3279.
- Nunes, C. L., Matias, C. N., Santos, D. A., Morgado, J. P., Monteiro, C. P., Sousa, M., Minderico, C. S., Rocha, P. M., St-Onge, M.-P., & Sardinha, L. B. (2018). Characterization and comparison of nutritional intake between preparatory and competitive phase of highly trained athletes. *Medicina*, 54(3), 41.
- Nuttall, K. L. (2006). Evaluating selenium poisoning. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 36(4), 409–420.
- Nuviala, R. J., Lapieza, M. G., & Bernal, E. (1999). Magnesium, zinc, and copper status in women involved in different sports. *International Journal of Sport Nutrition*, 9(3), 295–309.
- O'Brien, K. O., Zavaleta, N., Caulfield, L. E., Wen, J., & Abrams, S. A. (2000). Prenatal iron supplements impair zinc absorption in pregnant Peruvian women. *The Journal of Nutrition*, 130(9), 2251–2255.
- O'Neal, S. L., Hong, L., Fu, S., Jiang, W., Jones, A., Nie, L. H., & Zheng, W. (2014). Manganese accumulation in bone following chronic exposure in rats: steady-state concentration and half-life in bone. *Toxicology Letters*, 229(1), 93–100.
- Oakes, E. J. C., Lyon, T. D. B., Duncan, A., Gray, A., Talwar, D., & O'Reilly, D. S. J. (2008). Acute inflammatory response does not affect erythrocyte concentrations of copper, zinc and selenium. *Clinical Nutrition*, 27(1), 115–120.
- Ohashi, K., Nagata, Y., Wada, E., Zammit, P. S., Shiozuka, M., & Matsuda, R. (2015).

- Zinc promotes proliferation and activation of myogenic cells via the PI3K/Akt and ERK signaling cascade. *Experimental Cell Research*, 333(2), 228–237.
- Ohno, H., Sato, Y., Ishikawa, M., Yahata, T., Gasa, S., Doi, R., Yamamura, K., & Taniguchi, N. (1990). Training effects on blood zinc levels in humans. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 30(3), 247–253.
- Ohno, H., Yamashita, K., Doi, R., Yamamura, K., Kondo, T., & Taniguchi, N. (1985). Exercise-induced changes in blood zinc and related proteins in humans. *Journal of Applied Physiology*, 58(5), 1453–1458.
- Oliveira, C., Ferreira, D., Caetano, C., Granja, D., Pinto, R., Mendes, B., & Sousa, M. (2017). Nutrition and supplementation in soccer. *Sports*, 5(2), 28.
- Oliveira, R., Francisco, R., Fernandes, R., Martins, A., Nobari, H., Clemente, F. M., & Brito, J. P. (2021). In-season body composition effects in professional women soccer players. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(22), 12023.
- Olsson, I. M., Bensryd, I., Lundh, T., Ottosson, H., Skerfving, S., & Oskarsson, A. (2002). Cadmium in blood and urine--impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking--association of renal effects. *Environmental Health Perspectives*, 110(12), 1185–1190.
- Orino, K., Lehman, L., Tsuji, Y., Ayaki, H., Torti, S. V., & Torti, F. M. (2001). Ferritin and the response to oxidative stress. *Biochemical Journal*, 357(1), 241–247.
- Ostojic, S. M., & Ahmetovic, Z. (2009). Indicators of iron status in elite soccer players during the sports season. *International Journal of Laboratory Hematology*, 31(4), 447–452.
- Otag, A., Hazar, M., Otag, I., Gürkan, A. C., & Okan, I. (2014). Responses of trace elements to aerobic maximal exercise in elite sportsmen. *Global Journal of Health Science*, 6(3), 90–96.
- Ottomano, C., & Franchini, M. (2012). Sports anaemia: facts or fiction? *Blood Transfusion*, 10(3), 252.
- Oulhote, Y., Mergler, D., & Bouchard, M. F. (2014). Sex-and age-differences in blood manganese levels in the US general population: national health and nutrition

- examination survey 2011–2012. *Environmental Health*, 13(1), 1–10.
- Owen, A. L., Cossio-Bolaños, M. A., Dunlop, G., Rouissi, M., Chtara, M., Bragazzi, N. L., & Chamari, K. (2018). Stability in post-seasonal hematological profiles in response to high-competitive match-play loads within elite top-level European soccer players: implications from a pilot study. *Open Access Journal of Sports Medicine*, 9, 157.
- Owens, D. J., Twist, C., Cobley, J. N., Howatson, G., & Close, G. L. (2019). Exercise-induced muscle damage: What is it, what causes it and what are the nutritional solutions? *European Journal of Sport Science*, 19(1), 71–85.
- Ozturk, A., Baltaci, A. K., Mogulkoc, R., Oztekin, E., Sivrikaya, A., Kurtoglu, E., & Kul, A. (2003). Effects of zinc deficiency and supplementation on malondialdehyde and glutathione levels in blood and tissues of rats performing swimming exercise. *Biological Trace Element Research*, 94(2), 157–166.
- Panneerselvam, R. S., & Govindaswamy, S. (2002). Effect of sodium molybdate on carbohydrate metabolizing enzymes in alloxan-induced diabetic rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(1), 21–26.
- Park, M.-J., Park, P.-W., Seo, Y.-H., Kim, K.-H., Park, S.-H., Jeong, J.-H., & Ahn, J.-Y. (2013). The relationship between iron parameters and platelet parameters in women with iron deficiency anemia and thrombocytosis. *Platelets*, 24(5), 348–351.
- Parsons, M. J., Ku, P. K., Ullrey, D. E., Stowe, H. D., Whetter, P. A., & Miller, E. R. (1985). Effects of riboflavin supplementation and selenium source on selenium metabolism in the young pig. *Journal of Animal Science*, 60(2), 451–461.
- Parsons, P., & Barbosa, F. (2007). Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 62(9), 992–1003.
- Pasricha, S.-R., Tye-Din, J., Muckenthaler, M. U., & Swinkels, D. W. (2021). Iron deficiency. *The Lancet*, 397(10270), 233–248.
- Passos, B. N., Lima, M. C., Sierra, A. P. R., Oliveira, R. A., MacIel, J. F. S., Manoel, R., Rogante, J. I., Pesquero, J. B., & Cury-Boaventura, M. F. (2019). Association of daily dietary intake and inflammation induced by marathon race. *Mediators of Inflammation*, 2019, 1537274.

- Patching, S., & Gardiner, R. (1999). Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *13*(4), 193–214.
- Patriarca, M., Menditto, A., Di Felice, G., Petrucci, F., Caroli, S., Merli, M., & Valente, C. (1998). Recent developments in trace element analysis in the prevention, diagnosis, and treatment of diseases. *Microchemical Journal*, *59*(2), 194–202.
- Paulev, P. E., Jordal, R., & Pedersen, N. S. (1983). Dermal excretion of iron in intensely training athletes. *Clinica Chimica Acta*, *127*(1), 19–27.
- Pavletic, A. J., & Wright, M. E. (2015). Exercise-induced elevation of liver enzymes in a healthy female research volunteer. *Psychosomatics*, *56*(5), 604.
- Peart, A. N., Nicks, C. R., Mangum, M., & Tyo, B. M. (2018). Evaluation of seasonal changes in fitness, anthropometrics, and body composition in collegiate division II female soccer players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *32*(7), 2010–2017.
- Pedersen, B. K., & Saltin, B. (2015). Exercise as medicine—evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *25*, 1–72.
- Pedlar, C. R., Brugnara, C., Bruinvels, G., & Burden, R. (2018). Iron balance and iron supplementation for the female athlete: a practical approach. *European Journal of Sport Science*, *18*(2), 295–305.
- Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., & Trinder, D. (2008). Athletic induced iron deficiency: new insights into the role of inflammation, cytokines and hormones. *European Journal of Applied Physiology*, *103*(4), 381–391.
- Pelliccia, A., Maron, B. J., Spataro, A., Proschan, M. A., & Spirito, P. (1991). The upper limit of physiologic cardiac hypertrophy in highly trained elite athletes. *New England Journal of Medicine*, *324*(5), 295–301.
- Perez-Gomez, J., Rodriguez, G. V., Ara, I., Olmedillas, H., Chavarren, J., González-Henriquez, J. J., Dorado, C., & López-Calbet, J. A. (2008). Role of muscle mass on sprint performance: gender differences? *European Journal of Applied Physiology*, *102*(6), 685–694.

- Pettersson, J., Hindorf, U., Persson, P., Bengtsson, T., Malmqvist, U., Werkström, V., & Ekelund, M. (2008). Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *65*(2), 253–259.
- Pfeiffer, C. M., & Looker, A. C. (2017). Laboratory methodologies for indicators of iron status: strengths, limitations, and analytical challenges. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *106*(suppl_6), 1606S-1614S.
- Piagentini, M., Silva, D. C., Dell'Aqua, C. P. F., Moya-Araujo, C. F., Codognoto, V. M., Ramos, A. A., & Oba, E. (2017). Effect of selenium supplementation on semen characteristics of Brazil's ram. *Reproduction in Domestic Animals*, *52*(3), 355–358.
- Pillai, R., Uyehara-Lock, J. H., & Bellinger, F. P. (2014). Selenium and selenoprotein function in brain disorders. *IUBMB Life*, *66*(4), 229–239.
- Pinto, R. E., & Bartley, W. (1968). Changes in glutathione reductase and glutathione peroxidase activities in rat liver related to age and sex. *Biochemical Journal*, *109*(3), 34P.
- Piomelli, S., & Seaman, C. (1993). Mechanism of red blood cell aging: relationship of cell density and cell age. *American Journal of Hematology*, *42*(1), 46–52.
- Pluncevic Gligoroska, J., Gontarev, S., Manchevska, S., Efremovska, Lj., Shukova Stojmanovska, D., & Maleska Ivanovska, V. (2020). Red blood cell variables, their inter-correlations and correlations with body mass components in boys aged 10-17 years. *Turkish Journal of Pediatrics*, *62*(1), 63-60.
- Pograjc, L., Stibilj, V., & Falnoga, I. (2012). Impact of Intensive Physical Activity on Selenium Status. *Biological Trace Element Research*, *145*(3), 291–299.
- Porta, J., Galiano, D., Tejedó, A., & González, J. M. (1993). Valoración de la composición corporal. Utopías y realidades. In F. Esparza Ros (Ed.), *Manual de Cineantropometría*. (pp. 113–170). Grupo Español de Cineantropometría.
- Potgieter, S. (2013). Sport nutrition: A review of the latest guidelines for exercise and sport nutrition from the American College of Sport Nutrition, the International Olympic Committee and the International Society for Sports Nutrition. *South African Journal of Clinical Nutrition*, *26*(1), 6–16.
- Powers, S. K., & Hamilton, K. (1999). Antioxidants and exercise. *Clinics in Sports*

- Medicine*, 18(3), 525–536.
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243–1276.
- Pradas, F., De la Torre, A., Carrasco, L., Muñoz, D., Courel-Ibáñez, J., & González-Jurado, J. A. (2021). Anthropometric Profiles in Table Tennis Players: Analysis of Sex, Age, and Ranking. *Applied Sciences*, 11(2), 876.
- Pradas, F., García-Giménez, A., Toro-Román, V., Ochiana, N., & Castellar, C. (2021). Gender Differences in Neuromuscular, Haematological and Urinary Responses during Padel Matches. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 5864.
- Pradas, F., García-Giménez, A., Toro-Román, V., Sánchez-Alcaraz, B. J., Ochiana, N., & Castellar, C. (2020). Effect of a padel match on biochemical and haematological parameters in professional players with regard to gender-related differences. *Sustainability*, 12(20), 8633.
- Prado, E. L., & Dewey, K. G. (2014). Nutrition and brain development in early life. *Nutrition Reviews*, 72(4), 267–284.
- Prasad, A. (1985). Laboratory diagnosis of zinc deficiency. *Journal of the American College of Nutrition*, 4(6), 591–598.
- Prasad, A. (2009). Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 12(6), 646–652.
- Prasad, A. S. (2017). Discovery of Zinc for Human Health and Biomarkers of Zinc Deficiency. In *Molecular, Genetic, and Nutritional Aspects of Major and Trace Minerals* (pp. 241–260). Elsevier.
- Prohaska, J. (1987). Functions of trace elements in brain metabolism. *Physiological Reviews*, 67(3), 858–901.
- Radak, Z. (2000). *Free radicals in exercise and aging*. Human kinetics.
- Rahil-Khazen, R., Bolann, B. J., & Ulvik, R. J. (2000). Trace element reference values in serum determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry.

Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, 38(8), 765-772

- Rajagopalan, K. V. (1984). *Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements* (E. Frieden (ed.)). Plenum Press.
- Rakhra, G., Masih, D., Vats, A., Verma, S. K., Singh, V. K., Rana, R. T., Kirar, V., & Singh, S. N. (2017). Effect of physical activity and age on plasma copper, zinc, iron, and magnesium concentration in physically active healthy males. *Nutrition*, 43–44, 75–82.
- Ramírez-Campillo, R., Vergara-Pedrerros, M., Henríquez-Olguín, C., Martínez-Salazar, C., Alvarez, C., Nakamura, F. Y., De La Fuente, C. I., Caniuqueo, A., Alonso-Martinez, A. M., & Izquierdo, M. (2016). Effects of plyometric training on maximal-intensity exercise and endurance in male and female soccer players. *Journal of Sports Sciences*, 34(8), 687–693.
- Ramírez Balas, A. (2014). *Efectos de las fases del ciclo menstrual sobre la condición física, parámetros fisiológicos y psicológicos en mujeres jóvenes moderadamente entrenadas*. Universidad de Extremadura.
- Reilly, T., Secher, N., Snell, P., & Williams, C. (1990). Physiology of sports: An overview. In T. Reilly, N. Secher, P. Snell, & C. Williams (Eds.), *Physiology of sports*. Routledge, London.
- Reinke, S., Taylor, W. R., Duda, G. N., Von Haehling, S., Reinke, P., Volk, H.-D., Anker, S. D., & Doehner, W. (2012). Absolute and functional iron deficiency in professional athletes during training and recovery. *International Journal of Cardiology*, 156(2), 186–191.
- Requena, B., García, I., Suárez-Arrones, L., Saez de Villarreal, E., Naranjo Orellana, J., & Santalla, A. (2017). Off-season effects on functional performance, body composition, and blood parameters in top-level professional soccer players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 31(4), 939–946.
- Resina, A., Gatteschi, L., Giamberardino, M. A., Imreh, F., Rubenni, M. G., & Vecchiet, L. (1991). Hematological comparison of iron status in trained top-level soccer players and control subjects. *International Journal of Sports Medicine*, 12(05), 453–456.

- Richardson, J., & Drake, P. (1979). The effects of zinc on fatigue of striated muscle. *Journal of Sports Medicine & Physical Fitness*, 19(2), 133–134.
- Robinson, M. F., Thomson, C. D., & Huemmer, P. K. (1985). Effect of a megadose of ascorbic acid, a meal and orange juice on the absorption of selenium as sodium selenite. *The New Zealand Medical Journal*, 98(784), 627–629.
- Robinson, M., McKenzie, J., Thompson, C., & Van Rij, A. (1973). Metabolic balance of zinc, copper, cadmium, iron, molybdenum and selenium in young New Zealand women. *British Journal of Nutrition*, 30(2), 195–205.
- Robinson, N., & Winge, D. (2010). Copper metallochaperones. *Annual Review of Biochemistry*, 79, 537.
- Rodríguez-Rosell, D., Mora-Custodio, R., Franco-Márquez, F., Yáñez-García, J. M., & González-Badillo, J. J. (2017). Traditional vs. sport-specific vertical jump tests: reliability, validity, and relationship with the legs strength and sprint performance in adult and teen soccer and basketball players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 31(1), 196–206.
- Rodríguez, E., & Díaz R, C. (1995). Iron, copper and zinc levels in urine: relationship to various individual factors. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 9(4), 200–209.
- Rodriguez Tuya, I., Pinilla Gil, E., Maynar Mariño, M., García-Moncó Carra, R. M., & Sánchez Misiego, A. (1996). Evaluation of the influence of physical activity on the plasma concentrations of several trace metals. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 73(3–4), 299–303.
- Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., & Schulin, R. (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 18(2), 144.
- Rosoff, B., & Spencer, H. (1964). Fate of molybdenum-99 in man. *Nature*, 202(4930), 410–411.
- Ross, A. C., Caballero, B., Cousins, R. J., & Tucker, K. L. (2020). *Modern nutrition in health and disease*. Jones & Bartlett Learning.
- Rotruck, J., Hoekstra, W., & Pope, A. (1971). Glucose-dependent protection by dietary

- selenium against haemolysis of rat erythrocytes in vitro. *Nature New Biology*, 231(24), 223–224.
- Rovenko, B. M., Perkhulyn, N. V., Lushchak, V., Storey, J. M., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2014). Molybdate partly mimics insulin-promoted metabolic effects in *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 165, 76–82.
- Russell, R. M., Beard, J. L., Cousins, R. J., Dunn, J. T., Ferland, G., Hambidge, K. M., Lynch, S., Penland, J. G., Ross, A. C., & Stoecker, B. J. (2001). *Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc* (Institute of Medicine (US) (ed.)). National Academies Press (US).
- Ryan, B. J., Charkoudian, N., & McClung, J. P. (2022). Consider iron status when making sex comparisons in human physiology. *Journal of Applied Physiology*, 132(3), 699–702.
- Saidi, K., Abderrahman, A. Ben, Hackney, A. C., Bideau, B., Zouita, S., Granacher, U., & Zouhal, H. (2021). Hematology, hormones, inflammation, and muscle damage in elite and professional soccer players: a systematic review with implications for exercise. *Sports Medicine*, 51(12), 2607–2627.
- Saidi, K., Zouhal, H., Rhibi, F., Tijani, J. M., Boullosa, D., Chebbi, A., Hackney, A. C., Granacher, U., Bideau, B., & Ben Abderrahman, A. (2019). Effects of a six-week period of congested match play on plasma volume variations, hematological parameters, training workload and physical fitness in elite soccer players. *PLoS One*, 14(7), e0219692.
- Sale, C., & Elliott-Sale, K. J. (2019). Nutrition and athlete bone health. *Sports Medicine*, 49(2), 139–151.
- Saltin, B. (1973). Metabolic fundamentals in exercise. *Medicine and Science in Sports*, 5(3), 137–146.
- Sandström, G., Börjesson, M., & Rödger, S. (2012). Iron deficiency in adolescent female athletes—is iron status affected by regular sporting activity? *Clinical Journal of Sport Medicine*, 22(6), 495–500.

- Santisteban, K. J., Lovering, A. T., Halliwill, J. R., & Minson, C. T. (2022). Sex Differences in VO₂max and the Impact on Endurance-Exercise Performance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(9), 4946.
- Sardesai, V. M. (1993). Molybdenum: An Essential Trace Element. *Nutrition in Clinical Practice*, 8(6), 277–281.
- Savarino, G., Corsello, A., & Corsello, G. (2021). Macronutrient balance and micronutrient amounts through growth and development. *Italian Journal of Pediatrics*, 47(1), 1–14.
- Savory, J., & Wills, M. R. (1992). Trace metals: Essential nutrients or toxins. *Clinical Chemistry*, 38(8 Part 2), 1565–1573.
- Sawka, M. N., & Montain, S. J. (2000). Fluid and electrolyte supplementation for exercise heat stress. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2), 564s-572s.
- Sayers, S. P., Harackiewicz, D. V, Harman, E. A., Frykman, P. N., & Rosenstein, M. T. (1999). Cross-validation of three jump power equations. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 31(4), 572–577.
- Schomburg, L., Riese, C., Renko, K., & Schweizer, U. (2007). *Effect of age on sexually dimorphic selenoprotein expression in mice.*
- Schramm, V. L. (1982). Metabolic regulation: could Mn²⁺ be involved? *Trends in Biochemical Sciences*, 7(10), 369–371.
- Schrauzer, G. N. (2000). Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *The Journal of Nutrition*, 130(7), 1653–1656.
- Schroeder, H. A., Balassa, J. J., & Tipton, I. H. (1970). Essential trace metals in man: molybdenum. *Journal of Chronic Diseases*, 23(7), 481–499.
- Schuhmacher, M., Domingo, J. L., & Corbella, J. (1994). Zinc and copper levels in serum and urine: relationship to biological, habitual and environmental factors. *Science of the Total Environment*, 148(1), 67–72.
- Schumacher, Y. O., Schmid, A., Grathwohl, D., Bültermann, D., & Berg, A. (2002). Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performances. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 34(5), 869–875.

- Schwarz, G., & Belaidi, A. (2013). Molybdenum in Human Health and Disease. In *Metal ions in life sciences* (Vol. 13, pp. 415–450).
- Schwarz, G., Mendel, R., & Ribbe, M. (2009). Molybdenum cofactors, enzymes and pathways. *Nature*, *460*(7257), 839.
- Schwarz, Guenter. (2016). Molybdenum cofactor and human disease. *Current Opinion in Chemical Biology*, *31*, 179–187.
- Seale, L. A., Ogawa-Wong, A. N., & Berry, M. J. (2018). Sexual dimorphism in selenium metabolism and selenoproteins. *Free Radical Biology and Medicine*, *127*, 198–205.
- Sekler, I., Sensi, S. L., Hershinkel, M., & Silverman, W. F. (2007). Mechanism and regulation of cellular zinc transport. *Molecular Medicine*, *13*(7), 337–343.
- Sepúlveda, M. R., Wuytack, F., & Mata, A. M. (2012). High levels of Mn^{2+} inhibit secretory pathway Ca^{2+}/Mn^{2+} -ATPase (SPCA) activity and cause Golgi fragmentation in neurons and glia. *Journal of Neurochemistry*, *123*(5), 824–836.
- Sesana, G., Baj, A., Toffoletto, F., Sega, R., & Ghezzi, L. (1992). Plasma selenium levels of the general population of an area in northern Italy. *Science of the Total Environment*, *120*(1–2), 97–102.
- Seve, M., Chimienti, F., & Favier, A. (2002). Role of intracellular zinc in programmed cell death. *Pathologie-Biologie*, *50*(3), 212–221.
- Shahid, M., Niazi, N. K., Khalid, S., Murtaza, B., Bibi, I., & Rashid, M. I. (2018). A critical review of selenium biogeochemical behavior in soil-plant system with an inference to human health. *Environmental Pollution*, *234*, 915–934.
- Shenkin, A. (2006). Micronutrients in health and disease. *Postgraduate Medical Journal*, *82*(971), 559–567.
- Shephard, R. J., & Leatt, P. (1987). Carbohydrate and fluid needs of the soccer player. *Sports Medicine*, *4*(3), 164–176.
- Shergill-Bonner, R. (2017). Micronutrients. *Paediatrics and Child Health*, *27*(8), 357–362.
- Sherwood, R. A., Pippard, M. J., & Peters, T. J. (1998). Iron homeostasis and the assessment of iron status. *Annals of Clinical Biochemistry*, *35*(6), 693–708.

- Silbergeld, E. K., & Flaws, J. A. (1999). Chemicals and menopause: effects on age at menopause and on health status in the postmenopausal period. *Journal of Women's Health, 8*(2), 227–234.
- Silva, A., Santhiago, V., Papoti, M., & Gobatto, C. A. (2008). Hematological parameters and anaerobic threshold in Brazilian soccer players throughout a training program. *International Journal of Laboratory Hematology, 30*(2), 158–166.
- Silva, J., Rebelo, A., Marques, F., Pereira, L., Seabra, A., Ascensão, A., & Magalhães, J. (2014). Biochemical impact of soccer: an analysis of hormonal, muscle damage, and redox markers during the season. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism, 39*(4), 432–438.
- Silva, R., Vilaça, A., Guerra, F. D., Mundim, A. V., De Agostini, G. G., De Abreu, L. C., Zhiguo, Z., Sorpreso, I. C., Valenti, V. E., & Penha-Silva, N. (2020). Sex differences in physiological stress induced by a long-lasting adventure race: a prospective observational analytical study. *Sportverletzung· Sportschaden, 34*(02), 84–95.
- Silvestre, R., Kraemer, W. J., West, C., Judelson, D. A., Spiering, B. A., Vingren, J. L., Hatfield, D. L., Anderson, J. M., & Maresh, C. M. (2006). Body composition and physical performance during a National Collegiate Athletic Association Division I men's soccer season. *Journal of Strength and Conditioning Research, 20*(4), 962.
- Sim, M., Garvican-Lewis, L. A., Cox, G. R., Govus, A., McKay, A. K. A., Stellingwerff, T., & Peeling, P. (2019). Iron considerations for the athlete: a narrative review. *European Journal of Applied Physiology, 119*(7), 1463–1478.
- Sinclair, L. M., & Hinton, P. S. (2005). Prevalence of iron deficiency with and without anemia in recreationally active men and women. *Journal of the American Dietetic Association, 105*(6), 975–978.
- Singh, A., Deuster, P. A., & Moser, P. B. (1990). Zinc and copper status in women by physical activity and menstrual status. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness, 30*(1), 29–36.
- Singh, A., Evans, P., Gallagher, K., & Deuster, P. (1993). Dietary intakes and biochemical profiles of nutritional status of ultramarathoners. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 25*(3), 328–334.

- Siquier-Coll, J., Bartolomé, I., Perez-Quintero, M., Grijota, F. J., Arroyo, J., Muñoz, D., & Maynar-Mariño, M. (2019). Serum, erythrocyte and urinary concentrations of iron, copper, selenium and zinc do not change during an incremental test to exhaustion in either normothermic or hyperthermic conditions. *Journal of Thermal Biology*, 102425.
- Siquier-Coll, J., Bartolomé, I., Pérez-Quintero, M., Muñoz, D., Robles, M. C., & Maynar-Mariño, M. (2020). Influence of a high-temperature programme on serum, urinary and sweat levels of selenium and zinc. *Journal of Thermal Biology*, 88, 102492.
- Slimani, M., Znazen, H., Miarka, B., & Bragazzi, N. L. (2019). Maximum oxygen uptake of male soccer players according to their competitive level, playing position and age group: implication from a network meta-analysis. *Journal of Human Kinetics*, 66(1), 233–245.
- Smith, A., Chang, M., & Medeiros, L. (2000). Generational differences in selenium status of women. *Biological Trace Element Research*, 75(1), 157–165.
- Smith, J. C., Holbrook, J. T., & Danford, D. E. (1985). Analysis and evaluation of zinc and copper in human plasma and serum. *Journal of the American College of Nutrition*, 4(6), 627–638.
- Soldin, O. P., & Mattison, D. R. (2009). Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clinical Pharmacokinetics*, 48(3), 143–157.
- Solomons, N. W. (1979). On the assessment of zinc and copper nutriture in man. *American Journal of Clinical Nutrition (USA)*, 32, 856–871.
- Soria, M., Gonzalez-Haro, C., Anson, M., Lopez-Colon, J. L., & Escanero, J. F. (2015). Plasma levels of trace elements and exercise induced stress hormones in well-trained athletes. *Journal of Trace Elements in Medicine & Biology*, 31, 113–119.
- Sousa, M., Fernandes, M. J., Carvalho, P., Soares, J., Moreira, P., & Teixeira, V. H. (2016). Nutritional supplements use in high-performance athletes is related with lower nutritional inadequacy from food. *Journal of Sport and Health Science*, 5(3), 368–374.
- Sparling, P. B. (1980). A meta-analysis of studies comparing maximal oxygen uptake in men and women. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 51(3), 542–552.

- Spehnyak, M., Gušić, M., Molnar, S., Baić, M., Andrašić, S., Selimi, M., Mačak, D., Madić, D. M., Žilić Fišer, S., & Sporiš, G. (2021). Body composition in elite soccer players from youth to senior squad. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(9), 4982.
- Speich, M., Pineau, A., & Ballereau, F. (2001). Minerals, trace elements and related biological variables in athletes and during physical activity. *Clinica Chimica Acta*, *312*(1–2), 1–11.
- Steffl, M., Kinkorova, I., Kokstejn, J., & Petr, M. (2019). Macronutrient intake in soccer players—A meta-analysis. *Nutrients*, *11*(6), 1305.
- Steinbrenner, H., & Sies, H. (2013). Selenium homeostasis and antioxidant selenoproteins in brain: implications for disorders in the central nervous system. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *536*(2), 152–157.
- Stewart, J. G., Ahlquist, D., McGill, D. B., Ilstrup, D. M., Schwartz, S., & Owen, R. A. (1984). Gastrointestinal blood loss and anemia in runners. *Annals of Internal Medicine*, *100*(6), 843–845.
- Stoedter, M., Renko, K., Hög, A., & Schomburg, L. (2010). Selenium controls the sex-specific immune response and selenoprotein expression during the acute-phase response in mice. *Biochemical Journal*, *429*(1), 43–51.
- Stølen, T., Chamari, K., Castagna, C., & Wisløff, U. (2005). Physiology of soccer. *Sports Medicine*, *35*(6), 501–536.
- Strause, L., Saltman, P., & Glowacki, J. (1987). The effect of deficiencies of manganese and copper on osteoinduction and on resorption of bone particles in rats. *Calcified Tissue International*, *41*(3), 145–150.
- Sundararajan, S., & Rabe, H. (2021). Prevention of iron deficiency anemia in infants and toddlers. *Pediatric Research*, *89*(1), 63–73.
- Szygula, Z. (1990). Erythrocytic system under the influence of physical exercise and training. *Sports Medicine*, *10*(3), 181–197.
- Taketomi, S., Kawaguchi, K., Mizutani, Y., Yamagami, R., Sameshima, S., Takei, S., Kono, K., Inui, H., Tanaka, S., & Haga, N. (2021). Anthropometric and musculoskeletal gender differences in young soccer players. *The Journal of Sports*

- Medicine and Physical Fitness*, 61(9), 1212–1218.
- Tako, E. (2019). Dietary trace minerals. In *Nutrients* (Vol. 11, Issue 11, p. 2823). MDPI.
- Tapiero, H., & Tew, K. (2003). Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(9), 399–411.
- Tapiero, H., Townsend, D., & Tew, K. D. (2003). Trace elements in human physiology and pathology. Copper. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(9), 386–398.
- Teixeira, V., Valente, H., Casal, S., Marques, F., & Moreira, P. (2009). Antioxidant status, oxidative stress, and damage in elite trained kayakers and canoeists and sedentary controls. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 19(5), 443–456.
- Telford, R., & Cunningham, R. (1991). Sex, sport, and body-size dependency of hematology in highly trained athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 23(7), 788–794.
- Terink, R., Ten Haaf, D., Bongers, C. W. G., Balvers, M. G. J., Witkamp, R. F., Mensink, M., Eijsvogels, T. M. H., Gunnewiek, J. M. T. K., & Hopman, M. T. E. (2018). Changes in iron metabolism during prolonged repeated walking exercise in middle-aged men and women. *European Journal of Applied Physiology*, 118(11), 2349–2357.
- Terjung, R. L., Winder, W. W., Baldwin, K. M., & Holloszy, J. O. (1973). Effect of exercise on the turnover of cytochrome c in skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 248(21), 7404–7406.
- Tessier, F., Margaritis, I., Richard, M.-J., Moynot, C., & Marconnet, P. (1995). Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(3), 390–396.
- Theil, E. C., Chen, H., Miranda, C., Janser, H., Elsenhans, B., Núñez, M. T., Pizarro, F., & Schümann, K. (2012). Absorption of iron from ferritin is independent of heme iron and ferrous salts in women and rat intestinal segments. *The Journal of Nutrition*, 142(3), 478–483.
- Thirup, P. (2003). Haematocrit. *Sports Medicine*, 33(3), 231–243.

- Thomas, D. T., Erdman, K. A., & Burke, L. M. (2016). Nutrition and athletic performance. *Medicine & Science in Sports and Exercise*, *48*, 543–568.
- Thomson, C. (2004a). Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *European Journal of Clinical Nutrition*, *58*(3), 391–402.
- Thomson, C. (2004b). Selenium and iodine intakes and status in New Zealand and Australia. *British Journal of Nutrition*, *91*(5), 661–672.
- Tipton, K., & Wolfe, R. (2004). Protein and amino acids for athletes. *Food, Nutrition and Sports Performance II*, 104–129.
- Tipton, K., Green, N. R., Haymes, E. M., & Waller, M. (1993). Zinc loss in sweat of athletes exercising in hot and neutral temperatures. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, *3*(3), 261–271.
- Ton, V.-K., Mandal, D., Vahadji, C., & Rao, R. (2002). Functional expression in yeast of the human secretory pathway Ca²⁺, Mn²⁺-ATPase defective in Hailey-Hailey disease. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(8), 6422–6427.
- Toro-Román, V., Bartolomé, I., Siquier-Coll, J., Robles-Gil, M. C., Muñoz, D., & Maynar-Mariño, M. (2022). Analysis of Intracellular and Extracellular Selenium Concentrations: Differences According to Training Level. *Nutrients*, *14*(9), 1857.
- Toro-Román, V., Robles-Gil, M. C., Muñoz, D., Bartolomé, I., Siquier-Coll, J., & Maynar-Mariño, M. (2022). Extracellular and Intracellular Concentrations of Molybdenum and Zinc in Soccer Players: Sex Differences. *Biology*, *11*(12), 1710.
- Toro-Román, V., Siquier-Coll, J., Bartolomé, I., Grijota, F. J., Muñoz, D., & Maynar-Mariño, M. (2021). Copper concentration in erythrocytes, platelets, plasma, serum and urine: influence of physical training. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, *18*(28), 1–8.
- Toro-Román, V., Siquier-Coll, J., Bartolomé, I., Grijota, F. J., Muñoz, D., & Maynar-Mariño, M. (2022). Influence of physical training on intracellular and extracellular zinc concentrations. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, *19*(1), 110–125.
- Turcotte, L. P., Kiens, B., & Richter, E. A. (1991). Saturation kinetics of palmitate uptake in perfused skeletal muscle. *FEBS Letters*, *279*(2), 327–329.

- Turnlund, J., Keyes, W., & Peiffer, G. (1995). Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(4), 790–796.
- Turnlund, J., Keyes, W., Peiffer, G., & Scott, K. (1998). Copper absorption, excretion, and retention by young men consuming low dietary copper determined by using the stable isotope ^{65}Cu . *The American Journal of Clinical Nutrition*, 67(6), 1219–1225.
- Turnlund, J., King, J., Keyes, W., Gong, B., & Michel, M. (1984). A stable isotope study of zinc absorption in young men: effects of phytate and α -cellulose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 40(5), 1071–1077.
- Urbano, T., Filippini, T., Lasagni, D., De Luca, T., Sucato, S., Polledri, E., Bruzziches, F., Malavolti, M., Baraldi, C., & Santachiara, A. (2021). Associations between urinary and dietary selenium and blood metabolic parameters in a healthy northern Italy population. *Antioxidants*, 10(8), 1193.
- Uriu-Adams, J. Y., & Keen, C. L. (2005). Copper, oxidative stress, and human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4–5), 268–298.
- Vahter, M., Åkesson, A., Liden, C., Ceccatelli, S., & Berglund, M. (2007). Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environmental Research*, 104(1), 85–95.
- Valentine, J. S., Pantoliano, M. W., McDonnell, P. J., Burger, A. R., & Lippard, S. J. (1979). pH-dependent migration of copper (II) to the vacant zinc-binding site of zinc-free bovine erythrocyte superoxide dismutase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(9), 4245–4249.
- Vallee, B. L., & Falchuk, K. H. (1993). The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews*, 73(1), 79–118.
- Vallee, B. L., & Gibson, J. G. (1948). The zinc content of normal human whole blood, plasma, leucocytes, and erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 176, 445–457.
- Van Loan, M. D., Sutherland, B., Lowe, N. M., Turnlund, J. R., & King, J. C. (1999). The effects of zinc depletion on peak force and total work of knee and shoulder extensor and flexor muscles. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise*

- Metabolism*, 9(2), 125–135.
- Van Wouwe, J. P., Veldhuizen, M., De Goeij, J. J. M., & Van den Hamer, C. J. A. (1990). In vitro exchangeable erythrocytic zinc. *Biological Trace Element Research*, 25(1), 57–69.
- Vandevijvere, S., Michels, N., Verstraete, S., Ferrari, M., Leclercq, C., Cuenca-García, M., Grammatikaki, E., Manios, Y., Gottrand, F., & Santamaría, J. V. (2013). Intake and dietary sources of haem and non-haem iron among European adolescents and their association with iron status and different lifestyle and socio-economic factors. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67(7), 765–772.
- Vendeland, S. C., Deagen, J. T., Butler, J. A., & Whanger, P. D. (1994). Uptake of selenite, selenomethionine and selenate by brush border membrane vesicles isolated from rat small intestine. *Biometals*, 7(4), 305–312.
- Ventura, M., Melo, M., & Carrilho, F. (2017). Selenium and thyroid disease: from pathophysiology to treatment. *International Journal of Endocrinology*, 2017.
- Verlinden, M., Van Sprundel, M., Van der Auwera, J. C., & Eylenbosch, W. J. (1983). The selenium status of Belgian population groups: I. Healthy adults. *Biological Trace Element Research*, 5(2), 91–102.
- Vermeulen, T. F., Boyd, L. A., & Spriet, L. L. (2021). Dietary macronutrient and micronutrient intake over a 7-day period in female varsity ice hockey players. *Nutrients*, 13(7), 2262.
- Versieck, J., Hoste, J., Barbier, F., Vanballenberghe, L., De Rudder, J., & Cornelis, R. (1978). Determination of molybdenum in human serum by neutron activation analysis. *Clinica Chimica Acta*, 87(1), 135–140.
- Volpe, S. L. (2007). Micronutrient requirements for athletes. *Clinics in Sports Medicine*, 26(1), 119–130.
- Vulpe, C. D., Kuo, Y.-M., Murphy, T. L., Cowley, L., Askwith, C., Libina, N., Gitschier, J., & Anderson, G. J. (1999). Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nature Genetics*, 21(2), 195–199.
- Vyskočil, A., & Viau, C. (1999). Assessment of molybdenum toxicity in humans. *Journal*

- of Applied Toxicology*, 19(3), 185–192.
- Wadley, G. D., Nicolas, M. A., Hiam, D. S., & Mcconell, G. K. (2013). Xanthine oxidase inhibition attenuates skeletal muscle signaling following acute exercise but does not impair mitochondrial adaptations to endurance training. *American Journal of Physiology-Endocrinol & Metabolism*, 304, 853–862.
- Wai, K. M., Sawada, K., Kumagai, M., Itai, K., Tokuda, I., Murashita, K., Nakaji, S., & Ihara, K. (2020). Relationship between selected trace elements and hematological parameters among Japanese community dwellers. *Nutrients*, 12(6), 1615.
- Walker, A. J., McFadden, B. A., Sanders, D. J., Rabideau, M. M., Hofacker, M. L., & Arent, S. M. (2019). Biomarker response to a competitive season in division I female soccer players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 33(10), 2622–2628.
- Wang, C., Zhang, C., & Xing, X. (2016). Xanthine dehydrogenase: an old enzyme with new knowledge and prospects. *Bioengineered*, 7(6), 395–405.
- Wang, D., Du, X., & Zheng, W. (2008). Alteration of saliva and serum concentrations of manganese, copper, zinc, cadmium and lead among career welders. *Toxicology Letters*, 176(1), 40–47.
- Wang, J., & Pantopoulos, K. (2011). Regulation of cellular iron metabolism. *Biochemical Journal*, 434(3), 365–381.
- Wang, L., Zhang, J., Wang, J., He, W., & Huang, H. (2012). Effects of high-intensity training and resumed training on macroelement and microelement of elite basketball athletes. *Biological Trace Element Research*, 149(2), 148–154.
- Wardenaar, F., Brinkmans, N., Ceelen, I., Van Rooij, B., Mensink, M., Witkamp, R., & De Vries, J. (2017). Micronutrient intakes in 553 Dutch elite and sub-elite athletes: prevalence of low and high intakes in users and non-users of nutritional supplements. *Nutrients*, 9(2), 142.
- Wardenaar, F., Ceelen, I. J. M., Van Dijk, J.-W., Hangelbroek, R. W. J., Van Roy, L., Van der Pouw, B., De Vries, J. H. M., Mensink, M., & Witkamp, R. F. (2017). Nutritional supplement use by Dutch elite and sub-elite athletes: does receiving dietary counseling make a difference? *International Journal of Sport Nutrition and*

- Exercise Metabolism*, 27(1), 32–42.
- Wastney, M. E., Aamodt, R. L., Rumble, W. F., & Henkin, R. I. (1986). Kinetic analysis of zinc metabolism and its regulation in normal humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 251(2), R398–R408.
- Weaver, C. M., & Rajaram, S. (1992). Exercise and Iron Status. *The Journal of Nutrition*, 122(suppl_3), 782–787.
- Weber, C. L., Chia, M., & Inbar, O. (2006). Gender differences in anaerobic power of the arms and legs—a scaling issue. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38(1), 129–137.
- Weigand, E., Kirchgessner, M., & Helbig, U. (1986). True absorption and endogenous fecal excretion of manganese in relation to its dietary supply in growing rats. *Biological Trace Element Research*, 10(4), 265–279.
- Weight, L. M., Byrne, M. J., & Jacobs, P. (1991). Haemolytic effects of exercise. *Clinical Science*, 81(2), 147–152.
- Weiss, L. (1965). The structure of bone marrow. Functional interrelationships of vascular and hematopoietic compartments in experimental hemolytic anemia: an electron microscopic study. *Journal of Morphology*, 117(3), 467–537.
- Wellinghausen, N., & Rink, L. (1998). The significance of zinc for leukocyte biology. *Journal of Leukocyte Biology*, 64(5), 571–577.
- Wessling-Resnick, M. (2010). Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annual Review of Nutrition*, 30, 105–122.
- Whiting, S. J. (1995). The inhibitory effect of dietary calcium on iron bioavailability: a cause for concern? *Nutrition Reviews*, 53(3), 77–80.
- Whittaker, P. (1998). Iron and zinc interactions in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68(2), 442S–446S.
- Wieringa, F. T., Berger, J., Dijkhuizen, M. A., Hidayat, A., Ninh, N. X., Utomo, B., Wasantwisut, E., & Winichagoon, P. (2007). Sex differences in prevalence of anaemia and iron deficiency in infancy in a large multi-country trial in South-East

- Asia. *British Journal of Nutrition*, 98(5), 1070–1076.
- Wieringa, F. T., Dijkhuizen, M. A., Fiorentino, M., Laillou, A., & Berger, J. (2015). Determination of zinc status in humans: which indicator should we use? *Nutrients*, 7(5), 3252–3263.
- Wilkinson, N., & Pantopoulos, K. (2014). The IRP/IRE system in vivo: insights from mouse models. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 176.
- Williams, R. J. P., & Da Silva, J. J. R. F. (2002). The involvement of molybdenum in life. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 292(2), 293–299.
- Willis, W., Brooks, G., Henderson, S., & Dallman, P. (1987). Effects of iron deficiency and training on mitochondrial enzymes in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 62(6), 2442–2446.
- Wirth, P. L., & Linder, M. C. (1985). Distribution of copper among components of human serum. *Journal of the National Cancer Institute*, 75(2), 277–284.
- Wisloff, U., Helgerud, J. A. N., & Hoff, J. A. N. (1998). Strength and endurance of elite soccer players. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30(3), 462–467.
- Wisløff, U., Castagna, C., Helgerud, J., Jones, R., & Hoff, J. (2004). Strong correlation of maximal squat strength with sprint performance and vertical jump height in elite soccer players. *British Journal of Sports Medicine*, 38(3), 285–288.
- Wolf, G., & Wessling-Resnick, M. (1994). An integrin-mobilferrin iron transport pathway in intestine and hematopoietic cells. *Nutrition Reviews*, 52(11), 387–389.
- Wolinsky, I., & Driskell, J. (2005). *Sports nutrition: vitamins and trace elements*. CRC Press.
- Wood, R. J., & Zheng, J. J. (1997). High dietary calcium intakes reduce zinc absorption and balance in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65(6), 1803–1809.
- World Health Organization. (1996). *Trace elements in human nutrition and health* (McMillan). World Health Organization.
- World Health Organization. (2004). WHO/CDC expert consultation agrees on best indicators to assess iron deficiency, a major cause of anaemia. In *WHO*.

- Worme, J. D., Doubt, T. J., Singh, A., Ryan, C. J., Moses, F. M., & Deuster, P. A. (1990). Dietary patterns, gastrointestinal complaints, and nutrition knowledge of recreational triathletes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *51*(4), 690–697.
- Worwood, M. (2007). Indicators of the iron status of populations: free erythrocyte protoporphyrin and zinc protoporphyrin; serum and plasma iron, total iron binding capacity and transferrin saturation; and serum transferrin receptor. *Assessing the Iron Status of Populations*.
- Worwood, M. (1997). The laboratory assessment of iron status—an update. *Clinica Chimica Acta*, *259*(1–2), 3–23.
- Wragg, C. B., Maxwell, N. S., & Doust, J. H. (2000). Evaluation of the reliability and validity of a soccer-specific field test of repeated sprint ability. *European Journal of Applied Physiology*, *83*(1), 77–83.
- Yang, G., Ge, K., Chen, J., & Chen, X. (1988). Selenium-related endemic diseases and the daily selenium requirement of humans. *World Review of Nutrition and Dietetics*, *55*, 55–98.
- Yang, J., Yang, A., Cheng, N., Huang, W., Huang, P., Liu, N., & Bai, Y. (2020). Sex-specific associations of blood and urinary manganese levels with glucose levels, insulin resistance and kidney function in US adults: National health and nutrition examination survey 2011–2016. *Chemosphere*, *258*, 126940.
- Yeh, K., Yeh, M., Mims, L., & Glass, J. (2009). Iron feeding induces ferroportin 1 and hephaestin migration and interaction in rat duodenal epithelium. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, *296*(1), G55–G65.
- Yoneyama, S., Miura, K., Itai, K., Yoshita, K., Nakagawa, H., Shimmura, T., Okayama, A., Sakata, K., Saitoh, S., & Ueshima, H. (2008). Dietary intake and urinary excretion of selenium in the Japanese adult population: the INTERMAP Study Japan. *European Journal of Clinical Nutrition*, *62*(10), 1187–1193.
- Young, I., Parker, H. M., Rangan, A., Prvan, T., Cook, R. L., Donges, C. E., Steinbeck, K. S., O'Dwyer, N. J., Cheng, H. L., & Franklin, J. L. (2018). Association between haem and non-haem iron intake and serum ferritin in healthy young women. *Nutrients*, *10*(1), 81.

- Zehnder, M., Rico-Sanz, J., Kühne, G., & Boutellier, U. (2001). Resynthesis of muscle glycogen after soccer specific performance examined by ¹³C-magnetic resonance spectroscopy in elite players. *European Journal of Applied Physiology*, *84*(5), 443–447.
- Zemrani, B., & Bines, J. E. (2020). Recent insights into trace element deficiencies: causes, recognition and correction. *Current Opinion in Gastroenterology*, *36*(2), 110–117.
- Zimmermann, M. B., & Hurrell, R. F. (2007). Nutritional iron deficiency. *The Lancet*, *370*(9586), 511–520.
- Zota, A. R., Ettinger, A. S., Bouchard, M., Amarasiriwardena, C. J., Schwartz, J., Hu, H., & Wright, R. O. (2009). Maternal blood manganese levels and infant birth weight. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, *20*(3), 367.
- Zwingmann, C., Leibfritz, D., & Hazell, A. S. (2003). Energy metabolism in astrocytes and neurons treated with manganese: relation among cell-specific energy failure, glucose metabolism, and intercellular trafficking using multinuclear NMR-spectroscopic analysis. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *23*(6), 756–771.

ANEXOS

APPENDICES

8. Anexos

8.1. Aceptación comité de bioética



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN,
Y TRANSFERENCIA

Campus Universitario
Avda de Elvas s/nº
06071 BADAJOZ

Tel.: 924 28 93 05
Fax: 924 27 29 83

NºRegistro: 135//2020

D. JOÃO NUNO MEIRELES DA SILVA GONÇALVES RIBEIRO, SECRETARIO DE LA COMISIÓN DE BIOÉTICA Y BIOSEGURIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

INFORMA: Que una vez analizada por esta Comisión, en su sesión celebrada el 25/09/2020, la solicitud de Proyecto de Investigación titulado **“Concentraciones de elementos minerales traza en diferentes matrices biológicas de mujeres y hombres: influencia del ejercicio físico”**, cuyo Investigadora Principal es Dña. Mª Concepción Robles Gil, ha decidido por unanimidad, valorar positivamente el precitado proyecto por considerar que se ajusta a las normas éticas esenciales cumpliendo con la normativa vigente al efecto.

Y para que conste y surta los efectos oportunos firmo el presente informe.

MEIRELES DA
SILVA
GONCALVES
RIBEIRO JUAN
NUNO -
088446425

Firmado digitalmente por MEIRELES DA SILVA GONCALVES RIBEIRO JUAN NUNO - 088446425
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-088446425, givenName=JUAN NUNO, sn=MEIRELES DA SILVA GONCALVES RIBEIRO, cn=MEIRELES DA SILVA GONCALVES RIBEIRO JUAN NUNO - 088446425
Fecha: 2020.10.01 10:06:36 +01'00'

DE
FRANCISCO
MORCILLO
JAVIER -
28946338X

Firmado digitalmente por DE FRANCISCO MORCILLO JAVIER - 28946338X
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-28946338X, givenName=JAVIER, sn=DE FRANCISCO MORCILLO, cn=DE FRANCISCO MORCILLO JAVIER - 28946338X
Fecha: 2020.10.02 10:30:48 +02'00'

V.º B.º

Fdo.: Javier de Francisco Morcillo
Presidente por delegación de la Comisión de Bioética y Bioseguridad

8.2. *Consentimiento informado*

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto: CONCENTRACIONES DE ELEMENTOS MINERALES TRAZA EN DIFERENTES MATRICES BIOLÓGICAS DE MUJERES Y HOMBRES: INFLUENCIA DEL EJERCICIO FÍSICO (IB20152).

Participante:

Paciente ID#:

Centro: Facultad de Ciencias del Deporte (Cáceres)

Investigador:

LEA DETENIDAMENTE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO Y ASEGÚRESE QUE ENTIENDE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN. POR FAVOR SI ESTA DE ACUERDO EN PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO, FIRME ESTE DOCUMENTO. POR SU FIRMA RECONOCE QUE HA SIDO INFORMADO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PROYECTO, DE SUS REQUISITOS Y SUS RIESGOS Y QUE ACEPTA LIBREMENTE PARTICIPAR EN ÉL. UNA COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO LE SERÁ ENTREGADA.

OBJETO DEL ESTUDIO.

Ha sido invitado/a a participar en un estudio de investigación dirigido a evaluar los efectos agudos y crónicos del entrenamiento físico sobre las concentraciones de elementos de minerales traza (cobre, hierro, manganeso, molibdeno, selenio, zinc, aluminio, cadmio y plomo) en diferentes matrices (eritrocitos, plaquetas, plasma y orina) durante una temporada deportiva regular (aproximadamente 9 meses). **Este proyecto ha sido aceptado por el comité de bioética de la Universidad de Extremadura para la investigación con seres humanos (135/2020).**

Pedimos su colaboración para realizar las siguientes actividades:

- Mediciones antropométricas de peso, talla, pliegues cutáneos, diámetros óseos y perímetros musculares para obtener cálculos de Índice de Masa Corporal (IMC), Índice de Cintura-Cadera (ICC), porcentaje graso, porcentaje muscular, porcentaje óseo así como sus respectivos pesos para conocer el perfil antropométrico de cada participante en cada valoración.

- Valoraciones ergoespirométricas en tapiz rodante mediante un protocolo de esfuerzo incremental hasta la extenuación. Antes del test se realizará un calentamiento previo de 10 minutos de carrera continua. El protocolo de la prueba se basa en un incremento de la velocidad de 1 km/h cada dos minutos hasta que el participante no pueda mantener la velocidad requerida. Se obtendrán parámetros de consumo de oxígeno, ventilación pulmonar, coeficiente respiratorio y frecuencia cardíaca.

- Rellenar datos sobre la ingesta de alimentos la semana de cada evaluación.

- Rellenar un cuestionario respecto a la actividad física diaria la semana de cada evaluación.

- En chicas, rellenar un cuestionario sobre el ciclo menstrual.

- Control de la carga de entrenamiento a lo largo del estudio

- Extracción de 10 mL de sangre de la vena antecubital en cada evaluación (se realizarán un total de cuatro extracciones) para la determinación de minerales, hormonas y otros parámetros de la serie roja, daño muscular y sobreentrenamiento.

- Recogida de la primera muestra de orina del día en cada evaluación (se recogerán un total de cuatro muestras) para la determinación de elementos minerales traza y creatinina.

PROCEDIMIENTOS Y DURACIÓN DEL ESTUDIO.

Los procedimientos a los que será sometido/a serán la valoración antropométrica, valoración ergoespirométrica, extracción sanguínea, recogida de muestras de orina, registro de la ingesta de alimentos, registro de la actividad física, registro del ciclo menstrual y control del entrenamiento. La duración del proyecto será de 9 meses, durante los cuales usted nos autoriza a la obtención de las muestras en sangre y orina anteriormente citadas, además de la valoración antropométrica, valoración ergoespirométrica, análisis la ingesta de alimentos, registro de la actividad física y control de la carga de entrenamiento. La muestra que cede será utilizada exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.

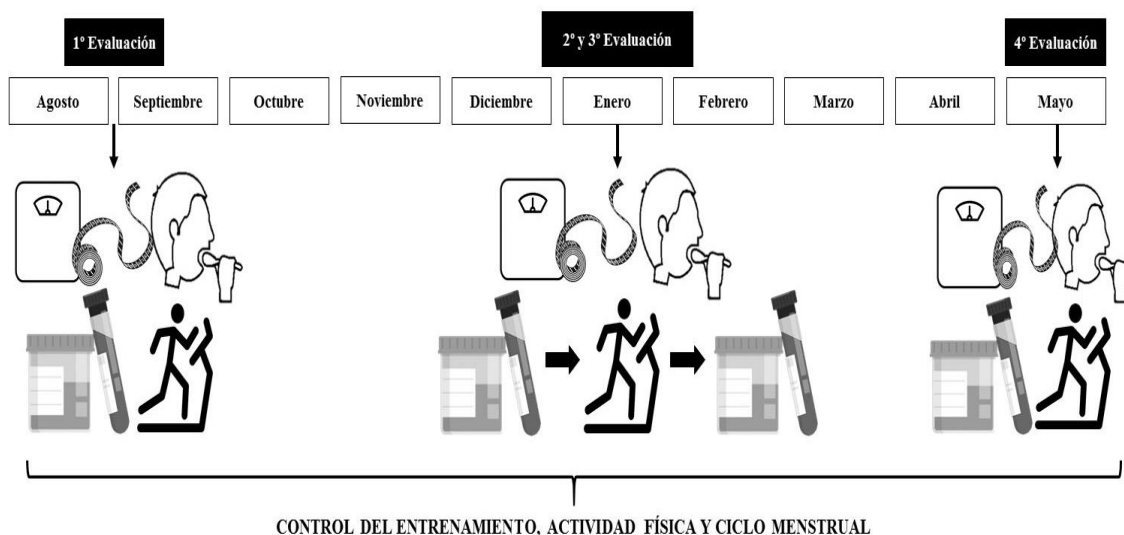


FIGURA 17. ILUSTRACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS A SEGUIR A LO LARGO DEL ESTUDIO.

RESULTADOS DEL ESTUDIO.

Al finalizar el estudio se le informará del resultado global del mismo si usted lo desea, pero NO de su resultado personal, que se tratará con total confidencialidad de acuerdo con la Declaración de Helsinki y la Ley 14/2007, de Investigación biomédica.

RIESGOS DERIVADOS DE LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.

Los riesgos asociados a la toma de muestras son mínimos. Se empleará material estéril individual y desechable a fin de eliminar los riesgos de infección y de contagio y las muestras de obtendrán por personal cualificado.

Debido a la situación sanitaria actual se respetará el protocolo COVID-19 establecido por la Facultad de Ciencias del Deporte de la Universidad de Extremadura (https://www.unex.es/conoce-la-unex/centros/ccdeporte/contenido/coronavirus#.YMr_sb4zblU).

BENEFICIOS.

La participación en el proyecto no será recompensada económicamente.

COSTES.

El coste de la extracción y procesamiento de la muestra así como los análisis posteriores serán cubiertos por el proyecto. Su participación no le supondrá ningún coste.

El investigador principal, Dra. María Concepción Robles Gil, puede ser contactado en cualquier momento en el siguiente teléfono, 679971203, a fin de recabar información acerca del proyecto y en la siguiente dirección:

Departamento de Didáctica de la Expresión Musical, Plástica y Corporal.
Laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la Facultad de Ciencias del Deporte.
Avda. de la Universidad s/n 10003 Cáceres

CONFIDENCIALIDAD DE SU MUESTRA.

De acuerdo con la normativa legal vigente, los resultados de las muestras se tratarán con total confidencialidad. El protocolo de recogida de datos será archivado, y a cada participante se le asignará una clave de tal modo que no pueda relacionarse la muestra e información obtenida con la identidad del sujeto. Las muestras serán anonimizadas, asegurando la imposibilidad de inferir su identidad, para su estudio y potencial análisis ulterior.

El investigador principal del proyecto se compromete a que la confidencialidad de los datos que se puedan obtener en dicho proyecto será escrupulosamente observada, y que los datos personales de los sujetos participantes no serán conocidos por los investigadores del proyecto. En los casos que corresponda, éstos informarán al responsable médico o a los afectados si creen que algún resultado del proyecto podría ser de su interés.

El investigador principal del proyecto se compromete a no utilizar las muestras para otros estudios diferentes a los de este proyecto y a no traspasar las muestras a otros posibles proyectos o equipos de investigación.

Para todo lo no previsto en este documento, se aplicará la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del participante y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, BOE 274 de 15 de noviembre de 2002; Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal; BOE 298 de 14 de diciembre de 1999; Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, BOE 17 de 19 de enero de 2008), sobre investigación biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica; BOE 159 de 4 de julio de 2007) y cualquier otra que resultara aplicable.

Si fuese necesario el almacenamiento de las muestras para análisis ulteriores, tal como recoge la Ley 41/2007, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del participante y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica (art. 9.3), el consentimiento escrito del participante será necesario para cada una de las actuaciones que se lleven a cabo. Acción que podrá ser ejercitada por el participante, por sus representantes, o por sus herederos si éste hubiera fallecido.

Los resultados del estudio pueden ser publicados en revistas científicas o publicaciones de carácter general. No obstante, la información concerniente a su participación será mantenida como confidencial.

Recibirá una copia de esta hoja de información y del consentimiento informado firmado por usted.

DECLARACIÓN DEL DONANTE.

He sido informado por el personal relacionado con el proyecto mencionado:

- De las ventajas e inconvenientes de este procedimiento.
- Del fin para el que se utilizarán mis muestras.
- He sido informado de que la sangre y la orina que cedo serán utilizados exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.

- Que mis muestras serán proporcionadas de forma anónima a los investigadores del proyecto.
- Que en cualquier momento puedo solicitar información genérica sobre los estudios para los que se han utilizado mis muestras.
- Que he comprendido la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas.

Usted tiene derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento. Como se menciona anteriormente, en ningún caso su decisión de no participar en el proyecto le supondrá una rebaja en la calidad asistencial por parte de su médico.

SE ME HA PROPORCIONADO COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO. ACEPTO PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO.

Nombre:.....Firma:

- **Declaración del investigador de que ha informado debidamente al participante.**

Nombre:.....Firma:

8.3. *Cuestionario sobre el ciclo menstrual*

CUESTIONARIO PERSONAL SOBRE CICLO MENSTRUAL Y ACTIVIDAD FÍSICA

Nombre y apellidos: _____ Fase del ciclo menstrual: _____ Fecha: _____

El ciclo menstrual es el periodo que comprende desde el primer día de la regla hasta el día anterior a la siguiente regla.

Conteste a las siguientes preguntas refiriéndose siempre a los 6 últimos ciclos menstruales.

- Edad de la menarquia (1ª vez que viene la regla): _____ años.
- Tu ciclo menstrual es de:

<input type="checkbox"/> 18 días	<input type="checkbox"/> 32 días
<input type="checkbox"/> 21 días	<input type="checkbox"/> 35 días
<input type="checkbox"/> 28 días	<input type="checkbox"/> 42 días
<input type="checkbox"/> 30 días	<input type="checkbox"/> otros: _____ (poner nº de días)
- Tus menstruaciones son dolorosas (dismenorrea):

<input type="checkbox"/> Nunca	<input type="checkbox"/> Hace más de 6 ciclos lo eran pero ya no
<input type="checkbox"/> Alguna vez pero sólo el primer día	<input type="checkbox"/> Alguna vez pero sólo el primer y 2º día
<input type="checkbox"/> Siempre el primer día	<input type="checkbox"/> Siempre el primer y 2º día
<input type="checkbox"/> Durante toda la menstruación	
- Si tienes dolor en tus menstruaciones, ¿qué síntomas presentas?

<input type="checkbox"/> Náuseas	<input type="checkbox"/> Tensión arterial baja (hipotensión)
<input type="checkbox"/> Trastornos intestinales (diarreas...)	<input type="checkbox"/> Dolor lumbar
<input type="checkbox"/> Dolor y debilidad en los muslos	<input type="checkbox"/> Dolor abdominal
<input type="checkbox"/> Sudoraciones	<input type="checkbox"/> Dolor de cabeza
- Entre 1 y 14 días (1 ó 2 semanas) antes de que tenga la regla tengo Síndrome de Tensión Premenstrual (S.T.P.), con los siguientes síntomas:

<input type="checkbox"/> Dolor de cabeza	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
<input type="checkbox"/> Dolor e inflamación de las mamas			
<input type="checkbox"/> Retención de líquidos, aumento de peso (sentirse hinchada)			
<input type="checkbox"/> Alteraciones del área psíquica: depresiva, mal humor, desganada...			
<input type="checkbox"/> No tengo ningún síntoma, no tengo S.T.P.			
- ¿Has tenido cese de la regla durante 2 o más ciclos menstruales consecutivos (amenorrea)?

<input type="checkbox"/> Alguna vez	<input type="checkbox"/> Nunca
-------------------------------------	--------------------------------

Si lo has tenido alguna vez en estos 6 ciclos, ¿sabes la causa?

<input type="checkbox"/> Pérdida brusca de peso	<input type="checkbox"/> Estrés físico o mental
<input type="checkbox"/> Depresión	<input type="checkbox"/> Alguna enfermedad
- Mis menstruaciones son demasiado abundantes en cantidad (hipermenorrea):

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- Mis menstruaciones son demasiado largas, 7 o más de 7 días (menorragia):

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- Mis menstruaciones son demasiado abundantes en cantidad y demasiado largas, más de 7 días:

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- Mis menstruaciones son muy escasas en cantidad (hipomenorrea):

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- Mis menstruaciones son excesivamente breves, 2 días o menos:

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- Mis menstruaciones son muy escasas en cantidad y excesivamente breves:

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- En mitad del ciclo menstrual, ¿tienes alguna vez sangrado de breve duración y cantidad variable (metrorragia)?

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- ¿Tienes ciclos de más de 35 días o retraso de 5 días en el inicio de la menstruación (oligomenorrea)?

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- ¿Tienes menstruaciones muy frecuentes en ciclos de menos de 24 días (polimenorrea)?

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- ¿Tu menstruación es de predominio nocturno (nictomenorrea), es por la noche cuándo más sangre eliminas?

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> A veces
-----------------------------	-----------------------------	----------------------------------
- ¿Utiliza algún método anticonceptivo de tipo hormonal (píldora anticonceptiva, parche dérmico, píldora del día después, óvulos vaginales...)?

<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
-----------------------------	-----------------------------

si es hormonal, señale cual: _____

8.4. Cuestionario sobre la actividad física

CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA (IPAQ)

Nos interesa conocer el tipo de actividad física que usted realiza en su vida cotidiana. Las preguntas se referirán al tiempo que destinó a estar activo/a en los últimos 7 días. Le informamos que este cuestionario es totalmente anónimo.

Muchas gracias por su colaboración

1.- Durante los últimos 7 días, ¿en cuántos realizo actividades físicas intensas tales como levantar pesos pesados, cavar, ejercicios hacer aeróbicos o andar rápido en bicicleta?	
Días por semana (indique el número)	
Ninguna actividad física intensa (pase a la pregunta 3)	<input type="checkbox"/>
2.- Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física intensa en uno de esos días?	
Indique cuántas horas por día	
Indique cuántos minutos por día	
No sabe/no está seguro	<input type="checkbox"/>
3.- Durante los últimos 7 días, ¿en cuántos días hizo actividades físicas moderadas tales como transportar pesos livianos, o andar en bicicleta a velocidad regular? No incluya caminar	
Días por semana (indicar el número)	
Ninguna actividad física moderada (pase a la pregunta 5)	<input type="checkbox"/>
4.- Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física moderada en uno de esos días?	
Indique cuántas horas por día	
Indique cuántos minutos por día	
No sabe/no está seguro	<input type="checkbox"/>
5.- Durante los últimos 7 días, ¿en cuántos días caminó por lo menos 10 minutos seguidos?	
Días por semana (indique el número)	
Ninguna caminata (pase a la pregunta 7)	<input type="checkbox"/>
6.- Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a caminar en uno de esos días?	
Indique cuántas horas por día	
Indique cuántos minutos por día	
No sabe/no está seguro	<input type="checkbox"/>
7.- Durante los últimos 7 días, ¿cuánto tiempo pasó sentado durante un día hábil?	
Indique cuántas horas por día	
Indique cuántos minutos por día	
No sabe/no está seguro	<input type="checkbox"/>

8.5. *Formulario ingesta nutricional*

NOMBRE:		
DÍA Y FECHA		
COMIDA		
ALIMENTO		CANTIDAD (en gramos)
CEREALES Y DERIVADOS		
Arroz		
Bollería (a)		
Cruasanes (a)		
Magdalenas (a)		30
Sobaos (a)		
Galletas (a)		
Galleta cubierta de chocolate		
Galletas «María» (Cuétara)		
Harina de maíz		
Maíz cocido desgranado		
Harina de trigo		
«Com flakes» (Kellogg's)		
«All-bran» (Kellogg's)		
Soja seca		
Quinoa		30
Pan de semillas (centeno)		
Pan blanco		
Pan blanco de molde (Bimbo)		
Pan integral		
Avena		
Pasta (fideos, macarrones, etc.)		
LECHE Y DERIVADOS		
Leche de vaca		
Leche de vaca semidesnatada (Pascual)		
Leche de vaca desnatada		
Leche concentrada		
Leche condensada		
Leche en polvo		
Leche en polvo desengrasada		
Leche de cabra		
Leche de almendra		
Nata		
Queso de bola		
+ ☰	DESAYUNO ▾	MEDIA MAÑANA ▾
	COMIDA ▾	MERIENDA ▾
	CENA ▾	OTRA 1 ▾
		OTRA 2 ▾