

**UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA  
FACULTAD DE CIENCIAS DEL DEPORTE**

**Departamento de Fisiología**



**INFLUENCIA DEL EJERCICIO FÍSICO EN LOS  
NIVELES ERITROCITARIOS DE ELEMENTOS  
MINERALES TRAZA**

Memoria que presenta Francisco Javier Grijota Pérez para  
optar al grado de *Doctor por la Universidad de Extremadura*.

**Cáceres, Noviembre de 2015**



**UNIVERSITY OF EXTREMADURA**  
**SPORTS SCIENCE FACULTY**  
**Department of Physiology**



**INFLUENCE OF PHYSICAL EXERCISE IN**  
**ERYTHROCYTE LEVELS OF MINERAL TRACE**  
**ELEMENTS**

**Report presented for PhD degree in Sport Sciences by**

**FRANCISCO JAVIER GRIJOTA PÉREZ**

**Cáceres, November 2015**



***“No hay nada más poderoso que una idea  
a la que le ha llegado su tiempo”***

***Víctor Hugo***





Los doctores **Marcos Maynar Mariño**, **M<sup>a</sup> Concepción Robles Gil** y **Francisco Llerena Ruíz** de los departamentos de Fisiología, Didáctica de la Expresión Musical, Plástica y Corporal y Terapéutica Médico Quirúrgica respectivamente de la Universidad de Extremadura.

CERTIFICAN:

Que **D. Francisco Javier Grijota Pérez**, Licenciado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte por la Universidad de Extremadura, ha realizado la Tesis Doctoral “**INFLUENCIA DEL EJERCICIO FÍSICO EN LOS NIVELES ERITROCITARIOS DE ELEMENTOS MINERALES TRAZA**” bajo nuestra dirección y que, a nuestro juicio, reúne las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor.

Y para que así conste, expedimos y firmamos el presente certificado en Cáceres, a 8 de Noviembre de 2015.

Dr. D. Marcos Maynar  
Mariño

Dra. Dña. M<sup>a</sup> Concepción Robles Gil

Dr. D. Francisco Llerena Ruiz





## **DEDICATORIA**

Quisiera dedicar esta tesis doctoral de manera especial a mis padres, Paco y Mercedes, y a mis hermanas, Candela y Mercedes, ya que sin el apoyo de ellos (en todos los sentidos) no me habría sido posible realizar este proyecto tan importante en mi vida.

El apoyo y la paciencia de cada uno de ellos ha sido fundamental para finalizar esta tesis, sobre todo en los momentos más difíciles, cuando todo parecía que se ponía en mi contra.

A mi director Marcos Maynar, que me introdujo en el laboratorio de fisiología del ejercicio sin preguntar antecedentes, calificaciones, ni méritos, sólo si tenía ganas de aprender y de trabajar.



## **AGRADECIMIENTOS**

En este apartado quisiera agradecer a todas aquellas personas que han participado en la elaboración de esta tesis doctoral. Sin el trabajo multidisciplinar de varias personas, no habría sido posible su elaboración.

En primer lugar, de forma muy especial, quiero dejar constancia de mi agradecimiento al **Dr. Marcos Maynar Mariño**, al que nunca podré corresponder como merecería tantos años de conocimiento y sabiduría empleados en mi formación, tanto profesional como personal. Por si no fuera suficiente la deuda de gratitud con la que me ha distinguido al dirigir este trabajo, y me honra cada día con su trato personal y afecto.

A **M<sup>a</sup> Concepción Robles Gil y Francisco Llerena**, por su tiempo y dedicación como codirectores de esta tesis.

A **Diego Muñoz Marín**, que fue el que me animó a ingresar en el laboratorio de Fisiología del Ejercicio y a iniciar mi tesis doctoral. No sabría cómo agradecerle todas las veces que me echa un cable.

Mención especial a mis compañeros de laboratorio, **Carmen Crespo Coco y Pablo Jesús Iglesias Sánchez**, por los momentos compartidos, únicos todos ellos.

A todos los sujetos que participaron de forma desinteresada en éste estudio.

A los compañeros del **Grupo FIQASAC**, parte fundamental para poder complementar el estudio.



***ÍNDICE***

***TABLE OF CONTENTS***



## ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	<b>13</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>19</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>23</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>27</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>39</b>
1.1. Eritrocitos .....	41
1.1.1. Funciones de los eritrocitos .....	41
1.1.2. Forma y tamaño de los eritrocitos.....	42
1.1.3. Producción de eritrocitos.....	44
1.1.4. Estadios de diferenciación de los eritrocitos .....	47
1.1.5. Regulación de la producción de eritrocitos .....	48
1.1.6. Maduración de los eritrocitos .....	52
1.1.7. Formación de la hemoglobina .....	54
1.1.8. Metabolismo del hierro (Fe) .....	57
1.2. Metabolismo energético del eritrocito .....	63
1.2.1. Vía Embden-Meyerhof o glucolisis anaeróbica .....	64
1.2.2. Ciclo de la Hexosa Monofosfato .....	66
1.2.3. Vía de la Hemoglobina Reductasa.....	68
1.2.4. Ciclo de Rapoport-Luebering .....	69
1.3. Eritrocitos y estrés oxidativo .....	71
1.3.1. Superóxido dismutasa (SOD) .....	72
1.3.2. Catalasa.....	74
1.3.3. Glutathion Peroxidasa.....	76
1.3.4. Glutathion Reductasa.....	78
1.4. Eritrocitos y ejercicio .....	80
1.5. Minerales y elementos traza .....	86
1.5.1. Minerales traza en la salud humana .....	90
1.5.2. Actividad física y minerales.....	96
1.5.2.1. Macroelementos esenciales.....	97
1.5.2.2. Elementos traza esenciales .....	121
1.5.2.3. Elementos traza tóxicos. ....	150
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>163</b>

<b>3. MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>167</b>
3.1. Diseño del estudio .....	169
3.2. Sujetos de estudio .....	170
3.2.1. Criterios de inclusión.....	170
3.2.2. Criterios de exclusión.....	170
3.3. Variables del estudio.....	171
3.4. Material .....	175
3.4.1. Equipos .....	175
3.4.1.1. Equipos para la valoración cineantropométrica .....	175
3.4.1.2. Equipos para la electrocardiografía y la tensión arterial	
.....	176
3.4.1.3. Equipos empleados en electrocardiografía en esfuerzo	
.....	176
3.4.1.4. Equipos para la conservación de matriz y	
determinación de los elementos traza .....	177
3.4.2. Reactivos .....	178
3.4.2.1. Reactivos genéricos.....	178
3.4.2.2. Reactivos para la determinación en eritrocitos de	
minerales traza .....	178
3.4.3. Descripción del material .....	179
3.4.3.1. Material fungible .....	180
3.5. Métodos .....	180
3.5.1. Tratamiento de las muestras .....	181
3.5.1.1. Determinación de elementos mediante ICP-MS .....	182
3.6. Análisis estadístico .....	189
3.7. Limitaciones del estudio.....	190
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>193</b>
4.1. Parametros antropometricos.....	195
4.2. Parametros cardiovasculares.....	196
4.3. Parametros de rendimiento.....	197
4.4. Parametros ergoespirométricos.....	199
4.5. Parametros relacionados con la serie roja .....	202
4.6. Macroelementos esenciales en eritrocito .....	203
4.7. Elementos esenciales en eritrocito .....	204



4.8. Elementos traza tóxicos .....	205
4.9. Discusión .....	206
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>219</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>223</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>257</b>
Anexo 1. Cuestionario de ejercicio físico .....	259
Anexo 2. Modelo de consentimiento informado .....	264
Anexo 3. Ficha de registro de datos antropométricos .....	267



# ***INDICE DE TABLAS***

---

# ***LIST OF TABLES***



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Consecuencias de las deficiencias y excesos de algunos elementos traza esenciales (Plumlee y Ziegler, 2003; Abernathy y cols. 1993).....	88
Tabla 2. Clasificación propia elaborada a partir de Escanero (1998) y Parsons y Barbosa (2007).....	96
Tabla 3. Material utilizado en la valoración cineantropométrica.....	175
Tabla 4. Material utilizado en la valoración electrocardiográfica y tensión arterial.....	176
Tabla 5. Material utilizado en la valoración médica y la valoración del rendimiento.....	176
Tabla 6. Equipos para determinación de minerales.....	177
Tabla 7. Reactivos genéricos.....	178
Tabla 8. Reactivos para la determinación en eritrocito de minerales traza .....	178
Tabla 9. Material de laboratorio .....	179
Tabla 10. Material fungible.....	180
Tabla 11. Fórmula para la valoración indirecta de los cambios del volumen plasmático (Dill yCostill, 1974).....	185
Tabla 12. Características antropométricas de los grupos que formaron parte del estudio.....	196
Tabla 13. Valores en reposo de la presión arterial sistólica, diastólica, frecuencia cardíaca en reposo y frecuencia cardíaca máxima en los grupos del estudio.....	197
Tabla 14. Valores del rendimiento mecánico alcanzado en la prueba por los distintos grupos.....	199
Tabla 15. Valores de ventilación pulmonar máxima (VE), volumen de oxígeno (VO <sub>2</sub> ), consumo máximo de oxígeno (VO <sub>2</sub> max rel) y volumen de dióxido de carbono de los distintos grupos del estudio.....	201
Tabla 16. Valores del cociente respiratorio (CR), pulso de oxígeno (Pulso de O <sub>2</sub> ), equivalente respiratorio de oxígeno (EQO <sub>2</sub> ) y equivalente respiratorio de dióxido de carbono (EQCO <sub>2</sub> ).....	202

Tabla 17. Valores sanguíneos de hemoglobina (g/dL) y hematocrito (%) de los distintos grupos del estudio .....	203
Tabla 18. Concentraciones de los macroelementos Fe, Mg, P en eritrocito de los distintos grupos del estudio .....	204
Tabla 19. Concentraciones de los elementos traza esenciales Cr, Cu, Mn, Mo, Se y Zn en eritrocito de los distintos grupos del estudio ...	205
Tabla 20. Concentraciones de los elementos traza tóxicos Cd, Pb y As en eritrocito de los distintos grupos del estudio .....	206

## ***INDICE DE FIGURAS***

---

## ***LIST OF FIGURES***





## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Intensidades relativas de producción de eritrocitos en la médula ósea de diferentes huesos en diferentes edades.....	44
Figura 2. Formación de diferentes células sanguíneas a partir de la célula precursora hematopoyética pluripotencial (PHSC) en la medula ósea.....	45
Figura 3. Génesis de eritrocitos normales y características de los eritrocitos en diferentes tipos de anemias.....	48
Figura 4. Función del mecanismo eritropoyético para aumentar la producción de eritrocitos cuando se reduce la oxigenación tisular.....	50
Figura 5. Formación de la hemoglobina.....	55
Figura 6. Estructura básica de la molécula de hemoglobina que muestra una de las cuatro cadenas hemo que se unen entre sí para formar la molécula de hemoglobina.....	55
Figura 7. Pérdida fraccional de hierro corporal en humanos. Adaptado de Latunde-Dada y Simpson ( <i>Latunde-Dada &amp; Simpson, 2010</i> ). .....	60
Figura 8. Glucólisis anaeróbica.....	65
Figura 9. Ciclo de la Hexosa Monofosfato.....	67
Figura 10. Redistribución del magnesio durante la realización de ejercicio físico aeróbico (Nielsen and Lukaski, 2006).....	111
Figura 11. Redistribución del magnesio tras la realización de ejercicio físico aeróbico (Nielsen and Lukaski, 2006).....	112
Figura 12. Protocolo tipo para el grupo control. El grupo de deportistas y de ciclistas de alto nivel realizaban el mismo protocolo pero iniciaban la prueba en 100 vatios.....	187



## ***ABREVIATURAS***

---

## ***NOMENCLATURE***



## **ABREVIATURAS**

Mg: microgramo

ml: microlitro

μmol: micromol

ADN: Ácido dexoxirribonucleico

AHMs: Asian Herbal Medicines

AMP: Adenosín monofosfato

ARN: Ácido ribonucleico

As: Arsénico

ATP: Adenosín trifosfato

ATSDR: Agency for Toxics Substances and Disease

Cd: Cadmio

CDC: Center for Disease Control

CDR: Cantidad Diaria Recomendada

CK: Creatinquinasa

Co: Cobalto

cols: Colaboradores

Cr: Cromo

Cu: Cobre

CV: Volumen de eritrocitos

dL: decilitro

DMSA: Ácido Dimercaptosuccínico

EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético

ELA: Esclerosis Lateral Amiotrófica

EP: Enfermedad de Parkinson

EPA: Environmental Protection Agency

FC: Frecuencia Cardiaca

FDA: Food and Drug Administration

g: gramo

GAR: Grupo de Alto Rendimiento

GC: Grupo Control

GME: Grupo moderadamente entrenado

GS: Glutamino Sintetasa

GSH-Px: Glutación Peroxidasa

Hb: Hemoglobina

HC: Hidratos de Carbono

Hct: Hematocrito

ICP-MS: Espectrometría de masa con fuente de plasma de acoplamiento inductivo

IPAQ: International Physical Activity Questionnaire

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

Kcal: Kilocalorías

Kg: Kilogramo

L: Litro

LDH: Lactatodehidrogenasa

MAO: Monoaminoxidasa

Mg: Magnesio

mg: Miligramo

mmol: Milimol

MMT: Metilciclopentadienilo tricarbonilo manganeso

Mn: Manganeso

Mo: Molibdeno

NAD<sup>+</sup>: Nicotin adenin dinucleótido

nd: No determinados

ng: Nanogramos

NHANES: National Health and Nutrition Examination

OIT: Organización Internacional del Trabajo

P: Fósforo

Pb: Plomo

PC: Fosfocreatina

ppb: Partes por billón

ppm: Partes por millón

Rmax: Cociente Ventilatorio

ROS: Reactive Oxygen Species

Se: Selenio

SOD: Superoxido dismutasa

TAD: Tensión Arterial Diastólica

TAS: Tensión Arterial Sistólica

UNEP: United Nation Environment Program

VCO<sub>2</sub>max: Producción máxima de dióxido de carbono

VE: Volumen espirado

VO<sub>2</sub>max: Consumo Máximo de Oxígeno

WHO: World Health Organization

Zn: Zinc





# ***RESUMEN***

---

## ***ABSTRACT***



## **RESUMEN**

### **INTRODUCCIÓN**

Los minerales son compuestos poco estudiados debidos a los problemas metodológicos que plantea su determinación dado sus bajas concentraciones en el organismo. En la actualidad el uso de ICP-MS, nos permite determinar con gran fiabilidad las concentraciones tanto de los macrominerales como de los microminerales en distintas matrices. Uno de los aspectos fisiológicos menos estudiados en nutrición deportiva son los microminerales y sus acciones en los deportistas. La actividad física puede modificar los niveles de minerales tanto disponibles en sangre y suero como en su eliminación. Por todo ello, los objetivos de la presente tesis doctoral son determinar las concentraciones en minerales traza en eritrocito de sujetos que practican deporte y de sujetos que no lo practican.

### **MATERIAL Y MÉTODO**

Para ello hemos contado con un total de 76 sujetos separados en tres grupos: 22 pertenecientes al grupo de altamente entrenados, 24 al grupo de moderadamente entrenados y 30 al grupo control que no practicaba actividad física, de la provincia de Cáceres. A todos ellos se les realizó una evaluación ergoespirométrica para evaluar el VO<sub>2</sub>max, la FCmax y otros parámetros de esfuerzo. Se les sometió igualmente a una valoración antropométrica. A todos ellos se les extrajo sangre en ayunas de 9 horas y se separó el eritrocito tras centrifugación. Las muestras después de ser tratadas de forma apropiada fueron analizadas en un ICP-MS.

### **RESULTADOS**

Los resultados de nuestro trabajo ponen de manifiesto unos menores niveles de macrominerales como el Mg, el P y el Fe en los deportistas respecto al grupo control. Se observó como la concentración intraeritrocitaria de todos los elementos fueron significativamente menores en los sujetos con mayor grado de entrenamiento en relación a los otros dos grupos, especialmente significativos son en el caso del cobre y manganeso ( $p < 0.001$ ). En relación a los elementos tóxicos observamos que el arsénico presentaba concentraciones superiores en los sujetos con más entrenamiento. Sin embargo, el cadmio presentó menores concentraciones en los sujetos con mayor grado de entrenamiento.

### **CONCLUSIONES**

Por todo ello podemos concluir que la actividad física produce cambios en las concentraciones eritrocitarias de minerales.



# **ABSTRACT**

## **INTRODUCTION**

Minerals are poorly studied compounds due to methodological issues its determination given their low concentrations in the body. Currently using ICP-MS, allows us to determine with high reliability levels as both the macro minerals micro minerals in different matrices. One of the least studied physiological aspects in sports nutrition are the trace elements and their actions in athletes. Physical activity can modify the mineral levels in both blood and serum and disposal. Therefore, the objectives of this thesis are to determine trace mineral concentrations in erythrocyte of athletes from different levels of training, compared to a control group.

## **METHOD**

For it we had a total of 76 subjects separate into three groups: 22 to the group of highly trained, 24 to the trained group and 30 to the sedentary group, from Cáceres. All subjects underwent an evaluation to assess ergoespirometric VO<sub>2</sub>max, HRmax and other stress parameters. They were also subjected to an anthropometric. All subjects had blood taken fasting 9 hours and erythrocyte was separated after centrifugation. The samples after being appropriately treated were analyzed by ICP-MS.

## **RESULTS**

The results of our work show lower levels of macro as Mg, P and Fe in athletes compared to control group. We observed as the intraerythrocytic concentration of all elements were significantly lower in subjects with higher degree of training in relation to the other two groups, being especially significant in the case of copper and manganese ( $p < 0.001$ ). Regarding the toxic element arsenic we observed that higher concentrations was in subjects with more training. However, cadmium showed lower concentrations in subjects with a higher degree of training.

## **CONCLUSIONS**

Therefore we can conclude that physical activity both acutely and chronically produces changes in erythrocyte concentrations of minerals.



# ***1.- INTRODUCCIÓN***

## ***INTRODUCTION***





## **1.1.- ERITROCITOS**

Los glóbulos rojos, también llamados eritrocitos o hematíes, son las células sanguíneas más abundantes y más pequeñas (7.2  $\mu\text{m}$ ) del cuerpo humano. Su principal misión es transportar  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  entre los tejidos y los pulmones. En humanos el número habitual de eritrocitos en sangre difiere entre sexos: 4,6 millones/ $\text{mm}^3$  para mujeres y 5 millones/ $\text{mm}^3$ , aunque es mayor en personas que residen en grande altitudes donde la concentración de oxígeno es menor. En estado fresco son de color rojo anaranjado, de ahí el nombre de eritrocitos. Este color es debido a su alto contenido en hemoglobina, responsable del color rojo de la sangre. Los eritrocitos raramente abandonan el torrente circulatorio.

### **1.1.1.- Funciones de los eritrocitos (hematíes)**

Una función importante de los eritrocitos, también conocidos como hematíes, es transportar hemoglobina, que a su vez transporta oxígeno desde los pulmones a los tejidos. En algunos animales inferiores, la hemoglobina circula como una proteína libre en el plasma, no encerrada en los eritrocitos.

Cuando está libre en el plasma del ser humano, alrededor del 3% se filtra por la membrana capilar hacia el espacio tisular o a través de la membrana glomerular del riñón hacia el filtrado glomerular cada vez que la sangre pasa por los capilares.

Luego, la hemoglobina debe permanecer dentro de los eritrocitos para realizar con eficacia sus funciones en los seres humanos. Los eritrocitos tienen otras funciones además del transporte de la hemoglobina. Por ejemplo, contienen una gran cantidad de anhidrasa carbónica, una enzima que cataliza la reacción reversible entre el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y el agua para formar ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), aumentando la velocidad de la reacción varios miles de veces. La rapidez de esta reacción posibilita que el agua de la sangre transporte enormes cantidades de  $\text{CO}_2$ , en forma de ion bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) desde los tejidos a los pulmones, donde se convierte en  $\text{CO}_2$  y se expulsa a la atmósfera como un producto de desecho del organismo. La hemoglobina de las células es un excelente amortiguador ácido básico (igual que la mayoría de las proteínas), de manera que los eritrocitos son responsables de la mayor parte del poder amortiguador ácido básico de la sangre completa (Metcalf, 2008).

### **1.1.2.- Forma y tamaño de los eritrocitos.**

Los eritrocitos normales, que se muestran en la figura ---, son discos bicóncavos que tienen un diámetro medio de unos  $7,8\mu\text{m}$  y un espesor de  $2,5\mu\text{m}$  en su punto más grueso y de  $1\mu\text{m}$  o menos en el centro. El volumen medio del eritrocito es de  $90\text{-}95\mu\text{m}^3$ .

Las formas de los eritrocitos pueden cambiar mucho a medida que las células son exprimidas a través de los capilares. En realidad, el eritrocito es una “bolsa” que puede deformarse casi de cualquier forma. Además, debido a que la célula normal tiene un gran exceso de membrana para la cantidad de material que tiene

dentro, la deformación no estira mucho la membrana y, en consecuencia, no rompe la célula, como les ocurriría a otras muchas. En los varones sanos, el número medio de eritrocitos por milímetro cúbico es de 5.200.000 ( $\pm 300.000$ ); en las mujeres es de 4.700.000 ( $\pm 300.000$ ). Las personas que viven en altitudes elevadas tienen más eritrocitos, como se comenta más adelante (Metcalf, 2008).

Los eritrocitos tienen la capacidad de concentrar la hemoglobina en el líquido celular hasta unos 34g por cada 100ml de células. La concentración no aumenta por encima de este valor porque este es el límite metabólico del mecanismo formador de la hemoglobina en la célula. Además, en las personas normales el porcentaje de hemoglobina es casi siempre cercano al máximo en cada célula. Pero cuando la formación de hemoglobina es deficiente, el porcentaje de hemoglobina en las células puede reducirse muy por debajo de este valor, y el volumen del eritrocito puede también reducirse por la menor cantidad de hemoglobina que llena la célula (Alayash, 2004).

Cuando el hematocrito (el porcentaje de sangre que son células, normalmente del 40-45%) y la cantidad de hemoglobina en cada célula son normales, la sangre completa de los varones contiene una media de 15 g de hemoglobina por 100 ml de células; en las mujeres contiene una media de 14g por 100ml.

Cada gramo de hemoglobina pura es capaz de combinarse con 1,34ml de oxígeno. Luego, en un varón normal, puede transportarse un máximo de unos 20ml de oxígeno combinados con la hemoglobina por cada 100ml de sangre y, en una mujer normal, 19ml de oxígeno (Alayash, 2004).

### 1.1.3.- Producción de eritrocitos

En las primeras semanas de la vida embrionaria, los eritrocitos nucleados se producen en el saco vitelino. Durante el segundo trimestre de gestación, el hígado es el principal órgano productor de eritrocitos, pero también se produce un número razonable en el bazo y en los ganglios linfáticos. Después, durante el último mes de gestación y tras el nacimiento, los eritrocitos se producen exclusivamente en la medula ósea (Percy & Rumi, 2009).

Como se muestra en la figura 1, la medula ósea de casi todos los huesos produce eritrocitos hasta que una persona tiene 5 años de edad. Las medulas de los huesos largos, excepto las porciones proximales de los humeros y las tibias, se hacen muy grasas y no producen más eritrocitos después de los 20 años. Más allá de esta edad, la mayoría de los eritrocitos continúa produciéndose en la medula de los huesos membranosos, como las vértebras, el esternón, las costillas y los iliacos. Incluso en estos huesos, la medula ósea es menos productiva a medida que aumenta la edad (Kato & Gladwin, 2008).

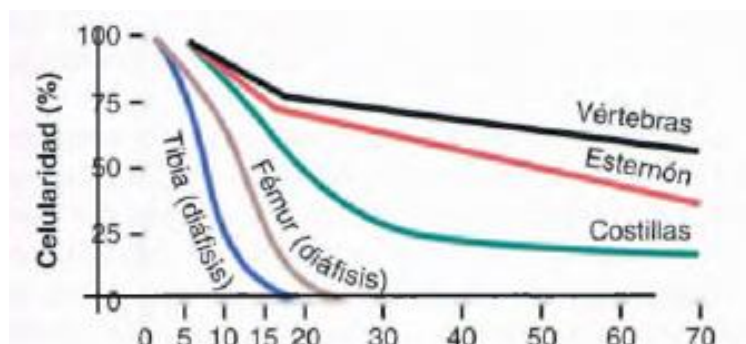


Figura 1. Intensidades relativas de producción de eritrocitos en la médula ósea de diferentes huesos en diferentes edades.

Las células sanguíneas comienzan sus vidas en la medula ósea a partir de un solo tipo de célula llamado célula precursora hematopoyética pluripotencial, de la cual derivan todas las células de la sangre. La figura 2 muestra las sucesivas divisiones de las células pluripotenciales para formar las diferentes células sanguíneas. A medida que se reproducen estas células, una pequeña parte de ellas permanece exactamente igual que las células pluripotenciales originales y se queda en la medula ósea para mantener el aporte, aunque su número disminuye con la edad. Pero la mayoría de las células reproducidas se diferencia hasta formar los otros tipos celulares mostrados en la figura 2. Las células en un estadio intermedio son muy parecidas a las células precursoras pluripotenciales, aunque ya estén comprometidas en una línea celular en particular y reciben el nombre de células precursoras comprometidas (Kato & Gladwin, 2008).

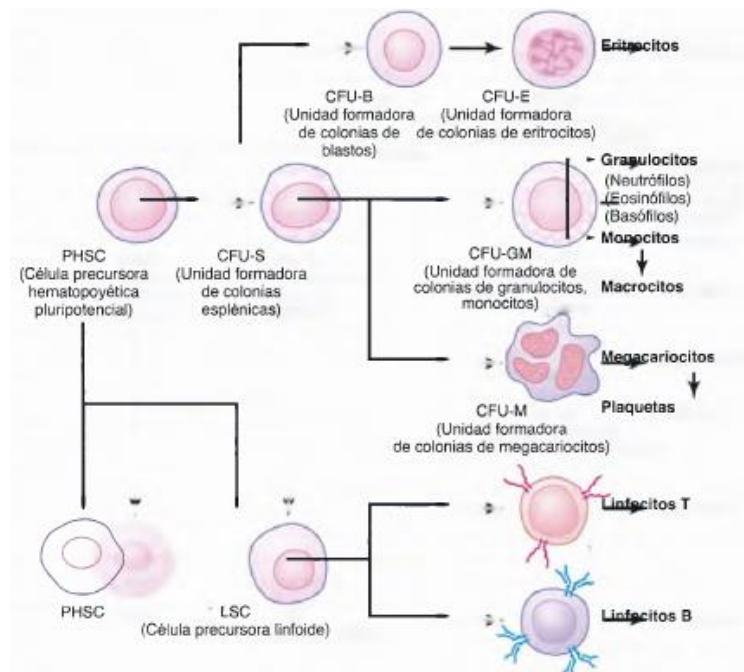


Figura 2. Formación de diferentes células sanguíneas a partir de la *célula precursora hematopoyética pluripotencial* (PHSC) en la medula ósea.

Las diferentes células precursoras comprometidas, cuando crecen en cultivos, producirán colonias de tipos especiales de reglas sanguíneas. Una célula precursora comprometida que produzca eritrocitos se llama unidad formadora de colonias de eritrocitos, y se usa la abreviatura CFU-E para designarla. Además, las unidades formadoras de colonias que forman granulocitos y monocitos tienen la designación CFU-GM y así sucesivamente.

El crecimiento y reproducción de las diferentes células precursoras están controlados por múltiples proteínas llamadas inductores del crecimiento. Se han descrito cuatro inductores principales del crecimiento, cada uno con características diferentes. Uno de ellos, la interleucina 3, favorece el crecimiento y reproducción de casi todos los tipos diferentes de células precursoras comprometidas, mientras que otros inducen el crecimiento solo de tipos específicos (Percy & Rumi, 2009).

Los inductores del crecimiento favorecen el crecimiento de las células, pero no su diferenciación. Esta es la función de otro grupo de proteínas llamadas inductores de la diferenciación. Cada una de ellas hace que un tipo de célula precursora comprometida se diferencie uno o más pasos hacia la célula sanguínea adulta final.

La formación de inductores del crecimiento y de inductores de la diferenciación está controlada por factores externos a la médula ósea. Por ejemplo, en el caso de los eritrocitos (hematíes), la exposición de la sangre a poco oxígeno durante un periodo largo provoca el crecimiento, la diferenciación y la producción de un

número mucho mayor de eritrocitos. En el caso de algunos leucocitos, las infecciones provocan el crecimiento, diferenciación y formación final de tipos específicos de leucocitos que son necesarios para combatir cada infección (Kato & Gladwin, 2008).

#### **1.1.4.- Estadios de diferenciación de los eritrocitos**

La primera célula que puede identificarse como perteneciente a la serie eritrocítica es el proeritroblasto, que se muestra como punto inicial en la figura 3. Bajo el estímulo adecuado se forman grandes números de estas células a partir de las células precursoras CFU-E.

Una vez que se ha formado el proeritroblasto, se divide múltiples veces formando finalmente muchos eritrocitos maduros. Las células de primera generación se llaman eritroblastos basófilos porque se tiñen con colorantes básicos; la célula ha acumulado en este momento muy poca hemoglobina. En las generaciones siguientes, como se muestra en la figura 32-3, las células se llenan de hemoglobina hasta una concentración de alrededor del 34%, el núcleo se condensa hasta un tamaño pequeño y su resto final se absorbe o expulsa de la célula. Al mismo tiempo se reabsorbe el retículo endoplásmico. La célula en este estadio se llama reticulocito porque todavía contiene una pequeña cantidad de material basófilo, que corresponde a restos de aparato de Golgi, mitocondrias y algunos orgánulos citoplasmáticos. Durante el estadio de reticulocito, la célula pasa de la medula ósea a los capilares sanguíneos mediante diapédesis (se exprimen a través de los poros de la membrana capilar) (Kato & Gladwin, 2008).

El material basófilo restante en el reticulocito desaparece normalmente en 1-2 días, y la célula es después un eritrocito maduro. Debido a la corta vida de los reticulocitos, su concentración entre los eritrocitos sanguíneos es normalmente algo menor del 1%.

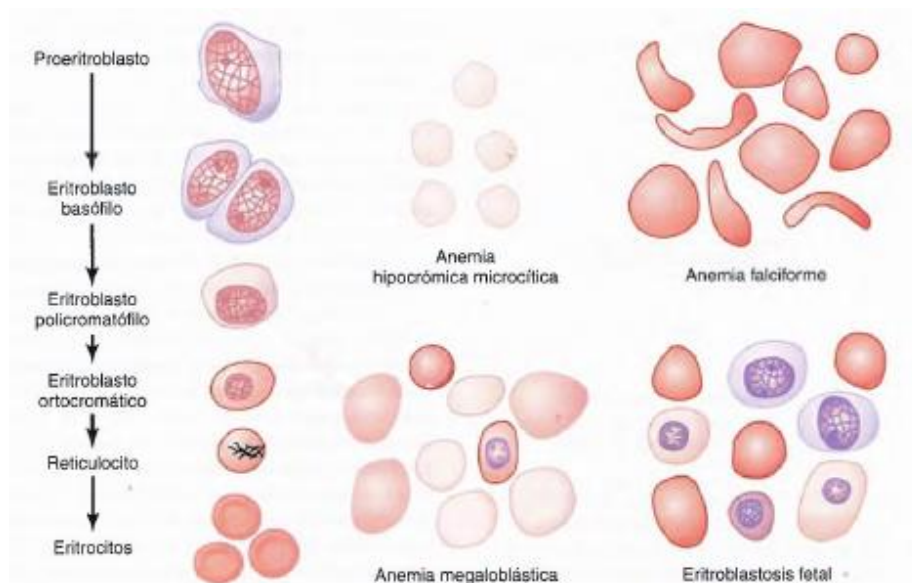


Figura 3. Génesis de eritrocitos normales y características de los eritrocitos en diferentes tipos de anemias.

### 1.1.5.- Regulación de la producción de eritrocitos: función de la eritropoyetina

La masa total de eritrocitos en el sistema circulatorio está regulada dentro de límites estrechos, de manera que: 1) siempre se dispone de un número adecuado de eritrocitos que transporten suficiente oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos, aunque 2) las células no se hacen tan numerosas como para impedir el flujo sanguíneo. Este mecanismo de control se muestra en la figura 4 y es como sigue (Fandrey, 2004).



Cualquier trastorno que reduzca la cantidad de oxígeno transportada a los tejidos aumenta habitualmente la producción de eritrocitos. Por tanto, cuando una persona desarrolla una anemia extrema por una hemorragia o cualquier otro trastorno, la médula ósea comienza de inmediato a producir grandes cantidades de eritrocitos. Además, la destrucción de porciones importantes de la médula ósea por cualquier mecanismo, en especial por un tratamiento con rayos X, provoca una hiperplasia de la médula ósea que intenta suplir las demandas de eritrocitos del organismo (Elliott, Pham, & Macdougall, 2008).

En altitudes muy altas, donde la cantidad de oxígeno en el aire está muy reducida, se transporta una cantidad insuficiente de oxígeno a los tejidos, y la producción de eritrocitos se ve muy aumentada. En este caso, no es la concentración de eritrocitos en la sangre la que controla su producción, sino la cantidad de oxígeno transportado a los tejidos en relación con la demanda tisular de oxígeno (Lappin, 2003).

Varias enfermedades de la circulación que reducen el flujo sanguíneo tisular, y en particular las que impiden la absorción de oxígeno por la sangre a su paso por los pulmones, pueden aumentar la producción de eritrocitos. Esto se ve especialmente en la insuficiencia cardíaca prolongada y en muchas enfermedades pulmonares, porque la hipoxia tisular debida a estos trastornos aumenta la producción de eritrocitos, con un incremento resultante del hematocrito y habitualmente también del volumen sanguíneo (Fandrey, (2004).

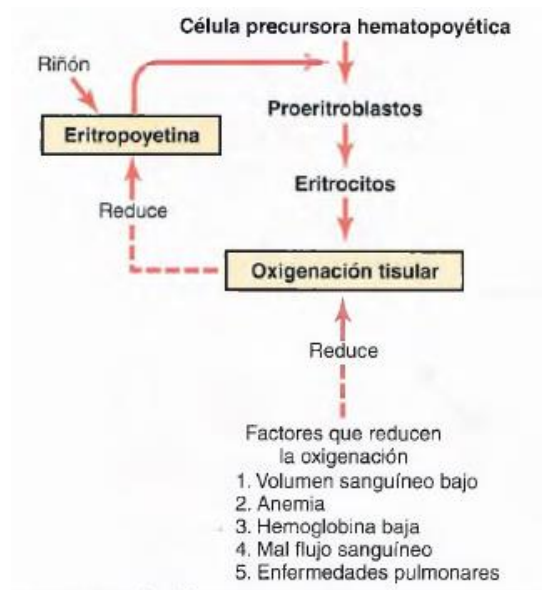


Figura 4. Función del mecanismo eritropoyético para aumentar la producción de eritrocitos cuando se reduce la oxigenación tisular.

El principal estímulo para la producción de eritrocitos en los estados de escasez de oxígeno es una hormona circulante llamada eritropoyetina, una glucoproteína con una masa molecular de 34.000. Si no hay eritropoyetina, la hipoxia tiene poco o ningún efecto estimulador sobre la producción de eritrocitos. Pero cuando el sistema de la eritropoyetina es funcional, la hipoxia aumenta mucho la producción de eritropoyetina, y esta potencia a su vez la formación de eritrocitos hasta que se alivie la hipoxia (Lappin, 2003).

Normalmente, alrededor del 90% de toda la eritropoyetina se forma en los riñones; el resto se forma sobre todo en el hígado. No se sabe exactamente donde se forma la eritropoyetina en los riñones. Algunos estudios sugieren que la eritropoyetina es secretada principalmente por células intersticiales de tipo fibroblasto que rodean a los túbulos en la corteza y la medula exterior, donde tiene lugar buena parte del consumo de oxígeno en los riñones. Es probable que

otras células, entre ellas las células epiteliales renales en sí, secreten también la eritropoyetina como respuesta a hipoxia (Fandrey, 2004).

La hipoxia del tejido renal conduce a niveles tisulares superiores de factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1), que actúa como un factor de transcripción para un gran número de genes inducibles por hipoxia, entre ellos el gen de la eritropoyetina. HIF-1 se une a un elemento de respuesta a hipoxia que reside en el gen de la eritropoyetina, con lo que induce la transcripción de ARNm y, en última instancia, el aumento de la síntesis de eritropoyetina (Maxwell, 2003).

A veces, la hipoxia en otras partes del cuerpo, pero no en los riñones, estimula la secreción renal de eritropoyetina, lo que indica que pueda haber algún sensor extra renal que envíe una señal adicional a los riñones para producir esta hormona. En particular, la noradrenalina y la adrenalina y varias prostaglandinas estimulan la producción de eritropoyetina (Nangaku & Eckardt, 2007).

Cuando se extirpan los dos riñones en una persona o cuando una nefropatía los destruye, la persona siempre se hace muy anémica porque el 10% de la eritropoyetina normal formada en otros tejidos (sobre todo en el hígado) solo consigue formar entre una tercera parte y la mitad de los eritrocitos necesarios para el organismo (Lappin, 2003).

Si no hay eritropoyetina, se forman pocos eritrocitos en la medula ósea. En el otro extremo, cuando se forman grandes cantidades de eritropoyetina y hay abundante hierro y otros nutrientes necesarios, la producción de eritrocitos

puede aumentar a quizás 10 o más veces con respecto a lo normal. Por tanto, el mecanismo de la eritropoyetina para controlar la producción de eritrocitos es muy potente (Nangaku & Eckardt, 2007).

#### **1.1.6.- Maduración de los eritrocitos.**

Debido a la necesidad continua de reponer los eritrocitos, las células eritropoyéticas de la medula ósea se encuentran entre las células de todo el organismo que más rápidamente crecen y se reproducen. Luego, como sería de esperar, su maduración y producción están influidas mucho por el estado nutricional de la persona (Pietrangelo, 2004).

Especialmente importantes para la maduración final de los eritrocitos son dos vitaminas, la vitamina B<sub>12</sub> y el ácido fólico. Ambas son esenciales para la síntesis de ADN, porque cada una de ellas es necesaria de forma diferente para la formación de trifosfato de timidina, uno de los bloques esenciales del ADN. Luego, la falta de vitamina B o de ácido fólico da lugar a un ADN anormal o reducido y, en consecuencia, a que no se produzcan la maduración y división nuclear. Además, las células eritroblásticas de la medula ósea, además de no proliferar con rapidez, producen sobre todo eritrocitos mayores de lo normal llamados macrocitos, y la propia célula tiene una membrana frágil y es a menudo irregular, grande y oval en lugar del disco bicóncavo habitual. Estas células mal formadas, tras entrar en la circulación, son capaces de transportar oxígeno normalmente, pero su fragilidad les acorta la vida a la mitad o un tercio de lo normal. Luego se dice que la deficiencia de vitamina B<sub>12</sub> o de ácido fólico provoca

un fallo en la maduración en el proceso de la eritropoyesis (Claster & Vichinsky, 2003).

Una causa común de fallo en la maduración de los eritrocitos es que no se absorbe vitamina B<sub>12</sub> en el aparato digestivo. Esto ocurre a menudo en la enfermedad anemia perniciosa, cuya anomalía básica es una mucosa gástrica atrófica que no produce secreciones gástricas normales. Las células parietales de las glándulas gástricas secretan una glucoproteína llamada factor intrínseco, que se combina con la vitamina B<sub>12</sub> presente en el alimento y hace posible su absorción por el intestino (Pietrangelo, 2004). Lo hace de la siguiente manera: 1) el factor intrínseco se une fuertemente a la vitamina B<sub>12</sub> y, en este estado de unión, está protegida de la digestión por las secreciones digestivas; 2) todavía en su estado de unión, el factor intrínseco se une a receptores específicos situados en las membranas del borde en cepillo de las células mucosas en el íleon, y 3) después, la vitamina B<sub>12</sub> es transportada al torrente sanguíneo durante las siguientes horas por el proceso de la pinocitosis, que permite el paso del factor intrínseco y la vitamina juntos a través de la membrana. Luego la falta de factor intrínseco disminuye la disponibilidad de vitamina B<sub>12</sub> por su absorción deficiente (Claster & Vichinsky, 2003).

Una vez que se ha absorbido la vitamina B<sub>12</sub> en el aparato digestivo, primero se almacena en grandes cantidades en el hígado y después se libera lentamente a medida que la médula ósea la necesita. La cantidad mínima de vitamina B<sub>12</sub> necesaria cada día para mantener la maduración normal de los eritrocitos es solo de 1-3µg, y el almacén normal en el hígado y otros tejidos del organismo es unas

1.000 veces esta cantidad. Luego suelen ser necesarios 3-4 años de absorción defectuosa de la vitamina B<sub>12</sub> para que se produzca una anemia por fallo en la maduración (Alleyne, Horne & Miller, 2008).

El ácido fólico es un constituyente normal de las verduras verdes, algunas frutas y las carnes (en especial del hígado). Sin embargo, se destruye con facilidad durante el cocinado. Además, las personas con anomalías en la absorción intestinal, como la enfermedad frecuente del intestino delgado llamada esprue, tienen a menudo dificultades graves para absorber ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub>. Luego, en muchos casos de fallo en la maduración, la causa es una deficiencia en la absorción intestinal del ácido fólico y de la vitamina B<sub>12</sub> (Hentze, Muckenthaler, & Andrews, 2004).

#### **1.1.7.- Formación de hemoglobina**

La síntesis de hemoglobina comienza en los proeritroblastos y continúa incluso en el estadio de reticulocito de los eritrocitos. Luego, cuando los reticulocitos dejan la medula ósea y pasan al torrente sanguíneo, continúan formando mínimas cantidades de hemoglobina durante otro día más o menos hasta que se convierten en un eritrocito maduro.

La figura 5 muestra los pasos químicos básicos en la formación de la hemoglobina. En primer lugar, la succinil-CoA, formada en el ciclo metabólico de Krebs, se une a la glicina para formar una molécula de pirrol. A su vez, cuatro pirroles se combinan para formar la protoporfirina IX, que a su vez se combina

con hierro para formar la molécula de hemo. Finalmente, cada molécula de hemo se combina con una cadena polipeptídica larga, una globina sintetizada por los ribosomas, formando una subunidad de hemoglobina llamada cadena de hemoglobina (figura 6). Cada cadena tiene una masa molecular de 16.000; cuatro de ellas se unen a su vez mediante enlaces débiles para formar la molécula de hemoglobina completa (Alayash, 2004).

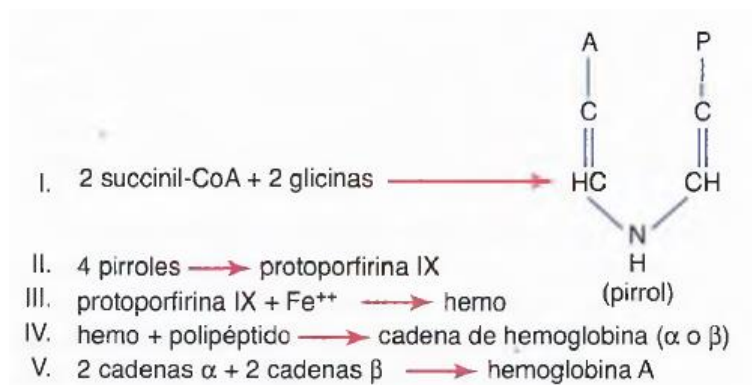


Figura 5. Formación de la hemoglobina.

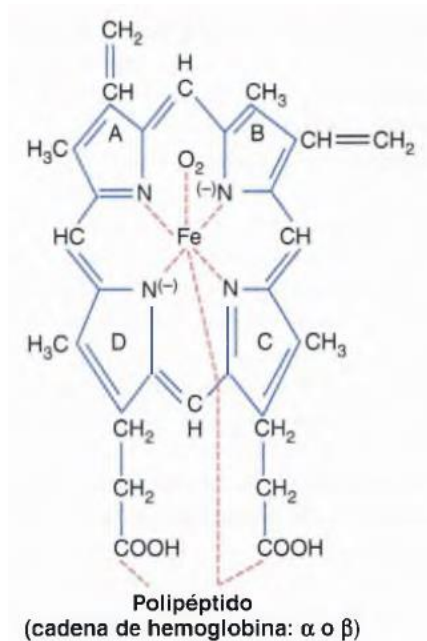


Figura 6. Estructura básica de la molécula de hemoglobina que muestra una de las cuatro cadenas hemo que se unen entre sí para formar la molécula de hemoglobina.

Hay varias variaciones ligeras en las diferentes subunidades de cadenas de hemoglobina, dependiendo de la composición en aminoácidos de la porción polipeptídica. Los diferentes tipos de cadenas se denominan cadenas alfa, cadenas beta, cadenas gamma y cadenas delta. La forma más común de hemoglobina en el ser humano adulto, la hemoglobina A, es una combinación de dos cadenas alfa y dos cadenas beta. La hemoglobina A tiene un peso molecular de 64.458.

Debido a que cada cadena de hemoglobina tiene un grupo protésico hemo que contiene un átomo de hierro, y debido a que hay cuatro cadenas de hemoglobina en cada molécula de hemoglobina, encontramos cuatro átomos de hierro en cada molécula de hemoglobina; cada uno de ellos se une mediante enlaces débiles a una molécula de oxígeno, lo que supone un total de cuatro moléculas de oxígeno (u ocho átomos de oxígeno) que puede transportar cada molécula de hemoglobina (Alayash 2004).

Los tipos de cadenas de hemoglobina en la molécula de hemoglobina determinan la afinidad de unión de la hemoglobina por el oxígeno. Las anomalías en las cadenas pueden alterar también las características físicas de la molécula de hemoglobina. Por ejemplo, en la anemia falciforme, el aminoácido valina sustituye al ácido glutámico en un punto de cada una de las dos cadenas beta. Cuando este tipo de hemoglobina se expone a cantidades bajas de oxígeno, forma cristales alargados dentro de los eritrocitos que alcanzan a veces 15µm de longitud. Esto imposibilita prácticamente el paso de las células a través de muchos capilares pequeños y es probable que los extremos afilados de los



cristales rompan las membranas celulares, lo que provoca la anemia falciforme (Alayash, 2004).

La característica más importante de la molécula de hemoglobina es su capacidad para combinarse mediante enlaces débiles y reversibles con el oxígeno. Esta capacidad está en relación con la respiración porque la principal función de la hemoglobina en el organismo es combinarse con el oxígeno en los pulmones y después liberar este oxígeno fácilmente en los capilares de los tejidos periféricos, donde la tensión gaseosa del oxígeno es mucho menor que en los pulmones.

El oxígeno no se combina con los dos enlaces positivos del hierro en la molécula de hemoglobina. En cambio, se une débilmente con uno de los también conocidos como enlaces de coordinación del átomo de hierro. Se trata de un enlace extremadamente débil, por lo que la combinación puede revertirse fácilmente. Además, el oxígeno no se convierte en oxígeno iónico sino que se transporta en forma de oxígeno molecular (compuesto de dos átomos de oxígeno) a los tejidos donde, debido a su combinación débil y fácilmente reversible, se libera a los líquidos tisulares en forma de oxígeno molecular en lugar de oxígeno iónico (Nangaku & Eckardt, 2007).

#### **1.1.8.- Metabolismo del hierro (Fe)**

Debido a que el hierro es importante para la formación no solo de la hemoglobina sino también de otros elementos esenciales del organismo (p. ej., mioglobina, citocromos, citocromo oxidasa, peroxidasa, catalasa), es importante conocer los

medios mediante los cuales el organismo utiliza el hierro. La cantidad total de hierro en el organismo es de una media de 4-5g, y el 65% está en forma de hemoglobina. Alrededor del 4% está en forma de mioglobina, el 1% de diversos compuestos del hemo que favorecen la oxidación intracelular, el 0,1% combinado con la proteína transferrina en el plasma sanguíneo y el 15-30% se almacena para su uso posterior, sobre todo en el sistema reticuloendotelial y en las células del parénquima hepático, sobre todo en forma de ferritina (Alleyne, Horne & Miller, 2008).

Cuando el hierro se absorbe del intestino delgado, se combina inmediatamente en el plasma sanguíneo con una  $\alpha_2$ -globulina, la apotransferrina, para formar transferrina, que después se transporta al plasma. El hierro se une débilmente a la transferrina y, en consecuencia, puede liberarse en cualquier célula tisular en cualquier punto del cuerpo. El exceso de hierro en la sangre se deposita especialmente en los hepatocitos y menos en las células reticuloendoteliales de la médula ósea (Hentze, Muckenthaler, & Andrews, 2004).

En el citoplasma celular, el hierro se combina sobre todo con una proteína, la apoferritina, para formar ferritina. La apoferritina tiene un peso molecular de unos 460.000 y cantidades variables de hierro pueden combinarse en grupos de radicales de hierro con esta gran molécula; luego, la ferritina puede contener solo una pequeña cantidad de hierro o una gran cantidad. Este hierro almacenado en forma de ferritina se llama hierro de depósito (Platt, 2008).

Cantidades menores de hierro en la reserva están en una forma muy insoluble llamada hemosiderina. Esto es especialmente cierto cuando la cantidad total de hierro del organismo es mayor de la que puede acomodar la reserva de apoferritina. La hemosiderina se acumula en las células en forma de grandes cúmulos que pueden observarse con microscopia en forma de partículas grandes. Por el contrario, las partículas de ferritina son tan pequeñas y están tan dispersas que solo se pueden ver en el citoplasma celular mediante microscopia electrónica (Hentze, Muckenthaler, & Andrews, 2004).

Cuando la cantidad de hierro en el plasma se reduce mucho, parte del hierro de la reserva de la ferritina se libera fácilmente y se transporta en forma de transferrina en el plasma hasta las zonas del organismo donde se necesita. Una característica única de la molécula de transferrina es que se une fuertemente a receptores presentes en las membranas celulares de los eritroblastos en la medula ósea. Después, junto a su hierro unido, lo ingieren los eritroblastos mediante endocitosis. Allí la transferrina deja el hierro directamente en la mitocondria, donde se sintetiza el hemo. En las personas que no tienen cantidades adecuadas de transferrina en la sangre, la imposibilidad de transportar el hierro a los eritroblastos de esta forma puede provocar una anemia hipocromica grave (es decir, eritrocitos que contienen mucha menos hemoglobina de lo normal) (Hentze, Muckenthaler & Andrews, 2004).

Cuando los eritrocitos han acabado su ciclo vital de unos 120 días y son destruidos, la hemoglobina liberada de las células es ingerida por las células monocitomacrofágicas. Allí se libera el hierro y se almacena sobre todo en la

reserva de ferritina para usarla cuando sea necesario para la formación de hemoglobina nueva.

Un varón excreta unos 0,6 mg de hierro al día, sobre todo en las heces. Se pierden cantidades adicionales de hierro cuando se produce una hemorragia. En una mujer, la pérdida menstrual adicional de sangre lleva las pérdidas a largo plazo de hierro a una media de 1,3mg/día (Platt, 2008).

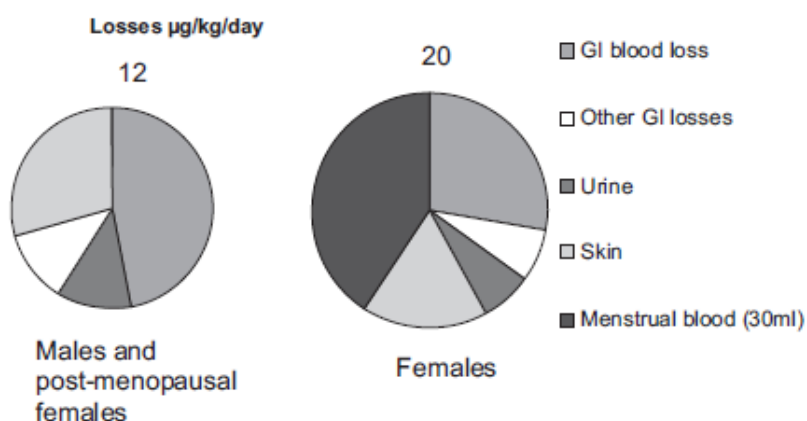


Figura 7. Pérdida fraccional de hierro corporal en humanos. Adaptado de Latunde-Dada y Simpson (*Latunde-Dada & Simpson, 2010*). Los gráficos muestran el tamaño relativo de hierro y las pérdidas por el cuerpo; los números son las pérdidas totales en µg/kg de peso corporal/día. GI, gastrointestinales.

El hierro se absorbe en todo el intestino delgado, sobre todo mediante el siguiente mecanismo. El hígado secreta cantidades moderadas de apotransferrina en la bilis, que fluye a través de la vía biliar hasta el duodeno. Aquí la apotransferrina se une al hierro libre y también a ciertos compuestos que lo contienen, como la hemoglobina y la mioglobina de la carne, dos de las fuentes de hierro más importantes de la dieta. Esta combinación se llama transferrina. Esta es a su vez atraída a receptores presentes en las células epiteliales

intestinales a los que se une. Después, la molécula de transferrina, que lleva su almacén de hierro, es absorbida mediante pinocitosis por las células epiteliales y después liberada a los capilares sanguíneos que hay debajo de estas células en forma de transferrina plasmática (Hentze, Muckenthaler & Andrews, 2004).

La absorción intestinal de hierro es muy lenta, con una intensidad máxima de solo unos miligramos diarios. Esto significa que, incluso con tremendas cantidades de hierro en los alimentos, solo se absorben proporciones pequeñas.

Cuando el organismo está saturado de hierro de manera que casi toda la apoferritina de las zonas de almacén del hierro está ya combinada con el hierro, se reduce mucho la absorción de hierro en el intestino. Por el contrario, cuando los almacenes de hierro se han vaciado, la absorción puede acelerarse probablemente cinco o más veces sobre lo normal. De este modo, el hierro corporal total se regula sobre todo modificando la velocidad de absorción (Platt, 2008).

Cuando los eritrocitos salen de la médula ósea hacia el sistema circulatorio, suelen circular una media de 120 días antes de ser destruidos. Aunque los eritrocitos maduros no tienen núcleo, mitocondrias ni retículo endoplásmico, tienen enzimas citoplásmicas capaces de metabolizar la glucosa y formar pequeñas cantidades de ATP. Estas enzimas también: 1) mantienen la flexibilidad de la membrana celular; 2) mantienen el transporte de iones en la membrana; 3) mantienen el hierro de la hemoglobina en la forma ferrosa en lugar de en la férrica, y 4) impiden la oxidación de las proteínas en los eritrocitos.

Incluso así, los sistemas metabólicos de los eritrocitos viejos son cada vez menos activos y más frágiles, probablemente porque sus procesos vitales se desgastan (Kato & Gladwin, 2008).

Una vez que la membrana del eritrocito se hace frágil, la célula se rompe durante el paso a través de algunos puntos rígidos de la circulación. Muchos de los eritrocitos se autodestruyen en el bazo, donde son exprimidos a través de la pulpa roja esplénica. Allí, los espacios entre las trabéculas estructurales de la pulpa roja, a través de los cuales debe pasar la mayoría de los eritrocitos, tienen solo un diámetro de  $3\mu\text{m}$ , comparados con los  $8\mu\text{m}$  del eritrocito. Cuando se extirpa el bazo, el número de eritrocitos anormales viejos que circula en la sangre aumenta considerablemente (Kato & Gladwin, 2008).

Cuando los eritrocitos estallan y liberan su hemoglobina, esta es fagocitada casi de inmediato por los macrófagos en muchas partes del organismo, pero en especial en las células de Kupffer del hígado y en los macrófagos del bazo y de la médula ósea. Durante las siguientes horas o días, los macrófagos liberan el hierro de la hemoglobina y vuelve de nuevo a la sangre, para su transporte por medio de la transferrina a la médula ósea para la producción de eritrocitos nuevos o al hígado u otros tejidos para su almacén en forma de ferritina. La porción porfirina de la molécula de hemoglobina es convertida por los macrófagos, por medio de una serie de pasos, en el pigmento biliar bilirrubina, que se libera a la sangre y después se libera del organismo mediante secreción hepática a la bilis (Alayash, 2004).

## 1.2.- METABOLISMO ENERGÉTICO DEL ERITROCITO

El metabolismo de los eritrocitos es limitado, debido a la ausencia de núcleo, mitocondria y otros organelos subcelulares. Aunque la unión, transporte y liberación de oxígeno y dióxido de carbono es un proceso pasivo que no requiere energía, existe una variedad de procesos metabólicos dependientes de energía que son esenciales para la viabilidad de la célula.

Las vías metabólicas más importantes para el eritrocito maduro necesitan glucosa como sustrato. Estas vías se refieren a:

- Vía Emboden – Meyerhof mejor conocida como "glucólisis".
- Ciclo de la Hexosa – Monofosfato.
- Vía de la Hemoglobina Reductasa.
- Ciclo de Rapoport – Luebering.

Estas vías contribuyen con energía al mantener:

- El potasio intracelular alto, el sodio intracelular bajo y un calcio intracelular muy bajo (bomba de cationes).
- Hemoglobina en forma reducida.
- Elevados niveles de glutatión reducido.
- Integridad y deformabilidad de la membrana

### 1.2.1.- Via Embden–Meyerhof o glucólisis anaeróbica

Proporciona ATP para la regulación de la concentración intracelular de cationes (Na, K, Ca, Mg) a través de bombas de cationes. El eritrocito obtiene energía en forma de ATP del desdoblamiento de la glucosa por esta vía. Aproximadamente 90 a 95% del consumo celular de oxígeno utiliza esta vía. Los eritrocitos normales no tienen depósitos de glucógeno. Dependen por completo de la glucosa ambiental para la glucólisis. La glucosa penetra a la célula mediante difusión facilitada, un proceso que no consume energía. Es metabolizada a lactato, donde produce una ganancia neta de dos moles de ATP por un mol de glucosa.

A través de este proceso se produce Adenosin Trifosfato: ATP y Nicotinamida Adenina Dinucleótido reducido: NADH. El 90 a 95 % de la D-glucosa se metaboliza por esta vía. Consiste en una sucesión de reacciones consecutivas realizadas por 11 enzimas, localizadas en la parte soluble del citoplasma. (Fig. 8) El grado de utilización de la glucosa está regulado por las reacciones de la hexoquinasa (HK), de la fosfofructoquinasa (PFK) y la piruvato quinasa (PK), llamadas enzimas alostéricas y reguladoras. La energía de degradación de la Dglucosa se transforma en energía de enlace fosfato del ATP. Tanto HK como PFK tienen mayor actividad a pH alto y pierden actividad por debajo de pH:7. La glucólisis es muy sensible al pH, siendo estimulada en pH mayores a 7. El balance general de este metabolismo produce, a partir de una molécula D-glucosa, dos moléculas de piruvato o lactato; dos moléculas de ATP y 2 NADH (Guyton & Hall, 2011). La ecuación global es:



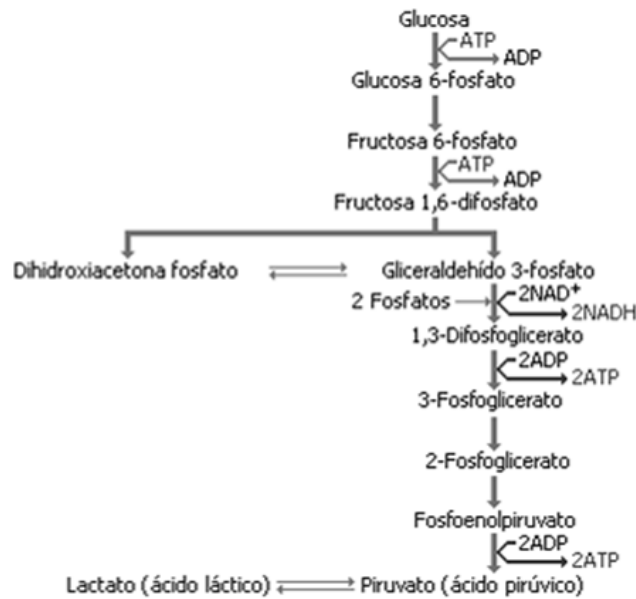
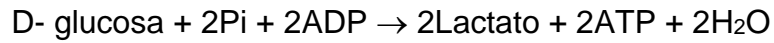


Figura 8. Glucólisis anaeróbica.

El ATP es un componente de alta energía, que el eritrocito utiliza para el mantenimiento de las bombas de la membrana dependientes de ATP (sodio, potasio y calcio), para la síntesis de glutatión (GSH), para la vía de rescate de los nucleótidos de adenina, para mantener su forma bicóncava y para incorporar ácidos grasos a la membrana e iniciar la fosforilación de la glucosa. La reserva fundamental de alta energía está constituida por el pool de nucleótidos de adenina (ATP) y el 2,3 difosfoglicerato (2,3-DPG). El pool de nucleótidos de adenina está compuesto por ATP, (85 a 90 %), adenina difosfato (ADP), (10 a 15 %) y adenina monofosfato (AMP), (1 a 3 %). La concentración de ATP en el eritrocito es  $4,05 \pm 0,38 \text{ uM ATP/ g Hb}$ . Desde el Gliceraldehído-3-fosfato, se genera (NADH) necesario para la reacción de la Diaforasa I o Metahemoglobina reductasa I, NADH dependiente, la cual tiene como función mantener el hierro (Fe) del hemo en estado reducido o  $\text{Fe}^{++}$ , ya que la oxidación a  $\text{Fe}^{+++}$  le impide

unirse al O<sub>2</sub>. Como metabolismo colateral a la vía de EM, el hematíe tiene el ciclo de Rappaport Luebering, por medio del cual, se obtiene el 2,3 difosfoglicerato (2,3-DPG). Este metabolito se encuentra en alta concentración dentro de los eritrocitos (15,36±1,98 uM 2,3 DPG/ g Hb) y regula la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Mediante esta vía, el GR no produce ATP (Guyton & Hall, 2011).

### **1.2.2.- Ciclo de la Hexosa Monofosfato**

Proporciona Nicotinamida-Adenina Dinucleotido fosfato y glutatión para reducir oxidantes celulares. Aproximadamente 5% de la glucosa celular ingresa a la vía oxidativa Hexosa Monofosfato, un sistema auxiliar para producir sustancias reductoras. Esta vía produce así mismo, glutatión. El glutatión reducido protege a la célula contra cualquier lesión oxidante permanente. Los oxidantes dentro de la célula oxidan los grupos sulfhidrilo (SH) de la hemoglobina, a menos que los oxidantes sean reducidos por el glutatión reducido.

Este mecanismo consume aproximadamente el 5%-10 % de la glucosa. En esta vía, la glucosa es oxidada en la posición 1, liberando CO<sub>2</sub> y el NADP es reducido a NADPH. La primera reacción de la ruta, es la deshidrogenación enzimática de la glucosa 6 fosfato (G6P) por la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD), para formar 6 4 fosfogluconato (6PG). La enzima, que no se encuentra en mitocondrias, requiere NADP como aceptor electrónico. Realiza la deshidrogenación del átomo 1 de la forma piranosa de la G6P y la transforma en 6 fosfogluconato-δ - lactona. Una Lactonasa específica cataliza la reacción a

6PG. El equilibrio global se halla desplazado hacia la formación de NADPH. En la etapa siguiente el 6PG sufre una descarboxilación oxidativa por acción de la 6 fosfogluconato deshidrogenasa (6PGD), formándose la D-ribulosa 5 fosfato (oxopentosa) y en ésta reacción se produce la segunda molécula de NADPH.

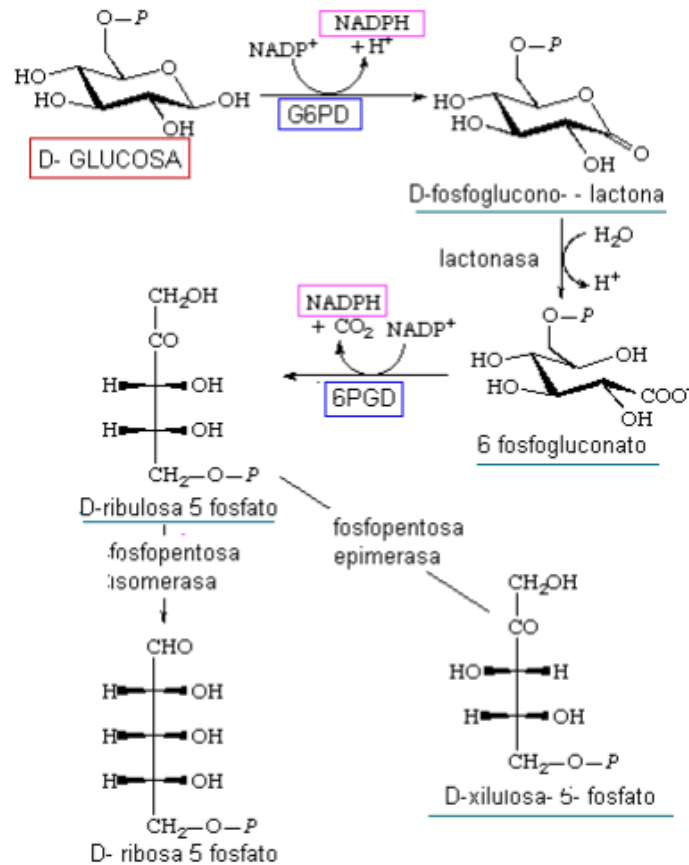
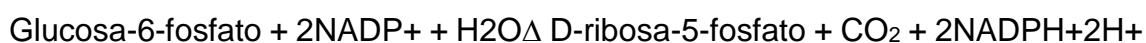


Figura 9. Ciclo de la Hexosa Monofosfato.

La acción de una fosfopentosa epimerasa lo transforma reversiblemente en Dxilulosa 5 fosfato, epímero en el carbono 3. Por la acción de la fosfopentosa isomerasa la D - ribulosa 5 fosfato se puede convertir reversiblemente en su isómero 5 D- ribosa 5 fosfato. El fosfato de pentosa formado, puede, bajo una serie de rearrreglos moleculares, volver a la formación de triosa, gliceraldehído 3 fosfato y fructosa 6 fosfato, y estos, al ser intermediarios de la glicólisis

anaerobia, pueden ingresar de nuevo al metabolismo glucolítico. La ecuación global para este mecanismo es la siguiente:



La G6PD es la enzima reguladora de este mecanismo. Su deficiencia produce la eritroenzimopatía más frecuente en el mundo y se asocia a procesos de anemia hemolítica aguda (AHA), ictericia neonatal (IN) y en menor proporción anemia hemolítica crónica no esferocítica (AHCNE) (Guyton & Hall, 2011).

### **1.2.3.- Vía de la Hemoglobina Reductasa**

Protege a la hemoglobina de la oxidación vía la NADH y metahemoglobina reductasa. Se trata de una vía alterna a la vía Emboden – Meyerhof, esencial para mantener al hierro hem en el estado reducido  $\text{Fe}^{++}$ . La hemoglobina con el hierro en estado ferrico,  $\text{Fe}^{+++}$ , es conocida como *metahemoglobina*. Esta forma de hemoglobina no logra combinarse con el oxígeno. La metahemoglobina reductasa en unión con el NADH producido por la vía Emboden – Meyerhof protege al hierro hem de la oxidación. Sin este sistema, el 2% de la metahemoglobina formada todos los días, al cabo del tiempo se eleva a 20 a 40% limitando gravemente la capacidad de transportadora de oxígeno en la sangre. Medicamentos oxidantes pueden interferir con la metahemoglobina reductasa y producir valores aún más elevados de metahemoglobina. Esto provoca cianosis (Guyton & Hall, 2011).

#### **1.2.4.- Ciclo de Rapoport – Luebering**

También conocida como 2,3 – difosfoglicerato (DPG), el cual facilita la liberación de oxígeno a los tejidos. Este ciclo es parte de la vía Embden – Meyerhof y tiene por finalidad evitar la formación de 3 – fosfoglicerato y ATP. El DPG está presente en el eritrocito en una concentración de un mol BPG/mol de hemoglobina y se une con fuerza a la desoxihemoglobina, manteniendo a la hemoglobina en estado desoxigenado facilitándose la liberación de oxígeno. El incremento en la concentración de difosfoglicerato facilita la liberación de oxígeno a los tejidos mediante la disminución en la afinidad de la hemoglobina para el oxígeno. De esta manera el eritrocito cuenta con un mecanismo interno para la regulación del aporte de oxígeno a los tejidos.

El 2,3-difosfoglicerato facilita la liberación de oxígeno a los tejidos. Este ciclo es parte de la vía Embden – Meyerhof y tiene por finalidad evitar la formación de 3 – fosfoglicerato y ATP. El DPG está presente en el eritrocito en una concentración de 1 mol BPG/mol de hemoglobina y se une con fuerza a la desoxihemoglobina, manteniendo a la hemoglobina en estado desoxigenado facilitándose la liberación de oxígeno. El incremento en la concentración de difosfoglicerato facilita la liberación de oxígeno a los tejidos mediante la disminución en la afinidad de la hemoglobina para el oxígeno. De esta manera el eritrocito cuenta con un mecanismo interno para la regulación del aporte de oxígeno a los tejidos. 2,3-DPG (Difosfoglicerato) Se forma a partir del 1,3-DPG (vía glucolítica) y se encuentra en grandes cantidades en el eritrocito. Funciona

como efector alostérico para la Hb. La afinidad de la Hb por el O<sub>2</sub> está influida por una serie de variables que incluyen:

- La concentración de protones (pH)
- El CO<sub>2</sub>
- La temperatura
- El 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) 2,3-DPG (Difosfoglicerato) – Derivación de Rapoport-Luebering

En la conformación desoxi de la Hb existe una cavidad lo suficientemente grande como para admitir la 2,3-DPG entre las cadenas  $\beta$ . El 2,3-DPG estabiliza la forma T (la forma tensa de la hemoglobina que tiene menor afinidad por el oxígeno) al formar enlaces cruzados con las cadenas  $\beta$ . Una concentración creciente de ión hidrógeno y de 2,3- DPG favorece la conversión de la forma Hb R (forma relajada de la hemoglobina que tiene más afinidad por el oxígeno) a la forma Hb T y por tanto disminuye la cantidad de oxígeno que se une a la Hb en cualquier concentración de oxígeno. Inversamente, cuando 2,3-BPG no está disponible, o no se une en la cavidad central, la Hb puede convertirse más fácilmente a HbO<sub>2</sub>. Las moléculas de la hemoglobina que se diferencian en la composición de sus subunidades tienen diferentes propiedades de unión al 2,3-BPG con diferentes respuestas alostéricas a 2,3-BPG. Por ejemplo, HbF (la forma fetal de hemoglobina) se une al 2,3-BPG con menor avidéz que la HbA (la forma del adulto de hemoglobina) con el resultado que HbF en los fetos de mujeres embarazadas se une al oxígeno con mayor afinidad que a la HbA de las madre, dando así al feto el acceso preferencial al oxígeno llevado por el sistema

circulatorio de las madres. Las variaciones de concentración del 2,3-DPG desempeñan un papel fundamental en la adaptación a la hipoxia, de manera que en la hipoxemia aumenta este compuesto y la afinidad por el oxígeno declina y el aporte a los tejidos se facilita (Guyton & Hall, 2011).

### **1.3.- ERITROCITOS Y ESTRÉS OXIDATIVO**

Los radicales libres de oxígeno causan daño oxidativo y este se ha visto implicado en la etiología o patología de más de cien enfermedades diferentes, entre las que se encuentran distintos tipos de cáncer, enfermedades cardíacas y vasculares, diabetes y desórdenes neurovegetativos (Martínez, 1995; Aldershvile, 1998). Un radical libre es cualquier molécula que contiene uno o más electrones no apareados. En las células aeróbicas existen diversas vías que conducen a la producción de radicales libres derivados del oxígeno. Las fuentes principales son las enzimas asociadas al metabolismo del ácido araquidónico, como la cicloxigenasa, la lipoxigenasa y la citocromo P-450. La presencia y ubicuidad de enzimas (superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasas) que eliminan productos secundarios de la vía univalente en las células aeróbicas sugieren que los aniones superóxidos y el peróxido de hidrógeno son productos secundarios importantes del metabolismo oxidativo (Rybezynska, 1994). Las especies de oxígeno reactivo pueden lesionar macromoléculas como el ADN, los hidratos de carbono y las proteínas. Los radicales inestables atacan componentes celulares causando daño sobre los lípidos, proteínas y ADN, los cuales pueden iniciar una cadena de eventos que dan como resultado lesión

celular (Aldershvile, 1998). Estos procesos reductivos son acelerados por la presencia de metales de transición como el Fe y el Cu y enzimas específicas, como las monoxigenasas y ciertas oxidasas (Sahnoun, Jamoussie & Zegal, 1997).

Los radicales libres se producen continuamente en el organismo por medio de reacciones bioquímicas de oxidación-reducción con oxígeno (REDOX), que tienen lugar por el metabolismo normal de las células, por los fagocitos, en una reacción inflamatoria controlada y también en ocasiones, como respuesta a la exposición de radiaciones ionizantes, rayos ultravioletas, contaminación ambiental, humo de cigarrillos, hiperóxia y exceso de ejercicio e isquemia (Halliwell, Murcia, Chirico & Aruoma, 1995).

### **1.3.1.- Superoxido dismutasa (SOD)**

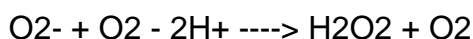
Las superóxido dismutasas (SODs), son un grupo de metaloenzimas presentes frecuentemente en organismos aeróbicos, aerotolerantes y algunos anaerobios obligados. Son esenciales para su defensa contra la toxicidad producida por los metabolitos parcialmente reducidos, generados durante la reducción biológica normal del oxígeno molecular.

Se conocen 3 formas de SODs según el metal que utilizan como cofactor. Estas a su vez pueden dividirse en 2 familias filogenéticas diferentes: CuZn-SODs y Fe/Mn-SODs. Entre ellas no existe homología de secuencias ni de estructuras de orden superior, lo que indica que evolucionaron independientemente en



respuesta a una presión evolutiva común: la presencia del oxígeno y la amenaza de su toxicidad (Squadrito & Pryor, 2000).

Estas enzimas catalizan la conversión del radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) en peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y oxígeno molecular (O<sub>2</sub>), en una de las reacciones catalizadas por enzimas más rápida que se conoce (K= 2 x 10<sup>9</sup> M<sup>-1</sup>S<sup>-1</sup> para la CuZn-SOD).



Como las concentraciones del O<sub>2</sub><sup>-</sup> son normalmente bajas, la reacción depende de su difusión. Sin embargo, la asociación de la enzima con su sustrato no es una simple cuestión de difusión y colisión. La estructura submolecular de la enzima, la distribución de carga electrostática, interacciones de apantallamiento por solventes inter e intramoleculares, y las interacciones hidrodinámicas, pueden afectar tanto la difusión del O<sub>2</sub><sup>-</sup> como su asociación con la enzima. Se ha encontrado que el campo eléctrico de la SOD favorece 30 veces la velocidad de asociación del anión (Squadrito & Pryor, 2000).

Los estudios con mutantes deficientes de la SOD evidencian que la enzima, dentro de este sistema de defensa, tiene una función fundamental. Esta consiste en eliminar el radical superóxido antes de que éste reaccione con moléculas biológicas susceptibles u origine otros agentes tóxicos. El peróxido de hidrógeno generado por la acción de la enzima, es eliminado por la catalasa y/o la glutatión peroxidasa.

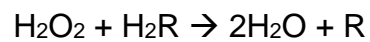
La pérdida de los metales total o parcialmente, provoca ausencia o disminución de la actividad de la enzima. Este es un factor importante a tener en cuenta en el proceso de purificación.

### **1.3.2.- Catalasa**

La catalasa (CAT) (peróxido de hidrógeno: peróxido de hidrógeno oxidoreductasa) es una de las enzimas más abundantes en la naturaleza y se encuentra ampliamente distribuida en el organismo humano, aunque su actividad varía en dependencia del tejido; ésta resulta más elevada en el hígado y los riñones, más baja en el tejido conectivo y los epitelios, y prácticamente nula en el tejido nervioso. A nivel celular se localiza en las mitocondrias y los peroxisomas, excepto en los eritrocitos, donde se encuentra en el citosol (Chance & Maehly, 1955). Esta enzima es una metaloproteína tetramérica, cuyo peso molecular se encuentra en el rango de 210-280kD. Consta de 4 subunidades idénticas que se mantienen unidas por interacciones no covalentes. Cada subunidad contiene un grupo prostético de protoporfirina IX y el contenido protohémico y el de hierro representan un 1,1 % y 0,09 % respectivamente del peso molecular total de la enzima (Hadju, Wyss & Aebi, 1977).

En algunas especies la CAT contiene moléculas de nicotinamín adenín dinucleótido fosfatado en su forma reducida (NADPH) ligadas estrechamente a la enzima; así se ha demostrado que la CAT humana y la de res están ligadas a 4 moléculas de NADPH, 1 en cada subunidad y que no existe interacción directa entre el grupo hemo y el NADPH (Fita & Rossman, 1985).

La CAT como parte del sistema antioxidante está involucrada en la destrucción del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generado durante el metabolismo celular. Esta enzima se caracteriza por su alta capacidad de reacción pero relativamente poca afinidad por el sustrato. Presenta 2 funciones: la catalítica y la peroxidativa. Ambas se pueden representar por la ecuación:



La CAT ha sido ampliamente estudiada en relación con su participación en numerosos procesos patológicos de gran importancia en las investigaciones biomédicas, y está involucrada tanto en la génesis como en las consecuencias de dichos procesos.

En estudios realizados en riñón, la reperfusión que siguió al daño isquémico provoca una pérdida de proteínas de la matriz de los peroxisomas, con drástico compromiso de las funciones de éstos y descenso significativo de la actividad de CAT. La disminución de la actividad durante la isquemia se debe a la formación de un complejo inactivo, mientras que durante la reperfusión hay inactivación, proteólisis o disminución de la síntesis de la enzima (Gulati, 1992).

En pacientes con insuficiencia renal crónica, principalmente en aquéllos que recibieron tratamiento con diálisis peritoneal y hemodiálisis, se encontró una disminución de las enzimas antioxidantes, entre ellas la CAT, a nivel eritrocitario. Esta disminución pudiera ser uno de los factores que propician la hemólisis debido a la peroxidación lipídica en la membrana celular de los eritrocitos (Dura, Akyol & Basesme, 1994).

### 1.3.3.- Glutation Peroxidasa

La glutatión peroxidasa es una enzima selenio (Se) dependiente que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) o lipoperóxido (L-OOH), utilizando como agente reductor el glutatión reducido (GSH). Se conoce que los L-OOH son tóxicos en los tejidos animales y que dan lugar a especies reactivas del oxígeno como los radicales peróxido (L-OO\*), que son compuestos indeseables para los organismos vivos. La GPx, como parte del mecanismo de defensa antioxidante, evita la oxidación de los L-OOH, reduciéndolos en presencia de GSH. Esta reacción produce hidróxidos que son elementos potencialmente dañinos y que al oxidarse se convierten en radicales alcoholóxidos, para los que no se conoce enzima que los metabolice (Lam, Wang, Hong & Treble, 1993; Maiorino, Chu & Ursoni, 1991).

Existen al menos 3 formas de GPx seleno dependientes: una forma intracelular o celular (GPx-c), una extracelular o plasmática (GPx-p) y otra con actividad específica para los fosfolipoperóxidos (GPx-PH) que por lo general está asociada a la membrana y aunque su actividad es la misma, poseen diferencias estructurales (Lam, Wang, Hong & Treble, 1993; Maiorino, Chu & Ursoni, 1991; Zachara, 1991).

La GPx-c y la GPx-p son enzimas tetraméricas; están compuestas por 4 subunidades idénticas entre sí y cada una de éstas contiene un átomo de Se unido covalentemente a una molécula de cisteína. La secuencia de aminoácidos de las subunidades de la GPx-c es diferente a la secuencia de la GPx-p, esta

última además es una proteína glicosilada y posee puentes disulfuros intramoleculares.

La GPx-c se puede localizar en la mitocondria y el citosol de la célula hepática, en el citosol de los eritrocitos formando complejos con la hemoglobina y en el lisosoma de neutrófilos, macrófagos y otras células fagocíticas del sistema inmune (Behne, Scheid & Kyriakopoulos, 1990; Pascual, Martínez, Barcena, López Barea & Toribio, 1992). Se han observado diferencias entre los sexos con respecto a la actividad de la enzima, los niveles de ARNm y las concentraciones de Se en el hígado de ratas y ratones; estas diferencias favorecieron al sexo femenino (Pigeolet & Remacle, 1991; Maiorino, Chu & Ursoni, 1991).

La alteración de la actividad de la GPx provoca un aumento de los niveles de  $H_2O_2$  y de lipoperóxidos, lo que puede ser fatal para la célula y aún más para el organismo, razón por la cual, esta alteración se encuentra implicada en un sinnúmero de enfermedades y procesos fisiológicos.

Por ejemplo, en las células tumorales resistentes a la terapéutica se ha observado un aumento de la actividad de la GPx-c.

En estudios realizados en células tumorales de mama humanas (MCF7) con resistencia selectiva a la doxouribicina y al menogaril disminuyó 2 veces la formación de radicales libres de oxígeno en las células resistentes, al compararlas con las células sensibles en presencia de menogaril. Las células resistentes contienen una actividad 12 veces más alta de GPx que las células sensibles, por lo que la detoxificación del  $H_2O_2$  puede ser responsable de la disminución de la formación de radicales libres y desempeñar un papel

importante en la resistencia al menogaril y a otros citostáticos (Sinha, Atwell & Politi, 1990).

La catalasa (CAT), al igual que la GPx, se encarga de eliminar el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y su localización celular es similar, pero sus mecanismos de regulación son diferentes.

La GPx y la glutatión reductasa (GRd) se encuentran formando parte de un sistema antioxidante (GPx/GRd), y la CAT de otro (SOD/CAT). Se ha observado que ambos sistemas no actúan a la par; la CAT actúa en presencia de altas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la GPx lo hace a concentraciones bajas, lo que demuestra una correlación inversa en la actividad de ambas enzimas. Además, algunas citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF), el interferón (IFN) y la interleukina-1 (IL-1) son capaces de inhibir la actividad de la GPx (Lam, Wang, Hong & Treble, 1993).

#### **1.3.4.- Glutation reductasa**

La glutatión reductasa (GRd) es una flavoenzima dependiente del nicotinamín adenín dinucleótido fosfato reducido (NADPH) que cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH) el cual será utilizado por la glutatión peroxidasa (GPx) para la reducción del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y de lipoperóxidos (L-OOH), los cuales son elementos tóxicos. Es decir, específicamente tiene una función de pivoteo en el estrés oxidativo. Esta se encuentra en todos los organismos aeróbicos así como en algunas plantas superiores por lo que aparenta ser una enzima cuasi universal (Sies, 1999).

La GRd es una enzima homodimérica compuesta por 2 subunidades idénticas entre sí unidas por un puente disulfuro (cis 90-cis 90'); cada subunidad contiene 478 aminoácidos con un peso molecular de 51 569 Daltons, y en su estructura presenta una extensión N-terminal flexible (residuos del 1-18) y 4 dominios estructurales bien definidos (Benzi, & Moretti, 1995):

1. Dominio unido al flavín adenín dinucleótido (FAD) (residuos del 19-157).
2. Dominio de unión al NADPH (residuos del 158-293).
3. Dominio central (residuos del 294-364).
4. Dominio de interfase (residuos del 365-478).

Ambas subunidades presentan residuos esenciales que contribuyen a los sitios activos y de unión al glutatión oxidado (GSSG), por lo que no presenta actividad enzimática en su forma monomérica ya que su sitio de unión para el sustrato y su sitio catalítico están compuestos por residuos de ambas subunidades.4-6

La GRd contiene FAD y un disulfuro en su sitio activo. La reacción catalítica requiere de la reducción del sitio activo por el NADPH, produciendo una semiquinona del FAD, un radical sulfuro y un tiol. Después de la reducción del centro activo por el NADPH, el NADP puede ser liberado antes o después del paso catalítico que involucra al glutatión (Benzi, G. & Moretti, 1995).

El sistema antioxidante GPx/GRd está relacionado con otros sistemas antioxidantes como el superóxido dismutasas/catalasa (SOD/CAT). Se ha observado que ambos sistemas no actúan a la par, la CAT actúa en presencia de altas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y a bajas concentraciones actúa la GPx. La

actividad de la CAT y de la GPx está inversamente correlacionada, mientras que la CAT y la GRd presentan correlación positiva.

La GRd permite mantener concentraciones de GSH en la célula no sólo para ser utilizado por la GPx en la eliminación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; este GSH es de utilidad en la recuperación de las vitaminas C (ácido ascórbico) y E (alfa-tocoferol) luego de participar en la eliminación de radicales libres generados *in situ* o a distancia. El GSH interviene además en la detoxificación de compuestos xenobióticos, el almacenamiento y transporte de cisteína, la regulación del balance redox de la célula, el metabolismo de los leucotrienos y las prostaglandinas, la síntesis de los desoxirribonucleótidos, la función inmunológica y la proliferación celular (Sies, 1999).

Por tanto, la alteración de la actividad de la GRd provocará disminución en las concentraciones de GSH dando lugar a un aumento en los niveles de especies reactivas del oxígeno.

La alteración de la actividad de la GRd y de los niveles de GSH por esta consecuencia se ha reportado en varios procesos patológicos y está asociada con un aumento del riesgo al estrés oxidativo (Benzi, & Moretti, 1995).

#### **1.4.- ERITROCITOS Y EJERCICIO**

La relación entre el plasma y los eritrocitos suele expresarse mediante el valor de hematocrito, que es el nombre que se le da a la fracción de volumen eritrocitario y corresponde con el volumen ocupado por los eritrocitos en relación



al volumen total de sangre. En los capilares, arteriolas y otros pequeños vasos, el valor del hematocrito de la sangre es inferior que en grandes arterias y venas, debido a que los eritrocitos no pueden deslizarse fácilmente por los vasos más pequeños. El valor medio en hombre es del 45% con un margen del 39 al 50% (Lewis, 2008; Vives y Aguilar, 2006).

Los cambios en el hematocrito no reflejan necesariamente los cambios del volumen plasmático y son siempre menores que los cambios del volumen sanguíneo. La comparación de los cambios inducidos por el ejercicio en el hematocrito y la concentración de proteínas plasmáticas han dado resultados contradictorios (Senay, 1970; Astrand y Saltin, 1964). En este sentido Dill y Costill (1974) propusieron la estimación de los cambios del plasma sanguíneo basada en los valores de hematocrito y la concentración de hemoglobina, ya que estos dos parámetros están directamente relacionados (Vives y Aguilar, 2006).

La actividad física durante largo tiempo estimula el crecimiento del volumen global de la sangre. Dicho crecimiento es menos frecuente que el de la cantidad total de hemoglobina. Como consecuencia, el aumento del volumen de la sangre se produce principalmente por cuenta del incremento del volumen del plasma. El volumen de sangre ejerce manifiesta influencia positiva sobre el corazón en la fase diastólica del ciclo cardíaco. A esto contribuye la mayor presión de llenado del corazón en todas las condiciones de su funcionamiento. Con ello el aumento del volumen sanguíneo reduce la carga sobre el miocardio, lo que conlleva una relativa disminución de la frecuencia cardíaca para garantizar igual nivel de volumen del corazón por minuto (Sergeyevich y Dmitriyevich, 2001).

El ejercicio intenso y riguroso transitoriamente se traduce en hemodilución debido al aumento del volumen plasmático que culmina en una disminución transitoria de los niveles de hemoglobina (Hb). A menudo esta respuesta transitoria se corrige gradualmente por el final del ejercicio resultante (DellaValle & Haas, 2011). Se correlaciona con la intensidad, la duración, el tipo y la regularidad deportiva de la actividad que se trate. La anemia ferropénica crónica es mucho más común en las mujeres atletas y está asociada con cansancio, disminución de la capacidad aeróbica y con una capacidad física reducida (Eichner, 2001; Eichner, 2011; Ahmadi, Enayatizadeh, Akbarzadeh, Asadi & Tabatabaee, 2010). Las pérdidas de hierro en el cuerpo son obligatorias y están equilibradas por la absorción de hierro de alimentos en el duodeno bajo la regulación de la hepcidina. La pérdida de glóbulos rojos en mujeres se debe principalmente al sangrado menstrual y, junto con ingesta inadecuada de alimentos, es una causa subyacente de la anemia en las mujeres más jóvenes.

Es común ver en la prensa popular advertencias regulares contra el consumo de carne roja, (debido a su potencial para aumentar el riesgo de cáncer de colon) y esto podría fomentar una ingesta de hierro deficitaria (Genkinger, Friberg, Goldbohm & Wolk, 2012). Las dietas vegetarianas o veganas, en general deficitarias de hierro, se están convirtiendo cada vez más popular entre los adolescentes (Robinson-O'Brien, Perry, Wall, Story & Neumark-Sztainer, 2009), especialmente en las mujeres, a pesar de que ellas tienen un mayor requisito fisiológico de ingesta de hierro (Costa, Schtscherbyna, Soares & Ribeiro, 2012). A menudo se aconseja a las atletas femeninas a una ingesta superior de hierro

a la recomendada, pero esta es una tarea difícil si la ingesta de nutrientes es baja, y esto puede llevar a una situación que requiera del uso de suplementos orales (Karamizrak, Islegen & Varol, 1996). El equilibrio del peso corporal con la regulación dietética es importante para un óptimo ejercicio aeróbico, pero la cantidad y la calidad de las dietas son requisitos fundamentales para la resistencia y la fuerza de los atletas (Jeukendrup, 2011).

Cantidades considerables de hierro podrían perderse en los atletas debido a sangrado del tracto gastrointestinal ya que el estrés podría infligir daños a los revestimientos intestinales, y también debido a los efectos secundarios de medicamentos (analgésicos, antiinflamatorios, etc.) (Waterman & Kapur, 2012). Otras fuentes de pérdidas incluyen lesiones y heridas, como la hemólisis del pie por el impacto del talón contra el suelo, una situación que se desarrolla a partir de la destrucción de las células rojas en los pies debido al frecuente impacto en superficies duras (Janakiraman, Shenoy & Sandhu, 2011). Este impacto podría infligir una hemólisis inducida por el ejercicio significativamente mayor que en otros deportes como el ciclismo (Peeling, Dawson & Goodman, 2009; Tan, Dawson & Peeling, 2012). Entrenar descalzo para mejorar el rendimiento está ganando popularidad entre los atletas y podría acentuar la incidencia de lesiones que conducen a la pérdida de sangre. Otras evidencias se derivan a partir de modelos animales (Frazer, Inglis & Wilkins, 2004) que sostienen que un aumento de la hemólisis estimula la eritropoyesis y aumenta la absorción de hierro. La hemólisis y otras condiciones que mejoran la absorción de hierro afectan negativamente a la función de la hepcidina (Latunde-Dada, Vulpe, Anderson, Simpson & McKie, 2004).

El dopaje sanguíneo para aumentar el rendimiento es conocido desde la Segunda Guerra Mundial. El objetivo de la eritropoyetina (EPO), es aumentar el volumen de glóbulos rojos a fin de mejorar la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre (Eichner, 1992). La EPO es sintetizada por el riñón para regular las células de la sangre del sistema circulatorio y por lo tanto mantener los niveles de oxígeno en los tejidos. Es una hormona natural que induce la eritropoyesis y que puede, por otra parte, ser espacial y temporal en su actividad, y por lo tanto, la administración artificial se puede adaptar para mejorar los resultados específicos del atleta.

La EPO aumenta la resistencia y las formas sintéticas son, por tanto, ilegales en el deporte de competición. Por ejemplo, la EPO humana recombinante (rhEPO) se administra para mejorar la capacidad de fosforilación oxidativa mitocondrial del músculo esquelético en los seres humanos (Plenge, Belhage & Guadalupe-Grau, 2012). Sin embargo, aparte de la ilegalidad, el uso de EPO recombinante, conlleva el riesgo de policitemia (Ou, Salceda S & Schuster, 1998) que se asocia a menudo con una viscosidad sanguínea alta y con problemas cardiovasculares. Este trastorno vascular se agrava con el ejercicio vigoroso y con la deshidratación, particularmente a altas temperaturas (Merry, Ainslie & Cotter, 2010). La administración de rhEPO produce un aumento de la absorción de hierro a través de regulación de hepcidina, dependiente de afluencia de hierro en el sistema circulatorio (Pinto, Ribeiro & Pontes, 2008).

Otra cuestión completamente diferente es la creencia establecida entre los atletas de que la ingesta de suplementos de hierro aumenta los glóbulos rojos y posteriormente aumenta la resistencia y el rendimiento durante el ejercicio (Rodenberg, 2007). Desafortunadamente, el consumo excesivo de suplementos de hierro puede conducir a la sobrecarga de hierro que podría exacerbar el daño en moléculas reactivas del oxígeno, en tejidos y órganos. Los estudios han correlacionado unos niveles elevados de ferritina sérica en ciclistas administrada por vía oral y parenteral a través del uso de suplementos de hierro (Deugnier, Loreal & Carre, 2011).

Como la hepcidina es un regulador negativo de la absorción de hierro, el nivel de esta hormona en suero se ve elevada en situaciones de exceso de hierro para inhibir la absorción del mismo (Ramos, Ruchala & Goodnough, 2012). Por lo tanto, en el intento de mantener la homeostasis, se prevé que los niveles de hepcidina en plasma variarán considerablemente con el uso habitual de suplementos de hierro. Las consecuencias de los efectos acumulativos de la hepcidina supone alteraciones en el metabolismo de hierro, pero esto no está muy estudiado. Los suplementos de hierro son prescritos y recomendados sólo en situaciones de deficiencia de hierro y anemia (Schumann, Ettle, Szegner, Elsenhans & Solomons, 2007; Zoller & Vogel, 2004). Con la ingesta dietética adecuada de hierro, el cuerpo de un atleta sano se encontrará en condiciones para cumplir con la respuesta fisiológica de los desafíos impuestos por el ejercicio (Liu, Duan, Chang, Wang & Qian, 2006).

## 1.5.- MINERALES Y ELEMENTOS TRAZA

Speich (2001), hizo una revisión de varios minerales (el sodio, el potasio, el calcio, el magnesio, el fósforo), elementos traza (el zinc, el manganeso, el selenio, el cobre, el hierro, el cobalto, el yodo, el cromo, el flúor, el plomo, el cadmio) y otras variables biológicas (el óxido nítrico, la L-carnitina, glutamina, el suero receptor de transferrina) en relación con efectos hemólicos, tensión, la respuesta inmune e infecciones durante actividades físicas y deportivas. En atletas, el zinc protege contra los efectos del aumento de las especies reactivas de oxígeno libres, igual ocurre con el cobre y manganeso (Cu-Zn superóxido dismutasa; Mn superóxido dismutasa). El selenio en glutatión peroxidasa protege el sistema cardiovascular y los músculos, y ayuda a combatir las enfermedades alérgicas e inflamatorias. El cobre y el hierro están involucrados en muchos aspectos del metabolismo energético y son componentes importantes en la síntesis de hemoglobina, mioglobina y citocromos. El cobre protege los ligamentos y los tendones. La actividad física parece ser beneficioso para los residentes urbanos que están expuestos a la contaminación por metales (plomo, cadmio). Los datos citados en esta revisión son a menudo contradictorios e incompletos. Aún no está claro en muchos casos cómo se involucran los minerales en los cambios fisiológicos, por lo que aún queda mucho por hacer en este campo.

En base a estudios consultados vemos que el ejercicio de larga duración, realizado durante un periodo de tiempo prolongado y a un alto nivel, puede conllevar a ciertas adaptaciones y mejoras pero también a posibles déficits

debido a un mayor requerimiento, sobre todo, en los sistemas antioxidantes así como en los niveles de minerales de los deportistas.

El grupo de investigación Fisiología, Química Analítica y Salud Comunitaria (FIQASAC) ha desarrollado durante años una línea de investigación relacionada con el efecto que produce el ejercicio físico sobre el organismo, centrándose en el estrés oxidativo y los cambios en las concentraciones de metales generados con el ejercicio.

Los minerales son nutrientes esenciales que permiten al organismo formar y mantener las estructuras corporales y regular los procesos metabólicos. Los minerales suponen el 6% de la composición corporal de un humano y junto con las vitaminas, forman el grupo denominado micronutrientes. Si nos referimos a la funcionalidad de los minerales como nutrientes, debemos mencionar que pueden cumplir una función estructural o una función de regulación del metabolismo. Debido a que se excretan a diario por el sudor, la orina y las heces, los minerales deben ser reemplazados a través de la alimentación (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007).

Los organismos han desarrollado su bioquímica interna en estrecha relación con la composición del medio ambiente que les rodea. Los seres humanos, a diferencia de los procariotas y otros organismos inferiores, no son capaces de adaptarse fácilmente a cualquier cambio en la composición química de su entorno. Así, cambios en las concentraciones de elementos traza son de vital

importancia, ya que el equilibrio homeostático de los elementos químicos en un organismo es el requisito básico de la buena salud. Este equilibrio está controlado por factores tales como la biodisponibilidad de un elemento, la capacidad de los tejidos u órganos para acumular y excretar dicho elemento y por las interacciones entre los diferentes elementos que pueden variar de antagónico a sinérgico dependiendo principalmente de su relación cuantitativa (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007).

*Tabla 1. Consecuencias de las deficiencias y excesos de algunos elementos traza esenciales (Plumlee y Ziegler, 2003; Abernathy y cols. 1993).*

<b>Elemento</b>	<b>Deficiencia</b>	<b>Exceso</b>
<b>Co</b>	Anemia, anorexia.	Cardiomiopatía, defectos medulares, exceso de glóbulos rojos.
<b>Cu</b>	Anemia y defectos tisulares.	Hepatitis necrótica, hemólisis, hiperglicemia.
<b>Cr</b>	Cr <sup>3+</sup> metabolismo de la glucosa defectuoso. Hiperlipidemia.	Lesiones en piel, mucosa intestinal, edema pulmonar, cáncer de pulmón.
<b>F</b>	Caída de dientes, crecimiento retardado.	Fluorosis, efectos variables, manchas en el esmalte dental.
<b>Fe</b>	Anemia.	Siderosis, hemocromatosis, fallo cardíaco.
<b>I</b>	Bocio, función neurológica aceptada.	Hipertiroidismo.



<b>Li</b>	Depresión.	Deterioro del sistema nervioso central, efectos cardiovasculares y renales.
<b>Mo</b>	Queratosis. Crecimiento retardado.	Molibdenosis, defectos en el metabolismo del cobre, diarrea.
<b>Mn</b>	Deformidades esqueléticas y en cartílagos.	Manganismo, desórdenes neurológicos, cirrosis hepática.
<b>Se</b>	Miopatía cardíaca.	Selenosis. Daños en hígado y riñón, toxicidad fetal. Cáncer.
<b>V</b>	Defectos en los dientes.	Trastornos nerviosos.
<b>Zn</b>	Anemia, anorexia, queratosis, efectos teratogénicos	Anemia, lesiones en tejidos.

Los oligoelementos (del griego: reducido, pequeño) constituyen un grupo de micronutrientes presentes en el organismo en cantidades inferiores a 0,01% del peso corporal total. Asimismo se les denomina elementos traza, aunque esta terminología se utiliza generalmente cuando se les relaciona con su análisis, ya que se trata de la detección de concentraciones en partes por millón (ppm) y ultratraza cuando su cuantificación se encuentra en partes por billón (ppb) (Negretti de Brätter y cols, 1995).

Las enfermedades y/o deterioro metabólico son atribuibles, en algunas ocasiones, dado que no es sencillo evaluar deficiencias o excesos de elementos traza en las primeras etapas del desarrollo. Además, a menudo, los efectos de

un suministro e ingesta desequilibrado pueden ser muy variables (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007).

### **1.5.1.- Minerales traza en la salud humana**

Teniendo en cuenta que los principales minerales son los que están presentes en el organismo en mayor proporción en los tejidos, por lo que tienen que ser aportados en mayores cantidades (más de 100 mg) por la dieta. Se los conoce también con el nombre de macrominerales. Se incluyen en este grupo: azufre, calcio, fósforo, magnesio, potasio, y sodio. Los elementos minoritarios (o minerales traza) son igualmente necesarios para el organismo, pero en cantidades mucho menores. Los requerimientos de ingesta diaria por el hombre son menores de 100 mg. Se conoce también como microminerales, se incluyen en este grupo: zinc, cobalto, cobre, cromo, flúor, hierro, manganeso, molibdeno, selenio, yodo. Existen otros elementos que han sido encontrados en los tejidos vivos en cantidades mínimas, se desconoce su papel fisiológico y sus fuentes no están identificadas. Actualmente no se sabe si son esenciales para el hombre, aunque han sido utilizados terapéuticamente. Estos elementos son: arsénico, boro, cadmio, níquel, silicio, titanio y vanadio (Mataix y Carazo, 2005).

En el organismo humano siete elementos: hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre y cloro representan aproximadamente el 98,1% del peso, mientras que el resto no supera el 1,9%. Del 1,9% del peso del organismo humano que constituyen los elementos minerales, la práctica totalidad (1,89%)

corresponde a los cuatro elementos mayoritarios: sodio, potasio, calcio y magnesio. Los elementos traza, con escasa representación, totalizan entre todos, no más que un 0,012% (8,61g) del peso corporal de un individuo de altura 1,70 m y 70 kg de peso (Harper y cols., 1978).

Se define a un elemento o mineral traza como aquél que representa unos ingresos dietéticos menor del 0,01% de la masa corporal o aquél que precisa unos ingresos dietéticos inferiores a 100 mg/día (Schroeder y Nason, 1971).

También, y de una manera arbitraria, una sustancia se considera como elemento traza si su concentración en el organismo es igual o inferior a 25µg por gramo de tejido o, expresado de otra forma, cuando representa menos del 0,01% de la masa corporal (Hernández, 1999).

La distinción entre elementos minerales mayoritarios o macroelementos y elementos traza suele hacerse en función de las necesidades dietéticas diarias o, como propuso en su momento la IUPAC (1976), según su concentración en suero o plasma. Así, los elementos minerales mayoritarios son aquéllos que el organismo humano precisa en cantidades mayores de 100mg/día o que se encuentran en concentraciones superiores de 100µg/mL en suero o plasma, mientras que los elementos traza son aquéllos que el ser humano precisa en concentraciones menores de 100mg/día o que presentan concentraciones en plasma o suero inferiores a 100µg/mL. Se denominan elementos ultratrazas aquéllos cuyos requerimientos son inferiores a 1 mg/día o que se encuentran por

debajo de 0,01µg/g. Los progresos recientes en las técnicas analíticas han permitido un conocimiento más preciso de las funciones, requerimientos y consecuencias de las deficiencias y aportes excesivos de algunos de estos nutrientes, aunque de otros se desconoce casi todo y no se sabe si son esenciales para nuestra especie, incluso algunos son potencialmente tóxicos y forman parte de contaminantes ambientales (WHO/IPCS, 2002; WHO, 1996).

Los elementos traza son multifuncionales, y actúan en:

1. Actividad catalítica.

2. Configuración estructural y reguladora de múltiples estructuras (hormonas, enzimas, membranas biológicas); por ello su déficit o exceso provocan síntomas genéricos, no específicos a nivel sistémico.

La principal fuente de exposición a los elementos traza, como hemos comentado con anterioridad es el ambiente (dieta, aire, agua), aunque su mayor o menor presencia en el organismo depende fundamentalmente de sus características fisicoquímicas. Desde el punto de vista nutricional, la consideración de metales y metaloides o no metales es irrelevante. Resulta por el contrario de importancia decisiva conocer si un elemento participa o no en reacciones bioquímicas o procesos fisiológicos y en el caso de intervención en cuáles lo hacen. A este respecto, el francés Gabriel Bertrand, en el siglo XIX (1894), es quien utiliza por primera vez el término oligoelemento (oligo = escaso), no sólo señalando la escasa cantidad y participación de los mismos en el organismo, sino que intuyó su persistencia normal desempeñando un papel “*esencial*” en los seres vivos

“bien como constituyentes de enzimas, bien sirviendo en la síntesis de las mismas”. El término esencialidad ha servido para dar paso a nuevas precisiones en la clasificación de los elementos que forman parte de los seres vivos, contando no sólo el aspecto cuantitativo, sino el cualitativo de su necesidad. Así, Underwood (1987) divide los elementos traza, de acuerdo con los requerimientos dietéticos de los animales superiores, en tres grupos: esenciales, posiblemente esenciales y no esenciales.

Tal clasificación es muy semejante a la de Schroeder y Nason (1971), que consideran que los elementos traza pueden dividirse en dos grupos: los que participan en reacciones bioquímicas necesarias (elementos traza esenciales) y los que no lo hacen.

Al referirnos en el presente estudio a los minerales traza, lo hacemos como minerales que intervienen en la salud humana. Clasificaremos los elementos traza en:

a. Esenciales:

Presentan unas propiedades fisicoquímicas similares (corresponden en su mayoría a la primera serie de transición), lo que determina su función y distribución en el organismo. Los elementos traza esenciales son vanadio, molibdeno, cromo, manganeso, hierro, cobalto, níquel, cobre, zinc, silicio, yodo, selenio y flúor. Una buena homeostasis de los elementos traza es muy importante para mantener las concentraciones fisiológicas dentro del intervalo óptimo para que desempeñen su función biológica, evitando aumentos o

disminuciones que provocarían toxicidad o déficit. La ingesta baja de un elemento traza reconocido provoca una enfermedad por su deficiencia. Cuando se incrementa su ingesta con suplementos dietéticos se recuperan las funciones biológicas al alcanzar sus concentraciones óptimas en el organismo. Si se aumenta más la ingesta podría darse un efecto adverso tóxico. La ventana de concentraciones que separa la ingesta dietética beneficiosa de la ingesta tóxica depende del elemento en cuestión y de la naturaleza de las especies químicas presentes en la dieta (Baran, 1995).

b. No esenciales:

- *No tóxicos*: a las concentraciones que se encuentran habitualmente en el medio ambiente no son tóxicos. Entre ellos tenemos: arsénico, boro, litio, estaño, vanadio, bismuto, cesio, platino, rubidio, antimonio y estroncio.

- *Tóxicos*: producen una alteración indeseable en el organismo, que puede ser reversible o irreversible e incluso puede llegar a ser letal. El ejemplo más conocido es el plomo, que es tóxico a cualquier concentración que se encuentre en el organismo y no tiene ninguna función biológica conocida. Se incluyen aquí: berilio, cadmio, plomo, renio, telurio, talio y wolframio.

Muchos de los elementos no esenciales son tan omnipresentes en el medioambiente que son fácilmente detectables en los tejidos del cuerpo humano y fluidos. Algunos son relativamente benignos, pero otros, como el plomo, cadmio, mercurio y arsénico, son muy tóxicos incluso en concentraciones consideradas tan pequeñas como para no dejar rastro.

Sin embargo, es importante destacar que todos los elementos, incluyendo los que se consideran esenciales, pueden ejercer efectos tóxicos si están presentes por encima de un umbral de concentración crítica. A la inversa, cuando un elemento esencial está presente en una concentración por debajo de la requerida para el crecimiento normal y saludable, dicha deficiencia también se asocia con efectos adversos para la salud (Savory y Wills, 1992).

Por lo tanto, la toxicidad de cualquier elemento dependerá de su concentración, duración y vía de exposición, así como de la forma química. El análisis del estado nutricional de los elementos esenciales y la evaluación de la exposición de los individuos a los elementos tóxicos son realizados por los laboratorios clínicos. La evaluación de la exposición humana a elementos químicos o sus metabolitos en el medio ambiente es el control biológico y se realiza mediante la medición de estos elementos en muestras humanas, como sangre y orina. Esta evaluación difiere de la práctica del control biológico de enfermedades profesionales a la exposición a metales tóxicos. La distinción es que, los métodos de control biológico son optimizados para la determinación de concentraciones muy bajas, mientras que métodos desarrollados para el seguimiento profesional son optimizados para la determinación de concentraciones más altas.

Continuando con los anteriores estudios de nuestro grupo de investigación que han precedido la realización de ésta tesis doctoral, se adaptó la clasificación basada en las fuentes de Escanero (1998) y Parsons y Barbosa (2007).

Tabla 2. Clasificación propia elaborada a partir de Escanero (1998) y Parsons y Barbosa (2007)

Elementos con interés para la salud humana	
1. Macroelementos esenciales	<b>Mg</b> , Si, <b>P</b> , Na, K, Ca, <b>Fe</b> , S, Cl
-----	
2. Minerales traza esenciales	
-----	
2.1.1. Con probadas funciones de esencialidad.	Co, Cr, <b>Cu</b> , F, <b>Mn</b> , <b>Mo</b> , Ni, <b>Se</b> , I, <b>Zn</b> .
-----	
2.1.2. Con función esencial sospechada, pero mecanismo de acción desconocido.	B, Br, Li, V.
-----	
3. Minerales traza tóxicos	Al, <b>As</b> , Be, <b>Cd</b> , Hg, Nb, <b>Pb</b> , Re, Te, Ti, Tl, U, W.
-----	
4. Otros minerales traza	Au, Bi, Cs, Pt, Rb, Sb, Sr

Los elementos destacados en negrita corresponden a los valorados en el presente estudio.

### 1.5.2.- Actividad física y minerales

Destacando la importancia de los minerales, como elementos químicos simples cuya presencia e intervención es imprescindible para la actividad de las células, entendemos que su contribución a la conservación de la salud es esencial, y hemos considerado de gran relevancia afrontar aspectos relacionados con el metabolismo y la actividad física inmediatamente antes de afrontar la conexión



de la misma con dichos elementos minerales en el control y conservación de funciones enzimáticas y metabólicas.

A continuación se detallan los diferentes elementos traza implicados en este estudio, y su relación, con la salud, la actividad física y el entrenamiento de alto nivel.

#### **1.5.2.1.- Macroelementos esenciales**

Seguidamente nos centraremos en los macroelementos esenciales, dentro de los cuales citaremos al magnesio (Mg), fósforo (P) y Hierro (Fe).

##### **Magnesio (Mg)**

Entre el magnesio y el calcio existen estrechas relaciones, pudiendo producirse tanto fenómenos de sinergismo como de antagonismo. En el hueso, el magnesio forma parte de la estructura mineral, junto con el calcio y el fosfato.

Además, participa en los procesos de intercambio de estos minerales entre el hueso y otros tejidos. Regula la osificación y el equilibrio fosfocálcico, es esencial para que el calcio se fije adecuadamente y no se deposite en forma de cálculos.

Regula el nivel de calcio por acción indirecta sobre las glándulas paratiroides. Disminuye la solubilidad del fosfato cálcico y aumenta la solubilidad del carbonato cálcico (Gil, 2004; Guyton y Hall, 2001).

En los tejidos blandos, el magnesio tiene múltiples funciones, muchas de ellas similares a las del calcio. Por ejemplo, participa en la contracción de los músculos, secreciones de glándulas y transmisión de los impulsos nerviosos.

Además, las enzimas que liberan la energía metabólica almacenada como ATP precisan de magnesio, al igual que las implicadas en el metabolismo de otras moléculas fosforiladas ricas en energía.

Es importante para una normal excitabilidad muscular, al igual que el calcio. Estimula la contracción de la fibra muscular lisa. Tiene acción sobre el sistema circulatorio equilibrante y protectora contra los infartos. Estimula la contractilidad cardíaca. Es un factor de crecimiento y un regenerador tisular que influye sobre el anabolismo. Además, el magnesio tiene acción estimuladora sobre el peristaltismo intestinal, desodoriza las heces, aumenta la secreción biliar, tiene acción colagoga y colerética y forma parte de los jugos pancreáticos e intestinales.

El magnesio disminuye la excitabilidad del sistema nervioso central, fenómeno que se puede producir, por ejemplo, en la insuficiencia renal. Las acciones

específicas del magnesio consisten en inhibir la liberación de la acetilcolina y contrarrestar el efecto oxidante de los iones de potasio en la placa motriz.

Este mineral participa en el metabolismo de los hidratos de carbono, activando enzimas del proceso glicolítico y la oxidación de la glucosa (fosforilación oxidativa), y también otras muchas enzimas como la fosfatasa alcalina, hexokinasa, fructokinasa, fosforilasas y fosfoglucomutasa. Interviene en el metabolismo de las proteínas, actuando como cofactor de su síntesis en los ribosomas. La traducción de la secuencia de bases para la obtención de la secuencia de aminoácidos se encuentra bajo la dependencia de las concentraciones de magnesio y de calcio. También interviene en la transferencia de grupos metilo (transmetilación), y es cofactor en las reacciones de descarboxilación (Fox, 2003).

Por otro lado, disminuye la alcalinidad de la sangre y acidifica la orina. Tiene una participación fundamental en la actividad electrolítica de las células, en el equilibrio ácido-base y en los fenómenos de óxido-reducción. Juega un importante papel en la respiración celular y en los intercambios celulares.

Es un antiséptico interno y externo. Participa en procesos de anafilaxia. Posee acción antiinflamatoria y antiinfecciosa. Estimula la fagocitosis y es indispensable para la acción de los anticuerpos. Mejora la resistencia al estrés por traumatismos e intervenciones quirúrgicas. Mejora el funcionamiento psíquico y la resistencia a la fatiga. Aumenta la actividad genésica y la libido.

La ansiedad, la hiperemotividad y el insomnio producen una descarga de magnesio intracelular. Reequilibra el psiquismo y el sistema vegetativo, tiene acción vagolítica.

Por último, el magnesio contribuye a la estabilización de la doble hélice de ADN, neutralizando las cargas de los grupos fosfato de los nucleótidos que tienen tendencia a separarse. La selectividad de la replicación del ADN está ligada a la presencia de iones de magnesio. Este mineral también interviene en la transcripción del ADN y en la actividad de la ARN polimerasa. La PTH (paratohormona) actúa sobre el magnesio de forma semejante a como lo hace sobre el calcio.

El magnesio es el segundo catión en abundancia del medio intracelular y está considerado, como un mineral mayoritario, siendo su contenido de unos 25 g en el cuerpo adulto. De este total, un 65-70% está en los huesos, que también constituyen una reserva de magnesio, al igual que el músculo en forma tanto de fosfato como de carbonato. El resto se localiza en el interior de las células de los tejidos blandos, en una concentración de 15 µg/L, donde participa en la utilización de la energía metabólica, y en menor proporción en el plasma (1,4-2,5 mg/mL), de éste último, alrededor del 80% está ionizado y es difusible, el resto está ligado a proteínas séricas. Los músculos contienen más magnesio que calcio, al contrario que la sangre. Para que el magnesio penetre en las células

es indispensable que exista piridoxina (B6). Con la edad, el contenido de magnesio del organismo tiende a disminuir (Guyton y Hall, 2001).

El magnesio de la dieta se absorbe por término medio en un 45%, concretamente en el intestino delgado, mediante dos tipos de procesos difusivos: uno facilitado, pero no activo y otro pasivo. Este último parece ser el dominante y, en los intervalos habituales de ingesta, el contenido de magnesio soluble en el lumen es el principal factor de control de la absorción. Cuando aumenta el aporte disminuye la absorción relativa, aunque aumenta la cantidad total absorbida. No parece existir una regulación hormonal de la absorción de magnesio. Existe una cierta competencia entre la absorción de calcio y la de magnesio: así, cuando disminuyen los aportes del primero, aumenta la absorción de magnesio. Un 75% del magnesio sérico es ultrafiltrable y sólo una pequeña fracción forma complejos o se encuentra unida a proteínas, principalmente la albúmina, mediante una unión dependiente del pH. El contenido de magnesio iónico es importante desde el punto de vista fisiológico y se mantiene en un intervalo estrecho de valores, aunque, según se ha mencionado ya, no se halla sujeto a control hormonal alguno, siendo el riñón el principal responsable de las concentraciones séricas de magnesio. El riñón conserva de forma muy eficiente el magnesio cuando los aporte dietéticos se reducen, contribuyendo así al mantenimiento de la homeostasis (Farré, 2006).

En cierta proporción también es absorbido por el estómago. El restante 55% es excretado en heces. El calcio y los factores que inhiben la absorción del calcio

(fosfato, álcalis, exceso de grasa) también dificultan la del magnesio, mientras que la PTH incrementa su absorción (Pérez y cols., 2010).

Se sabe muy poco acerca de la absorción de magnesio procedente de distintas fuentes dietéticas, viéndose dificultados los estudios de biodisponibilidad por la falta de un isótopo satisfactorio. La corta semivida del radioisótopo  $^{28}\text{Mg}$  (21,3 h) restringe su uso en los estudios de absorción, puesto que las recolecciones de heces deben llevarse a cabo durante periodos de tiempo más largos que los adecuados para la detección óptima de  $^{28}\text{Mg}$  por métodos distintos de los del conteo corporal (Schwartz, Spencer y Welsh, 1984).

Mediante estudios de balance se ha puesto de manifiesto la influencia de distintos factores dietéticos sobre la biodisponibilidad del magnesio. Entre los componentes que la favorecen debe mencionarse a las proteínas y los aminoácidos (Schwartz, Spencer y Welsh, 1984), y entre los inhibidores los fosfatos, los fitatos y la fibra dietética (Kelsay, Behall y Prather, 1980).

Durante estos últimos años se ha estudiado la biodisponibilidad de distintas sales de magnesio comparando la cantidad de magnesio eliminada en orina de 24 horas cuando se administra un placebo y distintos componentes de magnesio. La biodisponibilidad del óxido de magnesio es inferior a la del citrato (Lindberg y Zobitz, 1990) o la del Mg-L-aspartato-HCL (Muhlbauer y cols., 1991). No se detectan diferencias entre Mg-lactato, citrato e hidróxido (Bohmer y cols, 1990), pero el orotato de magnesio tiene una mayor biodisponibilidad que el

hidroxicarbonato de magnesio (Schlebusch cols., 1992). El magnesio de las almendras, alimento muy rico en este elemento, tiene una biodisponibilidad muy similar a la del acetato soluble de magnesio (Fine y cols., 1991).

La excreción de magnesio se lleva a cabo por vía fecal, urinaria y biliar. La excreción fecal es cuantitativamente la más importante. A través de la misma se elimina del 50 al 80% del total excretado. El riñón conserva eficientemente el magnesio, eliminándose tan sólo unos 60- 120 mg/día en la orina. Varios son los factores que regulan la excreción renal de magnesio: las suprarrenales, las paratiroides, la hipófisis y el equilibrio ácido-base (acidosis) facilitan la excreción tubular distal de iones de magnesio. La aldosterona aumenta la permeabilidad renal para este catión, al igual que lo hace con el potasio, para conservar el sodio.

Las ingestas recomendadas de magnesio son de 350 mg/día para los varones, 300 mg/día para las mujeres, y unos 150 mg/día para los niños. Las recomendaciones se incrementan durante el embarazo y la lactancia hasta los 400 mg/día. En la dieta, la relación entre el magnesio y el calcio es fundamental para la retención de ambos minerales.

En principio, buenas fuentes de magnesio son los vegetales, pues este mineral forma parte de la molécula de clorofila (cuyo anillo tetrapirrólico puede proteger al magnesio de los inhibidores dietéticos), en la que desempeña un papel

biológico esencial, comparable al que tiene el hierro en la hemoglobina. Las nueces y otros frutos secos, así como las hortalizas y los cereales son ricos en magnesio, pero contiene fitatos y oxalatos que disminuyen su biodisponibilidad.

El chocolate, por ejemplo, contiene unos 385 mg/100g, pero también contiene oxalatos (124mg/100g) (Pérez y cols., 2010).

En los cereales la mayor parte del magnesio se localiza en la capa de aleurona, probablemente en forma de fitatos de calcio y magnesio o de potasio y magnesio, y el resto como fosfato y sulfato. La eliminación del germen y de las capas más externas de los cereales provoca pérdidas de magnesio superiores al 80% (Farré, 2006).

La mayoría de las frutas de consumo habitual, a excepción de los plátanos poseen magnesio. El aumento del consumo de productos de origen animal, pobres en magnesio y de cereales refinados, junto con la disminución del consumo de leguminosas, explica la disminución de la ingesta de magnesio a lo largo de estos últimos años (Farré, 2006). Alimentos de origen animal con alto contenido en magnesio son los productos lácteos (quesos, leche, yogur), huevos y pescados.

Las deficiencias marginales de magnesio son difíciles de detectar puesto que todavía no se ha identificado el pool tisular en equilibrio con el contenido corporal de magnesio. Los parámetros indicadores más frecuentemente utilizados son la



concentración sérica de magnesio, la excreción en orina de 24 horas y la excreción urinaria tras una carga intravenosa de magnesio. La concentración sérica de magnesio se halla comprendida en el intervalo 0,7 a 1,0 mmol/L en adultos. Es el indicador del estatus más frecuentemente utilizado, aunque en principio sólo es válido en las deficiencias primarias de magnesio, siendo además poco sensible e inespecífico. El suero contiene únicamente un 0,3% del magnesio corporal total, y de éste el 55% se halla en forma iónica libre, el 13% en forma de complejos y el resto, 32% unido de forma inespecífica a la albúmina y a las globulinas. En las determinaciones debe utilizarse suero y no plasma, puesto que los anticoagulantes pueden estar contaminados por magnesio (Farré, 2006).

El contenido de magnesio de los eritrocitos es unas tres veces superior al del plasma y refleja el estatus crónico. No se correlaciona con otros pools corporales de magnesio. Las concentraciones de magnesio de los leucocitos parecen prometedoras como indicadores del estatus corporal de este elemento.

Evidentemente la determinación es mucho más laboriosa que en el caso del suero puesto que implica una separación o aislamiento de los leucocitos previa a la determinación (Farré, 2006).

Junto con la excreción fecal, comentada, otra vía importante de excreción del magnesio absorbido es la renal. Las cantidades de magnesio excretadas en orina de 24 horas oscilan entre 120 y 140 mg, en personas que reciben una dieta

mixta, dicha excreción se reduce en aquellas personas cuyos depósitos son bajos o se hallan deplecionados, como resultado del efecto compensador de conservación de magnesio por los riñones. Por ello, el magnesio en orina de 24 horas se ha utilizado como indicador del estatus de magnesio, en principio, conjuntamente con la prueba de carga de magnesio. Éste se considera el ensayo más fiable para el diagnóstico de su deficiencia, siempre y cuando la función renal, el equilibrio de fluidos y la función cardiovascular sean normales. Se determina la excreción basal de magnesio y a continuación los contenidos de magnesio en dos muestras consecutivas de orina de 24 horas, tras administrar una dosis de magnesio (Farré, 2006).

Se considera un déficit de magnesio cuando su concentración plasmática es menor de 1 µg/L, y generalmente se produce cuando existe hipocalcemia e hipopotasemia (Pérez y cols., 2010). Entre las distintas causas que pueden originar déficit de magnesio, se encuentran: aporte insuficiente de magnesio en la dieta, especialmente por el elevado consumo de productos cultivados químicamente, alcoholismo (disminuye la absorción y aumenta la excreción en heces), vómitos frecuentes, diarrea, malabsorción intestinal, poliuria, diuresis excesiva por diuréticos, alimentación parenteral prolongada, y una gran diversidad de patologías, como la enfermedad de Addison, enfermedades ulcerosas, pancreatitis aguda, insuficiencia renal crónica, cirrosis, cáncer, diabetes mellitus, nefritis crónica, insuficiencia cardíaca, acidosis metabólica, hiperaldosteronismo, hiperparatiroidismo e hpotiroidismo (Pérez y cols., 2010).

La hipomagnesemia puede ocasionar multitud de alteraciones, entre las que se encuentran: fatiga, tetania, espasmos, temblor, convulsiones, irritabilidad

neuromuscular, agitación, confusión, vértigos, trastornos simpáticos, alteración en el ECG, accidentes cardiovasculares, trombosis, trastornos del metabolismo glucídico, disminución de las reservas de glucógeno en hígado y músculo, y disminución del metabolismo del calcio, y este puede depositarse en exceso en miocardio, riñón, paredes vasculares, etc. (Pérez y cols., 2010).

La hipermagnesemia aparece en situaciones patológicas como la insuficiencia renal aguda, la enfermedad de Addison, o la nefritis crónica, ocasionando somnolencia, arritmias cardíacas, y depresión del sistema nervioso central, entre otros síntomas (Pérez y cols., 2010). El exceso de magnesio puede combatirse por inyección de calcio.

Siempre que la función renal sea normal, la ingesta de cantidades altas de magnesio no se estima peligrosa, pero en situaciones de insuficiencia renal la retención de magnesio dará lugar a hipermagnesemia (Venugopal y Luckey, 1978). Entre los signos precoces de ésta cabe mencionar las náuseas, los vómitos y la hipotensión. Cuando el trastorno se agrava aparecen bradicardia, vasodilatación cutánea, alteraciones electrocardiográficas, hiporreflexia y depresión del sistema nervioso central. En los casos más graves de hipermagnesemia puede producirse depresión respiratoria, coma y paro cardíaco en asistolia (Mordes y Wacker, 1978). Son muy poco probables los trastornos por hipermagnesemia de origen dietético; la etiología suele ser terapéutica.

### Magnesio y ejercicio físico

Uno de los nutrientes que más atención ha recibido en relación a la actividad física o el ejercicio, es el magnesio. Esto no sorprende debido a que el magnesio está implicado en numerosos procesos que afectan a la función muscular, incluyendo la absorción de oxígeno, la producción de energía (ATP y fosfocreatina) y el equilibrio electrolítico (sodio, potasio y calcio).

El efecto del ejercicio físico sobre los requerimientos y utilización del magnesio, así como el efecto de la suplementación con el mismo sobre el rendimiento físico, ha sido estudiado en numerosos estudios (Lukaski, 2004; Bohl y Volpe, 2002; Laires and Monteiro, 2001; Lukaski, 2001; Newhouse y Finstad, 2000; Lukaski, 2000; Dreosti, 1995; Golf, Böhmer y Nowacki, 1994; Golf, 1993), sobre todo a partir de que en 1983 se observara que la suplementación con magnesio evitaba los numerosos espasmos musculares que sufrían las tenistas femeninas con el ejercicio intenso (Liu, Borowski y Rose, 1983)

Los efectos del ejercicio físico sobre la distribución y la excreción de magnesio han sido ampliamente estudiados (Laires y Monteiro, 2001; Lukaski, 2001).

Diversos estudios observaron que a corto plazo, el ejercicio de alta intensidad aumenta los niveles de magnesio en plasma transitoriamente, volviendo a los valores basales al día siguiente, asociándose este aumento con la disminución del volumen plasmático (Bohl y Volpe 2002). Este aumento de los niveles plasmáticos de magnesio también se ha observado tras un ejercicio moderado de larga duración o tras un ejercicio anaeróbico, sugiriéndose el daño muscular

como la causa de este aumento, debido a la observación de la actividad sérica de la creatina quinasa (Meludu y cols., 2002). También se ha sugerido la transferencia de magnesio almacenado a nivel muscular al fluido extracelular durante la contracción, similar a lo que ocurre con el potasio.

Al estudiar los efectos de la práctica de ejercicio de resistencia de larga duración (maratón o esquí de fondo), se ha observado una disminución plasmática y sérica de los niveles de magnesio (Bohl y Volpe, 2002; Buchman y cols. 1998; Kawabe y cols. 1998), en contraste con lo que ocurre como efecto del ejercicio a corto plazo y como respuesta al ejercicio de alta intensidad. Esta disminución general retorna a valores normales en un día, y se atribuye a un movimiento del magnesio entre distintos compartimentos corporales así como a un aumento de la excreción a través del sudor y la orina. Independientemente de la naturaleza del efecto, el cambio en los niveles extracelulares de magnesio reflejan que el cuerpo responde al ejercicio físico redistribuyendo el magnesio hacia lugares en donde pueda haber una mayor necesidad metabólica por una mayor producción energética y por la necesidad de contrarrestar el estrés oxidativo (Nielsen y Lukaski, 2006).

Debido a que el magnesio extracelular supone sólo un 1% de los niveles totales de magnesio, es poco probable que un cambio transitorio en los niveles plasmáticos de magnesio, como consecuencia de la práctica de ejercicio físico, indique un estado alterado de los niveles de magnesio. Esta idea se apoya en los resultados de un estudio (Westmoreland y cols., 2004) que indica que el

estatus de los niveles de magnesio afecta a la magnitud y dirección del cambio en los niveles plasmáticos de magnesio. Se sometió a un grupo de sujetos a una prueba de esfuerzo antes y después de una dieta con un alto contenido en magnesio. Antes de la dieta, se observaron pequeños aumentos o disminuciones en los niveles plasmáticos de magnesio, como respuesta al ejercicio, sin encontrarse correlación entre estos cambios y los niveles basales. Tras la dieta, se observaron un aumento significativo en los niveles plasmáticos de magnesio, inducido por el ejercicio, correlacionando con los niveles basales. Resultados similares a éstos se han observado cuando se aplica una dieta con restricción en los niveles de zinc (Lukaski y cols., 1984)

Aún no ha sido identificado definitivamente el compartimento corporal responsable de la disminución transitoria de los niveles de magnesio extracelular. Se han sugerido los eritrocitos, los adipocitos o miocitos como sitio principal de destino del magnesio trasferido desde suero o plasma, sugiriéndose que tal vez todos los sitios estén implicados basándonos en la necesidad de magnesio para los procesos bioquímicos implicados por la práctica de actividad física.

Diferentes estudios confirman que se produce un flujo de magnesio durante y después de la realización de ejercicio físico aeróbico (Figura 10). El magnesio se distribuye desde el plasma hasta los adipocitos y la musculatura esquelética activa en el ejercicio. El grado de traslocación del magnesio extracelular está modulado por la intensidad del ejercicio aeróbico, de la que dependerá la

producción o demanda energética. Inmediatamente a la finalización del ejercicio aeróbico, se produce una redistribución del magnesio desde los tejidos hasta la circulación. El magnesio se moviliza desde el tejido óseo, muscular y adiposo para restaurar los niveles plasmáticos de magnesio previos al ejercicio (Figura 11). El nivel de magnesio liberado desde el músculo esquelético dependerá en gran medida del grado de daño muscular, estando relacionado por tanto, con la intensidad y duración del ejercicio realizado. Aunque existen mecanismos para que se produzca una reabsorción a nivel tubular del magnesio, y así evitar las pérdidas urinarias de este elemento, tras el ejercicio la excreción urinaria de magnesio es elevada en comparación con los niveles previos.

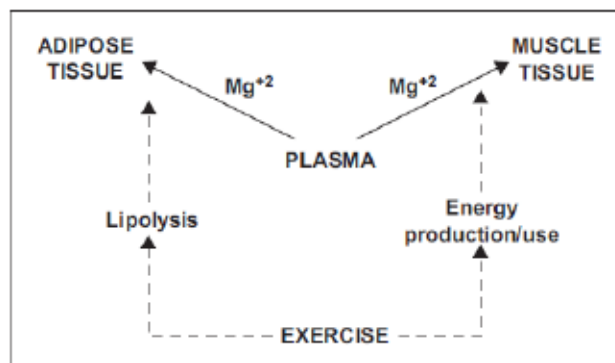


Figura 10. Redistribución del magnesio durante la realización de ejercicio físico aeróbico

(Nielsen and Lukaski, 2006)

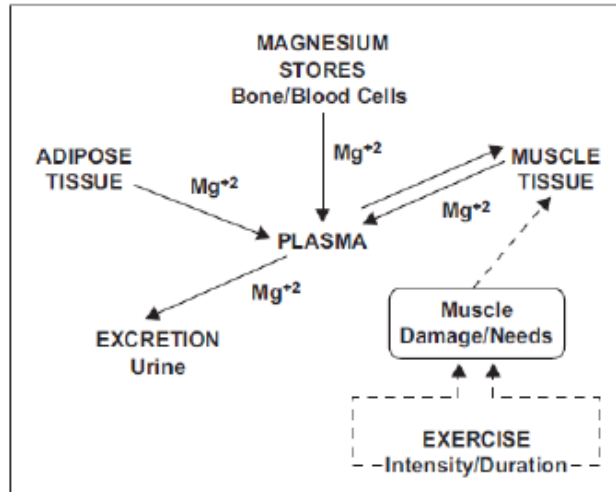


Figura 11. Redistribución del magnesio tras la realización de ejercicio físico aeróbico (Nielsen and Lukaski, 2006)

La afirmación de que el ejercicio físico provoca un aumento de las necesidades de magnesio se basa en una mayor pérdida a través del sudor y la orina tras un ejercicio de corta duración y alta intensidad o tras el ejercicio de larga duración.

El ejercicio físico aumenta significativamente la excreción urinaria de magnesio.

Tanto a largo como a corto plazo, el ejercicio de alta intensidad contribuye a una mayor eliminación, retornando a los valores iniciales un día después en el caso del efecto agudo de la práctica de actividad física (Bohl y Volpe, 2002; Meludu y cols., 2001) Sin embargo, otros estudios han encontrado que la excreción urinaria de magnesio disminuye tras la realización de ejercicio físico (Llerena, 2011). Así Monteiro y cols. (2004) observó una reducción en los niveles de excreción urinaria de magnesio dos horas después a la realización de una sesión en tapiz, regresando a los niveles previos a las 48 horas.



También se han observado reducciones en la eliminación urinaria de magnesio tras una carrera de maratón (Buchman y cols., 1998; Kawabe y cols., 1998) y tras una prueba de esfuerzo en cicloergómetro (Vlcěk y cols., 1989).

En mujeres practicantes de karate se ha observado una menor excreción urinaria de magnesio con respecto a un grupo de controles. Sin embargo, existen evidencias de las mayores pérdidas urinarias de magnesio como consecuencia de la práctica de ejercicio físico extenuante a largo plazo. Así las mujeres practicantes de balonmano y baloncesto presentaban mayores niveles urinarios de magnesio que el grupo control (Nuviala y cols., 1999) La explicación que se sugiere para explicar este hecho es que la reabsorción tubular de magnesio se reduce (Bohl y Volpe 2002). El aumento de la producción de ácido láctico, da lugar a una acidosis metabólica que causa magnesuria, sugiriéndose el ácido láctico como causa de la disminución de la reabsorción tubular de magnesio. Estas hipótesis se basan en el hallazgo de la correlación existente entre los niveles urinarios de magnesio y los niveles de lactato en sangre a corto plazo tras un esfuerzo de alta intensidad (Deuster y cols., 1987).

### **Fósforo (P)**

Además de la función plástica que posee el fosfato junto con el calcio en el organismo, constituyendo los cristales de hidroxapatita y formando parte estructural del esqueleto y de los dientes, este mineral desempeña muchas e importantes funciones en los tejidos blandos. Así, juega un papel importante en

el metabolismo de los hidratos de carbono, contribuyendo a la absorción intestinal de la glucosa mediante el proceso de fosforilación, en el cual el fosfato se combina con la glucosa. Estimula la reabsorción tubular renal de glucosa mediante el mismo proceso. Se une a los lípidos constituyendo los fosfolípidos, que forman parte estructural de todas las membranas celulares.

El fósforo es necesario para multitud de reacciones en las que se requiere energía, siendo básico en la producción de moléculas energéticas como el ATP, fosfato de creatina y fosfoenolpirúvico. Forma parte del músculo e interviene en su metabolismo. Colabora en el transporte de los ácidos grasos, formando parte de los fosfolípidos plasmáticos. Constituye parte de los ácidos nucleicos, ADN y ARN, y de varios fosfátidos que intervienen en numerosos procesos biológicos, asimismo, se encuentra en el AMP cíclico, que actúa como un segundo mensajero intracelular, y en otros nucleótidos libres.

Este mineral contribuye al control del equilibrio ácido-base en la sangre, formando parte del tampón fosfato, e igualmente es importante su papel amortiguador en el líquido intracelular, pero especialmente en el líquido extracelular, en la luz de los túbulos renales, donde neutraliza los hidrogeniones excretados por la bomba renal de protones. Por otro lado, el fósforo forma parte del tejido nervioso, siendo indispensable para su adecuado funcionamiento, así como para el mantenimiento de la actividad intelectual y sexual.

El fósforo es el sexto mineral más abundante en el organismo (600-900g), representando el 0,8-1,1% del peso total del cuerpo. De su contenido corporal total, el 80% forma parte, junto con el calcio, de la estructura mineral del hueso y el diente; del resto, la mayoría se encuentra en los tejidos blandos y en baja proporción (1%), disuelto en el líquido extracelular. Al igual que ocurre con el calcio, en una situación de hipofosfatemia, el fosfato es cedido por el hueso, que actúa como reservorio de este mineral, aunque la regulación de su concentración en plasma es menos precisa que la del calcio.

En el organismo, la mayor parte del fósforo que no forma parte de los huesos y dientes aparece en forma de sales inorgánicas ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{HPO}_4^{=}$ ) y orgánicas. El fosfato inorgánico es más ionizable y difusible a través de las membranas que el orgánico. En el plasma, donde se puede encontrar unido a calcio, magnesio, sodio y proteínas, su concentración es de 3-4,5 mg/dL en los adultos, mientras que en los niños, ésta es algo mayor (4-7 mg/dL). En los tejidos blandos, el fósforo forma parte de fosfolípidos, nucleótidos, ácidos nucleicos, enzimas, etc. (Farré, 2006; Farré y Pons, 1999).

La bilis y el jugo pancreático, lo mismo que el jugo intestinal, contienen una considerable proporción de fósforo, y contribuyen a mantener el equilibrio entre la ingestión de fósforo y su excreción fecal (Pérez y cols., 2010).

La absorción del fosfato está estrechamente ligada a la del calcio, aunque al parecer, éste es absorbido más eficientemente que el calcio. Por término medio,

se absorbe el 70% del fosfato total presente en una dieta mixta. La vitamina D aumenta su absorción por el intestino delgado. Aunque la capacidad de absorción del duodeno y del yeyuno sea más elevada, debido a la mayor longitud del íleon, la mayor parte del fósforo se absorbe en este tramo del intestino. Los fosfatos de sodio o de calcio son poco o nada asimilables, circunstancia que puede agravarse al tomar una dieta rica en calcio o en cloruro de magnesio.

Durante la infancia y la adolescencia, el balance de fósforo es positivo, al igual que para el calcio, permitiendo el incremento del tejido óseo. Como ya se ha indicado, ambos iones son indispensables para la formación, mantenimiento y mineralización del hueso. Las dosis elevadas de vitamina D, el hipertiroidismo, la ACTH, los glucocorticoides y los preparados sintéticos de cortisona pueden ocasionar osteoporosis, porque destruyen la matriz orgánica y liberan fosfato desde el hueso. La vitamina D acelera la transferencia del fosfato inorgánico del tejido óseo. La excreción del fosfato se produce por vía renal y tracto gastrointestinal. El riñón mantiene una relación entre el fósforo excretado y el fósforo presente en el plasma. La hormona paratiroidea (PTH) moviliza el fosfato del hueso y aumenta su excreción por los túbulos renales. La vitamina D actúa en sentido contrario. Sin embargo, a dosis elevadas aumenta la pérdida de fosfato. La PTH bloquea la reabsorción del fosfato cuando éste aumenta en relación con la concentración de calcio en sangre. La absorción intestinal de los fosfatos está menos finamente regulada que la del calcio y presenta dos diferencias importantes con respecto a la de este elemento: a) la absorción neta es tres veces mayor en el caso del fósforo; b) el proceso de absorción pasiva, no saturable, tiene mayor importancia en el caso del fósforo; se ha demostrado que,

en el intervalo normal de ingestas dietéticas de fósforo, la absorción es función lineal de su concentración en el lumen. Aunque cuando las ingestas son bajas, la acción de la vitamina D puede favorecer la absorción transcelular de fósforo. Aunque calcio y fósforo tienden a absorberse de forma paralela, los sistemas de transporte pueden bloquearse de forma independiente, lo que indicaría mecanismos de regulación distintos. No se ha identificado en el intestino una proteína de transporte específica para el fósforo, aunque la elevada actividad de la fosfatasa alcalina intestinal y su variación en la absorción de fósforo parecen indicar un posible papel de esta enzima en el transporte de dicho elemento. La eficacia de absorción de fósforo, junto con su amplia difusión en los alimentos, hace que las deficiencias de este elementos por ingesta inadecuada sean raras (Pérez y cols., 2010; Farré, 2006).

Un 10% del fósforo circula en sangre unido a proteínas y el resto en forma de fosfatos inorgánicos, cuatro quintas partes como anión divalente  $\text{HPO}_4^{2-}$  y un quinto como  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , siendo el contenido de  $\text{PO}_4^{3-}$  extraordinariamente bajo. En consecuencia, alrededor del 90% del fósforo de la sangre es ultrafiltrable. No existe un mecanismo de control homeostático similar al del calcio para el fósforo plasmático, ni tampoco, caso de ser necesario, un mecanismo movilizador del fósforo del tejido óseo. Por ello, las concentraciones séricas de fósforo pueden sufrir importantes variaciones con la edad, dieta, el pH y la acción de distintas hormonas. No obstante, una concentración adecuada de fósforo es crítica para el mantenimiento de la relación calcio/fósforo y por tanto para la mineralización (Farré, 2006).

El principal mecanismo de control de la fosforemia es el sistema renal. El riñón desempeña un importante papel en el mantenimiento de la fosforemia gracias a las variaciones en la reabsorción tubular. El fósforo sufre en el riñón filtración glomerular y reabsorción tubular. Habitualmente se reabsorbe en la nefrona, principalmente en el túbulo proximal, un 85% de la carga filtrada, siendo este transporte dependiente del pH y de las concentraciones de sodio. La reabsorción se produce mediante un mecanismo activo y saturable, por lo que, cuando se alcanza la capacidad de transporte máxima, todo el exceso de fósforo filtrado se excreta por la orina (Farré, 2006).

La regulación del fósforo en nuestro organismo está muy relacionada con la del calcio, por lo que se recomienda la ingestión de ambos minerales en una relación 1:1, es decir, unos 800 mg/día (considerando una biodisponibilidad estimada del 30%), excepto en los lactantes, en los que la proporción de fósforo debe ser más baja que la del calcio (Pérez y cols., 2010).

El fósforo se encuentra ampliamente difundido en la naturaleza en forma de fosfatos, tanto en el reino mineral como en el vegetal y el animal. Buenas fuentes de este mineral son carnes, pescados, leche y sus productos derivados, frutos secos, legumbres, cereales, etc. Además, son muy ricos en fósforo los alimentos procesados tecnológicamente, pues se les añaden diversos aditivos que contienen este mineral. Los fosfatos se utilizan abundantemente en especial en derivados cárnicos y en bebidas refrescantes, como aditivos alimenticios (Pérez y cols., 2010; Farré, 2006).

En la determinación del fósforo es importante no utilizar muestras hemolizadas puesto que el contenido de fosfatos de los eritrocitos es mucho más alto que el del suero o del plasma. Los contenidos de fósforo eritrocitario varían con la edad, siendo mayores en los niños (4,6 mg/dL) que en los adultos (3,5 mg/dL) (Farré, 2006; Harrison, 1984).

No suelen darse situaciones de carencia de fósforo. En realidad, el fósforo abunda en todos los alimentos, como ya se ha dicho, y se absorbe en el intestino en una proporción relativamente alta en comparación con la del calcio, salvo que existan problemas de regulación del fósforo en el organismo, son muy raras las situaciones carenciales de este mineral.

La hipofosfatemia aparece en algunas situaciones patológicas como en las afecciones intestinales con dificultad de absorción del fósforo (sprúe y enfermedad celiaca), en el hiperparatiroidismo primario, en los trastornos del balance calcio-fósforo por raquitismo y osteomalacia, en el hiperparatiroidismo por aumento de la excreción renal de fósforo, o bien por deficiente ingesta en la dieta. Los síntomas característicos de la hipofosfatemia son debilidad muscular, alteraciones óseas, raquitismo y osteomalacia (Farré, 2006).

La hiperfosfatemia no se suele dar por ingestión excesiva en individuos sanos, pero si en ciertas enfermedades como insuficiencia renal, hipoparatiroidismo,

glomerulonefritis aguda y crónica, en casos de crecimiento excesivo de los huesos, como sucede en los niños de bajo peso al nacer y en los acromegálicos, y también aparece tras la administración demasiado rápida por vía endovenosa de fosfato. El exceso de fósforo es responsable de síntomas fundamentalmente musculares, como la tetania (Pérez y cols., 2010).

### Fósforo y ejercicio físico

Aunque la deficiencia de fosfato puede ocasionar diversos problemas de salud, como osteoporosis, apenas encontramos estudios sobre el suplemento con fosfato en el ámbito de la salud, debido a que los casos de deficiencia son muy raros. Pero por otro lado, sí que se ha prestado atención al uso de suplementos de sales de fosfato como posible ayuda ergogénica para el rendimiento deportivo.

Parece ser que el suplemento con sales de fosfato incrementa los niveles de 2,3-DPG (difosfoglicerato) (Bremner y cols., 2002). La cantidad de lactato producida en una carga estándar de ejercicio disminuyó, lo que indica un transporte de oxígeno más eficiente a los músculos.



### **1.5.2.2.- Elementos traza esenciales**

A continuación nos centraremos en los elementos traza esenciales, dentro de los cuales citaremos al cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), selenio (Se) y Zinc (Zn).

#### **Cobre (Cu)**

Es un mineral esencial cuya función principal está muy cerca con la función del hierro. En su conjunto estudios realizados en humanos han establecido que el cobre es requerido para el crecimiento, los mecanismos de defensa, mineralización ósea, maduración de glóbulos rojos y blancos, transporte de hierro, metabolismo de la glucosa y desarrollo cerebral. Organismos tan diversos como levaduras y mamíferos componen los mecanismos necesarios en la regulación del metabolismo del cobre, evitando el exceso y déficit dentro de un rango bastante amplio de ingesta. Esto asegura, así, una correcta función de las enzimas y proteínas.

Los estudios de las bases bioquímicas de la esencialidad del cobre han mostrado que un importante número de proteínas muestra una actividad óxidoreductasa que depende de la presencia del cobre. Forma parte de diversas oxigenasas, tanto intra como extracelulares, entre las que cabe destacar la citocromo oxidasa, el componente terminal de la cadena transportadora de electrones de

la membrana interna de la mitocondria de todas las células de los mamíferos. Otras proteínas que también contienen cobre en sus estructuras son la superóxido dismutasa citosólica (SOD), que además contiene zinc, implicada en el metabolismo y eliminación de los potencialmente perjudiciales aniones superóxido, y la ceruloplasmina, proteína que aloja la mayor cantidad de cobre extracelular (plasmático y del líquido intersticial); la ceruloplasmina ejerce una cierta actividad oxidasa, muy débil e inespecífica, pero que puede tener importancia en los procesos de transferencia de hierro contenido en los depósitos celulares (sobre todo en la ferritina del tejido hepático) a la molécula de transferrina, la cual transporta hierro a la médula ósea y a otros lugares del organismo, se ha postulado que la ceruloplasmina intervine en la oxidación del  $Fe^{++}$  (presente en los depósitos de ferritina) a  $Fe^{+++}$ , con lo que el catión, en su forma más oxidada, puede ahora unirse a la molécula de transferrina.

Las funciones del cobre son muy diversas y se desarrollan a diferentes niveles. Así, actúa a nivel de la síntesis de la hemoglobina, permite la utilización del hierro por parte de la hemoglobina y actúa sobre el hemo frente a otros metales como el plomo (Langauer-Lewowicka y Kazibutowska, 1991). También interviene en el desarrollo del tejido conjuntivo.

En los seres humanos se distribuye en todo el cuerpo y participa en una serie de cambios fisiológicos y procesos del sistema nervioso central, al igual que en funciones, del tejido conectivo y el desarrollo de los vasos sanguíneos,

pigmentación, desintoxicación de las especies reactivas de oxígeno, sinaptogénesis y las funciones mitocondriales.

En términos de valores medios, el ser humano adulto contiene, del orden de 50-80 mg de cobre total en su organismo, y por tanto, su concentración corporal es notablemente inferior a la del hierro o zinc.

El contenido corporal del cobre en condiciones normales está posiblemente regulado por mecanismos homeostáticos; sin embargo, es también posible que tales mecanismos sean insuficientes en situaciones carenciales del catión, o en caso de padecer determinadas enfermedades, por otra parte en caso de consumo excesivo de cobre, el organismo tiene capacidad para almacenar sólo pequeñas cantidades del elemento. Desde el punto de vista de la masa corporal, se puede considerar que el hígado, tejido muscular y sangre, albergan la mayor cantidad de cobre del organismo, aunque, desde luego, pueden encontrarse cantidades más reducidas del elemento en otras células y tejidos.

El cobre isotópico administrado por vía oral aparece rápidamente en el plasma, lo que hace pensar que debe existir un lugar de absorción rápida a nivel intestinal, apareciendo el máximo de absorción entre los 90 y 150 minutos (Cousins, 1985; Gutteridge, 1981). La mayor parte del cobre absorbido atraviesa la pared intestinal y es captado por la albúmina durante las primeras horas de su administración. En la primera fase del transporte del cobre, interviene también la transcupreína. Se trata de una proteína de alto peso molecular, menos

abundante que la albúmina (Weiss y Linder, 1995; Barrow y Tanner, 1988; Lau y Sarkar, 1984), pero que tiene una elevada afinidad por el cobre y se la considera responsable del transporte del 15% del cobre absorbido.

En la sangre el cobre se distribuye principalmente entre eritrocitos y el plasma.

Alrededor de un 60% del cobre eritrocitario se encuentra en la superóxido dismutasa, estando el 40% remanente unido laxamente a otras proteínas y aminoácidos (Iskandar y cols, 2005).

El hígado es el principal órgano que recibe el cobre absorbido y el lugar principal de excreción. Permite la acumulación de concentraciones elevadas cuando la ingestión es excesiva, de forma que puede acumularse cobre en este órgano durante largos períodos de tiempo. El hígado juega un papel fundamental en el control del metabolismo de este mineral. El tejido hepático remueve el cobre desde la circulación, atrapándolo en proteínas quelantes de este mineral, las cuales lo transfiere a cuproenzimas y a la ceruloplasmina. El cobre es devuelto a la circulación extrahepática unido principalmente a la ceruloplasmina. Una proporción del mismo es almacenada en el hígado unido a metaloenzimas, superóxido dismutasa citosólica y otras proteínas ligantes. El exceso es excretado en la bilis.

Los valores de referencia encontrados en bibliografía de excreción urinaria para este elemento son de 4-30  $\mu\text{g/L}$  (Heitland y Köster, 2006). La concentración de

cobre en sangre completa varía entre 0,8-1,6 mg/L y curiosamente es más alta en mujeres que en hombres (Kabata-Pendias y Pendias, 1999).

El cobre está ampliamente distribuido en los alimentos y su contenido es alto en mariscos, carnes, nueces, judías, productos de grano entero. Una taza de cereal de grano entero contiene casi 8% del valor diario, o 18% del RDA del adulto. El cobre también se puede encontrar en el agua potable, particularmente el agua blanda, que viene en tuberías de cobre. Alrededor de 30 a 40% del cobre es absorbido, pero este porcentaje puede aumentar según las reservas corporales del cobre (Williams, 2005).

El Comité Científico de Alimentación Humana de la Comisión Europea recomendó en 1992 un aporte nutricional mínimo de 0,6 mg/día para los adultos y de 0,2-0,3 mg/día para los niños y un límite de seguridad de 10 mg/día. La ingesta de cobre en la dieta supone 2 mg/día, de la cual se absorbe 1 mg. La homeostasis del cobre se regula por la absorción intestinal y la excreción biliar. La absorción y excreción se estiman entre 1 y 5 mg/día. Por la orina se eliminan pequeñas cantidades de cobre y se producen pérdidas pequeñas por el sudor.

El adulto normal contiene entre 70 y 100 mg de cobre (Danks y cols., 1972). La absorción de cobre por vía intestinal depende de la liberación de los compuestos complejos en los que va integrado en la dieta.

El cobre es necesario para la actividad de alguna de las enzimas como la SOD Zn/Cu citosólica, que intervienen en la captura de radicales libres. Una perturbación del metabolismo del cobre tiene como consecuencia la disminución de la eficacia del sistema de protección contra el estrés oxidativo, y permite así comprender el efecto terapéutico del cobre lo que le hace ser interesante para la artrosis (Blouin y Vignon, 2008).

En la hipertensión se producen alteraciones del estatus del cobre, como hipercupremia (Cleggs y cols., 1987), al tiempo que se ha observado una correlación positiva entre la eliminación urinaria de cobre y la presión sistólica (Srikumar y cols., 1992; Staessen y cols., 1991).

Los pacientes diabéticos y obesos no dependientes de insulina tienen concentración baja de cobre en suero y eritrocitos (Chen y cols., 1991; Walter y cols., 1991). El estudio realizado por Speich y cols. (1992) señalan la ausencia de correlación de cobre en plasma en hijos de madres diabéticas, mientras si existe en los hijos de madres sin diabetes.

La deficiencia de cobre, modifica la eficacia de liberación del hierro de la mucosa duodenal, produciendo pérdida de peso y anemia hipocrómica microcítica. La deficiencia adquirida de cobre es el principal problema de salud relacionado con este mineral. Ocurre principalmente en lactantes, aunque también ha sido descrito en otras edades, incluso en adultos y es la consecuencia de bajos depósitos de cobre al nacer, consumo de dietas con bajo contenido en cobre y/o

baja disponibilidad, aumento de las necesidades (crecimiento, embarazo) y aumento de las pérdidas. Las alteraciones del estatus de cobre pueden ocasionar diversos procesos patológicos por déficit y exceso de cobre.

Así mismo, si se vierte cobre libre a la sangre da lugar al depósito inadecuado del elemento en otros tejidos y afectando de manera importante al tejido nervioso (Stremmel, 1992).

La intoxicación con cobre puede ser crónica o aguda. Las intoxicaciones pueden ser por causas genéticas como en la enfermedad de Wilson, aunque también pueden presentarse por motivos ocupacionales debido a la exposición prolongada. Los efectos de la exposición prolongada crónica del cobre se han descrito en experimentación animal (Kumar y Sharma, 1987; MacDonald, 1984).

### Cobre y ejercicio físico

Lukaski y cols. (1990) y Mena y cols. (1991) indicaron que el entrenamiento físico aumenta la actividad superóxido dismutasa citosólica que contiene cobre, y al parecer, las reservas corporales de cobre son adecuadas para soportar un aumento de esta enzima antioxidante. Sobre la suplementación con cobre en individuos que realizan actividad física, Clarkson (1991) concluye que no existe necesidad de suplementación. Posteriormente, mantiene que el ejercicio no compromete el estatus del cobre, siempre y cuando se mantenga una dieta

adecuada en micronutrientes. Otros autores que estudian un grupo sometido a un ejercicio intenso de natación, al tiempo que suplementan sus dietas con elementos traza, han observado que a efectos del estatus del cobre, no encuentran variaciones en la actividad superóxido dismutasa eritrocitaria, así como tampoco se alteraron otros indicadores del estatus de cobre, como el hematocrito y la hemoglobina (Lukaski y cols., 1990).

Sin embargo, Singh y cols. (1991) consideran que debe producirse una redistribución de los elementos traza, para aquellos grupos de deportistas sometidos a ejercicio físico intenso. Singh y cols. (1991) encuentran que después de un período de estrés físico y psicológico, se producen elevaciones sensibles de ceruloplasmina, probablemente por aumento la síntesis hepática de esta proteína (Cannon y cols., 1986; Dinarello, 1984; Pepys y Baltz, 1983).

Este aumento puede deberse a que la ceruloplasmina actúa como antioxidante durante la inflamación, evitando la agresión del tejido por los radicales libres (Goldestein y cols., 1979). Por otra parte, se sabe que la inactividad produce cambios en la distribución de los elementos traza, entre ellos el cobre.

Algunas investigaciones prestan especial atención a los efectos del ejercicio sobre la función de los minerales traza pero no hay conclusiones firmes en ciertos elementos como el cobre (Lukaski y cols., 1990). En teoría, la función de las metaloenzimas de cobre puede ser muy importante para aumentar el rendimiento físico. Por ejemplo, la oxidasa mitocondrial, citocromo oxidasa,



cataliza el paso final en la respiración aeróbica. Además, las enzimas del cobre (ceruloplasmina y superóxido dismutasa intra y extracelular) tienen funciones antioxidantes (Fridovich, 1995). Tal función puede reducir el estrés oxidativo de los radicales libres, que se cree que contribuyen a la fatiga y retrasan la recuperación muscular (Hasegawa y cols., 1997; Karlsson, 1997).

### **Manganeso (Mn)**

El manganeso es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre y está presente naturalmente en rocas, suelo, agua y alimentos. Es un elemento esencial para los seres humanos, animales y plantas, y es necesario para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento de la salud. Es un elemento esencial, pero también tiene el potencial de producir efectos neurotóxicos cuando, según la ruta y la dosis de exposición, se acumula en el organismo, especialmente en el cerebro. El manganeso está presente en los alimentos, las concentraciones más altas se encuentran en las nueces, cereales, legumbres, frutas, verduras, cereales y té, pero también está presente en niveles bajos en el agua potable (ATSDR, 2000; Pennington y cols., 1986). La ingesta diaria es 2-9 mg/día para adultos (WHO, 2004; ATSDR, 2000).

El manganeso es necesario para una gran variedad de funciones metabólicas incluidas las que participan en el desarrollo del sistema esquelético, del metabolismo, la activación de determinadas enzimas, la función del sistema nervioso e inmunológico, la función de las hormonas reproductivas. Es un

antioxidante, componente necesario de metaloenzimas tales como la manganeso superóxido dismutasa, arginasa, fosfoenolpiruvato decarboxilasa, y la glutamina sintetasa (GS) (Aschner y Aschner, 2005). GS es una enzima que convierte el glutamato en glutamina (Prohaska, 1987).

El manganeso forma parte de la superóxido dismutasa (SOD) mitocondrial, una enzima fundamental en el sistema de defensa antioxidante celular que cataliza la misma reacción que la enzima SOD citosólica, concretamente la conversión del anión superóxido a peróxido de hidrógeno. Actualmente se considera que muchos de los daños ocasionados por la deficiencia de manganeso ocurren por efectos tóxicos de la acumulación del anión superóxido. La mayor parte de las enzimas activadas por el manganeso también lo son por el magnesio. El manganeso se relaciona con la formación del tejido conjuntivo esquelético, y por tanto con la formación del hueso, el crecimiento y la reproducción, así como el metabolismo de los hidratos de carbono, de los lípidos (colesterol) y de los aminoácidos (Navarro y cols., 2005).

El manganeso corporal es mucho menos abundante que el magnesio, hierro, zinc o cobre, y su absorción intestinal muy reducida. Contenido medio en el cuerpo (70 kg) entre 12-16mg (Linder, 1978).

A lo largo de la vida, las concentraciones tisulares de manganeso se mantienen relativamente constantes. La excreción corporal del catión, al igual que sucede con el hierro, zinc y cobre, se realiza fundamentalmente a través de la bilis y

secreciones pancreáticas. La concentración total de manganeso en hígado es de 1,92 mg, alrededor de 1000 veces menos que el de magnesio. El manganeso aparece libre en las células hepáticas en una concentración de 10,99 a 54,9 g; está ligado débilmente y no intercambiable y el resto, ligado firmemente a las proteínas.

Su principal vía de excreción es la bilis, apareciendo sólo una pequeña cantidad en la orina. La excreción urinaria permanece constante y es de más de 7 ng/g de creatinina (Goullé y cols., 2005).

Los alimentos ricos en manganeso son los cereales, la legumbres y, en general, los de origen vegetal (2-20 µg/g). La carne posee alrededor de 0,2 µg/g y los pescados 0,05 µg/g (Schroeder, 1966). La dieta normal contiene entre 2 y 9 mg/día, cantidad que corresponde, aproximadamente, con la dosis aconsejada (2,5-5 mg/día) por la National Academy of Sciences.

Las concentraciones típicas en este elemento en los alimentos oscilan entre 0,2 µg/g, en fuentes pobres en este mineral, como las carnes, productos lácteos y pescado, y 20 µg/g en frutos secos, cereales, legumbres y granos enteros, donde se encuentra en elevada proporción. Las verduras y las frutas frescas suelen contener cantidades intermedias (0,2-2 µg/g). El té y el café presentan concentraciones relativamente altas en manganeso, pudiendo éstos constituir hasta el 10% de la ingesta para algunas personas (Navarro y cols., 2005).

Los mecanismos de absorción del manganeso parecen ser similares a los del hierro. En un segundo paso, el manganeso es transportado vía intracelular hasta la sangre portal, en donde se une a la  $\alpha$ -microglobulina o a la albúmina, o forma complejos de  $Mn^{2+}$  con compuestos de bajo peso molecular. En ambos pasos el manganeso compite con el hierro y el cobalto. El manganeso es rápidamente captado por el hígado y en parte oxidado a  $Mn^{3+}$ , donde es exportado por la transferrina o posiblemente también por una proteína denominada transmanganina hasta los tejidos periféricos y captado por un proceso mediado por receptores.

Los datos disponibles sobre los efectos fisiológicos que resultan de la deficiencia de manganeso están limitados prácticamente a los resultados obtenidos en animales, la deficiencia de manganeso en los animales tiene efectos significativos en la producción de ácido hialurónico, condroitín sulfato, heparina, y otras formas de mucopolisacáridos que son importantes para el crecimiento y el mantenimiento del tejido conectivo, cartílago y hueso (Zlotkin y cols., 1995). Sólo unos pocos casos de deficiencias de manganeso se han descrito en humanos, con síntomas que incluyen dermatitis, retraso en el crecimiento del cabello y las uñas, disminución de los niveles séricos de colesterol y de los niveles de coagulación, inducida por la deficiencia de manganeso en sujetos adultos masculinos por la administración de una dieta deficiente en manganeso durante 39 días (Finley y cols., 2003; Friedman y cols., 1987).

El manganeso es el menos tóxico de los elementos traza cuando se ingiere por vía oral, por tanto nos hace pensar que su mayor toxicidad es por inhalación. El compuesto principal del manganeso orgánico es metilciclopentadienilo tricarbonilo manganeso (MMT). La combustión de gasolina que contenga este aditivo puede producir emisiones de partículas submicrónicas  $Mn_3O_4$ , que penetran profundamente en las zonas bronquiales del aparato respiratorio. La alta exposición al manganeso en el aire se ha asociado con graves efectos neurotóxicos (Iregren, 1999). La exposición crónica a la inhalación de relativamente altos niveles de manganeso se ha asociado con efectos adversos neurológicos. Lo mismo sucede tras la ingestión de niveles altos o exposición crónica en el agua potable. La neurotoxicidad clínica del manganeso se puede dar en pacientes que reciben nutrición parenteral a largo plazo y en pacientes con disfunción hepática crónica o insuficiencia renal, como consecuencia de su incapacidad para eliminar. (Santamaría, 2008).

El consumo de una dieta deficiente en manganeso provoca convulsiones en ratas, lo que demuestra la importancia del manganeso en la función neuronal (Hurley y cols., 1963). La deficiencia de manganeso, aunque rara, puede causar defectos de desarrollo, incluyendo malformación de los huesos, alteraciones macromoleculares en el metabolismo y reducción de la fertilidad (Aschner y Aschner, 2005). El aumento de las concentraciones de manganeso en el cerebro puede ocurrir por una gran variedad de condiciones, y contribuir a la morbilidad humana derivados de la exposición ocupacional, iatrogénica, y medio ambiental.

### Manganeso y ejercicio físico

Se ha observado que el ejercicio físico aumenta la actividad de la superóxido dismutasa (MnSOD) a nivel del miocardio (Yamashita y cols., 1999; Powers y cols., 1993). Esto es significativo porque la MnSOD es una enzima antioxidante localizada a nivel de la mitocondria que neutralizaría los radicales superóxido. Por ello se sugiere, la práctica de ejercicio físico y el consecuente aumento de la actividad de la MnSOD pueden inducir cardio-protección. Los estudios de Llerena (2011) indican una mayor excreción urinaria de manganeso en personas sedentarias frente a deportistas. Del mismo modo observa cómo el ejercicio físico agudo disminuye la eliminación urinaria de este elemento, y por el contrario, el efecto crónico del entrenamiento produce una mayor eliminación urinaria de manganeso al finalizar seis meses de entrenamiento (Llerena, 2011).

### Molibdeno (Mo)

Su importancia funcional en el metabolismo animal se puso de manifiesto al observar, en el año 1953, que su adición a la dieta de las ratas incrementaba la actividad de la xantina oxidasa (Richert y Westerfeld, 1953). Su esencialidad en el hombre se determinó tras la identificación de la sulfito oxidasa como enzima dependiente de molibdeno (Cohen y cols., 1971), la detección de una deficiencia genética ligada a dicho elemento (Duran y cols., 1987; Mudd y cols, 1967) y la presencia de síntomas carenciales tras nutrición parenteral prolongada libre de molibdeno (Abumrad y cols., 1981). No se conocen alteraciones clínicas debido

al déficit de molibdeno por su amplia biodisponibilidad en los alimentos, aunque existen casos de alteración genética del cofactor y un caso de déficit por la nutrición parenteral libre de molibdeno (Anke y Gleib, 1994).

El molibdeno se absorbe de una forma muy eficiente, entre el 88 y el 93% debido a su solubilidad en agua y la absorción es más eficiente cuanto mayor es la cantidad de molibdeno (Turnlund y cols., 1995; Mills y Davis, 1987). El molibdeno de los alimentos en forma de complejos solubles, especialmente en forma de molibdeno hexavalente, es fácilmente absorbido por los seres humanos (25-80% de molibdeno de la dieta). El molibdeno parece absorberse en el estómago y en el intestino proximal, más que en la parte distal (Cantone y cols., 1993).

Una vez absorbido se une a la  $\alpha_2$ -macrohemoglobulina y a los eritrocitos (Lener y Bibr, 1984), se acumula en el hígado y riñón como molibdoenzimas, y formando parte de la molibdo proteína. La acumulación es rápida, entre una y seis horas, y se elimina posteriormente de forma lenta. Después de la absorción, la mayor parte del molibdeno se elimina como molibdato a través del riñón, la orina es la mayor vía de eliminación. La excreción de molibdeno en orina depende del estado de oxidación, siendo mayor la del molibdeno (VI) que la del molibdeno (V) (Lener y Bibr, 1984). La mayoría de las formas solubles se eliminan a una velocidad similar a la de la absorción. Los valores de referencia encontrados en bibliografía de excreción urinaria para este elemento son de 10-174  $\mu\text{g/L}$  (Heitland y Köster, 2004) y 4-357  $\mu\text{g/L}$  (Heitland y Köster, 2006). También hemos

encontrado concentraciones en sangre completa de 3,4 a 14,9  $\mu\text{g/L}$  (Monèiloviã e Iviãio, 2003).

Tambiã se excretan grandes cantidades por la bilis. Diariamente se excretan entre el intestino y el hígado el 10% del molibdeno ingerido. La ingesta diaria de molibdeno estã entre 50 y 350 $\mu\text{g/día}$ , situãndose la mayoría de las evaluaciones de su ingesta en torno a 50-100  $\mu\text{g/día}$ . Ademã, se ha establecido que estos consumos disminuyen lentamente a lo largo de la vida adulta.

Los alimentos mãs ricos en molibdeno (30-200  $\mu\text{g/Kg}$ ) son la leche y los productos lãcteos, las legumbres, carne y vísceras (hígado y riñõn), los cereales y sus derivados (>150  $\mu\text{g/kg}$ ), y las nueces. Las fuentes mãs pobres (<30  $\mu\text{g/kg}$ ) incluyen las verduras, los frutos, los azucares, las grasas, el pescado y las bebidas.

Las ingestas en la dieta diaria consideradas adecuadas y seguras se sitúan entre 75 y 250  $\mu\text{g/día}$ . En funciõn de los datos recientes disponibles, el requerimiento de molibdeno en adultos es mãs prõximo a 25  $\mu\text{g/día}$ , por lo que el rango descrito anteriormente debería ser disminuido (Navarro y cols., 2005).

En cuanto a la deficiencia de molibdeno, la actividad reducida de la xantino deshidrogenasa (XDH) se asocia a la apariciõn de xantinuria, un defecto genético caracterizado por la baja excreciõn de ácido úrico y elevadas concentraciones



de xantina e hipoxantina. El depósito de estas sustancias en el músculo origina una miopatía poco grave. Bajas ingestas de molibdeno reducen la actividad de la XDH, pero no existen evidencias convincentes de que la menor actividad de esta enzima cause cambios clínicos relevantes. La deficiencia de sulfito oxidasa detectada en la infancia es letal a la edad de 2-3 años. Las lesiones producidas consisten en anormalidades neurológicas graves, retraso mental y ectopia del cristalino, así como un aumento de la excreción urinaria de sulfito, tiosulfato y sulfocisteína, con descenso de la excreción del sulfato (Cohen y cols., 1971).

El molibdeno es un elemento escasamente tóxico y se necesitan dosis orales muy elevadas de 10 a 15 mg/día para alterar el mecanismo homeostático de control de este elemento que origina un síndrome semejante a la gota.

### **Selenio (Se)**

El selenio es considerado el centro activo de la enzima glutatión peroxidasa de los mamíferos, interviniendo en el metabolismo del peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos (Levander y cols., 1983). En nutrición humana, no se observaron signos asociados al carácter esencial del selenio hasta 1979.

El selenio aparece asociado a varias metaloproteínas algunas de las cuales tienen una función biológica esencial. El selenio forma parte de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), una enzima fundamental en el sistema de defensa

antioxidante celular, ya que descompone los hidroperóxidos lipídicos y el peróxido de hidrógeno en presencia de glutatión reducido.

En cuanto a los valores de referencia encontrados en bibliografía de excreción urinaria para este elemento son de 1-140 µg/L (Heitland y Köster, 2004), 3-60 µg/L (Heitland y Köster, 2006) y de 89-154 µg/L (Goullé y cols. 2005). En sangre completa 107 µg/L, suero 80 µg/L (Li 2000; Reimann y Caritat 1998). El rango de selenio en leche materna en mujeres polacas varía desde <9 a >11 µg/L (Zachara y Pileexi 2000).

Existen diferentes teorías sobre el transporte en el organismo del selenio, pero lo que fundamentalmente se observa es que circula unido a globulinas plasmáticas. La glutatión peroxidasa no está descrito que actúe en el transporte plasmático. Los órganos que más rápidamente lo captan son el hígado y el páncreas y de forma más lenta el cerebro. El orden de riqueza de los órganos en selenio es el siguiente: hígado, hipófisis, riñón, tiroides, glándulas suprarrenales y testículos: la mayor cantidad, 40% del total, aparece en el músculo, pese que su concentración no es muy elevada es el tejido más abundante.

Los mecanismos bioquímicos de absorción intestinal no están suficientemente aclarados, aunque dependen de la forma química del selenio en la dieta. Los selenoaminoácidos se liberan de las proteínas vegetales y animales por un mecanismo de difusión, es decir, por transporte no activo. El selenato, se

absorbe, en el íleon por un proceso de unión a membranas, en las que se ha visto que no existe competencia con el sulfato.

Cuando la cantidad de selenio ingerida está dentro de los límites fisiológicos, las vías principales de excreción son la orina y las heces (orina 60%, heces 35%, aliento 1%, saliva 1% y sudor 1%). La excreción fecal supone por tanto unos 20 a 30 µg, aumentando cuando las ingestas son elevadas.

El metabolismo del selenio no está aún aclarado en muchos puntos. La característica principal es su parecido con la estructura electrónica del azufre que le concede propiedades físicas y químicas similares. Los compuestos de selenio pueden metabolizarse por las mismas enzimas que los azufrados. El selenio puede sustituir al azufre en muchas estructuras biológicas por lo que su presencia puede deberse a un papel específico o a una sustitución del azufre (Seijas, 1998).

El selenio, como parte de las selenoproteínas en el cuerpo, es esencial para el funcionamiento de numerosas enzimas, particularmente la glutatión peroxidasa, enzima que ayuda a neutralizar los radicales libres y prevenir el daño en las estructuras celulares, como las membranas de los eritrocitos (Czernichow y cols., 2009). El selenio funciona como la vitamina E como un antioxidante (Williams, 2005). El selenio también está involucrado en el metabolismo de la hormona

tiroidea y las funciones inmunológicas y se considera de importancia en la prevención del cáncer (Loeb y Partin, 2009).

En los alimentos, el selenio se encuentra presente exclusivamente en compuestos orgánicos, fundamentalmente, selenometionina y selenocisteína. La cantidad de selenio que se consume está en función de la concentración y de disponibilidad biológica del elemento en el suelo. Los alimentos de alto contenido en proteínas son las fuentes principales de selenio en la dieta. Por tanto, los alimentos de origen animal como el pescado y mariscos, la carne y las vísceras, y los de origen vegetal como las legumbres, los frutos secos y los cereales, tienen un alto contenido en selenio. A pesar de esto, los frutos secos y las legumbres no son fuentes importantes de selenio en la dieta por el bajo consumo que en general se hace de ellos en la alimentación general de la población. Por el contrario, la mayoría de los vegetales restantes y de las frutas presentan contenidos bajos. Los valores típicos para el hígado, el riñón y los mariscos son de 0,4-1,5 mg/kg; para las carnes, 0,1-0,4 mg/kg; para los cereales, 0,1-0,8 mg/kg, y para la fruta y vegetales, <0,1 mg/kg (Navarro y cols., 2005).

Las necesidades de selenio en el hombre son relativamente conocidas. La necesidad mínima humana de selenio, necesaria para evitar las manifestaciones de deficiencia es diferente en otras regiones del mundo privadas de selenio, como la región neozelandesa, que consume de 28 a 32 µg de selenio por día, y no presenta signo de deficiencia. En los países europeos en los que se estima que la ingesta de 50 a 60 µg por día es segura (Seijas, 1998).

La deficiencia en selenio disminuye la actividad de las cuatro glutatión peroxidasa, aunque el efecto se modifica según del tipo de enzima y el tejido. De éstas, son las actividades de las glutatión peroxidasa del plasma e hígado las más dependientes del aporte de selenio, por lo que se emplean como índice de evaluación del estado nutricional de este elemento (Navarro y cols., 2005).

La evaluación del estado de este elemento esencial se realiza en el hombre cuantificando sus concentraciones y/o midiendo la actividad de la glutatión peroxidasa, bien en líquidos biológicos (suero, sangre total u orina) o en eritrocitos, plaquetas, leucocitos o pelo. Se correlaciona con la ingesta dentro de un amplio rango de condiciones. Dadas las enormes diferencias de contenidos de selenio en los distintos suelos del mundo, las concentraciones halladas en suero varían mucho de unos países a otros.

En cuanto a la toxicidad, ingestas mayores a 700  $\mu\text{g}/\text{día}$  es potencialmente peligrosa, ocasiona pérdida de peso y cambios en la morfología de la uñas de los dedos. La toxicidad crónica por selenio se caracteriza por pérdida del pelo y cambios en la morfología de las uñas de los dedos. En algunos casos aparecen lesiones de la piel y anomalías en el sistema nervioso, tales como parestesia, parálisis y hemiplejia. En los animales, el daño hepático es el hecho común de la selenosis crónica. La toxicidad del selenio probablemente se debe a que este metal es un potente catalizador de la oxidación sulfidrilo y esto puede ejercer un efecto inhibitorio de la síntesis proteica (Navarro y cols., 2005).

### Selenio y actividad física

Debido a su acción antioxidante puede ayudar a prevenir la peroxidación de los lípidos inducida por el ejercicio físico y, por lo tanto, compensar el grado de daño celular con mayor probabilidad en los tejidos activos (tales como los músculos) o tejidos susceptibles de una disminución de flujo sanguíneo que produzca una isquemia local (tubo digestivo) (Brouns, 2001).

En el estudio de (Mena y cols., 1991) se observó un incremento en la actividad glutatión peroxidasa en los eritrocitos de ciclistas profesionales, guardando esta relación con el grado de entrenamiento. La valoración de la enzima glutatión peroxidasa tiene una relación directa con la concentración de selenio en sangre, pero solamente hasta el nivel de 1,27  $\mu\text{mol/L}$ . A partir de esta cifra la actividad de la enzima se aplana y ya no es útil (Villa y cols., 1999).

### Zinc (Zn)

En los últimos años las técnicas de biología molecular han contribuido a solidificar el conocimiento de las propiedades funcionales de las metaloproteínas dependientes de zinc y su participación en la expresión genética. Entre los aspectos químicos del zinc están su gran adaptabilidad, forma complejos principalmente tetra, se solubiliza al complejarse con oxígeno, nitrógeno y sulfuro

de moléculas hidrofílicas (Betteger y O'Dell, 1993). Se coordina con el agua con más estabilidad que el sulfato de cobre (Johnson, 1978).

Desde el punto de vista nutricional, los primeros efectos registrados en la carencia de zinc en animales como en humanos son los relativos al crecimiento. (Williams y Chesters, 1970; Prasad y cols., 1963a, 1963b) y la alimentación. La inexistencia de depósitos movilizables cuantiosos (Zhou y cols., 1993), hace que aquellas funciones con mayor ritmo de recambio del ion expresen antes su ausencia (Prasad y cols., 1971). La detención del crecimiento se refleja claramente en pacientes de los 16 a 21 años, descritos por Prasad, cuya estatura era inferior a 150 cm (Prasad y cols., 1963a). La administración de una dieta equilibrada suplementada con zinc a estos pacientes llegó a incrementar en más de 10 cm su estatura en seis meses.

Desde el punto de vista metabólico, el zinc influye en 300 enzimas distribuidas en cinco clases: oxidoreductasas, transferasas, liasas, isomerasas y ligasas. Se halla en enzimas que intervienen en el metabolismo del ácido desoxirribonucleico (ADN) (Vallee y Galdes, 1984); influye en la síntesis de proteínas a nivel de la traducción (Hicks y Wallwork, 1987); participa en la glicolisis y neoglucogénesis, en la síntesis de protaglandinas y en el metabolismo del colesterol, previene la peroxidación lipídica y mantiene las estructuras de membrana. En el papel más importante estructural hay que citar la participación del metal en la estructura funcional de la insulina, tanto en su conservación en el

páncreas, en forma de cristales de zinc– proinsulina, como en la acción de la hormona (Arquilla y cols., 1978).

Se estima que el cuerpo humano adulto contiene 0,02-0,03 moles (1,4-2,3 g) de zinc, del que aproximadamente el 20% está en la piel. Debido al peso de los huesos y de los dientes y a la concentración relativamente alta en zinc, 2,9- 3,82 mmol/L, una proporción apreciable del zinc del cuerpo se encuentra en estas estructuras. Sin embargo, es una fracción baja para uso metabólico. La concentración de zinc en los músculos varía con su color y con su actividad funcional. En el músculo rojo estriado la mayor parte está situada en la fracción subcelular compuesta por miofibrillas y núcleos (Smith y cols., 1983).

En la sangre, el zinc está presente en el plasma, los eritrocitos, los leucocitos y las plaquetas. Menos del uno por ciento del total corporal se encuentra en circulación. Según algunos autores, el nivel plasmático es menor en las mujeres que en los varones en la primera mitad de la vida y posteriormente disminuye en éstos (Fell y Lyon, 1994; Vallee y Falchuk, 1993). En los eritrocitos, casi todo se encuentra en la anhidrasa carbónica junto con una pequeña fracción asociada con otras enzimas. En los leucocitos, el contenido de zinc es 25 veces mayor que en los eritrocitos. En plasma, el 30-40% está firmemente unido a la  $\alpha_2$  macroglobulina y el 60–70% ligeramente unido a la albúmina. En suero el zinc es aproximadamente un 16% mayor que en el plasma, lo que se achaca al metal liberado por las plaquetas en el proceso de la coagulación.



Como sucede con otros componentes nutricionales, el contenido en zinc de los alimentos y su ingesta diaria no informan suficientemente sobre su disponibilidad sin el conocimiento de los factores que inhiben o promueven su absorción intestinal. Probablemente el zinc iónico libre no exista como tal en el tracto intestinal sino unido a especies moleculares como proteínas, aminoácidos, ácido fítico, citrato y otras. Por eso, la biodisponibilidad del metal viene determinada por la naturaleza de esos transportadores a los que se une, haciendo que se cifre en torno al 20% del ingerido. Cuando el complejo formado en la luz intestinal es insoluble, como el zincfitato, lo que se toma de zinc desde la dieta es poco, mientras que si son complejos como el zincproteína o zinc-aminoácidos, que son más fácilmente dissociables, el zinc disponible es considerable. Estas diferencias en la capacidad de absorción se han llegado a cuantificar estableciéndose en cuatro veces más si el zinc forma parte de carne de ternera que si se incluye en cereales ricos en fibra (Fell y Lyon, 1994).

Los cereales, las leguminosas y los derivados de la semilla de soja son particularmente ricos en fitatos, lo que justifica que la biodisponibilidad del zinc desde los vegetales y los granos de cereales esté reducida, porque los fitatos (fosfatos de inositol), la celulosa, la hemicelulosa y otras fibras dietéticas inhiben su absorción (Oberlas y Prasad, 1976). Así, el fitato se erige en uno de los principales factores limitantes de su capacidad de absorción (Guthrie y Robinson, 1978).

Cantidades elevadas de calcio, fósforo, hierro y cobre en la dieta reducen la absorción de zinc. Las dietas ricas en proteínas, como la leche y los cereales, estimulan la absorción de zinc y asimismo las dietas pobres en ellas tienen el efecto opuesto. La adición de proteínas animales puede incrementar la absorción de zinc, sugiriendo que la digestibilidad de la proteína juegue un papel importante en asegurar una gran biodisponibilidad (Sandström y cols., 1989).

Hay otros factores nutricionales que acompañan al zinc en los alimentos y que afectan a su disponibilidad. Entre ellos, el contenido en fosfato de la dieta puede llegar a ser un regulador mayor de la biodisponibilidad del zinc si se ingiere en grandes cantidades, variando su efectividad en función de los cationes acompañantes. La fructosa y la glucosa podrían potenciar también la absorción de zinc y de otros cationes (Wapnir, 1990).

Las fuentes más pobres son el azúcar blanco, los cítricos, los vegetales sin hoja y los tubérculos, que generalmente contienen menos de 0,01  $\mu\text{mol/g}$  (1  $\mu\text{g/g}$ ) de zinc. El contenido de zinc en el agua bebida es variable, bajo en la de manantial (5-177  $\mu\text{L}$ ) y alto en el agua canalizada (>2 mg/L), debido al zinc lixiviado de las tuberías. Los requerimientos varían con la edad, la actividad funcional, la composición de la dieta, temperatura ambiente o las condiciones climáticas (las pérdidas por sudoración pueden ser importantes) (McDowell y Conrad, 1989).

El zinc se absorbe a nivel de las células epiteliales intestinales, posiblemente en forma de complejos con aminoácidos y citrato. Es un proceso activo dependiente

de energía, y aparentemente mediado por los transportadores específicos. De alguna manera, la cantidad del catión que se absorbe en el intestino está en relación directa con las propias necesidades corporales del elemento, de forma que cuanto más baja es la reserva corporal de zinc tanto mayor es la cantidad del catión que se transporta por la mucosa intestinal. Otro factor que influye en la cantidad de zinc que se absorbe en el tracto digestivo es su concentración biodisponible en la dieta. Como ya comentamos, la absorción de zinc varía y depende de muchos factores, entre ellos las proteínas animales y los aminoácidos presentes en la carne (Vallee y Falchuk, 1993).

El zinc absorbido desde el intestino llega al hígado por vía porta unido a la transferrina (60-70%). El zinc se incorpora en distintas proporciones a los tejidos (Evans y Johnson, 1981). La mayor parte del zinc se excreta por las heces y proviene del no absorbido por la dieta junto con una pequeña cantidad de origen endógeno excretada en el intestino delgado (Underwood, 1987). En la orina la cantidad de zinc es pequeña, 4,5  $\mu\text{mol/día}$  (0,3–0,6 mg/día) y parece estar relacionado con su ingesta y su nivel en el organismo.

Las entidades clínicas más frecuentes del déficit de zinc son las alteraciones intestinales, principalmente inflamatorias, enfermedad celíaca, insuficiencia pancreática, fallo renal crónico y nutrición parenteral prolongada. Los niveles de zinc en los tejidos y líquidos biológicos fluctúan con distintos factores tales como la edad, la salud o la enfermedad y el sexo. En el proceso del envejecimiento hay una ligera disminución de los niveles plasmáticos de zinc (Lockitch y cols.,

1994; Lindeman, 1982). Las razones podrían ser la disminución de la actividad metabólica. En casos de baja ingesta de nutrientes, malnutrición y en nutrición parenteral total existe una baja disponibilidad del catión. Los fitatos (por formación de quelatos), el exceso de calcio, magnesio y cobre en la dieta (por competición), la geofagia (por la formación de complejos no insolubles no absorbibles), el alcohol (por daño hepático y por incremento de la excreción urinaria), la suplementación de la dieta con ácido fólico también reduce muy sensiblemente la absorción del metal (Monreal y Rivero, 1993).

El hombre muestra una tolerancia considerable a ingestas elevadas de zinc. La tolerancia depende en gran medida de la naturaleza de la dieta y particularmente de su contenido en calcio, cobre, hierro y cadmio con los que interactúa en el proceso de absorción y de utilización (la anemia por zinc induce deficiencia en hierro y cobre). Pero se han observado problemas de toxicidad al zinc tanto por ingestas agudas como crónicas. Ingestas de 150–450 mg de zinc al día han sido asociadas con una disminución de los niveles de cobre, una alteración de las funciones del hierro, una disminución de la función inmune y con reducidos niveles de colesterol HDL (Hamilton y cols., 2000).

### Zinc y ejercicio físico

Cualquier cambio rápido en el volumen plasmático, debido a la práctica de ejercicio físico, afectará a los niveles de zinc, bien por una disminución del volumen plasmático debido a la deshidratación (con lo que aumentaría la

concentración de zinc por la hemoconcentración), bien por un aumento plasmático con posterioridad al desarrollo del ejercicio debido a la retención de agua y sodio (lo que hará disminuir la concentración de zinc). Aparte de estos efectos, se puede asumir que pueden producirse desplazamientos funcionales de zinc entre los tejidos durante el ejercicio. Por esa razón, parece bastante difícil determinar los efectos del ejercicio sobre el nivel de zinc, si nos guiamos por sus niveles plasmáticos (Buchmann y cols., 1998).

En el estudio de Rodríguez Tuya y cols., (1996), se encontró más alta la concentración plasmática de zinc en los deportistas que participan en actividades de tipo anaeróbico (judo, esgrima), en comparación a las actividades aeróbicas (ciclismo). Los valores en ambos casos fueron superiores a los que se encuentran en el grupo control, formado por estudiantes de educación física, no hubo deficiencias de cobre y zinc en los atletas estudiados al comienzo de la temporada.

Sin embargo, el ejercicio puede aumentar las necesidades de zinc debido a que el contenido en el organismo se elimina principalmente a través de la orina y el sudor, y ambos se ven incrementados como resultado del ejercicio de resistencia (König y cols., 1997).

Unos bajos niveles de Zn en sangre se relaciona con una mayor producción de lactato y unos menores valores de glucemia durante un el esfuerzo (Khaled y cols., 1997).

### **1.5.2.3.- Elementos traza tóxicos**

Por último desarrollaremos los elementos traza tóxicos del estudio, dentro de los cuales citaremos al arsénico (As), cadmio (Cd) y plomo (Pb).

#### **Arsénico (As)**

El arsénico se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y puede presentarse en forma trivalente o pentavalente, tanto en compuestos orgánicos como inorgánico. Existen además numerosas fuentes antropogénicas de arsénico, siendo las fundiciones de cobre, zinc y plomo las más importantes (Iffland, 1994).

Algunas formas de arsénico presentes en la dieta se absorben con gran facilidad en el tracto intestinal, e incluso pueden penetrar en el organismo a través de la piel o por inhalación. Otras formas de exposición son a través del agua de bebida y de la exposición de las personas, por motivos de trabajo industrial, a atmósferas espacialmente contaminadas con el elemento. El arsénico se elimina del organismo, en su mayor parte, por vía urinaria, en forma de sales inorgánicas y derivados metilados (especialmente, ácido dimetilarsénico o ácido cacodílico). Los valores de referencia encontrados en bibliografía de excreción urinaria de este elemento son de 0,5–197 µg/L (Heitland y Köster, 2004), de 1–375 µg/L (Heitland y Köster, 2006), de 2,3–161 µg/L (Goullé y cols., 2005); las

concentraciones medias encontradas en sangre completa son de 7,9 µg/L (Reimann and Caritat, 1998).

Se considera que, en general, la velocidad de excreción del arsénico es lo suficiente elevada como para evitar que se produzcan depósitos y efectos tóxicos del elemento, incluso en los casos de consumo elevado de alimentos de origen marino, o de exposición de los individuos a atmósferas especialmente contaminadas (Linder, 1988).

La cantidad absorbida depende del estado de oxidación, de la solubilidad y de la forma física del compuesto de arsénico (Nielsen, 1999; González y Varo, 1998). Los trabajos de Nielsen y cols. (1975) realizados en ratas alimentadas con dietas extrapurificadas que contenían 30 ppb (ng/g) de arsénico, parecen demostrar que el arsénico es un elemento traza esencial; en estos animales, ya en la primera generación, se han podido observar retrasos en el crecimiento, alteraciones en el cabello, hematocritos bajos y aumento de la fragilidad osmótica de los eritrocitos; todos los síntomas van acompañados por agrandamiento del bazo, órgano en el que además se pudo observar un exceso de acumulación de hierro. Posiblemente, el arsénico representa algún papel en la conservación de la vida media de los eritrocitos, lo que podía explicar, muy someramente, las alteraciones hemáticas y de bazo observado en ratas deficientes del elemento, aunque desde luego, caben otras hipótesis. El arsénico tiene una afinidad especial por los monómeros de globina de las moléculas de hemoglobina (Venugopal y Luckey, 1978).

A pesar de los conocidos efectos tóxicos del arsénico, no es menos cierto que determinados compuestos arsenicales tienen propiedades terapéuticas, e incluso, hoy día el ácido arsenílico y ciertas formas de nitrofenilos de arsénicos se utilizan para estimular el crecimiento, la eficacia nutricional y, en general, para contribuir al estado saludable de cerdos y aves (Venugopal y Luckey, 1978).

Los estados de toxicidad crónica por arsénico se caracterizan por debilidad general, postración, dolores musculares, trastornos intestinales, neuropatías periféricas motivadas por aumento de la velocidad de conducción de los potenciales de acción en ciertos nervios y cambios de pigmentación en uñas y piel (Valentine y cols., 1981). No todos los compuestos arsenicales son tóxicos (Nielsen, 1999). Las formas de arsénico trivalentes son mucho más tóxicas que las pentavalentes (Iffland, 1994).

### **Cadmio (Cd)**

En el hombre, los tres lugares principales que se afectan tras la exposición a largo plazo del cadmio son los pulmones, el hueso y el riñón, aunque hay coincidencia en señalar que el riñón es el órgano que primero exhibe los efectos adversos. Es muy curioso señalar que la vida media del cadmio alojado en la corteza renal es del orden de 20-35 años, lo que pone de relieve la enorme dificultad que tiene el organismo para eliminar este elemento traza (Jomova y Valko, 2011).



El cadmio se excreta por la orina y en menor cantidad por la bilis, el tracto gastrointestinal y la saliva. Los valores de referencia encontrados en la bibliografía de la excreción urinaria de este elemento son de: 0.014-0.35 µg/l (Heitland y Köster, 2004), de 0.04–0.56 µg/l (Heitland y Köster, 2005), de 0.06–0.79 µg/l (Goullé y cols., 2005). Cuando la exposición es baja y la cantidad de cadmio absorbida no ha saturado aún todos los lugares de unión de cadmio disponibles en el cuerpo, la concentración de cadmio en orina refleja principalmente la cantidad almacenada, particularmente en el riñón. Así, en la población general la excreción urinaria de cadmio aumenta progresivamente con la edad, de forma paralela con la carga corporal hasta los 50-60 años.

La concentración de cadmio en sangre está influida por su acumulación corporal y por la exposición reciente. Sin embargo, la concentración de cadmio en sangre parece reflejar los últimos meses de exposición. Sin embargo, en personas que han estado muy expuestas en el pasado y que han acumulado grandes cantidades de cadmio, el acúmulo corporal se comprueba de forma significativa con la determinación de la concentración en sangre (Jarup, 1983). Un valor de cadmio en sangre por encima de 89 nmol/L señala que se ha producido una exposición significativa al cadmio. Para la población general no expuesta, la concentración de cadmio en sangre, en los adultos que no fuman, es generalmente menor de 18 nmol/L, mientras que en los fumadores se han encontrado valores superiores que pueden alcanzar 44 nmol/l (Minoia, 1990).

La tasa de absorción del cadmio ingerido por vía oral es del 2 al 7% de la ingesta, con valores de hasta el 20% en personas con depósitos de hierro muy bajos. Se supone que los sistemas de transporte para otros elementos esenciales, se utilizan para la absorción de cadmio. Hasta la fecha, los transportadores para el hierro, calcio, zinc, manganeso, y magnesio han sido propuestos para participar en la absorción de cadmio. Se conoce un aumento de la absorción intestinal de cadmio cuando la dieta es deficiente en hierro o calcio (Washko y Cousins, 1997). Los transportadores de manganeso/zinc parecen desempeñar un papel importante en la absorción intestinal de cadmio (Himeno y cols., 2009). Más del 70% del cadmio circulante está asociado con los eritrocitos y tiene una vida media de tres meses (Droz y Marques-Vidal, 2014).

El cadmio se utiliza ampliamente en la industria, por lo que las probabilidades de contaminación ambiental, alimentaria y corporal son relativamente altas (Satarug y cols., 2010).

El cadmio es un metal pesado que induce efectos adversos para la salud en los seres humanos y otros organismos. La metalotioneína protege contra la toxicidad del cadmio por la unión libre de los iones cadmio dentro de las células (Suzuki y cols., 1993). La mayor parte de las dietas normales contienen cantidades variables de cadmio, aunque los alimentos de origen marino y los cereales, son especialmente ricos en el elemento.

En la población general, las principales rutas de entrada de cadmio son el alimento, el aire y el agua. La cantidad media ingerida en la mayoría de los países de Europa y de América del Norte en la población general no expuesta se encuentra comprendida entre 90 y 180 nmol/día (10 y 20 µg/día), muy por debajo del máximo tolerable de 615 nmol/día (70 µg/día) que recomienda la Organización Mundial de la Salud (Yost, 1980).

El cadmio es un tóxico ambiental muy potente (Satarug y cols., 2010). La minería de zinc, plomo, cobre, naturalmente también elimina cadmio, que a menudo se encuentra en la tierra extraída, la cual se lava por la contaminación pasa el suelo y al agua. Ambos procesos conducen a una contaminación del suelo crónica (Casado y cols., 2008).

El cadmio también está presente como contaminante en los abonos fosfatados, utilizados en los cultivos (Cupit y cols., 2002). Los compuestos de cadmio se utilizan comúnmente en las baterías recargables de cadmio-níquel, y su eliminación provoca la contaminación del suelo (Dorris y cols., 2002). El cadmio que contienen los productos rara vez se reciclan y para acabar en los residuos, a menudo se incineran y se coloca de nuevo en el del suelo. El resultado es mayor absorción de cadmio en los cultivos suministrados por el suelo y el agua contaminada y cultivadas para el consumo humano.

Fumar cigarrillos es también la mayor fuente de exposición al cadmio (Satarug y Moore, 2004). Las concentraciones de cadmio y plomo en sangre, suero y

plasma en cordón umbilical son significativamente más altas en las mujeres fumadoras. El envenenamiento crónico con el cadmio produce en seres humanos y en animales daño renal irreversible con proteinuria (Buchet, 1990).

Se deposita principalmente en el riñón y el hígado, con aproximadamente un 50% del acumulo corporal en estos dos órganos (Satarug y cols., 2010). Es muy curioso señalar que la vida media del cadmio alojado en la corteza renal es del orden de 18–30 años (Spivey–Fox, 1983), lo que pone de relieve la enorme dificultad que tiene el organismo para eliminar este elemento traza. El cadmio se acumula de forma progresiva en el riñón en las células renales, en particular las del epitelio tubular proximal, con los años, cuando la concentración de cadmio en riñón alcanza la cifra de 200 µg/g, el daño tubular que ocasiona es ya irreversible. El daño está asociado con el desarrollo de la enfermedad renal crónica.

Un interesante mecanismo parece explicar el papel indirecto del cadmio en la generación de radicales libres. Parece ser que el cadmio puede reemplazar al hierro y el cobre en varias proteínas plasmáticas y de membrana, lo que llevaría a un aumento de la cantidad libre de hierro o cobre que participan en el estrés oxidativo a través de la reacción de Fenton (Watjen y Beyersmann, 2004). El desplazamiento del cobre y el hierro por el cadmio puede explicar la toxicidad inducida por cadmio, porque el cobre, desplazado de su punto de unión, es capaz de catalizar la ruptura del peróxido de hidrógeno vía reacción de Fenton.

El cadmio se excreta por la orina y en menor cantidad por la bilis, el tracto gastrointestinal, la saliva, el pelo, las uñas y la leche. Además del daño renal, el exceso de cadmio puede ocasionar retraso en el crecimiento, trastornos en la reproducción, hipertensión, teratogénesis e incluso cáncer.

Un valor de cadmio en sangre por encima de 89 nmol/L señala que se ha producido una exposición significativa al cadmio. Para la población general no expuesta, la concentración de cadmio en sangre, en los adultos que no fuman, es generalmente menor de 18 nmol/L, mientras que en los fumadores se han encontrado valores superiores que pueden alcanzar 44 nmol/L (Minoia y cols., 1990).

Cuando la exposición es baja y la cantidad de cadmio absorbida no ha saturado aún todos los lugares de unión de cadmio disponibles en el cuerpo, la concentración de cadmio en orina refleja principalmente la cantidad almacenada, particularmente en el riñón. Así, en la población general la excreción urinaria de cadmio aumenta progresivamente con la edad, de forma paralela con la carga corporal hasta los 50–60 años.

### **Plomo (Pb)**

El hombre recibe diariamente unos 330 µg de plomo, de los que la mayor parte llegan al torrente circulatorio a través de las vías respiratorias y digestivas. Un

aspecto que no debe olvidarse es el carácter ultratraza tóxico del plomo. El plomo se acumula en el organismo humano debido a la exposición continuada al mismo.

Las fuentes de exposición al metal son variadas, la existencia de tuberías de plomo, en vertido de residuos industriales y la elevada concentración de plomo en las aguas de regiones graníticas, hacen que el agua sea una fuente de exposición considerable. Los recipientes y utensilios de cocina recubiertos de esmaltes plomados pueden contaminar los alimentos en ellos conservados al liberar este metal.

Prácticamente todos los condimentos, pescados, carnes, huevos y legumbres contienen plomo, encontrándose en general en concentraciones de 0,96 a 1,45  $\mu\text{mol/L}$ . El tabaco y el vino también contienen plomo en concentraciones de 0,63–0,92  $\mu\text{mol/L}$ . También se ha observado un aumento de los valores de plomo a medida que se consumen mayor número de cigarrillos en la mujer embarazada (Fernández de León y cols., 2004).

La absorción del plomo por el organismo puede darse por distintas vías; la cutánea, no constituye un acceso para los compuestos inorgánicos de plomo, aunque pueden absorberse por ella, tanto el tri como el tetraetilo de plomo, la vía subcutánea e intramuscular pueden constituir un reservorio del metal. Las principales vías de entrada del plomo en el hombre son las vías respiratorias y la digestiva. La absorción gastrointestinal es mayor en niños (40-50%) que en

adultos (3-10%) (Jomova y Valko, 2011). La inhalación de humos y polvo fino de plomo propicia la absorción del metal a lo largo de todo el tracto respiratorio siendo esta vía la más importante en la exposición laboral.

Aproximadamente se absorbe entre el 30–50% del plomo inhalado, pasando hacia la sangre por difusión pasiva tras la disolución de las partículas. El individuo adulto absorbe aproximadamente 5–10% del plomo en la dieta, probablemente utilizando el mismo mecanismo de absorción del calcio.

Una vez absorbido, el plomo se distribuye por todo el organismo, principalmente “secuestrado” por los eritrocitos. Existe una relación lineal entre el plomo en sangre y la del plomo plasmático. La mayor parte del plomo (aproximadamente el 90%) se deposita en el tejido óseo, y el resto, en los tejidos blandos. Cuando la plumbemia es muy elevada, el plomo que queda libre en el plasma se fija a los tejidos blandos, especialmente al riñón, al hígado y en menor proporción al tejido nervioso.

La sangre contiene entre 1,7 y 2,0 mg de plomo, con una vida media de  $36 \pm 5$  días. Lo mismo que sucede con el calcio, la mayor parte del plomo (aproximadamente el 90%) se deposita en el tejido óseo, y el resto, en los tejidos blandos, contienen 0,3 y 0,9 mg de plomo, de aquí pasa al pelo, las uñas, el sudor y las secreciones salivales, gástrica, pancreática y biliar. En los tejidos blandos, riñón, hígado, cerebro, y medula ósea, el plomo aparece formando los denominados cuerpos de inclusión, compuestos por un complejo proteína-plomo que probablemente desempeñan un importante papel en la división celular.

El plomo se elimina fundamentalmente por vía renal (aproximadamente en un 80%) y digestiva (heces). El sudor, la leche, el pelo y las uñas son vías de excreción secundarias. La saliva también puede servir como vehículo de eliminación del plomo.

La evaluación de los niveles sanguíneos de plomo nos permite evaluar la exposición reciente a plomo, pero para valorar exposiciones pasadas, se debe valorar la concentración de plomo a nivel óseo. En el hueso, el plomo compite con el calcio, uniéndose a los cristales de hidroxapatita. De este modo, el plomo es almacenado en estructuras óseas y entran en la circulación sistémica cuando condiciones fisiológicas (embarazo, lactancia, menopausia, envejecimiento) o procesos patológicos inducen remodelación ósea. Siguiendo este razonamiento, se ha estudiado la relación existente entre el contenido de plomo a nivel calcáneo, como índice del almacenamiento de plomo en el cuerpo, con el riesgo de padecer Alzheimer.

Se observó que una mayor exposición al plomo a lo largo de la vida está asociada con un mayor riesgo de sufrir Alzheimer (Coon y cols., 2006). El plomo induce peroxidación lipídica en el cerebro y disminuye la actividad de las enzimas antioxidantes. La peroxidación lipídica puede inducir muerte celular por el deterioro de la membrana celular (Coon y cols., 2006).

Los estudios experimentales realizados por Kirchgessner y Reichmayer–Lais



(1981) confirman los interesantes hallazgos de Schwartz y cols. (1970), por lo que se demuestra que el plomo es un elemento necesario para el crecimiento y mantenimiento de la salud corporal. Los primeros probaron, que en animales a los que se le había inducido una deficiencia de plomo a base de alimentarlos durante una o más generaciones con dietas en las que la concentración de plomo era inferior o equivalente a 50 ppb, se observaron, en comparación con los animales control (que recibían cantidades de plomo de aproximadamente (1000 ppb), trastornos en el proceso hematopoyético que se manifestaban por una ligera anemia hipocrómica macrocítica, acompañada por una disminución intestinal de hierro; se detectó asimismo una reducción de la absorción intestinal del hierro, la cual puede ser la causa de las alteraciones hemáticas observadas en animales deficientes en plomo, se han encontrado otros efectos, tales como reducción de la actividad hepática de catalasa y disminuciones de las concentraciones hepáticas de glucosa, triglicéridos y fosfolípidos.

Concentraciones elevadas de plomo en el organismo afectan significativamente al metabolismo de los eritrocitos; se produce inhibición de los enzimas implicados en la biosíntesis de los grupos hemo.

La respuesta biológica al plomo es muy variable, existiendo sujetos asintomáticos. El plomo libre circulante en sangre ( $Pb^{++}$ ) se ha utilizado tradicionalmente para valorar el grado de absorción y exposición reciente. Su análisis, sin embargo, está sujeto a fácil contaminación y en muchos casos a variación analítica significativa.

El plomo puede causar efectos adversos a la salud que incluyen neurotoxicidad, nefrotoxicidad, y los efectos nocivos sobre los sistemas hematológicas y cardiovasculares (ATSDR, 2007).

También se ha encontrado que el plomo puede provocar una respuesta positiva en una amplia serie de pruebas biológicas y bioquímicas, que incluyen fidelidad de la síntesis de ADN, la mutación, aberraciones cromosómicas, el cáncer y defectos de nacimiento (Johnson, 1998). El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) clasificó al plomo como posible carcinógeno humano (grupo 2B) (IARC, 1987) y a los compuestos inorgánicos de plomo como probables carcinógenos humanos (grupo 2A) (IARC, 2006). En algunos estudios epidemiológicos de exposición al plomo se ha vinculado a una mayor incidencia de algunos cánceres, como el estómago, cánceres de pulmón y la vejiga (Fu y Boffetta, 1995).

## ***2.- OBJETIVOS***

## ***OBJECTIVES***



Existen evidencias que demuestran la trascendencia que ejercen los minerales sobre las funciones, tanto elementales como en las más complejas, del organismo humano. La actividad física puede modificar los niveles de minerales disponibles en sangre. Por ellos nos planteamos los siguientes objetivos en la presente tesis:

1. Conocer las concentraciones intraeritrocitarias de los minerales magnesio y fósforo; de los elementos traza esenciales hierro, cobre, manganeso, cromo, molibdeno, selenio y zinc y de los elementos tóxicos arsénico, cadmio y plomo.
2. Evaluar si el entrenamiento deportivo puede tener influencia en las concentraciones intraeritrocitarias de estos elementos.
3. Evaluar la posible correlación entre estos elementos y el grado de entrenamiento de los sujetos de estudio.



## ***3.- MATERIAL Y MÉTODO***

***METHOD***





### **3.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO.**

Para alcanzar los objetivos propuestos, la realización de este trabajo está basada en un diseño transversal, que nos permiten comparar tres situaciones de estudio diferentes.

Primero:

- Sujetos sedentarios: 30, sin práctica deportiva y el estilo de vida era poco activo (grupo control).

Segundo:

- Sujetos moderadamente entrenados: 24, realización de entre 4 y 7 horas/semana de práctica deportiva moderada sin ningún objetivo de rendimiento y que supone un estilo de vida activo, sin seguir ningún tipo de entrenamiento sistemático (grupo moderadamente entrenado).

Tercero:

- Ciclistas de alto nivel: 22 ciclistas profesionales al inicio de su temporada, realizaban más de 20 horas/semana de entrenamiento. Es la actividad que conduce al rendimiento en el ámbito del ciclismo y que tiene establecidos unos objetivos claros de mejora de los parámetros de rendimiento. Todos eran varones, no fumadores y no presentaban ningún problema de salud (grupo de alto rendimiento).

### **3.2.- SUJETOS DE ESTUDIO.**

La muestra participante se compone de un total de 76 sujetos varones Extremeños.

#### **3.2.1.- Criterios de inclusión.**

Los *criterios de inclusión*, detallados en el cuestionario inicial, que se tuvieron en cuenta para la selección de la muestra fueron los siguientes:

- Que fueran sujetos masculinos.
- Que tuviesen entre 18 y 30 años.
- Que llevaran 4 años como mínimo entrenando los sujetos del grupo de ciclistas.

#### **3.2.2.- Criterios de exclusión.**

Los *criterios de exclusión* que se tuvieron en cuenta fueron:

- Que presentasen algún problema médico, en especial cardiorespiratorio.
- Que fuesen fumadores.
- Que realizaran programas de suplementación nutricional, a excepción del hierro.
- No consumidores de drogas y/o alcohol.
- Que no tuviesen tatuajes.

El grado de entrenamiento del grupo control y del grupo de sujetos entrenados se controló mediante la cumplimentación del cuestionario validado International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) versión corta traducida (Anexo I).

Todos los sujetos participantes en el estudio fueron informados del mismo y aceptaron su participación voluntaria mediante la firma de un informe consentido, al amparo de las directrices éticas de la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial 1964 (actualizadas en la Asamblea Médica Mundial de Seúl 2008), para la investigación con seres humanos.

### **3.3.- VARIABLES DEL ESTUDIO.**

VARIABLES antropométricas, ergoespirométricas y las concentraciones eritrocitarias de los diferentes minerales:

#### - Variables antropométricas, para determinar la composición corporal:

La composición corporal fue calculada según las indicaciones del grupo español de cineantropometría (Porta y cols., 1993).

El porcentaje graso fue calculado mediante la ecuación de Yuhasz (Porta y cols., 1993). Los pliegues cutáneos se determinaron con el uso del plicómetro en el hemisferio dominante de los sujetos, realizando tres mediciones de cada pliegue, siempre por el mismo técnico, y tomando como medida válida la media de las tres medidas, del siguiente modo:

- Abdominal: a la derecha de la cicatriz umbilical, en sentido vertical.
- Suprailíaco: ubicado en el punto de corte formado por la línea del borde superior del íleon y una línea que uniría la espina ilíaca anterosuperior con el borde axilar anterior. El pliegue se tomó medialmente hacia abajo formando un ángulo de 45° respecto la horizontal.
- Tricipital: ubicado en la parte posterior del brazo, en el punto medio acromio-radial. La dirección del pliegue es vertical.
- Subescapular: situado justo debajo del pico inferior de la escápula en dirección oblicua hacia abajo y afuera, con una angulación de 45° respecto la horizontal.
- Muslo: tomado en la parte anterior del muslo, a la mitad del segmento en dirección vertical, con el sujeto sentado con una flexión de rodilla de 90° y los pies apoyados en el suelo.
- Pierna: tomado en la parte medial de la pierna donde ésta alcance su máxima circunferencia. El pliegue tendrá una dirección vertical.

El porcentaje óseo se calculó a partir del peso óseo, que se calculó utilizando la ecuación de Von Döbeln y Rocha (Porta y cols., 1993):

$$\text{Peso Óseo} = 3,02 \times (\text{Talla}^2 \times D. \text{Biestiloideo} \times D. \text{Bicondiloideo (fémur)} \times \underline{\underline{400}}) \times 0,712$$

Los diámetros (D.) se determinaron en el hemisferio dominante de los sujetos del siguiente modo:

- Bicondíleo de fémur: distancia entre el cóndilo medial y lateral del fémur.

Las ramas del paquímetro ubicadas hacia abajo y en la bisectriz del ángulo formado por la rodilla, en este caso 90°.

- Biestiloideo: distancia entre las apófisis estiloides del radio y cúbito.

Las ramas del paquímetro ubicadas hacia abajo y en la bisectriz del ángulo formado por la muñeca, en este caso 90°.

El porcentaje residual fue determinado mediante la ecuación de Wurch (Porta y cols., 1993) que considera un valor constante de 24,1% para hombres, lo que hace que todos tengan el mismo y la desviación estándar sea igual a cero.

El porcentaje muscular fue determinado (Porta y cols., 1993) a partir del cálculo del peso muscular, que se determinó mediante la diferencia entre el peso total y el resto de pesos: óseo, residual y grasa.

$$\underline{\text{Peso muscular} = \text{Peso corporal} - (\text{peso óseo} + \text{peso residual} + \text{peso grasa})}$$

- Variables ergoespirométricas:

- Potencia máxima (Pot máx; W). Es la máxima potencia alcanzada por el individuo en el cicloergómetro.

- Potencia relativa (Pot rel; W/Kg). Corresponde a la potencia alcanzada por el individuo en el cicloergómetro dividida por la masa corporal.

- Ventilación máxima pulmonar (VE, L/min). Corresponde a la máxima cantidad de aire que entra en los pulmones.

- Volumen de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ , mL/min). Hace referencia a la cantidad de dióxido de carbono que expulsa nuestro organismo cada minuto.
- Volumen de oxígeno ( $\text{VO}_2$ , mL/min). Refleja la cantidad de oxígeno que entra en el organismo en cada minuto
- Consumo de oxígeno relativo ( $\text{VO}_2$  rel, mL/min/kg). Corresponde al  $\text{VO}_2$  en relación con el peso del sujeto.
- Cociente respiratorio (CR). Es la relación de intercambio respiratorio y corresponde a la proporción del dióxido de carbono espirado en relación con el oxígeno consumido al nivel de los pulmones ( $\text{VCO}_2/\text{VO}_2$ ).
- Equivalente de oxígeno ( $\text{EqO}_2$ ; unidades convencionales). Es la relación entre el volumen de aire ventilado y el oxígeno consumido ( $\text{VE}/\text{VO}_2$ ).
- Equivalente de dióxido de carbono ( $\text{EqCO}_2$ ; unidades convencionales). Corresponde a la relación entre el volumen de aire ventilado y la cantidad de dióxido de carbono producido ( $\text{VE}/\text{VCO}_2$ ).
- Frecuencia cardíaca (FC, ppm). Hace referencia a la actividad del músculo cardíaco, siendo la cantidad de latidos por minuto del corazón.
- Pulso de oxígeno (Pulso  $\text{O}_2$ , ppm/L/min). Es la relación entre el consumo de oxígeno y la frecuencia cardíaca, lo que corresponde a la cantidad de oxígeno consumido por cada latido cardíaco.
- Tensión arterial sistólica (TAS, mmHg). Representa la presión creada por el corazón cuando late.
- Tensión arterial diastólica (TAD, mmHg). Corresponde a la tensión dentro de la arteria cuando el corazón está en reposo entre dos latidos cardíacos (diástole).

- Variables de concentraciones eritrocitarias de elementos determinados:

Elementos traza esenciales magnesio, fósforo, hierro, zinc, cobre, manganeso, molibdeno y selenio. Elementos tóxicos arsénico, cadmio y plomo.

### 3.4. MATERIAL

#### 3.4.1. Equipos

Detallamos los diferentes equipos empleados en la realización de este trabajo, detallando el uso, la precisión del mismo, en el caso de los equipos que se emplean en la medición de la composición corporal, y el fabricante.

##### 3.4.1.1. Equipos para la valoración cineantropométrica.

*Tabla 3. Material utilizado en la valoración cineantropométrica.*

<b>Material</b>	<b>Modelo</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Ciudad</b>
Báscula de pesaje y tallímetro	Seca 225	SECA	Hamburgo (Alemania)
Cinta métrica	Seca 201	SECA	Hamburgo (Alemania)
Paquímetro	Bycondilar caliper	Holtain	Crymych (UK)
Plicómetro	Skinfold caliper	Holtain	Crymych (UK)

### 3.4.1.2. Equipos para la Electrocardiografía y Tensión Arterial.

Tabla 4. Material utilizado en la valoración electrocardiográfica y tensión arterial.

Material	Modelo	Fabricante	Ciudad
Electrocardiógrafo	BTL 08 SD6	BTL Industries	Stevenage (UK)
Esfingomanómetro	Aneroide	Corysan	Barcelona
Estetoscopio	Clasic II S.E.	Littmann	Madrid

### 3.4.1.3. Equipos empleados en ergoespirometría de esfuerzo

Tabla 5. Material utilizado en la valoración médica y la valoración del rendimiento.

Material	Modelo	Fabricante	Ciudad
Analizador de gases	Metamax	Cortex	Leipzig (Alemania)
Espirómetro	Spirobank	MIR (Medical International Research)	Roma (Italia)
Cicloergómetro	Ergometrics 900	Ergoline	Alemania
Electrocardiógrafo	BTL 08 SD6	BTL Industries	Stevenage (UK)
Esfingonamómetro	Aneroide	Corysan	Barcelona
Fonendoscopio	Clasic II S.E.	3M Littmann	Madrid
Interface pulsómetro	Advantage interface	POLAR	Kempele (Finlandia)



PC Pentium IV	Software XP	Windows	Microsoft	Seattle (USA)
Pulsómetro	S720 i		POLAR	Kempele (Finlandia)
Software analizador de gases	Metamax		Cortex	Leipzig (Alemania)
Software pulsómetro	Precision Performance		POLAR	Kempele (Finlandia)

#### 3.4.1.4. Equipos para la conservación de matriz y determinación de los elementos minerales traza.

*Tabla 6. Equipos para determinación de minerales.*

<b>Material</b>	<b>Modelo</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Ciudad</b>
Congelador		Lynx	Rochester(USA)
Centrifugadora	Meditronic BL	P-Selecta	Barcelona
Automuestreador	S10	Perkin Elmer	Shelton (USA)
ICP-MS	NexION 300D	Perkin Elmer	Barcelona
Espectrofotómetro	UNICAM 5625	Perkin Elmer	Barcelona

### 3.4.2. Reactivos

A continuación detallaremos los reactivos conjuntamente a su proveedor.

Diferenciaremos los reactivos utilizados de forma genérica para las determinaciones, y aquellos utilizados en la determinación de los niveles de elementos traza en matriz eritrocito.

#### 3.4.2.1. Reactivos genéricos

*Tabla 7. Reactivos genéricos.*

<b>Reactivo</b>	<b>Fabricante</b>
Agua ultrapura Mili-Q	Millipore (USA)
Helio gas 99,99% de pureza	Prazair (Madrid, España)
Amoniaco gas 99,99% de pureza	Prazair (Madrid, España)
Argón gas 99,99% de pureza	Prazair (Madrid, España)

#### 3.4.2.2. Reactivos para la determinación en eritrocito de minerales traza.

*Tabla 8. Reactivos para la determinación en eritrocito de minerales traza.*

<b>Reactivo</b>	<b>Fabricante</b>
Ácido Nítrico (HNO <sub>3</sub> ) 69% Trace Select Fluka	Sigma Aldrich. St Louis (USA)
Isopropanol alta pureza	Panreac Barcelona (España)
Patrón Ytrio 1000mgL <sup>-1</sup> solución multielemental	PerkinElmer, Inc., Shelton, CT
SeronormTM	Trace Elements Serum Medical UK Ltd

### 3.4.3. Descripción del Material.

El instrumental utilizado detallado a continuación pertenece al laboratorio de Fisiología de la Facultad de Ciencias del Deporte y al Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Extremadura.

*Tabla 9. Material de laboratorio.*

<b>Material</b>	<b>Fabricante</b>
Compresor de goma	Ri-clip Riester. EEUU
	Quick ServeTap
Dispensador de Agua Mili-Q	WorldwideDispensers. London (UK)
Gradillas portatubos 5/10/15mL	P-Selecta. Barcelona
Pipetas automáticas de 1mL y 200 $\mu$ L	FINNPIPETTE®F2. Thermoscientific.
Tubos eppendorf (1-1mL)	Microcentrifuguetubes.Eppendorf. Alemania.
Viales Falcon para suero graduados, de 15 mL	Sigma

### 3.4.3.1. Material fungible

Tabla 10. Material fungible.

Material	Fabricante
Agujas de palomilla para perfusión estériles G21 de 0,8 mm x 20 mm	Romed. Holanda
Algodón arrollado hidrófilo estéril	Sanex
Gasas esterilizadas	Lusan Hartmann. Barcelona
Guantes de Látex ambidiestros	Sanyc
Tubos estériles de suero humano	VACUTEST® Vacutainer. BectonDickinson. Madrid

### 3.5. MÉTODOS

#### Toma de muestras:

Para la obtención del eritrocito perteneciente al grupo control se realizó una extracción de sangre de la vena antecubital, en condiciones de reposo y ayuno de unas 9 horas, en tubos específicos para la separación de suero (VACUTEST®suero).

Para ver el efecto agudo de la prueba ergométrica máxima se realizó una extracción de sangre de la vena antecubital, antes de iniciar el test de esfuerzo y al finalizar el mismo en tubos específicos para la separación del eritrocito del suero humano (VACUTEST®suero).

En todos los casos, las extracciones se realizaron empleando agujas de palomilla de perfusión, para evitar hemólisis en la muestra y la consiguiente contaminación de eritrocitos (Sánchez y cols., 2003; Cornelis, 1987).

El proceso de separación de la serie roja del suero se realizó centrifugando los tubos a 4000 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos y retirando el sobrenadante (suero) y retirando el eritrocito tras realizarle dos lavados con cloruro sódico al 0,9%. Posteriormente se congelaba a  $-80^{\circ}\text{C}$ , para su posterior tratamiento específico en la determinación de elementos minerales mediante ICP-MS, detallado posteriormente en este trabajo.

### **3.5.1.- Tratamiento de Muestras**

Dos horas antes de su preparación, las muestras son llevadas a temperatura ambiente y agitadas hasta total homogeneización. A una alícuota de 200  $\mu\text{L}$  de muestra de suero se añade 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{HNO}_3$ , 50  $\mu\text{L}$  de disolución de patrón interno y se enrasa a 5 mL con agua ultrapura. Una vez preparadas, se agitan vigorosamente hasta total homogeneización.

Las disoluciones correspondientes a las curvas de calibración fueron preparadas diariamente a partir de disoluciones multielementales de 10  $\text{mgL}^{-1}$  (MutielementCalibration Standard 3, Standard 4, Standard 5, (PerkinElmer, Inc., Shelton, CT). Las diluciones oportunas se realizaron con isopropanol al 0.5 % y  $\text{HNO}_3$  al 1 % en agua ultrapura. Todas las muestras contenían 50  $\text{ng mL}^{-1}$  de In como patrón interno.

Como control de calidad para asegurar el correcto funcionamiento del método, se ha utilizado material de referencia Seronorm TM Trace Elements Serum.

Este material ha sido reconstituido y tratado siguiendo las recomendaciones del fabricante.

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.

#### **3.5.1.1.- Determinación de elementos mediante ICP-MS**

El desarrollo del método y su aplicación en el análisis de muestras de eritrocito se ha llevado a cabo en un ICP-MS modelo NexION 300D (PerkinElmer, Inc., Shelton, CT).

El equipo dispone de un detector de masas triple cuadrupolo, además de una celda de reacción/colisión que permite el funcionamiento en tres modos STD (sin gas de reacción), KED o de discriminación por energía cinética (con helio como gas de colisión) y DRC o de reacción (con amoníaco como gas de reacción).

Tanto los gases de colisión y reacción como el argón para el plasma tienen una pureza del 99,999% y han sido suministrados por Praxair (Madrid, Spain). Los flujos de gases son regulados por dos controladores de flujo másico. El generador de frecuencia es de libre oscilación y trabaja a 40 Mhz.

El posicionamiento de la antorcha está controlado por ordenador en los tres ejes, el sistema de interfase está compuesto por tres conos (Sampler 1,1 mm de Ni, Skimmer de 0,9 mm de Ni y Hyperskimmer de Al). Para el sistema de nebulización se ha utilizado una cámara ciclónica y un nebulizador concéntrico Meinhard para flujo bajo (0,25mL/ min). Esta cámara ciclónica es refrigerada por un sistema Peltier a una temperatura de 2° C mejorando de esta manera la nebulización y reduciendo la aparición de vapor de agua en el flujo de gas de nebulización. La bomba peristáltica de tres vías para la introducción de muestras está integrada y controlada por ordenador.

Se dispone de un automuestreador modelo S10 de PerkinElmer (Inc., Shelton, CT.), controlado por ordenador que incluye un sistema de lavado entre muestras mediante una bomba peristáltica.

Tabla con las condiciones de operación del ICP-MS

Potencia RF (W)	1350
Flujo de gas de plasma (L/min)	17
Flujo de gas auxiliar (L/min)	1,2
Flujo de gas de nebulización (L/min)	0,93-0,97
Flujo de He, colisión (mL/min)	4
Flujo de NH <sub>3</sub> , reacción (mL/min)	0,6
Velocidad de entrada de muestra (mL/min)	0,25
Voltaje del deflector (V)	-10,5
Voltaje de entrada de la celda (V)	-5,-4,-4
Voltaje de salida de la celda (V)	-5,-31,-4

Antes del inicio de lectura en ICP-MS de las muestras correspondientes a los diferentes diseños experimentales de los que consta la tesis doctoral, se leyeron en ICP-MS dos "muestras blanco", para descartar elementos minerales contaminantes, posiblemente presentes en los viales e instrumentación empleada en el procesamiento de las muestras.

*Parámetros para evaluar el grado de hemoconcentración producida durante la prueba.*

Uno de los parámetros que más puede influir en los resultados obtenidos en sangre tras la realización de un esfuerzo agudo es la hemoconcentración que se produce como consecuencia, sobre todo, de la pérdida de líquidos por el sudor y por la redistribución del agua corporal. Por ello, si no tenemos en cuenta estos cambios los resultados pueden ser erróneos y no reflejar exactamente lo que está siendo debido al esfuerzo exclusivamente. Para ello nosotros hemos determinado parámetros como el peso total antes y después de la prueba y calculamos el porcentaje de cambio. La concentración de hemoglobina y el hematocrito en sangre antes y después de la prueba para hacer las correcciones apropiadas que nos permitan eliminar los fenómenos de hemoconcentración que se produzcan tras la misma. Ambos parámetros se determinaron mediante un analizador de sangre CoulterAcT. Las correcciones para los parámetros se realizaron en base a la fórmula clásica propuesta por (Dill y Costill, 1974).



Tabla 11. Fórmula para la valoración indirecta de los cambios del volumen plasmático

(Dill y Costill, 1974).

ÍNDICE	FÓRMULA
Volumen sanguíneo después del ejercicio	$BV_A = (Hb_B/Hb_A)$
Volumen de eritrocitos después del ejercicio	$CA_A = BV_A(Hct_A)$
Volumen plasmático después del ejercicio	$PA_A = BV_A - CA_A$
Cambio del volumen sanguíneo en %	$\Delta B_V\% = 100(BV_A - BV_B)/BV_B$
Cambio del volumen de los eritrocitos en %	$\Delta C_V\% = 100(CV_A - CV_B)/CV_B$
Cambio del volumen plasmático en %	$\Delta P_V\% = 100(PV_A - PV_B)/CV_B$

BV= volumen de sangre; CV= volumen de eritrocitos; PV= volumen plasmático; Hb=hemoglobina; Hct= hematocrito;

$\Delta$ =cambio. Los subíndices B y A hacen referencia a antes y después del ejercicio respectivamente.

### Protocolos ergoespirométricos para la obtención de parámetros de esfuerzo

#### Evaluación de los parámetros cardiorespiratorios de esfuerzo:

Se citó a cada sujeto con suficiente antelación al día de la realización de la prueba de esfuerzo, para someterle a un cuestionario sobre práctica deportiva (IPAQ, versión corta en español, 2002) e informarle de las condiciones en las que debía presentarse a realizar la prueba. En esta primera cita, los participantes firmaban el consentimiento informado.

El día de la ergoespirometría se le realizaba un control médico de salud, y las valoraciones pertinentes, necesarias para nuestro trabajo (valoración de la composición corporal, datos de frecuencia cardíaca en reposo, valores de

tensión arterial sistólica y diastólica), además de descartar posibles patologías y establecer valores basales.

La frecuencia cardíaca en reposo fue determinada mediante electrocardiografía de superficie en reposo, aprovechando el control cardíaco de salud, empleando derivaciones precordiales (Davis, 2007). Para obtener los valores de tensión arterial sistólica y diastólica (mmHg) se utilizó un medidor de tensión arterial portátil.

El protocolo de ergoespirometría realizada al grupo control, grupo de deportistas y grupo de ciclistas profesionales fue el siguiente:

El consumo máximo de oxígeno ( $VO_{2m\acute{a}x}$ ) y la frecuencia cardíaca máxima ( $FC_{m\acute{a}x}$ ) se determinó, en todos los grupos, de forma directa, mediante la realización de una ergoespirometría hasta extenuación voluntaria en cicloergómetro.

Antes de comenzar el trabajo en el cicloergómetro se les colocó a todos el pulsómetro, que nos permitiría llevar un registro tanto interno como externo de los datos de pulso en los diferentes escalones de intensidad marcados.

En este caso, el protocolo de ergoespirometría en cicloergómetro fue el mismo tanto para el grupo control como para el grupo de deportistas, como para los ciclistas de alto nivel. Las únicas diferencias destacables fueron la potencia de calentamiento y la potencia de inicio del test.

El grupo control realizó un calentamiento de 10 minutos a 50 vatios de potencia e inició el test a esa misma potencia de 50 vatios.

El grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel realizaron un calentamiento de 10 minutos a 100 vatios de potencia e iniciaron el test a esa misma potencia.

Una vez finalizado el calentamiento, se les colocó el analizador de gases, y comenzaron el test. Para la realización de la prueba de esfuerzo, se realizó una prueba incremental máxima hasta la extenuación voluntaria en cicloergómetro. El protocolo de esfuerzo usado para el grupo control, inicio a 50 vatios e incremento de la intensidad de 25 vatios cada 3 minutos hasta alcanzar la máxima potencia que podían mantener. En el caso de los sujetos deportistas y ciclistas de alto nivel, consistió en, inicio a 100 vatios e incremento de la intensidad de 25 vatios cada 3 minutos hasta alcanzar la máxima potencia que podían mantener.

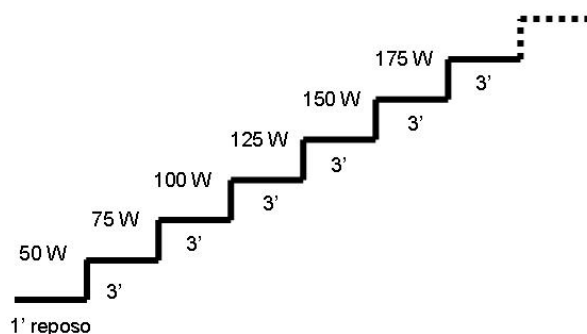


Figura 12. Protocolo tipo para el grupo control. El grupo de deportistas y de ciclistas de alto nivel realizaban el mismo protocolo pero iniciaban la prueba en 100 vatios.

La elección de estos protocolos se efectuó en base a estudios previos en los que se recomienda un ligero incremento de intensidad en cada escalón (Bogaard y cols., 1996; Davis, 1985) y una duración adecuada de la prueba para la obtención del VO<sub>2</sub>máx (Bentley y McNaughton, 2003), así como una adaptación en función del nivel de entrenamiento del sujeto (Lollgen y cols., 1994). Por tanto, con el inicio con cargas distintas todos los grupos se enfrentarían a pruebas de una duración similar y con el mismo incremento de intensidad (Niemela y cols., 1980).

Antes de la prueba, y en todos los casos, se informó a los participantes de las condiciones y desarrollo de la misma, se les advirtió para el día previo a la prueba que evitasen realizar un entrenamiento de gran esfuerzo y que se alimentaran adecuadamente con hidratos de carbono y que no ingiriesen alimentos durante las tres horas previas a la realización de la prueba. Estas indicaciones buscan garantizar el mantenimiento de las mismas condiciones, para que sea reproducible. Del mismo modo, se controlan la temperatura, iluminación, humedad y ventilación de la sala; así como la hora del día en la que se realiza que debe ser la misma, ya que los ritmos circadianos pueden influir como variable contaminadora en los resultados de la prueba.

Los parámetros ergoespirométricos fueron obtenidos mediante un analizador de gases, modelo nº 762014-102 (Metamax Cortex, Alemania) y un pulsómetro Polar modelo Advantage (Finlandia). Los datos fueron analizados con el software Polar Precision Performance (Polar, Finlandia) tras la transmisión de los datos con el interface (Advantage Interface, Polar, Finlandia).

Todas las pruebas se llevaron a cabo bajo condiciones atmosféricas (21–24 °C y 45–55% de humedad relativa y presión atmosférica comprendida entre 700 y 715 mmHg). Los valores se expresaron en condiciones STPD (Standard Temperature and Pressure and PressureDry).

#### Determinación de hemoglobina

La concentración de hemoglobina fue medida en todas las muestras para hacer la corrección de datos en relación a la misma, debido a que es la mayor proteína que se encuentra en los eritrocitos, utilizando un espectrofotómetro UNICAM 5625.

### **3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

#### Descripción de las características basales

En la muestra de ciclistas de alto nivel, el grupo de deportistas y el grupo control que participaron en el estudio se realizó una descripción de las variables, mediante la media y la desviación estándar. Se utilizó la prueba Q de Dixon para identificar valores atípicos. Estos valores fueron analizados para evaluar si la magnitud de los mismos aconsejaba su eliminación en los análisis.

En primer lugar se realizó una exploración de las diferentes variables para determinar la normalidad, teniendo en cuenta la significación Shapiro-Wilks, recomendada para muestras de menos de 30 individuos.

Se realizó una comparación del comportamiento de las variables antes citadas entre ambas poblaciones, utilizando la prueba de significación t-Student para comparación de medias en grupos independientes. Se consideró que existía diferencia significativa cuando el valor de p calculado era inferior a 0,05.

### Programas informáticos.

Los datos obtenidos de cada uno de los participantes en el estudio fueron registrados en las hojas de recogida de datos confeccionadas al efecto y posteriormente almacenados en una base de datos de Microsoft Excel.

El análisis estadístico de la información se realizó con SPSS Inc. (versión 19.0 para Windows). Con el fin de realizar la prueba de Dixon para datos aberrantes se elaboró un programa *ad hoc* utilizando Visual Basic para aplicaciones en el entorno de Microsoft Excel.

### **3.7.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

Una de las principales limitaciones del estudio fue encontrar ciclistas de alto nivel, ya que los requerimientos para entrar en este grupo eran muy específicos.

Otra limitación fue que, aunque se realizó una encuesta nutricional, no fue posible establecer una asociación entre los niveles de ingesta de minerales contenidos en la dieta y la eliminación de éstos, debido a la dificultad para

cuantificar todos los elementos minerales que contienen los alimentos ingeridos por los sujetos de estudio y que nosotros hemos estudiado.





## ***4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN***

## ***RESULTS AND DISCUSSION***



A continuación se expone el análisis de los resultados obtenidos en el presente estudio.

#### **4.1.- PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS**

En la tabla 12 se presentan las características antropométricas de los sujetos de estudio. Se observa que la edad de los tres grupos era similar. El peso obtenido fue significativamente inferior en los sujetos del grupo de alto rendimiento respecto a los otros grupos. La altura fue similar en los tres grupos. El sumatorio de los 6 pliegues medidos, como referencia de la grasa corporal, presentaba diferencias significativas entre el grupo de alto rendimiento y los otros dos grupos. El peso muscular fue muy significativamente mayor en el grupo control respecto a los otros dos grupos. El peso óseo sin embargo fue significativamente menor. Y como es obvio, el peso graso fue significativamente mayor en el grupo control que en los dos grupos que practicaban deporte. Respecto a los porcentajes muscular, graso y óseo siguen la misma tendencia que los pesos destacando diferencias altamente significativas en el porcentaje graso al comparar el grupo control y el grupo de alto rendimiento.

Tabla 12. Características antropométricas de los grupos que formaron parte del estudio.

	GC		GME		GAR	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
<b>Peso(Kg)</b>	75,34†	±12,03	75,12*	±8,16	65,61	±5,22
<b>Talla (m)</b>	1,75	±0,18	1,77	±0,05	1,73	±0,05
<b>∑ pliegues</b>	110,61†	±34,29	87,78*	±30,14	42,21	±10,65
<b>Peso muscular (Kg)</b>	36,13††■	±4,12	31,17	±4,78	32,01	±3,11
<b>Peso óseo (Kg)</b>	11,32†■	±2,22	12,79	±1,03	12,54	±2,01
<b>Peso graso (Kg)</b>	11,62††■	±4,23	7,76	±1,05	6,72	±1,35
<b>%muscular</b>	45,44†	±4,98	47,22*	±2,46	51,21	±1,32
<b>% graso</b>	15,68†††■	±3,55	12,32**	±3,18	6,54	±1,04
<b>% óseo</b>	15,41†■	±3,72	17,51	±1,72	17,89	±1,03

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control (†p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■p<0,05; ■■p<0,01; ■■■p<0,001).

#### 4.2.- PARÁMETROS CARDIOVASCULARES

En la tabla 13 se presentan los datos obtenidos en la valoración realizada en reposo de la presión arterial (TA) (Sistólica y Diastólica) y la frecuencia cardíaca en reposo (FC) y la frecuencia cardíaca máxima en el grupo control frente a los grupos de sujetos moderadamente entrenados y el grupo de alto rendimiento. Como podemos observar en la tabla los valores de presión arterial tanto diastólica como sistólica están dentro de los rangos de normalidad en todos los grupos. En cuanto a la frecuencia cardíaca en reposo se aprecia en todos los casos unos valores bajos. La frecuencia cardíaca de los sujetos de alto rendimiento difiere de manera estadísticamente significativa (p<0,05) del resto de grupos lo cual está en relación con los hallazgos anteriores en los que se

observa cómo el entrenamiento provoca un descenso de la frecuencia cardiaca en reposo (Levy y cols., 1998). Se encontraron diferencias significativas en los valores de tensión arterial sistólica y la frecuencia cardiaca en reposo al comparar el grupo control respecto al grupo de alto rendimiento. Se encontraron diferencias muy significativas entre estos dos mismos grupos en los parámetros de tensión arterial diastólica y la frecuencia cardiaca máxima. Al comparar el grupo control respecto al grupo de sujetos moderadamente entrenados se encontraron diferencias significativas en la frecuencia cardiaca en reposo, y diferencias muy significativas en los parámetros de tensión arterial y frecuencia cardiaca máxima. Por último, al analizar los datos entre los dos grupos que practican deporte se encontraron diferencias significativas en la tensión arterial sistólica y la frecuencia cardiaca en reposo y diferencias muy significativas en la tensión arterial diastólica.

*Tabla 13. Valores en reposo de la presión arterial sistólica, diastólica, frecuencia cardíaca en reposo y frecuencia cardíaca máxima en los grupos del estudio.*

	GC		GME		GAR	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
<b>T.A. Sistólica (mm/Hg)</b>	130,78†	±6,61	129,21*	±8,41	124,24	±7,76
<b>T.A. Diastólica (mm/Hg)</b>	75,21††■	±6,34	81,36**	±5,11	68,13	±5,62
<b>FC Reposo (lat/min)</b>	64,15†■	±7,92	57,24*	±5,56	52,92	±6,15
<b>FC Máxima (lat/min)</b>	188,67††■	±5,78	194,96	±6,41	196,71	±6,21

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control (†p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■p<0,05; ■■p<0,01; ■■■p<0,001).

### 4.3.- PARÁMETROS DE RENDIMIENTO

A nivel general, en la tabla 14, se observan unas diferencias que marcan una clara distinción entre los tres grupos seleccionados para este estudio, habiendo más similitud en los resultados alcanzados por los sujetos moderadamente entrenados y sedentarios. Se observan diferencias estadísticamente

significativas ( $p < 0,01$ ) en la potencia máxima desarrollada, entre los grupos de entrenados y el grupo control, siendo el grupo de alto rendimiento el que mayor potencia desarrolló en la prueba. Entre los grupos de moderadamente entrenados y el grupo control sólo se alcanza la significación estadística ( $p < 0,01$ ). Así, se puede decir que los sujetos de alto rendimiento están preparados para los requerimientos de competiciones de alto nivel ya que la potencia desarrollada guarda relación con la obtenida en otros estudios con ciclistas de alto nivel (Jeukendrup y cols., 2000; Vogt y cols., 2007). De tal manera que se establecen diferencias claras a nivel de rendimiento mecánico entre los tres grupos seleccionados, tal y como cabía esperar en base a los resultados de las encuestas sobre hábitos de práctica de ejercicio físico.

Siguiendo las conclusiones de Hawley y Noakes (1992) que indican que con los datos de potencia máxima se puede predecir con un alto nivel de probabilidad el consumo máximo de oxígeno de los sujetos participantes en una prueba incremental máxima, esta medición puede ser bastante efectiva para la evaluación del rendimiento de los sujetos.

La tabla 14 también muestra los resultados de la potencia relativa, en la que se tiene en cuenta el peso del sujeto. Hay que recordar que los sujetos entrenados del presente estudio tienen un peso corporal significativamente inferior que el resto de grupos, con lo que en los resultados de potencia relativa, que dependen de este parámetro, son muy superiores al resto de grupos, tal y como se puede observar en otros estudios con sujetos altamente entrenados en ciclismo (Faria y cols., 2005). Se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre los tres grupos. De tal manera que son los sujetos de alto rendimiento los que siguen obteniendo mejores valores, seguidos de los moderadamente entrenados y finalmente de los sujetos del grupo control. Por tanto, los sujetos entrenados son los que más potencia desarrollan por kilogramo de peso. Así, los sujetos que mayor potencia relativa alcanzan son los más eficientes, al disponer de menor cantidad de musculatura y generar más potencia.

Tabla 14. Valores del rendimiento mecánico alcanzado en la prueba por los distintos grupos.

	GC		GME		GAR	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
<b>Potencia máxima (W)</b>	208,11††■	± 28,12	272,56**	± 41,21	395,89	± 27,12
<b>Potencia relativa (W/kg)</b>	2,76††■	± 0,33	3,62**	± 0,81	6,03	± 0,51
<b>Tiempo (min)</b>	22,49†††■	± 3,15	28,97**	± 4,41	40,73	± 4,77

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control (†p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■p<0,05; ■■p<0,01; ■■■p<0,001).

#### 4.4.- PARÁMETROS ERGOESPIROMÉTRICOS

En la tabla 15 se muestra la evolución de los parámetros ventilatorios durante la prueba incremental máxima, lo cual permite conocer con más detalle a los grupos estudiados. Los datos que se muestran son de ventilación máxima pulmonar (VE), volumen de oxígeno absoluto (VO<sub>2</sub>), consumo máximo de oxígeno y volumen de dióxido de carbono (VCO<sub>2</sub>).

En el análisis de la ventilación pulmonar máxima se observan diferencias estadísticamente significativas (p<0,01) entre los sujetos de alto rendimiento y los moderadamente entrenados. También se observan estas diferencias entre el grupo de alto rendimiento y los del grupo control. Entre los sujetos moderadamente entrenados y los controles también se alcanzan estas diferencias. El ejercicio provoca el aumento de la ventilación pulmonar debido a las necesidades ventilatorias a las que se ve sometido el organismo durante el ejercicio y el mayor desarrollo de la resistencia aeróbica hace que los sujetos entrenados recuperen antes (Willmore y Costill, 2007).

En el caso de la producción de dióxido de carbono, se mantienen las diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre el grupo de entrenados y el resto de grupos, ocurre lo mismo si comparamos a los sujetos moderadamente entrenados y a los controles.

En el otro parámetro, muy relacionado con el anterior, mostrado en la tabla 15, el consumo de oxígeno, que es un histórico marcador del nivel de entrenamiento estableciendo una clara división entre grupos, hay diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre los sujetos de alto rendimiento y el resto de sujetos

La deuda de oxígeno que provoca el ejercicio y la escasa capacidad de recuperación de los sujetos no entrenados puede ser el motivo de las diferencias encontradas (Calderón, 2007).

El análisis de estos parámetros, muestran una clara diferencia entre los grupos estudiados, con lo que se podría entender que el nivel de entrenamiento que presentan los sujetos moderadamente entrenados no dista excesivamente del nivel de los sujetos sedentarios.

Si se analiza el consumo de oxígeno relativo en función del peso, se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre los sujetos de alto rendimiento y los moderadamente entrenados y los controles.

Todo esto guarda relación con el análisis realizado de los valores absolutos, en el que se veían diferencias en el volumen de oxígeno y el peso muscular en los grupos estudiados.

El análisis del consumo de oxígeno relativo al peso muscular ofrece unos resultados muy similares al parámetro anterior. Para el análisis de este



parámetro hay que tener en cuenta que sí existen diferencias entre los grupos si comparamos el consumo de oxígeno, sin embargo el peso muscular de los tres grupos guarda cierta similitud. No ocurre lo mismo con el porcentaje muscular, ya que el mismo peso en un entrenado representa mayor parte del peso total del sujeto.

Todo ello se puede explicar si tenemos en cuenta que el entrenamiento mejora la capacidad aeróbica y por tanto la cantidad de oxígeno consumido por el organismo (Willmore y Costill, 2007), teniendo en cuenta que se han observado diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) en las variables consumo de oxígeno y peso.

*Tabla 15. Valores de ventilación pulmonar máxima (VE), volumen de oxígeno (VO<sub>2</sub>), consumo máximo de oxígeno (VO<sub>2</sub> max rel) y volumen de dióxido de carbono de los distintos grupos del estudio.*

	GC		GME		GAR	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
<b>VE (L/min)</b>	89,33††■ ■	±12,31	121,11**	±21,4	153,17	±15,84
<b>VO<sub>2</sub> (ml/min)</b>	2612††■ ■	±330	3518**	±456	4440	±423
<b>VO<sub>2</sub> (ml/min/Kg)</b>	38,9††■ ■	±3,73	46,77**	±6,72	66,05	±5,25
<b>VCO<sub>2</sub> (ml/min)</b>	2831††■ ■	±406	3529**	±498	4561	±471

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control († $p < 0,05$ ; †† $p < 0,01$ ; ††† $p < 0,001$ ).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■ $p < 0,05$ ; ■■ $p < 0,01$ ; ■■■ $p < 0,001$ ).

A continuación se muestran los datos de distintas relaciones en parámetros ventilatorios medidos durante la prueba (tabla 16).

Tabla 16. Valores del cociente respiratorio (CR), pulso de oxígeno (Pulso de O<sub>2</sub>), equivalente respiratorio de oxígeno (EQO<sub>2</sub>) y equivalente respiratorio de dióxido de carbono (EQCO<sub>2</sub>).

	GC		GME		GAR	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
CR	1,16	±0,17	1,13	±0,15	1,11	±0,09
Pulso de O <sub>2</sub> (mL/ppm)	16,42††■	3,76	21,56	4,73	23,39	5,09
EQO <sub>2</sub>	32,68	±6,86	33,76	±4,15	33,91	±3,99
EQCO <sub>2</sub>	30,55	±4,01	31,15	±3,74	32,11	±2,6

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control (†p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■p<0,05; ■■p<0,01; ■■■p<0,001).

En la tabla 16 se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas entre estos parámetros, tan solo en el pulso de oxígeno, en el que existen diferencias muy significativas entre el grupo control y los otros dos grupos. El pulso de oxígeno muestra diferencias estadísticamente significativas (p<0,01) entre el grupo de alto rendimiento y el resto de grupos. Esto muestra la eficiencia cardiovascular de los sujetos entrenados en relación al resto (Calderón y Legido, 2002). El grupo de sujetos moderadamente entrenados y el grupo control también presentan diferencias (p<0,01), siendo los primeros los que muestran una mayor eficiencia cardiovascular frente a los sujetos sedentarios.

#### 4.5.- PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA SERIE ROJA

En la tabla 17 se presentan los valores obtenidos en los parámetros hemoglobina y hematocrito en los grupos antes de la prueba de esfuerzo.

Tabla 17. Valores sanguíneos de hemoglobina (g/dL) y hematocrito (%) de los distintos grupos del estudio.

	GC		GME		GAR	
	<u>Media</u>	<u>DT</u>	<u>Media</u>	<u>DT</u>	<u>Media</u>	<u>DT</u>
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	14,97	±1,01	15,46	±1,45	15,14	±0,84
<b>Hematocrito (%)</b>	14,31	±1,18	14,89	±1,12	15,32	±1,17

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control (†p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■p<0,05; ■■p<0,01; ■■■p<0,001).

Al analizar los cambios en la hemoglobina y el hematocrito, se observa cómo estos parámetros fundamentales no muestran cambios significativos entre los tres grupos del estudio, aunque los valores más altos los presentan los grupos que practican deporte. No obstante, los valores del hematocrito y hemoglobina obtenidos por los sujetos estudiados se encuentran dentro de los valores de referencia aportados por la literatura (Lewis, 2008; Vives y Aguilar, 2006).

#### 4.6.- MACROELEMENTOS ESENCIALES EN ERITROCITO

En la tabla 18, se presentan los resultados obtenidos en nuestro estudio en eritrocito para los macroelementos magnesio y fósforo. En ella podemos observar como en el grupo control la concentración de estos elementos está más elevada respecto grupo de alto. El magnesio (p<0,01) y en el caso del fósforo (p<0,05)

Tabla 18. Concentraciones de los macroelementos Fe, Mg, P en eritrocito de los distintos grupos del estudio.

	GC		GME		GAR	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
<b>Mg (mg/L)</b>	0,37†† ■■	±0,06	0,27	±0,09	0,25	±0,04
<b>P (mg/L)</b>	5,27† ■	±0,91	4,33	±1,20	4,12	±0,99

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control (†p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■p<0,05; ■■p<0,01; ■■■p<0,001).

#### 4.7.- ELEMENTOS TRAZA ESENCIALES EN ERITROCITO

En la tabla 19 se muestran los resultados obtenidos en el estudio en relación a los elementos esenciales estudiados en µg/gHb. En ella se observa como la concentración intraeritrocitaria de todos ellos es significativamente menor en los sujetos con mayor grado de entrenamiento en relación a los otros dos grupos, especialmente significativos son en el caso del cobre y manganeso (p<0.001). Esto mismo se observa en todos, ellos menos en el molibdeno, cuando comparamos los entrenados con los del grupo control. Llama la atención que ninguno de los elementos se encontraba en concentraciones inferiores o superiores a los normales encontrados en la bibliografía (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

Tabla 19. Concentraciones de los elementos traza esenciales Fe, Cr, Cu, Mn, Mo, Se y Zn en eritrocito de los distintos grupos del estudio.

	GC		GME		GAR	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
Fe (mg/L)	8,77†††■	±1,46	6,55†	±2,1	5,20	±0,78
Cr (µg/gHb)	0,032†††	±0,016	0,025	±0,014	0,012	0,011
Cu (µg/gHb)	3,886†††■	±0,668	3,181	±0,747	3,024	±0,481
Mn (µg/gHb)	0,145††■	±0,036	0,122	±0,017	0,116	±0,029
Mo (µg/gHb)	0,003†■	±0,004	0,011*	±0,016	0,0008	±0,0022
Se (µg/gHb)	0,863†	±0,230	0,799	±0,216	0,755	±0,136
Zn (µg/gHb)	0,065†††■	±0,010	0,049	±0,014	0,044	±0,006

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control (†p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■p<0,05; ■■p<0,01; ■■■p<0,001).

#### 4.8.- ELEMENTOS TRAZA TÓXICOS

En la tabla 20 se presentan los resultados obtenidos para los tres elementos tóxicos estudiados en µg/gHb. Presentamos los datos obtenidos para los elementos traza, considerados tóxicos para el organismo humano, cadmio, plomo y arsénico. En ella podemos observar que las concentraciones de cadmio y plomo fueron inferiores en eritrocito en el grupo de alto rendimiento respecto a los otros dos grupos, no ocurriendo esto en el caso del arsénico, aunque en ningún caso se superaron las concentraciones aceptadas como anormales. Observamos que el arsénico presenta concentraciones significativamente más elevadas en los eritrocitos de los sujetos más entrenados, siendo menores en el grupo moderadamente entrenado y en el grupo control (p<0,01). En relación al cadmio se observa como no se detecta este elemento en el interior del eritrocito del grupo de alto rendimiento, sin embargo, las concentraciones son más

elevadas en los sujetos moderadamente entrenados y mucho más elevadas en los controles. En relación al plomo las concentraciones son similares en los tres grupos.

Tabla 20. Concentraciones de los elementos traza tóxicos Cd, Pb y As en eritrocito de los distintos grupos del estudio.

	GC		GME		GAR	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
<b>Cd (µg/gHb)</b>	0,0004††	±0,001	0,00048	±0,00010	0,00000	±00000
<b>Pb (µg/gHb)</b>	0,0984	±0,0337	0,1038	±0,0589	0,0855	±0,0454
<b>As (µg/gHb)</b>	0,0149††	±0,0138	0,0121**	±0,0098	0,0361	±0,0280

Test t-student

\* Diferencias entre el grupo de deportistas y el grupo de ciclistas de alto nivel (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

† Diferencias entre el grupo de ciclistas de alto nivel y el grupo control (†p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001).

■ Diferencias entre el grupo control y el grupo de deportistas (■p<0,05; ■■p<0,01; ■■■p<0,001).

#### 4.9.- DISCUSIÓN

La caracterización de los grupos muestra la composición corporal que poseen los ciclistas de alto nivel de nuestra región, representando la expresión de la herencia, el entrenamiento físico planificado de alto nivel, el cuidado nutricional adecuado a las exigencias del deporte practicado y los factores socioculturales, frente a las características del grupo control de sujetos activos, con diferentes hábitos (alimentación, actividad física y salud) y factores determinantes en la composición corporal, unidos a la práctica de actividad física regular moderada inferior a los deportistas de nuestro estudio (Bourgois y cols., 2000). El perfil antropométrico que muestran los ciclistas de alto nivel en la tabla frente al grupo control, nos indica la relación del mismo con el nivel de rendimiento del deporte practicado (Claessens, 1999).

Por tanto, los deportistas de alto nivel presentan valores significativamente inferiores a los del grupo control de grasa corporal localizada y general, reflejada

en los porcentajes, reflejándose el gasto energético que implica el entrenamiento diario, y la dedicación de 20h semanales frente a la actividad inferior de los sujetos activos que componen el grupo control de referencia en nuestro estudio. Estos cambios más significativos pueden ser debidos principalmente a dieta y ejercicio, pero principalmente a las adaptaciones que se dan como consecuencia del entrenamiento de alto nivel y las respuestas fisiológicas al mismo (Wilmore y Costill, 2007).

Respecto a los minerales el magnesio es el segundo catión intracelular más común, un mineral que interviene en numerosos procesos metabólicos relacionados con la actividad física (Antinoro, 2002; Buchman y cols., 1998), y que además posee un rol fundamental como cofactor en más de 300 reacciones enzimáticas envueltas en el metabolismo energético (Chaudhary y cols, 2010; Fawcett y cols., 1999).

El ejercicio puede influir en el metabolismo del magnesio, pero de una forma desconocida. En adultos, los niveles de magnesio intracelular y en suero bajos están asociados a insulinoresistencia y con la tolerancia a la glucosa alterada en algunos, pero no en todos los estudios (Laires y cols., 2004; Paolisso y Ravussin, 1995). Algunos estudios transversales han demostrado que la ingesta de Mg se correlaciona significativamente con las características de síndrome metabólico, incluyendo obesidad, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia, colesterol HDL bajo e hipertensión (Song y cols., 2005a; Fung y cols., 2003). En otros estudios prospectivos se asoció la ingesta de Mg en la dieta inversamente a la incidencia del síndrome metabólico (He y cols., 2006), y sus enfermedades asociadas crónicas, como la diabetes tipo 2 (Song y cols., 2004; Colditz y cols., 1992), enfermedades cardiovasculares (Song y cols., 2005; Abbott y cols., 2003), hipertensión y cáncer colono rectal (Folsom y Hong, 2006; Larsson, Bergkvist y Wolk, 2005).

Por otra parte es reconocido un déficit de magnesio en los países industrializados. Varios estudios han indicado que los deportistas son deficitarios en magnesio (Nielsen y Lukaski, 2006). El estudio de Boggio y cols., (1986) muestra que la ingesta de magnesio en deportistas y sedentarios son similares salvo en relación al mayor aporte energético en los atletas. Mantener unas adecuadas concentraciones de magnesio es necesario para que los deportistas mantengan un adecuado nivel de rendimiento deportivo dada la importancia que tiene este elemento en la utilización de moléculas de alta energía, en la contracción muscular y en el mantenimiento de las propiedades de las membranas celulares (Durlach y Bara, 2000). Todo lo anterior, también, podría explicar las menores concentraciones basales de magnesio encontradas en los deportistas de nuestro estudio.

El fósforo juega un papel muy importante en el metabolismo de los hidratos de carbono, contribuyendo a la absorción intestinal de la glucosa mediante el proceso de fosforilación, en el cual el fosfato se combina con glucosa. Estimula la reabsorción tubular renal de glucosa mediante el mismo proceso. Se une a los lípidos constituyendo los fosfolípidos, que forman parte estructural de todas las membranas celulares. Los fosfatos orgánicos también son parte de un compuesto en el glóbulo rojo conocido como 2,3 DPG (2,3-difosfoglicerato), el cual facilita la liberación de oxígeno a los tejidos musculares (Bremner y cols., 2002).

El fósforo es necesario para multitud de reacciones en las que se requiere energía, siendo básicas en la producción de moléculas energéticas como el adenosíntrifosfato (ATP), fosfato de creatina y fosfoenolpirúvico. Forma parte del músculo e interviene en su metabolismo. Colabora con el transporte de los ácidos grasos y forma parte de los ácidos nucleicos. Contribuye al control del equilibrio ácido-base en la sangre. El fósforo es un elemento ligado íntimamente al calcio, constituye el 22% del contenido mineral del cuerpo. Aproximadamente el 80% de este fósforo está unido al calcio en los huesos como fosfato cálcico proporcionando fuerza y rigidez a los mismos. De este modo los descensos



encontrados en los deportistas respecto al grupo control en nuestro estudio podrían estar en relación con el aumento del porcentaje de peso óseo que se observa en todos los deportistas de nuestro estudio cuando los comparamos con el grupo control.

Respecto a los elementos traza cromo, cobre, manganeso, molibdeno, selenio y zinc eritrocitarios, para poder observar si el entrenamiento físico puede tener o no repercusión en la concentración de los mismos en el eritrocito hemos utilizado tres grupos bien diferenciados; uno formado por sujetos que no hacen ejercicio físico, otro que hace ejercicio de manera moderada durante la semana y un tercero que está formado por ciclistas profesionales, con alto nivel de entrenamiento. La tabla 19, nos indica que los tres grupos corresponden con lo que buscábamos, como lo indica los diferentes consumos de oxígenos presentados por los sujetos e igualmente los pesos totales y la cantidad total de grasa de los sujetos.

Al estudiar los elementos en eritrocitos y para poder ajustarnos a concentraciones reales hemos realizado un ajuste de los valores absolutos en  $\mu\text{g/L}$  en relación a la hemoglobina de los sujetos en  $\text{g/L}$  dando sus valores en  $\mu\text{g/gHb}$ .

El cromo es un elemento traza esencial relacionado con el metabolismo de los hidratos de carbono (Anderson 1993 and 1995, Mertz 1994, Treuthy cols., 1994). El cromo altera los niveles de la glucosa sanguínea potenciando la acción de la insulina influyendo en el metabolismo de los hidratos de carbono, de los lípidos y el anabolismo de las proteínas (Hernández y Sastre, 1999; Mertz, 1998).

La U.S. Food and Nutrition Board ha propuesto como ingesta apropiada de cromo los 50–200 mg de cromo al día, para adultos (NRC 1989). Sin embargo, la ingesta con la dieta, de este elemento, está lejos de la ideal (Anderson 1995). El ejercicio aeróbico ha mostrado capacidad para alterar la excreción y distribución corporal del Cr (Anderson 1992 and 1995). Es posible que el mecanismo

mediante el cual el ejercicio mejora la respuesta a la insulina esté relacionado con una alteración en el metabolismo del cromo. Así, un ejercicio aeróbico agudo incrementa las pérdidas urinarias de cromo (Anderson y cols., 1987).

Clarkson y cols.(1991), indican que en la población general se ingiere poco cromo, ello hace pensar que los atletas puedan presentar déficit en este elemento. Además el ejercicio puede crear esta deficiencia debido a un incremento en su eliminación urinaria. Anderson y cols. (1992), indican que las pérdidas urinarias de cromo están correlacionadas con el estrés, esta eliminación fue menor cuando se estaba en fase de carga de hidratos de carbono y estaba correlacionada con el cortisol post prueba.

Se indica, también, que la suplementación con picolinato de cromo, supuestamente, aumenta la síntesis de glucógeno, mejora la tolerancia a la glucosa y los perfiles lipídicos, y aumenta la incorporación de aminoácidos a los músculos (Armsey y Green, 1997). Sin embargo, Voleky cols., (2006), indican que la suplementación de cromo no aumenta la síntesis de glucógeno durante la recuperación de ejercicios de alta intensidad con carga de hidratos de carbono.

En relación al cobre llama poderosamente la atención las bajas concentraciones que presenta este elemento en los eritrocitos. Sabemos que en el eritrocito existe la enzima Cu-Zn SOD y que según el estudio de Mena y cols. (1991) la actividad enzimática de esta enzima es más elevada en los ciclistas profesionales respecto a los sujetos sedentarios. Nuestros resultados muestran que la concentración de cobre es más baja en los ciclistas profesionales lo que indicaría que si bien la actividad enzimática es más alta en estos sujetos, esta actividad no estaría en relación con los valores totales del cobre. Otra posibilidad sería que en estos la mayor parte del cobre forme parte de la Cu-Zn-SOD y esté en menores concentraciones con otros fines.

En teoría, la función de las enzimas con cobre es muy importante para el rendimiento físico. Por ejemplo, la citocromo-c oxidasa mitocondrial cataliza el

paso terminal en la cadena respiratoria aeróbica (Howell y Gawthorne, 1987). Además, tres enzimas con cobre (ceruloplasmina, superóxidodismutasa 1, (citosólica) y la superóxidodismutasa 3 (extracelular)) tienen importantes funciones antioxidantes (Fridovich, 1995; Howelly Gawthorne, 1987). Con esta función puede reducir los radicales libres formados durante la actividad física que producirían estrés oxidativo y podrían conducir al deportista a fatiga y retraso de la recuperación muscular. (Hasegawa y cols., 1997; Karlsson, 1997). También, el cobre forma parte de la enzima que cataliza el paso final en la síntesis de epinefrinas (Howell y Gawthorne, 1987) que tiene gran importancia en la respuesta del organismo al estrés físico.

Los estudios que examinan los efectos del ejercicio agudo intenso sobre los niveles de cobre muestran resultados diferentes (Anderson y cols., 1995; Marrella y cols., 1993). Mujeres que corren una maratón incrementan sus niveles plasmáticos después de la misma sin que haya cambios a nivel eritrocitario (Deuster y cols., 1991). En un estudio diferente, correr una maratón produce pequeños incrementos en la concentración plasmática de cobre, pero al mismo tiempo, un descenso de la concentración en sangre total (Marrella y cols., 1993).

El manganeso es un elemento traza presente en todos los tejidos de los organismos terrestres y acuáticos. La principal función del manganeso está asociada a la actividad enzimática (como la superóxidodismutasa mitocondrial o la arginasa) y con la metalotioneína. Hasta ahora, los mecanismos de transporte de Mn son parcialmente conocidos, sin embargo, se sabe que comparte algunos de los mecanismos de transporte del hierro (Rivera-Mancía y cols., 2011).

En relación al manganeso, encontramos algo similar a lo visto para el cobre, es decir concentraciones menores de Mn en los eritrocitos de los deportistas profesionales respecto a los otros grupos. Sin embargo, y a diferencia de lo que ocurría con el cobre en el interior del eritrocito no existe la Mn-SOD, pues en el eritrocito no existen mitocondrias, por lo que la menor concentración de este elemento sería, probablemente, debida a una menor cantidad de este elemento

en el organismo del deportista. Algo similar ocurriría con el molibdeno y el selenio.

Diversos estudios, han observado que el ejercicio físico aumenta la actividad de la superóxidodismutasa mitocondrial (MnSOD o SOD2) a nivel del miocardio y en general de las mitocondrias (Bicer y cols., 2012; De Lisio y cols., 2011). Esto es significativo porque la Mn-SOD es una enzima antioxidante localizada a nivel de la mitocondria que neutralizaría los radicales superóxido que se forman en su interior. Por ello se sugiere que la práctica de ejercicio físico y el consecuente aumento de la actividad de la Mn-SOD pueden inducir cardioprotección y en general protección de las mitocondrias celulares contra los radicales libres producidos por la práctica deportiva.

Pero además de la superóxidodismutasa 2, forma parte de enzimas que son fundamentales en la neoglucogénesis y esta es fundamental sobre todo en los deportistas de actividades físicas aeróbicas y también en la formación de urea, que igualmente donde más trascendencia tiene es en las actividades físicas aeróbicas (Lee y cols., 2012; Bicer y cols., 2012). Esto refuerza que las concentraciones más bajas se encuentran en los deportistas donde las enzimas anteriormente mencionadas no se necesitan a gran escala por existir menor producción de radicales libres.

En el hombre, el molibdeno funciona como cofactor enzimático de tres enzimas (aldehído oxidasa, sulfito oxidasa, xantino oxidasadeshidrogenasa), que catalizan la hidroxilación de varios sustratos. La aldehído oxidasa oxida y detoxifica varias pirimidinas, purinas y pteridinas y compuestos relacionados. La sulfito oxidasa cataliza la transformación de sulfito a sulfato, procedente de la cisteína y de la metionina o directamente de la dieta. La xantino deshidrogenasa cataliza la transformación de hipoxantina a xantina y de xantina a ácido úrico. Por tanto, el molibdeno está involucrado en el ciclo de las purinas y en la producción final de ácido úrico, considerado como unantioxidante en el cuerpo humano. La xantino deshidrogenasa normalmente actúa como una deshidrogenasa dependiente de NAD, pero cuando reacciona con el oxígeno

inicia la producción del anión superóxido y posteriormente se forman otros radicales libres de oxígeno, responsables del daño tisular provocado por el estrés oxidativo. Otra función del molibdeno parece estar unida a su capacidad para unirse a receptores de hormonas esteroideas, principalmente a los receptores de glucocorticoides libres, actuando como estabilizador de los mismos (Bodine y Litwack, 1991; Wikström y cols., 1986).

Las mayores concentraciones de molibdeno facilitarían la formación de ácido úrico y con ello se evitaría los daños que producirían los aniones superóxido generados por la xantina oxidasa en los procesos de isquemia-reperfusión que se produce en los músculos de los deportistas durante la actividad intensa (Muñoz y cols., 2010).

El selenio, como parte de las selenoproteínas en el cuerpo, es esencial para el funcionamiento de numerosas enzimas, particularmente la glutatión peroxidasa, enzima que ayuda a neutralizar los radicales libres y prevenir el daño en las estructuras celulares, como las membranas de los eritrocitos. El selenio funciona, como la vitamina E, como un antioxidante (Williams, 2005). El selenio también está involucrado en el metabolismo de las hormonas tiroideas y las funciones inmunológicas y se considera de importancia en la prevención del cáncer (Loeb y Partin, 2009).

El selenio interviene en la acción de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), enzima que juega un papel clave en el metabolismo del oxígeno y sus disfunciones se relacionan con multitud de síntomas asociados con el déficit de selenio. La mayor actividad GSH-Px en el hombre se encuentra en el hígado y en las células sanguíneas. La actividad GSH-Px se correlaciona bastante con el contenido de selenio en sangre y en tejidos en estados deficitarios, pero no cuando las concentraciones son altas. La acción principal de esta enzima es proteger el organismo de la acción citotóxica de los hidroperóxidos y los radicales libres, ya que previenen la formación de peróxidos lipídicos en la membrana celular

(Czernichowy cols., 2009). Por lo tanto, el selenio tiene propiedades antioxidantes y juega un papel esencial en la defensa ante los radicales libres, cuya aparición se produce en mayor medida en las situaciones de traumatismos y de sobre esfuerzo, así como durante un ejercicio agotador. Además se ha sugerido que los déficits de selenio afectan al tejido muscular, produciendo miocardiopatía, debilidad y molestias musculares.

En el estudio de (Mena y cols., 1991) se observó un incremento en la actividad glutatión peroxidasa en los eritrocitos de ciclistas profesionales, guardando esta relación con el grado de entrenamiento.

Debido a su acción antioxidante, el selenio puede ayudar a prevenir la peroxidación de los lípidos inducida por el ejercicio físico y, por lo tanto, compensar el grado de daño celular con mayor probabilidad en los tejidos activos (tales como los músculos) o tejidos susceptibles de una disminución de flujo sanguíneo que produzca una isquemia local (tubo digestivo) (Brouns, 1995).

Según lo anterior la principal función que desempeñaría el selenio en los deportistas sería la de proteger a las células de este contra la acción de los radicales libres. En este sentido serían las mejoras en la actividad enzimática de la GSH-Px en eritrocitos y células hepáticas la necesidad que tendría el deportista en utilizar el selenio.

Como se comentó en la introducción, el zinc forma parte de más de 70 enzimas involucradas en diversas funciones del metabolismo celular, incluyendo el metabolismo de lípidos, proteínas e hidratos de carbono (Jomova y Valko, 2011). El zinc está distribuido en todos los órganos, fluidos y secreciones del cuerpo humano. La mayor proporción de zinc corporal se encuentra en el músculo esquelético (50-60%) y en el hueso (25-30%).

La concentración de zinc en los alimentos es muy variable y su ingesta puede depender de numerosos factores. Así por ejemplo, se pueden observar interacciones entre determinados metales como puede ser la relación antagónica que se da entre el zinc-cadmio y el zinc-cobre. Además, altos niveles de calcio y magnesio en la dieta disminuyen la biodisponibilidad del zinc (Kabata-Pendias & Pendias 1999).

La esencialidad del zinc está dada por su intervención en multitud de enzimas. Se halla en enzimas que intervienen en el metabolismo del ADN, influye en la síntesis de proteínas, participa en la glicólisis y neoglucogénesis, en la síntesis de prostaglandinas y en el metabolismo del colesterol, previene la peroxidación lipídica y mantiene las estructuras de membranas (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

Se puede asumir que pueden producirse desplazamientos funcionales de zinc entre los tejidos durante el ejercicio. Por esa razón, parece bastante difícil determinar los efectos del ejercicio sobre la concentración de zinc y otros elementos (Buchmann y cols., 1998).

Unas bajas concentraciones de Zn en sangre se relaciona con una mayor producción de lactato y unas menores concentraciones de glucemia durante un esfuerzo (Khaled y cols., 1997) lo que es normal en sujetos con bajo rendimiento deportivo.

En relación a los elementos tóxicos destacar en primer lugar como el arsénico se encuentra en mayores concentraciones en los sujetos más entrenados. No podemos dar una explicación con los conocimientos actuales sobre esta situación. Lo que es cierto es que son concentraciones muy bajas que no tendrían por qué tener repercusiones negativas sobre los sujetos.

El cadmio es actualmente considerado probablemente como el elemento más peligroso de cuantos ingerimos los seres humanos por su gran toxicidad, facilidad de acumulo y dificultad de eliminación. Las principales fuentes de ingesta del cadmio en humanos son la inhalación y la ingestión a través de la comida o la bebida. A través de los alimentos, la ingesta de cadmio varía mucho de un país a otro, o de una región a otra, en función de las condiciones ambientales e industriales. Así las mayores fuentes de cadmio se encuentran en los alimentos vegetales, llegando al 75%, entre los que los cereales (el arroz) y las patatas pueden llegar a aportar en torno al 50% de la ingesta total de cadmio (Louekariy cols., 2000).

El cadmio es incapaz de generar radicales libres, sin embargo, de manera indirecta favorece la formación de especies reactivas de oxígeno. Un interesante mecanismo parece explicar el papel indirecto del cadmio en la generación de radicales libres. Parece ser que el cadmio puede reemplazar al hierro y el cobre en varias proteínas plasmáticas y de membrana, lo que llevaría a un aumento de la cantidad libre de hierro o cobre que participan en el estrés oxidativo a través de la reacción de Fenton (Wapnir, 1990).

Es importante comprobar como este elemento, probablemente en relación con el entrenamiento deportivo, no pasa a los eritrocitos en los sujetos con mayor grado de entrenamiento y si lo hace en los sujetos con menor grado de entrenamiento. En estudio realizados Llerena y cols. (2011) se encontró que la eliminación urinaria de Cd era mayor en los sujetos más entrenados. La evaluación en el suero de estos sujetos (Crespo, 2012) observó que las concentraciones séricas de Cd eran superiores en los sujetos más entrenados respecto al grupo control. Según lo encontrado en nuestro estudio, las menores concentraciones de Cd en los deportistas en eritrocito serían debidas a la dificultad que tendría el elemento en entrar al interior de las células, evitando su acumulación en el interior del organismo y ese aumento de concentración en suero no tendría peligro para el organismo pues lo eliminaría con facilidad por la orina. Consideramos que lo encontrado en este estudio puede tener un gran



interés en relación a evitar los efectos dañinos del elemento en el organismo que son muy negativos para el hombre.

Las fuentes de exposición al plomo son variadas, acumulándose en el organismo humano debido a la exposición continuada al mismo. Las principales vías de entrada del plomo en el hombre son las vías respiratorias y la digestiva. La absorción gastrointestinal es mayor en niños (40- 50%) que en adultos (3-10%) (Jomova y Valko, 2011). Aproximadamente se absorbe entre el 30-50% del plomo inhalado, pasando hacia la sangre por difusión pasiva tras la disolución de las partículas. Una vez absorbido, el plomo se distribuye por todo el organismo, principalmente “secuestrado” por los eritrocitos. Existe una relación lineal entre el plomo en sangre y el plomo plasmático. La mayor parte del plomo (aproximadamente el 90%) se deposita en el tejido óseo, y el resto, en los tejidos blandos.

Al igual que otros elementos tóxicos, el plomo induce estrés oxidativo. Los efectos del plomo pueden ir desde la interrupción de la actividad enzimática, inhibir la absorción de importantes minerales traza y desactivar sustancias antioxidantes (pool sulfidrilo) (Patrick, 2006). El plomo puede inducir daño oxidativo a través de dos mecanismos: el primero está relacionado con la formación directa de especies reactivas de oxígeno (ROS) y, el segundo mecanismo, tendría que ver con la depleción del pool de antioxidantes celulares. El glutatión representa más del 90% de los antioxidantes del organismo, y el glutatión es el más afectado por el plomo (Hunaiti y Soud, 2000).

En nuestro estudio los sujetos del grupo de alto rendimiento muestran valores de plomo menores a los del grupo control y a los del grupo moderadamente entrenados. Estos resultados ponen de manifiesto posibles mecanismos adaptativos que llevarían a niveles menores en eritrocito de este elemento en relación con el volumen de entrenamiento.



## ***5.- CONCLUSIONES***

## ***CONCLUSIONS***



De nuestro estudio hemos obtenido las siguientes conclusiones:

1. Que las concentraciones eritrocitarias de los elementos esenciales Fe, Cr, Cu, Mn, Mo, Se y Zn son menores en los sujetos bien entrenados.
2. Dado lo anterior creemos que se debería de suplementar con dichos elementos a todos los sujetos que realizan entrenamientos de alto nivel.
3. Que el alto grado de entrenamiento físico evita la entrada de Cd al interior del eritrocito y con ello evita su toxicidad celular.
4. Que existe una importante correlación entre la concentración de elementos en el eritrocito y el grado de entrenamiento de los sujetos de estudio, lo que indica la gran importancia que pueden tener dichos minerales.



## ***6.- BIBLIOGRAFÍA***

## ***REFERENCES***





Abbott RD, Ando F, Masaki KH, et al (2003) Dietary magnesium intake and the future risk of coronary heart disease (the Honolulu Heart Program). *Am J Cardiol*; 92:665–9.

Abumrad N, Schneider AJ, Steel D, Rogers LS (1981) Amino acid intolerance during prolonged total parental nutrition reversed by molybdate therapy. *Am Clin Nutr*;34(11):2551–9.

Ahmadi, A., Enayatizadeh, N., Akbarzadeh, M., Asadi, S. & Tabatabaee, S.H. (2010). Iron status in female athletes participating in team ball-sports. *Pakistan Journal of Biological Science*, 13, 93–96.

Alayash, A.I. (2004). Oxygen therapeutics: can we tame hemoglobin? *Nature Reviews Drug Discovery*, 3, 152.

Aldershvile, J., Ambrosio, G., Bayés de Luna, A., Badimon, L., Bertrand, M.E., Cleand, J., et al (1998). Estrés oxidativo (especies de oxígeno reactivo), patología cardiovascular (Parte I). *Eur Cardiol J*, 3(72).

Alleyne, M., Horne, M.K. & Miller, J.L. (2008). Individualized treatment for iron-deficiency anemia in adults, *American Journal of Medicine*, 121, 943.

Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM (1992) Dietary chromium intake freely chosen diets, institutional diets and individual foods. *Biol. Trace Elem. Res.* 32:117-21.

Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM, Deuster PA (1995) Acute exercise effects on urinary losses and serum concentrations of copper and zinc of moderately trained and untrained men consuming a controlled diet. *Analyst*; 120(3):867–70.

Anderson RA (1987) Chromium. In *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, ed. W Mertz, pp. 225-44- Orlando, FL:Academic

Anke M, Gleis M (1994) Molybdenum. En: Seliger H, Sigel A, Sigel H, eds. Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry. New York: Marcel Dekker; 1994. p.495–50.

Antinoro L (2002) Marvelous magnesium offers health benefits: From heart to bones. *Environmental Nutrition*;25(9):1–6.

Aresu G, Pascalis L, Pia G (1990) Behavior of blood copper, ceruloplasmin and procollagen III in acute myocardial infarction. *Minerva Cardioangiologica*; 38(4):141–50.

Armstrong TD Jr, Green GA (1997) Nutrition supplements: Science vs. hype. *Physician and Sportsmedicine*, 25(6), 77-92

Arquilla ER, Packer S, Tarmas W, Miyamoto S (1978). The effect of zinc on insulin metabolism. *Endocrinology*;103(4):1440–9.

Aschner JL, Aschner M (2005) Nutritional aspects of manganese homeostasis. *Mol Aspects Med*;26(4–5):353–62.

ATSDR (2000) Toxicological profile for manganese. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

ATSDR (2007) Toxicological profile for lead. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Avissar, N., Slemmon, J.R., Palmer, I.S. (1992). Partial sequence of human plasma GPx and immunologic identification of milk GPx the plasma enzyme. *J Nutr*, 12(6),1243-1249.

Baran EJ. (1995). Química Bioinorgánica. Ed. McGraw-Hill; p.3-11. López-García L, Fernández L, González M, Cuadrado MA. (2008). Elementos traza y ultratrazas. Ed: Asociación Española de Biopatología.

Barrow L, Tanner MS (1988) Copper distribution among serum proteins in paediatric liver disorders and malignancies. *Eur Clin Invest*;18(6):555–60.

Behne, D., Scheid, S., Kyriakopoulos, A. (1990). Subcellular distribution of seleno proteins in the liver of rat. *Biochem Biophys Acta*, 26(3), 219-225.

Benzi, G. & Moretti, A. (1995). Age- and Peroxidative Stress-Related Modifications of the Cerebral Enzymatic Activities Linked to Mitochondria and the Glutathione System. *Free Radical Biology & Medicine*, 16, 99-109.

Betteger WJ, O'Dell BL (1993) Physiological roles of zinc in the plasma membrane of mammalian cells. *J Nutr Biochem*;4(4):194–207.

Blouin E, Vignon E (2008) Reflexions Rhumatologiques. TAP du n°106. Tome 12, Février.

Boggio V, Guillard JC, Moreau D, Durlach J & Kepling J (1986): Dietary magnesium intake among male athletes. *Magnesium Bull.* 8, 275.

Bohl CH, Volpe SL (2002) Magnesium and exercise. *Grit Rev Food Sci Nutr*; 42: 533-63.

Bohmer T, Roseth A, Holm H et al. (1990) Bioavailability of oral magnesium supplementation in female students evaluated from elimination of magnesium in 24-hour urine. *Magnesium and trace elements*; 9:272-278.

Bourgois J, Claessens AL, Vrijens J, Philippaerts R, Van Renterfhem B, Thomis M, Janssens M, Loos R, Lefevre J (2000) Anthropometric characteristics of elite male junior rowers. *Sports Med* 2000;34:213–217

Bremner K, Bubb WA, Kemp GJ, Trenell MI, Thompson CH (2002) The effect of phosphate loading on erythrocyte 2,3-bisphosphoglycerate level. *Clin Chim Acta*;323(1– 2):111–4.

Brouns F (2001) Necesidades nutricionales de los atletas. 3ª ed. Barcelona: Eds Paidotribo; p.103.

Buchet JP, Lauwerys R, Roels H, Bernard A, Bruaux P, Claeys F, Ducoffre G, de Plaen P, Staessen J, Amery A, Lijnen P, Thijs L, Rondia D, Sartor F, Saint Remy A, Nick L (1990) Renal effects of cadmium body burden of the general population. *Lancet*;336(8717):699–702.

Buchman AL, Keen C, Commisso J, Killip D, Ou CN, Rognerud CL, Dennis K, Dunn JK (1998) The effect of a marathon run on plasma and urine mineral and metal concentrations. *J Am Coll Nutr*;17(2):124–7.

Calderón, J. (2007). *Fisiología aplicada al deporte* (2 ed.). Madrid: Tebar.

Cannon JG, Evans WJ, Hughes VA, Meredith CN, Dinarello CA (1986) Physiological mechanisms contributing to increased interleukin-1 secretion. *J Appl Physiol*; 61(5):1869–74.

Cantone MC, de Bartolo D, Molho N, Pirola L, Gambarini G, Hansen C, Roth P, Werner E (1993) Response to a single oral test of molybdenum stable isotopes for absorption in humans. *Physiol Meas*;14(2):217–25.

Casado M, Anawar HM, Garcia-Sánchez A, Santa Regina I (2008) Cadmium and zinc in polluted mining soils and uptake by plants (El Losar mine, Spain). *Int J Environ Pollut*;33(2–3):146–59.

Chance, B. & Maehly, A.C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. En: Colowick SP, Kaplan NO, eds. *Methods in enzymology*. New York: Academic, 764-5.

Chaudhary DP, Sharma R, Bansal DD (2010) Implications of magnesium deficiency in type 2 diabetes: a review. *Biol Trace Elem Res* 134:119–129

Chen MD, Lin WH, Lin PY, Wang JJ, Tsou CT (1991) Investigation on the relationships among blood zinc, copper insulin and thyroid hormones in noninsulin dependent diabetes mellitus and obesity. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*;48(6):431–8.

Claessens AL (1999) Talent detection and talent development: kinanthropometric issues. *Acta Kinesiologiae UniversitatisTartuensis*; 4:47–64

Clarkson PM (1991) Minerals: exercise performance and supplementation in athletes. *J Sports Sci*;9(Spec):91–116.

Claster, S. & Vichinsky, E.P. (2003). Managing sickle cell disease, *British Medical Journal*, 327, 1151.

Clarkson PM (1991) Minerals: exercise performance and supplementation in athletes. *J Sports Sci*;9(Spec):91–116.

Cleggs MS, Ferrell F, Keen CL (1987) Hipertension-induced alterations in copper and zinc metabolism in Dahl rats. *Hypertension*;9(6):624–8.

Cohen HJ, Fridovich I, Rajagopalan KV (1971) Hepatic sulfite oxidase. A functional role for molybdenum. *J Biol Chem*;246(2):374–82.

Colditz GA, Manson JE, Stampfer MJ, Rosner B, Willett WC, Speizer FE (1992) Diet and risk of clinical diabetes in women. *Am J Clin Nutr*; 55:1018 –23

Coon, K. D., Siegel, A. M., Yee, S. J., Dunckley, T. L., Mueller, C., Nagra, R. M., ... & Kirsch, W. M. (2006). Preliminary demonstration of an allelic association of the IREB2 gene with Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*, 9(3), 225.

Costa, N.F., Schtscherbyna, A. & Soares, E.A., Ribeiro, B.G. (2012). Disordered eating among adolescent female swimmers: dietary, biochemical, and body composition factors. *Nutrition*, 10, 1016.

Cousins RJ (1985) Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev*; 65(2):238–309.

Crespo, C. (2012). Influencia del ejercicio físico en los niveles de séricos de minerales traza. Tesis Doctoral.

Cupit M, Larsson O, de Meeûs C, Eduljee GH, Hutton M (2002) Assessment and management of risks arising from exposure to cadmium in fertilisers-II. *Sci Tot Environ*;291(1–3):189–206.

Czernichow S, Vergnaud AC, Galan P, Arnaud J, Favier A, Faure H, Huxley R, Dang HS y Pullat VR (1993) Normal concentration and excretion ratio of uranium in serum of normal individuals in India, *Health Phys*. 65(3), 303–305.

Danks DM, Campbell PE, Stevens BJ, Mayne V, Cartwright E (1972) Menke's kinky hair syndrome. An inherited defect in copper absorption with widespread effects. *Pediatrics*;50(2):188–201.

Davies, K.J., & Pryor, W. (2005). The evolution of Free Radical Biology & Medicine: A 20-year history. *Free Radical Biology & Medicine*, 39, 1263-1264.

DellaValle, D.M. & Haas, J.D. (2011). Impact of iron depletion without anemia on performance in trained endurance athletes at the beginning of a training season: a study of female collegiate rowers. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 21:501–506.

Deugnier, Y., Loreal, O., Carre, F., et al. (2002). Increased body iron stores in elite road cyclists. *Medicine and Science of Sports Exercise*, 34:876–880.

Deuster PA, Dolev E, Kyle SB, Anderson RA, Shoomaker EB (1987) Magnesium homeostasis during high-intensity anaerobic exercise in men. *J Appl Physiol*; 62: 545-50.

Deuster PA, Kyle SB, Singh A, Moser PB, Bernier LL, Yuyahiro JA, Schoomaker EB (1991) Exercise-induced changes in blood minerals, associated proteins and hormones in women athletes. *J Sports Med Phys Fitness*;31(4):552–60

Dinarello CA (1984) Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute phase response. *N Engl J Med*;311(22):1413–8.

Dorris J, Atieh BH, Gupta RC (2002) Cadmium uptake by radishes from soil contaminated with nickel–cadmium batteries: toxicity and safety considerations. *Toxicol Mech Methods*;12(4):265–76.

Dreosti IE (1995) Magnesium status and health. *Nutr Rev*; 53: S23-S27.

Droz, N., & Marques-Vidal, P. (2014). Multivitamins/multiminerals in Switzerland: not as good as it seems. *Nutr J*, 13(24), 10-1186.

Duran M, Beemer FA, van de Heiden C, Korteland J, de Bree PK, Brink M, Wandman SK, Lombeck I (1987) Combined deficiency of sulfite oxidase and xanthine oxidase: a defect of molybdenum metabolism or transport? *J Inherit Metab Dis*; 1(4):175–8.

Durak, I., Akyol, D. & Basesme, E. (1994). Reduced erythrocytes defense mechanism against free radical toxicity in patients with chronic renal failure. *Nephron*, 66:76-80.

Durlach J & Bara M (2000) Le magnésium en biologie et en médecine. Cachan, France: Eminter, 403pp

Eichner, E.R. (1992). Sports anemia, iron supplements, and blood doping. *Medicine and Science of Sports Exercise*, 24, S315–S318.

Eichner, E.R. (2001). Fatigue of anemia. *Nutrition Review*, 59, S17–S19.

Eichner, E.R. (2012). Pearls and pitfalls: everyone needs iron. *Current Sports Medicine Report*, 11, 50–51.

Elliott, S., Pham, E. & Macdougall, I.C. (2008). Erythropoietins: a common mechanism of action, *Experimental Hematology*, 36, 1573.

Escanero J. (1998). Minerales: Elementos traza. En Cocho JA. Escanero - JF. Gozález Buitrago JM. Elementos traza: Aspectos Bioquímicos, analíticos y clínicos. SEQC, 1: 11-4.

Esworthy, R.S., Chu, F.F., Paxton, R.J. (1991). Characterization and partial sequence of human plasma GPx. *Arch Biochem Biophys*, 286(2), 330-336.

Evans GW, Johnson EC (1981) Effect of iron, vitamin B-6 and picolinic acid on zinc absorption in the rat. *J Nutr*;111(1):68–75.

Fandrey, J. (2004). Oxygen-dependent and tissue-specific regulation of erythropoietin gene expression, *American Journal of Physiology*, 286, R977.

Faria, E. W., Parker, D. L., & Faria, I. E. (2005). The science of cycling: physiology and training - part 1. *Sports Med*, 35(4), 285-312.

Farré R (2006) Minerales. En: Soriano JM (ed.) Nutrición básica humana. PUV. Valencia; 203-212.

Farré R, Pons I (1999) Calcio, fósforo y magnesio. En: Hernández M, Sastre A (eds.) Tratado de nutrición. Díaz de Santos. Madrid; 217-229.

Fawcett WJ, Haxby EJ, Male DA (1999) Magnesium: physiology and pharmacology. *Br J Anaesth* 83:302–320.



Fell GS, Lyon TDB (1994) Zinc. En: Herber RFM, Stoeppeln M, eds. Trace element analysis in biological specimens. Amsterdam: Elsevier Science BV;p.541–58.

Fernández de León S, Ambel MP, Sánchez A, García-Monco RM, Cobos JG, Fajardo M (2004) Presencia de cadmio y plomo en sangre total, suero y plasma de cordón umbilical de la embarazada y su relación con el hábito fumador. *Prog Obstet Ginecol*;47(3):127-34.

Fine KD, Ana CAS, Porter JL et al. (1991) Intestinal absorption of magnesium from food and supplements. *Journal of Clinical Investigation*; 88:396-402.

Finley JW, Penland JG, Pettit RE, Davis CD (2003) Dietary manganese intake and type of lipid do not affect clinical or neuropsychological measures in healthy young women. *J Nutr*;133(9):2849–56.

Fita, I. & Rossman, M.G. (1985). The NADPH binding site on liver catalase. *Proc Nat Acad Sci USA*, 82:1604-1608.

Folsom AR, Hong CP (2006) Magnesium intake and reduced risk of coloncancer in a prospective study of women. *Am J Epidemiol*;163: 232–5.

Fox SI (2003) Regulación del metabolismo. En Fox SI (eds) *Fisiología humana*, 7ª ed. McGraw-Hill Interamericana; Madrid, 622-55.

Frazer, D.M., Inglis, H.R., Wilkins, S.J., et al. (2004). Delayed hepcidin response explains the lag period in iron absorption following a stimulus to increase erythropoiesis. *Gut*, 53, 1509–1515.

Fridovich I (1995) Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*; 64:97–112-.

Friedman BJ, Freeland-Graves JH, Bales CW, Behmardi F, Shorey-Kutschke RL, Willis RA, Crosby JB, Trickett PC, Houston SD (1987) Manganese balance and clinical observations in young men fed a manganese-deficient diet. *J Nutr*;117(1):133–43.

Fu H, Boffetta P(1995) Cancer and occupational exposure to inorganic lead compounds: a meta-analysis of published data. *Occup Environ Med*;52(2):73–81.

Fung TT, Manson JE, Solomon CG, Liu S, Willett WC, Hu FB (2003) The association between magnesium intake and fasting insulin concentration in healthy middle-aged women. *J Am Coll Nutr*; 22:533– 8.

Genkinger, J.M., Friberg, E., Goldbohm, R.A. & Wolk, A. (2012). Long-term dietary heme iron and red meat intake in relation to endometrial cancer risk. *American Journal of Clinical Nutrition*, 96, 848–854.

Gil A (2004) Bases moleculares del desarrollo y del metabolismo óseo. En: Díaz M, Gil A, Mataix J (eds). *Nutrición y salud ósea*. Instituto Omega 3 y Fundación Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas óseas. Madrid.

Goldestein IM, Kaplan HB, Edelson HS, Weissmann G (1979) Ceruloplasmin. A scavenger of superoxide anion radicals. *J Biol Chem*;254(10):4040–5.

Golf SW (1993) Biochemistry of magnesium in man. In: Golf S, Dralle D, Vecchiet L, eds. *Magnesium*. London: John Libbey, Company: 31-41. 4.

Golf SW, Böhmer D, Nowacki PE (1994) Is magnesium a limiting factor in competitive exercise? A summary of relevant scientific data. In: Golf S, Dralle D, Vecchiet L, eds. *Magnesium 1993*. London: John Libbey, Company; 209-19. 5.

González HA, Varo CN (1998) Arsénico. En: Cocho JA, Escanero JF, González Buitrago JM, eds. *Elementos traza: Aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Barcelona: Monografías de la SEQC; p.507–26.

Goullé JP, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Lainé G, Bouige D, Lacroix C (2005) Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values. *Forensic Sci Int*;153(1):39–44.

Gulati, G. (1992). Ischemia-reperfusion injury biochemical alterations in peroxisomes of rat kidney. *Arch Biochem Biophys*, 15:, 90-100.

Guyton AC, Hall JEH (2001) *Tratado de fisiología médica*, 10ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid; 1081-100.

Guthrie BE, Wolf WR, Veillon C (1978) Background correction and related problems in the determination of chromium in urine and by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.* 50:900-2.

Guyton, C.G. & Hall, J.E. (2011). *Tratado de Fisiología Médica*. 12ª Edición. Madrid: Elsevier España.

Hadju, J., Wyss, S.R., Aebi, H. (1977). Properties of human erythrocyte catalases after crosslinking with bifunctional reagents: symmetry of the quaternary structure. *Eur J Biochem*, 80, 199-207.

Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Aruoma, O.I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 35(1-2),7-20.

Hamilton EI (1980) The need for trace elements analyses of biological materials in the environmental sciences. En: *Elemental Analysis of Biological Materials*. Internacional Atomic Energy Agency, Technical Report Series No. 197. Viena: IAEA.

Harper HA, Rodwel VW, Mayes PA. (1978). *Manual de Química Fisiológica*. 6ª ed. México: El Manual Moderno.

Harrison HE (1984) Phosphorous. En: Present knowledge in nutrition. Fifth edition. The Nutrition Foundation Inc.

Hasegawa A, Suzuki S, Matsumoto Y, Okubo T (1997) In vivo fatiguing contraction of rat diaphragm produces hydroxyl radicals. *Free Radic Biol Med*;22(1-2):349-54.

Hawley, J. A., & Noakes, T. D. (1992). Peak power output predicts maximal oxygen uptake and performance time in trained cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 65(1), 79-83.

He K, Liu K, Daviglius ML, et al (2006) Magnesium intake and incidence of metabolic syndrome among young adults. *Circulation*;113: 1675- 82

Heitland P, Köster HD (2006) Biomonitoring of 30 trace elements in urine of children and adults by ICP-MS. *Clin Chim Acta*;365(1-2):310-8.

Heitland P, Köster HD (2004) Fast, simple and reliable routine determination of 23 elements in urine by ICP-MS. *J Anal At Spectrom*;19(12):1552-8.

Hentze, M.W., Muckenthaler, M.U. & Andrews, N.C. (2004). Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism, *Cell*, 117, 285.

Hernández M. (1999). Valoración del estado nutricional. En: Hernández M, Sastre A, eds. Tratado de nutrición. Madrid: Ed. Díaz Santos; p.601-26.

Hicks SE, Wallwork JC (1987) Effect of dietary zinc deficiency on protein synthesis in cell-free systems isolated from rat liver. *J Nutr*;117(7):1234-40.

Himeno S, Yanagiya T, Fujishiro H (2009) The role of zinc transporters in cadmium and manganese transport in mammalian cells. *Biochimie*;91(10):1218-22.

Hurley LS, Woolley DE, Rosenthal F, Timiras PS (1963) Influence of manganese on susceptibility of rats to convulsions. *Am J Physiol*;204:493–6.

Iffland, R. (1994). Arsenic. In *Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry* (H. G., Seiler, A. Sigel, and H. Sigel, Eds.), pp. 237–253. Marcel Dekker, New York.

IARC (1987) Lead and lead compounds, Inorganic. En: International Agency for Research on Cancer. Lyon: IARC Monographs.

IARC (2006) Inorganic and Organic Lead Compounds. En: Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon: IARC Monographs

Iregren A (1999) Manganese neurotoxicity in industrial exposures: proof of effects, critical exposure level, and sensitive tests. *Neurotoxicology*;20(2–3):315–23.

Iskandar M, Swist E, Trick KD, Wang B, L'Abbé MR and Bertinato J (2005) Copper Chaperone for Cu/Zn Superoxide Dismutase is a sensitive biomarker of mild copper deficiency induced by moderately high intakes of zinc. *Nutrition Journal*, 4:35.

Janakiraman, K., Shenoy, S. & Sandhu, J.S. (2011). Intravascular haemolysis during prolonged running on asphalt and natural grass in long and middle distance runners. *Journal of Sports Science*, 29, 1287–1292.

Jeukendrup, A.E. (2011). Nutrition for endurance sports: marathon, triathlon, and road cycling. *Journal of Sports Science*, 29, S91–S99.

Jomova, K., & Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 283(2), 65-87.

Johnson BFG (1978) Inorganic chemistry of the transition elements. London: The Chemical Society.

Johnson FM (1998) The genetic effects of environmental lead. *Mutat Res*;410(2):123–40.

Kabata-Pendias A, Pendias H. (1999). Biogeochemistry of trace elements, 2<sup>nd</sup> ed., Wyd Nauk PWN, Warszawa.

Kabata-Pendias A, Mukherjee AB (2007) Trace elements from soil to human. Springer.

Karlsson J. Antioxidants and Exercise (1997) Champaign, IL: Human Kinetics

Kato, G.J. & Gladwin, M.T. (2008). Evolution of novel small-molecule therapeutics targeting sickle cell vasculopathy, *JAMA*, 300, 2638.

Karamizrak, S.O., Islegen, C., Varol, S.R., et al. (1996). Evaluation of iron metabolism indices and their relation with physical work capacity in athletes. *British Journal of Sports Medicine*, 30,15–19.

Karlsson J. Antioxidants and Exercise (1997) Champaign, IL: Human Kinetics.

Kawabe N, Suzuki M, Machida K, Shiota M (1998) Magnesium metabolism after a full-marathon race. *Jap J Phys Fitness Sports Med*; 47: 221-30.

Kelsay JL, Behall KM, Prather ES (1980) Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subjects. *Am J Clin Nut*; 32:1876- 1880.

Khaled S, Brun JF, Micallet JP, Bardet L, Cassanas G, Monnier JF, Orsetti A (1997) Serum zinc and blood rheology in sportsmen (football players). *Clin Hemorheol Microcirc*;17(1):47–58.

Kirchgessner M, Reichlmayr-Lais AM (1981) Lead deficiency and its effects on growth and metabolism. En: Howel JM, Gawthorne JM, White CL, eds. Trace element metabolism in man and animals. Camberra: Academy of Science; p.390.

König D, Berg A, Halle M, Grathwohl D, Keul J (1997) FACSM Zinc concentrations in serum, red blood cells and urine following strenuous exercise in endurance trained athletes 1678. *Med Sci Sports Exerc*;29(5):295.

Kumar A, Sharma CB (1987) Hematological indices in copper-poisoned rats. *Toxicol Lett*;38(3):275–8.

Laires MJ, Monteiro C (2001) Magnesium Status: Influence on the regulation of exercise-induced oxidative stress and immune function in athletes. In: Rayssiguier Y, Mazur A, Durlach J, eds. *Advances in Magnesium Research: Nutrition and Health*. London: John Libbey, Company;433-41.

Laires MJ, Moreira H, Monteiro CP, Sardinha L, Limao F, Veiga L, Goncalves A, Ferreira A, Bicho M(2004) Magnesium, insulin resistance and body composition in healthy postmenopausal women. *J AmColl Nutr* 23:510S–513S

Lam, K.W., Wang, L., Hong, B.S., Treble, D. (1993). Purification of phospholipid hydroxiperoxide glutathione peroxidase from bovine retina. *Curr Eye Res*, 12(1), 9-15.

Langauer-Lewowicka H, Kazibutowska Z (1991) Value of the studies of multimodal evoked potentials for evaluation of neurotoxic effects of combined exposure to lead, copper and zinc. *Neurol Neurochir Pol*;25(6):715–9.

Lappin, T. (2003). The cellular biology of erythropoietin receptors, *Oncologist*, 8, 15.

Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A (2005) Magnesium intake in relation to risk of colorectal cancer in women. *JAMA*; 293:86 –9

Latunde-Dada, G.O., Vulpe, C.D., Anderson, G.J., Simpson, R.J. & McKie, A.T. (2004). Tissue-specific changes in iron metabolism genes in mice following phenylhydrazine-induced haemolysis. *Biochemical and Biophysical Acta*, 1690:169–176.

Latunde-Dada, G.O. & Simpson, R.J. (2010). Regulation of iron absorption and distribution. In: Yehuda S, Mostofsky DI, eds. *Nutrition and Health: Iron Deficiency and Overload*. New York: Humana Press, Springer Science+Business Media, LLC, 31–51.

Lau S, Sarkar B (1984) Comparative studies of Manganese (II), Nickel (II), Zinc (II), Copper (II), Cadmium (II) and Iron (II), binding components in human cord and adult sera. *Can J Biochem Cell Biol*;62(6):449–55.

Lener J, Bibr B (1984) Effects of molybdenum on the organism (a review). *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*;28(4):405–19.

Levander OA, Alfthan G, Arvilomni H, Gref CG, Huttunen JK, Kataja M, Koivistoinen P, Pikkarainen J (1983) Bioavailability of selenium to Finnish men assessed by platelet glutathione peroxidase activity and other blood parameters. *Am J Clin Nutr*;37(6):887–97.

Levy, W. C., Cerqueira, M. D., Harp, G. D., Johannessen, K. A., Abrass, I. B., Schwartz, R. S., & Stratton, J. R. (1998). Effect of endurance exercise training on heart rate variability at rest in healthy young and older men. *Am J Cardiol*, 82(10), 1236-1241.

Lewis, S. (2008). *Dacie and Lewis hematología práctica* (10 ed.). Madrid: Elsevier.

Li Y-H (ed) (2000) A compendium of geochemistry: From solar nebula to the human brain, Princeton Univ Press, Princeton, Oxford.

Lindberg JS, Zobitz MM, Poindexter JR et al. (1990) Magnesium bioavailability from magnesium citrate and magnesium oxide. *J American Coll Nut*; 9:48-55.

Lindeman RD (1982) Mineral metabolism in the aging and the aged. *J Am Coll Nutr*, 1(1):49–73.



Linder MC (1978) Function and metabolism of trace elements. En: Stave U, ed. Perinatal Physiology. 2ª ed. New York: Plenum; p.425–54.

Liu L, Borowski G, Rose LI (1983) Hypomagnesemia in a tennis player. *Phys Sportsmed*; 11: 79-80.

Liu, Y.Q., Duan, X.L., Chang, Y.Z., Wang, H.T. & Qian, Z.M. (2006). Molecular analysis of increased iron status in moderately exercised rats. *Molecular Cell Biochemistry*, 282, 117–123.

Llerena F (2011) Efectos del ejercicio físico en la eliminación urinaria de elementos traza. Tesis Doctoral.

Lockitch G, Fasset JD, Gerson B, Nixon DE, Parson PJ, Savory J, Tanaka Y, Vereby K (1994) Control of preanalytical variation in trace-element determinations; approved guideline. NCCLS document C38-A. NCCCLAS, Pensilvania.

Loeb S, Partin AW (2009) Randomized trials of selenium, vitamin e, or vitamin C for prostate cancer prevention. *Rev Urol*;11(2):114–5.

Lukaski HC (2004). Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*; 20: 632-44.

Lukaski H.C (2000) Magnesium, zinc, and chromium nutriture and physical activity. *Int. J. Clin. Nutr*; Aug;7(Suppl. 2): pp. 585S–593S.

Lukaski HC (2001) Magnesium, zinc, and chromium nutrition and athletic performance. *Can J Appl Physiol* 2001; 26 (Suppl): S13-S22. 11.

Lukaski HC, Hoverson BS, Gallagher SK, Bolonchuk WW (1990) Physical training and copper, iron, and zinc status of swimmers. *Am J Clin Nutr*; 51(6):1033–99.

- MacDonald E (1984) Cardiovascular effects of copper in pithed rats. *Acta Pharmacol Toxicol*;54(1):76–80.
- Maiorino, M., Chu, F., Ursoni, F. (1991). GPx-PH is the 18 KDa seleno proteins expressed in human tumor cell lines. *J Biol Chem*, 266(12), 7728-7732.
- Marrella M, Guerrini F, Solero PL, Tregnaghi PL, Schena F, Velo GP (1993) Blood copper and zinc changes in runners after a marathon. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*; 7(4):248–50
- Martínez, M (1995). Oxygen free radicals and human diseases. *Biochemic*, 77,147-161.
- Mataix J, Carazo E. (2005). Minerales I. Visión general: Estructura química, clasificación y aporte alimentario. En: Mataix J, Carazo E. *Nutrición para educadores*. Madrid: Díazde Santos, pp149-1.
- Maxwell, P. (2003). HIF-1: an oxygen response system with special relevance to the kidney, *Journal of American Society and Nephrology*, 14, 2712.
- McDowell LR, Conrad JH (1989) Mineral requirements and methods of detection of deficiencies for grazing livestock. En: Abdulla M, Dasthi H, Sarkar B, Al-Sayer H, Al-Naqeeb N. *Metabolism of Minerals and Trace Elements in Human Diseases*. New Delhi: Smith-Gordon & Co Ltd; p.135–42.
- Meludu SC, Nishimuta M, Yoshitake Y, Toyooka F, Kodama N, Kim CS, Maekawa Y, Fukuoka H (2002) Anaerobic exercise-induced changes in serum mineral concentrations. *African Journal of Biomedical. Research*: Vol 5; 13 – 17.
- Mena P, Maynar M, Gutierrez JM, Maynar J, Timon J, Campillo JE (1991) Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. *Int J Sports Med*;12(6):563–6.

Merry, T.L., Ainslie, P.N. & Cotter, J.D. (2010). Effects of aerobic fitness on hypohydration-induced physiological strain and exercise impairment. *Acta Physiologica*, 198, 179–190.

Metcalf, D. (2008). Hematopoietic cytokines, *Blood*, 111, 485.

Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O. & Remacle, J. (1994). Importance of Se-Glutathione Peroxidase, Catalase, and Cu/Zn-SOD for Cell Survival Against Oxidative Stress. *Free Radical Biology & Medicine*, 17, 235-248.

Mills CO, Davis GK. Molybdenum (1987) En: Mertz W, ed. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. Vol 1. 5<sup>a</sup> ed. New York: Academic Press; p.429–63.

Minoia C, Sabbioni E, Apostoli P, Pietra R, Pozzoli L, Gallorini M (1990) Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community. I. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. *Sci Total Environ*; 95:89–105.

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. Entypossis, Athens, pp 1339–1349.

Monreal JI, Rivero A (1993) Análisis de Elementos traza: Campos de aplicación clínica. En: AEFA, eds. Actualidades en el laboratorio clínico. Madrid: Ed Garsi;p.35–42.

Monteiro CP, Santa Clara H, Raposo MF, Goncalves A Limão F, Laires MJ, Rayssiguier Y, Mazur A, Coudray C, Nielsen HF, Lukaski FG, Gueux E, Feillet Coudray C, Bicho M (2004) Effect of exercise intensity and training on magnesium status. *Magnes Res*; 17: 231.

Mordes JP, Wacker WE (1978) Excess magnesium. *Pharmacol Rev*; 29:273-300.

Mudd SH, Irreverre F, Laster L (1967) Sulfite oxidase deficiency in man: demonstration of the enzymatic defect. *Science*;156(3782):1599–602.

Muhlbauer R, Schwnek M, Coram WM et al. (1991) Magnesium-L-aspartate-HCL and magnesium oxide: bioavailability in healthy volunteers. *Eur Clin Pharm*; 40:437-438.

Muñoz D, Olcina GJ, Timón R, Robles MC, Caballero MJ, Maynar M (2010) Effect of different exercise intensities on oxidative stress markers and antioxidant response in trained cyclist. *J Sports Med Phys fitness* 50(1):93-98

Nangaku, M. & Eckardt, K.U. (2007). Hypoxia and the HIF system in kidney disease, *Journal of Molecular Medicine*, 85, 1325.

Nakano, T., Sato, M., Takeuchi, M. (1992). Partial purification and properties of GPx from carp hepatopancreas. *Comp Biochem Physiol*, 102(1), 31-35.

Navarro M, Gil F, Gil A (2005) Selenio, manganeso, cromo, molibdeno, yodo y otros oligoelementos minoritarios. En: Gil A, ed. *Tratado de Nutrición*. Madrid: Ed. Acción Médica; p.997–1034.

Negretti de Brätter V, Brätter P, Mohn L. (1995). *Minerales y oligoelementos. Aspectos generales y análisis clínico*. Fundación Bertelsmann, Gütersloh; 3-13.

Newhouse IJ, Finstad EW (2000). The effects of magnesium supplementation on exercise performance. *Clin J Sport Med*; 10: 195-200. 8.

Nielsen FH (1999) Ultratrace minerals. En: Shils ME, Olson JA, Shike M, eds. *Modern nutrition in health and disease*. Baltimore: Williams & Wilkins; p.29–72.

Nielsen FH, Givand SH, Myron DR (1975) Evidence of a possible requirement for arsenic by the rat. *Fed Proc*;34:923

Nielsen FH, Lukaski HC (2006) Update on the relationship between magnesium and exercise. *Magnesium Research*; 19 (3): 180-9.

Nuviala RJ, Lapieza MG, Bernal E (1999) Magnesium, zinc, and copper status in women involved in different sports. *Int J Sport Nutr*; 9: 295-309.

Oberlas D, Prasad A (1976) Factors affecting zinc homeostasis. En: Prasad AS, Oberleas D, eds. *Trace elements in Human Health and Disease*. New York: Academic Press; p.155–73.

Ou, L.C., Salceda, S., Schuster, S.J., et al. (1998). Polycythemic responses to hypoxia: molecular and genetic mechanisms of chronic mountain sickness. *Journal of Applied Physiology*, 84:1242–1251.

Paolisso G, Ravussin E (1995) Intracellular magnesium and insulin resistance: results in Pima Indians and Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 80:1382–1385

Parsons PJ, Barbosa F. (2007). Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. *Spectrochimica Acta*, 2007; Part B 62: 992-03.

Pascual, P., Martínez Lara, E., Barcena, J.A., López Barea, J., Toribio, F. (1992). Direct assay of glutathione peroxidase activity using high-performance capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography*, 581(1), 49-56.

Patric K, Robinson TN, Alemi F, Eng TR (1999) Policy issues relevant to evaluation of interactive healthcommunication applications. *Am J Prev Med* 16:35–42.

Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., et al. (2009). Training surface and intensity: inflammation, hemolysis, and hepcidin expression. *Medicine Science and Sports Exercise*, 41, 1138–1145.

Pennington JA, Young BE, Wilson DB, Johnson RD, Vanderveen JE (1986) Mineral content of foods and total diets: the Selected Minerals in Foods Survey, 1982 to 1984. *J Am Diet Assoc*;86(7):876–91.

Pepys MB, Baltz ML (1983) Acute phase proteins with special reference to Creactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Avd Immunol*;34:141–212.

Percy, M.J. & Rumi. E. (2009). Genetic origins and clinical phenotype of familial and acquired erythrocytosis and thrombocytosis, *American Journal of Hematology*, 84, 46.

Pérez F, Garaulet M, Gil A, Zamora S (2010) Calcio, fósforo, magnesio y flúor. Metabolismo óseo y su regulación. En: Gil A. Tratado de nutrición. Tomo 1. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición 2ª ed. Editorial médica panamericana. Madrid.

Pérez F, Garaulet M, Gil A, Zamora S (2010) Calcio, fósforo, magnesio y flúor. Metabolismo óseo y su regulación. En: Gil A. Tratado de nutrición. Tomo 1. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición 2ª ed. Editorial médica panamericana. Madrid.

Pietrangelo, A. (2004). Hereditary hemochromatosis. A new look at an old disease, *New England Journal of Medicine*, 2350-2383.

Pigeolet, E., Remacle, J. (1991). Alteration of enzymes in ageing human fibroblast in culture V. Mechanism of GPx modification. *Mech Ageing Dev*, 58(1), 93-109.

Pinto, J.P., Ribeiro, S., Pontes, H., et al. (2008). Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBPalpha. *Blood*, 111, 5727–5733.

Platt, O.S. (2008). Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia, *New England Journal of Medicine*, 27, 1358-1362.

Plenge, U., Belhage, B., Guadalupe-Grau, A., et al. (2012). Erythropoietin treatment enhances muscle mitochondrial capacity in humans. *Front Physiology*, 3, 50.

Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu FK, Ji LL, Herb RA (1993) Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 265: 2094–2098.

Prasad AS (1976) Trace Elements in Human Health and Disease. Prasad AS, Oberlas D, eds, New York: *Academic Press*. Riordan JF. Biochemistry of zinc. *Med Clin North Am*;1(60):661–74.

Prasad AS, Miale A, Farid Z, Sandstead HH, Schulert AR (1963a) Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypogonadism. *J Lab Clin Med*;61:537–49.

Prasad AS, Miale A, Sandstead HH, Schulert AR, Darby WJ (1963b) Biochemical studies on dwarfism, hypogonadism, and anemia. *Arch Intern Med*;111:407–28.

Prasad AS, Oberleas D, Miller ER, Luecke RW (1971) Biochemical effects of zinc deficiency: changes in activities of zinc-dependent enzymes and ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid content of tissues. *J Lab Clin Med* 1971;77(1):144–52.

Prohaska JR (1987) Functions of trace elements in brain metabolism. *Physiol Rev*; 67(3):858–901.

Ramos, E., Ruchala, P., Goodnough, J.B., et al. (2012). Minihepcidins prevent iron overload in a hepcidin-deficient mouse model of severe hemochromatosis. *Blood*, 10, 1182.

Reimann C, de Caritat P (1998) Chemical elements in the environment. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.

Richert DA, Westerfeld WW (1953) Isolation and identification of xanthine oxidase factor as molybdenum. *J Biol Chem*;203(2):915–23.

Rivera-Mancía S, Pérez-Neri I, Ríos C, Tristán-López L, Rivera-Espinosa L, Montes S (2010) The transition metals copper and iron in neurodegenerative diseases. *Chem Biol Interact*;186(2):184–99

Robinson-O'Brien, R., Perry, C.L., Wall, M.M., Story, M. & Neumark-Sztainer, D. (2009). Adolescent and young adult vegetarianism: better dietary intake and weight outcomes but increased risk of disordered eating behaviors. *Journal of American Diet Association*, 109, 648–655.

Rodenberg, R.E. & Gustafson, S. (2007). Iron as an ergogenic aid: ironclad evidence? *Current Sports Medicine Report*, 6, 258–264.

Rodríguez Tuya I, Pinilla Gil E, Maynar Mariño M, García-Moncó Carra RM, Sánchez Misiego A (1996) Evaluation of the influence of physical activity on the plasma concentrations of several trace metals. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*;73(3– 4):299–303.

Rybczynska, M. (1994). Biochemical aspects of free radical mediated tissue injury. *Postepy Hig Med Dows*, 48(4), 419- 441.

Savory J, Wills MR. (1992). Trace-metals: essential nutrients or toxins. *Clin Chem*;38(8B Pt 2):1565–73.

Sahnoun, Z., Jamoussie, K., Zegal, K.M. (1997). Free radicals and antioxidants: human physiology and therapeutic aspects. *Therapics*, 52(4), 251-270.

Santamaria AB (2008) Manganese exposure, essentiality & toxicity. *Indian J Med Res*; 128(4):484–500.



Satarug S y Moore MR (2004) Adverse health effects of chronic exposure to lowlevel cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environ Health Perspect*;112(10):1099–103.

Satarug S, Garrett SH, Sens MA, Sens DA (2010) Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. *Environ. Health Perspect.* 118, 182–190.

Schroeder HA, Nason AP. (1971). Trace-element analysis in clinical chemistry. *Clin Chem* 17(6): 461-74.

Schelebusch H, Pietrzik K, Giles-Schmogner G et al. (1992) Bioverfügbarkeit von Magnesium Magnesiumororat und Magnesiumhydroxikarbonat. *Medizinische Welt*; 43: 523-528.

Schroeder HA, Nason AP (1971) Trace-element analysis in clinical chemistry. *Clin Chem* 17(6): 461-74.

Schumann, K., Ettle, T., Szegner, B., Elsenhans, B. & Solomons, N.W. (2007). On risks and benefits of iron supplementation recommendations for iron intake revisited. *Journal of Trace Elements and Medicine Biology*, 21,147–168.

Salonen JT, Salonen R, Korpela H, Suntioinen S, Tuomilehto J (1991) Serum copper and the risk of acute myocardial infarction: a prospective population study in men in eastern Finland. *Am J Epidemiol*;134(3):268–76.

Schwarz K, Milne DB, Vinyard E (1970) Growth effects of tin compounds in rats maintained in a trace elements controlled environment. *Biochem Biophys Res Commun*;40(1):22–9.

Schwartz R, Spencer H, Welsh JJ (1984) Magnesium absorption in human subjects from leafy vegetables, intrinsically labeled with stable <sup>26</sup>Mg. *Am J Clin Nut*; 39:571-576.

Sandström B, Almgren A, Kivistö B, Cederblad A (1989) Effect of protein level and protein source on zinc absorption in humans. *J Nutr*;119(1):48–53.

Seijas V. Selenio (1998) En: Cocho JA, Escanero JF, González Buitrago JM, eds. Elementos traza: Aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos. Barcelona: Monografías de la SEQC; p.415–34.

Sergeyevich, V. & Dmitriyevich, V. (2001). Fisiología del deportista. Barcelona: Paidotribo.

Sies, H. (1999). Glutathione and Its Role in Cellular Functions. *Free Radical Biology & Medicine*, 27, 916-921.

Singh A, Smoak BL, Patterson KY, LaMay LG, Veillon C, Deuster PA (1991) Biochemical indices of selected trace minerals in men: effect of stress. *Am J Clin Nutr*; 53(1):126–31.

Sinha, B.K., Atwell, J., Politi, P.M. (1990). Role of oxigen free radical formation in the mechanism of menogaril resistance in multidrug resistance tumor cell. *Chemistry and Biology Interact*, 76(1), 89-99.

Smith JC, Morris ER, Ellis R (1983) Zinc: requirements, bioavailabilities and recommended dietary allowances. En: Prasad AS, Cavdar AO, Brewer GJ, Aggett PJ, eds. Zinc deficiency in human subjects. New York: Alan R Liss; p.147–70.

Song Y, Manson JE, Buring JE, Liu S (2004) Dietary magnesium intake in relation to plasma insulin levels and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care*;27:59–65.

Song Y, Manson JE, Cook NR, Albert CM, Buring JE, Liu S (2005) Dietary magnesium intake and risk of cardiovascular disease among women. *Am J Cardiol* 2005;96:1135– 41

Song Y, Ridker PM, Manson JE, Cook NR, Buring JE, Liu S (2005a) Magnesium intake, C-reactive protein, and the prevalence of metabolic syndrome in middle aged and older U.S. women. *Diabetes Care*;28: 1438–44

Speich M, Murat A, Auget JL, Bousquet B, Amaud P. (1992). Magnesium, total calcium, phosphorus, copper and zinc in plasma and erythrocyte of venous cord blood from infants of diabetic mothers, comparison with a reference group by logistic discriminant analysis. *Clin Chem*;38(10):2002–7.

Spivey-Fox MR (1983) Cadmium bioavailability. *Fed Proc*;42:1726–9.

Squadrito, G.L. & Pryor, W.A. (2000). Oxidative Chemistry of Nitric Oxide: The Roles of Superoxide, Peroxynitrite, and Carbon Dioxide. *Free Radical Biology & Medicine*, 29, 222–230.

Srikumar TS, Kallgard B, Ockerman PA, Akesson B (1992) The effects of 2- years switch from a mixed to a lactovegetarian diet on trace element status in hypertensive subjects. *Eur J Clin Nutr*;46(9):661–9.

Staessen J, Sartor F, Roels H, Bulpitt CJ, Claeys F, Ducoffre G, Fagard R, Lauwerijs R, Lijnen P, Rondia D, et al. (1991) The association between blood pressure, calcium and other divalent cations: a population study. *J Hum Hypertens*; 5(6):485-94.

Stepanik, T.M., Ewing, D.D. (1993). Isolation of glutathione peroxidase, catalase and superoxide dismutase of human erythrocytes. *Journal of Biochemistry and Biophysical Methodology*, 20, 157-69.

Stremmel W (1992) Pathogenesis of Wilson's disease. *Z Gastroenterol*;30(3):199–201.

Suzuki, T., Yamanaka, H., Nakajima, K., Kanatani, K., Suzuki, K., Kimura, M... & Otaki, N. (1993). Induction of metallothionein by CdCl<sub>2</sub> administration in rat prostate. *The Prostate*, 22(2), 163-170.

Takahashi, K., Akasaka, M., Yamamoto, C., Kobayashi, C., Mizoguchi, J., Koyama, J. (1990). Primary structure of human plasma glutathione peroxidase deduced from cDNA. *J Biochem (Tokyo)*, 108(2), 145-148.

Tan, D., Dawson, B. & Peeling, P. (2012). Hemolytic effects of a football-specific training session in elite female players. *International Journal of Sports Physiology Performance*, 7, 271–276.

Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GL (1995) Molybdenum absorption, excretion and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *Am J Clin Nutr*;62(4):790–6.

Underwood E.J. (1987). Trace elements in human and animal nutrition. 5<sup>a</sup> ed. Nueva York: Academic Press.

Vallee B, Galdes A (1984) The metallobiochemistry of zinc enzymes. En: Meister A, ed. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*. New York: John Wiley & Sons; p.283–430.

Venugopal B, Luckey TD, (1978) *Metal Toxicity in Mammals*. New York/London: Plenum Press.

Vertechy, M., Cooper, M.B., Ghirardi, O., Ramacci, M.T. (1993). The effect of age on the activity of enzymes of peroxide metabolism in rat brain. *Exp Gerontol*, 28(1), 77-85.

Villa El, Havarro BJ, Martin PA (1999) Elementos traza. En: Hernández Rodríguez M. *Tratado de nutrición*. Madrid: Díaz de Santos; p.229–48.

Vives, J.L. & Aguilar, J.L. (2006). *Manual de técnicas de laboratorio en hematología* (3<sup>ed.</sup>). Madrid: Elsevier.

Vlc̣ek J, Štemberk V, Koupil P (1989) Serum concentrations and urinary excretion of Mg, Zn and Cu during high intensity exercise in healthy men. *Trace Elem Med*; 6: 150-3.

Vogt, S., Schumacher, Y. O., Blum, A., Roecker, K., Dickhuth, H. H., Schmid, A., & Heinrich, L. (2007). Cycling power output produced during flat and mountain stages in the Giro d'Italia: a case study. *J Sports Sci*, 25(12), 1299-1305.

Walter RM, Uriu-Hare JY, Olin KL, Oster MH, Anawalt BD, Critchfield JW, Keen CL (1991) Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of diabetes mellitus. *Diabetes Care*;14(11):1050–6.

Wapnir RA (1990) The absorption of Arsenic, Boron, Silicon, Aluminum, Tin, Iodine and Fluoride: interactions with proteins and other nutrients. En: *Protein nutrition and mineral absorption*. Florida: CRC Press, Inc; p.227–81.

Washko P, Cousins RJ (1997) Role of dietary calcium and calcium binding protein in cadmium toxicity in rats. *J Nutr*;107(5):920–8.

Waterman, J.J. & Kapur, R. (2012). Upper gastrointestinal issues in athletes. *Current Sports Medicine Report*, 11, 99–104.

Wätjen, W., & Beyersmann, D. (2004). Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: influence of oxidative stress. *Biometals*, 17(1), 65-78.

Westmoreland D, Porta S, Bacher H, Knapp M, Spencer K, Merback J, Leitner T (2004) The effect of magnesium supplementation on exercise-induced plasma magnesium shifts and lactic acid accumulation in female youths. *Trace Elem Electro*; 21: 95-8.

Weiss KC, Linder MC (1985) Copper transport in rats involving a new plasma protein. *Am J Physiol*;249(1 Pt1):E77–88.

WHO. (1996). Trace elements in human nutrition and health. Ginebra: World Health Organization. Office of Publications.

WHO/IPCS. (2002). Principles and methods for the assessment of risk from essential trace elements. Environmental Health Criteria 228. Geneva.

WHO (2004). Manganese and its compounds: environmental aspects. Geneva.

Wikström AC, Okret S, Bakke O, Fuxe K, Gustafsson JA (1986) Glucocorticoid mechanism of action: monoclonal antibodies as experimental tools. *Med. Oncol. Tumor Pharmacother.* 1986;3(3-4):185-96.

Williams RB, Chesters JK (1970) The effects of early zinc deficiency on DNA and protein synthesis in the rat. *Br J Nutr*;24(4):1053–9.

Williams MH (2005) Minerales los reguladores inorgánicos. En: *Nutrición para la Salud, Condición Física y Deporte*. Old Dominion University: Eds. McGraw Hill Interamericana; p.293–330.

Willmore, J. H., & Costill, D. L. (2007). *Fisiología del esfuerzo y del deporte* (6ª ed.). Barcelona: Paidotribo.

Yamashita N, Hoshida S, Otsu K, Asahi M, Kuzuya T, Hori M (1999) Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *J Exp Med*; 189: 1699–1706.

Yost KJ, Miles LJ, Parsons TW (1980) A method for estimating dietary intake of environmental trace contaminants: cadmium a case study. *Environ Int*, 3(6):473–84.

Zachara, B.A. (1991). Mamalian selenoproteins. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*, 6(3), 137-145.

Zachara BA, Pileexi A (2000) Selenium concentration in the milk of breastfeeding mothers and its geographic distribution. *Environ Health Persp* 108:1043–1046.

Zhou JR, Canar MM, Erdman JW (1993) Bone zinc is poorly released in young, growing rats fed marginally zinc-restricted diet. *J Nutr*;123(8):1383–8.

Zlotkin SH, Atkinson S, Lockitch G (1995) Trace elements in nutrition for premature infants. *Clin Perinatol*;22(1):223–40.

Zoller, H., Vogel, W. (2004). Iron supplementation in athletes—first do no harm. *Nutrition*, 20, 615–619.

Zorbas YG, Federenko YF, Naexu KA (1994) Plasma trace elements concentrations in trained subjects after exposure to hypokinesia and daily hyperhydration. *Biol Trace Em Res*;40(1):71–82.





***ANEXOS***

***APPENDIXES***



## **ANEXO I**

### **CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA**

**(Octubre de 2002)**

#### **VERSIÓN CORTA FORMATO AUTO ADMINISTRADO - ÚLTIMOS 7 DÍAS**

**PARA USO CON JÓVENES Y ADULTOS DE MEDIANA EDAD (15-69 años)**

Los Cuestionarios Internacionales de Actividad Física (IPAQ, por sus siglas en inglés) contienen un grupo de 4 cuestionarios. La versión larga (5 objetivos de actividad evaluados independientemente) y una versión corta (4 preguntas generales) están disponibles para usar por los métodos por teléfono o auto administrada. El propósito de los cuestionarios es proveer instrumentos comunes que pueden ser usados para obtener datos internacionalmente comparables relacionados con actividad física relacionada con salud.

#### ***Antecedentes del IPAQ***

El desarrollo de una medida internacional para actividad física comenzó en Ginebra en 1998 y fue seguida de un extensivo exámen de confiabilidad y validez hecho en 12 países (14 sitios) en el año 2000. Los resultados finales sugieren que estas medidas tienen aceptables propiedades de medición para usarse en diferentes lugares y en diferentes idiomas, y que son apropiadas para estudios nacionales poblacionales de prevalencia de participación en actividad física.

#### ***Uso del IPAQ***

Se recomienda el uso de los instrumentos IPAQ con propósitos de monitoreo e investigación. Se recomienda que no se hagan cambios en el orden o redacción

de las preguntas ya que esto afectará las propiedades sicométricas de los instrumentos.

### ***Traducción del inglés y Adaptación Cultural***

Traducción del Inglés es sugerida para facilitar el uso mundial del IPAQ. Información acerca de la disponibilidad del IPAQ en diferentes idiomas puede ser obtenida en la página de internet [www.ipaq.ki.se](http://www.ipaq.ki.se). Si se realiza una nueva traducción recomendamos encarecidamente usar los métodos de traducción nuevamente al Inglés disponibles en la página web de IPAQ. En lo posible por favor considere poner a disposición de otros su versión traducida en la página web de IPAQ. Otros detalles acerca de traducciones y adaptación cultural pueden ser obtenidos en la página web.

### **Otros Desarrollos de IPAQ**

Colaboración Internacional relacionada con IPAQ es continua y un ***Estudio Internacional de Prevalencia de Actividad Física*** se encuentra en progreso. Para mayor información consulte la página web de IPAQ.

### ***CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA***

Estamos interesados en saber acerca de la clase de actividad física que la gente hace como parte de su vida diaria. Las preguntas se referirán acerca del tiempo que usted utilizó siendo físicamente activo(a) en los últimos 7 días. Por favor responda cada pregunta aún si usted no se considera una persona activa. Por favor piense en aquellas actividades que usted hace como parte del trabajo, en el jardín y en la casa, para ir de un sitio a otro, y en su tiempo libre de descanso, ejercicio o deporte.

Piense acerca de todas aquellas actividades vigorosas que usted realizó en los últimos 7 días. Actividades vigorosas son las que requieren un esfuerzo físico fuerte y le hacen respirar mucho más fuerte que lo normal. Piense solamente en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos.

1. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días realizó usted actividades físicas **vigorosas** como levantar objetos pesados, excavar, aeróbicos, o pedalear rápido en bicicleta?

\_\_\_\_\_ **días por semana**



Ninguna actividad física vigorosa → **Pase a la pregunta 3**

2. ¿Cuánto tiempo en total usualmente le tomó realizar actividades físicas **vigorosas** en uno de esos días que las realizó?

\_\_\_\_\_ **horas por día**

\_\_\_\_\_ **minutos por día**



No sabe/No está seguro(a)

Piense acerca de todas aquellas actividades **moderadas** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Actividades **moderadas** son aquellas que requieren un esfuerzo físico moderado y le hace respirar algo más fuerte que lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos.

3. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas moderadas tal como cargar objetos livianos, pedalear en bicicleta a paso regular, o jugar dobles de tenis? No incluya caminatas.

\_\_\_\_\_ **días por semana**



Ninguna actividad física moderada → **Pase a la pregunta 5**

4. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **moderadas**?

\_\_\_\_\_ **horas por día**

\_\_\_\_\_ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

Piense acerca del tiempo que usted dedicó a caminar en los **últimos 7 días**. Esto incluye trabajo en la casa, caminatas para ir de un sitio a otro, o cualquier otra caminata que usted hizo únicamente por recreación, deporte, ejercicio, o placer.

5. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días caminó usted por al menos 10 minutos continuos?

\_\_\_\_\_ **días por semana**

No caminó → **Pase a la pregunta 7**

6. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **caminando**?

\_\_\_\_\_ **horas por día**

\_\_\_\_\_ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

La última pregunta se refiere al tiempo que usted permaneció **sentado(a)** en la semana en los **últimos 7 días**. Incluya el tiempo sentado(a) en el trabajo, la casa, estudiando, y en su tiempo libre. Esto puede incluir tiempo sentado(a) en un escritorio, visitando amigos(as), leyendo o permanecer sentado(a) o acostado(a) mirando televisión.

7. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuánto tiempo permaneció **sentado(a)** en un **día en la semana**?

\_\_\_\_\_ **horas por día**

\_\_\_\_\_ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

Este es el final del cuestionario, gracias por su participación.



## **ANEXO II**

### **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

#### **INFLUENCIA DEL EJERCICIO FÍSICO EN LOS NIVELES ERITROCITARIOS DE ELEMENTOS MINERALES TRAZA**

Se le ha pedido que participe en esta investigación, el propósito de este documento es explicarle en qué consiste el estudio para que le ayude a tomar una decisión sobre la invitación para participar en el mismo. Antes de decidirse a participar, por favor, tome todo el tiempo que necesite para hacer todas las preguntas necesarias. Asimismo siéntase con la libertad de hablar con cualquier persona, su familia, amigos, médico, o cualquier otro profesional de la salud.

#### **Propósito del estudio:**

El ejercicio físico está alcanzando un lugar cada día más importante en la vida de los seres humanos, son muchas las investigaciones que se han realizado para estudiar los cambios que se producen en el cuerpo como consecuencia de la realización de distintos tipos del mismo.

El objetivo del presente proyecto es conocer que influencia tiene el ejercicio físico sobre los niveles de los elementos minerales traza en la membrana eritrocitaria. Para ello se utilizara un equipo ICP-masas para el análisis de los elementos traza.

**En una muestra de sangre, en la matriz del eritrocito,** se estudiarán los elementos y la respuesta en el organismo al ejercicio físico.

#### **Procedimientos:**

Si decide participar en este estudio:



1º Una persona con experiencia le extraerá una muestra de 15 ml de sangre de la vena antecubital. Es posible que le pida una muestra de sangre si durante el procesamiento de la primera hubiera algún problema que le impidiera su utilización.

2º Se le realizará una prueba de esfuerzo en un cicloergómetro.

3º Se le realizarán preguntas sobre su régimen de vida y los hábitos alimenticios recogidas en un cuestionario.

### **Beneficios, riesgos y molestias:**

Usted no obtendrá ningún beneficio directo por participar en este estudio. Sin embargo, su participación en esta investigación puede ayudar al conocimiento de las propuestas planteadas.

Los riesgos y molestias físicas de la extracción de sangre para este estudio son los de cualquier extracción de una muestra de sangre de una vena. Puede sufrir un ligero dolor, enrojecimiento, irritación o raramente, infección.

### **Uso confidencial:**

Todos los datos obtenidos son totalmente confidenciales, serán analizados anónimamente y utilizados con los fines a los que prestó el consentimiento informado.

Solo yo y el equipo investigador tendrá acceso a los mismos, estarán protegidos de cualquier uso indebido y su nombre será escrito aparte de los cuestionarios a cumplimentar.

### **Consentimiento libre con conocimiento de causa:**

La naturaleza y propósito de este estudio me han sido explicadas y si quisiera una vez terminado el estudio podré preguntar más acerca del mismo. Tengo la libertad de poder retirarme en cualquier momento **sin necesidad de dar explicaciones.**

A pesar de que mi participación en el la realización del estudio “Influencia del ejercicio físico en los niveles eritrocitarios de elementos minerales traza”

**Soy consciente de la información incluida en este formulario, comprendo los procedimientos, consiento libremente realizar las pruebas y acepto participar voluntariamente.**

**Persona contacto para el estudio.**

Si tiene alguna duda acerca de esta investigación, sobre cualquier daño relacionado con la extracción de sangre o sobre su retirada de este estudio, debe contactar en cualquier momento con:

FRANCISCO JAVIER GRIJOTA PÉREZ

nº de teléfono \_\_\_\_\_

Al firmar este documento doy libremente mi conformidad en el estudio.

Nombre y Apellidos:.....DNI  
nº.....

Fecha:...../...../.....

Firma del participante (manuscrita)

Firma del responsable del estudio

Código.....



### ANEXO III

#### FICHA DE REGISTRO DE DATOS ANTROPOMÉTRICOS

