
Papel fisiológico de diversos metales en la anemia de origen nutricional

CÓDIGO DE PROYECTO N° 10012003017

PHYSIOLOGICAL ROLE OF VARIOUS METALS ON ANEMIA OF NUTRITIONAL ORIGIN

Edwin Zarzosa¹, Óscar Ruiz², Carlos Alvarado-Ortiz³

RESUMEN

El presente trabajo busca determinar si los pacientes con anemia ferropénica de diversos orígenes, presentan alteraciones en las concentraciones séricas de cobre y zinc.

Por esta razón se estudiaron 110 pacientes, entre 18 y 60 años, con diagnóstico de anemia ferropénica del consultorio de Hematología del Hospital Nacional Dos de Mayo y un grupo control constituido por 60 donadores sanos del Banco de Sangre del mismo hospital. A todos ellos se les realizó un estudio hematológico completo con el Celldyn 1700 de Abbot y se midió la concentración de hierro y cobre mediante el espectrofotómetro de absorción atómica Carl Zeiss AAS 5FL y se midió el zinc sérico mediante un procedimiento colorimétrico con el re activo 5-Br-PAPS de Randox y las absorbancias leídas a 560nm.

Las muestras fueron procesadas en el Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad de San Martín de Porres..

Los valores promedio de cobre estuvieron significativamente más altos en los pacientes con anemia ferropénica, en comparación con el grupo control 058.61 ± 48.0 vs 138.77 ± 38.88 mg/dl) ($p < 0.001$).

Los valores promedio de zinc tuvieron tendencia a ser menores, pero sin significancia estadística (101.65 ± 57.04 vs 115.46 ± 12.61 ug/dl) ($p > 0.05$).

Por tanto, podemos concluir que la población adulta con anemia ferropénica presenta en promedio concentraciones séricas de cobre más elevadas que la población normal y concentraciones séricas de zinc menores que la población normal.

SUMMARY

This study aims to determine if patients with ferropenic anemia present alterations in copper and zinc serum concentrations.

For that purpose, we studied 110 ferropenic patients, between 18 and 60 years old, diagnosed with ferropenic anemia from the Hematological Service of the Dos de Mayo Hospital and control group constituted by 60 donors of the Blood Bank from the same Hospital. We performed an hematological study with the Abbot Celldyn 1700 equipment, measured iron and copper concentration with a Carl Zeiss AAS 5FL atomic absorption spectrophotometer and zinc serum concentration by a colorimetric procedure with the 5-Br-PAPS of RANDOX reagent with readings at 560 nm.

The average values of copper were significantly higher in patients with ferropenic anemia compared to the control group ($158,61 \pm 48,0$ vs. $138,77 \pm 38,88$ mg/dl) ($p < 0.001$).

Zinc average values from patients were smaller than on the control group but without statistical significance (101.65 ± 57.04 vs 115.46 ± 12.61 ug/dl) ($p > 0.05$).

We can conclude that the adult population with ferropenic anemia presents higher serum copper concentrations compared to the normal population.

1 Graduado de la Maestría en Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana, USMP.

2 Médico Hematólogo del Hospital Dos de Mayo.

3 Miembro del Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana, USMP.

INTRODUCCION

Las anemias por disminución de eritropoyesis pueden deberse a varias causas, siendo la más común el déficit de elementos esenciales para la producción de hemoglobina o la proliferación de tejido eritroide como la deficiencia de proteínas, vitaminas (B12, ácido fólico, B6, riboflavina, niacina, ácido ascórbico, A, E) y minerales (hierro, cobre, cobalto) ¹.

La anemia por carencia de hierro es uno de los trastornos de la nutrición más comunes en el mundo, afectando a cerca de 600 a 700 millones de personas. La mayoría son mujeres. Entre el 40% y el 50% de los niños menores de cinco años y las mujeres del mundo en desarrollo, padecen de carencia de hierro, así como más del 50% de las mujeres embarazadas ^{2,3}.

La instauración de la anemia ferropénica es un proceso dinámico que se inicia con la depleción de los depósitos de hierro (ferropenia latente), pasa por una eritropoyesis ferropénica (ferropenia manifiesta) y termina con una anemia ferropénica ⁴.

Las tres causas principales de anemia ferropénica son:

Pérdida crónica de sangre, como úlcera péptica con hemorragia, hemorroides, parásitos o afección maligna.

Ingestión o absorción deficiente de hierro, que resulta de una dieta baja en hierro o de alteraciones gastrointestinales crónicas como diarrea, aclorhidria o afección intestinal.

Aumento de las necesidades de hierro por expansión del volumen sanguíneo, propio de la infancia, adolescencia y el embarazo.

La anemia en Perú también representa un problema de salud pública. Según el reporte del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición se estima que la anemia afecta al 49.6% de niños menores de cinco años de edad, al 32% de mujeres en edad fértil y al 50% de mujeres gestantes ⁵.

La anemia asociada al déficit de cobre es hipocrómica y microcítica, signos que implican biosíntesis defectuosa de la hemoglobina ³.

Las alteraciones del metabolismo -que provocan anemia por carencia de cobre son poco claras. El flujo óptimo de hierro desde las células hacia el plasma requiere ceruloplasmina.

En la hipoceruloplasminemia experimental grave, los macrófagos no liberan hierro a velocidad normal, hecho que lleva a hipoferremia, a pesar de los depósitos normales. La ceruloplasmina intravenosa resuelve el problema. Podría actuar catalizando la oxidación del hierro ferroso a férrico, paso esencial para la ligadura del hierro a la apotransferrina ².

La disfunción de la ceruloplasmina no explica por completo la anemia. Existirían otros defectos.

Uno compromete el metabolismo del hierro en los normoblastos de manera que no puede utilizarse en la síntesis de hemoglobina y se acumula en el citoplasma, formando sideroblastos. Este fenómeno podría vincularse con la menor captación mitocondrial de hierro. En las mitocondrias pobres en cobre, la actividad de la citocromo oxidasa declina y, por lo tanto, el hierro férrico podría no convertirse en ferroso para incorporarse al hem ².

La otra anomalía eritrocitaria, tal vez a nivel en la membrana por deficiencia de la superoxidodismutasa, causa acortamiento de la sobre vida de los glóbulos rojos.

Estas observaciones implican que el empleo intracelular del hierro y la función adecuada de la membrana eritrocitaria necesitan cobre ^{7,8}.

Actualmente se ha descubierto una proteína dependiente de cobre denominada hefastina, localizada en la membrana basolateral del enterocito, semejante a la ceruloplasmina que participaría en la absorción de hierro al oxidar el hierro férrico a la forma ferroso y pueda ser transportada por la ceruloplasmina ⁴.

Los estudios de concentración sérica de cobre en pacientes con anemia ferropénica son contradictorios.

Mientras Gropper y col.¹², evaluando mujeres con déficit de hierro encontraron concentraciones disminuidas de cobre, Mikhailova⁹ en mujeres adultas, Ece¹⁰ y Molteno¹¹ en niños, demostraron que estos pacientes presentaban hipercupremia.

Los signos clínicos de deficiencia de zinc en el ser humano fueron descritos inicialmente en 1960 en jóvenes iraníes y egipcios e incluyeron estatura corta, hipogonadismo, anemia leve y bajas concentraciones séricas de zinc. Estas personas consumían una dieta rica en cereal no refinado y pan sin fermentar, que contienen un alto nivel de fibra y fitato.

Se ha estudiado la relación entre la hematopoyesis y el zinc. King y Fraker¹³ en 2002, demostraron mediante citometría de flujo que las células sanguíneas progenitoras en médula ósea de ratas deficientes en zinc por 34 días presentaban alteraciones tanto en la hematopoyesis como en la mielopoyesis disminuyendo la línea eritroide hasta un 60%.

Estudios en pacientes con anemia ferropénica como las de Mikhailova y col.⁹ en 1981 y Ece y col.¹⁰ en 1997 en adultos y niños, respectivamente, demostraron que estos presentaban concentraciones disminuidas de zinc en comparación con un grupo control y recomendaban la suplementación con este mineral.

Los estudios de suplementación en estos pacientes han dado los siguientes resultados.

Nishiyama y col. en 1998 demostraron en 52 mujeres japonesas adultas con déficit de hierro¹⁴ y en 38 mujeres embarazadas con anemia¹⁵, que suplementándolas con una combinación de hierro y zinc (100 mg de c/u) aumentaban su hemoglobina mejor que con solo hierro o zinc.

Zavaleta y col. en 2000¹⁶, estudiando la suplementación con zinc en mujeres embarazadas, no encontraron cambios hematológicos perceptibles.

Dijkhuizen y col. en 2001¹⁷, en niños de Indonesia, demostró que ésta suplementación combinada resultó menos eficaz que sólo suplementarlos con hierro.

Donangelo y col. en 2002¹⁸ en mujeres con reservas disminuidas de hierro, reportaron que al suplementarlos con hierro y zinc, estas reservas disminuyeron aún más.

Hay que tomar en cuenta que la suplementación con zinc en forma prolongada, puede producir anemia y neutropenia como lo reportaron Irving y col.¹⁹ en 2003, esto debido a la disminución de cobre y ceruloplasmina sérica, resolviendo estas alteraciones luego del retiro del zinc.

El objetivo de este estudio fue determinar si estos pacientes con anemia ferropénica presentan además del déficit de hierro otras alteraciones del cobre y zinc sérico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Nuestra población de estudio fueron pacientes que acudieron al Consultorio Externo de Hematología del Hospital Nacional Dos de Mayo, presentando anemia ferropénica.

El grupo control estuvo constituido por donantes sanos del Banco de Sangre del mismo hospital.

Previo consentimiento informado, las muestras fueron recolectadas de cada paciente por punción venosa de la zona anterior del brazo y recibida en un tubo con EDTA como anticoagulante y otro sin anticoagulante para separar el suero.

Fueron incluidos en el trabajo pacientes entre los 18 y 60 años que presenten anemia ferropénica de acuerdo a los siguientes criterios:

- Valores de hemoglobina menores de 13g/dl en varones adultos y 12g/dl en mujeres adultas

- Hierro sérico menor a 50ug/dl.
- Cualquiera de los tres siguientes criterios:
 - Ferritina sérica menor a 17mg/ml en el sexo femenino y menor a 20mg/ml en varones.
 - Ausencia de hemosiderina en el aspirado de médula ósea.
 - Respuesta favorable al tratamiento con hierro.

Fueron excluidos del trabajo los pacientes que presentaban cualquiera de las siguientes características:

- Pacientes que habían recibido transfusiones sanguíneas o tratamiento con suplementos de hierro, ácido fólico, vitamina B12 o minerales seis meses previos al estudio.
- Pacientes que presentaban enfermedades inflamatorias y/o infecciosas.
- Pacientes que presentaban un examen re activo para VIH.
- Pérdidas sanguíneas evidentes en los tres meses previos al estudio.

Se midió el peso y la talla a cada paciente para determinar el índice de masa corporal.

Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Bioquímica y Nutrición del Instituto de Investigación de la Universidad de San Martín de Porres.

Se centrifugó el tubo sin aditivos a 3000 r.p.m. por 10 minutos y se separó el suero, para determinar las concentraciones de hierro y cobre sérico mediante Espectrofotómetro Absorción Atómica Carl Zeiss MS 5FL y se determinó el zinc sérico mediante un método colorimétrico.

La sangre recolectada en el tubo con EDTA se utilizó en el analizador hematológico Celdyn 1700 de Abbot donde se realizó un estudio hematológico completo.

Luego de un mes de realizada la toma de muestra se revisó la historia clínica, para establecer la causa de la anemia ferropénica, tomando en cuenta otros exámenes auxiliares realizados al paciente. Se determinó si existían diferencias estadísticamente- significativas entre las concentraciones de los minerales de estas dos poblaciones utilizando la prueba "t" de student de grupos independientes mediante el uso del programa estadístico STATA.

RESULTADOS

En la Tabla N° 1 se describen las características generales, así como los valores promedio de hierro, cobre y zinc, tanto del grupo control como de los pacientes con anemia ferropénica estudiados.

TABLA N° 1

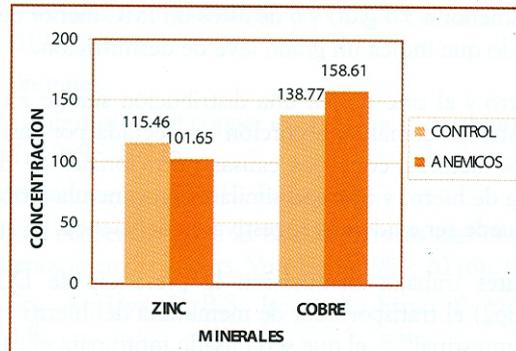
Comparación de los parámetros metabólicos del grupo control y del grupo con anemia ferropénica

| | GRUPO CONTROL | GRUPO CON ANEMIA FERROPENICA | VALOR p |
|-----------------------------|----------------|------------------------------|---------|
| N° INDIVIDUOS ESTUDIADOS | 60 | 110 | - |
| EDAD (años) | 33 + 10 | 37 + 15 | - |
| I.M.C. (kg/m ²) | 23.20 + 3.37 | 24.98 + 3.76 | > 0,05 |
| HEMOGLOBINA (g/dl) | 13.65 + 1.06 | 9.45 + 2.31 | < 0,001 |
| ALBUMINA (g/dl) | 4.60 + 0.20 | 3.97 + 0.49 | < 0,001 |
| HIERRO SERICO (ug/dl) | 92.88 + 29.92 | 52.29 + 18.89 | < 0,001 |
| ZINC SERICO (ug/dl) | 115.46 + 12.61 | 101.65 + 57.04 | > 0,005 |
| COBRE SERICO (ug/dl) | 138.77 + 38.88 | 158.61 + 48.0 | < 0,001 |

Los pacientes con anemia ferropénica presentaron valores más altos en la concentración de cobre sérico ($p < 0.001$) Y valores menores de albúmina sérica ($p < 0.001$) que los del grupo control sano. Ambas diferencias fueron significativas estadísticamente y se aprecian en la Figura N° 1.

FIGURA N° 1

Comparación de la concentración media de cobre y zinc del grupo control y con anemia ferropénica

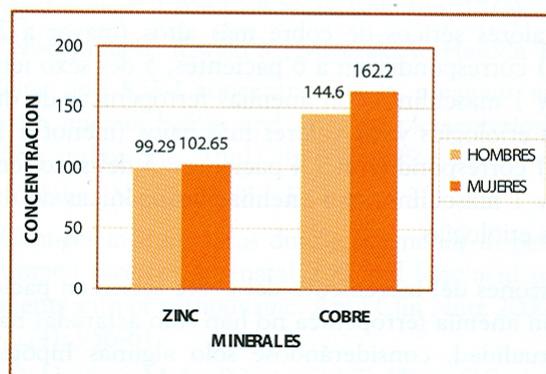


Los pacientes con anemia ferropénica también presentaron concentraciones más bajas de zinc sérico, aunque sin llegar a alcanzar significación estadística ($p > 0.05$), como se aprecia en Fig. N° 1.

Cuando se quiso poner de manifiesto la influencia del sexo sobre los parámetros estudiados se observó que las diferencias significativas encontradas en la concentración de cobre y zinc ocurrían tanto en los varones como en las mujeres del grupo control y anémico, como se aprecia en Fig. N° 2.

FIGURA N° 2

Comparación de la concentración media de cobre y zinc del grupo con anemia ferropénica en función del género



Además, el subgrupo de mujeres con anemia ferropénica presentó valores significativamente más altos en las concentraciones de cobre sérico 162.2 ± 47.3 , que el subgrupo de varones 144.6 ± 50.5 $\mu\text{g/dl}$ ($p < 0.001$). Lo mismo ocurrió con el subgrupo control.

DISCUSIÓN

La anemia ferropénica es la última etapa de la deficiencia de hierro, este mineral es fundamental para la eritropoyesis, siendo integrante fundamental de la molécula de hemoglobina.

En la eritropoyesis, además, participan otros minerales como el cobre¹ que a pesar de estar ampliamente distribuido en la alimentación, puede ser causa de anemia. También el zinc puede estar relacionado con la presencia de anemia, de las dos maneras, la deficiencia genera un cuadro descrito por Prasad en 1961, que consta de enanismo, hipogonadismo, visceromegalia y anemia semejante a la ferropénica y el exceso produce deficiencia concomitante de cobre por mala absorción intestinal del mismo produciendo una anemia semejante⁹.

En nuestro estudio, cuando se compararon los valores de las concentraciones de cobre sérico del grupo control, con el de anemia ferropénica, se observó que estos últimos presentaban unas concentraciones significativamente más altas, concordando con los resultados de Mikhailova⁹, Ece¹⁰ y Molteni¹¹. La concentración media de cobre sérico de nuestros pacientes con anemia ferropénica (158.61+ 48.0 mg/dl) fue similar al encontrado por Mikhailova y col⁹ que fue de 151.48 mg/dl, pero menor a lo reportado por Ece y col¹⁰ que fue de 189 + 49 mg/dl.

Tanto en el grupo de individuos control como en los pacientes con anemia ferropénica, las mujeres tuvieron concentraciones séricas de cobre significativamente más altas que los varones, esta diferencia ya ha sido descrita anteriormente y probablemente obedezca a algún efecto estrogénico⁶.

Los valores séricos de cobre más altos (mayor a 216 mg/dl) correspondieron a 6 pacientes, 5 del sexo femenino y 1 masculino, con anemias ferropénicas de diferentes etiologías y los valores más bajos (menor a 100 mg/dl) correspondieron a 4 pacientes, 3 del sexo femenino y 1 masculino, con anemias ferropénicas de diferentes etiologías.

Las razones del incremento del cobre sérico en pacientes con anemia ferropénica no han sido aclaradas hasta la actualidad, considerándose sólo algunas hipótesis. Así sabemos que el cobre presenta propiedades antioxidantes por su papel constitutivo en la enzima superoxidodismutasa, en consecuencia, un desequilibrio en la concentración y el metabolismo del cobre podría condicionar la aparición de un status de estrés oxidativo^{6,8} y en cierto modo propiciar el incremento de la ceruloplasmina y por ende del cobre sérico^{6,8}.

En consecuencia las concentraciones séricas elevadas de cobre observadas en los pacientes con anemia ferropénica podrían deberse a un incremento del stress oxidativo y a una respuesta de fase aguda.

No existen aún pruebas fehacientes de la actividad eritropoyética del zinc y otros minerales¹.

Los estudios de Mikhailova⁹ y Ece y col¹⁰ reportaron concentraciones séricas de zinc disminuidas en pacientes con anemia ferropénica en mujeres adultas y niños respectivamente.

En nuestro estudio, tanto en el grupo control como en el grupo con anemia ferropénica, no se observaron diferencias significativas en los valores de zinc sérico entre hombres y mujeres.

La concentración media de zinc sérico de nuestros pacientes con anemia ferropénica: 101.65 + 57.04 ug/dl fue similar al encontrado por Ece y col. (¹⁰): 109 + 59 ug/dl, pero la de ambos grupo control fue diferente (115.46 + 12.61 vs 135 + 56 ug/dl).

Los valores séricos de zinc más altos (mayor a 180 mg/dl) correspondieron a 4 pacientes, todas del sexo femenino con etiologías diversas.

Los valores séricos de zinc más bajos (menor a 60 mg/dl) correspondieron a 10 pacientes, 8 del sexo femenino y 1 masculino con diferentes etiologías.

Las diferencias halladas en estos estudios de concentración de minerales podrían ser causadas principalmente por los métodos de toma de muestras, predisposición étnica, hábitos dietéticos o existencia de complicaciones clínicas.

Hay autores que propugnan la poca idoneidad del suero o del plasma en la valoración del status del zinc y cobre en el organismo esto debido a sus variaciones diarias y a su sensibilidad a otros cambios metabólicos como estrés, infección, alimentación, ayuno y status hormonal²¹.

Se han propuesto indicadores más sensibles del estado del cobre como las enzimas dependientes de cobre: superoxidodismutasa, citocromo C oxidasa en el caso del zinc aún no existe un marcador idóneo de status marginal, pero se ha utilizado el contenido de zinc de las plaquetas, eritrocitos, la 5 nucleotidasa plasmática, superoxidodismutasa y otros.

La albúmina es el principal transportador de zinc sérico y una disminución de esta produciría una disminución concomitante de zinc. Nuestros pacientes con anemia ferropénica tuvieron, además, concentraciones medias de albúmina sérica menores que las de los controles, presentando 16 de ellos una disminución moderada de la albúmina (menor a 3.5 g/dl) y 6 de estos un IMC menor de 10 kg/ml lo que indica un grado leve de desnutrición.

El hierro y el zinc tienen una distribución similar en los alimentos y además su absorción es afectada por casi los mismos factores, como las causas nutricionales de deficiencia de hierro y zinc son similares una anemia ferropénica puede ser evidencia sugestiva de deficiencia de zinc.

Recientes trabajos demuestran la presencia de DCT1 (Nramp2) el transportador de membrana del hierro en la pared intestinal^{22, 23}, el que sería usado tanto para el transporte de hierro como de cobre^{24,25}. La disminución del hierro sérico generada por pérdida insensible podría impulsar la síntesis o la actividad del Nramp2 favoreciendo el incremento de la absorción de cobre sérico. Esto quedaría únicamente como hipótesis, susceptible de ser demostrada.

Mg. Edwin Zarzosa
Facultad de Medicina Humana
Universidad de San Martín de Pones

BIBLIOGRAFIA

1. VivesCorrons, J. L. Hematología clínica de Sans-Sabrafen. Ed. Mosby / Doyma Libros, 1994, 3ra ed., Madrid. pp. 111-130.
2. Lee G., Richard. Hematología clínica de Wintrobe. Ed. Intermedica, 1994, 9na ed., Buenos Aires. pp. 131-63.
3. L. Kathleen Mahan, Silvia Escot Stunmp. Nutrición y dietoterapia de Krause. Mac Graw Hill, 1996, México. pp 737-57, 10ma ed.
4. Andrews, N.e. Disorders of iron metabolismo Engl J Med. 1999 Dec 23; 341(26): 1986-95.
5. Instituto Nacional de Salud. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Informe Nacional de los Niveles de hemoglobina y prevalencia de anemia en niños de 12 a 35 meses y mujeres en edad fértil 2003. Lima - Perú 2003.
6. Milne, D.B. Copper intake and assessment of copper status. Am J Clin Nutr. 1998 May; 67(5 Suppl): 1041S-1045S.
7. Cordano, A. Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children Am J. Clin Nutr 1998; 67: 1012S-6S.
8. I Bremner. Manifestations of copper excess. Am J Clin Nutr 1998 67: 1069S-1073S.

9. Mikhailova L., Keon E., Raikova K. Iron, copper and zinc in healthy persons and iron deficiency anemia patients. *Vutr Boles* 1981; 20 (6): 114-21.
10. Ece, A; Uyanik, B.S.; Iscan, A; Ertan, P.; Yigitoglu. M.R. Increased serum copper and decreased serum zinc levels in children with iron deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res* 1997; 59 (1-3): 31-9.
11. Molteno, C.; Smit, 1.; Mills, J.; Huskisson, J. Nutritional status of patients in a long-stay hospital for people with mental handicap. *S Afr Med J* 2000; 90 (11): 1135-40.
12. Gropper, S.S.; Bader-Crowe, D.M.; McAnulty, L.S.; White, B.D.; Keith, R.E. Non-anemic iron depletion, oral iron supplementation and indices of copper status in college-aged females. *J Am Coll Nutr.* 2002 Dec; 21(6): 545-52.
13. King, L.E.; Fraker, P.J. Zinc deficiency in mice alters myelopoiesis and hematopoiesis. *J Nutr.* 2002 Nov; 132(11): 3301-7.
14. Nishiyama, S.; Iriya, K.; Matsubasa, T.; Higashi, A, Matsuda I. Zinc status relates to hematological deficits in middle-aged women. *J Am Coll Nutr.* 1998 Jun; 17(3): 291-5.
15. Nishiyama S., Kiwaki K., Miyazaki Y., Hasuda Taiji. Zinc and IGF-I concentrations in pregnant women with anemia before and after supplementation with iron and/or zinc. *Am J Clin Nutr* 1999; 18: 261-267.
16. Zavaleta N., Caulfield L.E., Garcia T. Changes in iron status during pregnancy in peruvian women receiving prenatal iron and folic acid supplements with or without zinc. *Am J Clin Nutr.* 2000 Apr; 71(4): 956-61.
17. Dijkhuizen, M.A, Wieringa, E.T.; West, C.E.; Martuti S., Muhilal. Effects of iron and zinc supplementation in Indonesian infants on micronutrient status and growth. *J Nutr.* 2001 Nov; 131(11): 2860-5.
18. Donangelo e.M., Woodhouse L.R., King S.M., Viteri. E.E., King J.e. Supplemental zinc lowers measures of iron status in young women with low iron reserves. *J Nutr.* 2002 Jul; 132(7): 1860-4.
19. Irving, J.A, Mattman, A, Lockitch, G., Farrell, K., Wadsworth L.D, Element of caution: a case of reversible cytopenias associated with excessive zinc supplementation. *CMAJ.* 2003 Jul 22; 169(2): 129-31.
20. Hambidge, M. Biomarkers of trace mineral intake and status. *Nutr.* 2003 Mar; 133 Suppl 3: 948S-955S
21. Hambidge, M. Human Zinc Deficiency. *Journal of Nutrition.* 2000; 130: 1344S-1349S.
22. Wood, R., Han, O. Recently Identified Molecular Aspects of Intestinal Iron Absorption. *The Journal of Nutrition.* Nov. 1998 128: 1841.
23. Arredondo M., Muñoz P., Mura c., Núñez M. DMT1, a physiologically relevant apical Cu transporter of intestinal cells. *Am H Physiol Cell Physiol.* June 2003; 284: 1525.
24. Rolfs A., Hediger M. Intestinal metal ion absorption: an update Current opinion in *Gastroenterology.* March 2001. 17: 177.
25. Nishiyama S., Iriya K., Matsubasa T, Higashi A., Matsuda I. Zinc status Relates to Hematological Deficits in Middle-Aged Women. *Journal of the American College of Nutrition.* 17: 291, 1998.