

SUPLEMENTACIÓN CON COBRE ENTRE COMIDAS NO TIENE EFECTO SOBRE LA NUTRICIÓN DE HIERRO EN HOMBRES

COPPER SUPPLEMENTATION BETWEEN MEALS HAS NO EFFECT ON IRON STATUS OF MEN

Alejandra Wiedeman M., Manuel Olivares G., Fernando Pizarro A., Magdalena Araya Q.

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, Chile.

ABSTRACT

Iron deficiency is prevalent in most of the developing world where it coexists with other micronutrient deficiencies such as copper. Combined supplementation with iron and copper is one of the strategies that can be used to improve the iron and copper status of a population. However, there is concern about potential negative interactions between these two micronutrients due to a competitive binding to the divalent metal transporter 1 (DMT1), a proton-coupled transporter of a variety of divalent metals including copper. The aim of this study was to measure the effect of daily supplementation with 8 mg of copper, as copper sulfate during 6 months on the iron status. Sixty healthy male adults were randomized to receive a copper supplement or a placebo. Fasting blood samples were obtained before and after copper supplementation to evaluate the iron and copper nutritional status. Copper supplementation did not change significantly iron and copper status parameters. In conclusion, daily supplementation with 8 mg of copper during 6 months does not deteriorate iron nutrition in adult men.

Key words: supplementation, humans, copper, iron, interactions.

Este trabajo fue recibido el 13 de Octubre de 2009 y aceptado para ser publicado el 15 de Noviembre de 2009.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro (Fe) sigue siendo la principal causa de anemia en el mundo (1,2); en países en vías de desarrollo esta deficiencia coexiste con la carencia de otros nutrientes, como zinc, cobre (Cu) y vitamina A (3,4). Aunque la prevalencia de la deficiencia de Cu no es bien conocida, podría ser más común de lo estimado (5).

En la dieta la mayor fuente de Fe se encuentra en forma no hem, el cual se absorbe principalmente a través del transportador de metales divalentes (DMT1), ubicado en la membrana apical del enterocito (6,7). DMT1 es un transportador acoplado a protón, el cual puede transportar a otros metales divalentes, entre ellos el Cu (8). Este último, además tiene un transportador específico denominado transportador de cobre humano 1 (Ctr1) (9).

Una de las estrategias para combatir la deficiencia combinada de Fe y Cu es la suplementación o fortificación con ambos elementos, pero la información existente

sobre ellas es escasa (11,12) y preocupa la potencial interacción negativa que pueda desarrollarse entre ambos minerales, ya que comparten el transporte mediado por DMT1 (8,10).

No hay estudios en humanos que hayan analizado el efecto de la administración de Cu -como suplemento- sobre la nutrición de Fe. Los estudios in vitro en líneas celulares Caco-2 han dado resultados contradictorios (11,12).

El propósito del estudio fue medir el efecto de la suplementación de cobre con 8 mg diarios por 6 meses sobre el estado de hierro en hombres adultos.

SUJETOS Y MÉTODO

Sesenta hombres adultos, aparentemente sanos, con pruebas hepáticas normales fueron seleccionados para participar en el estudio. Los sujetos fueron incorporados al protocolo luego de firmar su consentimiento informado. El protocolo y consentimiento del estudio fueron aprobados por el Comité de Ética para la Investigación en

Seres Humanos del Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos (INTA).

El estudio fue en doble ciego, aleatorizado y controlado. Los sujetos fueron seleccionados al azar para recibir el suplemento con Cu o el placebo. Ambos preparados se entregaron en forma de cápsulas. La suplementación se realizó con una dosis de 8 mg diarios de Cu, como sulfato de cobre, por un período de 6 meses. A fin de optimizar la absorción del suplemento, las cápsulas fueron ingeridas entre comidas (una hora antes o después de 3 horas de haber comido) junto con un vaso de agua. El suplemento o placebo fue administrado diariamente por el personal de terreno del estudio.

La obtención de las muestras de sangre venosa se realizó en ayunas, entre las 8 y 9 AM, al inicio y al final de la suplementación. Los parámetros medidos fueron transaminasas glutamicooxalacética (GOT), glutamicopirúvica (GPT) y la actividad de gama glutamil transpeptidasa (GTT) (Química Clínica Aplicada SA, Amposta, España), la concentración de cobre sérico (PerkinElmer model 2280, Norwalk, CT, USA), concentración de ceruloplasmina sérica (Array Protein System, Beckman Instruments Inc., Brea, CA, USA), actividad de súperóxido dismutasa eritrocitaria (eSOD) (Bioxytech SOD-525 Assay, OXIS International Inc., Portland, OR, USA), concentración de hierro sérico (13), de hemoglobina y volumen corpuscular medio (VCM) (CELL-DYN 1700, Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL), ferritina sérica (14) y protoporfina eritrocitaria libre (FEP) (ZP Hematofluorimeter model 206D, AVIV Biomedical Inc., Lakewood, NJ).

Análisis estadístico

El tamaño de la muestra se calculó asumiendo una disminución de la hemoglobina de 10 g/L después de 6 meses de suplementación con cobre, una desviación estándar de 15 g/L, un error alfa de 0,05 y un poder de 80%. El n calculado fue de 22 en cada grupo, se ingresaron 60 sujetos con el propósito de asumir pérdidas en el seguimiento.

Se realizó la prueba de normalidad a los datos, a aquellos que no tenían una distribución normal se les aplicó transformación logarítmica, las pruebas estadísticas se realizaron con los logaritmos y los resultados fueron expresados en promedios geométricos y rango de ± 1 desviación estándar.

Se utilizó la prueba de t de Student de dos colas no pareado para comparar los valores de los dos grupos en el período base. Se realizó ANOVA de 2 factores para medidas repetidas (SPSS 15.0.1 para Windows, SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) para comparar el efecto del tiempo y tratamiento sobre el estado del Fe y del cobre.

RESULTADOS

Un total de 60 sujetos fueron estudiados, 31 en el grupo experimental y 29 en el grupo control, su antropometría y valores de las pruebas hepáticas se muestran en la tabla 1. No hubo diferencias estadísticas significativas en el período base entre los dos grupos para las variables seleccionadas.

La suplementación con cobre no tuvo efectos en la salud ni en el tránsito intestinal de los participantes y no se detectaron cambios significativos en los indicadores

TABLA 1

Características antropométricas y función hepática

Variable	Período base		P*	Período final		Tiempo	Tratamiento	Tiempo x Tratamiento
	Placebo (n=29)	Suplementación (n=31)		Placebo (n=29)	Suplementación (n=31)			
Edad (años)*	30,8 ± 9,1	32,9 ± 10,3	0,43					
Peso (kg)*	72,6 ± 11,6	73,7 ± 12,3	0,73					
Talla (m)*	1,70 ± 0,05	1,71 ± 0,06	0,42					
IMC (kg/m ²)	25,1 ± 3,9	25,1 ± 3,9	0,99					
GOT*** (UI)	13,4 (10,8 - 16,8)	15,1 (10,7 - 21,4)	0,06	21,4 (16,5 - 27,7)	21,3 (17,0 - 26,9)	0,000	0,258	0,264
GPT*** (UI)	14,4 (10,1 - 20,5)	17,5 (10,8 - 28,3)	0,08	21,2 (15,7 - 28,7)	23,9 (16,4 - 34,6)	0,000	0,103	0,456
GGT*** (UI)	13,6 (6,8 - 27,5)	16,0 (7,4 - 34,6)	0,47	14,0 (7,0 - 27,9)	16,5 (8,1 - 33,4)	0,516	0,354	0,960

* Prueba t de Student

** ANOVA de 2 vías para medidas repetidas.

*** Promedio geométrico, en paréntesis rango de ± 1 desviación estándar.

de nutrición de hierro y de cobre (tablas 2 y 3). No hubo efecto del tratamiento (suplemento o placebo), tiempo (antes y después del ensayo) o interacción de tratamiento y tiempo, excepto que en hierro sérico, ceruloplasmina y actividad de eSOD la variable tiempo fue significativa, para FEP hubo un efecto del tratamiento y para ferritina sérica de la interacción tiempo y tratamiento (ANOVA para medidas repetidas $P < 0,05$). No hubo cambios asociados a la suplementación para las tres aminotransferasas medidas, pero ocurrieron cambios significativos con el tiempo en GOT y GPT ($P < 0,05$); tampoco hubo interacción entre suplementación y tiempo.

DISCUSIÓN

Existe una estrecha relación entre Fe y Cu; actualmente se sabe que ambos metales utilizan el transportador de membrana apical DMT1 para su absorción (8,10) y que tanto la hefestina como la ceruloplasmina, enzimas que están implicadas en la absorción y movilización de Fe, son dependientes de Cu, (15,16). La ceruloplasmina es una proteína que posee acción ferroxidasa y es esencial para la movilización de Fe desde la reserva de los tejidos; para que esto ocurra se requiere que el Fe se encuentre en su estado férrico, antes de ser incorporado a la transferrina sérica; la hefestina es un homólogo de la ceruloplasmina, que

TABLA 2

Parámetros de nutrición de hierro

Variable	Período base		Período final		P*		
	Placebo (n=29)	Suplementación (n=31)	Placebo (n=29)	Suplementación (n=31)	Tiempo	Tratamiento	Tiempo x Tratamiento
Hemoglobina (g/dL)	15,3 ± 0,8	15,5 ± 0,9	15,5 ± 1,0	15,5 ± 0,8	0,294	0,611	0,866
VCM (fL)	87,9 ± 3,5	88,0 ± 3,9	88,0 ± 3,4	88,5 ± 4,2	0,098	0,751	0,411
Fe sérico** (µg/dL)	135,1 (100,0 - 182,6)	158,5 (119,4 - 210,6)	127,8 (94,2 - 173,3)	130,5 (96,0 - 177,5)	0,019	0,135	0,100
FEP** (µg/L/GR)	59,5 (46,7 - 75,7)	51,4 (41,0 - 64,4)	55,8 (40,7 - 76,6)	51,1 (39,4 - 66,2)	0,407	0,047	0,345
Ferritina sérica** (µg/L)	58,4 (39,1 - 87,1)	60,8 (39,1 - 94,8)	57,7 (38,8 - 85,7)	67,0 (44,6 - 100,7)	0,267	0,330	0,030

* ANOVA de 2 vías para medidas repetidas.

** Promedio geométrico, en paréntesis rango de ± 1 desviación estándar.

TABLA 3

Parámetros de nutrición de cobre

Variable	Período base		Período final		P*		
	Placebo (n=29)	Suplementación (n=31)	Placebo (n=29)	Suplementación (n=31)	Tiempo	Tratamiento	Tiempo x Tratamiento
Cu sérico (µg/dL)	99,1 ± 12,0	101,5 ± 11,2	100,7 ± 11,5	101,8 ± 18,1	0,519	0,737	0,906
Ceruloplasmina (mg/L)	365,7 ± 73,1	380,9 ± 70,5	317,5 ± 54,6	340,2 ± 66,2	0,000	0,275	0,594
eSOD** (U mg/hemoglobina)	94,9 (76,3 - 118,1)	84,6 (52,4 - 136,6)	70,3 (53,9 - 91,6)	68,8 (51,2 - 92,5)	0,000	0,315	0,323

* ANOVA de 2 vías para medidas repetidas.

** Promedio geométrico, en paréntesis rango de ± 1 desviación estándar.

también tiene actividad ferroxidasa, ambas permiten el eflujo de Fe desde el enterocito y su posterior unión a la transferrina sérica (17). Es por esto que en la deficiencia de cobre secundariamente se desarrolla una deficiencia funcional de hierro (5).

Estudios del efecto del Cu sobre el estado de Fe, realizados in-vitro en células Caco-2, han dado resultados contradictorios. En un estudio de competición, Arredondo y cols agregaron 5 μM de Cu y Fe al medio de cultivo, en proporciones molares de Cu:Fe de 1:0,5 a 1:200, en presencia de ácido ascórbico; en estas condiciones demostraron una inhibición de la captación de Fe a partir de relaciones molares $\geq 1:10$ (12). Otros estudios han demostrado una disminución de la captación de 1 μM de Fe cuando se agregó 100 μM de Cu (18,19). Sin embargo, no encontraron este efecto al agregar 1 μM de Cu con una proporción equimolar de Fe, en presencia y ausencia de ácido ascórbico (11). Nosotros hemos demostrado que la administración de Cu en solución, en una proporción molar de Cu:Fe de 8:1, no inhibe la absorción de Fe en humanos (20).

En nuestro estudio se utilizó una dosis diaria de Cu menor que los 10 mg de Cu diarios, que la Academia de Ciencias de EEUU definió como límite máximo seguro (21); por lo tanto, el consumo total del mineral en los sujetos del estudio es seguro. Por otra parte, en un estudio realizado por nosotros en una muestra representativa de la población de Santiago, la ingesta promedio de Cu de hombres adultos era de 0,9 mg diarios (22), lo que interpretamos que la ingesta de los participantes en el estudio fue mayor que la habitual. En este mismo grupo la ingesta promedio de hierro era de 13,5 mg diarios (22).

Los resultados indican que la suplementación diaria con 8 mg de Cu, ingerido entre comidas y por un período de 6 meses, es manejada por los mecanismos adaptativos fisiológicos y no deteriora la nutrición de Fe. Este resultado podría atribuirse a varios hechos. El primero es que los sujetos eran aparentemente sanos y tenían actividades y dietas habituales, por lo que probablemente tenían reservas suficientes de Fe y de Cu, y no era esperable un cambio con la magnitud de la suplementación y el tiempo estudiado. No sólo los promedios de los grupos no presentaron cambios significativos, ninguno de los sujetos tuvo valores de los indicadores de nutrición de Fe y de Cu alterados. Este resultado coincide con otros estudios realizados por nosotros y otros autores, en los que se ha observado que la suplementación con Cu en sujetos bien nutridos en este mineral, no modifica los valores séricos de Cu y ceruloplasmina (23, 24). En segundo lugar, otro factor que puede influir es la afinidad por el transportador; si

bien el DMT1 puede transportar el Cu, su afinidad por cobre es bastante menor que por Fe (7,18). Por otra parte, existe controversia sobre la forma química en que el Cu es transportado por DMT1; se ha postulado que podría ser captado en estado divalente o monovalente (10); si se transportara preferentemente como Cu^{+1} , podría haber sucedido que no se haya reducido todo el Cu administrado, de modo que la posibilidad de una competencia entre el Cu y Fe por este transportador se haya minimizado. Aún más, para el Cu existe en el enterocito el transportador específico (Ctr1) de alta afinidad (9,25), y más recientemente se ha descrito un transportador dependiente de ATP (26); por lo tanto, DMT1 podría no ser biológicamente relevante para la absorción intestinal de Cu. Finalmente, la otra posible explicación de la ausencia de efecto negativo sobre el estado del Fe, es que no existió oportunidad de competencia por la absorción con el hierro, dado que el Cu fue consumido entre comidas.

Vale la pena señalar, que existió un cambio significativo en algunos de los indicadores medidos cuando se hace el análisis por la variable tiempo, o sea, el momento en que se obtuvo la muestra. Esto sugiere que la estacionalidad es un factor que influye en la medición de algunos parámetros de nutrición de Cu y de Fe, lo cual podría deberse al efecto de factores ambientales tales como cambios en temperatura, humedad, luminosidad, etc. y/o variaciones en la ingesta dietética. Es de importancia destacar la utilidad de contar con un grupo placebo, ya que de otra manera estos resultados habrían sido considerados un efecto de la suplementación con Cu.

CONCLUSIÓN

La suplementación con 8 mg diarios de Cu administrado entre comidas durante 6 meses no afecta la nutrición de hierro en hombres adultos.

RESUMEN

La deficiencia de hierro coexiste con otras carencias, entre ellas de cobre. La suplementación combinada con estos nutrientes es una de las estrategias utilizadas en su prevención. Sin embargo, existe la posibilidad de interacciones negativas, ya que el DMT1, principal transportador de hierro no hem a nivel intestinal, también transporta cobre. El propósito del estudio fue medir el efecto de la suplementación con 8 mg diarios de cobre, como sulfato de cobre, durante 6 meses, sobre la nutrición de hierro. Sesenta hombres adultos, aparentemente sanos, fueron seleccionados al azar para recibir el suplemento de cobre o un placebo. Se tomaron muestras de sangre en ayunas antes y después de finalizada la

suplementación para evaluar la nutrición de hierro y de cobre. La suplementación con cobre no determinó cambios significativos en los indicadores de nutrición de cobre y de hierro. En conclusión, la suplementación con 8 mg diarios de Cu administrado entre comidas durante 6 meses no deterioró la nutrición de hierro en hombres adultos.

Palabras clave: suplementación, humanos, cobre, hierro, interacciones.

Dirigir la correspondencia a:

Alejandra Wiedeman M.
INTA, Universidad de Chile
El Líbano 5524
Macul
Santiago, Chile
Fono: 56 – 2 978 1482
Fax: 56 – 2 2214030
E-mail: alejandra.wiedeman@inta.cl

Agradecimientos: a los sujetos y al personal que participaron en el estudio.

Financiamiento: International Copper Association y Fondecyt-Chile proyecto número 1070665

BIBLIOGRAFÍA

- De Maeyer E, Adiels-Tegman M. The prevalence of anaemia in the world. *World Health Statist Q* 1985;38:302-16.
- Darnton-Hill I, Webb P, Harvey PW, Hunt JM, Dalmiya N, Chopra M, et al. Micronutrient deficiency and gender: social and economic costs. *Am J Clin Nutr* 2005;81(5):1198S-1205S.
- Olivares M, Walter T, Hertrampf E, Pizarro F. Anaemia and iron deficiency disease in children. *Brit Med Bull* 1999;55:534-48.
- Solomons N, Ruz M. Zinc and iron interaction: concepts and perspectives in the developing world. *Nutr Res* 1997;17:177-85.
- Olivares M, Uauy R. Copper as an essential nutrient. *Am J Clin Nutr* 1996;63:791S-6S.
- Conrad ME, Umbreit JM, Moore EG, Hainsworth LN, Porubcin M, Simovich MJ, Nakada MT, Dolan K, Garrick MD. Separate pathways for cellular uptake of ferric and ferrous iron. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;279:G767-74.
- Garrick MD, Singleton ST, Vargas F, Kuo HC, Zhai L, Knöpfel M, Davidson T, Costa M, Paradkar P, Roth JA, Garrick LM. DMT1: which metals does it transport? *Biol Res* 2006;39:79-85.
- Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romeri MF, Boron WF, Nussberger S, Gollan JL, Hedinger MA. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997;388:482-8.
- Lee J, Peña MM, Nose Y, Thiele DJ. Biochemical characterization of the human copper transporter Ctr1. *J Biol Chem* 2002;277:4380-7.
- Zerounian NR, Linder MC. Effects of copper and ceruloplasmin on iron transport in the Caco 2 cell intestinal model. *J Nutr Biochem* 2002;13:138-48.
- Arredondo M, Martínez R, Núñez MT, Ruz M, Olivares M. Inhibition of iron and copper uptake by iron, copper and zinc. *Biol Res* 2006;39:95-102.
- Arredondo M, Muñoz P, Mura CV, Núñez MT. DMT1, a physiologically relevant apical Cu+1 transporter of intestinal cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;284:C1525-30.
- Fischer DS, Price DC. A simple serum iron method using the new sensitive chromogen tripyridyl-S-triazine. *Clin Chem* 1964;10:21-31.
- INACG. Measurement of iron status. A report of the International Anemia Consultative Group (IN-ACG) Washington, DC., The Nutrition Foundation, 1985.
- Sharp P. The molecular basis of copper and iron interactions. *Proceedings of Nutrition Society* 2004;63:563-9.
- Fox PL. The copper-iron chronicles: the history of an intimate relationship. *Biometals* 2003;16:9-40.
- Harris E. Iron-copper interactions: some new revelations. *Nutr Rev* 1994;52:311-9.
- Tandy S, Williams M, Leggett A, López-Jiménez M, Dedes M, Ramesh B, Srai SK, Sharp P. Nramp2 expression is associated with pH-dependent iron uptake across the apical membrane of human intestinal Caco-2 cells. *J Biol Chem* 2000;275:1023-9.
- Tennant J, Stansfield M, Yamaji S, Srai SK, Sharp P. Effects of copper on the expression of metal transporters in human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Letters* 2002;527:239-44.
- Olivares M, Pizarro F, López de Romaña D, Ruz M. Acute copper supplementation does not inhibit non-heme iron bioavailability in humans. *Biol Trace Elem Res* 2009 (en prensa).
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington, D.C., National Academy Press. 2001.
- Olivares M, Pizarro F, de Pablo S, Araya M, Uauy R. Iron, zinc and copper: Contents in common Chilean

- foods and daily intakes in Santiago, Chile, *Nutrition* 2004;20:205-12.
23. Araya M, Olivares M, Pizarro F, Llanos A, Figueroa G, Uauy R. Community-based randomized double-blind study of gastrointestinal effects and copper exposure in drinking water. *Environ Health Perspect* 2004;112:1068-73.
 24. Salmenpera L, Siimes MA, Nanto V, Perheentupa J. Copper supplementation failure to increase plasma copper and ceruloplasmin concentration in healthy infants. *Am J Clin Nutr* 1989;50:842-7.
 25. Quentin D, Aurore D, Nahla M, Milton S. The copper transporter (Ctr) family of Cu⁺ uptake systems. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2006;11:10-9.
 26. Knöpfel M, Smith C, Solioz M. ATP-driven copper transport across the intestinal brush border membrane. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 330:645-52.