

Compuestos prebióticos y biodisponibilidad de minerales y oligoelementos

A. Bongers y E.G.H.M. van den Heuvel

Friesland Coberco Dairy Foods. Corporate Research. Deventer. Holanda.

INTRODUCCIÓN

Los hidratos de carbono susceptibles de fermentación colónica están alcanzando especial interés en tanto que pueden constituir compuestos prebióticos, es decir, «ingredientes alimenticios no digeribles que influyen de manera beneficiosa en el huésped al estimular selectivamente el crecimiento, la actividad o ambos, de una o varias especies bacterianas del colon»¹. De los hidratos de carbono fermentables existentes en la actualidad, los oligosacáridos no digeribles (OND) son los únicos que pueden ser considerados de manera convincente como compuestos prebióticos². Estos compuestos son la rafinosa; la estaquiosa; los fructo, galacto, isomalto y xilooligosacáridos; las maltodextrinas; la polidextrosa, las polidextrinas y algunas inulinas^{3,4}, todos los cuales presentan grados diferentes de polimerización, con variación predominante de 3 a 10. Aunque se precisan más datos sobre los efectos de la lactulosa en la potenciación de microorganismos específicos, este disacárido también es un prebiótico reconocido^{5,6}.

Existen datos de investigación reciente que indican un posible efecto beneficioso de los compuestos prebióticos sobre la disponibilidad de los minerales y los oligoelementos incluidos en los alimentos, referidos a la proporción de los nutrientes de este tipo que son absorbidos, retenidos y utilizados para las funciones normales del organismo^{7,8}. Este efecto beneficioso de los compuestos prebióticos será expuesto en esta revisión, con hincapié en las fases del ciclo vital humano en las que existen requerimientos elevados, como son el crecimiento, la adolescencia y la posmenopausa. Además, también se aborda la importancia del diseño de los estudios y los posibles mecanismos subyacentes a los efectos observados.

COMPUESTOS PREBIÓTICOS Y BIODISPONIBILIDAD DE LOS MINERALES Y DE LOS OLIGOELEMENTOS EN SITUACIONES DE REQUERIMIENTOS ELEVADOS

Crecimiento

La biodisponibilidad suficiente de minerales y de oligoelementos tiene una importancia especial durante el crecimiento debido a que en esta fase son elevados los requerimientos tanto de minerales como de oligoelementos. Los compuestos prebióticos pueden influir de manera positiva en la biodisponibilidad y, por tanto, se han efectuado diversos estudios de investigación en ratas jóvenes en fase de crecimiento (definidas de manera subjetiva como de una edad ≤ 7 semanas, con un peso ≤ 200 g o ambos). En el ser humano existen algunos datos obtenidos en lactantes, aunque algunos estudios se han realizado en adolescentes y tienen más interés en este sentido debido al crecimiento que tiene lugar durante la pubertad.

Ratas en fase de crecimiento

En la tabla I se recoge una consideración general de los efectos producidos por los componentes prebióticos sobre la biodisponibilidad de los minerales y los oligoelementos en ratas jóvenes en fase de crecimiento. En estos estudios se han observado principalmente efectos positivos sobre la absorción de calcio, magnesio y hierro, aunque estos efectos no han podido ser confirmados por Vanhoof y Schrijver⁹. La ausencia de efectos en este estudio puede haber sido debida a que las ratas utilizadas ya habían completado su crecimiento o a que la dosis de inulina utilizada ha sido relativamente baja. Se obtuvieron efectos contradictorios sobre los efectos de los compuestos prebióticos en la biodisponibilidad del fósforo, el cinc y el cobre. Dado lo limitado de la investigación realizada hasta el momento, son necesarios nuevos estudios a este respecto. Además de su efecto sobre la absorción, en los experimentos efectuados con

Correspondencia: Anke Bongers.
Friesland Coberco Dairy Foods. Corporate Research.
PO BOX 87. 7400 AB Deventer. Holanda.
Correo electrónico: a.bongers@fcd.nl.

TABLA I. Efectos de los prebióticos en la biodisponibilidad de minerales y oligoelementos en ratas jóvenes (≤ 7 semanas de edad, o ≤ 200 g de peso)*

Autor y referencia bibliográfica	Prebiótico	Efecto en absorción	Efecto sobre tejido óseo	Efecto sobre retención de minerales
Delzenne et al ¹⁰	10% FOS		^a	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$ Fe $\uparrow$ Zn $\uparrow$ Cu–
López et al ¹¹	10% inulina 10% FOS	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$ Fe $\uparrow$ Zn– Cu $\uparrow$	Ca tibia – Mg tibia $\uparrow$ Zn tibia – Fe ^b – Cu ^c –	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$ Fe– Zn $\uparrow$ Cu–
Kashimura et al ¹²	5% OBI	Ca $\uparrow$ (Mg $\uparrow$ Fe $\uparrow$ P $\uparrow$)	^a	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$ Fe $\uparrow$ P $\uparrow$
Vanhoof y Schrijver ^{9,d}	6% inulina	Ca– Mg– Fe– Zn– P $\downarrow$	^a	Ca– Mg $\downarrow$ Fe– Zn– P–
Heijnen et al ¹³	14% lactulosa	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$ P $\uparrow$	^a	Ca– Mg $\uparrow$ P $\uparrow$
Ohta et al ¹⁴	5% FOS	Ca $\uparrow$	^a	^a
	10% FOS	Ca $\uparrow$	^a	^a
Chonan y Watanuki ¹⁵	5% GOS	Ca $\uparrow$	^a	Ca $\uparrow$
	10% GOS	Ca $\uparrow$	^a	Ca $\uparrow$
Ohta et al ¹⁶	5% FOS	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$	^a	^a
Ohta et al ¹⁷	5% FOS	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$	Ca femur $\uparrow$ Mg femur – Ca femur $\uparrow$ Mg femur $\uparrow$ P femur $\uparrow$	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$
Takahara et al ¹⁸	5% FOS	Ca $\uparrow$ Mg $\uparrow$		^a
Morohashi et al ^{19,d}	5% FOS	Ca $\uparrow$	Ca–	Ca $\uparrow$
Chonan y Watanuki ²⁰	5% GOS	Ca $\uparrow$ ^e	Ca tibia $\uparrow$ ^e Ca femur $\uparrow$ ^e	^a

*Se indica efecto estimulador ($\uparrow$), inhibitor ($\downarrow$) o sin efecto (–). FOS: fructooligosacáridos; GOS: galactooligosacáridos; OBI: oligómeros basados en isomaltulosa.^aNo determinado.^bDeterminado por sideremia, saturación de transferrina y contenido hepático de hierro.^cDeterminado por cupremia y contenido hepático de cobre.^dRatas de 200 g de peso.^eSolamente en ratas con dieta normal en calcio (0,5%), pero no en ratas con dieta baja en calcio (0,05%).

ratas se ha señalado la importancia fisiológica de los compuestos prebióticos en el metabolismo óseo durante el crecimiento.

Lactantes

Durante la lactancia, etapa de especial vulnerabilidad, tiene una gran importancia la biodisponibilidad óptima de minerales y de oligoelementos debido a que los requerimientos durante la misma son altos a causa de la gran velocidad de crecimiento y desarrollo. Los lactantes prematuros presentan un riesgo especialmente elevado de sufrir cuadros de deficiencia que pueden dar lugar a efectos adversos graves. En todo el mundo, las deficiencias de hierro y cinc son los cuadros de deficiencias de micronutrientes más prevalentes en los lactantes²¹⁻²⁴. Se ha establecido una asociación entre la anemia ferropénica durante los primeros años de la vida y el retraso en el desarrollo intelectual²⁵. Incluso las deficiencias leves de cinc se han asociado a efectos adversos sobre el crecimiento, la función inmunitaria, el desarrollo y la actividad^{23,24}, y se ha determinado que en los lactantes es importante el aporte suficiente de calcio debido a que la deficiencia del mismo se ha asociado a disminución del contenido mineral óseo²³. Los conocimientos acerca de la absorción del magnesio en los lactantes son limitados, pero los lactantes prematuros presentan riesgo de deficiencia de magnesio y, en consecuencia, pueden presentar hipomagnesemia^{26,27}. Aunque se recomienda habitualmente el refuerzo de las fórmulas lácteas infantiles con hierro, cinc y calcio, este refuerzo puede reducir la absorción de otros elementos debido a interacción^{23,28-33}. Ade-

más, el refuerzo de los alimentos con hierro puede causar efectos adversos de carácter sensitivo³⁴. La investigación de cuáles son los compuestos prebióticos que pueden optimizar la absorción y utilización del hierro, cinc, calcio y magnesio en las fórmulas de alimentación infantil, de manera que se puedan evitar los efectos adversos del refuerzo de estos alimentos, tiene un interés especial. El uso de OND en los preparados alimenticios de los lactantes es una posibilidad contemplada por el Scientific Committee of Food de la European Commission³⁵. Aunque no se han efectuado estudios sobre los efectos de los OND o la lactulosa sobre la biodisponibilidad de los minerales y de los oligoelementos en las fórmulas lácteas de alimentación infantil, en algunos estudios se han evaluado los efectos de la lactosa. Estos efectos tienen importancia en el contexto de los compuestos prebióticos debido a que, en las personas que no son capaces de hidrolizar completamente la lactosa, este disacárido puede alcanzar el ciego y dar lugar a fermentación colónica, como se observa en lactantes prematuros^{36,37}. Sin embargo, en lactantes prematuros la lactosa no parece incrementar la absorción de calcio^{38,39}, mientras que en los lactantes a término⁴⁰⁻⁴³ y en los lactantes con deficiencia de lactasa⁴⁴ sí se ha observado una relación positiva entre lactosa y absorción de calcio. La falta de congruencia en los resultados puede ser debida a la intensidad de la degradación de la lactosa por la lactasa disponible, o bien se puede explicar por el hecho de que, en respuesta a la homeostasis, la estimulación de la absorción pasiva de calcio inducida por la lactosa podría quedar contrarrestada por la disminución en la absorción activa de calcio⁴⁵, con un efecto neto no detectable sobre la absorción de calcio. Al considerar los efectos positivos que puede ejercer la

lactosa, el estudio de los lactantes prematuros y a término en relación con los efectos de los compuestos prebióticos sobre la absorción de calcio, y posiblemente también sobre otros minerales y oligoelementos, pudiera dar lugar a resultados prometedores.

Adolescentes

El estirón del crecimiento puberal se asocia a una captación rápida e importante de calcio por parte del esqueleto, lo que apoya la importancia del aporte suficiente de calcio durante la adolescencia⁴⁶. La biodisponibilidad óptima del calcio no sólo es importante para conseguir una masa ósea máxima, sino también para la prevención de la pérdida de masa ósea y de las fracturas debidas a osteoporosis durante la vida adulta⁴⁷. Sin embargo, muchos adolescentes no consumen calcio en las cantidades adecuadas para la mineralización ósea, que se recomienda sean de 1.000 a 1.200 mg/día⁴⁸. Por tanto, se han realizado algunos estudios acerca de los efectos de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad del calcio en los adolescentes. En uno de estos estudios también se han evaluado los efectos de estos compuestos sobre la absorción de magnesio, que parece ser el segundo mineral en importancia respecto al desarrollo del esqueleto⁴⁹.

En un estudio efectuado por Van den Heuvel et al⁵⁰, un grupo de 12 adolescentes de sexo masculino (edad media, 15,3 años) consumió 5 g de fructooligosacárido (FOS) o de un sustrato control con zumo de naranja tres veces al día (desayuno, comida y cena), durante un período de 9 días. Los efectos sobre la absorción real de calcio fueron determinados mediante el uso de una técnica con isótopo doble estable. Los participantes recibieron una dosis oral de un isótopo estable del calcio añadida al zumo de naranja que consumieron en el desayuno, seguido de la administración intravenosa de otro isótopo estable del calcio. Se recogió la orina de 36 h y se calculó la absorción real de calcio mediante la determinación del cociente relativo del isótopo oral frente al isótopo intravenoso en la orina recogida. Los tratamientos se administraron según un diseño transversal, con asignación aleatoria y control doble ciego, separados por un período de 19 días de eliminación de la medicación. El FOS aumentó la absorción de calcio desde el $47,8 \pm 16,4\%$ durante el tratamiento de referencia ($n = 12$) hasta $60,1 \pm 17,2\%$ durante el tratamiento con FOS ($n = 11$) (media $\pm$ desviación estándar [DE]).

La mayor parte de la investigación efectuada en adolescentes se ha realizado sobre mujeres. Griffin et al⁵¹ investigaron un grupo de adolescentes del sexo femenino (11,0-13,9 años de edad) a las que se habían dado instrucciones para que mantuvieran un consumo de calcio total de aproximadamente 1.500 mg/día a través de la ingestión de un vaso de zumo de naranja reforzado con calcio en el desayuno y la cena, y de un vaso de leche, un vaso de zumo de naranja reforzado con calcio o un yogur durante la comida. El estudio tuvo un diseño transversal con control doble ciego y los períodos de tratamiento tuvieron una duración de 3 semanas, separados

por un período de 2 semanas de eliminación de la medicación. Las participantes fueron asignadas de manera aleatoria para recibir dos raciones de 4 g de OND o dos raciones de 4 g de placebo al día, una de ellas añadida en el vaso de zumo de naranja del desayuno y la otra en el de la cena. Se llevaron a cabo dos protocolos similares simultáneamente. En el protocolo I ($n = 30$) se investigó el FOS, mientras que en el protocolo II ($n = 29$) los OND administrados fueron una mezcla de inulina y de FOS. La absorción de calcio se determinó al final de la tercera semana de intervención mediante una modificación de la técnica del isótopo doble estable. Con esta técnica, los participantes tomaron, junto al desayuno y la cena con contenido bajo en calcio, un vaso de zumo de naranja reforzado con calcio al que se añadió la ración de 4 g de OND y una dosis del isótopo de calcio. Inmediatamente tras el desayuno se realizó la infusión intravenosa de otro isótopo del calcio y se efectuó la recogida de la orina de 48 h. No se observó ningún efecto con los 8 g de FOS, pero el consumo de los 8 g de la mezcla inulina + FOS aumentó la absorción de calcio desde $32,3 \pm 9,8$ hasta $38,2 \pm 9,8\%$ (media $\pm$ DE).

Van den Heuvel et al⁵² también efectuaron un estudio sobre adolescentes del sexo femenino (edad media, 12,7 años) con consumo bajo de calcio (316-858 mg/día). En este estudio se evaluaron los efectos a largo plazo del FOS sobre la absorción de calcio y magnesio. Catorce participantes recibieron FOS o placebo durante 37 días, según un diseño transversal, con asignación aleatoria y control doble ciego, y con un período de 12 días para la eliminación de la medicación. Durante los primeros 9 días, las participantes recibieron instrucciones para consumir dos galletas al día, una en el desayuno y otra en la cena, cada una de ellas constituida por 5 g de FOS o 5 g de placebo. Después de este período recibieron FOS según un protocolo de administración intermitente y con un promedio de 7 g/día. En el día 8 (corto plazo) y el día 36 (largo plazo) se aplicó la técnica del isótopo dual estable para determinar la absorción de calcio y de magnesio. Inmediatamente después de la administración de los isótopos en el desayuno, se dieron instrucciones a las participantes para que recogieran la orina durante 36 h. El FOS no influyó en la absorción de calcio tras 8 o tras 36 días de tratamiento. Tampoco influyó en la absorción de magnesio a los 8 días de tratamiento, pero el FOS aumentó la absorción de magnesio a los 36 días de tratamiento, con cifras de $30,1 \pm 9,1\%$ en el grupo placebo y de $35,4 \pm 12,8\%$ en el grupo de FOS (media $\pm$ DE).

Los compuestos prebióticos pueden ser componentes prometedores para incrementar la absorción de calcio y magnesio en los adolescentes, aunque los resultados obtenidos son en cierta medida contradictorios. Este hecho puede ser debido a las diferencias en el diseño de los estudios, que serán comentadas más adelante. En los estudios en los que se ha observado un efecto positivo del OND estudiado sobre la absorción de calcio o magnesio no se ha demostrado un incremento en su excreción urinaria⁵⁰⁻⁵², lo que sugiere que el aumento en la absorción puede haber dado lugar a una elevación en la concentra-

ción del mineral captado por el tejido óseo y puede haber sido útil para incrementar la masa ósea. En varios estudios efectuados en ratas en fase de crecimiento se ha propuesto esta posibilidad^{17,18,20}. Sin embargo, todavía no se ha demostrado si el incremento en la absorción de calcio y magnesio inducido por los OND tiene realmente una importancia fisiológica en el metabolismo óseo del adolescente. En el estudio de Van den Heuvel et al⁵², el consumo de FOS aumentó la absorción de magnesio, pero no se observaron efectos sobre los parámetros del metabolismo óseo. La ausencia de efectos sobre estos parámetros fue debida posiblemente a la inexistencia de un efecto sobre la absorción del calcio, o quizá a la modificación relativamente escasa en la absorción de magnesio (del 18%). Además, el número de participantes (n = 14) puede haber sido demasiado reducido como para que se pudiera demostrar un efecto sobre los parámetros óseos. En ninguno de los estudios efectuados sobre adolescentes se ha evaluado el efecto de los compuestos prebióticos sobre la absorción de hierro o de cinc.

Posmenopausia

La fase posmenopáusica es, junto a la de crecimiento, otra etapa de la vida en la que el ser humano presenta requerimientos elevados y podría obtener efectos beneficiosos con el consumo de compuestos prebióticos. En las mujeres posmenopáusicas se observa una pérdida importante de masa ósea con osteoporosis debido a la modificación del metabolismo óseo. La incidencia y morbilidad de la osteoporosis, incluyendo las fracturas óseas, están aumentando en todo el mundo y haciendo que éste constituya uno de los principales problemas médicos y sociales de las mujeres de edad avanzada en los países occidentales. Aunque la causa más importante de la osteoporosis posmenopáusica es la deficiencia de estrógenos, los factores nutricionales también pueden desempeñar un papel principal en el estado de salud del hueso; parece que tiene una importancia especial la biodisponibilidad de calcio, fósforo y magnesio⁵³. Los compuestos prebióticos pueden ser especialmente útiles en este sentido. Estos compuestos se han estudiado en un modelo animal de posmenopausia basado en ratas ovariectomizadas. También se han efectuado algunos estudios en mujeres posmenopáusicas.

Ratas ovariectomizadas

Chonan et al⁵⁴ estudiaron ratas ovariectomizadas de 4 semanas de edad (aproximadamente, 170 g de peso) y observaron que la administración de galactooligosacáridos (GOS) aumentaba la absorción de calcio al cabo de 8-10 y de 18-20 días, aunque no se observó ningún efecto después de los 28-30 días. Además, la administración de GOS dio lugar a un efecto positivo sobre el peso seco del hueso (fémur y tibia) y sobre el contenido de calcio de la tibia, mientras que el contenido de calcio del fémur no presentó modificaciones. En ratones hembra ovariectomi-

zadas de 8 semanas de edad (aproximadamente, 25 g de peso), la administración de una dieta con un 5% de FOS no influyó en el contenido de calcio, magnesio y fósforo en el fémur, pero fue eficaz para impedir la pérdida de masa ósea femoral⁵⁵. En otros dos estudios se ha demostrado que la administración de una alimentación con un 5% de FOS impide la pérdida de la estructura ósea trabecular inducida por la ovariectomía⁵⁶ e influye de manera positiva en la concentración de calcio en el fémur⁵⁷ en ratas ovariectomizadas de 5 meses de edad alimentadas con una dieta constituida por un 1% de calcio, mientras que en ninguno de los estudios se observaron efectos por la administración de dietas con un 2,5, un 5 o un 10% de FOS cuando la dieta contenía un 0,5% de calcio. No obstante, sí se observó una tendencia positiva hacia la relación lineal entre la dosis de FOS y el grado de mineralización del hueso⁵⁷. Estos estudios indican que existen pruebas convincentes de que los compuestos prebióticos ejercen un efecto positivo sobre el estado de salud del hueso en las ratas ovariectomizadas.

Mujeres posmenopáusicas

Van den Heuvel et al⁵⁸ investigaron si la lactulosa podría influir en la absorción real de calcio en las mujeres posmenopáusicas. En este estudio fueron seleccionadas 12 mujeres (edad media, 60,5 años) que recibieron una solución con una sustancia de referencia o con 5 o 10 g de lactulosa al día, con el desayuno, durante 9 días. Estos tres tratamientos fueron administrados según un diseño transversal, con asignación aleatoria y control doble ciego, con dos períodos de eliminación de medicación de 19 días de duración. El día 8 de tratamiento se determinó la absorción intestinal real de calcio mediante la aplicación de la técnica del isótopo doble estable, para lo cual las participantes recogieron la orina durante 36 horas. Se observó una relación lineal entre la dosis de lactulosa y su efecto positivo sobre la absorción de calcio. La dosis mayor de lactulosa incrementó la absorción real de calcio desde el $27,7 \pm 7,7$ hasta el $32,2 \pm 7,0\%$ (media $\pm$ DE). En otro estudio con un diseño similar se investigó el efecto del GOS. Participaron 12 mujeres posmenopáusicas (edad media, 62 años) que recibieron una dosis diaria de GOS o bien el tratamiento de referencia, en el desayuno y la comida. El cumplimiento de la administración del GOS se comprobó mediante el incremento gradual de su dosis diaria desde 10 g los días 1-2 hasta 15 g los días 3-4, seguido de 20 g al día durante los días 5 a 9 del tratamiento. El GOS incrementó la absorción real de calcio desde el $20,6 \pm 7,0\%$ durante el tratamiento de referencia hasta el $23,9 \pm 6,9\%$ (media $\pm$ DE) durante el tratamiento con GOS⁵⁹. Tanto la lactulosa como el GOS aumentaron la absorción de calcio sin dar lugar simultáneamente a un incremento en la excreción urinaria de calcio. Por tanto, se sugirió que estos compuestos prebióticos pueden haber incrementado la captación de calcio por el hueso o bien pueden haber inhibido la resorción ósea^{58,59}, efectos ya comprobados en los estudios efectuados sobre ratas ovariectomizadas⁵⁴⁻⁵⁷.

En un estudio sobre mujeres posmenopáusicas se evaluaron los efectos del FOS sobre los marcadores del metabolismo óseo. En este estudio se analizaron los efectos del FOS sobre la absorción del magnesio en 11 mujeres posmenopáusicas (edad media, 59 años de edad). Las participantes recibieron 5 g de FOS o de la sustancia de referencia en la comida durante los primeros 4 días del estudio, seguido del consumo de 10 g al día (5 g en la comida y 5 g en la cena) durante el resto del período de tratamiento, con objeto de que el cumplimiento de la medicación fuera óptimo. El estudio tuvo un diseño transversal con asignación aleatoria y control doble ciego, y los períodos de tratamiento tuvieron una duración de 5 semanas cada uno, separados por un período de eliminación de la medicación de al menos 3 semanas. Las participantes tomaron un isótopo estable del magnesio junto con un marcador fecal en la comida del día 28, y se determinó la absorción de magnesio mediante la monitorización del isótopo marcado en las heces, en el plasma y en la orina. La adición de FOS aumentó la absorción intestinal de magnesio desde $30,2 \pm 5,0$ hasta $33,9 \pm 7,2\%$ (media $\pm$ DE). Este incremento se acompañó de un aumento en la concentración plasmática del isótopo del magnesio y de una mayor retención y excreción del isótopo de magnesio en la orina. Los marcadores de la formación y resorción del hueso no presentaron modificaciones por el FOS⁶⁰, lo que posiblemente fue debido al escaso número de participantes ($n = 11$) o al incremento relativamente bajo en la absorción del magnesio (del 12%). Además, la ausencia de un efecto sobre los parámetros óseos se puede explicar por la gran variabilidad en la edad de las participantes (de 50 a 70 años de edad) y, en consecuencia, en sus características posmenopáusicas. Dada la gran variabilidad individual en la respuesta del esqueleto frente a la menopausia⁶¹, y teniendo en cuenta que la pérdida de masa ósea está muy relacionada con la edad⁶², sería más adecuado realizar estudios con mujeres posmenopáusicas que presentasen poca variación en su edad de posmenopausia con objeto de minimizar la variación en los parámetros del metabolismo óseo.

Se puede concluir que los compuestos prebióticos son capaces de incrementar la absorción de calcio y magnesio en las mujeres posmenopáusicas. Este efecto puede ser prometedor en lo que se refiere a la prevención de la osteoporosis, dado que la deficiencia de calcio y magnesio es un factor reconocido de riesgo para la osteoporosis posmenopáusica. Aunque este efecto beneficioso de los compuestos prebióticos en el estado de salud del hueso durante la menopausia ha sido observado en ratas ovariectomizadas⁵⁴⁻⁵⁷, hasta el momento no se ha confirmado en estudios efectuados sobre mujeres y, por tanto, son necesarios estudios para conocer sus efectos a largo plazo.

Otras situaciones con requerimientos altos

Además del crecimiento y de la posmenopausia, las situaciones de deficiencia representan otro estado en el que existe un aumento en los requerimientos de minerales y

de oligoelementos. Además, los compuestos prebióticos también pueden ser útiles tras la gastrectomía, el tratamiento quirúrgico de las úlceras pépticas y el cáncer gástrico. Debido a que se considera que el ácido gástrico facilita la absorción, tras la gastrectomía es frecuente la observación de malabsorción de minerales y de oligoelementos, lo que puede contribuir a la aparición de complicaciones como la anemia posgastrectomía⁶³ y la osteopenia⁶⁴. En varios experimentos efectuados en ratas se ha investigado si los compuestos prebióticos pueden incrementar la biodisponibilidad de los minerales y de los oligoelementos en las situaciones de deficiencia o tras la gastrectomía.

Hierro

Es posible que sea necesario un estado de requerimientos muy elevados de hierro para poder detectar los efectos del aumento de su absorción sobre la biodisponibilidad del hierro, dado que la homeostasis del este mineral está regulada principalmente a través de su absorción⁶⁵. En las ratas con anemia ferropénica, la administración de un 5% de FOS ha mejorado la recuperación de la anemia y ha dado lugar a un incremento en la absorción de hierro, calcio y magnesio, con independencia del valor de hierro en la dieta⁶⁶. Además, tras la administración de una alimentación con un 7,5% de FOS fue posible prevenir la aparición de la anemia posgastrectomía⁶⁷⁻⁶⁹. Este efecto fue confirmado en otro estudio sobre ratas gastrectomizadas, en el que la administración de una alimentación con un 7,5% de FOS también incrementó la absorción de hierro en ratas que tomaban una dieta con hierro de origen no hemo. En ratas alimentadas con dietas con hemo, el aumento en la absorción de hierro fue sólo de grado leve y no significativo, aunque el FOS aumentó los valores del hematocrito, las concentraciones de hemoglobina y la eficiencia de regeneración de la hemoglobina (ERH) en estas ratas⁷⁰. Al contrario de lo observado con el FOS, la administración de una dieta con un 7,5% de inulina no dio lugar a la recuperación de la anemia posgastrectomía en ratas gastrectomizadas⁶².

Magnesio

La importancia del control de la homeostasis en la absorción del magnesio es menos evidente. Al igual que con el hierro, es factible que los posibles efectos de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad del magnesio se puedan detectar más fácilmente en condiciones de aumento de los requerimientos. Se ha observado que las dietas con un 1 o un 5% de FOS aumentan la absorción aparente de magnesio en ratas con deficiencia de magnesio. Además, el FOS también disminuyó la inflamación en esas ratas, así como la hiperemia periférica y la hemorragia⁷¹. En otro estudio efectuado sobre ratas con deficiencia de magnesio se observó que el consumo de una dieta con un 5% de GOS dio lugar no sólo a un incremento en la absorción de magnesio, sino también a un aumento en las concentraciones de magnesio en el suero y el fé-

mur, y a una disminución en la acumulación de calcio en los riñones y el corazón⁷². Además, la administración de una dieta con un 10% de FOS incrementó la absorción de magnesio en ratas gastrectomizadas⁷³.

Calcio

Se sabe que la absorción de calcio está regulada de manera muy estrecha por controles homeostáticos. Por tanto, el posible efecto de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad del calcio posiblemente se pueda observar mejor en condiciones de aumento en los requerimientos de calcio. Ohta et al^{64,73} observaron que la administración de dietas con un 10 y un 7,5% de FOS aumentaba la absorción de calcio en ratas gastrectomizadas. Estos elementos fueron mayores que los observados en estudios efectuados sobre ratas normales, lo que posiblemente estuvo en relación con el valor de la proteína de unión al calcio calbindina en el colon⁷³; el FOS aumentó de manera más efectiva este valor en las ratas gastrectomizadas⁷³ que en las ratas normales^{14,75}. Además, la administración de una dieta con un 7,5% de FOS impidió de manera completa la aparición de osteopenia posgastrectomía^{67,74}. Existe un estudio que se realizó en ratas con deficiencia parcial de calcio y en el que se demostró que los oligómeros basados en isomaltulosa aumentaron los valores de calcio, magnesio y fósforo en la tibia, al tiempo que disminuyeron el contenido de hierro⁷⁶.

Conclusiones

Se puede concluir señalando que los compuestos prebióticos son agentes prometedores para incrementar la biodisponibilidad del hierro, el magnesio y el calcio en condiciones de aumento en los requerimientos, como las situaciones de deficiencia y los estados posgastrectomía, en la rata. Parece que la fermentación de los compuestos prebióticos en el colon y la consiguiente disminución del pH son suficientes para compensar la ausencia de secreción de ácido gástrico tras la gastrectomía. En algunos estudios efectuados en personas se han observado efectos positivos de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad del calcio y del magnesio en situaciones de aumento de los requerimientos, como ocurre en la adolescencia y la posmenopausia, aunque no existen datos de este tipo respecto al hierro. Se han efectuado dos estudios sobre varones jóvenes y sanos en los que no se han observado efectos sobre la absorción del hierro tras la administración de hasta 40 g de inulina al día⁶⁷ o el consumo diario de 15 g de inulina, FOS o GOS⁷⁸. Debido a que se supone que los varones jóvenes y sanos suelen presentar valores adecuados de hierro y requerimientos bajos de este mineral, ésta podría ser una posible explicación para la ausencia del efecto. Son necesarios estudios sobre personas con requerimientos elevados de hierro, como los lactantes prematuros, los adolescentes, las mujeres con anemia hemolítica, los pacientes gastrectomizados y los pacientes con anemia ferropénica, debido a que la biodisponibilidad del hierro en estos grupos podría estar influi-

da de manera positiva por el consumo de compuestos prebióticos. En lo que se refiere al calcio y al magnesio, también son necesarios estudios adicionales sobre pacientes con situaciones específicas de aumento de los requerimientos.

EFFECTO DEL DISEÑO DEL ESTUDIO

Consumo habitual de calcio

En un estudio efectuado sobre los efectos de los compuestos prebióticos en la absorción de calcio se ha observado que en estos efectos puede ser importante el consumo habitual de calcio de los sujetos enrolados. Van den Heuvel et al⁵² estudiaron los efectos del FOS sobre la absorción de calcio en adolescentes de sexo femenino con un consumo habitual extremadamente bajo de calcio (316-858 mg/día) y, en consecuencia, con una absorción basal intensa de calcio (alrededor del 46,5%), con objeto de prevenir, al menos en parte, que el incremento en la absorción de calcio inducido por el FOS pudiera disminuir en respuesta a los controles homeostáticos. Además, se supuso que estas participantes podían presentar un mayor efecto por el FOS sobre la absorción de calcio que las adolescentes con un consumo habitual mayor de calcio. Por desgracia, el consumo de calcio fue posiblemente demasiado bajo como para que se pudiera demostrar un efecto del FOS sobre la absorción de calcio. Debido a los mecanismos homeostáticos, se sugirió que la eficiencia en la absorción de calcio podría ya haber sido máxima en respuesta al bajo consumo y que, en consecuencia, el FOS podría no haber añadido ningún efecto. Chonan y Watanuki²⁰ señalaron que el contenido colónico de calcio era importante para la absorción de calcio en el colon. En el estudio que efectuaron sobre ratas, estos autores no pudieron demostrar ningún efecto del GOS sobre la absorción de calcio en ratas alimentadas con una dieta con contenido bajo en calcio (0,05%), mientras que se observaron efectos positivos en las ratas que tomaban una dieta con cantidades normales de calcio (0,5%). Posiblemente, al colon de las ratas alimentadas con la dieta con contenido bajo el calcio llegó una cantidad muy escasa de calcio, lo que también podría ser una explicación para la ausencia de un efecto sobre la absorción de calcio en el estudio de Van den Heuvel et al⁵². Además, la dosis de FOS (10 g/día los días 1-9, seguido de un promedio de 7 g/día los días 10-37) utilizada en este estudio puede haber sido demasiado baja como para incrementar la absorción de calcio.

La hipótesis de que es más fácil detectar los efectos sobre la absorción de calcio mientras se consume una dieta con cantidades moderadas o elevadas de calcio que mientras se consume una dieta con contenido bajo en calcio está apoyada por los resultados obtenidos en algunos experimentos con ratas, en los que se compararon diferentes valores de consumo de calcio^{20,56,57,75,79,80}. Griffin et al⁵¹ estudiaron a personas con características comparables a las estudiadas por Van den Heuvel et al⁵², pero estas personas consumieron una dieta con cantidades suficientes o

altas de calcio (± 1.500 mg/día) durante el estudio. Sin embargo, estos autores no observaron un efecto del FOS sobre la absorción de calcio lo que, al igual que pudo ocurrir en el estudio de Van den Heuvel et al⁵², también pudo ser debido a que la dosis de FOS administrada fue relativamente baja (8 g/día).

Compuestos prebióticos e isótopos en comidas de prueba

Brommage et al⁷⁹ compararon los resultados de los experimentos efectuados en ratas en los que los animales fueron alimentados con lactulosa antes, después o simultáneamente a una comida de prueba que contenía el isótopo de calcio. Se demostró que la lactulosa tenía que estar presente en la misma comida que el isótopo de calcio para que fuera posible observar un efecto de estimulación sobre la absorción del calcio; el efecto de estimulación desapareció cuando las ratas tomaron lactulosa de manera continua durante 2 o 7 días antes de la comida de prueba, o cuando sólo la tomaron el primero o el segundo día después de la misma. Por tanto, es interesante determinar si también puede ser importante en el ser humano el hecho de que el sustrato prebiótico y el isótopo de calcio deban estar presentes en la comida de prueba para poder observar efectos sobre la absorción de calcio. No obstante, esto es lo que ha ocurrido en todos los estudios sobre personas en los que se han utilizado isótopos estables del calcio, de manera que no es posible extraer conclusiones acerca de ello.

En la comparación de dos estudios efectuados con un diseño similar, y ambos sobre mujeres posmenopáusicas, se puede extraer una conclusión preliminar. En el primer estudio se evaluó el efecto del consumo diario de 10 g de lactulosa tomada en una sola dosis con el desayuno⁵⁸. En el otro estudio, las participantes tomaron hasta 20 g de GOS al día entre el desayuno y la comida⁵⁹. Para la determinación de la absorción de calcio se administraron isótopos con el desayuno. Un dato interesante es que, en ambos estudios, el incremento relativo en la absorción real de calcio fue del 16%, lo que implica que la administración de 10 g de GOS durante la comida, aproximadamente 4 h después de un desayuno en el que se administró el isótopo estable del calcio, no contribuyó a la potenciación de la absorción de calcio, asumiendo que los efectos de la lactulosa y del GOS sobre la absorción de calcio fueron similares. No obstante, son necesarios nuevos estudios a este respecto.

Relación dosis-efecto

Existen pruebas convincentes obtenidas en experimentos realizados en ratas de que los compuestos prebióticos pueden incrementar la biodisponibilidad de los minerales y los oligoelementos a través de un efecto dependiente de la dosis. Se observaron relaciones dosis-efecto respecto a la absorción del calcio tras la administración de una co-

mida con 0-10% de lactulosa durante una noche⁷⁹ y tras 10 días de tratamiento con alimentación con 5 o 10% de FOS¹⁴. La absorción de calcio y de magnesio aumentó con una curva dependiente de la dosis casi lineal al cabo de 3 semanas del consumo de una dieta con un 5, 10 o 20% de inulina⁸¹ y al cabo de un período de 2 semanas de consumo de una dieta con 5 o 10% de FOS con diferentes longitudes en la cadena del azúcar⁸². En ratas ovariectomizadas se ha observado una tendencia positiva hacia la relación lineal entre la dosis de FOS (0, 2,5, 5 o 10%) durante 8 semanas y la mineralización ósea⁵⁷, mientras que no se ha observado esta tendencia con respecto a la superficie del hueso trabecular⁵⁶. Las relaciones dosis-efecto en el ser humano sólo han sido estudiadas con respecto a la lactulosa: en mujeres posmenopáusicas se ha observado una relación lineal entre la dosis de lactulosa (0,5 o 10 g al día, durante 9 días) y su efecto estimulador sobre la absorción de calcio⁵⁹.

Es aparente el hecho de que existe una relación entre la dosis del compuesto prebiótico y la biodisponibilidad de los minerales, pero todavía no se ha establecido cuál es la dosis efectiva mínima del compuesto prebiótico.

Metodología

La técnica del isótopo dual estable es un método muy preciso y fiable para determinar la absorción real de calcio en el intestino^{83,84} y se ha utilizado en la mayor parte de los estudios sobre personas en las que se han evaluado los efectos de los compuestos prebióticos sobre la absorción de calcio. Sin embargo, no se ha determinado cuál debe ser la duración de la recogida de orina necesaria para este método. Se ha sugerido el uso de la orina de > 24 h para poder detectar los efectos sobre la fracción de calcio absorbible en el colon⁷⁸, que se supone está influida por los compuestos prebióticos. En varones jóvenes y sanos no se ha observado ningún efecto sobre la absorción de calcio por la administración de distintos OND, tras el cálculo de la absorción a partir de los cocientes de isótopos en la orina de 24 h⁷⁸. Sin embargo, en algunos estudios en los que se ha utilizado la orina de ≥ 46 h no se han detectado efectos positivos sobre la absorción de calcio^{51,52}, mientras que en otros estudios en los que se ha utilizado la orina de ≥ 36 h sí se han observado efectos positivos^{50,51,58,59}. Debido a que las diferencias existentes entre estos estudios no fueron sólo las relativas al tiempo de recogida de la orina, sino también a otros muchos aspectos, es imposible concluir a partir de sus resultados cuál puede ser la duración más apropiada para la recogida de la orina.

En el estudio de Van den Heuvel et al se pueden extraer conclusiones más concretas⁸⁵. Estos autores investigaron la absorción de calcio influida por la lactulosa y calcularon que el 98% de la absorción total de calcio quedaba completado durante las primeras 24 h, según el análisis de la orina de 60 h. Además, Barclay et al⁸⁶ utilizaron las técnicas del isótopo doble estable para evaluar los efectos del consumo de 8 g de FOS o de inulina al día durante un

período de 3 semanas sobre la absorción del calcio en 20 varones sanos (25 a 45 años de edad). No se observó ningún efecto sobre la absorción de calcio, pero se demostró que ésta se completaba durante las primeras 24 h; la absorción fraccional del calcio no fue diferente en las orinas de 0-24 y de 24-36 h. A partir de los resultados obtenidos en estos estudios se puede concluir que la ampliación de la recogida de orina hasta 36 h no afectó a la absorción de calcio inducida por los compuestos prebióticos, lo que es congruente con la concepción original de que la orina de 24 h podría ser suficientes para determinar la absorción de calcio^{83,84}. Sin embargo, el uso de compuestos prebióticos que son fermentados a una velocidad más lenta en en colon podría hacer que la absorción de calcio tuviera lugar más tarde, lo que requeriría la recogida de orina durante un período de tiempo mayor⁸⁵.

POSIBLES MECANISMOS

Tipo de compuesto prebiótico

Sólo se han efectuado algunos estudios para comparar los diferentes compuestos prebióticos con el mismo diseño de estudio, y en la mayor parte de ellos no se han observado diferencias entre los sustratos investigados^{78,82,86}. Sakai et al⁶⁹ observaron que el efecto del FOS era más intenso que el de la inulina, y en otro estudio se demostró que la mezcla de FOS y de inulina era más efectiva que la administración aislada de FOS⁵¹. A partir de estos estudios no se ha podido extraer conclusiones concretas, pero el estudio de los mecanismos subyacentes a los efectos de los compuestos prebióticos puede ser útil para aclarar la influencia del tipo de estructura del compuesto prebiótico sobre la biodisponibilidad de minerales y de oligoelementos.

Localización de los efectos de los compuestos prebióticos

La fermentación cecal ha sido estudiada de manera detallada para poder determinar el papel que desempeña el ciego en los efectos de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad de minerales y de oligoelementos. En varios estudios efectuados sobre rata se ha observado un aumento muy importante en la concentración cecal de calcio tras el consumo de compuestos prebióticos^{80,81,87,88}. Se han observado efectos similares respecto al fosfato^{80,81,87} y el magnesio^{81,88}, mientras que Demigné et al⁸⁷ no observaron ningún efecto sobre la concentración cecal de magnesio tras la administración de una dieta con un 10% de lactulosa. En los estudios en los que también se ha evaluado la absorción se ha demostrado que el incremento en la concentración cecal del mineral se acompaña de un aumento en la absorción cecal del mismo^{80,81,88}. Chonan y Watanuki¹⁵ efectuaron la ligadura del ciego en ratas de 4 semanas de edad y determinaron la absorción de calcio en el ciego tras la inyección de GOS en la luz cecal. Cuatro horas después de la inyección se detectó un

aumento en la concentración de calcio en la vena cecal. También aumentó el contenido de calcio de la fase líquida de la luz cecal, así como el peso de la propia fase líquida. Estos resultados sugieren que la estimulación de la absorción de calcio por el GOS tuvo lugar en el ciego, aunque la intensidad de la absorción de calcio en el ciego debido al GOS no pudo ser determinada en términos de absorción global. Estos experimentos efectuados en ratas indican que el ciego desempeña un papel importante en el incremento que los compuestos prebióticos inducen en la biodisponibilidad de los minerales.

En otros estudios se han comparado las diferentes formas de administración de los minerales. El consumo de una dieta con un 5% de FOS incrementó la cantidad de magnesio absorbida tanto en ratas alimentadas con magnesio por vía oral como en ratas en las que el magnesio se administró mediante infusión en el ciego. La intensidad del incremento en la absorción de magnesio fue la misma en ambas situaciones⁸⁹. Este dato fue confirmado respecto al magnesio en un estudio realizado en ratas en las que el calcio y el magnesio fueron introducidos directamente en el estómago o en el ciego. Sin embargo, la administración de una dieta con un 5% de FOS sólo estimuló la absorción de calcio cuando los minerales fueron introducidos en el estómago⁹⁰. En estos estudios se demostró que el ciego tiene menos importancia respecto al efecto de los compuestos prebióticos sobre la absorción de calcio que sobre la absorción de magnesio, pero no se pudo alcanzar conclusiones definitivas respecto a si el efecto estimulador de los compuestos prebióticos tuvo lugar en el ciego o en otras partes del colon.

En relación con los estudios mencionados de «infusión», se ha analizado el efecto de la estimulación de la absorción de minerales inducida por los compuestos prebióticos en ratas con extirpación del ciego. La administración de una alimentación con un 5% de FOS no incrementó la absorción de calcio en ratas con extirpación del ciego, mientras que la absorción de calcio sí aumentó en ratas intervenidas de manera simulada, lo que sugiere que el efecto estimulador del FOS sobre la absorción del calcio tuvo lugar principalmente en el ciego en este estudio. La absorción de magnesio aumentó tanto en las ratas intervenidas de manera simulada como en las que fueron intervenidas mediante extirpación del ciego, lo que indica que el ciego tuvo menos importancia respecto a este efecto⁹¹. No obstante, Brommage et al⁷⁹ observaron que la estimulación de la absorción de calcio por parte de la lactulosa no estaba influida por la extirpación del ciego, y sugirieron que el efecto había tenido lugar en el intestino delgado.

Según los resultados de todos estos estudios, se puede resumir que en cuatro de ellos^{81,88,89,90} se sugirió que el ciego tuvo importancia en el efecto estimulador de los compuestos prebióticos sobre la absorción del magnesio, mientras que en otros dos estudios^{87,91} no se confirmó este efecto. Con respecto a los efectos de los compuestos prebióticos sobre la absorción del calcio, en seis estudios^{15,80,81,87,88,91} se observó que el proceso de fermentación cecal desempeña un papel importante, mientras que en otros dos estudios^{79,90} no se observó este efecto. En lo

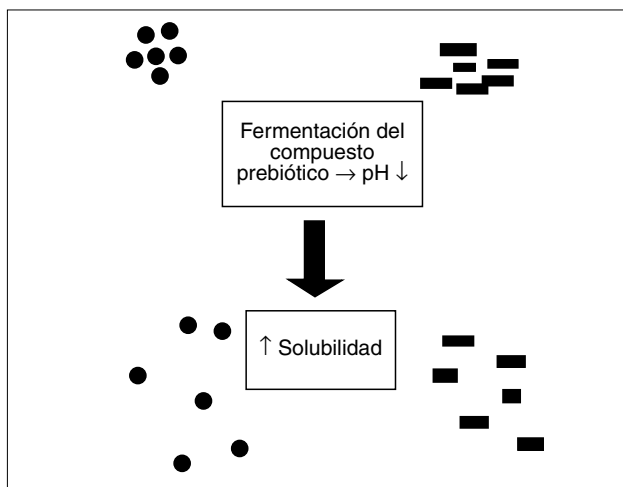


Fig. 1. Estimulación del transporte paracelular debido al incremento en la solubilidad de los minerales en la luz del colon.

que se refiere a otros elementos, sólo ha sido estudiado el hierro. Sakai et al⁶⁸ observaron que la efectividad del FOS en la prevención de la anemia posgastrectomía disminuyó por la extirpación del ciego, y estos autores sugirieron que el efecto del FOS en el incremento de la absorción de hierro en las ratas gastrectomizadas tuvo lugar en parte en el ciego. Esta posibilidad debe ser estudiada de manera más detallada.

Los datos obtenidos en experimentos efectuados sobre ratas no son extrapolables directamente a las personas debido a que el ciego está menos desarrollado en el ser humano. Sin embargo, es muy complicado investigar el patrón de fermentación colónica en el ser humano *in vivo* y, por tanto, sólo existe información indirecta acerca de ello. Ellegard et al⁹² estudiaron a 8 pacientes con ileostomía en un estudio transversal con control doble ciego, y demostraron que el consumo diario de 17 g de inulina, FOS o sucrosa durante tres períodos experimentales de tres días de duración cada uno de ellos no influyó en la absorción de calcio, magnesio, hierro o cinc, según la determinación de estos elementos en la excreción a partir de la ileostomía. Este resultado sugiere que el efecto estimulador de los compuestos prebióticos se originó principalmente en el colon, lo que es congruente con los resultados obtenidos en los experimentos con ratas.

pH y solubilidad

Uno de los mecanismos que se han propuesto para explicar el efecto estimulador de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad de los minerales es la facilitación del transporte pasivo debido al incremento en la concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en el contenido colónico, lo que da lugar a una disminución del pH y, en consecuencia, a un aumento en la fracción soluble e ionizada de los minerales en el colon (fig. 1). Se ha supuesto que este efecto facilita una tasa mayor de difusión a través de vías paracelulares en la parte distal del

intestino delgado y en la parte inicial del colon. En varios estudios efectuados en rata, la disminución del pH inducida por los compuestos prebióticos se acompañó de un incremento en la fracción soluble de los minerales, de la absorción de estos minerales o de ambos^{13,15,20,72,80,87,88,89,91}.

Es posible que al menos parte de los efectos positivos de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad de los minerales tenga lugar a través de este mecanismo, lo que parece ser cierto con respecto al calcio, al magnesio y al fósforo. No se ha demostrado que también se pueda aplicar al hierro. Se han observado concentraciones aumentadas de hierro en la fase líquida del contenido fecal de ratas con deficiencia de hierro⁶⁶ y gastrectomizadas⁶⁸ alimentadas con FOS, lo que posiblemente sea debido a la disminución del pH observada en estos estudios.

Efecto osmótico

El efecto estimulador de los compuestos prebióticos sobre el transporte pasivo de los minerales también se puede explicar por el efecto osmótico de estos compuestos, que hace que exista una mayor fluidez en el control de manera que los minerales se puedan disolver y que, por tanto, puedan alcanzar el colon cantidades mayores de los mismos. Este hecho ha sido apoyado por la observación efectuada en ratas de que los hidratos de carbono fermentables estimulan la solubilidad o la absorción del calcio y el magnesio, así como el incremento del flujo sanguíneo fecal^{87,88}. Sin embargo, Ohta et al⁸² observaron que los FOS de diferentes longitudes de cadena (con un grado de polimerización [GP] de 3 a 5) presentaron una efectividad similar para incrementar la absorción de calcio y magnesio en ratas de 5 semanas de edad. Dado que los pesos moleculares de las estructuras estudiadas fueron diferentes, se sugirió que el efecto osmótico de los hidratos de carbono no digeribles no fue la razón principal para explicar su efecto de estimulación sobre la absorción de minerales. Al contrario de lo observado en este estudio, Sakai et al⁶⁹ demostraron que la diferencia en la longitud de la cadena influía en los resultados de la biodisponibilidad del hierro; la mezcla de FOS con grado elevado de capacidad de fermentación (GP ≤ 4) fue más efectiva que la inulina de fermentación más lenta (GP = 10). Por tanto, se ha supuesto que las estructuras con gran capacidad de fermentación ejercen un efecto más pronunciado sobre la osmolaridad del contenido intestinal, en comparación con las estructuras cuya fermentación es más lenta. La explicación del efecto de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad de los minerales y de los oligoelementos a través del efecto osmótico parece ser un mecanismo muy posible, al menos en lo que se refiere a las estructuras de fermentación rápida.

Intercambio de protones

Los AGCC influyen posiblemente de manera directa en la absorción activa del calcio y del magnesio a través del in-

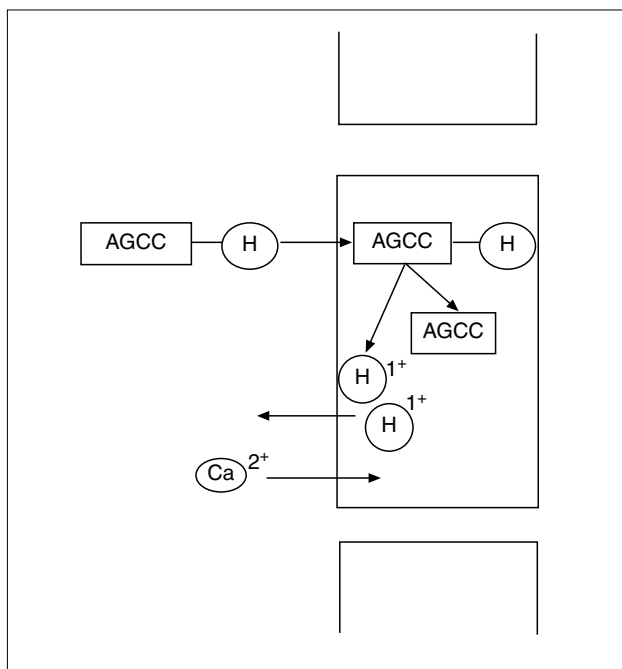


Fig. 2. Estimulación del transporte activo mediante el intercambio de protones en la membrana apical del colon distal.

tercambio del H^+ intracelular por Ca^{2+} o por Mg^{2+} debido a la presencia del intercambiador $Ca/Mg-H$ en la membrana apical del colon distal (fig. 2)⁹³⁻⁹⁶. Además, el efecto de cada AGCC parece depender de su liposolubilidad; cuanto mayor es la liposolubilidad del AGCC, con mayor rapidez difunde en la célula colónica y aporta iones hidrógeno intracelulares para el intercambio con calcio o magnesio, en comparación con los AGCC menos liposolubles. Por tanto, la absorción parece estar relacionada con la longitud de la cadena, es decir, butirato > propionato > acetato⁹⁶.

No obstante, el argumento de que el «mecanismo de intercambio de protones» podría explicar los efectos de estimulación de los compuestos prebióticos sobre la biodisponibilidad del calcio, el magnesio y –posiblemente– otros minerales y oligoelementos está en discusión, sobre todo cuando se tiene en cuenta que los compuestos prebióticos disponibles en la actualidad son fermentados principalmente en la parte proximal del colon^{97,98}, mientras que este mecanismo parece estar localizado en la parte distal del colon. Además, no es probable que los AGCC que son producidos en la parte proximal del colon puedan alcanzar la parte distal del mismo en donde pueden contribuir al mecanismo de intercambio $Ca/Mg-H$, debido a que los AGCC son metabolizados o absorbidos rápidamente en el interior del colon.

Recientemente, se ha prestado atención a los efectos de las combinaciones de los compuestos prebióticos sobre la absorción del calcio. En la rata, la combinación de inulina y de almidón resistente ha sido más efectiva para incrementar la absorción intestinal de calcio que cualquiera de estos hidratos de carbono administrados de manera aislada⁸⁸. Además, Griffin et al⁵¹ demostraron que una mezcla

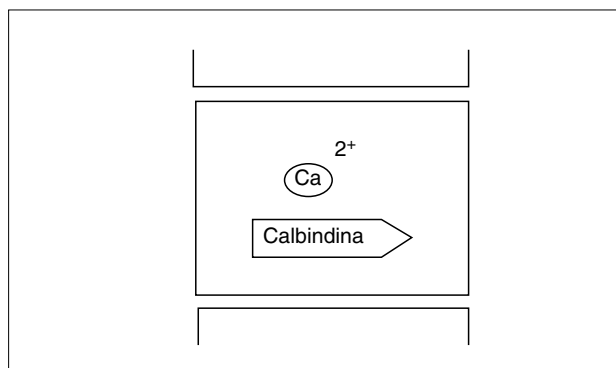


Fig. 3. Estimulación del transporte activo de calcio debido a un incremento en la concentración de calbindina.

de inulina + FOS incrementaba la absorción de calcio en las adolescentes, mientras que el consumo de FOS no dio lugar a ningún efecto en su estudio. Los resultados de estos estudios indican que las mezclas de compuestos prebióticos, por ejemplo la combinación de una forma de cadena larga con una forma de cadena corta, puede presentar un efecto sinérgico de estimulación sobre la absorción del calcio y, posiblemente, también sobre otros minerales y oligoelementos. Al contrario de lo que ocurre con los compuestos prebióticos disponibles en la actualidad, estas mezclas pueden presentar una fermentación más lenta en el colon y pueden influir en el «mecanismo de intercambio protónico» existente en la parte distal del colon.

Otra forma con la que los AGCC pueden influir de manera directa en la biodisponibilidad de los minerales está mediada posiblemente por su capacidad para formar complejos; la absorción intestinal de calcio puede ser estimulada por los AGCC debido a su potencial para formar un complejo de carga menor con este mineral⁹⁹, que puede atravesar la membrana celular con mayor facilidad que el Ca^{2+} . Sin embargo, son necesarios más estudios para comprobarlo.

Calbindina

Con respecto al calcio, se supone que el valor de la proteína de unión al calcio (CaBP) limita el transporte activo intestinal del calcio (fig. 3)¹⁰⁰. En estudios efectuados sobre ratas se ha demostrado que el FOS incrementa la absorción de calcio, lo que se ha acompañado de una disminución en el valor de calbindina en el intestino delgado y de un incremento de su concentración en el colon, tanto en el ciego como en el colon y recto, con un efecto global positivo^{14,63,75}.

El aumento en los valores de calbindina en los segmentos colónicos puede estar mediado por el butirato. Este AGCC ha dado lugar a un incremento en la concentración de CaBP en células de riñón de pollo en cultivo primario¹⁰¹. Aunque en ese estudio no se determinó la concentración de CaBP en el intestino, la actividad de receptor de la $1,25[OH]_2D_3$ también apareció aumentada, lo que es

importante debido a que es un factor clave en la regulación de la expresión de la CaBP en el intestino^{102,103}. Aunque la estimulación inducida por los compuestos prebióticos en el nivel de CaBP en el intestino puede desempeñar un papel en el efecto estimulador de estos compuestos sobre la biodisponibilidad de calcio a través de transporte activo, todavía no se ha demostrado cómo los compuestos prebióticos influyen en la extrusión de calcio dependiente del ATP desde la célula intestinal hacia el torrente sanguíneo.

Superficie de absorción

Se ha observado que el consumo de hidratos de carbono prebióticos da lugar a hipertrofia del ciego en la rata^{80,81,88}, lo que implica una mayor superficie para la absorción pasiva y activa. El efecto de los hidratos de carbono tiende a ser proporcional a su rapidez de fermentación, de manera que los hidratos de carbono de fermentación lenta tienen menos influencia sobre el tamaño del ciego que los hidratos de carbono de fermentación más rápida e intensa¹⁰⁴. Se considera que los AGCC desempeñan un papel en el efecto de los compuestos prebióticos sobre el aumento de tamaño del ciego, dado que se asocian a un incremento en la proliferación de células colónicas¹⁰⁵. En este sentido, el butirato parece tener una importancia especial¹⁰⁶ debido a que este AGCC constituye la fuente principal de energía para las células epiteliales colónicas y puede estimular su proliferación^{107,108}.

Efecto probiótico

Desde que se sabe que los compuestos prebióticos influyen en la composición y la actividad de la flora intestinal, ha sido interesante investigar si las bacterias intestinales pueden estimular de manera directa la biodisponibilidad de los minerales y de los oligoelementos. Chonan et al¹⁰⁹ demostraron que el efecto estimulador de la alimentación con un 5% de GOS sobre la absorción de calcio y magnesio disminuía por la administración de sulfato de neomicina, un antibiótico que suprime la acción de la flora intestinal. Este resultado indica que la acción de las bacterias intestinales es necesaria para los efectos del GOS, lo que hace muy interesante la investigación de los efectos de los elementos probióticos sobre la biodisponibilidad de los minerales y los oligoelementos. Los elementos probióticos se pueden definir como «ingredientes alimenticios microbianos vivos que influyen de manera beneficiosa en el huésped al mejorar su equilibrio microbiano intestinal»^{110,111}. En los productos sintéticos se utilizan combinaciones de componentes pre y probióticos. En una patente registrada recientemente se describe el uso de los lactobacilos en la preparación de una fórmula nutricional enteral para facilitar o mejorar la absorción de los minerales presentes en la dieta diaria. Mediante el uso de líneas celulares caco-2 aisladas del colon, se ha demostrado que las diferentes cepas de lactobacilos pueden facili-

tar o mejorar la absorción de magnesio, hierro, cinc y —especialmente— calcio¹¹².

Los elementos probióticos pueden estar implicados en algunos de los mecanismos propuestos para explicar los efectos de los compuestos prebióticos. Además, el efecto de los elementos probióticos sobre la biodisponibilidad de los minerales y de los oligoelementos posiblemente está mediado por la producción de poliaminas. Estos metabolitos son generados por diversas cepas de microorganismos¹¹³ y pueden estimular el crecimiento celular, aumentar la superficie de reabsorción y dar lugar a un efecto metabólico. Por tanto, se ha considerado que pueden ser candidatos para la potenciación de la absorción de minerales. No obstante, debido a que las poliaminas exógenas no han dado lugar a un efecto protector en la prevención de la pérdida de masa ósea inducida por la ovariectomía o en la pérdida de mineral óseo en ratas ovariectomizadas, se ha señalado que el efecto del FOS para prevenir estos síntomas inducidos por la ovariectomía puede no estar mediado a través de las poliaminas. La ausencia de un efecto de las poliaminas exógenas ha sido posiblemente debida al hecho de que la producción de poliaminas endógenas fue compensada por las mismas¹⁰⁶. Además, las poliaminas administradas por vía oral atraviesan el estómago y el intestino delgado, a diferencia de lo ocurrido con las poliaminas sintetizadas de manera endógena. Por tanto, son necesarios nuevos estudios acerca del efecto que pueden desempeñar las poliaminas.

CONCLUSIONES

Existen pruebas convincentes del efecto positivo de los hidratos de carbono prebióticos, como la lactulosa, el FOS, el GOS y la inulina sobre la biodisponibilidad de los minerales y de los oligoelementos. La mayor parte de los estudios efectuados hasta el momento se han realizado en ratas y en el escaso número de estudios que se ha llevado a cabo sobre personas casi toda la información se ha obtenido a partir de grupos con requerimientos altos, como los adolescentes y las mujeres posmenopáusicas. Los resultados de estos estudios se han visto influidos por los efectos a largo plazo, por la dosis efectiva mínima de los compuestos prebióticos, por el consumo habitual de calcio por parte de los participantes, y por la presencia de compuestos prebióticos e isótopos en las comidas de prueba. Además, son necesarios nuevos estudios para comparar las diferentes estructuras prebióticas con el mismo diseño de estudio, con objeto de que sea posible seleccionar aquellos compuestos prebióticos que incrementan la biodisponibilidad de los minerales y de los oligoelementos.

Los mecanismos propuestos sugieren que los compuestos prebióticos de fermentación fácil y rápida que dan lugar a una reducción importante del pH, a un efecto osmótico pronunciado y a una amplia interacción con toda la superficie de absorción del colon pueden ser candidatos prometedores para incrementar la absorción de los minerales

y de los oligoelementos. Por otra parte, los compuestos prebióticos que son fermentados en zonas más distales del colon pueden tener el potencial de incrementar la absorción de calcio y de magnesio a través de un efecto directo inducido por los ácidos grasos de cadena corta sobre el mecanismo de intercambio protónico. Todo ello hace que tenga un interés especial el uso de mezclas de distintos compuestos prebióticos. Los elementos probióticos están implicados en la mayor parte de los mecanismos de los compuestos prebióticos, quizá en parte a través de la producción de poliaminas. Por tanto, son necesarios nuevos estudios de investigación sobre el uso combinado de compuestos prebióticos y elementos probióticos, debido a que puede existir un efecto positivo sinérgico respecto a la biodisponibilidad de los minerales y de los oligoelementos.

BIBLIOGRAFÍA

- Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995;125:1401-12.
- Roberfroid MB. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? *Am J Clin Nutr* 2001;73:S406-9.
- Blackwood AD, Salter J, Dettmar PW, Chaplin MF. Dietary fibre, physicochemical properties and their relationship to health. *J Roy Soc Promo Health* 2000;120:242-7.
- Cummings JH, Englyst HN. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. *Am J Clin Nutr* 1995;61:S938-45.
- Collins MD, Gibson GR. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999;69:S1052-7.
- Salminen S, Salminen E. Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection. *Scand J Gastroenterol* 1997;32 (Suppl 222):45-8.
- Fairweather-Tait SJ. Trace element bioavailability. En: Sandström B, Walter P, editors. Role of trace elements for health promotion and disease prevention. *Bibl Nutr Dieta*. Basel: Karger, 1998.
- Lönnerdal BO. Dietary factors affecting trace element bioavailability from human milk, cow's milk and infant formulas. *Prog Food Nutr Sci* 1985;9:35-62.
- Vanhoof K, De Schrijver R. Availability of minerals in rats and pigs fed non-purified diets containing inulin. *Nutr Res* 1996;16:1017-22.
- Delzenne N, Aertssens J, Verplaetse N, Roccaro M, Roberfroid M. Effect of fermentable fructo-oligosaccharides on energy and nutrients absorption in the rat. *Life Science* 1995;57:1579-87.
- Lopez HW, Coudray C, Levrat-Verny MA, Feillet-Coudray C, Demigné C, Rémésy C. Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. *J Nutr Biochem* 2000;11:500-8.
- Kashimura J, Kimura M, Itokawa Y. The effects of isomaltulose, isomalt, and isomaltulose-based oligomers on mineral absorption and retention. *Biol Trace Elem Res* 1996;54:239-50.
- Heijnen AMP, Brink EJ, Lemmens AG, Beynen AC. Ileal pH and apparent absorption of magnesium in rats fed on diets containing either lactose or lactulose. *Br J Nutr* 1993;70:747-56.
- Ohta A, Motohashi Y, Ohtsuki M, Hirayama M, Adachi T, Sakuma K. Dietary fructooligosaccharides change the concentration of calbindin-D9k differently in the mucosa of the small and large intestine of rats. *J Nutr* 1998;128:934-9.
- Chonan O, Watanuki M. Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1995;41:95-104.
- Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Adachi T, Sakata T, Sakaguchi E. Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides. *J Nutr* 1995;125:2417-24.
- Ohta A, Baba S, Ohtsuki M, Taguchi A, Adachi T. Prevention of coprophagy modifies magnesium absorption in rats fed with fructo-oligosaccharides. *Br J Nutr* 1996;75:775-84.
- Takahara S, Morohashi T, Sano T, Ohta A, Yamada S, Sasa R. Fructooligosaccharide consumption enhances femoral bone volume and mineral concentrations in rats. *J Nutr* 2000;130:1792-5.
- Morohashi T, Sano T, Ohta A, Yamada S. True calcium absorption in the intestine is enhanced by fructooligosaccharide feeding in rats. *J Nutr* 1998;128:1815-8.
- Chonan O, Watanuki M. The effect of 6'-galactooligosaccharides on bone mineralization of rats adapted to different levels of dietary calcium. *Int J Vit Nutr Res* 1996;66:244-9.
- Fomon SJ, Nelson SE, Ziegler EE. Retention of iron by infants. *Annu Rev Nutr* 2000;1:273-90.
- Herberg S, Preziosi P, Galan P. Iron deficiency in Europe. *Publ Health Nutr* 2001;4:537-45.
- Lönnerdal BO. Effects of milk and milk components on calcium, magnesium, and trace element absorption during infancy. *Physiol Rev* 1997;77:643-69.
- Krebs NF, Westcott J. Zinc and breastfed infants: if and when is there a risk of deficiency? En: MK Davis, LA Hanson, CE Isaacs, AL Wright, editors. Integrating Population Outcomes, Biological Mechanisms and Research Methods in the Study of Human Milk and Lactation. May 2002, ISBN 0-306-46736-4, Hardbound. Kluwer Academic/Plenum Publishers. Hardbound, May 2002, 346 pp.
- Hurtado EK, Claussen AH, Scott KG. Early childhood anemia and mild or moderate mental retardation. *Am J Clin Nutr* 1999;69:115-9.
- Caddell JL, Graziani LJ, Wiswell TE, Hsieh HC, Mansmann HC. The possible role of magnesium in protection of premature infants from neurological syndromes and visual impairments and a review of survival of magnesium-exposed premature infants. *Magnes Res* 1999;12:201-16.
- Lönnerdal BO. Magnesium nutrition of infants. *Magnes Res* 1995;8:99-105.
- Chierici R, Sawatki G, Tamisari L, Volpato S, Vigi V. Supplementation of an adapted formula with bovine lactoferrin. 2. Effects on serum iron, ferritin and zinc levels. *Acta Paediatr* 1992;81:475-9.
- Haschke F, Ziegler EE, Edwards BB, Fomon SJ. Effect of iron fortification of infant formula on trace mineral absorption. *J Pediatr Gastr Nutr* 1989;5:768-73.
- Sandström B. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *Br J Nutr* 2001;85:S181-5.
- Davidsson L, Cederblad Å, Lönnerdal BO, Sandström B. The effect of individual dietary components on manganese in humans. *Am J Clin Nutr* 1991;54:1065-70.
- Hallberg L, Rossander-Hultén L, Brune M, Gleerup A. Bioavailability in man of iron in human milk and cow's milk in relation to their calcium contents. *Pediatr Res* 1992;31:524-7.
- Wood RJ, Zheng JJ. High dietary calcium intakes reduce zinc absorption and balance in humans. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1803-9.
- Hurrell RF. Fortification: overcoming technical and practical barriers. *J Nutr* 2002;132:S806-12.
- Scientific Committee on Food. Additional statement on the use of resistant short chain carbohydrates (oligofructosyl-saccharose and oligogalactosyl-lactose) in infant formulae and in follow-on formulae, 2001.
- Kien CL, McClead RE, Cordero L. Effects of lactose intake on lactose digestion and colonic fermentation in preterm infants. *J Pediatr* 1998;133:401-5.
- Kien CL, McClead RE, Cordero L. *In vivo* lactose digestion in preterm infants. *Am J Clin Nutr* 1996;64:700-5.
- Stathos TH, Shulman RJ, Schanler RJ, Abrams SA. Effect of carbohydrates on calcium absorption in premature infants. *Pediatr Res* 1996;39:666-70.
- Wirth FH, Numerof B, Pleban P, Neylan MJ. Effect of lactose on mineral absorption in preterm infants. *J Pediatr* 1990;117:283-7.

40. Abrams SA, Griffin IJ, Davila PM. Calcium and zinc absorption from lactose-containing and lactose-free infant formulas. *Am J Clin Nutr* 2002;76:442-6.
41. Kobayashi A, Kawai S, Ohbe Y, Nagashima Y. Effects of dietary lactose and a lactase preparation on the intestinal absorption of calcium and magnesium in normal infants. *Am J Clin Nutr* 1975;28:681-3.
42. Moya M, Cortes E, Ballester MI, Vento M, Juste M. Short-term substitution for lactose reduced calcium absorption in healthy term babies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992;14:57-61.
43. Ziegler EE, Fomon SJ. Lactose enhances mineral absorption in infancy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:288-94.
44. Saarela T, Similä S, Koivisto M. Hypercalcemia and nephrocalcinosis in patients with congenital lactase deficiency. *J Pediatr* 1995;127:920-3.
45. Pansu D, Bellaton C, Bronner F. Effect of Ca intake on saturable and nonsaturable components of duodenal Ca transport. *Am J Physiol* 1981;240:G32-7.
46. Abrams SA, Copeland KC, Gunn SK, Gundberg CM, Oerter Klein K, Ellis KJ. Calcium absorption, bone mass accumulation, and kinetics increase during early pubertal development in girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1805-9.
47. Anderson JJB. Calcium requirements during adolescence to maximize bone health. *J Am Coll Nutr* 2001;20:S186-91.
48. Guéguen L, Pointillart A. The bioavailability of dietary calcium. *J Am Coll Nutr* 2000;19:S119-36.
49. Martini LA. Magnesium supplementation and bone turnover. *Nutr Rev* 1999;57:227-9.
50. Van den Heuvel EGHM, Muijs T, Van Dokkum W, Schaafsma G. Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *Am J Clin Nutr* 1999;69:544-8.
51. Griffin IJ, Davila PM, Abrams SA. Non-digestible oligosaccharides and calcium absorption in girls with adequate calcium intakes. *Br J Nutr* 2002;87:S187-91.
52. Van den Heuvel EGHM, Straatman MN, Muijs T, Brouns F, Hendriks HFJ. Effect of fructooligosaccharides on calcium and magnesium absorption in adolescent girls. Submitted.
53. Tranquilli AC, Lucino E, Garzetti GG, Romanini C. Calcium, phosphorus and magnesium intakes correlate with bone mineral content in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol* 1994;8:55-8.
54. Chonan O, Matsumoto K, Watanuki M. Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. *Biosci Biotech Biochem* 1995;59:236-9.
55. Ohta A, Uehara M, Sakai K, Takasaki M, Adlercreutz H, Morohashi T, et al. A combination of dietary fructooligosaccharides and isoflavone conjugates increases femoral bone mineral density and equol production in ovariectomized mice. *J Nutr* 2002;132:2048-54.
56. Scholz-Ahrens KE, Van Loo J, Schrezenmeir J. Long term effect of oligofructose on bone trabecular structure in ovariectomized rats. *Am J Clin Nutr* 2001;73:498S.
57. Scholz-Ahrens KE, Van Loo J, Schrezenmeir J. Effect of oligofructose on bone mineralization in ovariectomized rats is affected by dietary calcium. *Am J Clin Nutr* 2001;73:498S.
58. Van den Heuvel EGHM, Muijs T, Van Dokkum W, Schaafsma G. Lactulose stimulates calcium absorption in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1999;14:1211-6.
59. Van den Heuvel EGHM, Schoterman MHC, Muijs T. Transgalactooligosaccharides stimulate calcium absorption in postmenopausal women. *J Nutr* 2000;130:2938-42.
60. Tahiri M, Tressol JC, Arnaud J, Bornet F, Bouteloup-Demange C, Feillet-Coudray C, et al. Five-week intake of short-chain fructo-oligosaccharides increases intestinal absorption and status of magnesium in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001;16:2152-60.
61. Kleerekoper M. Biochemical markers of bone remodeling. *Am J Med Sci* 1996;312:270-7.
62. Tohmé JF, Seibel MJ, Silverberg SJ, Robins SP, Bilezikian JP. Biochemical markers of bone metabolism. *Z Rheumatol* 1991;50:133-41.
63. Abrams JF. The clinical and metabolic consequences of total gastrectomy. *Scand J Gastroenterol* 1968;3:145-51.
64. Bisballe S, Eriksen EF, Melsen F, Mosekilde L, Sørensen OH, Høssov I. Osteopenia and osteomalacia after gastrectomy: interrelations between biochemical markers of bone remodeling, vitamin D metabolites, and bone histomorphometry. *Gut* 1991;32:1303-7.
65. Rucker RB, Lönnerdal BO, Keen CL. Intestinal absorption of nutritionally important trace elements. En: Johnson LR, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 3th ed. New York: Raven Press, 1994.
66. Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Takizawa T, Adachi T, Kimura S. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient anemic rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1995;41:281-91.
67. Ohta A, Ohtsuki M, Uehara M, Hosono A, Hirayama M, Adachi T, et al. Dietary fructooligosaccharides prevent postgastrectomy anemia and osteopenia in rats. *J Nutr* 1998;128:485-90.
68. Sakai K, Ohta A, Shiga K, Takasaki M, Tokunaga T, Hara H. The cecum and dietary short-chain fructooligosaccharides are involved in preventing postgastrectomy anemia in rats. *J Nutr* 2000;130:1608-12.
69. Sakai K, Ohta A, Takasaki M, Tokunaga T. The effect of short chain fructooligosaccharides in promoting recovery from post-gastrectomy anemia is stronger than that of inulin. *Nutr Res* 2000;20:403-12.
70. Ohta A, Sakai K, Takasaki M, Uehara M, Tokunaga T, Adachi T. Dietary heme iron does not prevent postgastrectomy anemia but fructooligosaccharides improve bioavailability of heme iron in rats. *Internat J Vit Nutr Res* 1999;69:348-55.
71. Ohta A, Baba S, Takizawa T, Adachi T. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of magnesium in the magnesium-deficient rat model. *J Nutr Sci Vitaminol* 1994;40:171-80.
72. Chonan O, Takahashi R, Yasui H, Watanuki M. Effects of β 1 $\rightarrow$ 4 linked galactooligosaccharides on use of magnesium and calcification of the kidney and heart in rats fed excess dietary phosphorus and calcium. *Biosci Biotech Biochem* 1996;10: 1735-7.
73. Ohta A, Motohashi Y, Sakai M, Hirayama T, Adachi T, Sakuma K. Dietary fructooligosaccharides increase calcium absorption and levels of mucosal calbindin-D9k in the large intestine of gastrectomized rats. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33:1062-8.
74. Ohta A, Ohtsuki M, Hosono A, Adachi T, Hara H, Sakata T. Dietary fructooligosaccharides prevent osteopenia after gastrectomy in rats. *J Nutr* 1998;128:106-10.
75. Takasaki M, Inaba H, Ohta A, Motohashi Y, Sakai K, Morris H, et al. Dietary short-chain fructooligosaccharides increase calbindin-D9k levels only in the large intestine in rats independent of dietary calcium deficiency or serum 1,25 dihydroxy vitamin D levels. *Int J Vitam Nutr Res* 2000;70:206-13.
76. Kashimura J, Kimura M, Itokawa Y. The effects of isomaltulose-based oligomers and calcium deficiency on mineral retention in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1996;42:69-76.
77. Coudray C, Bellanger J, Castiglia-Delavaud C, Rémésy C, Vermorel M, Rayssiguier Y. Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:375-80.
78. Van den Heuvel EGHM, Schaafsma G, Muys T, Van Dokkum W. Nondigestible oligosaccharides do not interfere with calcium and nonheme-iron absorption in young, healthy men. *Am J Clin Nutr* 1998;67:445-51.
79. Brommage R, Binacua C, Antille S, Carrie, AL. Intestinal calcium absorption in rats is stimulated by dietary lactulose and other resistant sugars. *J Nutr* 1993;123:2186-94.
80. Rémésy C, Levrat MA, Gamet L, Demigné C. Cecal fermentations in rats fed oligosaccharides (inulin) are modulated by dietary calcium level. *Am J Physiol* 1993;264:G855-62.
81. Levrat MA, Rémésy C, Demigné C. High propionic acid fermentations and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin. *J Nutr* 1991;121:1730-7.
82. Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Hirayama M, Adachi T. Comparison of the nutritional effects of fructo-oligosaccharides of different sugar chain length in rats. *Nutr Res* 1998;18:109-20.
83. Griessen M, Jung A, Cochet B, Bartholdi P, Gaspoz JM, Infante F, et al. A simple method for measurement of intestinal calcium absorption in humans by double-isotope technique. *J Lab Clin Med* 1985;105:641-6.

84. Yergey AL, Abrams SA, Vieira NE, Aldroubi A, Marini J, Sidbury JB. Determination of fractional absorption of dietary calcium in humans. *J Nutr* 1994;124:674-82.
85. Van den Heuvel EGHM, Brink EJ, Muijs T. Dual stable isotope techniques to measure calcium absorption during treatment with lactulose: influence of duration of urine collection. Submitted.
86. Barclay D, Kastenmayer P, Couzy F, Mettraux Ch, Clough J, Vigo M, Rochat F. Effect of fructooligosaccharides on calcium absorption in healthy men. Abstract. Presented at: 4th International Symposium on Nutritional Aspects of Osteoporosis, Lausanne/Switzerland, May 17-20, 2000.
87. Démigné C, Levrat MA, Rémésy C. Effects of feeding fermentable carbohydrates on the cecal concentrations of minerals and their fluxes between the cecum and blood plasma in the rat. *J Nutr* 1989;119:1625-30.
88. Younes H, Coudray C, Bellanger J, Demigné C, Rayssiguier Y, Rémésy C. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. *Br J Nutr* 2001;86:479-85.
89. Baba S, Ohta A, Ohtsuki M, Takizawa T, Adachi T, Hara H. Fructooligosaccharides stimulate the absorption of magnesium from the hindgut in rats. *Nutr Res* 1996;16:657-66.
90. Ohta A, Baba S, Ohtsuki M, Takizawa T, Adachi T, Hara H. *In vivo* absorption of calcium carbonate and magnesium oxide from the large intestine in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1997;43:35-46.
91. Ohta A, Ohtsuki M, Takizawa T, Inaba H, Adachi T, Kimura S. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of magnesium and calcium by cecectomized rats. *Internat J Vit Nutr* 1994;64:316-23.
92. Ellegård L, Andersson H, Bosaeus I. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe, or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:1-5.
93. Lutz T, Scharrer E. Effect of short-chain fatty acids on calcium absorption by the rat colon. *Exp Physiol* 1991;76:615-8.
94. Scharrer E, Lutz T. Relationship between volatile fatty acids and magnesium absorption in mono- and polygastric species. *Magnes Res* 1992;5:53-60.
95. Schröder B, Vössing S, Breves G. *In vitro* studies on active calcium absorption from ovine rumen. *J Comp Physiol* 1999;169:487-94.
96. Trinidad TP, Wolever TMS, Thompson LU. Effect of acetate and propionate on calcium absorption from the rectum and distal colon of humans. *Am J Clin Nutr* 1996;63:574-8.
97. Houdijk JGM. Effects of non-digestible oligosaccharides in young pig diets. PhD-thesis. Wageningen: Wageningen Agricultural University, 1998.
98. Van Laere KMJ. Degradation of structurally different non-digestible oligosaccharides by intestinal bacteria: glycosylhydrolases of *Bi.adolescentis*. PhD-thesis. Wageningen: Wageningen Agricultural University, 2000.
99. Trinidad TP, Wolever TMS, Thompson LU. Interactive effects of calcium and short chain fatty acids on absorption in the distal colon of man. *Nutr Res* 1993;13:417-25.
100. Bronner F. Calcium absorption – a paradigm for mineral absorption. *J Nutr* 1998;128:917-20.
101. Anita CM, Anthony WN. Effects of sodium butyrate on 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor activity in primary chick kidney cells. *Mol Cell Endocrinol* 1992;84:99-107.
102. Bronner F, Pansu D. Nutritional aspects of calcium absorption. *J Nutr* 1999;129:9-12.
103. Civitelli R, Avioli LV. Calcium, phosphate, and magnesium absorption. En: Johnson LR, editor. *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3rd ed. New York: Raven Press, 1994.
104. Rémésy C, Behr SR, Levrat MA, Demigné C. Fiber fermentability in the rat cecum and its physiological consequences. *Nutr Res* 1992;12:1235-44.
105. Lupton JR, Kurtz PP. Relationship of colonic luminal short-chain fatty acids and pH to *in vivo* cell proliferation in rats. *J Nutr* 1993;123:1522-30.
106. Scholz-Ahrens KE, Schrezenmeir J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism experimental data and mechanism. *Br J Nutr* 2002;87:S179-86.
107. Scheppach W, Bartram P, Richter A, Richter F, Liepold H, Dusel G, et al. Effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa *in vitro*. *J Parenter Enter Nutr* 1992;16:43-8.
108. Scheppach W, Bartram HP, Richter F. Role of short-chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer. *Eur J Cancer* 1995;31A:1077-80.
109. Chonan O, Takahashi R, Watanuki M. Role of activity of gastrointestinal microflora in absorption of calcium and magnesium in rats fed β 1-4 linked galactooligosaccharides. *Biosci Biotech Biochem* 2001;65:1872-5.
110. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989;66:365-78.
111. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998;80:S147-71.
112. Brassart D, Vey E. Lactobacilli to increase absorption of minerals by intestinal cells. Patent EP 1 003 532 B1, 2001.
113. Noack J, Dongowski G, Hartmann L, Blaut M. The human gut bacteria *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Fusobacterium varium* produce putrescine and spermidine in cecum of pectin-fed gnotobiotic rats. *J Nutr* 2000;130:1225-31.