

Efecto de la suplementación con cobre sobre los valores de presión arterial en pacientes con hipertensión moderada estable

Alarcón OM, Guerrero Y, Ramírez de Fernández M, D'Jesús I, Burguera M, Burguera JL y Di Bernardo ML.

IVAIQUIM -Instituto Andino Venezolano para la Investigación Química. Facultad de Ciencias -Laboratorio de Bioquímica y Nutrición. Escuela de Nutrición y Dietética. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes. Venezuela.

RESUMEN. La carencia de cobre (Cu) se asocia con cambios en la presión arterial. El efecto depende de la edad de inicio de la dieta carente de Cu. Si la carencia del elemento traza se inicia en la edad juvenil determina hipotensión. Cuando ella se inicia en animales adultos causa hipertensión. Se realizó un estudio de tipo «caso-control» para investigar el efecto de administrar 5 mg de Cu/día en 60 pacientes con hipertensión moderada estable, sin tratamiento farmacológico (grupo tratado) y se comparó con 60 pacientes hipertensos no sometidos a tratamiento con Cu (grupo testigo), quienes fueron agrupados por género, edad, peso corporal, consumo de cigarrillos, ingesta de calorías, grasas y sal (NaCl) y actividad física. La hipertensión se diagnosticó por la presencia de cifras de tensión >150/95 mm Hg. La edad, el peso corporal y los factores de riesgo fueron similares en promedio en ambos grupos. Los resultados sugieren la existencia de una carencia marginal del elemento traza en el 62% de los sujetos y demuestran que el Cu disminuye las presiones sistólica ($r = -0.963$) y diastólica ($r = -0.981$) en el grupo tratado ($p < 0.05$). Los pacientes del grupo testigo no mostraron cambios significativos en sus tensiones arteriales. Estos hallazgos indican una alteración funcional en la regulación de la presión arterial en el humano durante la carencia moderada de cobre y sugieren que el Cu se puede emplear en el tratamiento de la hipertensión arterial moderada estable. Investigaciones futuras son necesarias para determinar la extensión de esta influencia.

Palabras clave: Hipertensión arterial moderada estable tratada con cobre, carencia de cobre, hipertensión arterial, cobre.

SUMMARY. Effect of copper supplementation on blood pressure values in patients with stable moderate hypertension. Copper (Cu) deficiency is associated with changes in arterial pressure. The effect depends of the age of initiation of the copper-deficient diet. Copper deficiency started at a young age causes hypotension. When initiated in older or adult animals, copper deficiency can cause hypertension. A case-control study was carried out to investigate the effect of administrating 5 mg Cu/d in 60 subjects, both genders, with mild stable hypertension, pharmacologically untreated (treated group) and compared with 60 hypertensives (control group) who were matched by gender, age, body weight, smoking habits, calories, fat and salt intake (NaCl), and physical activity. Hypertension was diagnosed when the blood pressure was >150/95 mm Hg. Mean age, mean corporal weight and risk factors were similar in both groups. The results suggested the existence of a marginal deficiency of the trace element in 62% of subjects and demonstrated that Cu decreases systolic ($r = -0.963$) and diastolic ($r = -0.981$) blood pressures in treated group ($p < 0.05$). Control patients did not show significant changes in their arterial pressures. These findings indicate a functional alteration in human blood pressure regulation during mild copper depletion and suggest that Cu could be used in the treatment of stable moderate arterial hypertension. Further investigation is needed to determine the extent of this influence.

Key words: Stable moderate hypertension treated with copper, copper deficiency, arterial hypertension, copper.

INTRODUCCION

El cobre (Cu) es un elemento traza esencial comprometido en el mantenimiento de la estructura y función de diversas metaloenzimas (1,2) y necesario para el crecimiento corporal, los mecanismos de defensa del huésped, el mantenimiento de la estructura ósea, la maduración de las células sanguíneas de las series blanca y roja, el transporte del hierro, el metabolismo del colesterol, la contractilidad miocárdica, el metabolismo de la glucosa, el desarrollo y la función del cerebro (1,2). El cobre es esencial para la homeostasis cardiovascular (3). Sin embargo, su papel y el de las cuproenzimas en el control normal de la fisiología cardiovascular no está bien aclarado. La mayoría de los

estudios relacionados con el sistema cardiovascular se han enfocado sobre las lesiones anatómicas del corazón y de los grandes vasos inducidos por la carencia de cobre (4). En la actualidad, la atención se ha enfocado en los efectos de la carencia del metal sobre la microcirculación o sobre los pequeños vasos, que controlan el flujo sanguíneo y de nutrientes y el intercambio de productos de desecho a nivel capilar, y sobre la resistencia vascular periférica (3).

En base a estos estudios se conoce que el sistema cardiovascular es muy sensible a la carencia del metal. Uno de los efectos sistémicos de la deficiencia del cobre sobre el sistema cardiovascular es la alteración de la presión arterial. El efecto depende de la edad de inicio de la dieta carente en cobre. La carencia que se inicia en la juventud determina

hipotensión (5). Cuando se inicia en animales adultos o más viejos, causa hipertensión (6,7). Los posibles mecanismos para explicar estos hallazgos incluyen producción alterada de agentes vasoactivos, como las prostaglandinas (8) y alteraciones en la respuesta del músculo liso a estos agentes (5). Por su parte, Lukaski et al. (9) observaron una respuesta hipertensiva al hand-grip test en mujeres deficientes en cobre, lo que es atribuible a alteraciones en la función cardiovascular autónoma.

Trabajos previos también señalan que la carencia dietética de cobre produce diversos efectos vasculares, lo que sugiere una alteración en la función endotelial. Así tenemos que, la carencia de este metal disminuye la relajación del músculo liso dependiente de acetilcolina, histamina y nitroprusiato de sodio en segmentos de aorta de rata (10) y determina, en la rata, respuestas vasoconstrictoras alteradas de los grandes vasos a las catecolaminas (11) y a los agentes dependientes del endotelio (3,12). Saari (13) recientemente ha demostrado que la vasodilatación arteriolar dependiente del óxido nítrico (NO) está comprometida en ratas carentes en cobre. Este trabajo sugiere que el NO desempeña un papel significativo en el mantenimiento de la presión arterial basal en ratas alimentadas con una dieta adecuada en cobre, la cual se altera por la carencia del metal.

Existen pruebas de que una dieta rica en frutas, vegetales y cereales que contenga minerales protege contra las enfermedades cardiovasculares y la hipertensión (14-16). Karanja et al. (17) han demostrado que diversos bioelementos, entre ellos el cobre, protegen de igual manera contra la hiperlipidemia y la hipertensión arterial.

La falta de publicaciones en relación al efecto de la administración de cobre sobre las cifras de presión arterial en humanos normotensos e hipertensos, así como en animales de experimentación, motivó la presente investigación. El estudio pretende demostrar que una dieta suplementada con cobre disminuye los niveles de tensión arterial

en pacientes hipertensos estables con mayor intensidad que una dieta balanceada adecuada. Esto pudiera ser de menor costo para una terapia efectiva contra la enfermedad.

MATERIALES Y METODOS

Selección de los pacientes

El presente estudio experimental descriptivo, de tipo "caso-control" se realizó en la Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina (Universidad de Los Andes) conjuntamente con el Ambulatorio Belén de la Ciudad de Mérida (Venezuela). Se seleccionaron 180 pacientes, de los dos géneros, con edades comprendidas entre 25-58 años, que acudieron a la Consulta Externa del Ambulatorio Belén debido a una hipertensión moderada estable, no tratados farmacológicamente. Datos electrocardiográficos, clínicos,

radiológicos y de laboratorio se obtuvieron de todos los pacientes para conocer los factores misceláneos y la naturaleza de la hipertensión. Se registraron las tensiones arteriales en el brazo derecho en posición supina, después de descansar cómodamente, durante 10 minutos con un esfigmomanómetro de mercurio, marca Ryster, modelo de sobremesa, calibrado periódicamente. Las tensiones arteriales (sistólica y diastólica fase V de los sonidos de Korotkof) se registraron como la media de tres lecturas consecutivas. Los pacientes con un valor de urea sanguínea mayor de 40 mg/dL o incapaces de participar debido a otras razones fueron excluidos (p. ej. presencia de procesos inflamatorios e infecciosos agudos o crónicos y antecedentes de enfermedades gastrointestinales y hepáticas; n= 20). La hipertensión se diagnosticó por la presencia de tensiones arteriales sobre 150/95 mm Hg; la obesidad por un peso corporal de 10% o más sobre lo que se considera normal para la edad de los pacientes, el género y la talla y el tabaquismo por el consumo de uno o más cigarrillos por día. La ingesta de alcohol se consideró si excedía 20 g/semana como alcohol puro. La inactividad física se definió como menos de 1 Km de caminata durante las actividades diarias sin la realización de ningún ejercicio o deporte (14).

Plan de estudio

Después de firmar el consentimiento por escrito y un período libre de drogas de 2 semanas, se extrajo una muestra de sangre (5 mL) de las venas del antebrazo, para la determinación del Cu sérico y se registraron las tensiones arteriales. Los sujetos se dividieron al azar en dos grupos con características similares. A un grupo se le suministró diariamente una cápsula que contiene 5 mg de Cu ($\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, p.a. Merck) y almidón c.s.p. 20 mg (grupo tratado) y al otro grupo se le suministró una cápsula placebo, que contiene almidón, c.s.p. 20 mg (grupo testigo) durante un período de 60 días.

Recolección de los datos

Se registraron las tensiones arteriales antes de ingresar al estudio y en las visitas semanales a todos los pacientes, hasta finalizar el período experimental; en estas visitas uno de los integrantes del equipo (GY) se encargó de suministrar a cada uno de los sujetos la cantidad de cápsulas (cobre o placebo) para el tratamiento semanal. Al finalizar el período experimental, se recolectó una nueva muestra de sangre para la determinación del Cu sérico. La toma de muestra de la sangre venosa siempre se realizó en los pacientes en ayunas, entre las 7:00 y las 9:00 am. La determinación de Cu en el suero sanguíneo se realizó por espectroscopia de absorción atómica, empleando un espectrofotómetro marca Varían modelo 1475, equipado con un nebulizador de impacto, lámparas de cátodo hueco marca Varían para Cu, y un

mechero con ranura 10 cm. para la llama de aire/acetileno, todo esto acoplado a un inyector para flujo continuo diseñado en nuestro laboratorio (18). Los niveles de Cu sérico en los hipertensos se compararon con los de 30 pacientes, de los dos géneros, normotensos sanos, dentro del mismo rango de edad, que acudieron a las instalaciones de la Cruz Roja en la ciudad de Mérida (Venezuela). Los valores de Cu sérico $<0,90 \mu\text{g/mL}$ (19) se escogieron como punto de corte para indicar una nutrición inadecuada (carencia marginal) de este elemento traza esencial. El consumo de calorías, grasas totales y sal (como NaCl) de los pacientes hipertensos de los dos grupos se calculó mediante el método del recordatorio de 48 h, al inicio y al final del período experimental.

Análisis estadístico

Todos los datos se expresan como medias \pm DE. Los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis de regresión lineal simple y ANOVA de una vía. El test de Tukey se utilizó para comparar los promedios de los valores de las presiones sistólica y diastólica. Para el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico Statgrafic 5.0 Plus. La diferencia significativa entre los valores del Cu sérico al inicio y al final del experimento se calculó mediante la t de Student. El nivel de significación estadística se determinó a $p<0,05$.

RESULTADOS

La edad, el peso corporal y el consumo de calorías, grasas totales y sal (como NaCl) de los pacientes hipertensos de los dos grupos se muestran en la Tabla 1. El análisis estadístico, mediante la t de Student, no demostró diferencias significativas al comparar los pacientes estudiados.

TABLA 1
Edad, peso corporal y consumo de energía, grasas y sal (NaCl) de los pacientes hipertensos.

Variables	Grupo tratado (n= 75)	Grupo testigo (n= 80)	p
Género	M= 60 F= 15	SM= 70 SF= 10	
Edad (años)	49,3 \pm 5,7	51,1 \pm 9,2	ns
Peso (Kg)	71,2 \pm 9,6	72,3 \pm 8,2	ns
Energía (KCal/d)	1983 \pm 168	1895 \pm 143	ns
Grasas totales (g)	28,7 \pm 0,39	27,3 \pm 0,48	ns
Sal (NaCl) (g)	7,32 \pm 1,29	7,03 \pm 1,38	ns

Los valores se expresan como promedio \pm DE.

M= masculino. F= femenino.

ns= no significativo

Cobre

Las modificaciones de los valores séricos de cobre (cupremia) en los pacientes hipertensos se muestran en la Tabla 2. La tabla muestra que la administración de Cu por vía oral determina un incremento significativo en la cupremia en el grupo tratado, al finalizar los 60 días de tratamiento. De acuerdo con el valor del punto de corte del Cu sérico $<0,90 \mu\text{g/mL}$ (19) cerca del 62% de los pacientes hipertensos, tratados o no, presentan un riesgo incrementado a padecer de una carencia marginal de Cu.

TABLA 2
Niveles séricos¹ de Cu en los pacientes hipertensos sometidos al estudio

Hipertensos	Muestra inicial (0 días)	Muestra final (60 días)
Grupo testigo (n= 80)	0,98 \pm 0,12 (0,80-1,12)	0,97 \pm 0,15 (0,82-1,12)
Grupo tratado (n= 75)	0,99 \pm 0,13 (0,82-1,16)	1,17 \pm 0,35 ^a (0,99-1,35)
Normotensos (n= 30)	1,50 \pm 0,16 ^b (1,08-2,09)	

¹ $\mu\text{g/mL}$ (promedios \pm DE).

^a $p<0,05$ estadísticamente significativo, al comparar el grupo hipertenso tratado con el testigo.

^b $p<0,05$ estadísticamente significativo, al comparar con los pacientes hipertensos tratados y testigos.

() valores máximos y mínimos.

Presiones arteriales

Los resultados de comparar los valores de los valores de la presión arterial al inicio (0 días) y al final (60 días) del período experimental se muestran en la Tabla 3. Se observa que en los hipertensos tratados con Cu por vía oral, los valores de las tensiones sistólica (TS) y diastólica (TD) disminuyen significativamente ($p<0,05$) al finalizar los dos meses de tratamiento. Los resultados obtenidos del modelo de regresión simple ($y= a+b*X$, donde X= tiempo en días) para describir la relación entre los valores de las tensiones al final del experimento (60 días) y las dosis suministradas de cobre se indican a continuación. Para TS: $y = 153,20-0,65x$; $r= -0,963$ y $R^2 = 92,72\%$. El valor del estadístico R^2 indica que el modelo como se ajustó explica el 92,72% de la variabilidad de los valores de la TS, al cabo de 2 meses de tratamiento. El coeficiente de correlación (r) igual a $-0,963$ indica que existe una relación relativamente fuerte ($p>0,05$) e inversamente proporcional entre las variables (valores de TS vs tiempo). La ecuación del modelo de regresión lineal para la TD: $y= 105,22-0,46x$; $r= -0,981$ y el valor del estadístico $R^2 = 96,25\%$. El valor del estadístico R^2 indica que el modelo explica el 96,25% de la variabilidad de la TD al cabo de 60

días de tratamiento. El coeficiente de correlación (r) igual a $-0,981$ indica que existe una relación moderadamente fuerte e inversamente proporcional entre las variables ($p < 0,05$). Los pacientes del grupo testigo no mostraron cambios significativos en sus cifras de tensión al finalizar la fase experimental. En este caso, el análisis de regresión mostró los siguientes resultados: Para TS, la ecuación del modelo de regresión lineal fue $y = 153,8 - 0,02x$ ($r = -0,364$; $R^2 = 13,20\%$) y para TD $y = 106,6 - 0,013x$ ($r = -0,707$; $R^2 = 0,500$).

TABLA 3
Valores de presión arterial de los grupos tratado y testigo

Tiempo (días)	Grupo Tratado		Grupo Testigo	
	TS	TD	TS	TD
0	158±17	106±14	155±16	107±13
15	140±11	98±9	153±15	106±12
30	131±13 ^{ab}	92±6 ^{ab}	152±14	106±13
45	121±3 ^{ab}	81±3 ^{ab}	152±15	106±15
60	119±3 ^{ab}	80±1 ^{ab}	154±16	106±17

Los resultados se expresan en mm Hg (promedios±DE). TS= Tensión sistólica. TD= Tensión diastólica.

^a $p < 0,05$ estadísticamente significativo al comparar con el grupo testigo.

^b $p < 0,05$ estadísticamente significativo al comparar con el valor inicial (0 días).

DISCUSION

De los resultados obtenidos se puede deducir claramente que los valores promedio de Cu en el suero sanguíneo de los pacientes hipertensos son significativamente ($p < 0,05$) menores que los de los pacientes normotensos sanos. El valor de cobre sérico $< 0,90 \mu\text{g/mL}$ (19) sugiere un riesgo incrementado de carencia marginal de cobre en un gran porcentaje de los pacientes hipertensos. Generalmente se considera que la deficiencia de cobre no es un problema en los humanos porque el metal se encuentra ampliamente distribuido en los alimentos que sirven como base para la mayoría de las dietas en todo el mundo. Es más, los requisitos diarios señalados para este elemento traza son tan bajos que se ha sugerido que la deficiencia de Cu no ocurre, incluso con las dietas de peor calidad (20). Sin embargo, en la actualidad se conoce que la deficiencia de cobre en los seres humanos ocurre (4), aunque la magnitud del problema, así como su naturaleza y su frecuencia en la población en general, deberán ser establecidas. Por consiguiente, es necesario documentar de una manera más adecuada esta condición clínica mediante la determinación de la actividad sérica y tisular de diversas cuproenzimas en estos pacientes. De

acuerdo con Milne (21) la actividad de las cuproenzimas de las células sanguíneas, como la superóxido dismutasa eritrocitaria y la citocromo c oxidasa plaquetaria, pueden ser mejores indicadores del Cu metabólicamente activo y de sus depósitos corporales que las concentraciones plasmáticas del Cu o de la ceruloplasmina.

En relación con la dosis administrada, se ha señalado que un adulto humano promedio ingiere cerca de 1 mg de Cu/día en la dieta, la mitad de lo cual se absorbe (2). Un Comité de Especialistas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda 30 μg de Cu/kg/día para el adulto, que equivale aproximadamente a 2 mg/día (22). El ingreso alimentario para este elemento traza fue establecido entre 1,5-3,0 mg/día para los adultos y el nivel de ingreso tolerable más alto (UL) de Cu es de 10.000 μg /día (10 mg/día) (23). La dosis suministrada a los pacientes hipertensos se encuentra por debajo del UL, que se define como "el nivel más elevado del ingreso diario de un nutriente que es muy posible no tenga riesgo de efectos dañinos para casi todos los individuos en la población en general" (23). Los ingresos por arriba del UL, incrementan el riesgo de efectos dañinos no deseables en el individuo. No obstante, en 5 de los pacientes, se presentaron alteraciones agudas del tracto gastrointestinal (náuseas, vómitos, dolor abdominal) por cuyo motivo se excluyeron del estudio.

Los resultados del presente estudio demuestran que la administración oral de Cu (5 mg/día) disminuye significativamente ($p < 0,05$) los niveles de presión arterial, tanto sistólica como diastólica, en los pacientes hipertensos tratados, al comparar con el correspondiente grupo testigo, y que esta disminución aumenta con el tiempo de administración del elemento traza. Esta observación está de acuerdo con los trabajos previos de Singh et al. (14) quienes evaluaron en hombres hipertensos el efecto de la ingesta diaria de 0.5 a 1 kg./día de guayaba, que contiene altas cantidades de minerales, el Cu entre ellos. Este estudio sugiere que los cambios en los valores de la presión arterial notados en los hipertensos pueden atribuirse al consumo dietético aumentado de cobre. Sin embargo, el papel de otros nutrientes diferentes al cobre, proporcionados por la guayaba, no puede ser completamente excluido como una causa de estos cambios beneficiosos en los niveles de presión arterial. Es posible que el consumo alimentario incrementado de potasio y de cobre a través de la guayaba pueda reducir sustancialmente las presiones sanguíneas en los hipertensos estudiados. Por su parte, Bergomi et al. (24) y Vivoli et al. (25) han señalado que un desbalance en el status corporal del Cu pudiese estar involucrado en la patogenia de la hipertensión arterial humana.

Nuestros resultados están en contradicción con los de Sparrow et al. (26) y Taittonen et al. (27) quienes han

informado que el Cu no presenta ninguna correlación significativa con los valores de presión arterial. Es de hacer notar que estos investigadores realizaron sus estudios en niños y adolescentes sanos, entre 7 y 14 años de edad respectivamente, mientras que nuestra población corresponde a adultos con hipertensión arterial moderada estable. En ratas mantenidas con dietas carentes y/o adecuadas con cobre, Lear *et al.* (28) tampoco pudieron detectar diferencias significativas en cuanto los promedios de presión arterial, frecuencia cardíaca y respuestas a la administración intravenosa de angiotensina II, fenilefedrina y acetilcolina. Como un hallazgo importante se ha informado que ciertos estudios de población realizados demuestran una correlación positiva entre la presión sanguínea sistólica y la excreción urinaria de cobre (29).

CONCLUSION

La administración de cobre (5 mg/d) a los pacientes hipertensos reduce significativamente los valores de las presiones sistólica y diastólica, respectivamente. Este hallazgo indica una alteración funcional en la regulación de la presión arterial durante la carencia moderada de cobre y sugiere que el Cu se puede emplear en el tratamiento de la hipertensión arterial moderada estable. Investigaciones futuras son necesarias para determinar la extensión de esta influencia.

REFERENCIAS

- Schumann K, Classen HG, Dieter HH, König J, Multhaupt G, Rukgauer M, Summer KH, Bernhardt J, Biesalski HK. Hohenheim consensus workshop: copper. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 469-483.
- Harris ED. Copper. En: *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*. O'Dell BL, Sunde R (Eds.). Marcel Dekker. New York. 1997. Pp. 231-273.
- Schuschke, D. Dietary copper in the physiology of the microcirculation. *J Nutr* 1997; 127: 2274-2281.
- Klevay LM. Cardiovascular disease from copper deficiency-A history. *J Nutr* 2000; 130 (2S Suppl): 489S-492S).
- Saari JT, Schuschke DA. Cardiovascular effects of dietary copper deficiency. *BioFactors* 1999; 10: 359-375.
- Klevay LM. Hypertension in rats due to copper deficiency. *Nutr Rep Int* 1987; 35: 999-1005.
- Medeiros DM. Hypertension in the Wistar-Kyoto rat as a result of post-weaning copper restriction. *Nutr Res* 1987; 7: 231-235.
- Nelson SK, Huang CJ, Mathias MM, Allen KGD. Copper-marginal and copper-deficient diets decrease aortic prostacyclin production and copper-dependent superoxide dismutase activity, and increase aortic lipid peroxidation in rats. *J Nutr* 1992; 122: 2101-2108.
- Lukaski HC, Klevay LM, Milne DB. Effect of dietary copper on human autonomic cardiovascular function. *Eur J Appl Physiol* 1988; 58: 74-80.
- Saari JT. Dietary copper deficiency and endothelium-dependent relaxation of rat aorta. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200: 19-24.
- Kitano S. Membrane and contractile properties of rat vascular tissue in copper-deficient conditions. *Circ Res* 1980; 46: 681-689.
- Lynch SM, Frei B, Morrow JD, Roberts LJ, Xu A, Jackson T, Reyna R, Klevay LM, Vita JA, Keaney JF Jr. Vascular superoxide dismutase deficiency impairs endothelial vasodilator function through direct inactivation of nitric oxide and increased lipid peroxidation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2975-2981.
- Saari JT. Dietary copper deficiency reduces the elevation of blood pressure caused by nitric oxide synthase inhibition in rats. *Pharmacology* 2002; 65: 141-144.
- Singh RB, Sharma VK, Singh R, Rastogi SS. Does increased consumption of dietary copper decrease blood lipids?. *Trace Elem Med* 1992; 9: 28-33.
- Arntzenius AC, Kromhout D, Barth JD, Reiber JH, Bruschke AV, Buis B, van Gent CM, Kempen-Voogd N, Strikwerda S, van der Velde EA. Diet, lipoproteins, and the progression of coronary atherosclerosis. *The Leiden Intervention Trial*. *N Engl J Med* 1985; 312: 805-811.
- Acheson RM, Williams DR. Does consumption of fruits and vegetables protect against disease?. *Lancet* 1983; 1: 1191-1195.
- Karanja N, Morris CD, Illingworth DR, McCarron DA. Plasma lipids and hypertension: response to calcium supplementation. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 60-65.
- Burguera JL (Ed.) *Flow Injection Atomic Spectroscopy*. Marcel Dekker, New York, 1989. p. 298.
- Cordano A. Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (Suppl): 1012S-1016S.
- Williams D. Copper deficiency in humans. *Semin Hematol* 1983; 20: 118-128.
- Milne DB. Copper intake and assessment of copper status. *Am J Clin Nutr* 1998; (suppl) 67: 1041S-1045S.
- WHO (World Health Organization). *Trace Elements in Human Nutrition and Health*. Geneva. World Health Organization. 1996.
- 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*. Institute of Medicine. National Academy Press. Washington, D.C. 2001. pp.S5-S7.
- Bergomi M, Rovesti S, Vinceti M, Vivoli R, Caselgrandi E, Vivoli G. Zinc and copper status and blood pressure. *J Trace Elem Med Biol* 1997; 11: 166-169.
- Vivoli G, Bergomi M, Rovesti S, Pinotti M, Caselgrandi E. Zinc, copper, and zinc- or copper-dependent enzymes in human hypertension. *Biol Trace Elem Res* 1995; 49: 97-106.
- Sparrow D, Sharrett AR, Garvey AJ, Craun GF, Silbert JE. Trace metals in drinking water: lack of influence on blood pressure. *J Chronic Dis* 1984; 37: 59-65.
- Taittonen L, Nuutinen M, Rasanen L, Mussalo-Rauhamaa H, Turtinen J, Uhari M. Lack of association between copper, zinc, selenium and blood pressure among healthy children. *J Hum Hypertens* 1997; 11: 429-433.

28. Lear PM, Heller LJ, Prohaska JR. Atria and ventricles of copper-deficient rats exhibit similar hypertrophy and similar altered biochemical characteristics. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 212: 377-385.
29. Staessen J, Sartor F, Roels H, Bulpitt CJ, Claeys F, Ducoffre G, Fagard R, Lauwerijs R, Lijnen P, Rondia D. et al. The association between blood pressure, calcium and other divalent cations: a population study. *J Hum Hypertens*. 1991; 5:485-494.

Recibido:16-08-2002

Aceptado:21-04-2003