

Comparación de la metodología seguida por algunos países para el establecimiento de las ingestas dietéticas de referencia

Autores:

Eduard Baladia³, María Manera³, Julio Basulto³, Marta Cuervo^{1,2}, Giuseppe Russolillo^{2,12}

COMITÉ REVISOR E INVITADOS

Julia Álvarez^{4,5}, Carmen Arias¹⁴, Juan Manuel Ballesteros¹⁴, Lucio Cabrerizo^{2,4}, Ángeles Carbajal^{15,17}, Daniel de Luis^{4,5}, Xabier Formiguera⁵, Antoni García Gabarra¹⁶, Manuel Gargallo^{2,5}, Miguel Ángel Gassull⁶, Carmen Gómez-Candela⁶, Ángel Gil^{8,17}, Carlos Iglesias^{2,6}, Mar Jiménez⁷, Miguel León⁸, Herminia Lorenzo^{2,7}, Ascensión Marcos¹⁷, Iva Marqués¹², Jesús Román Martínez¹³, J. Alfredo Martínez^{1,2,17}, Gabriel Oliveira⁴, Rosa M.^a Ortega^{10,15}, Mercè Planas^{2,8}, Isabel Polanco^{2,9}, Joan Quiles^{2,10}, Lola Romero de Ávila^{2,11}, M.^a José Rubio¹⁴, Jordi Salas^{5,8}, Gemma Salvador¹⁰, Ana M.^a Troncoso¹⁴, Gregorio Varela¹⁷, Carmen Villar¹⁴, Antonio Villarino^{2,13}, Julia Warnberg¹⁷

¹ Instituto de Ciencias de la Alimentación. Departamento de Nutrición, Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología. Universidad de Navarra

² Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD)

³ Grupo de Revisión, Estudio y Posicionamiento de la Asociación Española de Dietistas-Nutricionistas (GREP-AED-N)

⁴ Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN)

⁵ Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO)

⁶ Sociedad Española de Nutrición Básica y Aplicada (SENBA)

⁷ Asociación de Diplomados en Enfermería de Nutrición y Dietética (ADENYD)

⁸ Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (SENPE)

⁹ Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (SEGHNP)

¹⁰ Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC)

¹¹ Asociación Española de Licenciados y Doctores en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ALCYTA)

¹² Asociación Española de Dietistas-Nutricionistas (AED-N)

¹³ Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación (SEDCA)

¹⁴ Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN)

¹⁵ Departamento de Nutrición. Universidad Complutense de Madrid

¹⁶ Asociación de Empresas de Dietéticos y Complementos Alimenticios (AFEPADI)

¹⁷ Sociedad Española de Nutrición (SEN)

Introducción y antecedentes

El objetivo final de esta publicación y del Comité de Expertos para el Establecimiento de las Ingestas Dietéticas de Referencia a nivel español es cumplir con la primera etapa del proyecto de obtención de unas ingestas dietéticas de referencia (IDR) (del inglés *Dietary Reference Intakes*) propiamente españolas. Esta primera fase consiste en adherirse a los valores de aportes dietéticos recomendados (ADR) (del inglés *Recommended Dietary Allowances*) del país o países cuya metodología de obtención esté mejor detallada y documentada. En este sentido, y a modo de justificación, en el presente capítulo se describe brevemente la metodología seguida por algunos de los países que más trayectoria han mostrado en el establecimiento de los ADR. Pese a que el análisis no pretende ser exhaustivo, se ofrecerá al Comité de Expertos valiosa información acerca de los estudios clave que han permitido establecer las IDR en cada país, y se intentará discernir la tipología de estudios más utilizada para fijar las recomendaciones para cada nutriente (estudios observacionales, experimentales, revisiones, etc.). Esta información permitirá tener una mejor comprensión de los modelos en los que se basa cada país para elaborar sus recomendaciones, ayudando al Comité de Expertos en la toma de decisiones para la elección de las IDR mejor documentadas.

Ciertamente, en todos los procesos de decisión es tan, o más, importante conocer el resultado final, como la justificación y el proceso seguido para obtenerlo; es decir, conocer las razones que pueden ayudar a planificar en el futuro una mejor forma de establecer las IDR y, por lo tanto, a contribuir de esta forma a la mejora del estado de salud óptima de la población.

En base a la comparación de las IDR de diferentes países con una breve comparación de la metodología seguida para establecer sus valores de referencia en esta primera fase (1), se refuerzan en el capítulo 3 del presente documento las diferencias básicas entre los distintos valores de referencia publicados en la Unión Europea, Estados Unidos y la Organización Mundial de la Salud, siendo una de sus finalidades la de facilitar al Comité de Expertos el trabajo de comparación de las metodologías seguidas por los distintos países. Tras realizar esta comparación, el Comité de Expertos debería revisar de forma exhaustiva los documentos publicados por la WHO/FAO/UNU (2-5), IOM/EE.UU. (6-12), completándola con la revisión de la metodología seguida por la Unión Europea (13;14) Reino Unido (15-20), Francia (21) y la publicación conjunta de Alemania, Austria y Suiza (22).

Tras iniciar dicha tarea, se observó que la revisión de los países seleccionados ofrecía versiones muy parecidas o idénticas de metodologías para establecer ADR. Finalmente, los autores del presente capítulo, para optimizar recursos humanos y de tiempo, han decidido revisar únicamente la metodología seguida por el Food and Nutrition Board/Institute of Medicine/Estados Unidos (FNB/IOM) (6-12), la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2;4;5), la Unión Europea (13;14) y el Reino Unido (15). Han quedado excluidos de la presente revisión algunos documentos que, si bien actualizan contenidos de algunos de los nutrientes del Reino Unido, sus recomendaciones no han sido adoptadas de forma oficial para el establecimiento de las IDR (23-27). Los autores entienden que la revisión de los países o instituciones con más historia en el establecimiento de las IDR es suficiente para cumplir con los objetivos de la presente revisión. Sin embargo, se desea apuntar que pese haber excluido algunos informes o metodologías de ciertos países por sus análisis consumos y poco detallados, y también officiosos (en el caso del Reino Unido), dichos documentos aportan estudios muy recientes, tanto de su geografía como de otros territorios, de gran interés en alguna de las fases del proyecto.

La revisión de la metodología seguida por los cuatro países incluidos ha significado la lectura y extracción de datos de diferente procedencia (tabla 1).

Tabla 1: Número de folios revisados de cada país o institución para la extracción de datos necesarios para elaboración de este capítulo

País o institución	N.º de folios revisados	Documentos revisados (citas)
Estados Unidos	5.251	(6-12)
OMS	690	(2;4;5)
Unión Europea	255	(13;14)
Reino Unido	212	(15)
Total	6.408	

Generalidades sobre la metodología de estimación de las IDR

Tipo de fuente de datos e información

En la actualidad se está reforzando la necesidad de trabajar en el mejor conocimiento científico posible desarrollando sistemas de clasificación de los estudios en función de la evidencia científica

que permitan no sólo resumir la cantidad creciente de información que se publica, sino hacerlo conociendo el grado de fiabilidad que puede depositarse en las recomendaciones establecidas. El diseño de los estudios (experimentales u observacionales), su calidad individual, el tamaño de la muestra o el tiempo que dura el estudio son factores a tener en cuenta a la hora de establecer la evidencia científica (28). Sin embargo, en el estudio para el establecimiento de la relación entre el consumo de nutrientes y el estado de salud se necesita de la implicación de muchas áreas de investigación, cuyos esfuerzos permiten finalmente la estimación de las ingestas dietéticas de referencia. Quizás por la metodología de aproximación al cálculo de los valores de referencia, los estudios utilizados en dicha estimación se alejan normalmente de los modernos sistemas de clasificación de la evidencia científica.

Modelos celulares y animales

El uso de estudios con modelos celulares *in vitro* permite analizar los mecanismos bioquímicos de los efectos de los nutrientes. El uso de estudios forenses o de biología con modelos animales es aún frecuente y pueden ser de gran utilidad para entender mejor el comportamiento de los nutrientes a nivel fisiológico y metabólico. Sin embargo, como es evidente, la transposición de dichos estudios debe realizarse con precaución, y deberán ser usados en ausencia de datos obtenidos en humanos (6;21). Los autores del presente capítulo desean remarcar que pese a que el uso de modelos animales ha sido clave en el entendimiento de la interacción nutriente-salud durante varias décadas (29-32), se debe alentar a los científicos al uso no solamente de modelos humanos, sino también de las matrices que contienen los nutrientes de estudio (los alimentos) en la medida que sea posible (hay diseños de estudio en los que es difícil el uso de alimentos, como por ejemplo, en un ensayo clínico controlado aleatorizado a doble ciego).

Estudios observacionales en humanos

Los estudios observacionales permiten establecer un nivel de evidencia científica a través de la cual se puede describir y fijar una relación estadística entre el consumo de un nutriente y el riesgo de padecer algunas enfermedades, sin que ello suponga una relación causa-efecto. Asimismo, facilitan el estudio de sujetos en estado libre (*free-living*), teniendo en cuenta que la falta de control puede ser también una limitación para el establecimiento de recomendaciones a partir de dichos estudios (6;21).

Encuestas nutricionales

Indicadores dietéticos

La estimación rigurosa de la ingesta nutricional espontánea de sujetos sanos de edades, géneros o situaciones fisiológicas especiales (gestación o lactancia), pese a no constituir ninguna evidencia para fijar unos valores de referencia, cuando no existe ningún otro dato, puede ser una fuente importante para establecer una recomendación razonable (6;21). Ésta deberá ser distinguible de las ingestas recomendadas establecidas sobre la base de mejores evidencias científicas. Normalmente a dichas recomendaciones razonables se las denomina ingestas adecuadas (IA) (del inglés *Adequate Intakes*), rango de ingesta adecuada, ingesta razonable o rango de ingesta razonable.

Para la estimación de la ingesta nutricional, es de vital importancia la correcta implementación de herramientas tales como los registros o diarios dietéticos y recordatorios 24 horas. Los registros dietéticos son normalmente autodeclarados, es decir, el individuo escribe todo lo que consume durante un período determinado, normalmente entre uno y 7 días. Se recomienda realizar un registro de cómo mínimo 3 días cuidando la distribución de los días considerados, de manera que puedan apreciarse las variaciones estacionales y entre los días de la semana (33). Se obtienen mejores resultados cuando los alimentos ingeridos en el hogar se cuantifican por pesada y los ingeridos fuera del hogar se describen utilizando medidas caseras (34). En el recuerdo de 24 horas, el sujeto es interrogado por un entrevistador entrenado a fin de que recuerde y describa los alimentos y bebidas consumidos en un pasado reciente, normalmente un período máximo de 24 o 48 horas. Las cantidades se registran utilizando medidas domésticas, modelos de alimentos o fotografías. Es un método rápido y barato, aplicable a la mayor parte de las poblaciones y que ofrece una tasa de respuesta elevada. Sin embargo, existen dos inconvenientes a este tipo de técnica: la susceptibilidad a los problemas de memoria, y la elevada variación intraindividual diaria (35). En este tipo de técnicas existe una tendencia a registrar una menor ingesta habitual de alimentos (36;37).

Marcadores biológicos

En este dominio se puede distinguir entre (21):

- Marcadores directos, que tratan de medir la concentración del nutriente directamente estudiado en los diferentes compartimentos del organismo (concentración plasmática, sérica o tisular), en los fluidos de excreción (orina, heces o sudor), y en la piel, uñas o pelo.
- Marcadores funcionales, que tratan de medir una función biológica que depende del nutriente (a menudo enzimática) o de un tejido cuya síntesis o composición dependa

exclusivamente o en gran medida de la presencia del nutriente de estudio (por ejemplo, hemoglobina para el hierro).

El uso de medidas objetivas (marcadores) de la ingesta de nutrientes proporciona una clara ventaja para disminuir algunos de los sesgos que existen en los estudios observacionales (6).

Estudios transversales

Son estudios que comparan, en un instante dado, los hábitos alimentarios y/o de ingesta nutricional de un grupo de población que padece una enfermedad y un grupo de población equivalente (género, edad, estado fisiológico especial, etc.) que no padece dicha enfermedad (21).

Estudios longitudinales

Son estudios en los que se mide, durante un período de tiempo determinado (largo o corto), la evolución de los indicadores dietéticos y/o biológicos de un grupo de sujetos sanos al comienzo del estudio, registrando además a lo largo del tiempo la aparición de eventos adversos y patológicos (21).

Estudios experimentales o de intervención

Los estudios de intervención son los únicos que pueden establecer una relación casuística entre la ingesta de un nutriente y una patología. Dentro de los tipos de diseño de estudios de intervención, los ensayos clínicos controlados aleatorizados (ECCA) son los considerados de mayor calidad. Este tipo de estudio consiste en la comparación de un grupo intervención, al que se le ofrece la sustancia a estudiar, y un grupo control, al que se le ofrece un placebo, es decir, un compuesto que parece la sustancia que toma el grupo de intervención, pero que no contiene el componente de estudio (28). El diseño de estudios no sólo es importante, sino que cuanto mayor es la muestra de población sujeta a estudio y mayor el tiempo de exposición, mayor nivel de evidencia nos ofrecerá dicho estudio. Asimismo, la determinación de la calidad de un estudio (asegurar que el procedimiento de cegado es adecuado, asegurar que se ha realizado un análisis estadístico de los datos, etc.) permitirá depositar mayor confianza en éste y poder establecer recomendaciones más sólidas y consistentes. Existen sistemas de establecimiento de la calidad de este tipo de estudios, como por ejemplo, el sistema de escalas mediante cuestionarios (38) o el sistema de consenso Delphi (39). Para más información sobre sistemas de clasificación de evidencia científica y su evaluación, se recomienda la lectura de un artículo redactado por los mismos autores (28).

Aproximaciones fisiológicas en sujetos humanos: estudios de alimentación humana controlada

Se trata de estudios experimentales en los que se realizan diferentes tipos de intervenciones que permiten investigar el comportamiento fisiológico y metabólico de los nutrientes (absorción y biodisponibilidad a nivel intestinal, transporte, almacenaje, etc.). En muchas ocasiones, son la única fuente de datos experimentales que se puede obtener. Muchos de los trabajos que permiten un mejor entendimiento de los requerimientos nutricionales para prevenir deficiencias se basan en estudios de alimentación humana controlada, los cuales consisten en controlar la alimentación y la actividad de una serie de individuos y analizar materiales biológicos como la sangre, la orina, las heces o piel para entender los procesos metabólicos (6). Pese a la sofisticación de algunos de dichos estudios, éstos tienen importantes limitaciones que deben ser consideradas a la hora de interpretar los resultados obtenidos y estimar unos valores de referencia. Entre otras limitaciones, puede destacarse: (a) que estos métodos no son medidas directas de las necesidades diarias del organismo, (b) que deben realizarse sobre un número de sujetos limitado (importancia de la representatividad de la muestra), o (c) que en muchas ocasiones la alimentación de los individuos sujetos a estudio es exhaustivamente controlada (así se requiere para evitar factores de confusión), eliminando asimismo la posibilidad de estudiar al sujeto cuando se alimenta de forma libre (6;21). Por este motivo, a menudo los expertos comparan los resultados de varios de los siguientes tipos de estudios para estimar unos valores de referencia más cercanos a la realidad.

Estudios de balance nutricional

Los estudios de balance nutricional permiten estudiar el equilibrio entre las entradas y las salidas de nutrientes, midiendo el estado de un nutriente en relación con la ingesta de éste a diferentes niveles o dosis. En esta técnica se parte de la base que el sujeto estudiado empieza el estudio en nivel de equilibrio, es decir, con sus necesidades de dicho nutriente satisfechas. Hay que tener en cuenta, sin embargo, ciertas limitaciones de la técnica, como por ejemplo que el punto de equilibrio o algunas funciones metabólicas de un nutriente (por ejemplo, la absorción) pueden estar influidos por el aporte de este u otros nutrientes o por el estado nutricional del sujeto. Las reservas de un nutriente pueden hacer aumentar o disminuir su biodisponibilidad, así como retardar o acelerar su movilización o excreción a través de orina o heces. Esta técnica tiende a sobrestimar la retención neta y, por tanto, subestimar los requerimientos nutricionales (6;21).

Estudios de depleción-repleción

A diferencia de los estudios de balance nutricional, los de depleción-repleción parten de un estado carencial de dicho nutriente. Los sujetos estudiados se someten durante un período de tiempo, a una dieta que sólo aporta una cantidad mínima del nutriente de estudio, y posteriormente la

deficiencia se corrige administrando niveles o dosis conocidas de dicho nutriente, midiendo en todo momento varios marcadores biológicos de estado de dicho nutriente (6;21).

Técnicas isotópicas

Consiste en el seguimiento de una molécula marcada (trazador isotópico) que permite al investigador analizar y cuantificar la mayoría de procesos metabólicos (absorción, transporte, almacenaje, utilización o excreción). Esta técnica se puede aplicar tanto en sujetos cuya actividad es controlada como en sujetos en estado libre (*free-living*) (21).

Método factorial

Este método evalúa separadamente los requerimientos de algunas funciones fisiológicas para poder hacer un cálculo teórico de los requerimientos totales (RT) de dicho nutriente teniendo en cuenta el coeficiente de absorción real. El método factorial implica la utilización de distintos tipos de estudios (muchos de ellos de alimentación humana controlada) que permitan determinar (21):

- Requerimientos netos de mantenimiento (M): corresponde al gasto fisiológico obligatorio para un normal funcionamiento del organismo y comprende las pérdidas mínimas inevitables por las vías endógenas, fecales, urinarias y cutáneas. Normalmente son usados estudios de balance nutricional.
- Requerimientos netos de crecimiento (C): corresponde a la retención normal de nutriente debida a la ganancia de peso. Dicha retención se estima teniendo en cuenta la variación de la composición corporal con la edad. Las nuevas técnicas de análisis directo de la composición de la composición corporal, así como de técnicas indirectas no invasivas (medición del agua corporal, bioimpedanciometría, etc.) permiten tener actualmente mejores datos de composición corporal. Sin embargo, siguen siendo importantes las limitaciones de dichos métodos, las cuales deben contemplarse en la estimación de las ingestas de referencia. Suelen usarse estudios de análisis químico de tejidos corporales y estudios observacionales que permitan trazar curvas o estándares de crecimiento.
- Requerimientos netos de gestación (G): corresponde a la retención de nutriente debida al crecimiento del feto y de los tejidos y fluidos que los envuelven (placenta, líquido amniótico, útero, sangre, etc.). Suelen usarse estudios de análisis químico de dichos tejidos, así como estudios observacionales que permitan establecer el aumento de peso de los diferentes compartimentos durante la gestación.
- Requerimientos netos de lactancia (L): corresponde a la cantidad de nutriente expulsada a través de la leche materna. La complejidad de la variación de la cantidad y composición de la leche materna a lo largo del período de lactancia dificulta su estimación. Suelen usarse

estudios de análisis químico de leche materna, así como estudios observacionales que permitan establecer la cantidad de leche que se consume en una edad determinada.

- **Coefficiente de absorción real (CAR):** es un coeficiente de absorción medio determinado en condiciones normales y obtenido, por lo general, mediante estudios que usan técnicas isotópicas a fin de cuantificar la absorción real determinando las pérdidas fecales normales. Dicho coeficiente puede variar en función de diferentes situaciones fisiológicas como el embarazo o la lactancia.

El cálculo final teórico se estima de la siguiente forma:

$$\text{Requerimientos nutricionales} = \frac{M+C+G+L}{CAR}$$

Extracción y uso de datos de IDR existentes

El uso de estudios realizados en otros países o de valores de referencia estimados por otros países es una forma muy común de optimizar recursos económicos, humanos y de tiempo. Todos los países revisados en la presente publicación han usado o usan actualmente uno o varios valores de ingestas dietéticas de referencia pertenecientes a otros países o instituciones para alguno de sus nutrientes, si no todos. Existen países, como por ejemplo Irlanda, que han fijado todas sus recomendaciones usando básicamente valores de referencia de otros países.

Los autores del presente capítulo y el Comité de Expertos para el Establecimiento de unas Ingestas Dietéticas de Referencia Españolas opinan que no solamente es necesario citar siempre la fuente de obtención de dichos datos, sino que además es preciso establecer el tipo de estudios en los que el país o institución ha basado sus cálculos. De esta forma se mantienen los derechos de autor e investigación original, a la vez que se puede establecer el grado de evidencia sobre la cual están elaboradas las IDR de dicho país, y la fiabilidad de los datos originales.

Éste es en parte el objetivo de la primera fase fijada por el Comité de Expertos, y, de hecho, es la finalidad principal del presente capítulo: establecer el país cuyo tipo de estudios usados para la estimación de sus recomendaciones está mejor documentado y ofrece, por tanto, una mayor fiabilidad.

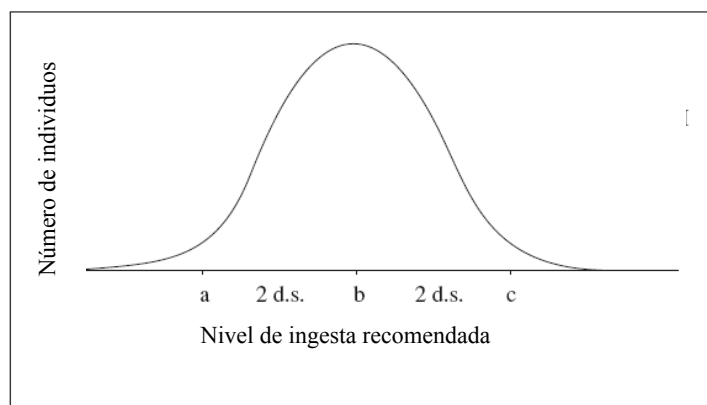
Análisis de los datos y establecimiento de los ADR

Pese a que la descripción del procedimiento para establecer los ADR a partir de los datos brutos no es uno de los objetivos del presente capítulo, los autores creen conveniente que los lectores tengan algunas nociones al respecto.

Tras la extracción de los datos crudos de los estudios científicos, es siempre necesario **analizar estadísticamente su consistencia y validez** por parte de un experto en estadística, y eliminar los datos que se consideran que pueden alterar la uniformidad de la información. Asimismo, en muchas ocasiones es también necesaria **la extrapolación de datos** para obtener valores de referencia de segmentos de la población de los cuales no se tienen datos, como por ejemplo en edades tempranas o en la ancianidad (6).

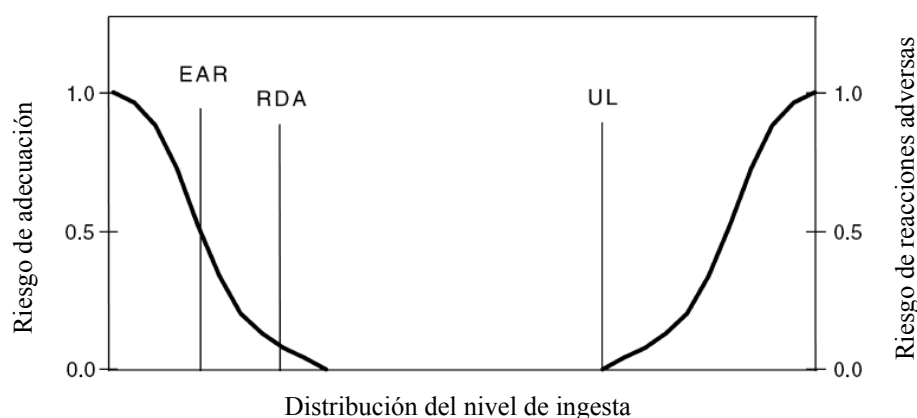
Como se indica en el apartado de definiciones, las IDR incluyen principalmente los requerimientos medios estimados (siglas en inglés EAR o AR), los aportes dietéticos recomendables (siglas en inglés RDA o PRI o IR o RNI o RI), las ingestas adecuadas (sigla en inglés AI), el nivel de ingesta máxima tolerable (siglas en inglés UL), el umbral de ingesta inferior (siglas en inglés LTI o LRNI). Una vez establecida la función gaussiana (figura 1) de los requerimientos de nutrientes, se podrán calcular, aplicándose las fórmulas adecuadas, los valores de los distintos conceptos que conforman las IDR (1).

Figura 1: Distribución gaussiana del nivel de IDR en función de la frecuencia de consumo



Asimismo, la distribución simétrica del nivel de ingesta de nutrientes en función del riesgo de no adecuación por ingesta insuficiente o de efectos adversos por ingesta excesiva (figura 2), permite observar cómo el nivel de ingesta máxima tolerable y los aportes dietéticos recomendables se sitúan en un nivel de riesgo cero o cercano a éste (entre 0,02-0,03), mientras que los requerimientos medios estimados se sitúan en un nivel de riesgo de déficit del 0,5 (50%) (6).

Figura 2: Distribución del nivel de ingesta en función del riesgo de no adecuación nutricional (6)



Herramientas relacionadas con las ingestas recomendadas: datos de composición nutricional de los alimentos

Los autores del presente capítulo entienden que el Comité de Expertos, además de establecer las recomendaciones pertinentes, debe definir o aconsejar las herramientas que permitirán la comparación de las ingestas observadas de una población con las ingestas recomendadas. Los softwares que incorporan tablas de composición de alimentos son uno de dichos instrumentos.

En este sentido existen varias tablas de composición de alimentos elaboradas en España, sin embargo, en la mayoría de ellas, al igual que ocurre con las ingestas recomendadas, no se indica la fuente de datos. El Comité de Expertos entiende que es de vital importancia saber si los datos han sido obtenidos de otras tablas de composición de alimentos (españolas o de otros países), o si han sido establecidas mediante estudios de análisis químicos de alimentos propios, o a través de la revisión de estudios en los que aparecen datos de composición química, o si, por ejemplo, dichos datos han sido calculados o estimados. Además, el Comité cree que es igualmente imprescindible conocer el trato estadístico de los datos crudos extraídos de dichas fuentes de información, así como en definitiva toda la metodología seguida para su obtención.

Tras una breve revisión de las principales tablas de composición de alimentos existentes en España, las Tablas de Composición de Alimentos del CESNID, elaboradas por el equipo del Dr. Andreu Farran de la Universidad de Barcelona cumplen el requisito de tener escrita (de forma sucinta pero completa) la metodología seguida para su obtención. Por este motivo, el Comité de Expertos sugiere bien la utilización de dichas tablas, o bien softwares de cálculo nutricional que

contengan sus valores, para calcular la ingesta nutricional observada de una población o un individuo.

Comparación de las metodologías para el establecimiento de los ADR de diferentes países o instituciones

En este apartado se ha analizado, la metodología seguida por el Food and Nutrition Borad/Institute of Medicine/Estados Unidos (FNB/IOM) (6-12), la Organización Munial de la Salud (OMS) (2;4;5), la Unión Europea (13;14), y el Reino Unido (15) para establecer sus respectivas IDR. En concreto, se identifican y comparan los tipos de fuente de datos utilizados por cada país o institución, así como los estudios clave en los que se basan las estimaciones del país o países cuya fuente de datos o nivel de documentación sean más adecuados.

A lo largo de dicha descripción se hace referencia a que “se determinan los requerimientos medios” o “se determinan las ADR”. Debe entenderse que normalmente para obetener las ADR se establecen primero los requerimientos medios y se les suma 2 veces la desviación estándar observada o, en su defecto, un coeficiente de variación del 10, 15 o 20%. Pero en algunas ocasiones y para algunos nutrientes, debido al sistema de establecimiento de las recomendaciones, se puede haber calculado primero el ADR, y después un requerimiento medio acorde con éste. Es el caso, por ejemplo, del yodo.

Energía

El **FNB/IOM** (6) utiliza el método factorial para establecer los requerimientos energéticos estimados. Para los requerimientos netos de mantenimiento emplea, para todos los grupos de edad, género y situación especial, datos que provienen de estudios observacionales longitudinales o de cohorte con marcadores biológicos isotópicos, usando la técnica del agua doblemente marcada en sujetos sanos cuyo IMC está dentro de la normalidad (los puntos de corte están establecidos según grupos de edad) y cuya variación a lo largo del estudio es nula o no significativa. Dicha técnica permite conocer el gasto energético total de los sujetos en libre movimiento (*free-living*). Posteriormente, los sujetos son clasificados según los niveles de actividad física. A partir del gasto energético total, se calculan los requerimientos energéticos estimados sumando el gasto energético de deposición de tejidos durante el crecimiento (de 0 a 19 años), de creación de nuevos tejidos durante el embarazo o el de producción de leche materna. La mayoría de datos crudos citados aparecen en la propia publicación ediatada por el FNB/IOM (6). El gasto energético de deposición

de tejidos de crecimiento y de embarazo se estima a partir de estudios observacionales de medición de la variación del peso y de la composición corporal, mientras que los requerimientos energéticos netos de la producción de leche se estiman mediante estudios observacionales de medición de volúmenes excretados de leche y estudios de análisis químicos de los nutrientes energéticos de muestras de leche materna (40-45).

La **OMS/FAO/UNU** (4) también emplea el método factorial para establecer el requerimiento energético estimado, pero se sirve de diferentes fuentes de obtención de datos según las distintas franjas de edad estudiadas. En los bebés de 0 a 12 meses, usa la misma fuente de datos descrita, es decir, estudios observacionales en los que se emplea la técnica del agua doblemente marcada y se suma el gasto energético de deposición de tejidos indicado para esta edad (estudios observacionales de medición de la variación del peso y estudios de composición de tejidos corporales). Analiza los datos de niños alimentados con leche materna y niños alimentados con leche de fórmula de forma separada. Sin embargo, para los niños y adolescentes recopila datos de estudios observacionales en los que se aplican dos técnicas de medición del gasto energético total diferentes: la técnica del agua doblemente marcada, y la técnica de la monitorización de la tasa cardíaca. Posteriormente, compara los resultados de ambas técnicas para llegar a la conclusión final. La mayoría de datos crudos aparecen en la propia publicación editada por la OMS (4). Finalmente, para los adultos y ancianos, y debido a la gran variación de tamaños corporales y de actividad física a nivel mundial, usa ecuaciones teóricas de estimación de la tasa metabólica basal (46-48), se le aplica un factor de actividad física (47;48) y se le suma el gasto energético de deposición de tejidos durante el embarazo y el gasto de la producción de leche materna.

La **Unión Europea** (13) usa prácticamente las mismas ecuaciones teóricas de estimación de la tasa metabólica basal que la OMS, pero tanto en niños como en adultos (46;47), y otras ecuaciones para ancianos (49;50) y embarazadas (51-53). Asimismo, para obtener el gasto energético total, aplica el mismo factor de actividad física (47;48) que la OMS. Para obtener los requerimientos energéticos estimados se le suma el gasto energético de deposición de tejidos durante el crecimiento y embarazo y el gasto de la producción de leche.

El **Reino Unido** (15), para los bebés de hasta 6 meses de edad que se alimentan de leche materna, no establece recomendaciones energéticas debido a que considera que si la lactancia se ofrece a demanda, la ingesta energética será suficiente. Para los sujetos de entre 0 y 3 años, recopila algunos datos de estudios observacionales que utilizan la técnica del agua doblemente marcada

propriadamente del Reino Unido para comprobar que está en estricta relación con el gasto energético total calculado mediante las ecuaciones de estimación utilizadas por la FAO/OMS/UNU (1985) (47), pero sin la inclusión del incremento del 5% que la OMS aplica debido a que se especifica que puede existir una infraestimación de los requerimientos energéticos. Para los sujetos de entre 3 y 10 años, el Reino Unido obtiene los datos de cinco estudios observacionales de encuestas nutricionales de sujetos sanos que mantienen un IMC dentro de la normalidad, y los comparan con los datos de FAO/OMS/UNU (1985) (47), pero sin la inclusión del incremento del 5% que la OMS aplica para evitar un posible aumento de la obesidad infantil. Para los sujetos adultos, usa la misma metodología y datos que la FAO/OMS/UNU (46;47). Para establecer el gasto energético de deposición de tejidos debido al embarazo, revisa los datos de diez estudios, los más actuales de los cuales son de 1987 (53;54), y para el gasto energético de la producción de leche materna, realiza análisis químicos de la leche de madres británicas (55) y suecas (56). En la ancianidad se usa las ecuaciones teóricas de Schofield (1985) (46), aplicando un factor de actividad física de 1,5.

Proteínas

El **FNB/IOM** (6) usa distintas fuentes de obtención de datos según franjas de edad. Para los bebés de entre 0-6 meses de edad establece una ingesta adecuada mediante estudios observacionales de medición de los volúmenes de ingesta de leche materna y estudios de análisis químicos de dichas leches (40-45). A partir de los 7 meses de edad usa el método factorial para estimar (a) los requerimientos para el mantenimiento, el cual es determinado mediante regresión lineal de datos de estudios de observacionales de ingesta espontánea de nitrógeno y estudios de balance nitrogenado (57-65); (b) la medida de la deposición de proteínas o AA en tejidos debido al crecimiento o embarazo, mediante estudios observacionales de aumento de peso y análisis de la composición de tejidos (66-75); (c) el gasto de nitrógeno y AA en la producción de leche materna (lactancia) (76), y (d) la estimación de la eficiencia de utilización de la proteína o AA (59;68).

La **FAO/OMS/UNU** (5), emplea el mismo método factorial del FNB/IOM descrito, revisando algunos estudios que los autores del presente capítulo consideran de interés por no haber sido utilizados por el FNB/IOM (77-79).

La **Unión Europea** (13) y el **Reino Unido** (15), al igual que el FNB/IOM, en los bebés señalan una ingesta adecuada a partir de estudios observacionales de medición de la ingesta espontánea de leche materna y estudios de análisis químicos de dichas leches. En cuanto a niños, adolescentes, adultos, y durante el embarazo y la lactancia, usan básicamente los datos de la OMS de 1985 (47;80).

Lípidos totales, ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-6 y omega-3, y ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)

El **FNB/IOM** (6), para los bebés de entre 0 y 12 meses de edad establece una ingesta adecuada de lípidos totales, AGPI omega-6 y omega-3 a través de estudios observacionales de ingesta de leche materna y alimentación complementaria y análisis químicos de composición de dicha leche y de los alimentos consumidos (40;42;43;76;81-84). Para el resto de edades se establece una ingesta adecuada de AGPI omega-3 y 6 mediante datos de ingesta espontánea de dicho nutriente de sujetos sanos obtenida a través de las encuestas nutricionales nacionales. No fija recomendaciones de lípidos totales y, pese a que no especifica una ingesta determinada de AGMI, recomienda que el porcentaje de energía total diaria aportada a través de los lípidos sea a partir de las recomendaciones de AGPI omega-3 y 6, y el resto sea cubierto por AGMI.

No se han hallado documentos que contengan unos valores de referencia de estos nutrientes de la **FAO/OMS/UNU**.

La **Unión Europea** (13) únicamente establece ingestas adecuadas de AGPI omega-3 y 6 de los 6 meses en adelante, y cita estudios observacionales y clínicos en los que se relaciona la ingesta de dichos nutrientes y su efecto positivo en la salud de la población. El Comité de Expertos del **Reino Unido** (15), por su parte, no establece recomendación para lípidos totales y concluye que no existen suficientes datos para elaborar unas recomendaciones fiables. Basa sus ingestas adecuadas de AGPI omega-3 y 6, y de AGMI en datos de estudios observacionales y clínicos en los que se establece una relación entre el consumo de ciertos niveles de ingesta de dichos nutrientes y su efecto positivo en la prevención de la salud cardiovascular, cáncer, obesidad y diabetes mellitus (los autores del presente capítulo no citan dichos artículos debido a que son muchos y fáciles de encontrar en la publicación de origen).

Ácidos grasos saturados (AGS), ácidos grasos trans (AG-trans) y colesterol

El **FNB/IOM** (6), no establece ningún valor de recomendación de ingesta de AGS, AG-trans o colesterol, porque considera: (a) que no es esencial su ingesta (85), (b) que la población consume un exceso de éstos, (c) que su ingesta tiene actualmente graves consecuencias en la salud de la población estadounidense. De esta forma fija la recomendación de ingerir la mínima cantidad posible de dichos nutrientes.

No se han hallado documentos que aporten valores de referencia de estos nutrientes de la **FAO/OMS/UNU**. La **Unión Europea** no establece recomendaciones de AGS, AG-trans y colesterol (13). El Comité de Expertos del **Reino Unido** (15;19), establece un límite de ingesta máxima de dichos nutrientes a partir de datos de estudios observacionales y clínicos en los que se observa una relación entre el consumo de ciertos niveles de dichos nutrientes y su efecto negativo en el desarrollo de enfermedad cardiovascular, cáncer, obesidad y diabetes mellitus (los autores del presente capítulo no citan dichos artículos debido a que son muchos y fáciles de encontrar en la publicación de origen).

Hidratos de carbono

El **FNB/IOM** (6), en bebés hasta un año de edad, ha establecido unas ingestas adecuadas según datos de estudios observacionales de medida de la ingesta espontánea de leche materna y de alimentación complementaria y de sus pertinentes análisis químicos (40;42-45;76;81-83;86). A partir de la edad de un año, establece una recomendación basada en estudios experimentales para la determinación de la cantidad de glucosa que debe ser aportada con la dieta para su utilización por parte del cerebro, sin la necesidad de llevar a cabo gluconeogénesis a partir de proteínas y glicerol (87-89), y sin producción de cuerpos cetónicos (90-92). Para el embarazo, siguiendo el modelo factorial, se suma la cantidad de glucosa gastada por el feto (estudios de determinación de gasto energético y de sustratos energéticos) (93-95). Durante la lactancia, se suma la cantidad de HC secretada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico). Asimismo, ha usado estudios parecidos a los indicados para los adultos, pero específicos para la ancianidad (96-98).

La **FAO/OMS/UNU** (4), la **Unión Europea** (13) y el **Reino Unido** (15), pese a que no aportan una metodología específica para ofrecer una recomendación cuantitativa de HC, coinciden con la idea de que la ingesta de almidones y azúcares intrínsecos y de la leche debe suponer la energía restante que no es aportada por las proteínas y lípidos totales, limitándose la ingesta de azúcares extrínsecos. Según los datos aportados por el Reino Unido, la cuantificación del límite de ingesta de azúcares extrínsecos es escasa, sin embargo, establece que la ingesta de dichos azúcares por parte de la población no debería superar los 60 gramos/día o el 10% de la ingesta energética total diaria, y que el consumo de 200gramos /día o el 30% de la ingesta dietética diaria de dichos azúcares puede significar el aumento de los niveles de glucosa, insulina y lípidos plasmáticos por encima de lo recomendado.

Fibra

El **FNB/IOM** (6) no establece ninguna ingesta de referencia hasta cumplido un año de edad. A partir de un año y hasta los 18, calcula los valores aportados mediante extrapolación de datos en adultos, aplicando una proporción de fibra/energía de 14 g/1.000 kcal. Para mayores de 18 años, durante el embarazo, la lactancia y la ancianidad, propone unas ingestas recomendadas a partir de estudios observacionales y clínicos que establecen una relación entre un nivel de ingesta de fibra y la prevención de enfermedades coronarias y funcionalidad mecánica óptima (99-101). Pese a que también establece relaciones entre consumo de fibra y prevención de algunos tipos de cáncer, diabetes mellitus y obesidad, el Comité de Expertos del IOM indica que las ingestas recomendadas no pueden basarse en dichas asociaciones debido a la falta de solidez de éstas.

La **FAO/OMS/UNU** y la **Unión Europea** no establecen ninguna recomendación para este nutriente. El **Reino Unido** (15;20) hace una aproximación similar a la del IOM, llegando a conclusiones cuantitativamente muy diferentes (los autores del presente capítulo no citan dichos artículos debido a que son muchos y fáciles de encontrar en la publicación de origen). El **Reino Unido** (15;20) no señala ingestas recomendadas para niños por falta de datos en dicha población.

Minerales

Calcio

El **FNB/IOM** (7), para establecer las ingestas recomendadas de calcio, se fija en diferentes aspectos de ingesta de calcio y salud. Los estudios observacionales que relacionan la ingesta de calcio con la incidencia de fractura de cadera no pueden ser la base del establecimiento de las IDR debido a numerosos factores de confusión, asimismo, los estudios transversales que relacionan la ingesta de calcio y el contenido de masa ósea (en inglés *Bone Mass Content*, BMC) o densidad de masa ósea (en inglés, *Bone Mass Density*, BMD), medidos con DEXA, pueden tener un papel modesto en la determinación de las ingestas recomendadas. En contraposición, los estudios clínicos controlados aleatorizados (ECCA) que miden la influencia de la ingesta de calcio y la variación de BMC y/o BMD (según sea en niños o adultos) son una fuente de información que proporciona un fuerte nivel de evidencia. Un aspecto a tener en cuenta en la interpretación de los resultados de estudios de intervención longitudinales, es la llamada remodelación ósea transitoria (en inglés, *Bone Remodeling Transient*), que es un aumento de la masa ósea transitoria que se da entre los 3 y 12 meses del inicio de la suplementación con calcio. Esto produce que las intervenciones tengan que ser de como mínimo dos años de duración, siendo más reales las mediciones a partir del comienzo del segundo año. Asimismo, los estudios de balance de calcio

son utilizados para obtener datos de la relación entre ingesta y retención deseable preestablecida (metodología más refinada que la determinación del punto en que una ingesta de calcio extra no produce un aumento significativo de su retención, llamado *plateau intake*). Hasta los 6 meses de edad, el FNB/ IOM usa estudios observacionales de ingesta de leche materna y determinación química del contenido de calcio en dicha leche (40,41,102,103). También recurre a estudios de balance de retención de calcio utilizando marcadores isotópicos para determinar el porcentaje de retención de calcio en relación con la ingesta (104,105). Para edades de entre 7 y 12 meses emplea un sistema parecido, calculando la ingesta adecuada a partir de datos observacionales de ingesta de calcio a través de leche materna y de la alimentación complementaria (44,102). Entre 1 y 8 años, usa el método factorial considerando principalmente los datos de modificación del contenido de la masa ósea observada en dicha edad usando DEXA (106), y de estudios de balance de calcio (107). La mayoría de referencias para estimar la ingesta adecuada en edades de entre 9 a 18 años están basadas en datos de balance de calcio en el género femenino y estudios clínicos de medida del contenido de masa ósea en dichas edades (108-110). Debido a la falta de datos, en edades de entre 19 y 30 años, la ingesta adecuada de calcio se calcula a partir de estudios de balance de calcio en los cuales se puedan observar pequeños aumentos de la masa ósea en relación con una ingesta determinada (107,108). Entre los 31 y 50 años usa datos de balance de calcio y de densidad de masa ósea (111). Asimismo la ingesta adecuada de calcio en hombres y mujeres de edades entre 51 y 70 años (y mayores) se establece mediante datos de estudios clínicos experimentales en los que se identifica la ingesta de calcio con una pérdida mínima de densidad ósea en mujeres, y mediante estudios de balance de calcio. No especifica una ingesta adecuada de calcio superior durante el embarazo o lactancia debido a un aumento de la capacidad de absorción y retención de calcio.

La OMS (2) usa principalmente datos que provienen de diferentes países desarrollados, acumulando 210 estudios de balance de calcio bien realizados (dietas bien definidas y recolección de heces y orina de forma adecuada) cuya duración media es de 90 días. Sin embargo, en la infancia y adolescencia (hasta los 18 años de edad), emplea el método factorial, en el que los requerimientos se han calculado teniendo en cuenta la cantidad de calcio diaria acumulada en los huesos (estudios con DEXA) (112), más las pérdidas urinarias e insensibles en cada edad, mediante estudios de balance (113), y teniendo en cuenta la tasa de absorción de calcio en cada edad (estudios de balance con técnicas isotópicas) (114-118). En mujeres mayores de 50 años usa datos de estudios observacionales en los que un análisis químico de calcio urinario determina el aumento de la excreción mediante dicha vía durante la menopausia (119;120). Durante el

embarazo, pese a que tiene en cuenta la mayor tasa de absorción de calcio por parte de las embarazadas, la OMS sí que establece unas recomendaciones superiores para ellas durante el tercer trimestre de gestación, de acuerdo con estudios sobre la cantidad de calcio retenida por parte del feto (estudios de aumento de masa ósea del feto mediante DEXA) (112). Sin embargo, no establece unos requerimientos aumentados para las mujeres durante la lactancia materna.

La **Unión Europea (13)** describe que es realmente difícil el establecimiento de las necesidades de calcio debido a los numerosos factores que inciden sobre él. En niños de entre 1 y 10 años de edad fija los requerimientos mediante el método factorial, en el que se tienen en cuenta la retención de calcio para permitir el crecimiento óseo, y la biodisponibilidad (estudio de revisión) (121). A falta de datos, para bebés de entre 6 y 11 meses de edad establece los mismos requerimientos que para niños de entre 1 y 3 años de edad, y en el caso de los adolescentes suma a los requerimientos para los adultos la retención de calcio necesaria para el crecimiento óseo (no se indica la fuente de dichos datos). Para establecer los requerimientos para los adultos usa asimismo el sistema factorial en el que se toman datos de las pérdidas no fecales (urinarias, sudor y otros) (estudio de revisión) (122) y la biodisponibilidad (elige una tasa de absorción baja sin especificar la fuente de dichos datos). No establece requerimientos aumentados durante el embarazo y la lactancia.

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de calcio en niños de entre 0 y 12 meses de edad mediante el sistema factorial, teniendo en cuenta la retención de calcio para un correcto desarrollo de los huesos (con el mismo estudio que se ha usado en la Unión Europea) (121) y la tasa de absorción de calcio según su fuente alimentaria (leche materna o fórmula infantil) (estudios de revisión) (123;124). Para los niños del resto de edades hasta la adolescencia, estima los requerimientos de la misma forma que en los niños de edades de 0 a 1 año de edad a partir de un estudio de revisión de dicho tema cuyos sujetos son niños de entre 1y 10 años (121). En la adolescencia fija los requerimientos siguiendo la misma metodología, pero sin indicar la fuente de datos para este grupo de edad. En adultos, establece los requerimientos mediante el sistema factorial teniendo en cuenta las pérdidas urinarias de calcio y de pérdidas insensibles (piel, sudor, pelo y uñas), y la tasa de absorción de calcio. No indica la fuente de dichos datos, pero establece que el resultado final es comparable a los resultados de un estudio de balance publicado en 1986 (125). No especifica requerimientos aumentados durante el embarazo, sin embargo, durante la lactancia éstos son calculados en función de la cantidad secretada a través de la leche materna (no indica los estudios fuente de dichos datos). Tampoco establece recomendaciones especiales para la postmenopáusea y la ancianidad, ni requerimientos superiores para embarazo o lactancia.

Fósforo

El **FNB/IOM (7)**, entre los 0 y 12 meses de edad, establece una ingesta adecuada basada en estudios observacionales de ingesta de dicho nutriente a través de la leche y de la alimentación complementaria (40,42,44,102,126,127), que coteja con datos de estudios longitudinales de los niveles de fósforo sérico a dichos niveles de ingesta (126). A partir de 1 año de edad y hasta los 18 años, establece unos requerimientos medios estimados mediante el método factorial en el que se tienen en cuenta los requerimientos de mantenimiento y de crecimiento a partir de estudios observacionales longitudinales y transversales (106;110;128-131), así como el coeficiente de absorción (estudios con técnicas isotópicas) (129;132). A partir de los 19 años de edad, los requerimientos medios estimados se han establecido según estudios de balance en los que se determina el nivel de ingesta necesario para conservar los niveles séricos de fósforo más bajos pero dentro de la normalidad (133), y la determinación del coeficiente de absorción. No establece una RDA específica durante el embarazo o lactancia.

La **OMS** no establece recomendaciones para este mineral.

La **Unión Europea (13)** observa que el calcio y el fósforo deben estar en equivalencia molar, estableciéndose de esta forma las recomendaciones para este mineral. No indica la fuente de dicha afirmación.

El **Reino Unido (15)** señala que pese a que convencionalmente los requerimientos de fósforo se establecen según la equivalencia de masa (1 mg de calcio:1 mg de fósforo), debido a que la equivalencia en el cuerpo es equimolar, parece más razonable establecer los requerimientos de forma equimolar (1 mmol de calcio:1 mmol de fósforo). Así pues, establece los requerimientos de dicho mineral de la misma forma que lo hace la Unión Europea. Tampoco figura la fuente de dichos datos.

Potasio

El **FNB/IOM (11)**, en edades comprendidas entre 0 y 12 meses, ha establecido una ingesta adecuada de acuerdo con datos de ingesta espontánea de dicho nutriente en sujetos sanos a partir de leche materna y de alimentación complementaria (estudios observacionales y de análisis químico) (42-44;76;102). En niños de entre 1 y 18 años, debido a la falta de datos en esta franja de edad, se han extrapolado los datos de los adultos. En edades entre los 19 y 50 años y edades superiores (por falta de datos que indiquen unas necesidades extras), se ha establecido una ingesta

adecuada a partir de datos de estudios clínicos controlados aleatorizados y estudios observacionales que muestran que cierto nivel de ingesta de potasio ayuda a reducir la presión arterial, produce una disminución del riesgo de padecer cálculos renales y previene contra la dismunción de la masa ósea y enfermedades cardiovasculares (134-136). No se ha fijado una ingesta adecuada específica durante el embarazo. Sin embargo, durante la lactancia, se ha añadido a la ingesta adecuada establecida para las mujeres adultas, la cantidad de potasio secretada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (42-44;76;102).

La **OMS** no establece recomendaciones para este nutriente.

La **Unión Europea (13)** estima unos requerimientos de potasio basándose en un estudio en el que se identifica la cantidad de este mineral necesario para mantener los niveles plasmáticos y restablecer las pérdidas (fecales, urinarias y otras) (137). En niños, fija los requerimientos usando el método factorial, teniendo en cuenta las pérdidas totales y la necesidad para formar tejidos en época de crecimiento, sin embargo, no indica la fuente de dichos datos. No establece requerimientos aumentados para embarazo o lactancia.

El **Reino Unido (15)** pese a que establece requerimientos de este mineral, no explica con suficiente claridad y detalle la metodología seguida para su obtención, y en todo caso, tampoco cita la fuente de los datos.

Sodio y cloro

El **FNB/IOM (11)**, en edades comprendidas entre 0 y 12 meses, ha establecido una ingesta adecuada de sodio a partir de datos de ingesta espontánea de dicho nutriente en sujetos sanos a partir de leche materna y de alimentación complementaria (estudios observacionales y análisis químicos) (42-44;76;102). En niños de entre 1 y 18 años ha extrapolado una ingesta adecuada de sodio a partir de datos en adultos. En adultos de entre 19 y 50 años ha establecido una ingesta adecuada de sodio teniendo en cuenta: (a) datos de estudios observacionales que indican que el nivel de ingesta de sodio recomendado ha sido suficiente para evitar el aumento de la hipertensión (debido al sodio de la dieta), y permite llegar a tener una ingesta suficiente del resto de nutrientes (138-140), y (b) datos de estudios de balance que permiten la determinación de las pérdidas de sodio a través del sudor en ambientes calurosos (40°) o en sujetos moderadamente activos (no sirve para atletas cuya actividad física sea alta) (141). La ingesta adecuada de cloro se ha establecido sobre la base de la cantidad de cloruro que aporta el equivalente en cloruro sódico de la ingesta adecuada de sodio. Debido a la falta de datos, la ingesta adecuada de sodio y cloruro en adultos

mayores de 51 años se ha establecido mediante extrapolación de datos de los adultos más jóvenes de acuerdo con la ingesta energética. No se ha establecido una ingesta adecuada específica durante el embarazo o lactancia.

La **OMS** no establece recomendaciones para dicho nutriente.

La **Unión Europea (13)** fija para los adultos un rango aceptable de ingesta de sodio. El límite inferior, lo establece basándose en la cantidad mínima de sodio que se debe ingerir para reponer la cantidad perdida a través de la orina y del sudor en sitios calurosos (no indica la fuente de dichos datos), y el límite superior lo establece de acuerdo con la cantidad de sodio a la cual aún no se altera la presión arterial (142-145). No se fija ninguna otra recomendación específica para otros grupos de edades o estados fisiológicos. De igual forma que el FNB/IOM, la Unión Europea añade que debido a que el principal aporte de cloro de la dieta es a través de cloruro sódico, la cantidad de cloro ingerido debe corresponderse con la recomendación de sodio (equivalencia en cloruro sódico).

El **Reino Unido (15)** establece una ingesta recomendada en adultos, sin embargo, no especifica exactamente la fuente de dicha decisión. Tras una lectura profunda, los autores del presente documento concluyen que puede derivarse de tres artículos de revisión de estudios observacionales (143;144;146), en los cual se identifica el efecto de la reducción de sodio sobre la presión arterial. En niños hasta los 6 meses de edad, se han establecido los requerimientos según la ingesta de sodio a través de la leche materna (no se indica la fuente de dichos datos), y en niños de mayor edad hasta la adolescencia, se ha establecido según la estimación de la retención de sodio durante el crecimiento (estudios de composición corporal mediante análisis químicos) (147). Asimismo, el Reino Unido establece los requerimientos de cloro de forma equimolar a la cantidad recomendada de sodio. No existen unas recomendaciones específicas para embarazo o lactancia.

Yodo

El **FNB/IOM (10)**, en edades comprendidas entre 0 y 6 meses, ha establecido una ingesta adecuada a partir de datos de ingesta espontánea de dicho nutriente en sujetos sanos a partir de leche materna y de alimentación complementaria (estudios observacionales y análisis químicos), y estudios de balance de yodo (42-44;76;102;148-151). Para niños de entre 7 y 12 meses de edad, ha establecido una ingesta adecuada a partir de extrapolación de datos de bebés más jóvenes. Para estimar el requerimiento medio de yodo de los niños de entre 1 y 8 años, ha usado datos de estudios de balance de yodo (152). Para las niños de entre 9 y 13 años, ha usado estudios

observacionales en los que se mide la excreción urinaria de yodo y la prevalencia de bocio determinado mediante ultrasonidos. A partir de dichos datos se ha estimado la concentración de yodo en orina cuya prevalencia de bocio sea solo del 2%. De esta forma, dicha concentración de yodo en orina es la que se corresponde con un 98% de población sin bocio. A partir de la concentración de yodo en orina, se puede establecer el ADR conociendo los siguientes datos: (a) volumen medio de orina diario excretado por un niño de dicha edad (153), (b) porcentaje de yodo excretado respecto al ingerido (estudios de balance) (154;155). Para obtener los requerimientos medios en la franja de edad de entre 9 y 13 años de edad, ha extrapolado las magnitudes a partir de datos en adultos. Asimismo, para los niños de entre 14 y 18 años, ha establecido los requerimientos extrapolando a partir de datos en adultos. Para los adultos de 19 años y más, ha usado estudios de alimentación humana controlada en los que se observa la acumulación y renovación de yodo (radio-marcado) en la tiroides (156-159) para establecer los requerimientos medios. En mujeres embarazadas ha usado distintas aproximaciones para llegar a la conclusión: (a) estudios de alimentación humana controlada con determinación de las concentraciones de yodo acumuladas en el feto, añadiéndole los requerimientos de la mujer no embarazada (160;161), o (b) estudios de balance de yodo en mujeres embarazadas (162;163). Durante la lactancia, los requerimientos medios estimados se calculan añadiendo a los requerimientos de la mujer, la cantidad segregada a través de la leche materna (42-44;76;102;148-151).

La OMS (2), para establecer los requerimientos de yodo para los niños de edades entre 0 y 6 meses de edad, indica que no se puede basar sólo en el análisis de la ingesta de este mineral a través de la leche materna, debido a que su secreción depende del estado de yodo de la mujer que da el pecho. La institución recomienda que los requerimientos sean basados en estudios de alimentación humana controlada de balance nutricional (citando un estudio utilizado también por el FNB/IOM) (156) mediante los cuales se puede establecer la ingesta necesaria para producir una excreción urinaria que se ha comprobado está en relación con la repleción de yodo. Para los niños del resto de edades, ha establecido los requerimientos de dicha vitamina mediante un estudio de alimentación humana controlada con técnicas isotópicas, en el cual se establece la relación entre diferentes niveles de ingesta de yodo, su excreción urinaria y su utilización (usando como marcador la hormona tiroidea) (164). En adultos, se han obtenido los requerimientos a partir de estudios de alimentación humana controlada de balance nutricional en los que se determina para diferentes niveles de ingesta la concentración de yodo excretado con relación al tamaño de la glándula tiroides y de la TSH sérica (165-167). De una forma similar ha determinado el aumento

de los requerimientos en el embarazo según diferentes tipos de estudios (depleción-repleción, estudios de balance, estudios de suplementación con grupo control) (168;169).

La **Unión Europea (13)** estima los requerimientos de yodo en adultos de acuerdo con un estudio de ingesta alimentaria controlada en que se monitoriza la concentración de yodo en la glándula tiroidea (170). Los requerimientos para niños son calculados extrapolando a partir de datos en adultos. No se fijan requerimientos aumentados durante el embarazo, sin embargo, sí que se establecen durante la lactancia basándose en la cantidad que requiere el bebé (más que en la cantidad secretada a través de la leche materna).

El **Reino Unido (15)** establece unos requerimientos en adultos a partir de estudios de profilaxis de bocio a nivel poblacional (estudio observacional) (171), sumándole una cantidad de seguridad fijada de forma un poco arbitraria. En niños de entre 0 y 6 meses de edad, estima los requerimientos basándose en la ingesta de yodo a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (149), y en el resto de franjas de edad de niños extrapola a partir de datos en adultos en función del gasto energético. No se incrementan las cantidades recomendadas durante embarazo o lactancia.

Hierro

El **FNB/IOM**, en los niños de entre 0 y 6 meses de edad, ha establecido una ingesta adecuada de hierro a partir de los datos de excreción de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (42-44;48;76;102). Entre los 7 meses y 8 años de edad, ha establecido unos requerimientos medios estimados mediante la aproximación factorial: (a) pérdidas obligatorias de hierro a través de las heces, orina y piel (estudios de balance y estudios con técnicas isotópicas) (172;173), (b) aumento de la cantidad de hemoglobina, la cual se calcula a partir de la velocidad de crecimiento (estudios observacionales para el establecimiento de curvas de crecimiento) (174), el volumen de sangre corporal (175;176), la concentración de hemoglobina sanguínea, y la concentración de hierro en la hemoglobina (177), (c) aumento de los tejidos (no almacenaje) (177), (d) aumento del hierro en almacenaje (178), (e) aplicando un 10% de biodisponibilidad del hierro en niños entre 7 y 12 meses y del 18% en edades comprendidas entre 1 y 8 años. Para los sujetos de entre 9 y 18 años y más años de edad, ha usado el mismo sistema factorial indicado anteriormente, añadiendo las pérdidas debidas a la menstruación a partir de los 14 años y hasta los 50 años (estudios observacionales) (172;175-177;179), y no usando las pérdidas por deposición de tejido debido al crecimiento en las edades comprendidas entre los 19 y 50 años. Durante el embarazo, ha determinado la ingesta adecuada de hierro mediante el mismo

sistema factorial usado en adultos, teniendo en cuenta además: (a) deposición de hierro en el feto y en los tejidos asociados (datos de la OMS de 1988)(142) (b) aumento de la hemoglobina (datos de la OMS de 1988)(142), (c) biodisponibilidad de hierro del 25% durante el segundo y tercer trimestre (180). Durante la lactancia, ha usado el mismo sistema factorial que en adultos, sumándole la secreción de hierro a través de la leche (estudios observacionales y de análisis químico) (42-44;48;76;102), y suponiendo que durante los seis primeros meses de lactancia materna exclusiva no habrá menstruación.

La **OMS (2)**, pese a que no describe con mucha claridad la metodología seguida para el establecimiento de los requerimientos de hierro en los distintos grupos de población, parece basarse en la recomendaciones establecidas en 1988 (181), con algunos matices más actuales sobre la biodisponibilidad de hierro. Las recomendaciones cuantitativas de hierro varían inversamente a su biodisponibilidad, considerando ésta en cuatro porcentajes distintos: 5, 10, 12 y 15 %. Se aconseja su suplementación a todas las embarazadas.

La **Unión Europea (13)** establece los requerimientos de hierro para los hombres adultos y mujeres postmenopáusicas a partir de estudios de excreción de dicho nutriente (cita un estudio, el cual ha sido tenido en cuenta por el FNB/IOM) (172). En mujeres en edad fértil hay que añadir las pérdidas menstruales, las cuales, pese a que pueden variar mucho entre diferentes mujeres, se mantienen estables en cada individuo. Se han usado modelos matemáticos para calcular los efectos de la edad en las variaciones menstruales para así poder establecer las pérdidas de hierro a lo largo de toda la vida. Dicho análisis se basa en datos de un estudio sueco (182), que es del mismo autor que el usado por Estados Unidos, pero 26 años más antiguo (179). En adolescentes del género femenino, además de los requerimientos nombrados, se les debe añadir la cantidad retenida para el correcto crecimiento, establecido a partir de un estudio observacional (183) y de los patrones de crecimiento indicados en un documento de la FAO/OMS de 1988 (142). En varones adolescentes debe sumarse a la cantidad estimada para los adultos el aumento de los requerimientos para el crecimiento (183). Durante el embarazo se establecen unos requerimientos aumentados usando el método factorial y en base a las pérdidas basales, cantidad de hierro retenida por el feto y la placenta, y la expansión de los eritrocitos. Dichos datos han sido obtenidos mediante estudios de balance de hierro (184), y se recomienda la ingesta de un suplemento de hierro durante el tercer trimestre del embarazo debido al aumento de los requerimientos en este período (recomendaciones de la FAO/OMS 1988 y 1989) (142;185). Durante la lactancia, y teniendo en cuenta la falta de menstruación en dicho período, el aumento de los requerimientos se establece en función de la

cantidad de hierro excretada a través de la leche materna (no se indica la fuente de dichos datos). Pese a que se fijan unos requerimientos para niños de entre 6 y 12 meses de edad, no se indica la fuente de dichos datos.

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de hierro mediante el método factorial. En niños de entre 0 y 6 meses de edad, tiene en cuenta las pérdidas de descamación gastrointestinal, biliar y excreción urinaria (estudio citado por el FNB/IOM y la Unión Europea) (172), el aumento de eritrocitos y de tejidos durante el crecimiento (no se indica la fuente de dichos datos) y la tasa de absorción de hierro (estudio de revisión) (186). Los mismos factores han sido tenidos en cuenta para el cálculo de los requerimientos en niños mayores de 1 año y hasta la pubertad en las mujeres, o hasta el final de la adolescencia en los hombres, pero aplicando una tasa de absorción de hierro diferente y acorde con el descrito por la FAO/OMS en 1988 (142). Para el género femenino, deben tenerse en cuenta las pérdidas de hierro debidas a la menstruación, desde su inicio hasta la desaparición de la misma (187) (estudio observacional del mismo autor que el usado por FNB/IOM pero 25 años más antiguo). Para la edad adulta, se tienen en cuenta todos los factores indicados anteriormente excepto el de crecimiento. No se establecen recomendaciones aumentadas durante el embarazo ni en la lactancia, debido a que la movilización de las reservas debería ser suficiente (188).

Zinc

El **FNB/IOM (10)**, en los niños de entre 0 y 6 meses de edad, ha establecido una ingesta adecuada de hierro a partir de los datos de excreción de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químicos) (40;42-44;76;102;189;190). En niños entre 7 meses y 3 años de edad, ha establecido unos requerimientos medios estimados mediante la aproximación factorial: (a) las pérdidas obligatorias de zinc (extrapoladas a partir de datos en adultos mayores de 19 años, cotejándolas con algunos estudios realizados en sujetos de dicha edad), (b) los requerimientos de zinc para el crecimiento (usando datos de análisis de composición corporal y análisis químico de zinc (191) y de aumento de peso corporal en dichas edades), y (c) el porcentaje de absorción de dicho nutriente (105;192;193). Entre los 4 y 18 años de edad ha usado el mismo sistema factorial indicado anteriormente, añadiendo en las edades comprendidas entre 14 y 18 años, la cantidad de zinc eliminada a través de las pérdidas menstruales y de semen. En adultos mayores de 19 años ha usado el siguiente método factorial: (a) pérdidas obligatorias de zinc a través de otras vías diferentes de la intestinal (orina, sudor o piel) (estudios de balance y técnicas isotópicas) (194-196), menstruación (197), y semen (estudios de balance y depleción-repleción) (198;199), (b) biodisponibilidad de zinc, estimado a partir de la relación entre la ingesta de dicho

nutriente y su excreción a través de las heces (estudios de balance y técnicas isotópicas) (195;200). Durante el embarazo, usa la misma aproximación factorial, añadiendo la cantidad de zinc acumulada por el feto y los tejidos asociados a éste (201), y en la lactancia, tiene en cuenta la pérdida de zinc a través de la leche materna (estudios observacionales y análisis químicos) (42-44;48;76;102;190), restando una parte de zinc endógeno que proviene de la involución del útero y la disminución del volumen sanguíneo (202).

La **OMS (2)** establece los requerimientos de zinc a través del método factorial (197;198;203;204) con una metodología similar a la seguida por el FNB/IOM (10), pero prescindiendo de muchos detalles de importancia para su evaluación. Al igual que sucede con el hierro, las cantidades de zinc recomendadas varían inversamente a su grado de disponibilidad, clasificándose éste en bajo, moderado y alto. Las cantidades recomendadas aumentan durante el embarazo y la lactancia.

La **Unión Europea (13)** ha estimado los requerimientos de zinc para adultos mediante el sistema factorial y basándose en: (a) la estimación de las pérdidas basales (fecales, urinarias, seminales, menstruales), (b) la estimación de la renovación de los almacenes, y (c) la estimación de la biodisponibilidad. Para realizar dichas estimaciones se han usado estudios de alimentación humana controlada de depleción-repleción, estudios de balance nutricional (algunos estudios con técnicas isotópicas), y estudios clínicos con nutrición parenteral (200;202;204). Asimismo, para los niños de entre 6 y 11 meses de edad, ha estimado los requerimientos de zinc en base al sistema factorial, añadiendo los requerimientos de zinc para el crecimiento y eliminando de la ecuación las pérdidas seminales o de menstruación (205). Durante el embarazo, no ha establecido unos requerimientos aumentados, sin embargo para la lactancia sí que considera un aumento de dichos requerimientos, aunque no indica la fuente de dicha información.

El **Reino Unido (15)** estima los requerimientos de zinc en adultos mediante el método factorial en el cual se tienen en cuenta: (a) las pérdidas urinarias y fecales, (b) las pérdidas a través de la piel y el pelo, o (c) de semen y de menstruación (202;206), aplicando la tasa de absorción estimada (no identifica la fuente de algunos de los datos ofrecidos). En niños de entre 0 y 6 meses de edad, establece los requerimientos de la misma forma, pero añadiendo el gasto de zinc debido al aumento de peso y de tejidos (205). Para los niños de más de 1 año de edad y hasta los 18 años, ha interpolado la cantidad de ingesta adecuada de zinc a partir de datos en adultos, y le ha añadido la cantidad utilizada para el crecimiento (no indica la fuente de dichos datos). No establece ningún incremento de los requerimientos para las embarazadas, sin embargo, sí que establece un aumento

de los requerimientos durante la lactancia en función de la secreción de zinc a través de la leche materna (no indica la fuente de dichos datos).

Selenio

El FNB/IOM, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 12 meses, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (40-42;76;207;208). Para las edades comprendidas entre los 7 y 12 meses de edad, se han seguido dos metodologías de aproximación a los cálculos de la ingesta adecuada: (a) extrapolación a partir de datos de niños de entre 0 y 6 meses de edad, y (b) establecimiento de la ingesta espontánea de selenio de niños sanos a través de la leche materna y de la alimentación complementaria (encuestas nutricionales). Mediante ambos métodos se llega a la misma conclusión. En niños de entre 1 y 18 años, se han estimado unos requerimientos medios a partir de datos en adultos y asegurándose que dicha cantidad pueda prevenir la aparición de la enfermedad de Keshan. En adultos de entre 19 y 50 años de edad, se ha establecido unos requerimientos medios estimados a partir de estudios de intervención (209) en los cuales se establece la cantidad de selenio ingerida a través de los alimentos y se le añade una suplementación a distintas dosis de selenio. Usando como marcadores la actividad de la glutatión peroxidasa, se establece la dosis de selenio que permite la concentración máxima de selenoproteínas plasmáticas. No se han establecido unos requerimientos distintos en edades de más de 50 años. En el caso del embarazo, se establece la ingesta recomendada de selenio añadiendo al requerimiento medio estimado de selenio de mujeres no embarazadas la deposición fetal de selenio. Este último se estima a partir de datos de estudios químicos de composición de selenio en los tejidos fetales (210). En el caso de las mujeres que dan lactancia materna, se añade al requerimiento medio estimado de selenio de mujeres que no dan lactancia la cantidad de selenio secretada a través de la leche materna(40-42;76;207;208).

La **OMS (2)** ha establecido las recomendaciones de selenio siguiendo la metodología y datos propuestos en un documento publicado en 1996 (211), teniendo en cuenta además datos de estudios epidemiológicos y clínicos para la prevención de la enfermedad de Keshan (212). Pese a que se evalúan otros marcadores biológicos para el establecimiento de dichas recomendaciones, se menciona que el estado de la glutatión peroxidasa en estudios de alimentación humana controlada sigue teniendo validez para el establecimiento de las recomendaciones de selenio, por lo que se ha mantenido la metodología y datos ofrecidos en el documento publicado en 1996 para la mayoría de edades (211). En niños de entre 0 y 6 meses de edad se han establecido los requerimientos en función de la cantidad de selenio secretada a través de la leche materna (213). Para el establecimiento del aumento de los requerimientos durante el embarazo, se ha usado el método

factorial, teniendo en cuenta la cantidad de selenio retenida por el feto y los tejidos asociados (211;214). Asimismo, para el establecimiento del aumento de los requerimientos de selenio en las mujeres que dan lactancia materna, se ha sumando la cantidad de selenio excretada a través de la leche (213).

La **Unión Europea (13)** estima los requerimientos de selenio basándose en estudios de alimentación humana controlada en los que se establece la ingesta capaz de saturar la actividad de la glutatión peroxidado.

En niños los requerimientos han sido calculados extrapolando los datos en adultos en función del peso corporal. No se establece un aumento de los requerimientos de selenio durante el embarazo, sin embargo, sí que se establece para la lactancia en función de la cantidad de selenio excretada a través de la leche materna (215).

El **Reino Unido (15)**, pese a que establece requerimientos en niños de entre 0 y 12 meses de edad, no explica con suficiente detalle la metodología seguida para llegar a tales conclusiones, aunque parece que los requerimientos para niños que toman pecho se calculan en función de la secreción de selenio a través de la leche materna. Para el niño de entre 1 y 18 años de edad se interpola a partir de datos en adultos en base al peso corporal. Tampoco en el caso de los adultos queda perfectamente clara la metodología seguida, sin embargo, parece ser que debido a que la ingesta de selenio espontánea por parte de la población del Reino Unido está en los niveles adecuados (según saturación de la actividad de la glutatión peroxidasa) (no se indica la fuente de dichos datos), se considera que dicho nivel de ingesta debe ser la ingesta recomendada. No se establecen requerimientos aumentados durante el embarazo, pero sí un aumento de los requerimientos durante la lactancia en función de la cantidad secretada a través de la leche materna (216).

Magnesio

El **FNB/IOM (7)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses de edad, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102), y en las edades de entre 7 y 12 meses, se le añade la ingesta espontánea de magnesio a través de la alimentación complementaria (estudio observacional-encuesta nutricional) (217). En edades comprendidas entre 1 y 8 años, se ha interpolado a partir de datos en adolescentes. Entre 9 y 13 años, se han usado datos de estudios de balance en los que se identifica el nivel de ingesta de magnesio necesario para establecer un equilibrio (218;219). En edades de entre 14 y 18 años, se usan asimismo estudios de balance para determinar el nivel de ingesta que produce un balance positivo cercano al equilibrio de dicho

nutriente (218-220). De la misma forma, se establecen los requerimientos medios estimados en mayores de 19 años (estudios de balance nutricional) (221;222). Para mayores de 70 años no se establecen unos requerimientos aumentados. En el embarazo, se ha añadido al requerimiento medio estimado de la mujer, la retención de magnesio debido al aumento de peso corporal. Se ha tenido en cuenta: (a) la ganancia de peso magro corporal durante el embarazo (223), (b) la concentración de magnesio en la masa magra corporal (191), y (c) el ajuste por biodisponibilidad de dicho mineral (estudio de balance) (219). En la lactancia, y pese que se segregue magnesio a través de la leche materna (40;42-44;48;76;102), gracias a estudios de balance realizados en mujeres que dan el pecho (224) se ha podido constatar que no es necesaria una ingesta extra de magnesio durante esta etapa de la vida.

La **OMS (2)** indica que existen pocos estudios en los que se pueda observar la relación entre la ingesta de magnesio y su estado corporal. Para los niños de entre 0 y 10 meses de edad, se han establecido los requerimientos en función de la cantidad secretada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (214;225;226). Para el resto de edades, la OMS indica que son los estudios de alimentación humana controlada de balance nutricional y de depleción-repleción en los que se utilice además algún marcador biológico, los tipos de estudio que se requieren para establecer los requerimientos de dicho mineral (214;218;227;228). A pesar de que la acumulación de magnesio por parte del feto y de la placenta, no se han incrementado los requerimientos de este nutriente durante el embarazo (no se indica la fuente de dichos datos). El aumento de los requerimientos en la lactancia se establece en función de la secreción de magnesio a través de la leche materna (214;225;226).

La **Unión Europea (13)** establece los requerimientos de magnesio en adultos basándose en la ingesta espontánea de la población, sin embargo, en el documento no se indica la fuente de dicha información. En niños de entre 6 meses y 17 años se ha extrapolado a partir de datos en adultos en función del peso corporal.

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de magnesio en niños de entre 0 y 6 meses de edad basándose en la ingesta de magnesio a través de la leche materna (229). En niños de entre 6 meses y 18 años, se ha interpolado a partir de datos en niños de entre 0 y 6 meses y datos en adultos. En adultos, pese que se nombran varios estudios de balance de magnesio, finalmente los requerimientos se establecen según un sólo estudio de balance de magnesio (230). No se establece

ningún aumento de los requerimientos durante el embarazo, pero sí que se establece para la lactancia, en función de la cantidad secretada a través de la leche materna (229).

Flúor

El **FNB/IOM (7)**, en edades comprendidas entre 0 y 6 meses de edad, establece una ingesta adecuada a partir de estudios de composición de flúor de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102). En edades mayores a 6 meses de edad, se han usado datos de estudios observacionales en los que se identifica una relación entre la ingesta de flúor y la incidencia y prevalencia de caries dental (231;232). De esta forma se ha estimado la cantidad de ingesta de flúor por kg de peso y día, que se relaciona con una minimización de la aparición de caries dental. A cada grupo de edad le corresponde un peso corporal medio, a través del cual se ha establecido la ingesta adecuada para dicho grupo de edad. No se han considerado requerimientos extras durante el embarazo o la lactancia.

La **OMS**, la **Unión Europea** y el **Reino Unido** no establecen requerimientos para dicho nutriente. No obstante este país (15) propone un nivel de ingesta segura.

Cromo

El **FNB/IOM (10)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses de edad, ha usado datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102;233;234), y en edades de entre 7 y 12 meses se ha añadido el cromo aportado por la alimentación complementaria (estudio observacional) (235). En niños de entre 1 y 18 años se ha establecido una ingesta adecuada a partir de la extrapolación de datos en adultos. Debido a la falta de datos en adultos, a partir de los 19 años, se ha establecido una ingesta adecuada de cromo mediante la siguiente aproximación factorial: (a) estimación de la cantidad de cromo por cada 1.000 Kcal aportada por dietas equilibradas preparadas por dietistas (235), y (b) estimación de la cantidad de cromo ingerido por hombres y mujeres en función de la determinación de la ingesta calórica espontánea media de la población (estudio observacional-encuesta nutricional) (236). Para establecer la ingesta adecuada durante el embarazo, se ha extrapolado a partir de datos de mujeres no embarazadas teniendo en cuenta el aumento de peso corporal (223). Sin embargo, para establecer la ingesta adecuada durante la lactancia, se ha sumado a la ingesta adecuada de cromo para mujeres que no dan lactancia materna la cantidad segregada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102;233;234).

La **OMS** y la **Unión Europea** no establecen requerimientos para dicho nutriente.

El **Reino Unido (15)**, pese a que no especifica requerimientos para dicho nutriente, establece ingestas seguras. En niños de entre 0 y 12 meses de edad, se establece en función de la cantidad de cromo secretada a través de la leche materna (237), y se ha extrapolado teniendo en cuenta el peso corporal para calcular la ingesta segura para niños mayores de dicha edad y hasta los 18 años. Para los adultos, se estima en función de la regresión lineal de resultados en distintos estudios de balance, pero no se identifica claramente la fuente de dichos datos.

Cobre

El **FNB/IOM (10)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses de edad, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102;238), y para niños de entre 7 y 12 meses, se ha añadido, además de la cantidad de cobre secretado a través de la leche materna, la cantidad ingerida a través de la alimentación complementaria. En niños de entre 1 y 18 años, se ha extrapolado a partir de datos en adultos. Para establecer los requerimientos medios estimados en población adulta, se han usado datos de estudios de alimentación humana controlada de depleción/repleción en los cuales se ha usado como indicadores de estado de cobre la concentración plasmática de cobre, la concentración de ceruloplasmina sérica, la actividad superóxido dismutasa eritrocitaria, y la concentración de cobre plaquetaria (239;240). Durante el embarazo se establecen unos requerimientos medios estimados añadiendo a la cantidad recomendada en la mujer no embarazada la cantidad de cobre acumulada en la producción de tejidos fetales y fluidos relacionados (191), y en el caso de lactancia materna, se suma la cantidad secretada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102;238).

La **OMS** no establece recomendaciones para este nutriente.

La **Unión Europea (13)** establece unos requerimientos de cobre a partir de estudios de balance nutricional (con marcadores isotópicos) y estudios clínicos (algunos de ellos con la utilización de alimentación parenteral) (241-243). Sin embargo, en niños de entre 6 y 11 meses se establece mediante método factorial, teniendo en cuenta: (a) los requerimientos por aumento de peso en el crecimiento (191) y (b) posibles pérdidas endógenas (244).

Durante el embarazo, no establece un aumento de los requerimientos, sin embargo sí que establece un aumento de los requerimientos durante la lactancia en función de la cantidad excretada a través de la leche materna (estudio de revisión) (245).

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de cobre en niños de entre 0 y 12 meses de edad mediante el método factorial, teniendo en cuenta: (a) la cantidad retenida debido al crecimiento (191), (b) posibles pérdidas endógenas (244), y una tasa de absorción adecuada a dicha edad (estudio de balance) (246). Los requerimientos de niños del resto de edades y hasta los 18 años han sido interpolados a partir de datos en niños de entre 0 y 1 año de edad y de adultos. En adultos se ha usado un estudio de balance nutricional para determinar el nivel de ingesta de cobre necesario para establecer el equilibrio nutricional de dicho nutriente (se cita una comunicación personal de Mills CF, pero no se incluye la referencia bibliográfica). No se establece ningún aumento de los requerimientos durante el embarazo, sin embargo, sí que se establece un aumento de los requerimientos durante la lactancia en función de la cantidad secretada a través de la leche materna (el mismo estudio de revisión que cita la Unión Europea) (245).

Manganeso

El FNB/IOM (10), para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses de edad, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102;245;247), y en los niños de entre 7 y 12 meses, se ha añadido además la ingesta espontánea de manganeso a través de la alimentación complementaria, así como de la extrapolación de datos a partir de adultos. En niños de entre 1 y 18 años de edad (y mayores), se ha establecido una ingesta adecuada a partir de la ingesta media espontánea de sujetos sanos de dichas edades que no presentan signos de déficit de manganeso (la mayoría de los datos aparecen en la propia publicación). En el subgrupo de embarazo, se ha establecido una ingesta adecuada a partir de la extrapolación de datos de mujeres no embarazadas teniendo en cuenta el aumento de peso corporal (223). En el grupo de lactancia, debido a la pequeña cantidad de manganeso contenida en la leche materna, se ha establecido la ingesta adecuada a partir de la ingesta espontánea media de mujeres embarazadas sanas que no presentan signos de déficit de dicho nutriente (la mayoría de los datos aparecen en la propia publicación).

La **OMS** no establece recomendaciones para dicho nutriente.

La **Unión Europea (13)** establece un rango aceptable de ingesta de manganeso teniendo en cuenta la ingesta espontánea de sujetos que no presentan déficit de dicho mineral, estudios de depleción-repleción y estudios de balance nutricional (248;249).

El **Reino Unido (15)**, pese a que no fija requerimientos para dicho mineral, establece una ingesta segura en función la ingesta espontánea actual en sujetos sanos que no presentan déficit de dicho mineral (estudio de revisión) (250).

Molibdeno

El **FNB/IOM (10)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102;238;251). Debido a la falta de datos de composición de molibdeno de la alimentación complementaria, éstos se han extrapolado a partir de los datos de niños de entre 0 y 6 meses de edad. En edades de entre 1 y 18 años de edad, se han establecido unos requerimientos medios estimados a través de la extrapolación de datos a partir de adultos. Para la población adulta de 19 años y mayores, se han establecido los requerimientos medios estimados a partir de datos extraídos de estudios de balance de molibdeno (252;253). En el embarazo, se ha extrapolado a partir de los requerimientos medios estimados en mujeres no embarazadas teniendo en cuenta el aumento de peso corporal (223), y durante la lactancia, se considera que para calcular los requerimientos medios estimados, hay que sumar la cantidad secretada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40;42-44;48;76;102;238;251).

La **OMS** no establece recomendaciones para dicho nutriente.

La **Unión Europea (13)** establece unos requerimientos de este mineral en función de la ingesta espontánea de sujetos que no presentan déficit de dicho mineral.

El **Reino Unido (15)** no especifica requerimientos para dicho nutriente, sin embargo, establece ingestas adecuadas. Se basa en la ingesta de molibdeno a través de la leche materna (estudio de revisión) (254), para establecer recomendaciones para los niños de entre 0 y 6 meses de edad, y calcularlas (extrapolando) en función del peso para el resto de niños hasta los 18 años. En adultos establece los requerimientos en función de la ingesta espontánea de dicho nutriente por parte de la población estadounidense (no se indica con claridad la fuente de dichos datos).

Arsénico, boro, níquel, silicio y vanadio

Ninguno de los países revisados ha establecido ningún requerimiento medio estimado ni ingesta adecuada para dichos nutrientes. Sin embargo, algunos países sí que han analizado los posibles efectos beneficiosos de ciertas dosis de dichos nutrientes así como el nivel de ingesta máxima tolerable.

Vitaminas

Vitamina D

El **FNB/IOM (7)** establece una ingesta adecuada en niños de entre 0 y 12 meses de edad teniendo en cuenta que los sujetos quizás no puedan estar expuestos a los rayos del sol (2 horas a la semana si se trata de exposición solar de cara y antebrazos o 30 minutos a la semana si es en pañales) (255). La estimación de los requerimientos se establece a partir de estudios de ingesta de suplementación con vitamina D y determinación de sus niveles séricos (256-258). Entre las edades de 1 a 8 años de edad, al no existir datos suficientes, se ha extrapolado a partir de datos de niños mayores. En edades de entre 9 y 18 años de edad, cuando no puedan estar expuestos a la luz solar, se ha determinado una ingesta adecuada mediante estudios de ingesta de suplementos de vitamina D y determinación de sus niveles séricos correspondientes normales en sujetos que no estuvieron en contacto con nivel solar (259-261). Entre los 19 y 50 años de edad, se establece una ingesta adecuada de vitamina D para aquellos sujetos adultos que viven en las latitudes Norte (>40°N) y Sur (>40°S). La ingesta adecuada se ha establecido doblando los hallazgos obtenidos a partir de los datos de estudios de balance de calcio con suplementos de vitamina D, y de estudios observacionales de determinación de ingesta de vitamina D y su correspondiente nivel sérico (262;263). Para el establecimiento de la ingesta adecuada para el grupo de edad de entre 50 y 70 años, se han usado datos de estudios clínicos controlados aleatorizados en los cuales se observa la disminución de la pérdida de masa ósea en relación con la ingesta de ciertos niveles de suplementos de vitamina D (doblando la ingesta hallada en dichos estudios) (264). En edades superiores a 70 años, las cuales son consideradas de especial riesgo de hipovitaminosis, se establece una ingesta adecuada a partir de estudios de intervención de suplementación con vitamina D y determinación sérica de ésta, determinación del estado de PTH (hormona paratiroidea) y determinación de la densidad de la masa ósea (265-267). No se ha establecido una ingesta adecuada específica durante el embarazo o lactancia.

La **OMS (2)** indica que la aproximación realizada por el FNB/IOM de los Estados Unidos (7) sobre los requerimientos de vitamina D es razonable, y la adopta para establecer sus requerimientos.

La **Unión Europea (13)** fija, los requerimientos de vitamina D en niños de entre 6 y 11 meses de edad mediante estudios clínicos de suplementación con vitamina D, cuyo objetivo fue establecer el nivel de ingesta necesario para mantener los niveles séricos de 25-(OH)D dentro de la normalidad (268).

En niños de 1 a 3 años se establece como recomendación el nivel de ingesta más bajo de los recomendados en edades de entre 6 y 11 meses de edad. De los 4 hasta los 17 años de edad, se recomienda una ingesta de dicha vitamina siempre que la exposición solar no pueda ser adecuada. Asimismo, se establece una recomendación de vitamina D para los adultos cuando éstos no pueden tener una buena exposición solar. Dicha recomendación en adultos se establece teniendo en cuenta dos estudios clínicos de suplementación de vitamina D en sujetos ancianos (cuya producción endógena era mínima) con la finalidad de mantener los niveles séricos de 25-(OH)D dentro de los rangos normales. En el caso de los ancianos, se establece recomendación (según los mismos estudios), aunque puedan tener correctas exposiciones solares. Durante el embarazo y la lactancia, se establecen recomendaciones de ingesta de vitamina D incluso si la madre puede tener una correcta exposición solar (269;270).

El **Reino Unido (15)** no establece requerimientos de vitamina D para mantener los niveles de 25-(OH)D séricos dentro de los rangos normales en adultos que presentan un estilo de vida normal, incluso en los meses de invierno (estudio observacional) (271). Sí que establece unos requerimientos para aquellos que requieran estar confinados sin exposición solar, sin embargo, no se indica la fuente de dichos datos. En niños de entre 0 y 6 meses de edad, se establecen requerimientos de dicha vitamina a partir de estudios realizados con fórmulas infantiles en los cuales se determina el nivel de ingesta de vitamina D mediante la cual no se observan signos de deficiencia, y en el cual los niveles de 25-(OH)D séricos están dentro de la normalidad (272). Para los niños de entre 7 meses de edad y hasta los 2 años, el Panel de Expertos acoge el punto de vista de un informe publicado en 1988 por el Departamento de Salud y Seguridad Social del Reino Unido (273). Durante el embarazo se establece un requerimiento de vitamina D aumentado para disminuir la incidencia de déficit de vitamina D presentada en algunas partes de Gran Bretaña (estudio observacional) (269), y se indica que el Panel de Expertos decide acoger el punto de vista

del COMA para suplementar la dieta de las embarazadas, sin embargo, no se cita la fuente de dicha recomendación. El Panel de Expertos indica que acoge las recomendaciones de un informe publicado en 1988 por el Departamento de Salud y Seguridad Social del Reino Unido (273) por el que las madres que ofrecen el pecho deben tomar una suplementación de vitamina D para que las cantidades excretadas a través de la leche materna se mantengan dentro de la cantidad que los niños deben recibir. Además, se hace especial referencia a los sujetos de origen asiático, para los cuales se establecen unas recomendaciones específicas de dicha vitamina (informe del Departamento de Salud y Seguridad Social del Reino Unido) (274). Asimismo para los sujetos mayores de 65 años se establece como requerimientos la cantidad recomendada para adultos confinados sin exposición solar, con la finalidad de prevenir su posible déficit. Por un lado, en algunas latitudes del Reino Unido, la exposición solar de estos sujetos (cuya síntesis no es muy eficiente) debería ser notablemente superior incluso en verano (275), y por otro lado, algunos de dichos sujetos están confinados a vivir institucionalizados en hospitales o no salen mucho de sus hogares (276).

Vitamina A

El **FNB/IOM (10)**, en edades comprendidas entre 0 y 12 meses, ha establecido una ingesta adecuada basándose en datos de ingesta espontánea de dicho nutriente en sujetos sanos a partir de leche materna y de alimentación complementaria (estudios observacionales y de análisis químico) (42-44;76;102;277;278). En sujetos de entre 1 y 18 años de edad, debido a la falta de datos, ha establecido un requerimiento medio estimado extrapolando a partir de datos en adultos. En sujetos de 19 años o mayores ha usado una aproximación factorial en la que se han tenido en cuenta: (a) los porcentajes de pérdida de vitamina A al día siguiendo una dieta sin vitamina A (estudios de alimentación humana controlada de depleción-repleción con marcadores isotópicos en la que se determina la excreción de vitamina A marcada durante 1 día siguiendo una dieta sin vitamina A), (b) determinando la reserva mínima aceptable de vitamina A en el hígado (estudios de balance en animales que indican que los niveles plasmáticos son mantenidos correctamente, en los cuales se cuantifica la excreción biliar, y no se observen deficiencias de dicha vitamina durante 4 meses) (279), (c) el ratio de peso del hígado y peso corporal (mediante estudios observacionales forenses en sujetos que previamente a la muerte estuvieran sanos), (d) el peso de referencia de un grupo de edad y género, (e) el ratio de las reservas de vitamina A corporal total y del hígado (estudios observacionales en los que se mide dicho ratio en sujetos exentos de deficiencia de dicha vitamina), y (f) la eficiencia de almacenaje de la vitamina A ingerida (determinado mediante estudios de balance con marcadores isotópicos) (280).

Para su estimación se aplica la siguiente fórmula:

En el caso de las mujeres embarazadas, para el cálculo de los requerimientos medios estimados se ha tenido en cuenta la acumulación total de vitamina A en el hígado de los fetos (estudios de análisis químico de tejidos). Durante el lactancia, se suma a los requerimientos de la mujer la excreción de vitamina A a través de la leche (estudios observacionales y de análisis químico) (42-44;76;102;277;278).

La **OMS (2)** establece una recomendación de ingesta segura para la vitamina A. Para los niños de entre 0 y 6 meses de edad, se establece dicha recomendación en función de la cantidad de vitamina A secretada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (214;281). En niños de entre 7 y 12 meses de edad, se les ha sumando una cantidad extra de vitamina A (establecida de forma un poco arbitraria) por la existencia de datos epidemiológicos que indican un aumento del riesgo de la mortalidad infantil debido al déficit de esta vitamina en algunas poblaciones (no se cita la fuente de dichos datos). Para el establecimiento de los requerimientos de vitamina A en el resto de niños, adolescentes y adultos, se ha extrapolado a partir de los datos hallados en niños de entre 7 y 12 meses de edad. La metodología seguida es la misma que la detallada en un documento elaborado en 1988 por la FAO/OMS (282). Durante el embarazo, se recomienda un aumento de los requerimientos de vitamina A en función de los requerimientos del feto para un correcto crecimiento y desarrollo. No se indican los estudios de los cuales provienen dichos datos, sin embargo, la única cita relacionada directamente en el texto es la de un libro del Institute of Medicine (IOM) de 1990 (283). Para las mujeres que ofrecen lactancia materna, el aumento de los requerimientos de vitamina A se establecen mediante la determinación de la cantidad de vitamina A secretada (estudios observacionales y de análisis químico) (214;281).

La **Unión Europea (13)** no describe de forma clara la metodología seguida para el establecimiento de vitamina A, pero finalmente identifica que se ha alcanzado mediante la metodología seguida por la OMS en 1988 (142).

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de vitamina A en adultos basándose en la metodología descrita por la OMS en 1988 (284), mediante el sistema factorial, en el que se tienen en cuenta: (a) la tasa de renovación de retinol y la concentración de retinol en el hígado (órgano de principal almacén) establecidos a partir de estudios de balance con vitamina A radiomarcada (285;286), (b) la relación entre el peso del hígado y el peso corporal, (c) la relación entre el retinol

total corporal y el retinol del hígado, y (d) la eficiencia de almacenaje respecto a la ingesta. El Reino Unido tiene en cuenta muchos de los factores usados por Estados Unidos, pero no indica la fuente de la mayoría de dichos datos. Finalmente, los resultados son comparados con los obtenidos a través de estudios de depleción-repleción, consiguiendo una buena relación (285). Para los niños de entre 0 y 12 meses se han establecido unos requerimientos según lo expuesto por la FAO/OMS en 1988 (287). Para el resto de niños de entre 1 y 18 años se ha interpolado a partir de datos en niños de entre 0 y 12 meses y adultos. Durante el embarazo, el aumento de los requerimientos de vitamina A se establece en función del gasto de dicha vitamina por parte del feto. Para establecer dicho gasto, se estima a partir de dos estudios en los que se valoró la ingesta de dicha vitamina a través de leche materna que contenía un bajo aporte de vitamina A, pero que, pese a dicho bajo aporte, no se observaron signos de deficiencia de vitamina A en recién nacidos (288;289).

Carotenoides

El **FNB/IOM (10)** explica que, aun cuando una gran cantidad de estudios observacionales sugieren que concentraciones mayores de beta-carotenos y otros carotenoides que provienen de los alimentos están asociados con un menor riesgo de padecer muchas enfermedades crónicas, no existen evidencias que indiquen que sea necesario que cierto porcentaje de vitamina A sea aportada mediante provitamina A (carotenoides) para cubrir los requerimientos de dicha vitamina (9). Sin embargo, en vista de los beneficios asociados al consumo de los alimentos que la contienen (frutas y hortalizas), debe recomendarse un aumento del consumo de alimentos ricos en carotenoides (9).

La **Unión Europea (13)** indica que no existen evidencias científicas suficientes para establecer una recomendación de ingesta de beta-carotenos (aunque argumenta, de manera parecida a Estados Unidos, un beneficio para la salud derivado de su consumo) (13).

La **OMS** y el **Reino Unido** no hacen mención a la necesidad de ingesta de carotenoides.

Vitamina C

El **FNB/IOM (9)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 12 meses, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (290;291), y de la alimentación complementaria (estudios observacionales-encuesta alimentaria) (292). Para los niños y adolescentes de entre 1 y 18 años de edad, se ha extrapolado a partir de datos en adultos teniendo en cuenta la diferencia de peso corporal. En adultos mayores de 19 años de edad, se han usado estudios de depleción-repleción (hasta llegar a

un estadio máximo constante de concentración de vitamina C) en los que se mide, como marcador biológico de protección antioxidante, la concentración de vitamina C en los neutrófilos (293). Durante el embarazo, se añade a los requerimientos medios estimados del adulto una cantidad de vitamina C que asegure una buena transferencia de dicho nutriente al feto. Dicha cantidad se establece a partir de estudios observacionales de cantidad de vitamina C que debe ser ingerida por un niño de entre 0 y 12 meses de edad para evitar la aparición de escorbuto (294). Durante la lactancia, se añade a los requerimientos medios estimados del adulto, la cantidad de vitamina C excretada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (290;291), y pese a que se sabe que la concentración de vitamina C disminuye a lo largo de la lactancia, no se ha aumentado el requerimiento medio estimado durante este período.

La **OMS (2)**, en niños de entre 0 y 6 meses de edad, establece los requerimientos en función de la cantidad de leche secretada a través de la leche (estudios observacionales y de análisis químico) (214). Sin embargo, la OMS indica que dicha cantidad está asignada de forma arbitraria (seguramente sobre estimando las necesidades), ya que la secreción de vitamina C a través de la leche depende del estado de vitamina C de la madre, no de las necesidades de los bebés. En adultos, se establecen los requerimientos teniendo en cuenta estudios de balance nutricional y de depleción-repleción en los que se identifica: (a) la ingesta a partir de la cual no aparecen signos de escorbuto, (b) la tasa de catabolismo de dicha vitamina, (c) la concentración máxima de dicha vitamina en plasma, (d) la saturación de vitamina C en diferentes tejidos, y (e) la capacidad de absorción de dicha vitamina (293;295-297). En el embarazo se establece un aumento de los requerimientos de vitamina C a partir de un estudio en el que se observa la ingesta de vitamina C necesaria en bebés para evitar la aparición de signos de escorbuto (estudio de revisión) (298). Asimismo se establece un aumento de los requerimientos en mujeres que dan lactancia materna en función de la cantidad de vitamina secretada a través de la leche (pero no se especifican los estudios fuente de dichos datos). No se establecen requerimientos aumentados para los ancianos.

La **Unión Europea (13)** establece las recomendaciones de ingesta de vitamina C basándose en estudios de balance y de depleción-repleción en los cuales se pueda determinar, no sólo la no aparición de signos de escorbuto, sino además la ingesta necesaria para mantener los almacenes de dicha vitamina a un nivel adecuado (teniendo en cuenta la excreción urinaria y el normal catabolismo) (299-301). Para los niños de entre 6 y 11 meses de edad, la Unión Europea establece que los requerimientos de dicha vitamina debe ser 3 veces la cantidad mínima de ingesta diaria para evitar la aparición de signos de escorbuto en este grupo de edad (298). Según la propia

organización, triplicar dicha dosis se ha establecido de forma un poco arbitraria. Para las embarazadas se fijan unos requerimientos aumentados, pero no se cita la fuente de datos en la que se basa dicho aumento. Sin embargo, en la mujer embarazada se indica un aumento de los requerimientos en función de la cantidad excretada a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (302).

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de vitamina C teniendo en cuenta estudios en los que se determina la relación entre la ingesta de dicha vitamina y sus correspondientes niveles plasmáticos (303;304), tomándose el nivel de ingesta en el que se puede observar en la mayoría de sujetos el mantenimiento de los niveles séricos. Durante el tercer trimestre del embarazo se establecen unos requerimientos aumentados de vitamina C en función de la retención de dicha vitamina por parte del feto (no se indica la fuente de dichos datos). Asimismo, durante la lactancia, se recomienda un aumento de los requerimientos de vitamina C en función de la cantidad secretada a través de la leche materna (tampoco se indica la fuente de dichos datos). En niños de entre 0 y 12 meses de edad, se establecen los requerimientos en función de la ingesta mínima de vitamina C aportada a través de la leche materna, en la cual no se reportó ningún signo de déficit en el niño (305). Para el resto de niños de entre 1 y 18 años, se ha interpolado a partir de datos en niños más pequeños y datos en adultos.

Vitamina E

El **FNB/IOM (9)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40-42;76;306;307). En edades de entre 7 y 12 meses de edad, se ha extrapolado a partir de datos de niños entre 0 y 6 meses de edad. Y en edades de entre 1 a 18 años, se ha extrapolado a partir de datos en adultos, teniendo en cuenta el índice de masa corporal y la tasa de crecimiento. En adultos de entre 19 y 50 años, se han determinado los requerimientos medios estimados a partir de datos de estudios de alimentación humana controlada de depleción-repleción, usando como marcadores bioquímicos las concentraciones séricas de alfatocoferol que limita la hemólisis inducida por peróxido de hidrógeno (308). En edades de más de 50 años, no se han estimado unos requerimientos mayores que para los adultos menores de dicha edad. Asimismo, durante el embarazo tampoco se estima que exista ningún aumento de los requerimientos de vitamina E. Para el período de lactancia, se ha sumado a los requerimientos medios estimados para las mujeres, no embarazadas y que no dan lactancia materna, la cantidad de vitamina E secretada a través de la leche (estudios observacionales y de análisis químico) (40-42;76;306;307).

La **OMS (2)**, en la descripción de la metodología seguida para el establecimiento de los requerimientos de vitamina E, parece dejar claro que una de las metodologías más adecuadas es la de establecer la recomendación de ingesta de vitamina E en relación con los ácidos grasos poliinsaturados ingeridos (309;310). Pese a lo dicho, en algunas ocasiones nombra la metodología seguida por Estados Unidos (9), y en otras, la del Reino Unido (15). Finalmente, no deja muy claro si establece o no una recomendación específica para cada grupo de edad, excepto en niños de entre 0 y 6 meses de edad, que corresponde a la cantidad ingerida a través de la leche materna (no se indica la fuente de información).

La **Unión Europea (13)** describe de una forma muy similar a la OMS las posibles aproximaciones para establecer las recomendaciones de dicha vitamina. En niños de entre 6 y 11 meses, así como para el resto de niños, adolescentes y adultos, se establece una recomendación de ingesta de vitamina E en función de la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados ω -6 ingeridos, citando dos estudios estadounidenses (los mismos estudios que refiere la OMS) (309;310).

El **Reino Unido (15)** no establece requerimientos de dicha vitamina debido a que en este país la ingesta de PUFA es muy variable (311), y que el ratio de alfa-tocoferol: PUFA en este país parece ser más alto que en Estados Unidos (309-311). Para los niños de entre 0 y 6 meses de edad, se establecen los requerimientos en función de la cantidad excretada a través de la leche materna (estudios observacionales) (312) y fija la cantidad que debe ser aportada en las fórmulas infantiles basándose en un documento del Departamento de Salud y Seguridad Social del Reino Unido publicado en 1980 (229).

Vitamina K

El **FNB/IOM (10)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químicos) (40-44;76;313-317). Para establecer una ingesta adecuada para niños de edades de entre 7 y 12 meses de edad, se ha extrapolado a partir de datos de niños más pequeños. Debido a la falta de datos en edades comprendidas entre 1 y 18 años, se ha establecido una ingesta adecuada a partir de la media más alta de ingesta de vitamina K observada en una encuesta nutricional de niños sanos que no presentaban alteraciones en la coagulación. La misma metodología ha sido usada para establecer la ingesta adecuada para adultos de más de 19 años (los datos aparecen en la propia publicación). No se ha establecido un aumento de la ingesta adecuada para las embarazadas o en mujeres que dan lactancia materna.

La **OMS (2)** asegura que las alteraciones de la coagulación por déficit de vitamina K en niños de edades entre 0 y 6 meses de edad se asocia, en estudios observacionales, con la lactancia materna exclusiva en la que los niños no reciben ningún tipo de suplementación, por lo que no se pueden establecer dichas recomendaciones en función de la ingesta de esta vitamina a través de la leche materna (no cita el estudio epidemiológico en particular). Asimismo, indica que las cantidades recomendadas por el FNB/IOM son adecuadas (10), pero que no pueden ser adquiridas únicamente a través de la ingesta de leche materna. Para el resto de edades y situaciones fisiológicas la OMS adopta también los requerimientos establecidos por el FNB/IOM (10).

La **Unión Europea (13)** decide no establecer recomendación para dicho nutriente.

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de vitamina K en niños de entre 0 y 6 meses de edad en función la cantidad máxima observada de secreción de dicha vitamina a través de la leche (estudios observacionales y de análisis químico) (318;319), la cual coincide con la cantidad necesaria para disminuir la incidencia de alteraciones de la coagulación observada en estudios epidemiológicos en dicha edad (320).

Tiamina

El **FNB/IOM (8)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40-44;76). En edades comprendidas entre 7 y 12 meses y entre 1 y 18 años, para calcular la ingesta adecuada o los requerimientos medios estimados (respectivamente), se ha extrapolado a partir de datos en adultos. Para establecer los requerimientos medios estimados en población adulta (mayores de 18 años), se ha tenido en cuenta estudios de alimentación humana controlada de depleción-repleción, usando como marcadores bioquímicos de estado de tiamina, la concentración de tiamina presente en la orina, y la actividad transketolasa eritrocitaria (321;322), o signos de deficiencia clínica de dicha vitamina (323;324). Para fijar los requerimientos medios estimados de tiamina durante el embarazo se ha aplicado un aumento de dicha vitamina proporcionalmente al peso ganado durante este período (223). En madres que ofrecen lactancia materna, se ha añadido la cantidad secretada a través de la leche a los requerimientos medios estimados de las mujeres que no ofrecen lactancia materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40-44;76).

La **OMS (2)** no describe con suficiente detalle la metodología seguida en cada grupo de edad, sin embargo, de la lectura se interpreta que en edades de entre 0 y 12 meses de edad se establecen los

requerimientos en función de la ingesta de tiamina a través de la leche materna (325), y de forma parecida se establece una cantidad añadida para las mujeres que dan lactancia materna. Asimismo se identifica que para la adolescencia (326) y para los adultos (327) se estima el requerimiento de tiamina mediante dos estudios de depleción-repleción. Para el resto de grupos de edad o situaciones fisiológicas, la metodología de obtención de datos no está claramente definida.

La **Unión Europea (13)** estima los requerimientos de tiamina en adultos mediante estudios de alimentación humana controlada de balance y de depleción-repleción, teniendo como marcadores de estado de tiamina la excreción urinaria, el test de metabolismo de la glucosa (328) y el coeficiente de activación de la transketolasa (322). En función de la ingesta energética se obtienen los requerimientos para los niños y adolescentes, pero no se establecen aumentos de los requerimientos en el resto de grupos de edad en adultos. De la misma forma (ratio mg tiamina:energía) se establecen los requerimientos para el embarazo y la lactancia.

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de tiamina en base a la ingesta energética, usando como estudio clave un estudio de depleción-repleción y como marcador de estado el coeficiente de activación de la transketolasa (el mismo estudio citado por la OMS) (326). En niños de entre 0 y 12 meses de edad, se establecen los requerimientos en base a la cantidad de vitamina aportada a través de la leche materna (329;330). Para el resto de niños se establece la misma recomendación que para los adultos, y no se especifica un aumento de los requerimientos durante el embarazo y la lactancia.

Riboflavina

El **FNB/IOM (8)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40-44;76). En niños de entre 7 y 12 meses de edad, se ha interpolado a partir de datos en niños más jóvenes y de adultos. En niños y adolescentes de entre 1 y 18 años, se ha extrapolado a partir de datos en adultos. En adultos (a partir de 19 años), se han usado estudios de intervención en los que se minimiza la deficiencia clínica, teniendo en cuenta como marcadores bioquímicos la concentración de dicha vitamina en orina y el coeficiente de actividad de la glutación reductasa eritrocitaria (331). En mujeres embarazadas, se ha aumentado el requerimiento medio de forma proporcional al aumento de peso (223) y aportando estudios clínicos en los que a dichas dosis se observa una minimización de la deficiencia de riboflavina, un aumento de la excreción urinaria de dicho nutriente (332;333) y una modificación del coeficiente de actividad de la glutación reductasa eritrocitaria (334). En la lactancia, la cantidad excretada a través de la leche

materna se ha añadido a los requerimientos medios estimados (estudios observacionales y de análisis químico) (40-44;76).

La **OMS (2)** establece los requerimientos de riboflavina en edades de entre 0 y 6 meses de edad a través de la cuantificación de dicha vitamina en la leche materna y la cantidad ingerida cada día, extrayendo los datos de las IDR de Estados Unidos (8). De la misma forma, se establecen los requerimientos de las mujeres que dan lactancia materna. Para adultos se identifican estudios de balance de tiamina (335) que permiten su estimación, y durante el embarazo se calcula el aumento de los requerimientos de la madre a partir de un estudio en el que se relaciona la ingesta de tiamina de la madre con el crecimiento del feto (336). Para el resto de grupos de edad o situaciones fisiológicas, la metodología de obtención de datos no está claramente definida.

La **Unión Europea (13)** ha establecido los requerimientos de esta vitamina en niños de entre 6 y 11 meses de edad basándose en un estudio realizado en Gambia con suplementación en niños con depleción de dicha vitamina y su efectos sobre la activación de la glutatión reductasa eritrocitaria (337). En adultos se ha determinado mediante estudios de alimentación humana controlada de balance nutricional y de depleción-repleción en los que la no presencia de signos de déficit y la excreción urinaria han sido los marcadores de estado de dicha vitamina (el mismo estudio que cita el FNB/IOM) (331). Los requerimientos para el género femenino se han extrapolado a partir de datos del género masculino de forma proporcional al peso corporal. Durante el embarazo y la lactancia se ha establecido un aumento de los requerimientos en función de la cantidad de vitamina retenida por el feto y por la cantidad excretada a través de la leche materna. En ninguno de los casos se puede identificar la fuente de dicha información. No se detalla la forma en la que se han establecido los requerimientos para niños y adolescentes.

El Reino Unido (15) establece los requerimientos en adultos en función de la ingesta mínima de dicha vitamina reportada en encuestas nutricionales, mediante la cual no se determina una alteración del coeficiente de la activación de la glutatión reductasa eritrocitaria (311). En niños de entre 0 y 12 meses de edad se establecen los requerimientos a partir de un estudio en el que mediante suplementos se consigue identificar cuál es la ingesta de riboflavina necesaria para que la ingesta de leche materna producida tenga la cantidad suficiente de vitamina para evitar una alteración de la activación de la glutatión reductasa eritrocitaria en los niños (337). Para el resto de niños, se ha interpolado a partir de datos en niños más jóvenes y datos en adultos. El aumento

de los requerimientos en mujeres embarazadas y lactancia se ha obtenido de un documento publicado por el Departamento de Salud y Seguridad Social del Reino Unido en 1979 (338).

Niacina

El **FNB/IOM (8)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses, usa datos de ingesta de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40-44;76;339). En niños de entre 7 y 12 meses de edad, se ha obtenido una ingesta adecuada extrapolando a partir de datos de requerimientos en adultos. Asimismo, se ha usado dicho método de extrapolación para la estimación de los requerimientos en niños de entre 1 y 18 años. En los adultos (mayores de 19 años), para establecer los requerimientos medios estimados, se han usado datos de estudios de balance nutricional, en los que se determina la ingesta de niacina que produce la mínima excreción urinaria de N¹-metil-nicotinamida (metabolito de la niacina), sin la aparición de síntomas de pelagra (340). Durante el embarazo se indica un incremento de las necesidades de niacina debido al aumento del gasto energético y de tejidos, pero no se cita la fuente de dichos datos. En el período de lactancia, se estima el aumento de los requerimientos de niacina en función de la cantidad secretada a través de la leche (estudios observacionales y de análisis químico) (40-44;76;339).

La **OMS (2)** establece los requerimientos de niacina en edades de entre 0 y 6 meses de edad a partir de la cantidad secretada a través de leche materna. Sin embargo, no se citan los estudios fuente de dichos datos. Se aportan pocos datos acerca de la metodología seguida para la obtención de los requerimientos en el resto de grupos de edad o situaciones fisiológicas. En algunos casos se hace referencia a datos sin especificar su fuente, en otros casos se cita la fuente, pero no se indica el tipo de estudio del cual se obtienen los datos, y en otros casos se identifica como fuente de datos las IDR de Estados Unidos (8).

La **Unión Europea (13)** establece los requerimientos de niacina en adultos a partir de estudios de depleción-repleción en los que se mide la cantidad de niacina o triptófano necesario para restablecer la excreción de N-metil-nicotinamida y metil-piridone-carboximida (341). Durante la lactancia, se ha estimado un aumento de los requerimientos de niacina en función de la mayor ingesta energética. Pese a que no se detalla que se hayan establecido requerimientos aumentados para ningún otro grupo de edad o situación fisiológica, en las tablas se puede observar que se han realizado distintas recomendaciones para distintos grupos de edad, seguramente de forma proporcional a la ingesta energética (pero no se detalla tal metodología).

El **Reino Unido (15)**, para el establecimiento de los requerimientos en adultos, usa la misma metodología y los mismos estudios descritos por el FNB/IOM (8). Para niños de entre 0 y 12 meses de edad, especifica que se han seguido las recomendaciones establecidas en un documento publicado por el Departamento de Salud y Seguridad Social del Reino Unido llamado “Guías de Alimentación Artificial” publicado en 1980 (229). Para el resto de edades de niños y adultos se establece la misma recomendación que la señalada en los niños más jóvenes. No se establecen requerimientos aumentados para los períodos de embarazo y lactancia.

Piridoxina (vitamina B₆)

El **FNB/IOM (8)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses de edad, emplea datos de excreción de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales y de análisis químico) (40-44;76;342;343). En edades de entre 7 y 12 meses, estima una ingesta adecuada mediante interpolación de datos a partir de niños de entre 0 y 6 meses y de adultos. En niños de entre 1 y 18 años, debido a la falta de datos, se han extrapolado las magnitudes a partir de datos en adultos. En adultos de entre 19 y 50 años, se han usado estudios de depleción-repleción, con la particularidad que el objetivo de la repleción fue adquirir el mismo nivel inicial de medidas de los metabolitos indicadores del estado de dicha vitamina (344-347). Este enfoque provoca seguramente una sobreestimación de los requerimientos de dicha vitamina. En adultos mayores de 51 años, se han usado estudios de depleción-repleción para determinar los requerimientos medios estimados (348-350). Durante el embarazo, se han establecido los requerimientos mediante estudios observacionales en los que se determina el nivel de ingesta necesario para mantener los niveles de metabolitos que indican el estado de vitamina B₆ dentro de los rangos de normalidad, especialmente durante el tercer trimestre (351;352). Debido a que a través de dichos estudios se sobreestima la ingesta de vitamina B₆, finalmente se usan datos de retención de dicha vitamina en los tejidos fetales y de aumento de peso de la embarazada (no se indican los estudios de los cuales se han obtenido dichos valores). Para la determinación de los requerimientos medios estimados, se han usado los datos de excreción de vitamina B₆ a través de la leche materna (estudios observacionales) (40-44;76;342;343), así como datos de la necesidad de ingesta de dicha vitamina, y una cantidad suplementaria para evitar posibles déficits detectados (343;353).

La **OMS (2)**, en edades de entre 0 y 12 meses de edad, usa la metodología y los datos de las IDR de Estados Unidos (8). En adultos, pese a que se puede identificar que para establecer los requerimientos de piridoxina se han usado datos de estudios de balance nutricional y de depleción-repleción, no se describe con detalle el proceso de obtención seguido (344-346). En el embarazo,

el aumento de los requerimientos de piridoxina se basan en la concentración de dicha vitamina en los tejidos fetales y de la placenta, extrayéndose dichos datos de las IDR de Estados Unidos (8). En mujeres que dan pecho se recomienda un aumento de los requerimientos a partir de un estudio en el que se observa un déficit de dicha vitamina en bebés que toman leche con una baja concentración de piridoxina (353). Para el resto de edades y situaciones fisiológicas no se describe con detalle cuál ha sido la metodología seguida para el establecimiento de los requerimientos medios.

La **Unión Europea (13)** establece los requerimientos de piridoxina basándose en estudios de depleción-repleción e indica que mantiene una relación de proporcionalidad con la ingesta de proteína (343;354-357). De esta forma, se ha extrapolado a partir de datos en adultos (microgramos de piridoxina por cada gramo de proteína ingerida) para la obtención de los requerimientos de esta vitamina en niños. No se establece ningún aumento de los requerimientos para las embarazadas, y pese a que los requerimientos de vitamina aumentan durante la lactancia (debido a la cantidad secretada a través de la leche), no se especifica ninguna recomendación.

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de piridoxina en adultos basándose en estudios de depleción-repleción (354-357) y en función de la ingesta proteica. Para los niños de entre 0 y 6 meses de edad, se establecen los requerimientos en función de la ingesta proteica a partir de un documento elaborado por el Departamento de Salud y Seguridad Social del Reino Unido, publicado en 1980 (229), y de la cantidad secretada a través de la leche (358). Pese a que se establecen requerimientos aumentados para niños de entre 7 y 12 meses de edad, no se indica explícitamente la metodología seguida, sin embargo se intuye que podría haberse calculado a partir de la ingesta proteica. No se establecen requerimientos aumentados para el resto de edades o situaciones fisiológicas.

Folatos

El **FNB/IOM (8)**, para establecer la ingesta adecuada en el grupo de edad de entre 0 y 6 meses, usa datos de excreción de dicho nutriente a través de la leche materna (estudios observacionales) (40-44;76;359). En niños de entre 7 y 12 meses se ha usado la interpolación a partir de datos de niños más pequeños y de adultos. Dichos resultados se han respaldado con algunos datos de estudios clínicos sin grupo control en los que se determina el nivel de ingesta necesario para un correcto mantenimiento de marcadores biológicos de estado de folatos (360-362). En edades de entre 1 y 18 años, se ha extrapolado a partir de datos en adultos. En adultos de entre 19 y 50 años, se han obtenido unos requerimientos medios estimados a partir de estudios de depleción-repleción en los

cuales se midieron indicadores de un correcto estado de folatos, y a partir de estudios clínicos sin grupo control mediante los que se determina el nivel de ingesta necesario para el mantenimiento de dichos marcadores biológicos (363;364). El estudio de O'Keefe 1995 (363), se ha usado con más peso que el resto por su excepcional diseño. Mediante estudios de alimentación humana controlada de depleción-repleción (365) y estudios observacionales (349;366), se concluye que no existen evidencias científicas para suponer un aumento de los requerimientos de folatos en personas mayores de 51 años. Durante el embarazo, para el cálculo de los requerimientos medios estimados no se han usado datos de prevención de daño en el tubo neural del feto porque, en la mayoría de los casos, dichos daños se producen antes de que la madre sepa que está embarazada. Se han usado estudios de alimentación humana controlada realizada en un grupo de mujeres embarazadas, las cuales recibieron suplementación a distintas dosis con folatos, para determinar el nivel de ingesta de dicha vitamina que permitía el mantenimiento de los niveles de folato eritrocitario dentro de la normalidad (367;368). Asimismo los resultados obtenidos en dichos estudios se compararon con un estudio de alimentación humana controlada con un grupo control de no embarazadas (369). Durante la lactancia, se ha considerado como incremento de los requerimientos medios estimados la cantidad de folatos excretados a través de la leche materna (estudios observacionales) (40-44;76;359).

La **OMS (2)** utiliza la misma metodología y los mismos datos que Estados Unidos (8) para todos los grupos de edad, al considerar que se trata de la mejor revisión existente de requerimientos de folatos.

La **Unión Europea (13)** establece los requerimientos de folatos en niños a través de un estudio de alimentación humana controlada en el que se observa, a cierta dosis de ingesta de dicha vitamina, un mantenimiento sérico de cantidad de folatos en las células rojas (370). Asimismo, en adultos se establecen los requerimientos a partir de estudios de depleción-repleción en los que se observa la falta de signos de déficit de esta vitamina, y la determinación de folatos en los eritrocitos se establece como marcadores de estado de esta vitamina (371;372). Se fija un aumento de los requerimientos de folatos durante el embarazo para la prevención de defectos del tubo neural en los fetos (373). Durante la lactancia se establece el aumento de los requerimientos mediante la determinación de la cantidad secretada (citando el mismo estudio que el FNB/IOM) (359).

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de folatos según dos tipos de estudios: contenido de folatos en autopsias de hígados (374) y de encuestas nutricionales de adultos que no

presentan déficit de dicha vitamina (311). En niños de entre 0 y 12 meses de edad, para el establecimiento de los requerimientos de folatos se han usado datos de composición de folatos de la leche materna y un estudio realizado con leche de fórmula en el que se determina la ingesta mínima a través de la cual, pese a que se determinan niveles de folatos en eritrocitos inferiores a los alimentados con leche materna, no se establecen diferencias de concentración de hemoglobina, ganancia de peso o tasa de crecimiento (375). Para el resto de niños de entre 1 y 18 años, se ha interpolado a partir de datos en niños más pequeños y datos en adultos. Durante el embarazo se recomienda un aumento de los requerimientos de folatos según estudios que estiman la dosis para mantener los niveles plasmáticos y eritrocitarios al mismo nivel que las mujeres no embarazadas (376;377). En la lactancia se establece un aumento de los requerimientos en función de la cantidad secretada a través de la leche materna (378).

Vitamina B₁₂

El **FNB/IOM (8)**, en niños de entre 0 y 6 meses de edad, ha establecido una ingesta adecuada a partir de estudios de excreción de dicha vitamina a través de la leche materna (estudios observacionales) (40-44;76;379;380). Además se usan estudios de balance nutricional para establecer que dicha dosis de ingesta se corresponde con un aumento de la excreción urinaria de ácido metilmalónico (380). Para la obtención de la ingesta adecuada para niños de entre 7 y 12 meses, se ha extrapolado a partir de datos en niños más jóvenes. Además se han usado estudios de balance nutricional y depleción-repleción para determinar qué dosis inferiores de vitamina B₁₂ no se corresponden con un aumento de la excreción urinaria de ácido metilmalónico (380). Para los niños de entre 1 y 18 años, debido a la falta de datos, se ha extrapolado a partir de datos en adultos. Para determinar los requerimientos medios estimados en adultos, se han usado estudios que tienen como objetivo determinar la dosis diaria que permite un mantenimiento correcto de algunos indicadores del estado de vitamina B₁₂ en pacientes que sufrían anemia perniciosa (estado de depleción de la vitamina). Estudios de intervención clínica con inyecciones de vitamina B₁₂ intramuscular para recuperar los valores hematológicos de pacientes con anemia perniciosa se han usado para determinar a partir de qué dosis diaria se recupera y mantiene un correcto estado de vitamina (381;382). Posteriormente se ha ajustado teniendo en cuenta las pérdidas obligatorias, mediante estudios de balance nutricional en los que se determina la dosis de vitamina necesaria para mantener un correcto almacén de vitamina B₁₂ y la biodisponibilidad de dicha vitamina. Para mayores de 50 años, pese a que se sabe que a partir de esta edad surgen problemas de biodisponibilidad de dicha vitamina, no existen datos acerca de la cuantificación de esta biodisponibilidad, por lo que no se establecen unos mayores requerimientos de dicha vitamina.

Durante el embarazo, se establece un aumento de los requerimientos de vitamina B₁₂ teniendo en cuenta estudios de deposición de dicha vitamina en los tejidos fetales (estudios de composición química de tejidos). Y durante la lactancia se establece un aumento de los requerimientos medios estimados a partir de datos de composición de la leche materna (estudios observacionales) (40-44;76;379;380). La **OMS (2)** utiliza la misma metodología y los mismos datos que Estados Unidos (8) para todos los grupos de edad, al considerar que se trata de la mejor revisión existente de requerimientos de vitamina B₁₂. En el propio informe de la OMS se describe que parte de su Comité de Expertos, para revisar actualizar y establecer los requerimientos para este nutriente, son miembros consultados también por el FNB/IOM (2).

La **Unión Europea (13)** establece los requerimientos en adultos basándose en estudios de depleción-repleción con signos de anemia (383;384), y de estudios de determinación de vitamina almacenada y renovación de ésta (385). En el embarazo, se establecen unos requerimientos de vitamina B₁₂ aumentados debido a la utilización de ésta por parte del feto, pero no se indica la fuente de dichos datos. En la lactancia, se ha establecido un aumento de los requerimientos en función de la baja secreción de esta vitamina a través de la leche materna (el mismo estudio citado por el FNB/IOM) (380). La cantidad de vitamina B₁₂ recomendada a las madres que dan el pecho es la misma que se necesita para restablecer el estado de dicha vitamina en niños de entre 6 y 11 meses de edad con deficiencia bioquímica, es decir, deficiencia de excreción urinaria de ácido metilmalónico (estudio de depleción-repleción) (380). Para el resto de edades de niños y adolescentes (de 12 meses hasta los 17 años) se han estimado los requerimientos extrapolando a partir de datos en adultos y según la ingesta energética.

El **Reino Unido (15)** establece los requerimientos de esta vitamina en adultos basándose en los datos aportados por la FAO/OMS en 1988 (142). Durante el embarazo no se establece un aumento de los requerimientos de dicha vitamina, sin embargo, durante la lactancia se fija un aumento de los requerimientos para asegurar que la secreción de vitamina B₁₂ a través de la leche es la adecuada (pues fluctúa con el estado de dicha vitamina en la mujer) (305). Los requerimientos en los niños de entre 0 y 6 meses de edad se han establecido a partir de un estudio de depleción-repleción, y corresponden a la cantidad necesaria para restablecer la deficiencia bioquímica (el mismo estudio citado por el FNB/IOM y la Unión Europea) (380). Para el resto de edades de entre 6 meses y 18 años, se ha interpolado entre los datos en niños de 0-6 meses y datos en adultos.

Ácido pantoténico

El **FNB/IOM (8)**, en niños de entre 0 y 6 meses de edad, ha establecido una ingesta adecuada a partir de estudios de excreción de dicha vitamina a través de la leche materna (estudios observacionales) (40-44;76;386), mientras que en edades de entre 7 y 12 meses, se ha usado la media de la extrapolación a partir de datos en niños más pequeños y de datos en adultos. En edades entre 1 y 13 años, se ha establecido una ingesta adecuada extrapolando a partir de datos en adultos. Dichos resultados se corresponden con los obtenidos en estudios de balance, en los cuales se puede observar cómo dichos niveles de ingesta producen altas excreciones urinarias de ácido pantoténico. En niños de entre 14 y 18 años, se ha extrapolado a partir de datos en adultos, y se ha comprobado, mediante encuestas nutricionales con recolección de muestras de orina y sangre, que dichos niveles de ingesta permiten el mantenimiento de un correcto estado de los indicadores sanguíneos de dicha vitamina y una alta excreción de ácido pantoténico a través de la orina (387;388). En adultos de entre 19 y 50 años, se ha fijado una ingesta adecuada usando encuestas nutricionales para establecer la ingesta espontánea de sujetos que no presentan déficit de dicha vitamina (388;389). Este dato está soportado por un estudio de balance nutricional en el que se observa una correcta excreción urinaria a dichos niveles de ingesta (390). Asimismo, debido a la falta de evidencias que indiquen un aumento de los requerimientos a medida que aumenta la edad, la misma ingesta adecuada se ha establecido para la franja de edad de mayores de 50 años. Durante el embarazo, se ha establecido una ingesta adecuada a partir de datos observacionales de ingesta de ácido pantoténico y medición de excreción de ésta a través de la orina (391). Debido a que la ingesta espontánea de dichas mujeres fue suficiente para el normal desarrollo del embarazo, y que su excreción fue alta, se ha establecido una ingesta adecuada redondeando al alza. Durante la lactancia se ha establecido una ingesta adecuada sumando a la ingesta recomendada para una mujer que no está embarazada ni da lactancia materna la cantidad de vitamina secretada a través de la leche materna (estudios observacionales) (40-44;76;386).

La **OMS (2)**, en edades de entre 0 y 6 meses de edad, establece los requerimientos de esta vitamina en función de la cantidad secretada a través de la leche materna (los mismos estudios citados por el FNB/IOM) (40-42;386). En niños de entre 7 y 12 meses, se ha extrapolado a partir de datos en bebés de entre 0 y 6 meses. En adolescentes, se han usado datos de estudios de alimentación humana controlada para el establecimiento de los requerimientos (388;392). Asimismo, para la determinación de los requerimientos en adultos, se ha usado un estudio de depleción-repleción (393). No se recomienda un aumento de la ingesta de dicha vitamina durante el embarazo, sin embargo, basándose en un estudio (394), se recomienda un aumento de ingesta de esta vitamina

para las mujeres que dan lactancia materna. Para el resto de grupos de edades y situaciones fisiológicas no se identifica una metodología claramente definida.

La **Unión Europea (13)** establece un rango de ingesta adecuada en función de la ingesta espontánea de sujetos que aparentemente no presentan déficit de dicha vitamina y su prevalencia e incidencia es muy baja o nula. Sin embargo, no indica la fuente de dichos datos.

El **Reino Unido (15)** no establece unos requerimientos de esta vitamina debido a la falta de marcadores bioquímicos que indiquen el estado de ésta. Sin embargo, establecen una cantidad adecuada en función de la ingesta espontánea de la población británica, la cual no presenta déficit de dicha vitamina. No se indica la fuente de los datos. Para los niños de entre 6 y 12 meses de edad, se adoptan las recomendaciones establecidas por el Departamento de Salud y Seguridad Social del Reino Unido, en 1980, para las fórmulas infantiles (229).

Biotina

El **FNB/IOM (8)**, en niños de entre 0 y 6 meses de edad, ha establecido una ingesta adecuada a partir de estudios de excreción de dicha vitamina a través de la leche materna. La concentración hallada en la leche materna madura varía en función del método de análisis químico. La ingesta adecuada se ha establecido teniendo en cuenta la media de tres métodos distintos de análisis químico (40-44;76;358;395;396). En niños de entre 7 meses y 18 años de edad, se ha extrapolado a partir de datos en niños más pequeños. En adultos (mayores de 19 años), se ha extrapolado a partir de datos en niños de entre 0 y 12 meses de edad. Dicha ingesta adecuada, debe ser suficiente para adultos debido a que éstos solamente necesitan mantener un correcto estado de dicha vitamina. Mediante encuestas nutricionales, se ha confirmado que la ingesta espontánea de la población sana sin déficit de dicha vitamina es superior a la ingesta adecuada establecida (no se indica la fuente de dichos datos). Durante el embarazo, no se ha incrementado la ingesta adecuada debido a la falta de datos para justificar dicho aumento (397;398). Para las mujeres que dan el pecho, se ha incrementado la ingesta adecuada sumando la cantidad de biotina secretada a través de la leche materna (40-44;76;358;395;396).

La **OMS (2)**, en edades de entre 0 y 6 meses de edad, establece los requerimientos de esta vitamina en función del contenido de biotina de la leche (395;396;399). Para niños y adultos, se ha extrapolado a partir de datos en bebés de entre 0 y 6 meses de edad. No se establecen unos requerimientos aumentados para las mujeres embarazadas pero sí para las mujeres que dan pecho,

en función de la cantidad secretada a través de la leche. Para el resto de grupos de edad o de situaciones fisiológicas no se identifica una metodología claramente definida.

La **Unión Europea (13)** establece un rango de ingesta adecuada basándose en la ingesta espontánea de sujetos que aparentemente no presentan déficit de dicha vitamina y su prevalencia e incidencia es muy baja o nula (no indica la fuente de dichos datos).

El **Reino Unido (15)** no establece requerimientos de dicha vitamina debido a la cantidad limitada de evidencia, sin embargo fija un rango de ingesta adecuada teniendo en cuenta la encuesta nutricional del Reino Unido cuya población no presenta signos de déficit de dicha vitamina (311), y un estudio de alimentación parenteral en el que se determina el nivel de ingesta a partir de la cual no hay signos de deficiencia de dicha vitamina (399).

Conclusiones de los autores

El Food and Nutrition Board/Institute of Medicine de Estados Unidos es uno de los países/instituciones con mayor trayectoria en la creación de una metodología para el establecimiento de unas ingestas recomendadas, por lo que sus documentos:

- Establecen recomendaciones de una mayor cantidad de nutrientes.
- Describen con más detalle y exactitud dicha metodología.
- Indican mejor las fuentes de obtención y tipo de estudios utilizados para llegar a tales conclusiones.
- Han mostrado mayor capacidad para actualizar sus recomendaciones a lo largo del tiempo, y en consecuencia, aportan más estudios actuales (de las últimas dos décadas)

Ninguno de los países revisados ha basado sus recomendaciones únicamente en función de estudios de su propia geografía o proximidades. Este hecho ha sorprendido a los autores del presente documento, ya que en España se suele considerar que las ingestas recomendadas son específicas de cada país o región y que por tanto deben estar basadas en estudios llevados a cabo en dicha geografía. Ahora, se puede asegurar que es una visión poco realista intentar establecer los requerimientos únicamente en estudios españoles, hecho que deberá ser tenido en cuenta en futuras fases del proyecto. Asimismo, es importante destacar que muchas de las recomendaciones de la mayoría de países se han recogido de otras regiones o instituciones, y que incluso aquellos que ostentan tener metodologías propias, basan sus estimaciones en los mismos estudios que otros

países. Los hechos citados anteriormente justifican que la adopción de unos valores y una metodología extranjera es el mejor acercamiento que puede hacer actualmente España para empezar con firmeza un proyecto de obtención de unas ingestas recomendadas creadas en nuestro país, que incorporen datos españoles y que estén bien documentadas.

Gracias a la presente revisión, se dispone de un modelo a seguir que contiene mucha información metodológica y datos de los principales estudios clave que han permitido a otros países el establecimiento de sus propias recomendaciones. Asimismo, el uso de encuestas nutricionales en sujetos que no presentan signos de deficiencia de dichos nutrientes es más común de lo que se podría imaginar (incluso en otras franjas de edad posteriores a 1 año), y que en muchas encuestas nutricionales se toman datos de marcadores biológicos (directos o indirectos) de estado de ciertos nutrientes para añadir mayor fiabilidad a las mediciones. También se aprecia que el uso de ensayos clínicos es menor de lo esperado, siendo utilizado normalmente para nutrientes muy íntima y claramente relacionados con enfermedades crónicas de alta incidencia en algunas franjas de edad de la población. Es notable que se sigan citando muchos libros o informes técnicos, a menudo de autores que han escrito anteriormente varios artículos sobre este tema, lo que sugiere que dichos libros no son las experiencias u opiniones aisladas de un autor o grupo de autores, sino una revisión global de un conjunto de estudios. Asimismo se dispone de una lista de fuentes clave que pueden servir para encontrar nuevos estudios publicados por ellos o por autores asociados a sus instituciones que han seguido con la línea de investigación.

Tener, estudiar y comprender estos ejemplos puede ayudar a:

1. Establecer la calidad de la metodología de obtención de las ingestas de referencia de los distintos países.
2. Adaptar las ingestas recomendadas del país seleccionado a algunas de las características de la población española (datos antropométricos como, por ejemplo, el peso y la altura, la ingesta energética o proteica). Una gran parte de las recomendaciones se establecen por interpolación a partir de datos de ciertas franjas de edad y mediante ratios de “g o mg de nutriente por kg de peso corporal o Kcal o g de proteína al día”. En la mayoría de revisiones de artículos se llega a la conclusión de que los sujetos de la muestra (que tienen un peso o una ingesta energética o una ingesta proteica “X”) han mostrado que deben tener un nivel de ingesta “Y” al día para evitar tener un aporte inadecuado. Con dichos datos se obtiene un ratio de “g o mg de nutriente por kg de peso corporal o Kcal o g de proteína al día” con el que se pueden calcular valores de ingesta recomendada de franjas de edad de las

cuales no se tienen datos. Ahora dichos cálculos se podrían llevar a cabo teniendo en cuenta las características de la población española.

3. Buscar artículos de la misma tipología que no se hayan tenido en cuenta hasta la fecha para completar y mejorar las estimaciones existentes de dicho país. Se pueden obtener estudios de otros países o instituciones como por ejemplo la OMS, el Reino Unido, Francia y países germanos, o buscarlos directamente en bases de datos electrónicas tipo Pubmed o Scopus (porque ahora disponemos de palabras clave que permiten dicha búsqueda). Mediante esta estrategia se podrían completar y mejorar las estimaciones no solamente con estudios extranjeros escritos en inglés, italiano, portugués, francés, o español (estudios de Latinoamérica), sino también con estudios españoles realizados específicamente en población de nuestra geografía, lo que contribuiría notablemente a obtener unas ingestas de referencia más adecuadas para la población española.
4. Asimismo, ahora podemos dar recomendaciones a los investigadores españoles para que realicen estudios de los cuales no se disponen muchos datos, o mejorar el diseño de algunos estudios (por ejemplo, con añadir la determinación de algunos marcadores biológicos de estado en las encuestas nutricionales). Por ejemplo, una de las cuestiones que más preocupa a los autores del presente capítulo es haberse dado cuenta de que no se dispone en España de datos de encuestas nutricionales específicas o datos antropométricos oficiales a nivel nacional, sino solamente a nivel autonómico, lo que podría suponer un gran problema debido al extenso uso de dichos datos en la determinación de las ingestas recomendadas ya que los datos del INE no van dirigidos con esta finalidad.

Es por tanto el momento de empezar a trabajar de forma conjunta, con una visión global y bien documentada en la definición de una metodología propia para el establecimiento de los requerimientos de nutrientes.

Los autores recomiendan, por tanto, que el punto de partida sea la consideración de las recomendaciones basadas en el FNB/IOM para aquellos nutrientes de los que no se disponen de datos fiables hasta que el Comité de Expertos creado en el seno de la Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD) pueda ofrecer unas recomendaciones basadas en más estudios, más actuales, que incorporen estudios españoles, y que estén igualmente bien documentadas. Pese a que la realización de dicha tarea puede llevar mucho tiempo, es plausible que pueda ocurrir gracias al estudio de la metodología seguida por otros países.

Reference List

- (1) Cuervo M, Corbalán M, Baladia E, Cabrerizo L, Hormiguera X, Iglesias C, Lorenzo H, Polanco I, Quiles J, Romero de Ávila MD, Russolillo G, Villarino A, Martínez JA. Comparativa de las Ingestas Dietéticas de Referencia (IDR) de los diferentes países de la Unión Europea, de Estados Unidos (EEUU) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS). *Nutr Hosp.* 2009;24(4):384-414.
- (2) FAO/WHO: Human vitamin and mineral requirements. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation Bangkok, Thailand. Rome, 2002.
- (3) FAO/WHO: A Model for Establishing Upper Levels of Intake for Nutrients and Related Substances. Report of a joint FAO/ OMS Technical Workshop on Nutrient Risk Assesment (ed.): Geneva, 2005.
- (4) FAO/WHO/UNU: Human energy requirements. Report of a Joint FAO/WHO/ONU Expert Consultation. In FAO Food and Nutrition Technical Report Series N.º 1 (ed.): Rome,2004.
- (5) FAO/WHO/UNU: Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. In WHO Technical report series N.º 935 (ed.): Singapore, 2007.
- (6) Food and Nutrition Board (FNB), Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. National Academy Express, Washington, D.C., 2005.
- (7) Food and Nutrition Board (FNB), Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for Calcium , Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride. National Academy Press, Washington D.C., 1997.
- (8) Food and Nutrition Board (FNB), Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. National Academy Press, Washington, D.C., 1998.
- (9) Food and Nutrition Board (FNB), Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. National Academy Press, Washington, D.C., 2000.
- (10) Food and Nutrition Board (FNB), Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. National Academy Press, Washington, D.C., 2001.

- (11) Food and Nutrition Board (FNB), Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride and Sulfate. National Academy Press, Washington, D.C., 2004.
- (12) Food and Nutrition Board (FNB), Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes: A Risk Assessment Model for Establishing Upper Intake Levels for Nutrients. National Academy Press, Washington, D.C., 1998.
- (13) Scientific Committee on Food (SCF): Nutrient and Energy Intakes for the European Community. Opinion adopted by the SCF on 11 december 1992. In Reports of the SCF Series N.º 31 (ed.): Luxemburg, European Commission, 1992.
- (14) Scientific Committee on Food (SCF): Guidelines of the SCF for the development of tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. In SCF/CS/NUT/UPPLEV/11 Final (ed.), 2000.
- (15) Department of Health of UK. Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients in the United Kingdom. HMSO, London, 1991.
- (16) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Review of Dietary Advice on Vitamin A. In TSO (The Stationery Office) (ed.): London, 2005.
- (17) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Folate and Disease Prevention. In TSO (The Stationery Office) (ed.): London. 2006.
- (18) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Update on Vitamin D. In Position Statement TSO (The Stationery Office) (ed.): London. 2007.
- (19) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Update on trans fatty acids and health. In Position Statement TSO (The Stationery Office) (ed.): London. 2007.
- (20) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Statement on Dietary Fibre. In Position Statement TSO (The Stationery Office) (ed.): London. 2008.
- (21) Martin A. Apports nutritionnels conseilles pour la population française. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Tec et Doc Lavoisier, ed. 3º, Paris, 2001.
- (22) German Nutrition Society (DGE), Austrian Nutrition Society (ÖGE), Swiss Society for Nutrition Research (SGE), Swiss Nutrition Association (SVE). D-A-CH Reference Values for Nutrient intake. Umschau Braus GmbH. German Nutrition Society (DGE), Frankfurt, 2002.

- (23) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Review of Dietary Advice on Vitamin A. In TSO (The Stationery Office) (ed.): London. Disponible en: http://www.sacn.gov.uk/pdfs/sacn_vita_report.pdf, 2005.
- (24) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Folate and Disease Prevention. In TSO (The Stationery Office) (ed.): London. Disponible en: http://www.sacn.gov.uk/pdfs/folate_and_disease_prevention_report.pdf, 2006.
- (25) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Update on Vitamin D. In Position Statement TSO (The Stationery Office) (ed.): London. Disponible en: http://www.sacn.gov.uk/pdfs/sacn_position_vitamin_d_2007_05_07.pdf, 2007.
- (26) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Update on trans fatty acids and health. In Position Statement TSO (The Stationery Office) (ed.): London. Disponible en: http://www.sacn.gov.uk/pdfs/sacn_trans_fatty_acids_report.pdf, 2007.
- (27) Scientific Advisory Committee on Nutrition (SCAN): Statement on Dietary Fibre. In Position Statement TSO (The Stationery Office) (ed.): London. Disponible en: http://www.sacn.gov.uk/pdfs/final_sacn_position_statement_for_website_dietary_fibre.pdf, 2008.
- (28) Baladia E, Basulto J. Sistema de clasificación de los estudios en función de la evidencia científica. *Dietética y Nutrición Aplicada Basadas en la Evidencia (DNABE): una herramienta para el dietista-nutricionista del futuro*. *Act Diet.* 2008;12(1):11-9.
- (29) Johnson DE. Contributions of animal nutrition research to nutrition principles: energetics. *J Nutr.* 2007;137:698-701.
- (30) Bergen WG. Contributions of research with faro animals to protein metabolism concepts: a historical perspectiva. *J Nutr.* 2007;137:706-10.
- (31) Mitchell AD. Impacto of research with cattle, pigs, and sheep on nutritional concepts: body composition and growth. *J Nutr.* 2007;137:711-14.
- (32) Baker DH. Animal Models in Nutrition Research. *J Nutr.* 2008;138:391-6.
- (33) Bingham S.A., Nelson M., Paul A.A., Haraldsdóttir J., Løken E.B. and van Staveren W.A., Methods for data collection at an individual level. In *Manual on Methodology for Food Consumption Studies*, eds. M.E, Cameron & Wvan Staveren. New York: Oxford University Press; 1988.

- (34) Pao E.M. and Cypel Y.S.. Cálculo de la ingesta dietética en Conocimientos actuales sobre Nutrición, 7th Edition, 498-507. ed. by E.E. Ziegler and L.J. Filler, Jr. ILSI Press (Instituto Internacional de Ciencias de la Vida), Washington; 1996.
- (35) Serra Majem Ll. y Ribas Barba L. Recordatorio de 24 horas en Nutrición y Salud Pública. En: Ll. Serra Majem, J. Aranceta Bartrina y J.Mataix Verdú. Métodos, bases científicas y aplicaciones. Eds., Masson, S.A; 1998 p. 113-119.
- (36) Biró G., Hulshof K.F.A.M., Ovesen L. and Amorim Cruz J.A.. Selection of methodology to assess food intake. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2002;56(Suppl 2):S25-S32.
- (37) Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, Hennekens CH, Speizer FE. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol* 1985;122:51–65.
- (38) Detsky AS, Naylor CD, O'Rourke K, et al. Incorporating variations in the quality of individual randomized trials into metaanalysis. *J Clin Epidemiol*. 1992;45:255-65.
- (39) Verhagen AP, De Vet HC, De Bie RA, Kessels AG, Boers M, Bouter LM, et al. The Delphi list a criteria list for quality assessment of randomized clinical trials for conducting systematic reviews developed by Delphi consensus. *J Clin Epidemiol*. 1998;51:1235-41.
- (40) Allen JC, Keller RP, Archer P, Neville MC. Studies in human lactation: Milk composition and daily secretion rates of macronutrients in the first year of lactation. *Am J Clin Nutr*. 1991;54:69–80.
- (41) Heinig MJ, Nommsen LA, Peerson JM, Lönnerdal B, Dewey KG. Energy and protein intakes of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life and their association with growth velocity: The DARLING Study. *Am J Clin Nutr*. 1993; 58:152-161.
- (42) Butte NF, Garza C, O'Brian Smith E, Nichols BL. Human milk intake and growth in exclusively breast-fed infants. *J Pediatr*.1984;104:187-195.
- (43) Dewey KG, Lönnerdal B. Milk and nutrient intake of breast-fed infants from 1 to 6 months: Relation to growth and fatness. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1983; 2:497-506.
- (44) Dewey KG, Finley DA, Lönnerdal B. Breast milk volume and composition during late lactation (7-20 months). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1984; 3:713-720.

- (45) Nommsen LA, Lovelady CA, Heinig MJ, Lönnerdal B, Dewey KG. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: The DARLING Study. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53:457-465.
- (46) Schofield, W.N., Schofield, C. & James, W.P.T. Basal metabolic rate – review and prediction, together with an annotated bibliography of source material. *Human Nutr. Clin. Nutr.* 1985;39C(suppl.1):1–96.
- (47) FAO/WHO/UNU. Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. Energy and protein requirements. Geneva: Technical report series (WHO) 1985; 724.
- (48) James, W.P.T. & Schofield, E.C. Human energy requirements. A manual for planners and nutritionists. Oxford, UK, Oxford Medical Publications under arrangement with FAO; 1990.
- (49) James WPT, Ralph A, Ferro-Luzzi A. Energy needs of the elderly. A new approach. In: Munro HN, Danford DE. Eds. *Human nutrition: A Comprehensive Treatise, Vol 6: Nutrition, Ageing and the elderly.* New York: Plenum Press. 1989;129-151.
- (50) Ferro-Luzzi A. The application of energy costs to activities and overall energy expenditure over 24h (including BMR levels) of the elderly. Report to FAO. 1987.
- (51) Prentice AM, Goldberg GR, Davies HL, Murgatroyd PR, Scott W. Energy-sparing adaptations in human pregnancy assessed by whole-body calorimetry. *Br J Nutr.* 1989;62:5-22.
- (52) Blingworth PJ, Jung RT, Howe PW, Isles TE. Reduction in postprandial energy expenditure during pregnancy. *Br Med J.* 1987;294:1573-1576.
- (53) Durnin JVGA. Energy requirements of pregnancy and integration of the longitudinal data from the five-country study. *Lancet.* 1987;ii:1131-1133.
- (54) Van Raaij JATM, Vermatt-Miedema SH, Schonk CM, Peck PEM, Hautvast JGAJ. Energy requirements of pregnancy in the Netherlands. *Lancet* 1987;ii:953-54.
- (55) Paul AA, Black AE, Evans J, Cole TJ, Whitehead RG. Breast-Milk intake and growth in infants from 2 to 10 month. *J Hum Nutr Dietet* 1988;1:437-450.
- (56) World Health Organization (WHO). The quality and quantity of breast-milk: Report on the WHO Collaborative Study on Breast-feeding. Geneva: WHO, 1985.

- (57) Huang P-C, Lin CP, Hsu JY. Protein requirements of normal infants at the age of 1 year: Maintenance nitrogen requirement and obligatory nitrogen losses. *J Nutr.* 1980; 110:1727-1735. 2009.
- (58) Gattas V, Barrera GA, Riumallo JS, Uauy R. Protein-energy requirements of prepubertal school-age boys determined by using the nitrogen-balance response to a mixed-protein diet. *Am J Clin Nutr.* 1990; 52:1037-1042.
- (59) Rand RM, Pellett PL, Young VR. Meta-analysis of nitrogen balance studies for estimating protein requirements in healthy adults. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77:109-127.
- (60) Intengan CL. Protein requirements of Filipino children 22–29 months old consuming local diets. In: Rand WM, Uauy R, Scrimshaw NS, eds. *Protein-Energy Requirement Studies in Developing Countries: Results of International Research.* Tokyo, Japan: United Nations University Press; 1984.
- (61) Torun B, Cabrera Santiago M, Viteri FE. Protein requirements of pre-school children: Milk and soybean protein isolate. In: Torun B, Young VR, Rand WM, eds. *Protein-Energy Requirements of Developing Countries: Evaluation of New Data.* Tokyo, Japan: United Nations University Press; 1981. Pp. 182-190.
- (62) Egana JI, Fuentes A, Uauy R. Protein needs of Chilean pre-school children fed milk and soy protein isolate diets. In: Rand WM, Uauy R, Scrimshaw NS, eds. *Protein-Energy Requirement Studies in Developing Countries: Results of International Research.* Tokyo, Japan: United Nations University Press; 1984. Pp. 249–257.
- (63) Gattas V, Barrera GA, Riumallo JS, Uauy R. 1992. Protein-energy requirements of boys 12-14 y old determined by using the nitrogen-balance response to a mixed-protein diet. *Am J Clin Nutr* 56:499–503.
- (64) Calloway DH. Nitrogen balance during pregnancy. In: Winnick M, ed. *Nutrition and Fetal Development, Vol. 2.* New York: John Wiley and Sons. 1974. Pp. 79–94.
- (65) King JC, Calloway DH, Margen S. Nitrogen retention, total body 40K and weight gain in teenage pregnant girls. *J Nutr.* 1973. 103:772-785.
- (66) Butte NF, Hopkinson JM, Wong WW, Smith EO, Ellis KJ. Body composition during the first 2 years of life: An updated reference. *Pediatr Res* 2000; 47:578-585.
- (67) Ellis KJ, Shypailo RJ, Abrams SA, Wong WW. The reference child and adolescent models of body composition. A contemporary comparison. *Ann NY Acad Sci.* 2000; 904:374-382.

- (68) King JC, Calloway DH, Margen S. Nitrogen retention, total body 40K and weight gain in teenage pregnant girls. *J Nutr.*1973; 103:772-785.
- (69) Emerson K, Poindexter EL, Kothari M. Changes in total body composition during normal and diabetic pregnancy: Relation to oxygen consumption. *Obstet Gynecol.*1975; 45:505–511.
- (70) Pipe NGJ, Smith T, Halliday D, Edmonds CJ, Williams C, Coltart TM. Changes in fat, fat-free mass and body water in human normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1979; 86:929-940.
- (71) Forbes GB. *Human Body Composition: Growth, Aging, Nutrition, and Activity.* New York: Springer-Verlag; 1987.
- (72) Forsum E, Sadurskis A, Wager J. Resting metabolic rate and body composition of healthy Swedish women during pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 1988; 47:942–947.
- (73) Hediger ML, Scholl TO, Ances IG, Belsky DH, Salmon RW. Rate and amount of weight gain during adolescent pregnancy: Associations with maternal weight-for-height and birth weight. *Am J Clin Nutr.* 1990; 52:793-799.
- (74) Scholl TO, Hediger ML, Ances IG. Maternal growth during pregnancy and decreased infant birth weight. *Am J Clin Nutr.* 1990; 51:790–793.
- (75) Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Khoo C-S, Fischer RL. Maternal growth during pregnancy and the competition for nutrients. *Am J Clin Nutr.* 1994; 60:183–188.
- (76) Butte NF, Garza C, Johnson CA, O'Brian Smith E, Nichols BL. Longitudinal changes in milk composition of mothers delivering preterm and term infants. *Early Hum Dev.* 1984; 9:153-162.
- (77) Fuller MF, Garlick PJ. Human amino acid requirements: can the controversy be resolved? *Annual Review of Nutrition*, 1994, 14:217–241.
- (78) Millward DJ. Metabolic demands for amino acids and the human dietary requirement: Millward and Rivers (1988) revisited. *Journal of Nutrition*, 1998, 128(12 Supl.):2563S–2576S.
- (79) Millward DJ. Human amino acid requirements. *Journal of Nutrition*, 1997, 127:1842–1846.

- (80) National Research Council. Nutrition during pregnancy. Washington: National Academy Press; 1990.
- (81) Hofvander Y, Hagman U, Hillervik C, Sjolín S. The amount of milk consumed by 1-3 months old breast- or bottle-fed infants. *Acta Paediatr Scand.* 1982; 71:953-958.
- (82) Neville MC, Keller R, Seacat J, Lutes V, Neifert M, Casey C, Allen J, Archer P. Studies in human lactation: Milk volumes in lactating women during the onset of lactation and full lactation. *Am J Clin Nutr.* 1988; 48:1375–1386.
- (83) Lammi-Keefe CJ, Ferris AM, Jensen RG. Changes in human milk at 0600, 1000, 1400, 1800, and 2200 h. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1990; 11:83-88.
- (84) Nommsen LA, Lovelady CA, Heinig MJ, Lönnerdal B, Dewey KG. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: The DARLING Study. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53:457–465.
- (85) Di Buono M, Jones PJH, Beaumier L, Wykes LJ. 2000. Comparison of deuterium incorporation and mass isotopomer distribution analysis for measurement of human cholesterol biosynthesis. *J Lipid Res* 41:1516–1523.
- (86) McDowell MA, Briefel RR, Alaimo K, Bischof AM, Caughman CR, Carroll MD, Loria CM, Johnson CL. Energy and micronutrient intakes of persons ages 2 months and over in the United States: Third National Health and Nutrition Examination Survey, Phase 1, 1988-91. *Adv Data.* 1994; 255:1-24.
- (87) Dekaban AS, Sadowsky D. Changes in brain weights during the span of human life: Relation of brain weights to body heights and body weights. *Ann Neurol.* 1978; 4:345–356.
- (88) Gottstein U, Held K. Effects of aging on cerebral circulation and metabolism in man. *Acta Neurologica Scand.* 1979; 60:54-55.
- (89) Sokoloff L, Fitzgerald GG, Kaufman EE. Cerebral nutrition and energy metabolism. In: Wurtman RJ, Wurtman JJ, eds. *Nutrition and the Brain.* New York: Raven Press; 1977. Pp. 87–139.
- (90) Bell JD, Margen S, Calloway DH. Ketosis, weight loss, uric acid, and nitrogen balance in obese women fed single nutrients at low caloric levels. *Metabolism.* 1969; 18:193-208.
- (91) Sapir DG, Owen OE, Cheng JT, Ginsberg R, Boden G, Walker WG. The effect of carbohydrates on ammonium and ketoacid excretion during starvation. *J Clin Invest.*

1972; 51:2093–2102.

- (92) Sokoloff L. Metabolism of ketone bodies by the brain. *Annu Rev Med.* 1973; 24:271–280.
- (93) Sparks JW, Girard JR, Battaglia FC. An estimate of the caloric requirements of the human fetus. *Biol Neonate.* 1980; 38:113-119.
- (94) Denne SC, Kalhan SC. Glucose carbon recycling and oxidation in human newborns. *Am J Physiol.* 1986; 251:E71–E77.
- (95) Hay WW. Placental supply of energy and protein substrates to the fetus. *Acta Paediatr.* 1994; Suppl 405:13–19.
- (96) Yamaura H, Ito M, Kubota K, Matsuzawa T. Brain atrophy during aging: A quantitative study with computed tomography. *J Gerontol.* 1980; 35:492-498.
- (97) Robert J-J, Cummins JC, Wolfe RR, Durkot M, Matthews DE, Zhao XH, Bier DM, Young VR. Quantitative aspects of glucose production and metabolism in healthy elderly subjects. *Diabetes.* 1982; 31:203-211.
- (98) Leenders KL, Perani D, Lammertsma AA, Heather JD, Buckingham P, Healy MJR, Gibbs JM, Wise RJS, Hatazawa J, Herold S, Beaney RP, Brooks DJ, Spinks T, Rhodes C, Frackowiak RSJ, Jones T. Cerebral blood flow, blood volume and oxygen utilization. Normal values and effect of age. *Brain.* 1990; 113:27-47.
- (99) Pietinen P, Rimm EB, Korhonen P, Hartman AM, Willett WC, Albanes D, Virtamo J. Intake of dietary fiber and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Circulation.* 1996; 94:2720–2727.
- (100) Rimm EB, Ascherio A, Giovannucci E, Spiegelman D, Stampfer MJ, Willett WC. Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *J Am Med Assoc.* 1996; 275:447–451.
- (101) Wolk A, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Hu FB, Speizer FE, Hennekens CH, Willett WC. Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of coronary heart disease among women. *J Am Med Assoc.* 1999; 281:1998–2004.
- (102) Atkinson SA, Alston-Mills BP, Lonnerdal B, Neville MC, Thompson MP. Major minerals and ionic constituents of human and bovine milk. In: Jensen RJ, ed. *Handbook*

of Milk Composition. California: Academic Press; 1995. Pp. 593–619.

- (103) Lonnerdal B. Effects of milk and milk components on calcium, magnesium, and trace element absorption during infancy. *Physiol Rev.* 1997; 77:643–669.
- (104) Fomon SJ, Nelson SE. Calcium, phosphorus, magnesium, and sulfur. In: Fomon SJ, ed. *Nutrition of Normal Infants*. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc; 1993. Pp. 192–216.
- (105) Abrams SA, Wen J, Stuff JE. Absorption of calcium, zinc and iron from breast milk by 5- to 7-month-old infants. *Pediatr Res.* 1997; 41:1–7.
- (106) Ellis KJ, Abrams SA, Wong WW. Body composition of a young, multiethnic female population. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65:724–731.
- (107) Matkovic V, Heaney RP. Calcium balance during human growth: Evidence for threshold behavior. *Am J Clin Nutr.* 1992; 55:992–996.
- (108) Jackman LA, Millane SS, Martin BR, Wood OB, McCabe GP, Peacock M, Weaver CM. Calcium retention in relation to calcium intake and postmenarcheal age in adolescent females. *Am J Clin Nutr.* 1997; 66:327–333.
- (109) Lloyd T, Andon MB, Rollings N, Martel JK, Landis R, Demers LM, Egli DF, Kieselhorst K, Kulin HE. Calcium supplementation and bone mineral density in adolescent girls. *J Am Med Assoc.* 1993; 270:841–844.
- (110) Martin AD, Bailey DA, McKay HA. Bone mineral and calcium accretion during puberty. *Am J Clin Nutr.* 1997; 66:611–615.
- (111) Elders PJ, Lips P, Netelenbos JC, van Ginkel FC, Khoe E, van der Vijgh WJ, van der Stelt PF. Long-term effect of calcium supplementation on bone loss in perimenopausal women. *J Bone Miner Res.* 1994; 9:963–970.
- (112) American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Calcium requirements in infancy and childhood. *Pediatrics.* 1978; 62:826-832.
- (113) Matkovic, V. 1991. Calcium metabolism and calcium requirements during skeletal modeling and consolidation of bone mass. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54: 45S-260S.
- (114) Williams, M.L., Rose, C.S., Morrow, G., Sloan, S.E. & Barnes, L.A. 1970. Calcium and fat absorption in neonatal period. *Am. J. Clin. Nutr.*, 23: 1322-1330.

- (115) Hanna, F.M., Navarrete, D.A. & Hsu, F.A. 1970. Calcium-fatty acid absorption in term infants fed Human milk and prepared formulas simulating Human milk. *Pediatrics*, 45:216-224.
- (116) Widdowson, E.M. 1965. Absorption and excretion of fat, nitrogen, and minerals from "filled" milks by babies one week old. *Lancet*, 2: 1099-1105.
c
- (117) Shaw, J.C.L. 1976. Evidence for defective skeletal mineralisation in low birthweight infants: the absorption of calcium and fat. *Pediatrics*, 57: 16-25.
- (118) Widdowson, E.M., McCance, R.A., Harrison, G.E. & Sutton, A. 1963. Effect of giving phosphate supplements to breast-fed babies on absorption and excretion of calcium, strontium, magnesium and phosphorus. *Lancet*, 2:1250-51.
- (119) Prince, R.L., Dick, I. & Devine, A. 1995. The effects of menopause and age in calcitropic hormones: a cross-sectional study of 655 healthy women aged 35 to 90. *J. Bone Miner.Res.*, 10: 835-842.
- (120) Nordin, B.E.C. & Polley, K.J. 1987. Metabolic consequences of the menopause. A cross-sectional, longitudinal, and intervention study on 557 normal postmenopausal women. *Calcif. Tissue Int.*, 41: S1-S60.
- (121) LEITCH I, AITKEN FC. The estimation of calcium requirement: a re-examination. *Nutr Abstr Rev Ser Hum Exp.* 1959 Apr;29(2):393-411.
- (122) Nordin BE, Heaney RP. Calcium supplementation of the diet: justified by present evidence. *BMJ.* 1990 Apr 21;300(6731):1056-60.
- (123) American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Calcium requirements in infancy and childhood. *Pediatrics.* 1978 Nov;62(5):826-34.
- (124) Widdowson EM. Nutritional requirement and its assessment, with special reference to energy, protein and calcium. *Bibl Nutr Dieta.* 1979;(28):148-54.
- (125) Nordin B. Calcium. *J Food Nutr.* 1986;42:67-82.
- (126) Greer FR, Tsang RC, Levin RS, Searcy JE, Wu R, Steichen JJ. Increasing serum calcium and magnesium concentrations in breast-fed infants: Longitudinal studies of minerals in human milk and in sera of nursing mothers and their infants. *J Pediatr.* 1982; 100:59-64.

- (127) Specker BL, Beck A, Kalkwarf H, Ho M. Randomized trial of varying mineral intake on total body bone mineral accretion during the first year of life. *Pediatrics*. 1997; 99:e12.
- (128) Fomon SJ, Haschke F, Ziegler EE, Nelson SE. Body composition of reference children from birth to age 10 years. *Am J Clin Nutr*. 1982; 35:1169–1175.
- (129) Lemann J Jr. Calcium and phosphate metabolism: An overview in health and in calcium stone formers. In: Coe FL, Favus MJ, Pak CY, Parks JH, Preminger GM, eds. *Kidney Stones: Medical and Surgical Management*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1996. Pp. 259–288.
- (130) Slemenda CW, Reister TK, Hui SL, Miller JZ, Christian JC, Johnston CC Jr. Influences on skeletal mineralization in children and adolescents: Evidence for varying effects of sexual maturation and physical activity. *J Pediatr*. 1994; 125:201–207.
- (131) Deurenberg P, Pieters JJ, Hautvast JG. The assessment of the body fat percentage by skinfold thickness measurements in childhood and young adolescence. *Br J Nutr*. 1990; 63:293–303.
- (132) Greger JL, Baligar P, Abernathy RP, Bennett OA, Peterson T. Calcium, magnesium, phosphorus, copper, and manganese balance in adolescent females. *Am J Clin Nutr*. 1978; 31:117–121.
- (133) Heaney RP, Recker RR. Effects of nitrogen, phosphorus, and caffeine on calcium balance in women. *J Lab Clin Med*. 1982; 99:46–55.
- (134) Morris RC Jr, Sebastian A, Forman A, Tanaka M, Schmidlin O. Normotensive salt-sensitivity: Effects of race and dietary potassium. *Hipertensión*. 1999; 33:18–23.
- (135) Curhan GC, Willett WC, Speizer FE, Spiegelman D, Stampfer MJ. Comparison of dietary calcium with supplemental calcium and other nutrients as factors affecting the risk of kidney stones in women. *Ann Intern Med*. 1997; 126:497–504.
- (136) Hirvonen T, Pietinen P, Virtanen M, Albanes D, Virtamo J. 1999. Nutrient intake and use of beverages and the risk of kidney stones among male smokers. *Am J Epidemiol* 150:187–194.
- (137) Sebastian A, McSherry E, Morris RC Jr. Renal potassium wasting in renal tubular acidosis (RTA): its occurrence in types 1 and 2 RTA despite sustained correction of systemic acidosis. *J Clin Invest*. 1971 Mar;50(3):667-78.

- (138) Craddick SR, Elmer PJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Swain MC. The DASH diet and blood pressure. *Curr Atheroscler Rep.* 2003; 5:484–491.
- (139) Karanja NM, Obarzanek E, Lin PH, McCullough ML, Phillips KM, Swain JF, Champagne CM, Hoben KP. Descriptive characteristics of the dietary patterns used in the Dietary Approaches to Stop Hypertension Trial. *J Am Diet Assoc.* 1999; 99:19S–27S.
- (140) Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, Obarzanek E, Conlin PR, Miller ER, Simons-Morton DG, Karanja N, Lin PH. Effects of blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. *N Engl J Med.* 2001; 344:3–10.
- (141) Allsopp AJ, Sutherland R, Wood P, Wootton SA. The effect of sodium balance on sweat sodium secretion and plasma aldosterone concentration. *Eur J Applied Physiol.* 1998; 78:516–521.
- (142) FAO/WHO. Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B12. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome: Food and Agriculture Organization (FAO) Food and Nutrition Series; 23. 1988.
- (143) Law MR, Frost CD, Wald NJ. By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? I--Analysis of observational data among populations. *BMJ.* 1991 Apr 6;302(6780):811-5.
- (144) Law MR, Frost CD, Wald NJ. By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? III--Analysis of data from trials of salt reduction. *BMJ.* 1991 Apr 6;302(6780):819-24. Erratum in: *BMJ* 1991 Apr 20;302(6782):939.
- (145) Law MR, Frost CD, Wald NJ. By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? II--Analysis of observational data within populations. *BMJ.* 1991 Apr 6;302(6780):815-8. 2009.
- (146) Frost CD, Law MR, Wald NJ. By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? II--Analysis of observational data within populations. *BMJ.* 1991 Apr 6;302(6780):815-8.
- (147) B Friis-Hansen. Body Water Compartments In Children: Changes During Growth And Related Changes In Body Composition. *Pediatrics.* 1961 Aug;28(2): 169-181.
- (148) Etling N, Padovani E, Fouque F, Tato L. First-month variations in total iodine content of human breast milks. *Early Hum Dev.* 1986 Feb;13(1):81-5.

- (149) Gushurst CA, Mueller JA, Green JA, Sedor F. Breast milk iodide: reassessment in the 1980s. *Pediatrics*. 1984 Mar;73(3):354-7.
- (150) Johnson LA, Ford HC, Doran J, Richardson VF. A survey of the iodide concentration of human milk. *N Z Med J*. 1990 Aug 22;103(896):393-4.
- (151) F Delange, P Bourdoux, Thi LD Vo, AM Ermans and J Senterre. Negative balance in preterm infants. *Ann Endocr* 1984; 45:77.
- (152) Malvaux P, Beckers C, De Visscher M. Iodine balance studies in nongoitrous children and in adolescents on low iodine intake. *J Clin Endocrinol Metab*. 1969 Jan;29(1):79-84.
- (153) Mattsson S, Lindström S. Diuresis and voiding pattern in healthy schoolchildren. *Br J Urol*. 1995 Dec;76(6):783-9.
- (154) Nath SK, Moinier B, Thuillier F, Rongier M, Desjeux JF. Urinary excretion of iodide and fluoride from supplemented food grade salt. *Int J Vitam Nutr Res*. 1992;62(1):66-72.
- (155) Vought RL, London WT. Iodine intake, excretion and thyroidal accumulation in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1967 Jul;27(7):913-9.
- (156) Delange, F. 1993. Requirements of iodine in Humans. In: *Iodine deficiency in Europe. A continuing concern*. Delange F., Dunn J.T., Glinoe D, eds, p. 5-16. New York, Plenum
- (157) Fisher DA, Oddie TH. Thyroidal radioiodine clearance and thryoid iodine accumulation: contrast between random daily variation and population data. *J Clin Endocrinol Metab*. 1969 Jan;29(1):111-5.
- (158) Fisher DA, Oddie TH. Thyroid iodine content and turnover in euthyroid subjects: validity of estimation of thyroid iodine accumulation from short-term clearance studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 1969 May;29(5):721-7.
- (159) Dunn JT, Semigran MJ, Delange F. The prevention and management of iodine-induced hyperthyroidism and its cardiac features. *Thyroid*. 1998 Jan;8(1):101-6.
- (160) Delange, F. Iodine nutrition and congenital hypothyroidism. In: Delante F, Fisher DA, Glinoe D, eds. *Research in Congenital. Hypothyroidism*. New York: Plenum Press; 1989.
- (161) Delange F, Ermans AM. Iodine deficiency. In :Breverman LE, Utiger RD, eds, *Werner and Ingbar's the Thyroid: A fundamental and Clinical Test*, 6th ed. Philadelphia: JD

Lippincott; 1991.

- (162) Dworkin HJ, Jacquez JA, Beierwaltes WH. Relationship of iodine ingestion to iodine excretion in pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1966 Dec;26(12):1329-42.
- (163) Delante F, Bourdoux P, Vo Thi LD, Ermans AM, Senterre J. Negative iodine balance in preterms infants. *Ann Endocrinol* 45:77.
- (164) Tovar, E., Maisterrena, J.A. & Chavez, A. 1969. Iodine nutrition levels of school children in rural Mexico. In: *Endemic Goitre*. Stanbury, J.B. ed. p. 411-15. Pan American Health Organization, Washington, D.C., Sc. Publication no. 193.
- (165) Delange, F., Benker, G., Caron, P.H., Eber, O., Ott, W., Peter, F., Podoba, J., Simescu, M., Szybinsky, Z., Vertongen, F., Vitti, P., Wiersinga, W. & Zamrazil, V. 1997. Thyroid volume and urinary iodine in European schoolchildren. Standardization of values for assessment of iodine deficiency. *Eur. J. Endocrinol.*, 136: 180-187.
- (166) Buchinger, W., Lorenz-Wawschinek, O., Binter, G., Langsteger, W., Bonelli, R. & Eber, O. 1996. Relation between serum thyrotropin and thyroglobulin with urinary iodine excretion. In: *The Thyroid and Iodine*. Nauman, J., Glinoyer, D., Braverman, L.E., Hostalek, U. eds. p. 189-190. Stuttgart, Germany, Schattauer.
- (167) Delange, F. 1993. Requirements of iodine in Humans. In: *Iodine deficiency in Europe. A continuing concern*. Delange, F., Dunn, J.T., Glinoyer, D. eds p. 5-13. New York, Plenum Press.
- (168) Glinoyer, D., De Nayer, P., Bourdoux, M., Lemone, M., Robyn, C., Van Steirteghem, A., Kinthaert, J. & Lejeune, D. 1990. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 71: 76-87.
- (169) Glinoyer, D., De Nayer, P., Delange, F., Toppet, V., Spehl, M., Grun, J.P., Kinthart, J. & Lejeune, B. 1995. A randomized trial for the treatment of excessive thyroïdal stimulation in pregnancy: maternal and neonatal effects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 80:258-69.
- (170) Mouloupoulou DS, Koutras DA, Mantzos J et al. Iodine intake and thyroid function in normal individuals. In: Nagataki S, Torizuka K, eds. *The Thyroid*. New Cork: Elsevier, 283-286.
- (171) Stanbury JB, Ermans AM, Hetzel BS, Pretell EA, Querido A. Endemic goitre and cretinism: public health significance and prevention. *WHO Chron.* 1974 May;28(5):220-8.

- (172) Green R, Charlton R, Seftel H, Bothwell T, Mayet F, Adams B, Finch C, Layrisse M. Body iron excretion in man: a collaborative study. *Am J Med.* 1968 Sep;45(3):336-53.
- (173) GARBY L, SJOLIN S, VUILLE JC. Studies on erythro-kinetics in infancy. IV. The Long-term behaviour of radioiron in circulating foetal and adult haemoglobin and its faecal excretion. *Acta Paediatr.* 1964 53:33-41.
- (174) Dibley MJ, Goldsby JB, Staehling NW, Trowbridge FL. Development of normalized curves for the international growth reference: historical and technical considerations. *Am J Clin Nutr.* 1987 Nov;46(5):736-48.
- (175) Hawkins WW. Iron, copper and cobalt. In: Beaton GH, McHenry EW, eds. *Nutrition: A comprehensive Treatise.* New York: Academic Press; 1964: 309-372.
- (176) Beaton GH, Corey PN, Steele C. Conceptual and methodological issues regarding the epidemiology of iron deficiency and their implications for studies of the functional consequences of iron deficiency. *Am J Clin Nutr.* 1989 Sep;50(3 Suppl):575-85; discussion 586-8.
- (177) Smith NJ, Rios E. Iron metabolism and iron deficiency in infancy and childhood. *Adv Pediatr.* 1974;21:239-80.
- (178) Dallman PR. Iron deficiency in the weanling: a nutritional problem on the way to resolution. *Acta Paediatr Scand Suppl.* 1986;323:59-67.
- (179) Hallberg L, Rossander-Hultén L. Iron requirements in menstruating women. *Am J Clin Nutr.* 1991 Dec;54(6):1047-58.
- (180) Barrett JF, Whittaker PG, Williams JG, Lind T. Absorption of non-haem iron from food during normal pregnancy. *BMJ.* 1994 Jul 9;309(6947):79-82.
- (181) FAO/WHO. 1988. Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B12. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome, Food and Agriculture Organization.
- (182) Hallberg L, Högdahl AM, Nilsson L, Rybo G. Menstrual blood loss--a population study. Variation at different ages and attempts to define normality. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1966;45(3):320-51.
- (183) Karlberg P, Taranger J. The somatic development of children in a Swedish urban community. *Acta Paediatr Scand Suppl.* 1976;(258):1-148.

- (184) Hallberg L. Iron Balance in pregnancy. In: Berger H, ed. *Vitamins and Minerals in Pregnancy and Lactation*. Raven Press. New York, 115-126.
- (185) DeMaeyer EM, Dallman P, Gurney JM, Hallberg L, Sood SK, Srikantia SG. Preventing and controlling iron deficiency anaemias through primary health care. World Health Organization, Geneva; 1989.
- (186) Flanagan PR. Mechanisms and regulation of intestinal uptake and transfer of iron. *Acta Paediatr Scand Suppl*. 1989;361:21-30.
- (187) Hallberg L, Nilsson L, Hoegdahl AM, Rybo G. Menstrual Blood Losses In A Population Sample. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1965;43:Suppl 7:57.
- (188) Vuori E. Intake of copper, iron, manganese and zinc by healthy, exclusively-breast-fed infants during the first 3 months of life. *Br J Nutr*. 1979 Nov;42(3):407-11.
- (189) Krebs NF, Reidinger CJ, Robertson AD, Hambidge KM. Growth and intakes of energy and zinc in infants fed human milk. *J Pediatr*. 1994 Jan;124(1):32-9.
- (190) Krebs NF, Reidinger CJ, Hartley S, Robertson AD, Hambidge KM. Zinc supplementation during lactation: effects on maternal status and milk zinc concentrations. *Am J Clin Nutr*. 1995 May;61(5):1030-6.
- (191) Widdowson EM, Dickerson JWT. Chemical composition of the body. In: Comar CL, Bronner F, eds. *Mineral metabolism*, vol 2, Pt A. New York: Academic Press, 1964; 1-247.
- (192) Davidsson L, Mackenzie J, Kastenmayer P, Aggett PJ, Hurrell RF. Zinc and calcium apparent absorption from an infant cereal: a stable isotope study in healthy infants. *Br J Nutr*. 1996 Feb;75(2):291-300.
- (193) Fairweather-Tait SJ, Wharf SG, Fox TE. Zinc absorption in infants fed iron-fortified weaning food. *Am J Clin Nutr*. 1995 Oct;62(4):785-9.
- (194) 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 Jun;51(6):375-80.
- (195) Lee DY, Prasad AS, Hydrick-Adair C, Brewer G, Johnson PE. Homeostasis of zinc in marginal human zinc deficiency: role of absorption and endogenous excretion of zinc. *J*

Lab Clin Med. 1993 Nov;122(5):549-56.

- (196) Miller LV, Krebs NF, Hambidge KM. Human zinc metabolism: advances in the modeling of stable isotope data. *Adv Exp Med Biol.* 1998;445:253-69.
- (197) Hess, F.M., King, J.C. & Margen, S. 1977. Zinc excretion in young women on low zinc intakes and oral contraceptive agents. *J. Nutr.*, 107: 1610-20.
- (198) Johnson, P.E., Hunt, C.D., Milne, D.B. & Mullen, L.K. 1993. Homeostatic control of zinc metabolism in men: zinc excretion and balance in men fed diets low in zinc. *Am. J. Clin. Nutr.*, 57: 557-565.
- (199) Hunt CD, Johnson PE, Herbel J, Mullen LK. Effects of dietary zinc depletion on seminal volume and zinc loss, serum testosterone concentrations, and sperm morphology in young men. *Am J Clin Nutr.* 1992 Jul;56(1):148-57.
- (200) Taylor CM, Bacon JR, Aggett PJ, Bremner I. Homeostatic regulation of zinc absorption and endogenous losses in zinc-deprived men. *Am J Clin Nutr.* 1991 Mar;53(3):755-63. Erratum in: *Am J Clin Nutr* 1992 Aug;56(2):462.
- (201) Swanson CA, King JC. Zinc and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr.* 1987 Nov;46(5):763-71.
- (202) King JC, Turnlund JR. Human zinc requirements. In: Mills C, ed. *Zinc in human biology.* London: Springer Verlag, 1989:335-50.
- (203) Baer, M.J. & King, J.C. 1984. Tissue zinc levels and zinc excretion during experimental zinc depletion in young men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 39: 556-70.
- (204) Milne, D.B., Canfield, W.K., Mahalko, J.R. & Sandstead, H.H. 1983. Effect of dietary zinc on whole body surface loss of zinc: impact on estimation of zinc retention by balance method. *Am. J. Clin. Nutr.*, 38: 181-6.
- (205) Hambidge KM. Zinc in nutrition of children. In: Chandra R, ed. *Trace elements in children.* New Cork: Raven Press, 1991:65-77.
- (206) Hambidge KM, Casey CE, Krebs NF. Zinc. In: Mertz W, editor. *Trace elements in human and animal nutrition*, 5th ed. New York: Academic Press; 1986. p. 1-137.
- (207) Levander OA, Moser PB, Morris VC. Dietary selenium intake and selenium concentrations of plasma, erythrocytes, and breast milk in pregnant and postpartum

- lactating and nonlactating women. *Am J Clin Nutr.* 1987 Oct;46(4):694-8.
- (208) Mannan S, Picciano MF. Influence of maternal selenium status on human milk selenium concentration and glutathione peroxidase activity. *Am J Clin Nutr.* 1987 Jul;46(1):95-100.
- (209) Duffield AJ, Thomson CD, Hill KE, Williams S. An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am J Clin Nutr.* 1999 Nov;70(5):896-903.
- (210) Schroeder HA, Frost DV, Balassa JJ. Essential trace metals in man: selenium. *J Chronic Dis.* 1970 Oct;23(4):227-43.
- (211) WHO/FAO/IAEA. 1996. Trace elements in Human nutrition and health. Geneva. World Health Organization.
- (212) Yang, G-Q., Zhu, L-Z., Liu, S-J., Gu, L-Z., Qian, P-C., Huang, J-H. & Lu, M-D. 1984. Human selenium requirements in China. In: *Selenium in Biology and Medicine*. Combs, G.R., Spallholz, J.E., Levander, O.A., Oldfield, J.E. eds. p.589-607. New York, AVI Van Nostrand.
- (213) World Health Organisation/International Atomic Energy Agency. 1989. *Minor and Trace Elements in Milk*. Geneva, WHO.
- (214) WHO. 1998. *Complementary feeding of young children in developing countries: a review of current scientific knowledge*. Geneva: World Health Organization.
- (215) Smith AM, Picciano MF, Milner JA. Selenium intakes and status of human milk and formula fed infants. *Am J Clin Nutr.* 1982 Mar;35(3):521-6.
- (216) Thorn J, Robertson J, Buss DH, Bunton NG. Trace nutrients. Selenium in British food. *Br J Nutr.* 1978 Mar;39(2):391-6.
- (217) Specker BL, Beck A, Kalkwarf H, Ho M. Randomized trial of varying mineral intake on total body bone mineral accretion during the first year of life. *Pediatrics.*1997. 99:e12.
- (218) Andon, M.B., Ilich, J.Z., Tzagornis, & Matkovic, V. 1996. Magnesium balance in adolescent females consuming a low- or high-calcium diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, 63:950-953.
- (219) Abrams SA, Grusak MA, Stuff J, O'Brien KO. Calcium and magnesium balance in 9- to 14-year-old children. *Am J Clin Nutr.* 1997 66:1172-1177.

- (220) Sojka JE, Wastney ME, Abrams S, Froese S, Martin BR, Weaver CM. Magnesium kinetics in adolescent girls determined using stable isotopes: Effects of high and low calcium intakes. *Am J Physiol* 1997. 273:R170–R175.
- (221) Wisker E, Nagel R, Tanudjaja TK, Feldheim W. Calcium, magnesium, zinc, and iron balances in young women: Effects of a low-phytate barley-fiber concentrate. *Am J Clin Nutr.* 1991. 54:553–559.
- (222) Spencer H, Fuller H, Norris C, Williams D. Effect of magnesium on the intestinal absorption of calcium in man. *J Am Coll Nutr.* 1994. 13:485–492.
- (223) IOM (Institute of Medicine). Nutrition During Pregnancy. Report of the Subcommittee on Nutritional Status and Weight Gain During Pregnancy, Subcommittee on Dietary Intake and Nutrient Supplements During Pregnancy, Committee on Nutritional Status During Pregnancy and Lactation, Food and Nutrition Board. Washington, DC: National Academy Press, 1990.
- (224) Dengel JL, Mangels AR, Moser-Veillon PB. Magnesium homeostasis: Conservation mechanism in lactating women consuming a controlled-magnesium diet. *Am J Clin Nutr.* 1994. 59:990–994.
- (225) Iyengar, G.V. 1982. Elemental composition of Human and animal milk. IAEA-TECDOC-296 International Atomic Energy Agency, Vienna.
- (226) Lonnerdal, B. 1995. Magnesium nutrition of infants. *Magnesium* . 8: 99-105.
- (227) Dorup, I. 1994. Magnesium and potassium deficiency: its diagnosis, occurrence and treatment. Institute of Physiology, University of Aarhus, Denmark.
- (228) Hunt, S.M. & Schofield, F.A. 1969. Magnesium balance and protein intake in adult Human female. *Am. J. Clin. Nutr.*, 22: 367-373.
- (229) Department of Health and Social Security. Artificial feeds for the young infant. London: HMSO, 1980. (Reports on Health and Social Subjects, 18).
- (230) Jones JE, Manalo R, Flink EB. Magnesium requirements in adults. *Am J Clin Nutr.* 1967 Jun;20(6):632-5.
- (231) Hargreaves JA, Thompson GW, Pimlott JFL, Norbert LD. Commencement date of fluoride supplementation related to dental caries. *J Dent Res* 1988; 67:230.

- (232) Stephen KW, McCall DR, Tullis JI. Caries prevalence in northern Scotland before, and 5 years after, water defluoridation. *Br Dent J* 1987; 163:324-326.
- (233) Mohamedshah FY, Moser-Veillon PB, Yamini S, Douglass LW, Anderson RA, Veillon C. Distribution of a stable isotope of chromium (^{53}Cr) in serum, urine, and breast milk in lactating women. *Am J Clin Nutr.* 1998 Jun;67(6):1250-5.
- (234) Anderson RA, Bryden NA, Patterson KY, Veillon C, Andon MB, Moser-Veillon PB. Breast milk chromium and its association with chromium intake, chromium excretion, and serum chromium. *Am J Clin Nutr.* 1993 Apr;57(4):519-23.
- (235) Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM. Dietary chromium intake. Freely chosen diets, institutional diet, and individual foods. *Biol Trace Elem Res.* 1992 Jan-Mar;32:117-21.
- (236) Briefel RR, McDowell MA, Alaimo K, Caughman CR, Bischof AL, Carroll MD, Johnson CL. Total energy intake of the US population: the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. *Am J Clin Nutr.* 1995 Nov;62(5 Suppl):1072S-1080S.
- (237) Casey CE, Hambidge KM. Chromium in human milk from American mothers. *Br J Nutr.* 1984 Jul;52(1):73-7.
- (238) Biego GH, Joyeux M, Hartemann P, Debry G. Determination of mineral contents in different kinds of milk and estimation of dietary intake in infants. *Food Addit Contam.* 1998 Oct;15(7):775-81.
- (239) Turnlund JR, Scott KC, Peiffer GL, Jang AM, Keyes WR, Keen CL, Sakanashi TM. Copper status of young men consuming a low-copper diet. *Am J Clin Nutr.* 1997 Jan;65(1):72-8.
- (240) Milne DB, Nielsen FH. Effects of a diet low in copper on copper-status indicators in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 1996 Mar;63(3):358-64.
- (241) Reiser S, Smith JC Jr, Mertz W, Holbrook JT, Scholfield DJ, Powell AS, Canfield WK, Canary JJ. Indices of copper status in humans consuming a typical American diet containing either fructose or starch. *Am J Clin Nutr.* 1985 Aug;42(2):242-51.
- (242) Turnlund JR, Keyes WR, Anderson HL, Acord LL. Copper absorption and retention in young men at three levels of dietary copper by use of the stable isotope ^{65}Cu . *Am J Clin Nutr.* 1989 May;49(5):870-8.

- (243) Shike M, Roulet M, Kurian R, Whitwell J, Stewart S, Jeejeebhoy KN. Copper metabolism and requirements in total parenteral nutrition. *Gastroenterology*. 1981 Aug;81(2):290-7.
- (244) Zlotkin SH, Buchanan BE. Meeting zinc and copper intake requirements in the parenterally fed preterm and full-term infant. *J Pediatr*. 1983 Sep;103(3):441-6.
- (245) Casey CE, Neville MC, Hambidge KM. Studies in human lactation: secretion of zinc, copper, and manganese in human milk. *Am J Clin Nutr*. 1989 May;49(5):773-85.
- (246) Miller CA. Study of the influences on mineral homeostasis in infants fed synthetic milk formulae. CNAA, 1987. Phd Thesis.
- (247) Aquilio E, Spagnoli R, Seri S, Bottone G, Spennati G. Trace element content in human milk during lactation of preterm newborns. *Biol Trace Elem Res*. 1996 Jan;51(1):63-70.
- (248) Friedman BJ, Freeland-Graves JH, Bales CW, Behmardi F, Shorey-Kutschke RL, Willis RA, Crosby JB, Trickett PC, Houston SD. Manganese balance and clinical observations in young men fed a manganese-deficient diet. *J Nutr*. 1987 Jan;117(1):133-43.
- (249) Freeland-Graves JH, Behmardi F, Bales CW, Dougherty V, Lin PH, Crosby JB, Trickett PC. Metabolic balance of manganese in young men consuming diets containing five levels of dietary manganese. *J Nutr*. 1988 Jun;118(6):764-73.
- (250) No authors listed. Manganese deficiency in humans: fact or fiction? *Nutr Rev*. 1988 Oct;46(10):348-52.
- (251) Friel JK, MacDonald AC, Mercer CN, Belkhole SL, Downton G, Kwa PG, Aziz K, Andrews WL. Molybdenum requirements in low-birth-weight infants receiving parenteral and enteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1999 May-Jun;23(3):155-9.
- (252) Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GL. Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *Am J Clin Nutr*. 1995 Oct;62(4):790-6.
- (253) Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GL, Chiang G. Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable isotopes in young men during depletion and repletion. *Am J Clin Nutr*. 1995 May;61(5):1102-9.

- (254) Casey CE, Neville MC. Studies in human lactation 3: molybdenum and nickel in human milk during the first month of lactation. *Am J Clin Nutr.* 1987 May;45(5):921-6.
- (255) Specker BL, Valanis B, Hertzberg V, Edwards N, Tsang RC. Sunshine exposure and serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in exclusively breast-fed infants. *J Pediatr.* 1985; 107:372–376.
- (256) Specker BL, Ho ML, Oestreich A, Yin TA, Shui QM, Chen XC, Tsang RC. Prospective study of vitamin D supplementation and rickets in China. *J Pediatr.* 1992; 120:733–739.
- (257) Markestad T, Elzouki AY. Vitamin-D deficiency rickets in northern Europe and Libya. In: Glorieux FH, ed. *Rickets: Nestle Nutrition Workshop Series, Vol 21.* New York, NY: Raven Press; 1991.
- (258) Leung SSF, Lui S, Swaminathan R. Vitamin D status of Hong Kong Chinese infants. *Acta Paediatr Scand.* 1989; 78:303–306.
- (259) Aksnes L, Aarskog D. Plasma concentrations of vitamin D metabolites in puberty: Effect of sexual maturation and implications for growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982; 55:94–101.
- (260) Gultekin A, Ozalp I, Hasanoglu A, Unal A. Serum-25-hydroxycholecalciferol levels in children and adolescents. *Turk J Pediatr.* 1987; 29:155–162.
- (261) Ala-Houhala M, Parvianinen MT, Pyykko K, Visakorpi JK. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in Finnish children aged 2 to 17 years. *Acta Paediatr Scand.* 1984; 73:232–236.
- (262) Kinyamu HK, Gallagher JC, Balhorn KE, Petranick KM, Rafferty KA. Serum vitamin D metabolites and calcium absorption in normal young and elderly free-living women and in women living in nursing homes. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65:790–797.
- (263) Smith R, Dent CE. Vitamin D requirements in adults. Clinical and metabolic studies on seven patients with nutritional osteomalacia. *Bibl Nutr Dieta.* 1969; 13:44–45.
- (264) Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE, Falconer G, Green CL. Rates of bone loss in postmenopausal women randomly assigned to one of two dosages of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 1995; 61:1140–1145.
- (265) Lips P, Graafmans WC, Ooms ME, Bezemer D, Bouter LM. Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons: A randomized, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med.* 1996; 124:400–406.

- (266) Ooms ME, Roos JC, Bezemer PD, VanDerVijgh WJ, Bouter LM, Lips P. Prevention of bone loss by vitamin D supplementation in elderly women: A randomized double-blind trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80:1052–1058.
- (267) Brazier M, Kamel S, Maamer M, Agbomson F, Elesper I, Garabedian M, Desmet G, Sebert JL. Markers of bone remodeling in the elderly subject: Effects of vitamin D insufficiency and its correction. *J Bone Miner Res.* 1995; 10:1753–1761.
- (268) Poskitt EM, Cole TJ, Lawson DE. Diet, sunlight, and 25-hydroxy vitamin D in healthy children and adults. *Br Med J.* 1979 Jan 27;1(6158):221-3.
- (269) Cockburn F, Belton NR, Purvis RJ, Giles MM, Brown JK, Turner TL, Wilkinson EM, Forfar JO, Barrie WJ, McKay GS, Pocock SJ. Maternal vitamin D intake and mineral metabolism in mothers and their newborn infants. *Br Med J.* 1980 Jul 5;281(6232):11-4.
- (270) Greer FR, Searcy JE, Levin RS, Steichen JJ, Asch PS, Tsang RC. Bone mineral content and serum 25-hydroxyvitamin D concentration in breast-fed infants with and without supplemental vitamin D. *J Pediatr.* 1981 May;98(5):696-701.
- (271) McLaughlin M, Raggatt PR, Fairney A, Brown DJ, Lester E, Wills MR. Seasonal variations in serum 25-hydroxycholecalciferol in healthy people. *Lancet.* 1974 Mar 30;1(7857):536-8.
- (272) Brooke OG. Supplementary vitamin D in infancy and childhood. *Arch Dis Child.* 1983 Aug;58(8):573-4.
- (273) Department of Health and Social Security: Present-day practice in infant feeding: third Report. London: HMSO. 1988. Report on Health and Social Subjects No.32.
- (274) Department of Health and Social Security: Rickets and osteomalacia. London: HMSO. 1980. Report on Health and Social Subjects No.19.
- (275) Reid IR, Gallagher DJA, Bosworth J. Prophylaxis against vitamin D deficiency in the elderly by regular sunlight exposure. *Age Aging.* 1985;15:35– 40.
- (276) Davies M, Mawer EB, Hann JT, Taylor JL. Seasonal changes in the biochemical indices of vitamin D deficiency in the elderly: a comparison of people in residential homes, long-stay wards and attending a day hospital. *Age Ageing.* 1986 Mar;15(2):77-83.
- (277) Canfield LM, Giuliano AR, Neilson EM, Yap HH, Graver EJ, Cui HA, Blashill BM. beta-Carotene in breast milk and serum is increased after a single beta-carotene dose. *Am J Clin Nutr.* 1997 Jul;66(1):52-61.

- (278) Canfield LM, Giuliano AR, Neilson EM, Blashil BM, Graver EJ, Yap HH. Kinetics of the response of milk and serum beta-carotene to daily beta-carotene supplementation in healthy, lactating women. *Am J Clin Nutr.* 1998 Feb;67(2):276-83. Erratum in: *Am J Clin Nutr* 1998 Jun;67(6):1286.
- (279) Hicks VA, Gunning DB, Olson JA. Metabolism, plasma transport and biliary excretion of radioactive vitamin A and its metabolites as a function of liver reserves of vitamin A in the rat.
- (280) Haskell MJ, Handelman GJ, Peerson JM, Jones AD, Rabbi MA, Awal MA, Wahed MA, Mahalanabis D, Brown KH. Assessment of vitamin A status by the deuterated-retinol-dilution technique and comparison with hepatic vitamin A concentration in Bangladeshi surgical patients. *Am J Clin Nutr.* 1997 Jul;66(1):67-74. Erratum in: *Am J Clin Nutr* 1999 Mar;69(3):576.
- (281) Newman, V. 1994. Vitamin A and breast-feeding: a comparison of data from developed and developing countries. *Food and Nutrition Bulletin, Series:* 161–176.
- (282) FAO/WHO. 1988. Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B12. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome, Food and Agriculture Organization.
- (283) National Academy Sciences, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. 1990. Nutrition during pregnancy. Part II. Nutrient supplements. p. 336-341. Washington, DC, National Academy Press.
- (284) FAO/WHO. 1988. Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B12. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome, Food and Agriculture Organization.
- (285) Sauberlich, H. E., Hodges, R. E., Wallace, D. L., Kolder, H., Canham, J. E., Hood, J., Raica, W., Jr. & Lowry, L. K. (1974) Vitamin A metabolism and requirements in the human studied with the use of labeled retinol. *Vitam. Horm.* 32: 251–275.
- (286) Olson JA. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin A in humans. *Am J Clin Nutr.* 1987 Apr;45(4):704-16.
- (287) FAO/WHO. 1988. Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B12. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome, Food and Agriculture Organization.
- (288) BELAVADY B, GOPALAN C. Chemical composition of human milk in poor Indian women. *Indian J Med Res.* 1959 Mar;47(2):234–245.

- (289) Butte NF, Calloway DH. Evaluation of lactational performance of Navajo women. *Am J Clin Nutr.* 1981 Oct;34(10):2210-5.
- (290) Salmenperä L. Vitamin C nutrition during prolonged lactation: optimal in infants while marginal in some mothers. *Am J Clin Nutr.* 1984 Nov;40(5):1050-6.
- (291) Karra MV, Udipi SA, Kirksey A, Roepke JL. Changes in specific nutrients in breast milk during extended lactation. *Am J Clin Nutr.* 1986 Apr;43(4):495-503.
- (292) Montalto MB, Benson JD, Martinez GA. Nutrient intakes of formula-fed infants and infants fed cow's milk. *Pediatrics.* 1985 Feb;75(2):343-51.
- (293) Levine, M., Conry-Cantilena, C., Wang, Y., Welch R.W., Washko, P.W., Dhariwal K.R., Park, J.B., Lazarev, A. & Graumlich, J.K. 1996. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a Recommended Dietary Allowance. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93: 3704-3709.
- (294) RAJALAKSHMI R, DEODHAR AD, RAMAKRISHNAN CV. VITAMIN C SECRETION DURING LACTATION. *Acta Paediatr Scand.* 1965 Jul;54:375-82.
- (295) Kallner, A., Hartmann, D. & Hornig, D. 1979. Steady-state turnover and body pool of ascorbic acid in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, 32: 530-539.
- (296) Graumlich, J., Ludden, T.M., Conry-Cantilena, C., Cantilena, L.R., Wang, Y. & Levine M. 1997. Pharmacokinetic model of ascorbic acid in Humans during depletion and repletion. *Pharmaceut. Res.*, 14: 1133-1139.
- (297) Melethil, S.L., Mason, W.E. & Chiang, C. 1986. Dose dependent absorption and excretion of vitamin C in Humans. *Int. J. Pharm.*, 31:83-89.
- (298) Irwin, M.I. & Hutchins, B.K. 1976. A conspectus of research on vitamin C requirements in man. *J. Nutr.*, 106: 821-879.
- (299) Olson JA, Hodges RE. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin C in humans. *Am J Clin Nutr.* 1987 Apr;45(4):693-703.
- (300) Baker EM, Hodges RE, Hood J, Sauberlich HE, March SC, Canham JE. Metabolism of ¹⁴C- and ³H-labeled L-ascorbic acid in human scurvy. *Am J Clin Nutr.* 1971 Apr;24(4):444-54.

- (301) Blanchard J. Depletion and repletion kinetics of vitamin C in humans. *J Nutr.* 1991 Feb;121(2):170-6.
- (302) Van Zoeren-Grobben D, Schrijver J, Van den Berg H, Berger HM. Human milk vitamin content after pasteurisation, storage, or tube feeding. *Arch Dis Child.* 1987 Feb;62(2):161-5.
- (303) Basu, T. K. & Schorah, C. J. *Vitamin C in Health and Disease.* West Port, Connecticut: AVI Publishing Co Unc, 1982; 61-92.
- (304) Bates CJ, Rutishauser IH, Black AE, Paul AA, Mandal AR, Patnaik BK. Long-term vitamin status and dietary intake of healthy elderly subjects. 2. Vitamin C. *Br J Nutr.* 1979 Jul;42(1):43-56.
- (305) Bates, C. J. & Prentice, A. Vitamins, minerals and essential trace elements. In *Drugs and Human Lactation.* Amsterdam: Elsevier. 1988; 433-493.
- (306) Lammi-Keefe CJ, Ferris AM, Jensen RG. Changes in human milk at 0600, 1000, 1400, 1800, and 2200 h. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1990 Jul;11(1):83-8.
- (307) Boersma ER, Offringa PJ, Muskiet FA, Chase WM, Simmons IJ. Vitamin E, lipid fractions, and fatty acid composition of colostrum, transitional milk, and mature milk: an international comparative study. *Am J Clin Nutr.* 1991 May;53(5):1197-204.
- (308) HORWITT MK. Vitamin E and lipid metabolism in man. *Am J Clin Nutr.* 1960 Jul-Aug;8:451-61.
- (309) Bieri, J.G. & Evarts, R.P. 1973. Tocopherols and fatty acids in American diets: the recommended allowance for vitamin E. *J. Am. Diet. Assoc.*, 62: 147-151.
- (310) Witting, L.A. & Lee, L. 1975. Dietary levels of vitamin E and polyunsaturated fatty acids and plasma vitamin E. *Am. J. Clin. Nutr.*, 28: 571-576.
- (311) Gregory, J., Foster, K., Tyler, H. and Wiseman, M., *The Dietary and Nutritional Survey of British Adults*, HMSO, London, 1990.
- (312) Jansson L, Akesson B, Holmberg L. Vitamin E and fatty acid composition of human milk. *Am J Clin Nutr.* 1981 Jan;34(1):8-13.
- (313) Canfield LM, Hopkinson JM, Lima AF, Silva B, Garza C. Vitamin K in colostrum and mature human milk over the lactation period--a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr.*

1991 Mar;53(3):730-5.

- (314) Canfield LM, Hopkinson JM, Lima AF, Martin GS, Sugimoto K, Burr J, Clark L, McGee DL. Quantitation of vitamin K in human milk. *Lipids*. 1990 Jul;25(7):406-11.
- (315) Greer FR, Marshall S, Cherry J, Suttie JW. Vitamin K status of lactating mothers, human milk, and breast-feeding infants. *Pediatrics*. 1991 Oct;88(4):751-6.
- (316) Greer FR, Marshall SP, Foley AL, Suttie JW. Improving the vitamin K status of breastfeeding infants with maternal vitamin K supplements. *Pediatrics*. 1997 Jan;99(1):88-92.
- (317) Hogenbirk K, Peters M, Bouman P, Sturk A, Büller HA. The effect of formula versus breast feeding and exogenous vitamin K1 supplementation on circulating levels of vitamin K1 and vitamin K-dependent clotting factors in newborns. *Eur J Pediatr*. 1993 Jan;152(1):72-4.
- (318) von Kries, K., Shearer, M., McCarthy, PI, Haug, M., Harzer, G., and Gobel, U. Vitamin K1 content of maternal milk: influence of the stage of lactation, lipid composition, and vitamin K1 supplements given to the mother. *Pediatr Res* 1987 Nov;22(5):513-7.
- (319) Canfield LM, Hopkinson JM. State of the art vitamin K in human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1989 May;8(4):430-41.
- (320) Kries R von, Shearer MJ, Gobel U. Vitamin K in infancy. *Eur J Pediatr* 1988; 147:106-112.
- (321) Anderson SH, Vickery CA, Nicol AD. Adult thiamine requirements and the continuing need to fortify processed cereals. *Lancet*. 1986 Jul 12;2(8498):85-9.
- (322) Sauberlich HE, Herman YF, Stevens CO, Herman RH. Thiamin requirement of the adult human. *Am J Clin Nutr*. 1979 Nov;32(11):2237-48.
- (323) ZIPORIN ZZ, NUNES WT, POWELL RC, WARING PP, SAUBERLICH HE. THIAMINE REQUIREMENT IN THE ADULT HUMAN AS MEASURED BY URINARY EXCRETION OF THIAMINE METABOLITES. *J Nutr*. 1965 Mar;85:297-304.
- (324) Bamji MS. Transketolase activity and urinary excretion of thiamin in the assessment of thiamin-nutrition status of Indians. *Am J Clin Nutr*. 1970 Jan;23(1):52-8.

- (325) Committee on Nutrition. 1985. Composition of Human milk: normative data. In: Pediatric Nutrition Handbook, 2nd Edition. Elk Grove Village, IL: Am. Acad. Pediatr., p.363-368.
- (326) Sauberlich, H.E., Herman, Y.F., Stevens, C.O. & Herman, R.H. 1979. Thiamin requirement of the adult Human. *Am. J. Clin. Nutr.*, 32: 2237-48.
- (327) Anderson, S. H., Charles, T.J. & Nicol, A.D. 1985. Thiamine deficiency at a district general hospital: report of five cases. *Q. J. Med.*, 55: 15-32.
- (328) HORWITT MK, KREISLER O. The determination of early thiamine-deficient states by estimation of blood lactic and pyruvic acids after glucose administration and exercise. *J Nutr.* 1949 Apr;37(4):411-27.
- (329) Department of Health and Social Security. The composition of mature human milk. Report on Health and Social Subjects No 12. London: HMSO, 1977: 17.
- (330) Nail PA, Thomas MR, Eakin R. 1980. The effect of thiamin and riboflavin supplementation on the level of those vitamins in human breast milk and urine. *Am J Clin Nutr* 33:198–204.
- (331) HORWITT MK, HARVEY CC, HILLS OW, LIEBERT E. Correlation of urinary excretion of riboflavin with dietary intake and symptoms of ariboflavinosis. *J Nutr.* 1950 Jun 10;41(2):247-64.
- (332) BRZEZINSKI A, BROMBERG YM, BRAUN K. Riboflavin excretion during pregnancy and early lactation. *J Lab Clin Med.* 1952 Jan;39(1):84-90.
- (333) JANSEN AP, JANSEN BC. The riboflavin-excretion with urine in pregnancy. *Int Z Vitaminforsch Beih.* 1954;25(2):193-9.
- (334) Kuizon MD, Natera MG, Alberto SP, Perlas LA, Desnacido JA, Avena EM, Tajaon RT, Macapinlac MP. Riboflavin requirement of Filipino women. *Eur J Clin Nutr.* 1992 Apr;46(4):257-64.
- (335) Roughead, Z.K. & McCormick, D.B. 1991. Urinary riboflavin and its metabolites: effects of riboflavin supplementation in healthy residents of rural Georgia (USA). *Eur. J. Clin. Nutr.*, 45: 299-307.
- (336) Badart-Smook, A., van Houwelingen, A.C., Al, M.D., Kester, A.D. & Hornstra, G. 1997. Foetal growth is associated positively with maternal intake of riboflavin and negatively

- with maternal intake of linoleic acid. *J. Am. Diet. Assoc.*, 97: 867-70.
- (337) Bates CJ, Prentice AM, Paul AA, Prentice A, Sutcliffe BA, Whitehead RG. Riboflavin status in infants born in rural Gambia, and the effect of a weaning food supplement. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1982;76(2):253-8.
- (338) Department of Health and Social Security. Recommended Daily Amounts of Food Energy and Nutrients for Groups of People in the United Kingdom. London: HMSO, 1979 (Reports on health and social subjects;15).
- (339) Ford JE, Zechalko A, Murphy J, Brooke OG. Comparison of the B vitamin composition of milk from mothers of preterm and term babies. *Arch Dis Child.* 1983 May;58(5):367-72.
- (340) Jacob RA, Swendseid ME, McKee RW, Fu CS, Clemens RA. Biochemical markers for assessment of niacin status in young men: urinary and blood levels of niacin metabolites. *J Nutr.* 1989 Apr;119(4):591-8.
- (341) Kelsay JL. A compendium of nutritional status studies and dietary evaluation studies conducted in the United States, 1957-1967. *J Nutr.* 1969 Sep;99(1):Suppl 1:119+.
- (342) Borschel MW, Kirksey A, Hannemann RE. Effects of vitamin B6 intake on nutriture and growth of young infants. *Am J Clin Nutr.* 1986 Jan;43(1):7-15.
- (343) West KD, Kirksey A. Influence of vitamin B6 intake on the content of the vitamin in human milk. *Am J Clin Nutr.* 1976 Sep;29(9):961-9.
- (344) Hansen, C.M., Leklem, J.E. & Miller, L.T. 1996. Vitamin B6 status of women with a constant intake of vitamin B6 changes with three levels of dietary protein. *J. Nutr.*, 126:1891-901.
- (345) Hansen, C.M., Leklem, J.E. & Miller, L.T. 1997. Changes in vitamin B6 status indicators of women fed a constant protein diet with varying levels of vitamin B-6. *Am. J. Clin. Nutr.*, 66: 1379-87.
- (346) Kretsch, M.J., Sauberlich, H.E., Skala, J.H. & Johnson, H.L. 1995. Vitamin B6 requirement and status assessment: young women fed a depletion diet followed by a plantor animal- protein diet with graded amounts of vitamin B6. *Am. J. Clin. Nutr.*, 61: 1091-101.
- (347) Huang YC, Chen W, Evans MA, Mitchell ME, Shultz TD. Vitamin B-6 requirement and status assessment of young women fed a high-protein diet with various levels of vitamin

- B-6. *Am J Clin Nutr.* 1998 Feb;67(2):208-20.
- (348) Ribaya-Mercado JD, Russell RM, Sahyoun N, Morrow FD, Gershoff SN. Vitamin B-6 requirements of elderly men and women. *J Nutr.* 1991 Jul;121(7):1062-74.
- (349) Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA.* 1993 Dec 8;270(22):2693-8.
- (350) Meydani SN, Ribaya-Mercado JD, Russell RM, Sahyoun N, Morrow FD, Gershoff SN. Vitamin B-6 deficiency impairs interleukin 2 production and lymphocyte proliferation in elderly adults. *Am J Clin Nutr.* 1991 May;53(5):1275-80.
- (351) Cleary RE, Lumeng L, Li TK. Maternal and fetal plasma levels of pyridoxal phosphate at term: adequacy of vitamin B6 supplementation during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1975 Jan 1;121(1):25-8.
- (352) Lumeng L, Cleary RE, Wagner R, Yu P-L, Li T-K. Adequacy of vitamin B6 supplementation during pregnancy: a prospective study. *Am J Clin Nutr.* 1976 Dec;29(12):1376-83.
- (353) Borschel, M.W. 1995. Vitamin B6 in infancy: requirements and current feeding practices. In: *Vitamin B6 Metabolism in Pregnancy, Lactation and Infancy.* Raiten, D.J., ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc., p. 109-24.
- (354) Canham JE, Baker EM, Harding RS, Sauberlich HE, Plough IC. Dietary protein--its relationship to vitamin B6 requirements and function. *Ann N Y Acad Sci.* 1969 Sep 30;166(1):16-29.
- (355) Kelsay J, Baysal A, Linkswiler H. Effect of vitamin B6 depletion on the pyridoxal, pyridoxamine and pyridoxine content of the blood and urine of men. *J Nutr.* 1968 Apr;94(4):490-4.
- (356) Kelsay J, Miller LT, Linkswiler H. Effect of protein intake on the excretion of quinolinic acid and niacin metabolites by men during vitamin B6 depletion. *J Nutr.* 1968 Jan;94(1):27-31.
- (357) Miller, L. T. Linkswiler, H. (1967) Effect of protein intake on the development of abnormal tryptophan metabolism by men during vitamin B6 depletion. *J. Nutr.* 93, 53-59.

- (358) Paul, A.A. & Southgate, D.A.T. McCance and Widdowson's The Composition of Foods, 4th edition. London:HMSO, 1978.
- (359) O'Connor DL, Tamura T, Picciano MF. Pteroylpolyglutamates in human milk. *Am J Clin Nutr.* 1991 Apr;53(4):930-4.
- (360) Smith AM, Picciano MF, Deering RH. Folate intake and blood concentrations of term infants. *Am J Clin Nutr.* 1985 Mar;41(3):590-8.
- (361) Smith AM, Picciano MF, Deering RH. Folate supplementation during lactation: maternal folate status, human milk folate content, and their relationship to infant folate status. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1983 Nov;2(4):622-8.
- (362) Salmenperä L, Perheentupa J, Siimes MA. Folate nutrition is optimal in exclusively breast-fed infants but inadequate in some of their mothers and in formula-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1986 Mar-Apr;5(2):283-9.
- (363) O'Keefe CA, Bailey LB, Thomas EA, Hofler SA, Davis BA, Cerda JJ, Gregory JF 3rd. Controlled dietary folate affects folate status in nonpregnant women. *J Nutr.* 1995 Oct;125(10):2717-25.
- (364) Jacob RA, Wu MM, Henning SM, Swendseid ME. Homocysteine increases as folate decreases in plasma of healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction. *J Nutr.* 1994 Jul;124(7):1072-80.
- (365) Jacob RA, Gretz DM, Taylor PC, James SJ, Pogribny IP, Miller BJ, Henning SM, Swendseid ME. Moderate folate depletion increases plasma homocysteine and decreases lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. *J Nutr.* 1998 Jul;128(7):1204-12.
- (366) Ortega RM, Redondo R, Andres P, Eguileor I. Nutritional assessment of folate and cyanocobalamin status in a Spanish elderly group. *Int J Vitam Nutr Res.* 1993;63(1):17-21.
- (367) Qvist I, Abdulla M, Jägerstad M, Svensson S. Iron, zinc and folate status during pregnancy and two months after delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1986;65(1):15-22.
- (368) Colman N, Larsen JV, Barker M, Barker EA, Green R, Metz J. Prevention of folate deficiency by food fortification. III. Effect in pregnant subjects of varying amounts of added folic acid. *Am J Clin Nutr.* 1975 May;28(5):465-70.

- (369) Caudill MA, Cruz AC, Gregory JF 3rd, Hutson AD, Bailey LB. Folate status response to controlled folate intake in pregnant women. *J Nutr.* 1997 Dec;127(12):2363-70.
- (370) Asfour R, Wahbeh N, Waslien CI, Guindi S, Darby WJ. Folic acid requirement of children. III. Normal infants. *Am J Clin Nutr.* 1977 Jul;30(7):1098-105.
- (371) Gailani SD, Carey RW, Holland JF, O'Malley JA. Studies of folate deficiency in patients with neoplastic diseases. *Cancer Res.* 1970 Feb;30(2):327-33.
- (372) Sauberlich HE, Kretsch MJ, Skala JH, Johnson HL, Taylor PC. Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *Am J Clin Nutr.* 1987 Dec;46(6):1016-28.
- (373) Smithells RW, Sheppard S, Wild J, Schorah CJ. Prevention of neural tube defect recurrences in Yorkshire: final report. *Lancet.* 1989 Aug 26;2(8661):498-9.
- (374) Hoppner K, Lampi B. Folate levels in human liver from autopsies in Canada. *Am J Clin Nutr.* 1980 Apr;33(4):862-4.
- (375) Foged N, Lillquist K, Rolschau J, Blaabjerg O. Effect of folic acid supplementation on small-for-gestational-age infants born at term. *Eur J Pediatr.* 1989 Oct;149(1):65-7.
- (376) Hansen H, Rybo G. Folic Acid Dosage in Prophylactic Treatment during Pregnancy. *Acta Obst Gyn Scand.* 1967, 46(7):107-112.
- (377) Chanarin I, Rothman D, Ward A, Perry J. Folate status and requirement in pregnancy. *Br Med J.* 1968 May 18;2(5602):390-4.
- (378) Ek J. Plasma, red cell, and breast milk folic acid concentrations in lactating women. *Am J Clin Nutr.* 1983 Dec;38(6):929-35.
- (379) Donangelo CM, Trugo NM, Koury JC, Barreto Silva MI, Freitas LA, Feldheim W, Barth C. Iron, zinc, folate and vitamin B12 nutritional status and milk composition of low-income Brazilian mothers. *Eur J Clin Nutr.* 1989 Apr;43(4):253-66.
- (380) Specker BL, Black A, Allen L, Morrow F. Vitamin B-12: low milk concentrations are related to low serum concentrations in vegetarian women and to methylmalonic aciduria in their infants. *Am J Clin Nutr.* 1990 Dec;52(6):1073-6.
- (381) Bastrup-Madsen P, Helleberg-Rasmussen I, Nørregaard S, Halver B, Hansen T. Long term therapy of pernicious anaemia with the depot cobalamin preparation betolvex. *Scand*

J Haematol. 1983 Jul;31(1):57-62. 2009.

- (382) Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen RH. Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol.* 1990 Jun;34(2):99-107.
- (383) DARBY WJ, BRIDGFORTH EB, LE BROCCQUY J, CLARK SL Jr, DE OLIVEIRA JD, KEVANY J, McGANITY WJ, PEREZ C. Vitamin B12 requirement of adult man. *Am J Med.* 1958 Nov;25(5):726-32.
- (384) Adams JF, Hume R, Kennedy EH, Pirrie TG, Whitelaw JW, White AM. Metabolic responses to low doses of cyanocobalamin in patients with megaloblastic anaemia. *Br J Nutr.* 1968 Dec;22(4):575-82.
- (385) Herbert V. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin B-12 in humans. *Am J Clin Nutr.* 1987 Apr;45(4):671-8.
- (386) Picciano, M.F. 1995. Vitamins in milk. A. Water-soluble vitamins in Human milk. In: *Handbook of Milk Composition.* Jensen, R.G., ed. San Diego: Academic Press.
- (387) Eissenstat BR, Wyse BW, Hansen RG. Pantothenic acid status of adolescents. *Am J Clin Nutr.* 1986 Dec;44(6):931-7.
- (388) Kathman, J.V. & Kies, C. 1984. Pantothenic acid status of free living adolescent and young adults. *Nutr. Res.*, 4: 245-50.
- (389) Bull NL, Buss DH. Biotin, pantothenic acid and vitamin E in the British household food supply. *Hum Nutr Appl Nutr.* 1982 Jun;36(3):190-6.
- (390) FOX HM, LINKSWILER H. Pantothenic acid excretion on three levels of intake. *J Nutr.* 1961 Dec;75:451-4.
- (391) Song WO, Wyse BW, Hansen RG. Pantothenic acid status of pregnant and lactating women. *J Am Diet Assoc.* 1985 Feb;85(2):192-8.
- (392) Eissenstat, B.R., Wyse, B.W. & Hansen, R.G. 1986. Pantothenic acid status of adolescents. *Am. J. Clin. Nutr.*, 44: 931-7.
- (393) Fry, P.C., Fox, H.M. & Tao, H.G. 1976. Metabolic response to a pantothenic acid deficient diet in Humans. *J. Nat. Sci.Vit.*, 22: 339-46.

- (394) Song, W.O., Wyse, B.W. & Hansen, R.G. 1985. Pantothenic acid status of pregnant and lactating women. *J. Am. Diet. Assoc.*, 85: 192-8.
- (395) Hirano, M., Honma, K., Daimatsu, T., Hayakawa, K., Oizumi, J., Zaima, K. & Kanke, Y. 1992. Longitudinal variations of biotin content in Human milk. *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, 62: 281-2.
- (396) Salmenpera, L., Perheentupa, J., Pipsa, J.P. & Siimes, M.A. 1985. Biotin concentrations in maternal plasma and milk during prolonged lactation. *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, 55: 281-5.
- (397) Mock DM, Stadler DD. Conflicting indicators of biotin status from a cross-sectional study of normal pregnancy. *J Am Coll Nutr.* 1997 Jun;16(3):252-7.
- (398) Mock DM, Stadler DD, Stratton SL, Mock NI. Biotin status assessed longitudinally in pregnant women. *J Nutr.* 1997 May;127(5):710-6.
- (399) Paul, A.A., Southgate, D.A.T. McCance & Widdowson's. 1978. *The Composition of Foods*. London: H.M. Stationery Office.
- (400) Mock DM, Baswell DL, Baker H, Holman RT, Sweetman L. Biotin deficiency complicating parenteral alimentation: diagnosis, metabolic repercussions, and treatment. *J Pediatr.* 1985 May;106(5):762-9.