

LA RESTRICCIÓN DIETARIA DE CALCIO PRODUCE ALTERACIONES METABÓLICAS

METABOLIC ALTERATIONS TRIGGERED BY LOW CALCIUM DIETS

Ana M. Marchionatti, Viviana A. Centeno, Gabriela E. Díaz de Barboza, Valeria A. Rodríguez y Nori G. Tolosa de Talamoni

RESUMEN:

El calcio (Ca^{2+}) es fundamental para la formación de los huesos y dientes y es esencial para alcanzar el pico de masa ósea. Además, el Ca^{2+} es un importante regulador de diferentes procesos fisiológicos. Los requerimientos diarios de Ca^{2+} dependen de la edad, sexo y diferentes estados fisiológicos, siendo mayores en los adolescentes, en el embarazo y en la lactancia. Con dietas deficientes en Ca^{2+} , la secreción de distintas hormonas calciotrópicas se modifica y el transporte duodenal y la reabsorción renal del catión se incrementan, por lo que el metabolismo óseo también está fuertemente alterado. Hay también evidencias de que existe asociación entre la baja ingesta de Ca^{2+} y la hipertensión arterial e incremento en el riesgo de contraer cáncer.

Palabras Claves: Dietas deficientes en calcio, metabolismo hormonal, cáncer, hueso

ABSTRACT:

Calcium is essential for bone and tooth formation, achievement of optimal peak bone mass and also for regulation of physiological processes. The calcium demand depends on age, gender and different physiological processes. These requirements are higher during childhood, pregnancy and lactation. Dietary Ca^{2+} deficiency modifies Ca^{2+} homeostasis and the metabolism of calciotropic hormones and increases the efficiency of intestinal Ca^{2+} absorption and renal reabsorption, altering bone metabolism. The low Ca^{2+} diet is associated with hypertension and risk of cancer.

Key words: low calcium diet, hormonal metabolism, cancer, bone, hypertension

Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico "Dr. F. Cañas", Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Ciencias Médicas, UNC. 2° Piso, Pabellón Argentina, Ciudad Universitaria.

(5000) Córdoba, Argentina. ntolosa@biomed.uncor.edu

Enviado: 30/03/2009

Aceptado: 25/05/2009

INTRODUCCIÓN

El calcio es el quinto elemento más abundante en el cuerpo humano. Se estima que corresponde del 1-2% del peso corporal total del hombre adulto, siendo fundamental para la formación de los huesos y dientes y esencial para alcanzar el pico de masa ósea en la segunda o tercera década de la vida (1). El ión Ca^{2+} se encuentra en las células como calcio libre o dentro de compartimientos intracelulares. El Ca^{2+} soluble intracelular se localiza en el citoplasma y en el núcleo; es importante regulador de procesos fisiológicos tales como contracción muscular, transmisión del impulso nervioso, secreción hormonal, mantenimiento de la integridad de la membrana plasmática, apoptosis, etc. (2). Es de vital importancia una ingesta adecuada de Ca^{2+} en la dieta a lo largo de la vida; si bien está genéticamente programada la edad a la cual se alcanza el máximo de masa ósea, ésta se puede prolongar hasta la adultez con una correcta alimentación, así la masa esquelética puede ser mantenida y la edad relativa del hueso minimizada. Como el Ca^{2+} de la dieta es la única fuente exógena del catión, dietas con bajo contenido provocan alteraciones del metabolismo del Ca^{2+} e impiden preservar la salud del hueso y el balance metabólico hormonal. La ingesta recomendada del catión varía con la edad y el género; estos requerimientos son mayores en los adolescentes, en el embarazo y en la lactancia. Sin embargo, muchos estudios ponen en evidencia que la ingesta de Ca^{2+} es bastante menor que la sugerida por las recomendaciones internacionales. (3).

DIETAS CON BAJO CONTENIDO DE CALCIO INDUCEN ALTERACIONES DEL METABOLISMO HORMONAL

Dietas deficientes en Ca^{2+} provocan incremento de la absorción intestinal y de la reabsorción renal del catión (4). Este es un proceso adaptativo, resultado de un mecanismo compensatorio que depende de las necesidades de Ca^{2+} del

organismo (5). En nuestro laboratorio, hemos demostrado un incremento en la entrada y salida del catión en enterocitos de pollos adaptados a una dieta baja en Ca^{2+} (6,7). El mecanismo de adaptación a la dieta baja en Ca^{2+} depende del status de vitamina D, principalmente de la velocidad de síntesis de su metabolito activo, el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ o calcitriol. Dicha síntesis consiste en dos hidroxilaciones sucesivas; la primera ocurre a nivel del C-25 en el hígado y la segunda a nivel del C-1 en riñón (8). En varias especies se observó incremento en los niveles séricos de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ como consecuencia de dietas restringidas en Ca^{2+} (9). Por el contrario, dietas con bajo contenido de Ca^{2+} pueden causar depleción de 25-hidroxicolecalciferol en plasma de ratas como resultado de una mayor actividad de la enzima renal 25-OH-colecalciferol 1α -hidroxilasa (CYP27B1), la cual transforma el $25(\text{OH})\text{D}_3$ en $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (10). Los niveles elevados de calcitriol regulan los cambios adaptativos en la absorción intestinal de Ca^{2+} y en la reabsorción renal del catión, aparentemente, a través de la activación mediada por la vitamina D, de la transcripción de genes específicos (11). Consecuentemente, se produce incremento en la expresión de proteínas presumiblemente involucradas en el movimiento de Ca^{2+} a través de las células tales como los canales epiteliales de Ca^{2+} pertenecientes a la familia de receptores de potencial transitorio (TRPV6 y TRPV5) (12), calbindina D28k, calbindina D9k (13), Ca^{2+} -ATPasa o bomba de Ca^{2+} e intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (7).

La secreción de hormona paratiroidea (PTH) es estimulada por dietas bajas en Ca^{2+} (14). Diversos estudios demostraron que el receptor de calcio en células paratiroideas, es un mediador de las acciones del Ca^{2+} extracelular sobre la secreción de PTH. La sensibilidad de la glándula paratiroides a pequeños cambios en niveles de Ca^{2+} en suero es notable. Si la

hipocalcemia se mantiene por varias horas o días, la expresión del gen de PTH incrementa (15). Miao y col. (16) demostraron en ratones deficientes en PTH que, aunque la hormona es la primera respuesta frente a la hipocalcemia, el incremento en la síntesis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, aún en ausencia de PTH, está destinado a proteger al organismo de una disminución de los niveles de Ca^{2+} plasmáticos. Recientemente, se sugirió que los estrógenos son también necesarios para la respuesta adaptativa a dietas pobres en Ca^{2+} (17). La calcitonina es otra importante hormona calciotrópica, pero se demostró que con dietas deficientes en Ca^{2+} y vitamina D, los niveles de ARNm de la hormona no se modifican, en contraposición con el gran incremento en los niveles del transcripto para PTH, lo cual demuestra que la expresión génica de calcitonina no se afecta por los niveles bajos de Ca^{2+} en suero (18).

ALTERACIONES INTESTINALES, RENALES Y ÓSEAS PRODUCIDAS POR DIETAS CON BAJO CONTENIDO DE CALCIO

Las dietas deficientes en Ca^{2+} ejercen importante impacto sobre la composición de la membrana plasmática del enterocito y el transporte de Ca^{2+} . La absorción intestinal del catión ocurre por dos vías diferentes: cuando el Ca^{2+} es abundante en la dieta, ingresa principalmente al intestino por una vía paracelular o pasiva; mientras que cuando la concentración del catión es limitada, la vía transcelular o activa juega un rol muy importante en la absorción intestinal del catión. Ambos mecanismos son regulados por hormonas, nutrientes y otros factores que se relacionan con desórdenes del metabolismo del Ca^{2+} como la osteoporosis (4). La vía transcelular consta de 3 pasos: entrada apical de Ca^{2+} desde el lumen intestinal, transporte dentro del citoplasma del enterocito y salida a través de la membrana basolateral (MBL) al flujo extracelular. Se observó, por ejemplo, incremento en la expresión de proteínas tales como la bomba de Ca^{2+} y el in-

tercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ bajo dichas condiciones dietarias, tanto en enterocitos maduros como en indiferenciados (6). Sin embargo, la expresión del receptor de vitamina D (VDR) disminuye con dietas bajas en Ca^{2+} (19). En nuestro laboratorio, demostramos disminución de la expresión de VDR intestinal en animales alimentados con dietas deficientes en Ca^{2+} , efecto que fue independiente del grado de maduración celular (6).

Otros cambios bioquímicos producidos por dietas deficientes en Ca^{2+} se relacionan con el contenido de grupos sulfhidrilos, composición lipídica y fluidez de la membrana intestinal. Tolosa y col. (20) demostraron incremento en la reactividad y disponibilidad de los grupos sulfhidrilos de las proteínas de membrana de borde en cepillo en enterocitos de pollos deficientes en Ca^{2+} . Aunque el significado funcional de esta respuesta no es claro aún, se supone que se relaciona directamente con la absorción intestinal de Ca^{2+} , tal como fuera descrito por Mykkanen y Wasserman (21). Con respecto a la composición lipídica, se observaron pequeños cambios en el contenido de ácidos grasos de la MBL en enterocitos de pollos alimentados con una dieta deficiente en Ca^{2+} ; sin embargo, la fluidez lipídica de la MBL incrementó con respecto a los animales controles (8). Esto demuestra que en condiciones de bajo Ca^{2+} dietario la salida del catión a través de la MBL aumenta en comparación con la de los controles. Los cambios en la composición y fluidez lipídica, afectarían a microdominios de los transportadores del ión, lo cual podría ser el mecanismo responsable de la respuesta adaptativa del intestino (8). La restricción dietaria de Ca^{2+} también incrementa la actividad de la fosfatasa alcalina intestinal, enzima presumiblemente involucrada en la absorción intestinal de Ca^{2+} , tanto en enterocitos maduros como en inmaduros (6). Además se demostró que dietas bajas en Ca^{2+} aumentan el transporte duodenal del catión $4,1; 2,9$ y $3,9$ veces en ratones salvajes y en ratones

con mutaciones para los genes de TRPV6 y calbindina D9k respectivamente, mientras que para el ratón con ambos genes mutados el incremento fue de sólo 2,1 veces. Esto cambiaría el dogma de que ambas proteínas, TRPV6 y calbindina D9k, son esenciales para el transporte intestinal de Ca^{2+} (22). La hipótesis sostiene que las funciones de los transportadores serían parcialmente compensadas por algún factor tal como se observara en la inducción transcripcional del gen del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF I) en duodeno de ratones alimentados con una dieta restringida en Ca^{2+} y con mutaciones para los genes TRPV6 y calbindina D9k (22). Por consiguiente, es posible pensar que IGF I podría ser un factor que contribuya a incrementar la absorción intestinal de Ca^{2+} .

Por otro lado, bajos niveles de Ca^{2+} en sangre incrementan los niveles de PTH, la cual actúa sobre el riñón incrementando la reabsorción del catión y la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a través de la activación de CYP27B1 (23). La superproducción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en riñón es regulada por 24-hidroxilasa (CYP24) que inactiva al calcitriol por hidroxilación de la cadena en el C-24 (24). Pacientes con litiasis renal pueden tener alto riesgo de recurrencia cuando consumen dietas con bajo Ca^{2+} . Aunque la restricción dietaria del catión disminuye su excreción urinaria, la absorción incrementada de oxalatos y la formación de cálculos debido a la hiperoxaluria secundaria aumenta. Pasch y col. (25) demostraron que la formación de cálculos renales con baja ingesta del catión depende de la densidad mineral ósea (DMO), ya que pacientes con baja DMO en columna lumbar presentan pobre liberación de PTH y aumento en la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, conduciendo a una normal o exagerada absorción intestinal de calcio, pero con incapacidad de depositar el Ca^{2+} extra en los huesos, aumentando así la calciuria y facilitando la formación de cálculos.

El hueso es también fuertemente afectado por las

deficiencias nutricionales de Ca^{2+} en diferentes períodos de la vida y bajo algunas condiciones fisiológicas o tratamientos farmacológicos (26). Mujeres con baja ingesta de Ca^{2+} durante la niñez y adolescencia tienen menor DMO en la vida adulta y mayor riesgo de fractura, como consecuencia de la disminución en la formación del endostio del hueso y alto incremento en la resorción del endostio y periostio (27). La lactancia produce pérdida transitoria de hueso para proveer una adecuada producción de leche. Madres adolescentes con dietas pobres en Ca^{2+} recuperan la masa ósea, pero la velocidad de acrecentamiento no es suficiente para alcanzar el pico de masa ósea en la madurez (28). Se demostró, además, que adecuado consumo de Ca^{2+} reduce la pérdida ósea en mujeres peri y postmenopáusicas y el riesgo de fracturas en mujeres mayores de 60 años (29).

ASOCIACIÓN ENTRE BAJO CONTENIDO DE Ca^{2+} DIETARIO Y DIFERENTES PATOLOGÍAS

En un análisis realizado en Estados Unidos se observó que el consumo de dietas con bajo contenido de Ca^{2+} se asocia con hipertensión, mientras que dietas con elevado Ca^{2+} dietario produjeron el efecto contrario (30). La acción protectora del Ca^{2+} sobre la presión sanguínea puede ser explicada a través de la estimulación del sistema endócrino de la vitamina D, ya que dietas bajas en Ca^{2+} incrementan los niveles circulantes de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, el cual estimula la entrada del catión a las células de los vasos sanguíneos del músculo liso, aumentando el tono vascular y la presión sanguínea. Recientemente, un gran estudio prospectivo realizado en mujeres adultas jóvenes, demostró asociación inversa entre el consumo de productos lácteos descremados y subsecuente riesgo de hipertensión (31). Con respecto a la baja ingesta de calcio y el riesgo de contraer cáncer, los estudios realizados son muy contradictorios. Algunos trabajos muestran que la leche y sus productos derivados

tienen efecto protector sobre el riesgo de padecer cáncer colonorectal. El mecanismo involucrado en este efecto estaría relacionado con la disminución de la proliferación celular o promoción de la diferenciación celular (32). Ciertos estudios demostraron un modesto efecto del Ca^{2+} sobre la reducción del riesgo de padecer cáncer colonorectal (33); sin embargo otros observaron lo contrario (34). Los datos sobre el contenido de Ca^{2+} nutricional y la incidencia de contraer cáncer de mama, próstata y páncreas en humanos son también contradictorios (35). Los mecanismos involucrados en la carcinogénesis mamaria no están claros aún, pero es posible que deficiencias dietarias en Ca^{2+} causen una alteración de la regulación del sistema endócrino de la vitamina D, lo que conduciría a reducción en la respuesta de las células mamarias al calcitriol y promoción de la transformación oncogénica. Recientemente, Tornaiainen y col. (36) mostraron que la leche con bajo contenido graso es un potencial factor de riesgo para contraer cáncer de mama en individuos de países nórdicos. Asimismo, se indicó que dietas bajas en Ca^{2+} son factores de riesgo para padecer cáncer de próstata (37). Otros dos estudios mostraron una relación inversa entre el consumo de Ca^{2+} y el riesgo de presentar cáncer de páncreas, el cual es atenuado por la ingesta de vitamina D (38). La asociación entre el cáncer de ovario y la leche o productos derivados tampoco está claro aún. Los niveles de galactosa podrían relacionarse con el riesgo de contraer cáncer de ovario, ya que altos niveles de galactosa en circulación pueden hacer que la glándula pituitaria incremente la secreción de gonadotropina, lo que estimularía un incremento estrogénico que resulta en posterior proliferación del epitelio ovárico (39).

CONCLUSIONES

El bajo contenido de Ca^{2+} en la dieta conduce a mecanismos adaptativos tendientes a mantener la concentración de Ca^{2+} extracelular y asegurar

las funciones celulares dependientes del catión. La absorción intestinal de Ca^{2+} se incrementa debido al aumento en la síntesis de calcitriol renal, inducido por altos niveles de PTH en suero. Estas hormonas calciotrópicas inducen la resorción ósea y cuando las deficiencias dietarias ocurren en niños y adolescentes, el pico de masa ósea no se alcanza. El incremento en los niveles circulantes de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, estimulan la entrada de Ca^{2+} en las células musculares lisas incrementando el tono muscular y la presión sanguínea. Aunque existen controversias con respecto a la ingesta de Ca^{2+} y el riesgo de padecer malignidades, la alteración de las vías proliferativas por la ingesta de dietas pobres en Ca^{2+} , conduciría al desarrollo y progresión de tumores tales como el de colon, mama, próstata y ovario

REFERENCIAS

1. Ma, J, Johns, RA, Stafford, RS: Americans are not meeting current calcium recommendations. *Am J Clin Nutr*; 2007, 85: 1361-1366.
2. Petre-Lazar, B, Livera, G, Moreno, SG, Trautmann, E, Duquenne, C, Hanoux, V, Habert, R, Coffigny, H: The role of p63 in germ cell apoptosis in the developing testis. *J Cell Physiol*; 2007, 210: 87-98.
3. Kranz, S, Lin, PJ, Wagstaff, DA: Children's dairy intake in the United States: too little, too fat?. *J Pediatr*; 2007, 151: 642-646.
4. Bhatia, V: Dietary calcium intake – a critical reappraisal. *Indian J Med Res*; 2008, 127: 269-273.
5. Pérez, A, Ulla, M, García, B, Lavezzo, M, Elías, E, Binci, M, Rivoira, M, Centeno, V, Alisio, A, Tolosa de Talamoni, N: Genotypes and clinical aspects associated with bone mineral density in Argentine postmenopausal women. *J Bone Miner Metab*; 2008, 26: 358-365.
6. Centeno, VA, Díaz de Barboza, GE, Marchionatti, AM, Alisio, AE, Dallorso, ME, Nasif, R, Tolosa de Talamoni, NG: Dietary calcium deficiency increases Ca^{2+} uptake and Ca^{2+} extrusion mechanisms in chick enterocytes. *Comp Biochem Physiol A*; 2004, 139: 133-141.

7. Centeno, V, Díaz Barboza, G, Marchionatti, A, Rodríguez, V, and Tolosa de Talamoni N: Molecular mechanisms triggered by low-calcium diets. *Nutr Res Rev*; 2009, 22: 163-74.
8. Tolosa de Talamoni, N, Centeno V: Low calcium diets in humans and in experimental animals: classics models to understand calcium homeostasis and vitamin D endocrine systems. *Endocrinologia*; 1999, 46: 241-244.
9. Swaminathan, R, Sommerville, BA, Care, AD: The effect of dietary calcium on the activity of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase and Ca absorption in vitamin D-replete chicks. *Br J Nutr*; 1997, 38: 47-54.
10. Schedl, HP, Conway, T, Horst, RL, Miller, DL, Brown, CK: Effects of dietary calcium and phosphorus on vitamin D metabolism and calcium absorption in hamster. *Proc Soc Exp Biol Med*; 1996, 211: 281-286.
11. Stumpf, WE: Vitamin D and the digestive system. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.*; 2008, 33: 85-100.
12. Fleet, JC, Gliniak, C, Zhang, Z, Xue, Y, Smith, KB, McCreedy, R, Adedokun, SA: Serum metabolite profiles and target tissue gene expression define the effect of cholecalciferol intake on calcium metabolism in rats and mice. *J Nutr*; 2008, 138: 1114-1120.
13. Christakos, S, Dhawan, P, Liu, Y, Peng, X, Porta, A: New insights into the mechanisms of vitamin D action. *J Cell Biochem*; 2003, 88: 695-705.
14. Pasch, A, Frey, FJ, Eisenberger, U, Mohaupt, MG, Bonny, O: PTH and 1.25 vitamin D response to a low-calcium diet is associated with bone mineral density in renal stone formers. *Nephrol Dial Transplant*; 2008, 23: 2563-2570.
15. Díaz, R, El-Hajj, G, Brown, E: Parathyroid hormone and poly hormones: production and export. In *Handbook of physiology: endocrine regulation of water and electrolyte balance*. 2000: pp. 607-662 [Y Fray, editor]. New York, Oxford University Press.
16. Miao, D, Li, J, Xue, Y, Su, H, Karaplis, AC, Goltzman, D: Parathyroid hormone-related peptide is required for increased trabecular bone volume in parathyroid hormone-null mice. *Endocrinology*; 2004, 145: 3554-3562.
17. Zhang, Y, Lai, WP, Wu, CF, Favus, MJ, Leung, PC, Wong, MS: Ovariectomy worsens secondary hyperparathyroidism in mature rats during low-Ca diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 2007, 292: E723-E731.
18. Canaff, L, Zhou, X, Hendy, GN: The proinflammatory cytokine, interleukin-6, up-regulates calcium-sensing receptor gene transcription via Stat1/3 and Sp1/3. *J Biol Chem*; 2008, 283: 13586 - 13600.
19. Ferrari, S, Bonjour, JP, Rizzoli, R: The vitamin D receptor gene and calcium metabolism. *Trends Endocrinol Metab*; 1998, 9: 259-265.
20. Tolosa de Talamoni, N, Mykkanen, H, Wasserman, R: Enhancement of sulfhydryl groups availability in the intestinal brush border membrane by deficiencies of dietary calcium and phosphorus in chicks. *J Nutr*; 1990, 20: 1198-1204.
21. Mykkanen, HM, Wasserman, RH: Uptake of ⁷⁵Se-selenite by brush border membrane vesicles from chick duodenum stimulated by vitamin D. *J Nutr*; 1989, 119: 242-247.
22. Benn, BS, Ajibade, D, Porta, A, Dhawan, P, Hediger, M, Peng, JB, Jiang, Y, Oh, GT, Jeung, EB, Lieben, L, Bouillon, R, Carmeliet, G, Christakos, S: Active intestinal calcium transport in the absence of transient receptor potential vanilloid type 6 and calbindin-D9k. *Endocrinology*; 2008, 149: 3196-3205.
23. Murayama, A, Takeyama, K, Kitanaka, S, Kodera, Y, Kawaguchi, Y, Hosoya, T, Kato, S: Positive and negative regulations of the renal 25-hydroxyvitamin D₃ 1alpha-hydroxylase gene by parathyroid hormone, calcitonin, and 1alpha,25(OH)₂D₃ in intact animals. *Endocrinology*; 1999, 140: 2224-2231.
24. Omdahl, JL, Morris, HA, May, BK: Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation. *Annu Rev Nutr*; 2002, 22: 139-166.
25. Pasch, A, Frey, FJ, Eisenberger, U, Mohaupt, MG, Bonny, O: PTH and 1.25 vitamin D response to a low-calcium diet is associated with bone mineral density in renal stone formers. *Nephrol Dial Transplant*; 2008, 23: 2563-2570.
26. Kalkwarf, HJ, Khoury, JC, Lanphear, BP: Milk intake during childhood and adolescence, adult bone density, and osteoporotic fractures in US women. *Am J Clin*

Nutr; 2003, 77: 10-11.

27. Kasukawa, Y, Baylink, DJ, Wergedal, JE, Amaar, Y, Srivastava, AK, Guo, R, Mohan, S: Lack of insulin-like growth factor I exaggerates the effect of calcium deficiency on bone accretion in mice. *Endocrinology*; 2003, 144: 4682-4689.

28. Bezerra, FF, Mendonça, LM, Lobato, EC, O'Brien, KO, Donangelo, CM: Bone mass is recovered from lactation to postweaning in adolescent mothers with low calcium intakes. *Am J Clin Nutr*; 2004, 80: 1322-1326.

29. Avenell, A, Gillespie, WJ, Gillespie, LD, O'Connell, D: Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures associated with involutional and postmenopausal osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev*; 2009, 2.

30. Bucher, HC, Guyatt, GH, Cook, RJ, Hatala, R, Cook, DJ, Lang, JD, Hunt, D: Effect of calcium supplementation on pregnancy-induced hypertension and preeclampsia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*; 1996, 275: 1113-1117.

31. Wang, L, Manson, JE, Buring, JE, Lee, IM, Sesso, HD: Dietary intake of dairy products, calcium, and vitamin D and the risk of hypertension in middle-aged and older women. *Hypertension*; 2008, 51: 1073-1079. .

33. Murtaugh, MA, Sweeney, C, Ma, KN, Potter, JD, Caan, BJ, Wolff, RK, Slattery, ML: Vitamin D receptor gene polymorphisms, dietary promotion of insulin resistance, and colon and rectal cancer. *Nutr Cancer*;

2006, 55: 35 – 43.

34. Levi, F, Pasche, C, Lucchini, F et al. Selected micronutrients and colorectal cancer. a case-control study from the canton of Vaud, Switzerland. *Eur J Cancer*; 2000, 36: 2115-2129.

35. Farrow, DC, Davis, S: Diet and the risk of pancreatic cancer in men. *Am J Epidemiol*; 1990, 132: 423-431.

36. Tornaiainen, S, Hedelin, M, Autio, V, Rasinperä, H, Bälter, KA, Klint, A, Bellocco, R, Wiklund, F, Stattin, P, Ikonen, T, Tammela, TL, Schleutker, J, Grönberg, H, Järvelä, I.: Lactase persistence, dietary intake of milk, and the risk for prostate cancer in Sweden and Finland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 2007, 16: 956-961.

37. Bonjour, JP, Chevalley, T, Fardellone, P: Calcium intake and vitamin D metabolism and action, in healthy conditions and in prostate cancer. *Br J Nutr*; 2007, 97: 611-616.

38. Skinner, HG, Michaud, DS, Giovannucci, E, Willett, WC, Colditz, GA, Fuchs, CS: Vitamin D intake and the risk for pancreatic cancer in two cohort studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 2006, 15: 1688-1695.

39. Kuokkanen, M, Butzow, R, Rasinperä, H, Medrek, K, Nilbert, M, Malander, S, Lubinski, J, Järvelä, I: Lactase persistence and ovarian carcinoma risk in Finland, Poland and Sweden. *Int J Cancer*; 2005, 117: 90-94.