

## Fitato y su utilidad en la práctica clínica

A.A López-Gonzalez, F. Grases<sup>1</sup>, A. Costa-Bauzá<sup>1</sup>, N. Monroy<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> T. Vicente Herrero<sup>3</sup>, M<sup>a</sup> A. Jaime<sup>4</sup>

Servei Prevenció Riscs Laborals GESMA

1- Laboratorio de Investigación en Litiasis Renal. Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS). Universitat de les Illes Balears

2- Servei Prevenció Riscs Laborals Administració de les Illes Balears

3- Servicio Médico Correos. Valencia

4- C.S Arquitecte Bennàsar. Palma

### Resumen

Se realiza un análisis de diferentes aspectos relacionados con el fitato. En primer lugar se indican aquellos alimentos donde se encuentra en mayores cantidades, después se valoran los mecanismos fisiológicos (absorción, distribución y excreción) y finalmente cuales son los diferentes mecanismos de acción biológica de esta sustancia.

Se explica el interés clínico del fitato. Se describen los clásicos estudios de litiasis renal y se incluyen nuevas utilidades, tales como prevención de calcificaciones cardiovasculares, sialolitiasis, sarro dental y déficit de masa ósea.

**Palabras clave:** Fitato, myo-inositol-hexafosfato cálcico-magnésico (IP6), calcificación.

### Abstract

An analysis of different aspects related with phytate is performed. Firstly, food products where phytate is present in greater quantities are indicated; next, the physiological mechanisms of phytate (absorption, distribution and excretion) are assessed, and finally the different mechanisms of biological action of this substance are indicated.

The clinical interest of phytate is explained. The classical studies in renal lithiasis are described, and new roles, such as prevention of cardiovascular calcifications, sialolithiasis, dental plaque and bone mass loss are included.

**Keywords:** Phytate, myo-inositol hexakisphosphate calcium-magnesium, calcification.

### ¿Qué es el fitato?

A finales del siglo XIX Pfeffer descubrió en diferentes semillas vegetales un compuesto en cuya estructura se encontraban numerosos grupos fosfato, de ahí el nombre que recibió: fosfato orgánico. Este es el compuesto al que actualmente denominamos fitato (myo-inositol-hexafosfato).

Pasados unos años, concretamente a principios del siglo XX, Anderson describió la estructura química del fitato. Dicha estructura se muestra en la figura 1.

En la tercera década del siglo XX Mellanby comenzó a realizar investigaciones nutricionales con fitato. En sus primeros estudios, realizados en animales, empleó el fitato sódico y observó que se producía una inhibición de la absorción de calcio en perros llegando a provocarles raquitismo.

Cuando en posteriores estudios se sustituía el fitato sódico por fitina (fitato cálcico-magnésico), que es la

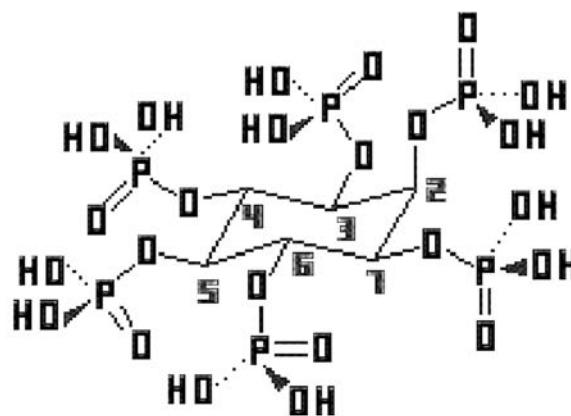


Figura 1. Estructura química del fitato (myo -inositol hexafosfato)

sal que generalmente se encuentra de forma natural en las semillas vegetales, se producía una eliminación del raquitismo en estos animales. Desde entonces se han realizado numerosos estudios para valorar la influencia del fitato sobre la absorción intestinal y la biodisponibilidad de diferentes minerales, destacando especialmente calcio, hierro y zinc.

Debido a estos estudios, y por la consideración de antinutriente que se le asignó, se propuso la eliminación del fitato de la dieta para evitar los problemas de biodisponibilidad de los minerales citados anteriormente.

Estudios recientes demuestran que sólo en el caso de ingerir grandes cantidades de alimentos ricos en fitato junto con dietas pobres en contenido mineral se pueden producir problemas de biodisponibilidad mineral. De hecho, si se consumen cantidades moderadas de fitato junto con dietas equilibradas desde el punto de vista mineral no se observan problemas de biodisponibilidad. Así, incluso la ingesta de cantidades de fitato, 2 g por día, no afecta al balance mineral, cuando el consumo mineral es adecuado.

La acción biológica real del fitato se descubrió recientemente una vez superadas las dificultades técnicas para su cuantificación en organismos vivos (tejidos y fluidos biológicos).

Se había podido determinar su presencia en determinados alimentos, (cereales, legumbres y frutos secos fundamentalmente) debido a su alta concentración y a que no eran necesario para ello métodos analíticos muy sensibles, sin embargo, su presencia en los tejidos y fluidos biológicos humanos no fue demostrada hasta finales de los años 90, debido al desarrollo de metodologías adecuadas.

Fue en 1996 cuando se demostró que el fitato estaba presente en la orina humana, hecho este que supuso un importante avance en la investigación del fitato en el campo de la química biomédica.<sup>1</sup>

En los últimos años se ha comprobado que el fitato se absorbe a nivel gastrointestinal y, por lo tanto, se encuentra de forma natural en los tejidos y fluidos corporales.

Debemos saber también que sus niveles guardan una relación directa y proporcional con el tipo de alimentación recibida, siendo necesaria su presencia en la dieta para mantener unos niveles adecuados, ya que está demostrado que el organismo no es capaz de sintetizarlo en cantidades apreciables. Por ello una disminución del consumo lleva aparejado un descenso en los niveles sanguíneos y urinarios.

Uno de los efectos de la revolución industrial del siglo XIX se produce en la dieta de los llamados países industrializados, que experimentará importantes

cambios. El cambio principal supuso que en la actualidad la mayoría de los alimentos sean refinados y en este proceso se pueden perder componentes propios de los alimentos que pueden llegar a reportar efectos beneficiosos a las personas que los consumen y efectos perjudiciales a los que no los consumen. Además, hay que considerar que el consumo de las fuentes más importantes de fitato como son cereales y legumbres, se ha reducido a la mitad durante las últimas décadas y, por ello, es de esperar que en la actualidad se den auténticas situaciones carenciales de esta sustancia.

### Localización natural del fitato

El fitato es el inositol fosfato más abundante de la naturaleza, estando en concentraciones elevadas en cereales, legumbres, frutos secos y semillas en general.

En el caso de las semillas estos depósitos insolubles de fitato se localizan como inclusiones globulares enlazadas a la membrana y sirven como una fuente de reserva de fosfatos. De hecho, el fitato representa el mayor aporte de fósforo para la semilla durante la germinación llegando a representar entre el 50 y 80 % del fósforo total. En el germen de las semillas se localiza el contenido más elevado de fitato, en el endosperma se encuentra en pequeñas cantidades, siendo el contenido aún menor en raíces. En el tronco, hojas y frutos el contenido en fitina es prácticamente indetectable.

En la tabla 1 se muestra el contenido en fitato de diferentes semillas.

La presencia de fitato en fluidos biológicos (sangre, orina, saliva, fluido intersticial) de mamíferos se ha demostrado claramente.

VEGETAL	FITATO (%)
Maiz	2 - 6.4
Trigo	1.1 - 4.8
Judía	2.5
Cacahuete	1.9
Arroz	2.2
Girasol	1.9
Soja	0.1 - 1.8
Cebada	1.0
Guisante	0.9
Avena	0.8

Tabla 1. Contenido en fitato de diferentes semillas

Además, se ha establecido la existencia de fitato intracelular en células de mamíferos. La mayor parte del fitato extracelular (en tejidos, órganos y fluidos biológicos) procede de su aporte exógeno (principalmente dietético aunque también puede aplicarse tópicamente) y no es consecuencia de una síntesis endógena, mientras que el fitato intracelular probablemente se origina en el interior de la célula.<sup>2</sup> El fitato dietético se absorbe en pequeña proporción y cuando se consumen dietas pobres en fitato sus niveles extracelulares decaen. Entonces, puede deducirse que los beneficios relacionados con la salud del fitato extracelular deben atribuirse a su aporte exógeno.

### Absorción, distribución y excreción del fitato

Estudios realizados en animales de experimentación demostraron que los niveles de fitato en el organismo se encontraban directamente relacionados con su ingesta oral, alcanzándose unos niveles plasmáticos máximos tanto con una dieta que contenía un 1% de fitato en forma de sal sódica, como con la misma dieta conteniendo un 0,12% de fitato en forma de sal cálcico-magnésica (fitina) proveniente de germen de garrofn.<sup>3</sup>

De hecho, al eliminar completamente el fitato de la dieta, la concentración urinaria disminuyó hasta valores no detectables a los 22 días de haberse suprimido su consumo.<sup>4</sup>

La adición de cantidades crecientes de fitato a una dieta carente del mismo demostró que con un consumo de fitato de 20,9 mg por kg de peso corporal, se alcanzaba la máxima excreción urinaria, que correspondía al 2% de la cantidad ingerida, y que aumentos posteriores en el consumo de fitato no originaban aumentos en la excreción urinaria.<sup>4</sup>

En humanos, la eliminación total del fitato de la dieta durante un periodo de 36 horas produjo una disminución de los niveles urinarios cercana al 50%.<sup>5</sup> El estudio de la absorción y excreción urinaria de fitato administrado oralmente a humanos demostró que después de un periodo de dos semanas de consumir una dieta pobre en fitato los niveles en orina de dos horas, disminuyeron alrededor del 90% y los niveles plasmáticos un 74%.<sup>6</sup>

Se deduce de nuevo que los niveles urinarios y plasmáticos de fitato dependen básicamente de su inges-

ta con la dieta, y que el organismo no es capaz de producir síntesis endógena de novo a partir del inositol para mantener unos niveles normales. Estos estudios también evidenciaron que el fitato se absorbe rápidamente, aunque en un bajo porcentaje del administrado oralmente, presentando un máximo de absorción a las 4 horas de su ingesta.<sup>6</sup>

Con la administración a sujetos sometidos a dietas pobres en fitato de tres dosis y sales diferentes correspondientes a 400 mg de fitina (308 mg de fitato), 3200 mg de fitina (2470 mg de fitato) y 1400 mg de fitato sódico (1000 mg de fitato), no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de fitato urinario excretados.<sup>6</sup>

Dado que un aumento en más de 6 veces la dosis ingerida no producía un incremento considerable de la excreción urinaria de fitato, estos resultados concuerdan totalmente con los estudios realizados con animales de experimentación, en el sentido de demostrar que con dosis bajas de fitato se alcanzan valores de excreción urinaria máximos. Por otra parte, estos resultados también demuestran que las cantidades de fitato excretadas en la orina no se modifican con el tipo de sal suministrada.

En los mismos sujetos, el consumo de una dieta con un contenido normal en fitato, transcurridos 15 días con una dieta pobre en fitato, produjo un aumento paulatino de los niveles urinarios de fitato. Sin embargo, a los 16 días aún no se habían estabilizado los valores alcanzados. Los valores de concentración plasmática del fitato estaban directamente relacionados con los de su excreción urinaria producida durante las dos horas anteriores a la recogida de la muestra sanguínea.

Ello demuestra que la concentración de fitato urinario puede utilizarse como un marcador del estatus de fitato en el organismo.

En este aspecto debemos considerar que la dieta humana es, en la mayoría de las ocasiones, una dieta bastante variada, de modo que el consumo de fitato no es regular, contrariamente a lo que ocurre con los animales de experimentación a los que se les suministra continuamente la misma dieta, de ahí que los niveles urinarios se incrementen y estabilicen más rápidamente en los animales de experimentación. Otros estudios demostraron que el fitato está distribuido en todos los órganos y fluidos del organismo analizados.

La determinación de la concentración de fitato en animales de experimentación alimentados con una dieta sintética en la cual el fitato se añadió en forma de sal sódica, evidenció que las concentraciones variaban según las características de los tejidos, desde valores de 0,2 mg/L en plasma hasta valores de 20 mg/g en el cerebro, mientras que cuando se suministró la misma dieta carente de fitato los valores se redujeron a 0,02 mg/L en plasma y 0,9 mg/g en cerebro.<sup>7</sup>

Finalmente debemos señalar que los estudios de toxicidad aguda del ácido fítico y del fitato sódico, administrados por vía oral, con ratas y ratones determinaron una DL50 situada entre 400 y 2.750 mg/kg.<sup>8,9</sup>

Además, un estudio reciente demuestra que no existen diferencias estadísticas en los perfiles de absorción y excreción de fitato dependiendo de las condiciones estomacales, por lo que éste puede tomarse tanto durante como entre las comidas con la misma eficacia.<sup>10</sup>

## Mecanismo de acción

Cuando un sistema contiene cantidades superiores de soluto que la cantidad permitida por su solubilidad, se encuentra en una situación inestable desde el punto de vista termodinámico (sistema sobresaturado) y más tarde o más temprano cristaliza para alcanzar el equilibrio.

El tiempo que un sistema sobresaturado tarda en precipitar puede durar desde segundos a años y depende de factores cinéticos, causa por la cual no se producen en el organismo, en condiciones normales, cristalizaciones indiscriminadas, a pesar de encontrarse los fluidos biológicos sobresaturados en algunas sustancias.

De hecho son tres los aspectos principales que deben considerarse para explicar las cristalizaciones patológicas:

- Sobresaturación superior al valor habitual (factor termodinámico).
- Presencia de nucleantes heterogéneos (promotores de la cristalización), tales como macromoléculas, restos celulares o lesiones epiteliales (factor cinético).

· Y/o el déficit de inhibidores de la cristalización, que son sustancias que impiden o dificultan el desarrollo de los cristales (factor cinético).<sup>11,12</sup>

En condiciones fisiológicas estos factores normalmente se compensan evitando la formación de cristales. Ahora bien, al producirse una ligera modificación de alguno de ellos, de modo que se rompa este balance, se producen cristalizaciones indiscriminadas que acaban provocando procesos patológicos.

Cabe señalar que en condiciones fisiológicas, la sobresaturación no se mantiene invariable sino que oscila dentro de unos límites, por ello unos niveles adecuados de inhibidores de la cristalización son esenciales cuando la sobresaturación alcanza su valor máximo puesto que evitan que se formen partículas sólidas hasta que de nuevo se alcanzan los niveles óptimos.

El fitato posee importantes propiedades inhibitorias de la cristalización del oxalato y fosfato cálcico. Este mecanismo va a permitir que el organismo se proteja del desarrollo de calcificaciones patológicas en los diferentes tejidos, sangre y orina como podrían ser la formación y desarrollo de los cálculos renales o de calcificaciones a nivel cardiovascular.<sup>13</sup>

Esta situación tiene su reflejo a nivel clínico en el hecho de que la incidencia de litiasis renal cálcica en los países con un consumo elevado de cereales no refinados, ricos en fitato, resulta ser menor que la de los países desarrollados donde predomina el consumo de cereales refinados.

El fitato posee también importantes propiedades antioxidantes. Se une con una gran afinidad al hierro y por este mecanismo resulta ser un potente inhibidor de la formación de radicales libres, actuando como un antioxidante natural y protegiendo a las células de posibles daños ocasionados por estos radicales.

## Fitato y litiasis renal

La patología más ampliamente estudiada y en la que existe mayor evidencia científica de la relación directa entre el consumo o no de fitato y su presencia es la litiasis renal. Los primeros estudios aparecen en los años noventa y desde entonces se han multiplicado. Debido al gran número de estudios que relacionan litiasis con fitato vamos a hacer tres apartados, en el primero de ellos analizaremos algunos trabajos reali-

zados in vitro, en el segundo bloque veremos estudios realizados en animales de experimentación, concretamente en ratas y, finalmente presentaremos los resultados más interesantes obtenidos en los estudios realizados en humanos.

En el apartado de estudios in vitro destacamos un trabajo<sup>14</sup> donde se comparaban los efectos inhibitorios de citrato y fitato en la formación de cristales de hidroxiapatita, (Figura 2) los resultados mostraban que el citrato lograba una ligera reducción mientras el fitato producía una eliminación total. Un estudio posterior<sup>15</sup> relacionaba también el consumo de fitato con un descenso en la formación de cristales de oxalato cálcico. La capacidad del fitato para disminuir la cristalización de oxalato cálcico se atribuía a la combinación de su capacidad inhibitoria de la cristalización y a su acción antioxidante.

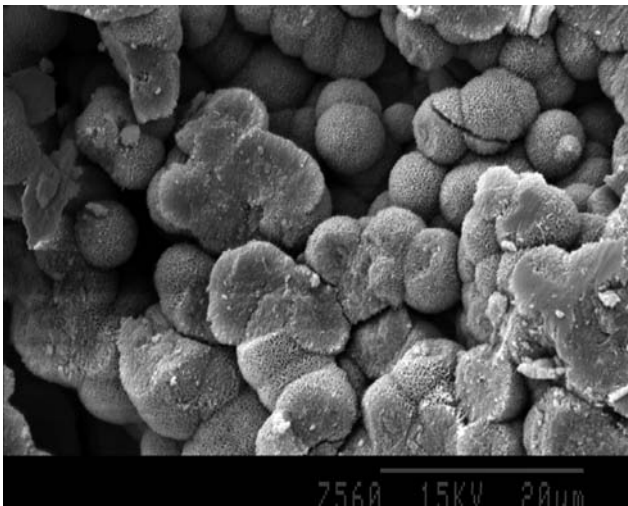


Figura 2.- Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de barrido de esferulitos de hidroxiapatita observados en un cálculo renal.

En un estudio del año 2000<sup>16</sup> se comparaba la potencia inhibitoria de fitato y otros pirofosfatos en la formación de cristales de hidroxiapatita, los resultados mostraban que con fitato se producía una mayor inhibición.

Diversos estudios en animales de experimentación han valorado el efecto inhibitor del fitato en la formación de cálculos renales, en uno de ellos<sup>17</sup> se observó que sólo en las ratas tratadas con fitato se producía un descenso significativo en las calcificaciones papilares. Un estudio posterior<sup>18</sup> confirmaba estos datos y mostraba que sólo las ratas con una dieta en la que no había fitato mostraban calcifica-

ciones intrarenales.(Figura 3) Un estudio del año 2007<sup>19</sup> mostró que las ratas con una dieta sin fitato desarrollaban importantes depósitos de calcio tanto en los riñones como en la papilas y túbulos renales, de esta manera se ponía de manifiesto que la acción inhibitoria de la cristalización ejercida por el fitato se producía tanto a nivel intrapapilar como en la orina.(Figura 4)

Los trabajos realizados en humanos muestran también la relación existente entre fitato y litiasis renal.

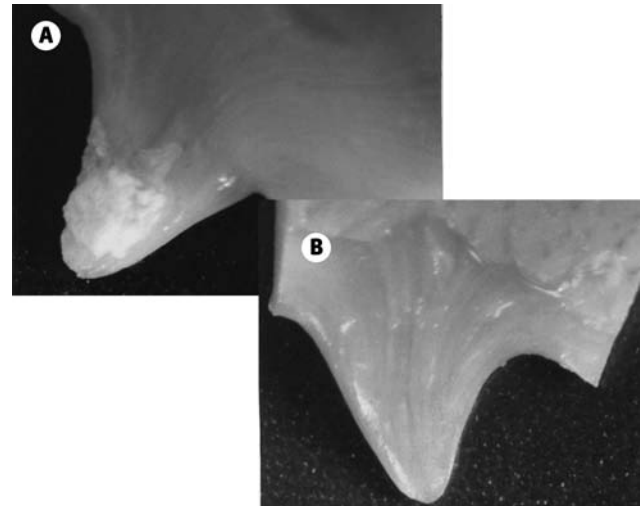


Figura 3.- Imágenes obtenidas mediante microscopía óptica de papilas de rata Wistar (a) sometida a una dieta litógena sin fitato, donde pueden apreciarse importantes depósitos de oxalato cálcico monohidrato, y (b) sometida a la misma dieta con un suplemento de fitato.

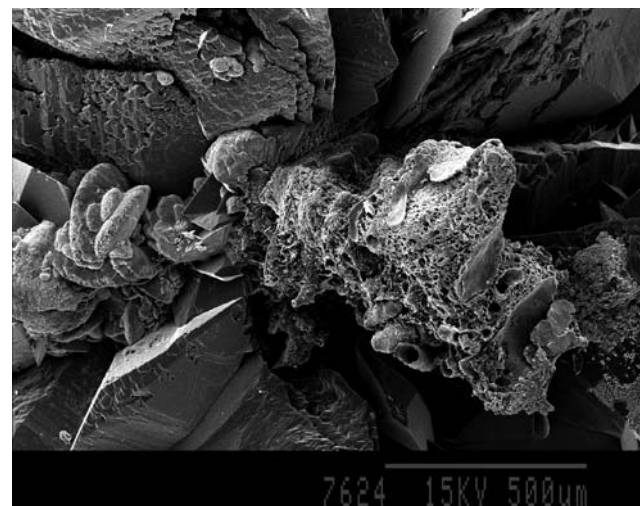


Figura 4.- Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de barrido de un cálculo renal papilar en el que se observa la presencia de túbulos renales calcificados situados en la zona de unión del cálculo a la papila renal.

Un ensayo clínico<sup>20</sup> donde se comparaba el riesgo de formación de cálculos urinarios de calcio en personas tratadas con citrato o fitato frente al grupo sin tratamiento mostró que en las personas tratadas con citrato o fitato se producía un descenso en el riesgo. Alrededor del 50% de pacientes tratados tanto con citrato como con fitato eliminaron los cristales de oxalato cálcico frente al 7% del grupo sin tratamiento.

En un estudio realizado en más de 96000 mujeres<sup>21</sup> se observó que la ingesta de fitato se relacionaba con un menor riesgo en la formación de cálculos renales, de manera que se consideró que la ingesta de fitato era un nuevo, importante y seguro elemento en la prevención de esta patología.

Cuando se valoraron los niveles urinarios de fitato<sup>22</sup> en personas con cristales de oxalato cálcico y en personas sanas se observó que los valores eran significativamente menores en las portadoras de cálculos, por lo tanto se consideró que la excreción de cantidades bajas de fitato podría ser un factor de riesgo en el desarrollo de este tipo de cálculos renales.

### Fitato y calcificaciones cardiovasculares

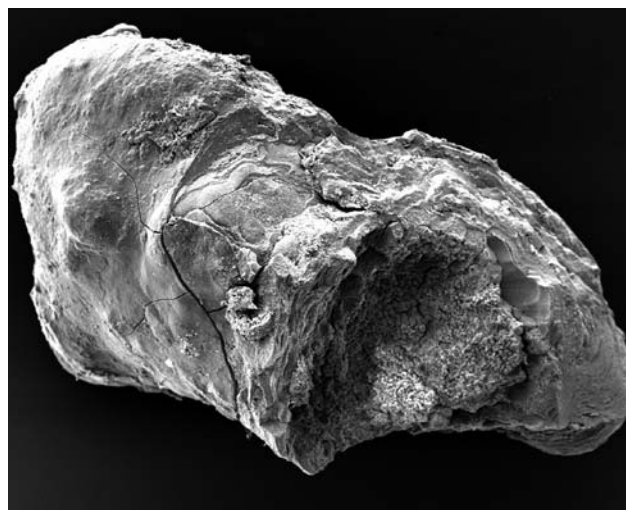
Otra de las posibles utilidades del fitato es la inhibición de las calcificaciones a nivel cardiovascular. De acuerdo a su mecanismo de acción, el fitato debería ser considerado como un inhibidor, sin embargo no existen muchos estudios al respecto.

En 2006 se publica un estudio<sup>13</sup> realizado en ratas donde se observa una elevación significativa del contenido de calcio en la aorta y tejido cardiaco en aquellos animales no tratados con fitato frente al grupo si tratado. Resultados similares se observaron en otro estudio del mismo grupo donde se realizaba una valoración del impacto del consumo de fitato frente a las calcificaciones aórticas relacionadas con el envejecimiento y en el que se demostró que dietas ricas en fitato disminuían significativamente estas calcificaciones.<sup>23</sup>

Hay algunos estudios en animales que comparan la potencia inhibidora de la calcificación cardiovascular de diferentes polifosfatos<sup>24</sup> entre ellos los bifosfonatos y el fitato. En uno de ellos<sup>25</sup> los resultados muestran que tanto etidronato como fitato son capaces de inhibir la calcificación del pericardio bovino in vitro, aunque fitato resultó más eficaz.

### Fitato y problemas bucales

La sialolitiasis es una enfermedad común de las glándulas salivares aunque la etiología y el mecanismo de producción de los cálculos es poco conocido. En un estudio<sup>26</sup> se analizaron 21 cálculos y se determinó la concentración en saliva de fitato, 18 cálculos estaban compuestos de hidroxapatita y materia orgánica y 3 solo de materia orgánica. La concentración de fitato en saliva en personas con cálculos de hidroxapatita era significativamente inferior a la observada en personas con cálculos de materia orgánica y en personas sanas, por ello se piensa que los déficits de fitato son un importante factor etiológico en la génesis de los cálculos salivares. (Figura 5)



*Figura 5.- Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de barrido de un sialolito (cálculo salivar) compuesto por hidroxapatita y materia orgánica.*

Otra patología donde se ha observado que el fitato tiene algún efecto es el sarro dental, en 2008, un trabajo<sup>27</sup> mostró que las personas que se sometieron a tratamiento con colutorios bucales con fitato presentaban una disminución significativa en la formación de sarro frente a placebo.

### Fitato y densidad mineral ósea

Hasta hace muy poco tiempo, cuando se analizaba la literatura científica buscando trabajos que relacionaran el fitato con patologías óseas sólo se encontraban referencias al efecto sobre la absorción intestinal de calcio provocado por el consumo de fitato sódico. Desde hace décadas se conoce que los polifosfatos producen inhibición de la cristalización de las sales de calcio.

Fue Fleisch quien demostró que el pirofosfato estaba presente en orina y suero y que podía prevenir la calcificación al unirse a la hidroxiapatita. Sin embargo, los estudios en animales mostraron que la inhibición de las calcificaciones ectópicas en vasos y riñones sólo se producía cuando se inyectaba el pirofosfato más que si se administraba oralmente. La administración oral producía hidrólisis lo que inactivaba el pirofosfato, esta situación hizo que se buscaran análogos que fueran más estables.

Los bisfosfonatos, un tipo de pirofosfatos, se vio que tenían una gran afinidad por la hidroxiapatita y que podían prevenir la calcificación, tanto in vitro como in vivo, incluso si la administración a los animales se realizaba por vía oral.

Los bisfosfonatos, como inhibidores de la cristalización, se unían al núcleo o a las caras del cristal y alteraban su desarrollo.

La adhesión de estos compuestos a las caras del cristal también podía provocar una inhibición de su disolución.

El hecho de que los bisfosfonatos pudieran inhibir la disolución de cristales de hidroxiapatita y que este efecto se lograra con su administración oral dio lugar a diversos estudios que examinaban su utilización potencial como inhibidores de la reabsorción ósea. Hasta el momento, han sido muchos los estudios<sup>28,29,30,31</sup> con diferentes bisfosfonatos, tanto a nivel experimental como a través de ensayos clínicos, que han demostrado que se logra una inhibición de la reabsorción ósea mediada por osteoclastos.

El fitato ya ha demostrado que es capaz de inhibir la cristalización de sales de calcio, tanto en orina como en tejidos blandos, de forma similar a otros polifosfatos como los pirofosfatos y los bisfosfonatos.

Recientemente, un equipo de investigadores del IUNICS (Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut) encabezado por el profesor Grases ha conseguido determinar el efecto in vitro del myo-inositol hexafosfato (fitato) en el hueso. En este estudio se comparan los efectos del fitato y de dos bisfosfonatos (alendronato y etidronato) con la intención de evaluar el posible uso del fitato como inhibidor de la reabsorción ósea. El estudio mostró que la preincubación de una disolución in vitro de hidroxiapatita (HAP) con fitato fue capaz de inhibir la disolución de HAP mediada con ácido, de una

forma dependiente de la concentración. El efecto del fitato inhibiendo la disolución de HAP fue similar al obtenido con alendronato y superior al obtenido con etidronato.

Estudios en animales han demostrado que cuando el fitato se suplementaba en la dieta los niveles en hueso llegaban a ser consistentes, pero que una vez que el fitato era eliminado de la dieta la concentración en hueso disminuía drásticamente hasta niveles prácticamente indetectables.<sup>32</sup>

Un estudio en ratas<sup>33</sup> donde se valoraba el efecto del consumo de fitato en los valores de masa ósea mostró una elevación en el grupo de animales que consumían fitato frente al grupo de no consumidores. En humanos son pocos los estudios que relacionan el consumo de myo-inositol hexafosfato cálcico magnésico (fitina) con los valores de masa ósea. En 2008 un estudio pone de manifiesto tanto el efecto beneficioso del consumo de fitina sobre la densidad mineral ósea como el efecto protector de un consumo adecuado de fitina ante la presencia de diferentes factores de riesgo clásicos de osteoporosis<sup>34</sup>.

## Bibliografía

- 1.- Grases F, Llobera A. Determination of phytic acid in urine by ICP atomic emission spectrometry. *Analytical Letters* 1996; 29(7):1193-9.
- 2.- Grases F, Costa-Bauzá A, Prieto RM. Intracellular and extracellular myo-inositol hexakisphosphate (InsP<sub>6</sub>), from rats to humans. *Anticancer research* 2005; 25: 2593-98.
- 3.- Grases F, Simonet BM, Prieto RM, March JG. Dietary phytate and mineral bioavailability. *J Trace Elem Med Biol* 2001; 15: 221-228.
- 4.- Grases F, Simonet BM, March JG, Prieto RM. Inositol hexakisphosphate in urine: the relationship between oral intake and urinary excretion. *BJU Int* 2000; 85: 138-142.
- 5.- Grases F, March JG, Prieto RM, Simonet BM, Costa-Bauzá A, García-Raja A, Conte A. Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people. Dietary effects on phytate excretion. *Scand J Urol Nephrol* 2000; 34: 162-64.
- 6.- Grases F, Simonet BM, Vucenik I, Prieto RM, Costa-Bauzá A, March JG, Shamsuddin AM. Absorption and excretion of orally administered inositol hexaphosphate IP<sub>6</sub> or phytate) in humans. *BioFactors* 2001; 15: 53-61.
- 7.- Grases F, Simonet BM, Prieto RM, March JG. Phytate levels in diverse rat tissues: influence of dietary phytate. *Brit J Nutr* 2001; 86: 1-8.
- 8.- Fujitani T, Yoneyama M, Kabashima J, Hosokawa N, Ichikawa H. Acute toxicity of phytic acid and sodium phytate in mice. *Kenkyu Nenpo-Tokyo-toristu Eisei Kenkyusho* 1987; 38: 368-70.

- 9.-Ichikawa H, Ohishi S, Takahashi O, Kobayashi H, Yuzawa K, Hosokawa N, Hashimoto T. Acute oral toxicities of phytic acid and sodium phytate in rats. *Kenkyu Nenpo-Tokyo-toristu Eisei Kenkyusho* 1987; 38: 371-76.
- 10.-Grases F, Costa-Bauzá A, Perello J, Isern B, Vucenic I, Valiente M, Muñoz JA, Prieto RM. Influence of concomitant food intake on the excretion of orally administered myo-inositol hexaphosphate in humans. *J Med Food* 2006 ; 9(1): 72-6.
- 11.-Grases F, Costa-Bauzá A. Phytate is a powerful agent for preventing calcifications in biological fluids: usefulness in renal lithiasis treatment. *Anticancer Res* 1999; 19: 3717-22.
- 12.-Grases F (a), Costa-Bauzá A, Königsberger E, Königsberger L-C. Kinetic versus thermodynamic factors in calcium renal lithiasis. *Int Urol Nephrol* 2000; 32: 19-27.
- 13.-Grases F(a), Sanchis P, Perelló J, Isern B, Prieto RM, Fernandez-Palomeque C, Fiol M, Bonnin O, Torres JJ. Phytate (Myo-inositol hexakisphosphate) inhibits cardiovascular calcifications in rats. *Frontiers in Bioscience*.2006; 11: 136-142.
- 14.- Grases F, García-Ferragut L, Costa-Bauzá A. Study of the early stages of renal stone formation: experimental model using urothelium of pig urinary bladder. *Urol Res*. 1996;24(5):305-11.
- 15.- Grases F, García-Ferragut L, Costa-Bauzá A. Development of calcium oxalate crystals on urothelium: effect of free radicals. *Nephron*. 1998;78(3):296-301.
- 16.- Grases F, Ramis M, Costa-Bauzá A. Effects of phytate and pyrophosphate on brushite and hydroxyapatite crystallization. Comparison with the action of other polyphosphates. *Urol Res*. 2000 Apr;28(2):136-40.
- 17.- Grases F, Garcia-Gonzalez R, Torres JJ, Llobera A. Effects of phytic acid on renal stone formation in rats. *Scand J Urol Nephrol*. 1998 Jul;32(4):261-5.
- 18.- Grases F, Prieto RM, Simonet BM, March JG. Phytate prevents tissue calcifications in female rats. *Biofactors*. 2000;11(3):171-7.
- 19.- Grases F, Isern B, Sanchis P, Perello J, Torres JJ, Costa-Bauza A. Phytate acts as an inhibitor in formation of renal calculi. *Front Biosci*. 2007, 12(1) :2580-7.
- 20.- A. Conte, P. Piza, A. Garcia-Raja, F. Grases, A. Costa-Bauza, and R.M. Urinary lithogen risk test: usefulness in the evaluation of renal lithiasis treatment using crystallization inhibitors (citrate and phytate). *Prieto. Arch. Esp. Urol* 1999, 52, 3 (305-310).
- 21.- Curhan GC, Willett WC, Knight EL, Stampfer MJ. Dietary factors and the risk of incident kidney stones in younger women: Nurses' Health Study II. *Arch Intern Med*. 2004 Apr 26;164(8):885-91.
- 22.- Grases F, March JG, Prieto RM, Simonet BM, Costa-Bauzá A, García-Raja A, Conte A. Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people--dietary effects on phytate excretion. *Scand J Urol Nephrol*. 2000 Jun; 34(3):162-4.
- 23.- Grases F, Sanchis P, Perello J, Isern B, Prieto RM, Fernandez-Palomeque C, Saus C. Phytate reduces age-related cardiovascular calcification. *Front Biosci*. 2008 May 1;13:7115-22.
- 24.- Grases F, Sanchis P, Perello J, Isern B, Prieto RM, Fernandez-Palomeque C, Torres JJ. Effect of crystallization inhibitors on vascular calcifications induced by vitamin D: a pilot study in Sprague-Dawley rats. *Circ J*.2007; 71(7):1152-6.
- 25.- Grases F, Sanchis P, Costa-Bauzá A, Bonnin O, Isern B, Perello J, Prieto RM. Phytate inhibits bovine pericardium calcification in vitro. *Cardiovasc Pathol* 2008; 17(3): 139-45.
- 26.- Grases F, Santiago C, Simonet BM, Costa-Bauzá A. Sialolithiasis: mechanism of calculi formation and etiologic factors. *Clin Chim Acta*. 2003 Aug;334(1-2):131-6.
- 27.- Grases F, Perelló J, Sanchis P, Isern B, Prieto RM, Costa-Bauzá A, Santiago C, Ferragut ML, Frontera G. Anticalculus effect of a triclosan mouthwash containing phytate: a double-blind, randomized, three-period crossover trial. *J Periodontal Res*. 2008 Oct 22. [Epub ahead of print]
- 28.- Fleisch HA. New bisphosphonates in osteoporosis. *Osteoporos Int*. 1993; 3 Suppl 2:15-22.
- 29.- Bell NH, Johnson RH. Bisphosphonates in the treatment of osteoporosis. *Endocrine*. 1997; 6(2): 203-6.
- 30.- Fleisch HA. Bisphosphonates: preclinical aspects and use in osteoporosis. *Ann Med*. 1997; 29(1): 55-62.
- 31.- Palomo L, Bissada N, Liu J. Bisphosphonate therapy for bone loss in patients with osteoporosis and periodontal disease: clinical perspectives and review of the literature. *Quintessence Int*. 2006; 37(2):103-7.
- 32.- Grases F, Simonet BM, Prieto RM, March JG. Variation of InsP4, InsP5 and InsP6 levels in tissues and biological fluids depending on dietary phytate. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2001;12:595-601.
- 33.- Grases F, Sanchis P, Perelló J, Prieto R, López-González AA. Effect of phytate (myo-inositol hexaphosphate) on bone characteristics in ovariectomized rats. *Frontiers Bioscience* 2009. (en prensa).
- 34.- López-González AA, Grases F, Roca P, Marí B, Vicente-Herrero MT, Costa-Bauzá A. Phytate (myo-inositol hexaphosphate) and risk factors for osteoporosis. *Journal of Medicinal Food*. 2008. 11(4):747-52.