

**ARTÍCULO ORIGINAL****Utilización nutritiva de hierro en el transcurso de la ferropdeficiencia****Nutritive utilization of iron during the evolution of a iron deficiency****Alferez MJM, López-Aliaga I, Díaz-Castro J, Rodríguez-Ferrer M, y Campos MS**

Departamento de Fisiología e Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Farmacia,  
Universidad de Granada. Campus Universitario Cartuja s/n, 18071 Granada, España  
malferes@ugr.es

---

**RESUMEN**

Se ha estudiado la utilización digestiva y metabólica de hierro durante la evolución (20,30, 40 días) de una ferropdeficiencia nutricional en ratas en periodo de crecimiento. Se han usado 48 ratas (*Ratus norvergicus*, raza Wistar albina) con un peso inicial aproximado de 45-50. Los animales se dividieron en 6 grupos: tres grupos controles (C) y tres grupos ferropdeficientes (FD) que recibieron una dieta AIN 93G con contenido normal (45 mg Fe/kg dieta) o con un bajo contenido de hierro (5 mg/Fe Kg dieta) respectivamente durante 20, 30 ó 40 días. Los resultados obtenidos indican que la utilización nutritiva de hierro aumenta progresivamente en todos los periodos, siendo esta diferencia significativa, si comparamos el día 40 con el 20, esto es debido a que dicha patología produce una depleción de los depósitos corporales de Fe, lo cual favorece la entrada a favor de gradiente de concentración por difusión simple de dicho mineral.

---

**PALABRAS CLAVE:** Evolución ferropdeficiencia, utilización nutritiva, hierro

---

**ABSTRACT**

The digestive and metabolic utilization of iron during the evolution (20, 30, 40 days) of a nutritional Fe-deficiency has been studied in growing rats. 48 rats (*Ratus norvergicus*, Wistar albino breed) were used with an initial approximate weight of 45-50g. The animals were divided in 6 groups: three groups control (C) and three groups Fe-deficient (FD) receiving a diet AIN 93G with normal-Fe content (45 mg/kg diet) or with a low-Fe content (5 mg/Kg diet) respectively during 20, 30 ó 40 days. The results obtained indicate that the nutritive utilization of iron increases progressively in all the periods, being this difference significant, if we compare the day 40 with 20, due to the above mentioned pathology produces a depletion of the Fe body stores, which favours the uptake in favour of gradient of concentration by simple diffusion.

---

**KEYWORDS:** Iron deficiency evolution, nutritive utilization, iron

---

## INTRODUCCIÓN

Los niños entre 6-24 meses de edad constituyen uno de los grupos de mayor riesgo de deficiencia de hierro<sup>1</sup>. Los requerimientos de hierro se duplican en dos periodos de la vida: el primero entre los 6 y 18 meses de edad y el segundo para las chicas en la adolescencia. La deficiencia de hierro durante el primer año de vida sucede a la vez que existe en este periodo un rápido desarrollo neuronal, y posibles alteraciones morfológicas, bioquímicas y bioenergéticas pueden derivarse y afectar a su futuro funcionamiento<sup>2,3</sup>. La deficiencia de hierro ha sido considerada un importante factor de riesgo para la salud<sup>4</sup>. El estado de hierro en la infancia podría estar determinado en gran parte por 4 factores<sup>1,5</sup>: el hierro al nacer (el cual está relacionado con el estado del hierro materno), las necesidades posnatales de hierro, la biodisponibilidad de las fuentes externas de hierro, y las pérdidas del mismo. El hierro es esencial para el desarrollo de todos los tejidos<sup>6</sup>.

El objetivo del presente trabajo es determinar la utilización digestiva y metabólica de hierro durante la evolución (20,30, 40 días) de una ferropdeficiencia nutricional en ratas en periodo de crecimiento.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales

Se han usado 48 ratas (*Ratus norvergicus*, raza Wistar albina) con un peso inicial aproximado de 45-50 g, procedentes del Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Granada. Los protocolos para el cuidado y experimentación animal fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad de Granada de acuerdo con las directrices de la Comunidad Europea.

### Diseño experimental y dietas

Los animales se dividieron en 6 grupos: tres grupos controles (C) y tres grupos ferropdeficientes (FD) que recibieron una dieta AIN 93G con contenido normal (45 mg Fe/kg dieta) o con un bajo contenido de hierro (5 mg/Fe Kg dieta) respectivamente durante 20, 30 ó 40 días.

Las ratas se alojaron en células individuales de metabolismo con recogida separada de heces y orina. Estas células se encuentran situadas en una habitación aireada y termorregulada ( $21 \pm 2^\circ$  C) con fotoperíodo controlado de 12 horas (luz-oscuridad). Los animales tomaron agua bidestilada y dieta "ad libitum". Se le suministró dieta estándar<sup>7</sup> (IAN-93G) a los grupos C y para provocar la ferropdeficiencia se administró dieta estándar baja en hierro a las ratas que posteriormente constituirán los grupos FD, de acuerdo con la técnica descrita previamente por nuestro Grupo de Investigación<sup>8</sup>.

Se empleó la técnica biológica en la que los primeros días son de adaptación a la dieta a ensayar, seguidos del período principal de 7 días. Los animales tenían acceso a la dieta “*ad libitum*” y diariamente se controlaba la ingesta, además de recolectar por separado heces y orina. La orina se recolectó sobre una solución ácida de HCl y el volumen total de diuresis obtenido durante los 7 días se conservó en el frigorífico a  $4 \pm 2^\circ \text{C}$  hasta su posterior análisis. Las heces se recogieron durante los 7 días del periodo principal y se conservaron en un congelador a  $-20 \pm 2^\circ \text{C}$  para su posterior análisis.

#### Procedimientos analíticos

##### Materia seca

Las humedades de las dietas y heces fueron determinadas por desecación de la muestra a  $105 \pm 2^\circ \text{C}$  hasta obtener un peso constante (approx. 48h).

##### Determinación de hierro

Las concentraciones de hierro en dietas, heces y orina se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (PerkinElmer AAnalyst 1100B spectrometer with WinLab32 for AA software, Ueberlingen, Germany). Las muestras se mineralizaron previamente por vía húmeda en un baño de arena (J.R. SELECTA, Barcelona, Spain). Muestras de liofilizado de hígado de bovino (material certificado de referencia BCR 185; Community Bureau of References, Brussels, Belgium) fueron analizadas simultáneamente para validar las determinaciones de hierro (valor de Fe =  $210 \pm 6 \text{ mg/kg}$ , la media  $\pm$  SEM de cinco determinaciones, valor certificado  $214 \pm 5 \text{ mg/kg}$ ).

##### Indices Biológicos

Los siguientes índices fueron calculados a partir de los datos de ingesta de hierro, excreción fecal y urinaria de hierro: coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) = (ingesta-excreción fecal)  $\times$  100/ingesta; balance = (ingesta-excreción fecal) – excreción urinaria; R/I (%) = balance  $\times$  100/ingesta.

##### Análisis estadístico

Para comparar entre grupos de animales dentro de la misma dieta (C vs. FD), usamos el test de la “*t de Student*” para muestras independientes. El análisis de la varianza por el método One-Way ANOVA era utilizado para comparar los tres periodos de tiempo ensayados (20, 30 y 40 días) para ambos grupos de animales (C y FD). Las diferencias son consideradas significativas para todos los tratamientos estadísticos a un nivel de  $P < 0.05$ . Todos los análisis se han efectuado con el paquete estadístico “Statistical Package for Social Sciences” (SPSS, versión 15.0, 2008; SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

## RESULTADOS

A los 20 días de consumir una dieta con bajo contenido en Fe, las ratas FD presentan unos valores superiores de utilización digestiva (CDA) y retención (R/I) de este mineral con respecto a sus controles, pero sin llegar ser las diferencias significativas. Esta misma tendencia se observa a los 30 y 40 días de evolución de la ferodeficiencia, si bien, las diferencias se van haciendo cada vez más pronunciadas a medida que aumenta el tiempo de consumo de la dieta restrictiva en Fe: CDA ( $P < 0.01$  a los 30 días y  $P < 0.001$  a los 40 días) y R/I de Fe ( $P < 0.05$  a los 30 días y  $P < 0.01$  a los 40 días).

En el transcurso del estudio, la utilización nutritiva (CDA y R/I) en ratas C no se modifica en ninguno de los periodos estudiados (20, 30 o 40 días). Sin embargo, en ratas FD, la utilización nutritiva de Fe aumenta progresivamente en todos los periodos, siendo esta diferencia significativa, si comparamos el día 40 con el 20 ( $P < 0.01$  para el CDA y  $P < 0.05$  para el R/I).

**Fig 1.** Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de hierro

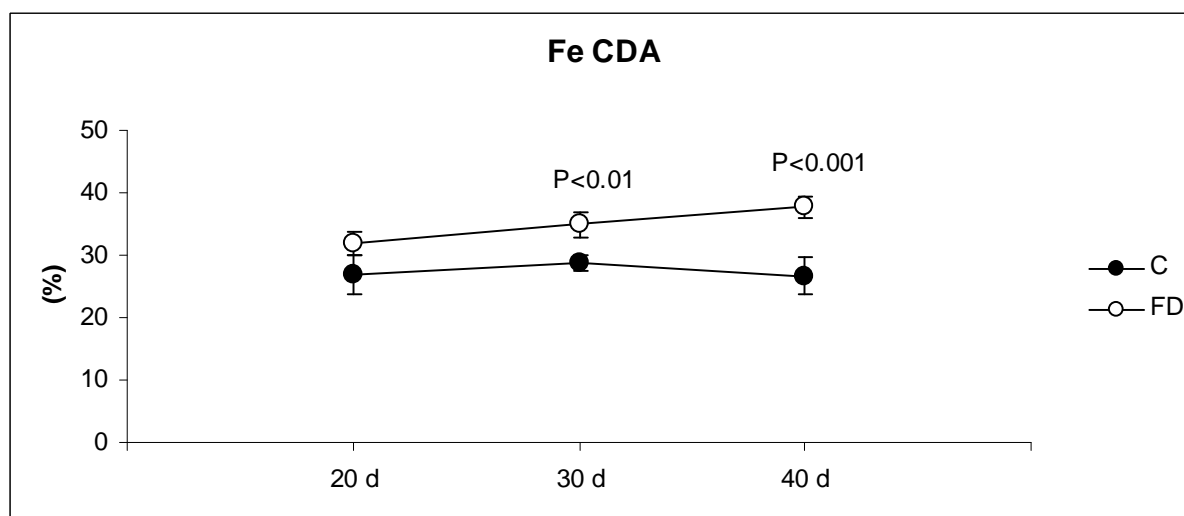
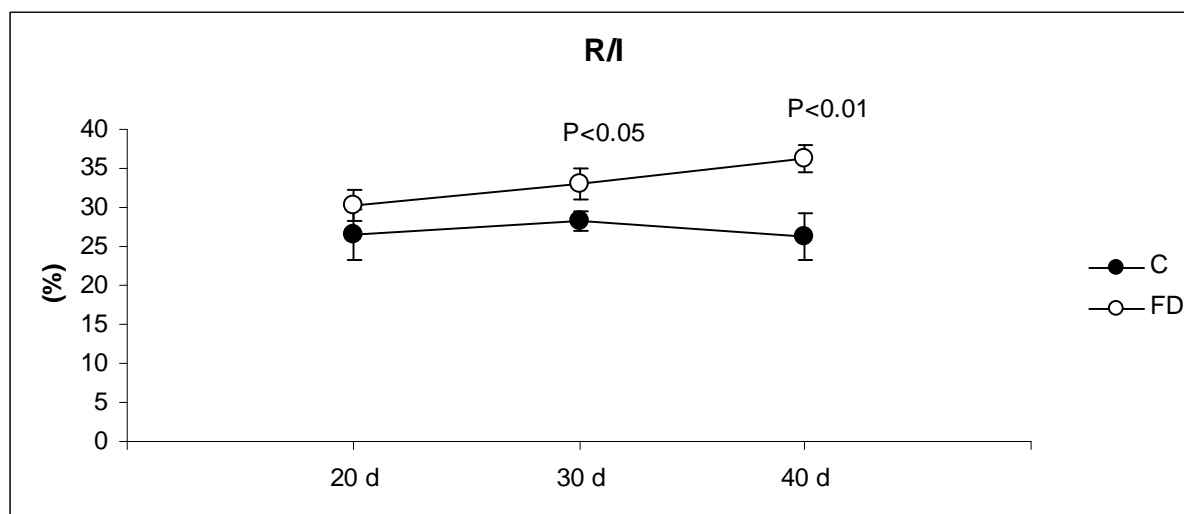


Fig2. Relaci3n retenci3n / ingesta (R/I) de hierro



## DISCUSI3N

La mayor utilizaci3n nutritiva de Fe encontrado en ratas FD respecto a sus C, pone de manifiesto la existencia de una mayor avidez por absorber y retener este mineral, lo que se puede explicar porque la ferropdeficiencia incrementa la s3ntesis de la prote3na transportadora de metales divalentes (DMT1) (Yeh y col., 2000), as3 como la expresi3n de la ferroportina <sup>9</sup>. Por tanto, estos receptores incrementan la absorci3n intestinal de Fe en situaci3n de anemia <sup>10</sup>. Una vez que el citocromo duodenal b (Dcytb) ha reducido el Fe<sup>3+</sup> de la dieta a Fe<sup>2+</sup>, es susceptible de ser captado por el transportador de metales divalentes<sup>11</sup> (DMT1). El pH relativamente bajo del duodeno proximal junto con el microclima 3cido presente en la membrana del borde en cepillo estabiliza al Fe<sup>2+</sup> y este medio proporciona una fuente rica de protones que son esenciales para el cotransporte con el Fe<sup>2+</sup> a trav3s del DMT1<sup>11,12</sup>.

Por otra parte, el incremento en la utilizaci3n nutritiva de Fe en animales FD, se va a haciendo m3s patente a medida que se va instaurando la ferropdeficiencia, debido a que dicha patolog3a produce una depleci3n de los dep3sitos corporales de Fe<sup>13</sup>, lo cual favorece la entrada a favor de gradiente de concentraci3n por difusi3n simple de dicho mineral<sup>14</sup>.

## CONCLUSI3N

La evoluci3n de la ferropdeficiencia nutricional conlleva a un amento progresivo de la utilizaci3n nutritiva de Fe para compensar la depleci3n de los dep3sitos corporales de este mineral.

---

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (CICYT) a través del proyecto de Investigación AGL-2006-02301/ALI. Los autores agradecen a la Universidad de Granada la ayuda a través del personal de investigación Javier Díaz Castro y el apoyo administrativo de Elisa Alcocer.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Leung AKC, Chan KW. Iron deficiency anemia. *Adv Pediatr.* 2001; 48: 385-408.
2. Lozoff B, Beard J, Connor J, Barbara F, Georgieff M, Schallert T. Long-lasting neural and behavioral effects of iron deficiency in infancy. *Nutr Rev.* 2006; 64: S34-S43.
3. Rao R, Georgieff MK. Iron in fetal and neonatal nutrition. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2007; 12: 54-63.
4. World Health Organization. Reducing risks, promoting healthy life. *The World Health Report 2002.* Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2002
5. American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Iron deficiency. In *Pediatric nutrition handbook* pp. 299-312 [RE Kleinman, editor]. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2004
6. Alexander J, Tung BY, Croghan A, Kowdley KV. Effect of iron depletion on serum markers of fibrogenesis, oxidative stress and serum liver enzymes in chronic hepatitis C: results of a pilot study. *Liver Int.* 2007; 27: 268-273.
7. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123: 1939-1951.
8. Pallarés I, Lisbona F, López-Aliaga I, Barrionuevo M, Alfárez MJM, Campos MS. Effects of iron deficiency on the digestive utilization of iron, phosphorus, calcium and magnesium in rats. *Br J Nutr.* 1993; 70: 609-620.
9. Morgan EH, Oates PS. Mechanisms and regulation of intestinal iron absorption. *Blood Cells Mol Dis.* 2002; 29: 384-399.
10. Forellat M, Gautier H, Fernández N. Metabolismo del hierro. *Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter.* 2000; 16: 149-160.
11. Gunshin H, MacKenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature.* 1997; 388: 482-488.
12. Tandy S, Williams M, Leggett A, López-Jiménez M, Dedes M, Ramesh B, et al. Nramp2 expression is associated with pH-dependent iron uptake across the apical membrane of human intestinal Caco-2 cells. *J Biol Chem.* 2000; 275:1023-9.
13. Brownlie T, Utermohlen IV, Hinton PS, Giordano C, Haas JD. Marginal iron deficiency without anemia impairs aerobic adaptation among previously untrained women. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75: 734-742.
14. Gómez-Ayala AE, Lisbona F, López-Aliaga I, Barrionuevo M, Hartiti S, Rodríguez-Matas MC et al. The absorption of iron, calcium, phosphorus, magnesium, copper and zinc in the jejunum-ileum of control and iron-deficient rats. *Lab Anim.* 1998; 32:72-79.