

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS “JOSÉ MATAIX VERDÚ”

PROGRAMA DE DOCTORADO EN NUTRICIÓN Y CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS

**Línea de investigación: NUTRICIÓN HUMANA Y EXPERIMENTAL EN SITUACIONES
FISIOLÓGICAS Y PATOLÓGICAS**



UNIVERSIDAD DE GRANADA

**EFFECTO DE LA LECHE DE CABRA FERMENTADA SOBRE LA SALUD
CARDIOVASCULAR DURANTE LA RECUPERACIÓN DE LA
ANEMIA FERROPÉNICA**

**TESIS DOCTORAL
ALBERTO MUÑOZ GARCÍA
2018**

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Alberto Muñoz García
ISBN: 978-84-1306-155-9
URI: <http://hdl.handle.net/10481/55471>

El doctorando D. Alberto Muñoz García y los directores de la tesis

D^a M^a José Muñoz Alférez y D. Javier Díaz Castro:

Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones,

Lugar y fecha: Granada a 21 de noviembre de 2018.

Directores de tesis:

Prof. Dra.

D^a M^a José Muñoz Alférez

Prof. Dr.

D. Javier Díaz Castro

Doctorando:

D. Alberto Muñoz García

D^a M^a José Muñoz Alférez. Catedrática de Fisiología.

Universidad de Granada.

D. Javier Díaz Castro. Profesor Titular de Fisiología.

Universidad de Granada.

CERTIFICAN:

Que los trabajos de investigación que se exponen en la Memoria de Tesis Doctoral: **“Efecto de la leche de cabra fermentada sobre la salud cardiovascular durante la recuperación de la anemia ferropénica”**, han sido realizados bajo nuestra dirección por el Licenciado D. Alberto Muñoz García y la encontramos conforme para ser presentada y aspirar al Grado de Doctor por la Universidad de Granada con el Tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente en Granada a 21 de noviembre de 2018.

Prof. Dra.

D^a M^a José Muñoz Alférez

Prof. Dr.

D. Javier Díaz Castro

AGRADECIMIENTOS

Como todo viaje tiene su destino, al llegar a puerto no queda más remedio que agradecer a todas las personas que de algún modo han participado en esta aventura y cuyo fin espero sea el comienzo de una nueva exitosa etapa en mi vida:

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la doctora D^a M^a José Muñoz Alférez y al doctor D. Javier Díaz Castro por su orientación, dedicación y paciencia a lo largo de la realización de este trabajo.

Agradecer también enormemente al Departamento de Fisiología y al Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix” por haberme permitido trabajar con ellos.

A mis padres, especialmente a mi madre, por su apoyo y presencia incondicional, tanto en buenos como en malos momentos. Gracias por todo. Espero que os sintáis orgullosos de mi esfuerzo, de todas aquellas veces que no pude compartir una comida o una cena pues estaba con mi Tesis. Gracias a mi madre por su infinita paciencia, cariño, comprensión y apoyo, a mi tía Dulce por compartir su conocimiento médico, su inteligencia, su humildad y por apoyarme siempre en mi profesión, y hacerme sentir su alma gemela. A mi abuela Marina, una persona muy especial en mi vida que hace muchos años está conmigo en mi corazón, y a mis ángeles custodios Antonio y Andrés que me querían como se quiere a un hijo y a mi tío José Miguel que siempre creyó en mí.

En general, a todo el personal del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix”, por su ayuda desinteresada y su amabilidad, y a los miembros de mi grupo de investigación. Gracias.

A los directores de los Departamentos de Fisiología y de Nutrición y Bromatología, por toda la ayuda prestada. Gracias.

A las Profesoras M^a Luisa Lorenzo Tovar, M^a Fátima Olea Serrano, y Reyes Artacho Martín-Lagos, por estar siempre ahí, aconsejarme y ser una parte importante de mi formación.

A mis amigos, por las veces que no hemos podido vernos, pues estaba con las ratas.

“Nunca consideres el estudio como una obligación,
sino como una oportunidad para penetrar en el bello y
maravilloso mundo del saber”.

“Una persona que nunca cometió un error nunca
intentó nada nuevo”.

“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la
electricidad y la energía atómica: la voluntad”.

Albert Einstein (1879-1955)

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

[Ca²⁺]_i: Concentración de calcio intracelular.

3DSTE: Ecocardiografía tridimensional de seguimiento de manchas.

8-OHdG: 8- hidroxí 2'-deoxiguanosina.

ACV: Accidente cerebrovascular.

ADE: Amplitud de distribución eritrocitaria.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AEE: Agentes estimulantes de eritropoyesis.

AG: Ácidos grasos.

AID: Absolut Iron-Deficiency, Deficiencia absoluta de hierro.

AIN-93G: Tipo de dieta del AIN (American Institute of Nutrition. Instituto Americano de Nutrición).

AIN: American Institute of Nutrition, Instituto Americano de Nutrición.

Aix: Aortic augmentation index, Índice de aumento aórtico.

AOAC: Association of Official Analytical Chemists, Asociación de Químicos Analíticos Oficiales.

ApoB/A1: Apoproteína B/A1.

ARB: Angiotensin II receptor blockers, bloqueadores del receptor de angiotensina II.

ARN: Ácido Ribonucleico.

ARNcirc: ARN circular.

ARNm: ARN mensajero.

ATP: Adenosin trifosfato.

BMPs: Bone Morphogenetic Proteins, proteínas morfológicas óseas.

C282Y/C282Y: Genotipo de hemocromatosis.

Ca: Calcio.

CAV-1: Caveolin-1, Caveolina 1.

CAV: Caveolina.

CFU/UFC: Colony Forming Units, Unidades Formadoras de Colonias.

CGP: k casein-oglycopeptide, k-casein glicopéptido.

CHH: Concentración de hierro hepático.

CINC-1/GRO/KC: Cytokine-induced neutrophil chemoattractant 1, citokina inducida por los neutrófilos quimioatrayente-1.

CO: Monóxido de carbono.

CTGF: Connective tissue growth factor, factor de crecimiento del tejido conectivo.

Cu: Cobre.

Dcytb: Citocromo duodenal b.

DFO: Deferoxamina.

DFP: Deferiprona.

DFX: Deferasirox.

DMT1: Dimetal Transporter 1, transportador de metales divalentes 1.

EAC: Enfermedad arterial coronaria.

EC: Enfermedad celíaca.

ECA I: Angiotensin converting enzyme I, enzima convertidora de angiotensina I.

ECA: Angiotensin converting enzyme, enzima convertidora de angiotensina.

ECG: Electrocardiograma.

ECV: Enfermedad cardiovascular.

EDTA: Ácido etilendiaminotetracético.

EFSA: European Food Safety Authority, Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

EII: Enfermedad inflamatoria intestinal.

EK: Enfermedad de Kawasaki.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FCM: Carboximaltosa férrica.

FCS: Fetal calf serum, suero fetal de ternera.

Fe-overload: Sobrecarga de hierro.

Fe: Hierro.

FeSO₄: Sulfato de hierro.

FPN: Ferroportina.

FPN1: Ferroportina 1.

Ftl1: Cadena ligera de ferritina.

GABA: Ácido gammaaminobutírico.

GI: Gastrointestinal.

GMP: k casein-glycomacropéptide, k-caseína glicomacropéptide.

GOT (AST): Glutamato-oxalacetato transaminasa.

GPT (ALT): Glutamato piruvato transaminasa.

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno.

HAMP: Gen que codifica a la hepcidina, también péptido antimicrobiano de hepcidina.

HAP: Hipertensión arterial pulmonar.

HCI: Concentración de hierro hepático.

HClO₄: Ácido perclórico.

HCM: Hemoglobina corpuscular media.

HCP1: Heme Carrier Protein 1, proteína transportadora de hemo 1.

Hct: Hematocrito.

HDL: High-density Lipoproteins, Proteínas de Alta Densidad.

HDLC: HDL-colesterol.

HFE: Gen responsable de hemocromatosis en mutaciones.

HFpEF: Fracción de eyección conservada.

HFrEF: Fracción de eyección reducida.

HNO₃: Ácido Nítrico.

HO-1: Hemo-oxigenasa 1.

HO-2: Hemo-oxigenasa 2.

HO-3: Hemo-oxigenasa 3.

Hp: Hepaestina.

Hx: Proteína limpiadora hemopexina.

HYF: Hiperferritinemia.

IAM: Infarto agudo de miocardio.

IC: Insuficiencia cardíaca.

ICAM: Molécula de adhesión intercelular-1.

ICC: Insuficiencia cardíaca crónica.

ICP-OES: Inductively coupled plasma-optical emission spectrometer, espectrómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente.

ID: Iron-deficiency, deficiencia de hierro.

IDA: Iron-deficiency anemia, Anemia por deficiencia de hierro, anemia ferropénica.

IDR o DRI: Ingesta recomendada de hierro, Daily Recommended Iron Intake.

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.

IL-6: Interleucina 6.

Ile: Isoleucil.

IRIDA: Iron-refractory iron deficiency anemia, anemia ferropénica de hierro refractaria.

IV: Intravenoso.

IVIG: Inmunoglobulina intravenosa.

KC: Kupffer cells, células de Kupffer.

LCT: Ácidos grasos saturados de cadena larga.

LDL: Low-density Lipoproteins, Proteínas de baja densidad.

MCP-1: Monocyte chemoattractant protein-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1.

MCT: Ácidos grasos saturados de cadena media y corta.

ME: Músculo esquelético.

Mg: Magnesio.

MiARNs (o miRs): MicroARNs.

MMP: Matrix metalloproteinases, metaloproteinasas de la matriz.

MNPs: Micronutrientes en polvo.

MPO: Myeloperoxidase, mieloperoxidasa.

MRI o IRM: Magnetic Resonance Imaging, Imagen por resonancia magnética.

NAC: N-acetil cisteína.

NAFLD: Enfermedad hepática grasa no alcohólica.

NASH: Esteatohepatitis.

NEFA: Ácidos grasos no esterificados.

NK: Natural killer cells, células naturales asesinas.

NO: Nitric oxide, óxido nítrico.

NP-FePO₄: Fosfato férrico de tamaño nanométrico.

NPs: Nanopartículas.

NTDT: Talasemia no dependiente de la transfusión.

O₂⁻: Superóxido.

OH: Radical hidroxilo.

OMS (WHO): Organización Mundial de la Salud (World Health Organization).

Pair feeding (diets): Alimentación controlada.

PE: Período experimental.

PepT1: Tipo de proteína que actúa sobre el ME.

PNCOCA: Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria.

PPE: Período pre-experimental.

Pro: Prolina.

QTcd: Dispersión QT corregida.

QTd: Dispersión QT.

RANTES: Células T normales expresadas y secretadas.

RNI: Porcentaje de nutrientes recomendado.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

s-E-Selectina: Selectina E soluble.

SCD: Segmented-array charge-coupled device, dispositivo de acoplamiento de carga de matriz segmentada.

SEC: Cromatografía de exclusión de tamaño.

sICAM-1: Soluble intercellular adhesion molecule 1, molécula de adhesión intercelular soluble 1.

STE: Ecografía de localización de manchas.

sTfR: Receptor soluble de transferrina.

sVCAM-1: Molécula de adhesión a células vasculares soluble 1.

sVEGFR1: Receptor soluble 1 del VEGF.

sVEGFR2: Receptor soluble 2 del VEGF.

T2* MRI: Imagen por Resonancia Magnética T2*.

TAS: Estado antioxidante total.

TCMH: Trasplante de células madre hematopoyéticas.

TDAH: Trastorno de déficit de atención/hiperactividad.

TDI: Ecografía Doppler.

Tf: Transferrina.

TfR1: Receptor de transferrina 1.

TIBC: Total Iron-binding capacity, capacidad total de fijación de hierro.

TIMP-1: Metallopeptidase inhibitor 1, inhibidor de la metalopeptidasa 1.

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

TNFR-I: Receptor soluble del TNF alfa tipo I.

TNFR-II: Receptor soluble del TNF alfa tipo II.

tPAI-1: Inhibitor of tissue plasminogen activator 1 total, inhibidor del activador del plasminógeno tisular total 1.

Tsat: Índice de saturación de transferrina.

UCP1: Uncoupled protein 1, proteína de desacoplamiento 1.

uPA: Urokinase-type plasminogen activator, activador del plasminógeno tipo uroquinasa.

Val: Valina.

VCAM: Molécula de adhesión a células vasculares.

VCE: Video Cápsula Endoscópica.

VCM: Volumen corpuscular medio.

VEGF: Vascular endothelial growth factor, factor de crecimiento endotelial vascular.

VEGFR1: Receptor de membrana 1 del VEGF.

VEGFR2: Receptor de membrana 2 del VEGF.

ZIP14: Proteína 14 de tipo ZRT/IRT.

ZIP8: Proteína 8 de tipo ZRT/IRT.

Zn: Zinc.

ÍNDICE

ÍNDICE

1	OBJETO.....	27
2	ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	31
2.1	EL HIERRO EN LA NUTRICIÓN HUMANA	31
2.1.1	Introducción	31
2.1.2	Fuentes alimentarias de hierro y biodisponibilidad.....	31
2.1.3	Funciones del hierro	33
2.1.4	Metabolismo del hierro	34
2.1.4.1	Requerimientos.....	34
2.1.4.2	Absorción	37
2.1.4.3	Distribución y captación celular.....	39
2.1.4.4	Metabolización	39
2.1.4.5	Depósitos de hierro en el organismo	39
2.1.4.6	Eliminación	40
2.1.4.7	Regulación homeostática del balance de hierro	40
2.1.4.7.1	Papel de la hepcidina en la regulación sistémica de hierro	41
2.2	ANEMIA FERROPÉNICA	43
2.2.1	Causas	43
2.2.2	Consecuencias	44
2.2.3	Tratamiento	46
2.3	HIERRO Y SALUD CARDIOVASCULAR.....	57
2.3.1	DEFICIENCIA DE HIERRO Y SALUD CARDIOVASCULAR.....	59
2.3.2	SOBRECARGA DE HIERRO Y SALUD CARDIOVASCULAR.....	75
2.4	BIOMARCADORES DE SALUD CARDIOVASCULAR.....	87
2.5	LECHE DE CABRA. COMPOSICIÓN	98
2.5.1	Grasa	98

2.5.2	Hidratos de carbono	100
2.5.3	Proteínas.....	101
2.5.4	Vitaminas y minerales.....	102
2.6	LECHE DE CABRA Y SALUD CARDIOVASCULAR.....	104
2.7	LECHES FERMENTADAS	109
2.7.1	Introducción	109
2.7.2	Leche de cabra fermentada.....	115
2.7.3	Leche de cabra fermentada y efectos sobre la salud.....	117
3	MATERIAL Y MÉTODOS.....	125
3.1	DISEÑO EXPERIMENTAL	125
3.2	FERMENTACIÓN Y DESHIDRATACIÓN DE LAS LECHES	127
3.3	DIETAS ENSAYADAS	127
3.4	CONTENIDO TOTAL DE NITRÓGENO, MATERIA SECA, CENIZAS, GRASA TOTAL, LACTOSA Y MINERALES.....	129
3.5	TEST HEMATOLÓGICO.....	136
3.6	HIERRO SÉRICO, CAPACIDAD TOTAL DE FIJACIÓN HIERRO (TIBC) Y SATURACIÓN DE TRANSFERRINA (TSAT).....	136
3.7	FERRITINA SÉRICA	137
3.8	HEPCIDINA SÉRICA.....	137
3.9	PARÁMETROS DE SALUD CARDIOVASCULAR	137
3.10	ESTADÍSTICA.....	139
4	TABLAS Y FIGURAS.....	143
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	165
5.1	PERÍODO PREEXPERIMENTAL	165
5.2	PERÍODO EXPERIMENTAL.....	165
5.2.1	Parámetros hematológicos.....	165
5.2.2	Parámetros relacionados con la enfermedad cardiovascular	166
5.2.2.1	Efecto de la anemia	167
5.2.2.2	Efecto de la sobrecarga de hierro	168

5.2.2.3 Efecto de la dieta	168
6 RESUMEN Y CONCLUSIONES	177
7 BIBLIOGRAFÍA.....	183

OBJETO

1 OBJETO

La deficiencia de hierro (ID) es uno de los factores de riesgo de mortalidad en todo el mundo y de comorbilidad en pacientes con insuficiencia cardíaca (IC), debido a que tiene consecuencias adversas en el corazón y en los vasos sanguíneos, órganos con altas demandas de energía. Las mayores reservas de hierro también se han asociado positivamente con los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV).

El estado inflamatorio que caracteriza a varias enfermedades crónicas se considera responsable de la alteración de la absorción, el almacén y la liberación de hierro de las reservas corporales. Además, en pacientes con ECV, la hepcidina circulante es extremadamente baja, lo que sugiere que la ID observada en el curso de esta enfermedad es consecuencia de los depósitos de hierro agotados en el organismo.

Un estilo de vida más saludable podría controlar en parte los factores de riesgo cardiovascular. En este sentido, se ha sugerido que el consumo de productos lácteos puede mejorar las características del síndrome metabólico, que tiene un papel clave en la ECV. Previamente, nuestro grupo de investigación ha demostrado que el consumo habitual de leche de cabra tiene efectos positivos sobre la composición y secreción biliar, reduciendo los niveles de transaminasas y triglicéridos y estimulando la excreción de colesterol a través de la bilis, lo que conduce a un perfil lipídico cardiovascular más saludable. Además, nuestro grupo mostró que el consumo de leche de cabra fermentada presenta efectos beneficiosos en la ID por aumentar las proteínas clave del metabolismo intestinal del hierro, mejorar la utilización digestiva y metabólica del hierro, aumentar los depósitos de hierro en los órganos diana y favorecer la recuperación de los parámetros hematológicos. Finalmente, también hemos comprobado que el consumo de leche de cabra fermentada induce un efecto protector en los tejidos, aumentando el estado antioxidante total y disminuyendo los biomarcadores de daño oxidativo, protegiendo los principales componentes biológicos celulares (lípidos, proteínas, prostaglandinas y ADN) del daño oxidativo provocado durante la

recuperación de la anemia, y es bien sabido que el estrés oxidativo es uno de los desencadenantes principales para desarrollar la ECV.

Sin embargo, a pesar del papel de la ID en la ECV, hasta el momento, ningún estudio ha estudiado directamente el efecto de la leche fermentada en la salud cardiovascular durante la recuperación de la anemia.

Teniendo en cuenta todas estas consideraciones, el objetivo de este estudio fue contribuir a una mejor comprensión de la influencia de la ID y de la recuperación en la fisiología del sistema cardiovascular, estudiando cómo el consumo de leche fermentada de cabra o vaca afecta a la salud cardiovascular durante la repleción de hierro en situación de anemia ferropénica nutricional.

ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

2 ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

2.1 EL HIERRO EN LA NUTRICIÓN HUMANA

2.1.1 Introducción

El hierro es un elemento traza esencial para el ser humano. A pesar de encontrarse en cantidades mínimas en el organismo, participa en numerosos procesos biológicos indispensables para la vida, como el transporte y el almacenamiento de oxígeno, la fosforilación oxidativa, el metabolismo de neurotransmisores y la síntesis de ADN y ARN.

El hierro es el cuarto elemento y el segundo metal más abundante en la corteza terrestre. Este elemento presenta tres estados de oxidación: Fe^0 (hierro metálico), Fe^{+2} (ferroso) y Fe^{+3} (férrico). Pertenece a los elementos de transición, ya que tiene la capacidad de aceptar y donar electrones fácilmente, intercambiando de la forma férrica y ferrosa. Estos estados redox le permiten ser cofactor de enzimas, pero también le proporcionan características tóxicas cuando se encuentra en exceso. El hierro libre puede generar radicales libres a través de la reacción de Fenton, que dañan los componentes biológicos esenciales, como lípidos, proteínas y ADN (Aisen et al., 2001).

2.1.2 Fuentes alimentarias de hierro y biodisponibilidad

Las necesidades nutricionales del hierro en los seres vivos derivan del papel fundamental que ejerce en el metabolismo energético celular. Sin embargo, su accesibilidad se ve mermada puesto que su forma química predominante (Fe^{3+}) posee una baja solubilidad. En los alimentos se encuentra en dos formas diferentes, hierro hemo y no hemo, las cuales siguen distintas rutas de absorción con diferente eficiencia

que depende de diversos factores tanto fisiológicos como dietéticos. Estos factores actúan, por tanto, aumentando o disminuyendo la proporción de hierro de un alimento o de una dieta que es utilizada en el metabolismo, es decir, su biodisponibilidad (Martínez et al., 1999).

Según Farran et al., (2004), las fuentes alimentarias son:

- ✚ Las principales fuentes de hierro de origen animal son las carnes, en especial el hígado (de cerdo, cordero, pollo y, algo menos, ternera); entre los productos cárnicos elaborados que destacan por su gran contenido en hierro está la morcilla. Cuando comparamos el contenido en hierro entre los mariscos destacan los berberechos y las almejas. Los huevos tienen algo menos. El pescado no es muy rico en hierro, está alrededor del 0.5 a 1 mg de hierro por 100 gr de porción comestible. En cuanto a la leche y sus derivados son muy pobres en hierro. La leche materna contiene algo más de hierro que la de vaca, y la leche de cabra algo más que la de vaca.
- ✚ Entre las fuentes de origen vegetal, destacan las legumbres y los frutos secos oleaginosos en porcentajes elevados de hierro, incluso mayores que los de las carnes (pero su absorción es menor). De las legumbres destacan la soja, la lenteja y el garbanzo. En cuanto a los frutos secos mencionar el pistacho y las pipas de girasol. Condimentos con una importante composición de hierro, sobresalen, el pimentón, la pimienta y el perejil.

La biodisponibilidad de un nutriente o componente de un alimento se entiende como la proporción del mismo que es digerida, absorbida y finalmente se utiliza para funciones metabólicas normales. Es importante tener en cuenta que dicho nutriente debe estar también disponible para ser transportado a los lugares de acción o a sus reservorios corporales según el metabolismo normal del mismo (Toxqui et al., 2010). Dado que el proceso digestivo constituye el principal regulador fisiológico del hierro corporal y que una vez absorbido los mecanismos para excretarlo son ineficaces, los componentes de los alimentos que afectan su solubilidad y transporte intestinal, modificarán su biodisponibilidad. El conocimiento de dichos factores, estimuladores o inhibidores,

puede ser muy útil para los pacientes que sufren trastornos del metabolismo del hierro, bien por deficiencia o por sobrecarga.

2.1.3 Funciones del hierro

El hierro es un mineral vital para el ser humano (Conrad y Umbreit, 2002; Nadadur et al., 2008). Participa en múltiples procesos metabólicos, ya que se encuentra como componente de enzimas y otros complejos moleculares (Conrad y Umbreit, 2000; Nadadur et al., 2008). Dentro de sus funciones principalmente se pueden mencionar: 1) transporte de oxígeno a través de la hemoglobina; 2) síntesis de ADN, al formar parte de la enzima ribonucleotido reductasa; y 3) transporte de electrones, por tener la capacidad de aceptarlos y donarlos (Conrad y Umbreit, 2000; West y Oates; 2008).

El papel del hierro en la función del sistema nervioso es muy importante. El hierro parece intervenir en la síntesis, degradación y almacenamiento de neurotransmisores, serotonina, dopamina y ácido gammaaminobutírico (GABA). La distribución del GABA y la dopamina coincide aproximadamente con la de este metal, y se ha sugerido que debe existir alguna participación del hierro en las funciones dopaminérgicas y gabaminérgicas (Suárez et al., 1985).

El recambio cerebral del hierro es muy lento; por lo tanto, las deficiencias producidas en etapas tempranas de la vida son muy difíciles de corregir y tienden a persistir (Suárez et al., 1985). Además, el hierro es imprescindible para la mielinización. El oligodendrito, responsable de la producción de mielina, es el tipo de célula que predominantemente contiene hierro en el cerebro (Suárez et al., 1985; Guyton y Hall, 2006). También se ha relacionado la influencia de este mineral en el hipocampo y áreas de memoria. De hecho muchas enfermedades degenerativas cerebrales como Parkinson o demencia, parecen tener su origen en alteraciones del metabolismo del hierro (Friedman et al., 2006; Koziorowski et al., 2007; Oakley et al., 2007).

Otros aspectos menos estudiados relacionan la falta de hierro con alteraciones hepáticas como las colelitiasis (Fiel y Schiano, 2009). Muy posiblemente en estas

alteraciones está implicada la 7-alfa-hidroxilasa de colesterol, enzima dependiente de hierro y ligada al sistema de los citocromos (Pikuleva, 2006), que interviene en la transformación de colesterol a ácido cólico (Lehninger et al., 2001).

Así mismo, se ha correlacionado la falta de hierro con la Pica, trastorno de la conducta alimentaria del que aún se conoce muy poco. Ésta se define como el consumo constante e inadecuado de sustancias no nutritivas durante un período de por lo menos un mes. Aunque la causa de la Pica aún sea desconocida, algunos estudios epidemiológicos y clínicos la relacionan con la falta de hierro y zinc. Se dice que su origen radica en que la carencia de dichos minerales, tiene como respuesta una conducta secundaria del organismo a dichas necesidades. Se ha descrito Pica y déficit de hierro en mujeres embarazadas, niños y personas con pérdidas sanguíneas digestivas, entre otros. Se ha visto que la administración de hierro resuelve la Pica en muchos casos, incluso antes de verse corregida la anemia. El poco conocimiento de dicho trastorno hace que actualmente sea objeto de estudio por parte de antropólogos, geógrafos, pediatras, ginecólogos, hematólogos, psiquiatras, psicólogos y nutricionistas (Viguria Padilla y Miján de la Torre, 2006).

Todos estos datos, demuestran la importancia del hierro en numerosas funciones orgánicas, siendo imprescindible para la función cognitiva y el rendimiento físico, lo que explica el reciente interés en las posibles repercusiones de la ID en el rendimiento académico de adolescentes y en la productividad laboral de las mujeres (Toxqui et al., 2010).

2.1.4 Metabolismo del hierro

2.1.4.1 Requerimientos

La ID es uno de los problemas nutricionales más comunes en el mundo. Es frecuente tanto en países desarrollados como en desarrollo y afecta principalmente a mujeres en edad fértil y niños. Por lo tanto, existe la necesidad de definir una ingesta estándar de referencia dietética para determinar la ingesta inadecuada de hierro en la

población española (Samaniego-Vaesken et al., 2017). Valores obtenidos para dos criterios diagnósticos sobre el consumo de ingesta recomendada de hierro (IDR): valores de referencia dietéticos de hierro por la EFSA, (2015) e ingestas dietarias de hierro recomendadas para la población española revisadas por Moreiras et al., (2015), como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingestas dietéticas recomendadas (IDR) (Moreiras et al., 2015; EFSA, 2015).

Grupo de Edad (Años)	Moreiras et al., (2015)	EFSA, (2015)
	Fe (mg/Día)	Fe (mg/Día)
Hombres		
9	9	11
10	12	11
11	12	11
12	12	11
13-17	15	11
18-19	15	11
20-49	10	11
50-59	10	11
≥60	10	11
Mujeres		
9	9	11
10	18	11
11	18	11
12	18	13
13-17	18	13
18-19	18	16
20-49	18	16 ^a
50-59	10	16 ^a
≥60	10	11

^a Para mujeres postmenopáusicas, la Ingesta Recomendada de Hierro (IDR) es la misma que para las mujeres ≥60 años.

La nutrición óptima del hierro en el útero es esencial para el desarrollo del feto y ayuda a establecer las reservas del hierro del nacimiento adecuadas para mantener el crecimiento en la primera infancia. En las especies con placentas hemocoriales, como los humanos y los roedores, el hierro en la circulación materna se transfiere al feto por contacto directo con los sincitiotrofoblastos placentarios. Los primeros estudios

cinéticos proporcionaron valiosos datos sobre la absorción inicial de la transferrina (Tf) materna, una proteína que se une al hierro, por la placenta. Sin embargo, los pasos restantes del tráfico de hierro a través de sincitiotrofoblastos y a través del endotelio fetal en la sangre fetal siguen estando mal caracterizados. En los últimos 20 años, la identificación de los transportadores de hierro transmembrana y la hormona reguladora de hierro hepcidina ha ampliado enormemente el conocimiento del transporte del hierro celular y su regulación por el estado general del hierro sistémico. Además, los datos emergentes de humanos y animales que demuestran que contienen reservas de hierro fetal en deficiencia severa de hierro materno desafían el dogma clásico de control fetal exclusivo sobre el proceso de transferencia e indican que las señales materna y local pueden jugar un papel en la regulación de este proceso. Esta revisión (Cao y Fleming, 2016) recoge datos actuales sobre los aspectos cinéticos moleculares y regulatorios del transporte de hierro placentario y considera nuevas interrogantes y brechas de conocimiento planteadas por estos avances (Fig. 1).

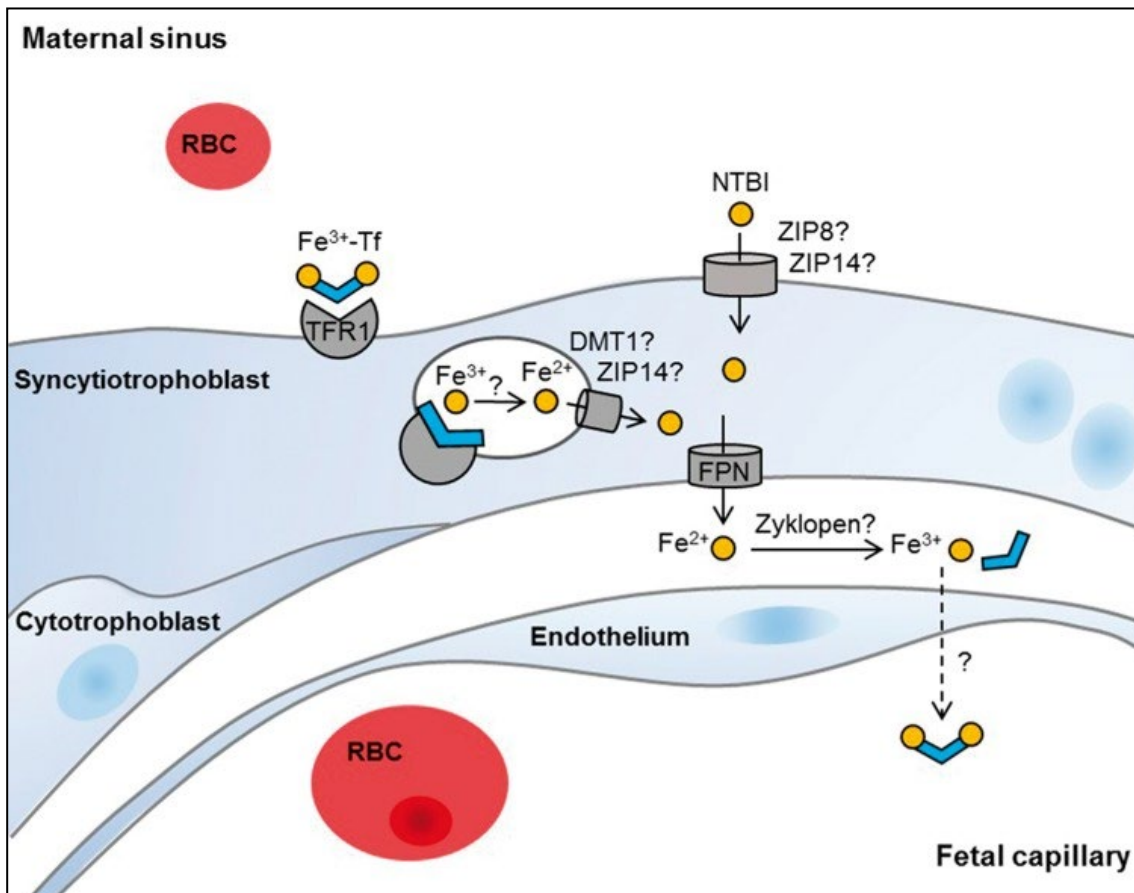


Figura 1. Mecanismos de transporte de hierro a través de la placenta humana (Cao y Fleming, 2016).

2.1.4.2 Absorción

En las células del epitelio intestinal o enterocitos duodenales, tiene lugar la mayor parte de la absorción del hierro (Fig. 2) (Suárez et al., 1985; Lynch, 1998).

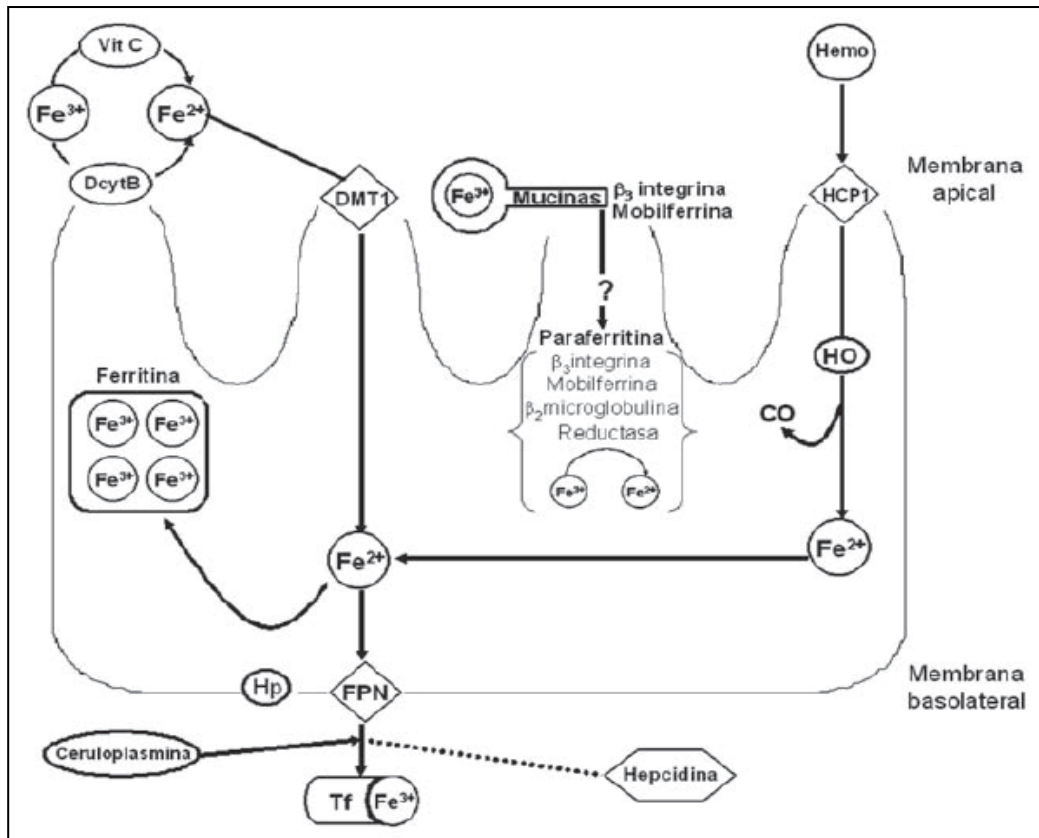


Figura 2. Absorción del hierro en el enterocito (Toxqui et al., 2010).

Para la absorción del hierro no-hemo, es preciso que éste se encuentre en una forma soluble, siendo el Fe^{2+} más soluble que el Fe^{3+} . El hierro ferroso se absorbe utilizando el transportador de metales divalente (Dimetal Transporter 1, DMT1), que se encuentra en el borde de cepillo de la membrana apical del enterocito y es el encargado de transportarlo a su interior (Darshan y Anderson, 2007; Ganz, 2007; Sharp y Srail, 2007). El hierro férrico, puede transformarse a ferroso, por acción de una serie de componentes reductores de los alimentos (ácido ascórbico, aminoácidos, etc) o bien a través de la acción de una proteína que se expresa en la membrana apical, llamada citocromo duodenal b (Dcytb), cuya función es reducir el metal (Darshan y Anderson, 2007; Ganz, 2007; Sharp y Srail, 2007; Mckie, 2008).

Algunos autores proponen que el hierro férrico se absorbe en el enterocito por un mecanismo distinto a la reducción previa y transporte vía DMT1. En este modelo, el hierro férrico, sería liberado del alimento en el ambiente ácido hacia del estómago y quelado por mucinas en la superficie del borde de cepillo, manteniendo el hierro en su forma férrica. El Fe^{3+} atravesaría la membrana apical del enterocito al interactuar con la β_3 -integrina y la mobilferrina. Una vez en el citosol, este complejo se combinaría con una reductasa, la flavina monooxigenasa, y la β_2 -microglobulina para formar un gran conglomerado conocido como paraferitina, resultando la reducción del hierro absorbido de la forma férrica a la forma ferrosa. Hay evidencia que sugiere que el complejo de paraferitina contiene DMT1, que permite la entrada del hierro Fe^{2+} a los orgánulos intracelulares. El hierro en forma ferrosa podría almacenarse en forma de ferritina (Fig. 2) (Conrad y Umbreit, 2002; Sharp y Srail, 2007).

Por su parte, el hierro hemo se absorbe por un sistema diferente (Fig. 2). Se ha identificado una proteína de la membrana apical de la célula del epitelio intestinal, denominada proteína transportadora de hemo (Heme Carrier Protein 1, HCP1) como posible transportador del hierro hemo (Darshan y Anderson, 2007; Sharp y Srail, 2007). Una vez dentro del enterocito, la hemo-oxigenasa 1 (HO-1) y sus homólogos HO-2 y HO-3 son las encargadas de romper la molécula de hierro para liberar Fe^{2+} (Papanikolau y Pantopoulos, 2005; Darshan y Anderson, 2007; Sharp y Srail, 2007). La reacción también genera monóxido de carbono (CO), que está involucrado en vías de señalización, y biliverdina, que se convertirá enzimáticamente en el antioxidante bilirrubina (Papanikolau y Pantopoulos, 2005).

Una vez dentro del enterocito, el hierro puede almacenarse en forma de gránulos de ferritina (como Fe^{3+}) que se eliminan por descamación, o bien ser exportado a la circulación por la acción combinada de una reductasa denominada hepaestina (Hp) y una proteína transportadora de la membrana basolateral denominada ferroportina (FPN) (Darshan y Anderson, 2007). El hierro ferroso debe ser oxidado a férrico, mediante la ceruloplasmina, y así se une a la Tf, la cual distribuye el metal por todo el cuerpo para su utilización y almacenamiento (Darshan y Anderson, 2007; Ganz, 2007; Sharp y Srail, 2007).

2.1.4.3 Distribución y captación celular

Se sabe que pocas proteínas transmembrana de mamíferos transportan hierro en condiciones fisiológicas. El DMT1, la proteína 8 de tipo ZRT/IRT (ZIP8) y la ZIP14 actúan como importadores celulares de Fe^{2+} y se han caracterizado funcionalmente (Pinilla-Tenas et al., 2011; Illing et al., 2012; Wang et al., 2012). El DMT1 transporta el hierro de manera óptima a un pH ácido pero la ZIP8 y la ZIP14 a un pH fisiológico neutro. El único exportador celular de hierro de mamíferos es la FPN, que funciona de manera óptima a pH 7.4-8.0, cerca del pH del fluido extracelular. La FPN probablemente transporta Fe^{2+} (Mitchell et al., 2014).

2.1.4.4 Metabolización

La regulación del metabolismo del hierro en los sistemas biológicos se centra en proporcionar hierro adecuado para la función celular mientras que limita la toxicidad del hierro. Debido a que los mamíferos no pueden excretar hierro, los mecanismos han evolucionado para controlar la adquisición del hierro, el almacenamiento y su distribución a nivel sistémico y celular. La hepcidina, el regulador principal de la homeostasis del hierro, controla los flujos de hierro al plasma a través de la inhibición del único ferroportin exportador del hierro conocido. La hepcidina está regulada por realimentación por el estado del hierro y fuertemente modulada por la inflamación y la demanda eritropoyética (Coffey y Ganz, 2017).

2.1.4.5 Depósitos de hierro en el organismo

Un adulto promedio sano contiene un total de 3-4 g de hierro corporal (40-50 mg por kg de peso corporal), del cual aproximadamente un 50 % se encuentra en forma de hemoglobina, 25 % como reserva hepática (ferritina), y el resto está constituido por las mioglobinas y proteínas que contienen hierro en su estructura (Conrad y Umbreit, 2002; Nadadur et al., 2008).

El hierro absorbido se almacena en forma de ferritina o se utiliza para formar hemoproteínas (hemoglobina, mioglobina, citocromos, etc). El exceso de hierro se deposita intracelularmente como ferritina y hemosiderina en el sistema retículo endotelial del hígado, bazo y médula ósea. Cada día, se movilizan de 20 a 30 mg de hierro que proviene de la destrucción de los eritrocitos por el sistema retículo endotelial. El hierro se reutiliza, predominando cuantitativamente su incorporación a los precursores de eritrocitos de la médula ósea. Una pequeña cantidad se pierde por la orina y el sudor. Un promedio de 0.5 a 2 mg diarios se eliminan a través de pérdidas sanguíneas, secreciones intestinales y de la continua exfoliación de células epiteliales (Conrad y Umbreit, 2000; Sharp y Srai, 2007), por lo que la ingesta dietética debe ser la adecuada para mantener la homeostasis del micronutriente (Sharp y Srai, 2007). La Tabla 1 muestra las ingestas recomendadas de hierro.

2.1.4.6 Eliminación

En humanos, no existe un mecanismo eficiente para la eliminación de este micronutriente, una vez absorbido se reutiliza de forma bastante eficaz, de forma que la absorción está regulada por las demandas metabólicas. Así, cuando las reservas de hierro están disminuidas o cuando hay un incremento en la demanda de eritropoyesis, hay una mayor absorción (Conrad y Umbreit, 2002; Darshan y Anderson, 2007; Sharp y Srai, 2007).

2.1.4.7 Regulación homeostática del balance de hierro

Un adulto requiere de aproximadamente 25 mg de hierro al día. La mayor parte de este hierro se obtiene a través del reciclaje de los eritrocitos senescentes por los macrófagos retículo endoteliales, mientras que se obtiene una pequeña cantidad (1-2 mg) a través de la absorción en la dieta. El hierro circula en plasma unido a Tf. El excedente de hierro se almacena principalmente en los complejos de ferritina en el hígado y en los macrófagos retículo endoteliales. Para satisfacer la demanda de hierro,

evitando el daño oxidativo que puede resultar del exceso de hierro libre, el equilibrio de hierro sistémico debe ser estrictamente regulado (Ganz y Nemeth, 2012).

2.1.4.7.1 Papel de la hepcidina en la regulación sistémica de hierro

La hepcidina es una proteína plasmática de 20-25 aminoácidos, considerada actualmente una hormona del hierro, proveniente de un precursor de mayor tamaño, que reduce la absorción intestinal de hierro al tiempo que impide su liberación excesiva de los macrófagos (Weinstein et al., 2002; Papanikolaou et al., 2004; Ganz, 2007; Piperno et al., 2009).

El gen que codifica la hepcidina (HAMP), se expresa y secreta en el hepatocito (Darshan y Anderson, 2007; Ganz, 2007), aunque hay evidencia de que también se expresa en corazón, riñón y tejido adiposo, páncreas, células hematopoyéticas, monocitos y macrófagos. Sin embargo, la relevancia biológica de la hepcidina extrahepática aún es objeto de intensa investigación (Piperno et al., 2009).

Mutaciones en el gen HAMP en humanos generan enfermedad por sobrecarga severa de hierro (Piperno et al., 2009). Una completa deficiencia de hepcidina causa hemocromatosis juvenil, teniendo lugar una excesiva absorción de hierro dietético a pesar de las reservas excesivas del metal (Ganz, 2007). Por el contrario, una expresión incrementada induce una anemia por deficiencia en la absorción de hierro a pesar de una dieta normal o rica en hierro (Ganz, 2007; Piperno et al., 2009).

El mecanismo de acción de la hepcidina en la absorción se ejerce mediante la unión al transportador FPN, causando su internalización y degradación lisosomal (Ganz, 2007; De Domenico et al., 2008; Piperno et al., 2009), lo que impide el transporte basolateral del hierro (Ganz, 2007).

La síntesis de hepcidina es estimulada por las reservas y los niveles plasmáticos de hierro (Fig. 3), así como por la inflamación a través de citoquinas (TNF- α , IL-6). Por el contrario, la expresión de la hepcidina es inhibida por la actividad eritropoyética, para

asegurar que las concentraciones de hierro plasmático extracelular y las reservas se mantienen estables, a la vez que la demanda eritropoyética de hierro está cubierta (Ganz, 2007; De Domenico et al., 2008).

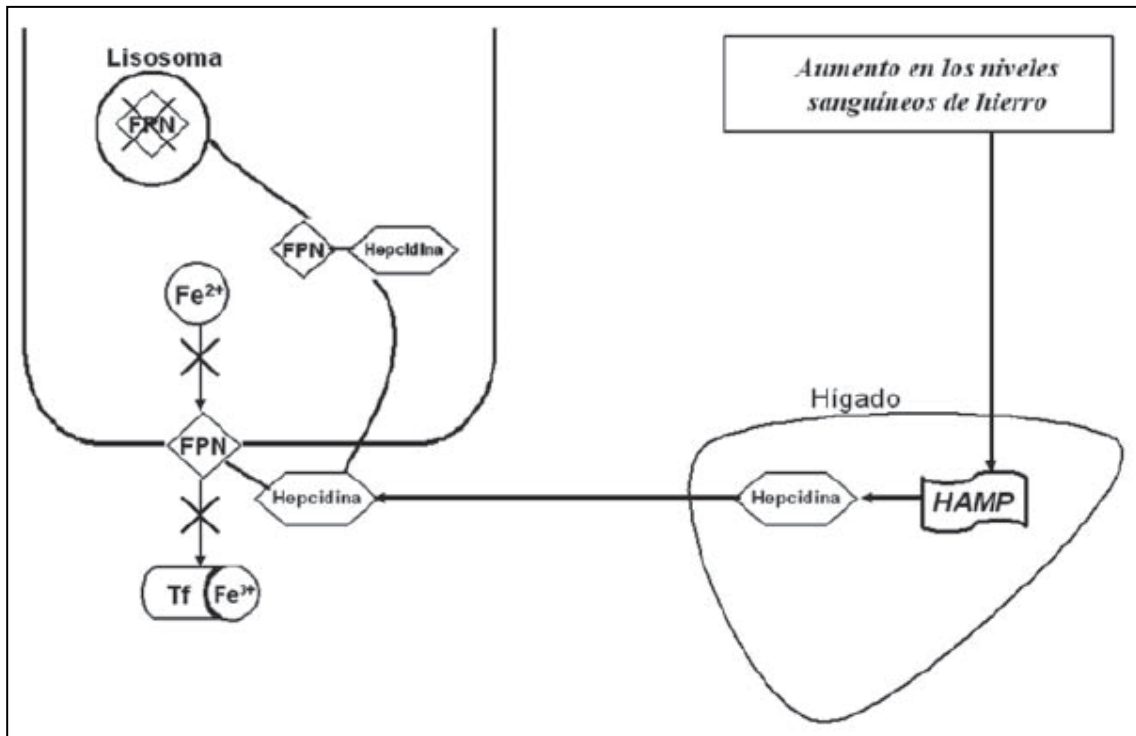


Figura 3. Regulación del metabolismo del hierro a través de la hepcidina (Toxqui et al., 2010).

La hormona peptídica hepcidina es un controlador clave de la homeostasis sistémica del hierro, y su expresión en el hígado está regulada principalmente por proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), que son proteínas que se unen a la heparina. De hecho, las heparinas son fuertes supresores de la expresión de hepcidina en líneas celulares hepáticas que actúan inhibiendo la fosforilación de proteínas SMAD1/5/8 provocadas por las BMP. El efecto inhibitorio de las heparinas se ha demostrado en células y en ratones, donde las inyecciones subcutáneas de heparinas no anticoagulantes inhibieron la expresión hepcidina hepática y aumentaron la biodisponibilidad de hierro. Las características químicas para la actividad anti-hepcidina alta *in vitro* e *in vivo* incluyen la sulfatación 20 y 60 y un peso molecular por encima de 7kDa. Se ha encontrado que las heparinas más potentes son las super-sulfatadas, activas en la supresión de la hepcidina con un peso molecular tan bajo como 4 kDa. Además, se ha descubierto que la alteración de heparán sulfatos endógenos produce una reducción en la expresión de hepcidina *in vitro* e *in vivo*, lo que indica que las heparinas actúan

interfiriendo con la interacción entre las BMP y los componentes del complejo implicados en la activación de la vía BMP/SMAD1/5/8 (Poli et al., 2017). La heparina interfiere con la vía BMP6/SMAD de la regulación de la hepcidina, actuando como un supresor fuerte. La actividad es también evidente in vivo en modelos animales y las heparinas no anticoagulantes son antagonistas de heparina prometedoras que pueden usarse para tratar estados con un exceso de hepcidina, tal como la anemia de enfermedad crónica, también conocida como anemia de inflamación, que es la forma más frecuente de anemia en los pacientes hospitalizados y la anemia ferropénica de hierro refractaria (IRIDA), relacionada principalmente con las variaciones genéticas del gen *Tmprss6*. La comprensión de cómo la heparina y los sulfatos de heparán participan en el mecanismo de las vías BMP/SMAD está emergiendo, pero espera clarificación de otros estudios.

2.2 ANEMIA FERROPÉNICA

2.2.1 Causas

Según la OMS, la ID y la anemia ferropénica son muy frecuentes y constituyen un problema de salud pública de orden mundial, siendo la deficiencia nutricional con más prevalencia en el mundo y la principal causa de anemia incluso en los países desarrollados. Aunque el hierro es un nutriente esencial para el ser humano un exceso en el organismo implica una amenaza para células y tejidos (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005). En numerosas enfermedades, genéticas o adquiridas, se puede producir acumulación de hierro: hemocromatosis, anemia sideroblástica y ciertas anemias hemolíticas, talasemia mayor, transfusiones sanguíneas frecuentes, causas iatrogénicas como administración de tratamientos prolongados con hierro para algunas anemias, hepatopatías crónicas, hemodiálisis crónica, sobrecarga dietética, etc.

En condiciones fisiológicas, el hierro extracelular se encuentra ligado a la Tf, que además de transportar el hierro a través del plasma, lo mantiene soluble y “prácticamente” no-tóxico, por no ser capaz de llevar a cabo las reacciones de Fenton y Haber-Weiss. En situaciones de sobrecarga de hierro, se satura la capacidad de unión

con la Tf. Así, el hierro no ligado a Tf, se internaliza en tejidos, a través de mecanismos poco definidos que originan daño celular (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005). La toxicidad del hierro se basa en la química de Fenton y de Haber-Weiss (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005). Un incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno, que va más allá de la capacidad antioxidante del organismo, ocasionando estrés oxidativo, se puede encontrar en ciertas situaciones patológicas como inflamación crónica, y en general las ECVs.

2.2.2 Consecuencias

La IDA rara vez causa la muerte pero el impacto en la salud humana es significativo (Miller, 2013).

La ID es una condición en la que hay una insuficiencia del mismo para mantener la función normal de los tejidos y órganos. Se pueden diferenciar tres etapas en el desarrollo de la misma: 1) agotamiento de las reservas de hierro, 2) disminución del hierro disponible para eritropoyesis y 3) agotamiento de las proteínas y enzimas que contienen y funcionan con hierro (Tussing-Humphreys et al., 2012).

El grupo hemo es un complejo de hierro y el tetrapirrol protoporfirina IX con funciones esenciales en organismos aeróbicos. Es el grupo protésico de hemoproteínas como la hemoglobina y la mioglobina, que son cruciales para la unión y el transporte reversibles del oxígeno. Por el contrario, altos niveles de hemo libre, que pueden ocurrir en diversas condiciones fisiopatológicas, son tóxicos a través de efectos pro-oxidantes, proinflamatorios y citotóxicos. La toxicidad del hemo juega un papel importante para la patogénesis de los trastornos hemolíticos prototípicos incluyendo la anemia falciforme y la malaria. Por otra parte, hay una apreciación cada vez mayor de que los efectos perjudiciales del hemo también pueden estar implicados críticamente en enfermedades como la sepsis severa y la aterosclerosis. En los mamíferos la homeostasis del hemo y su potencial toxicidad están controladas principalmente por dos sistemas fisiológicos. En primer lugar, la proteína limpiadora hemopexina (Hx) se une no covalentemente al hemo extracelular libre con alta afinidad y atenúa la toxicidad del hemo en el plasma.

En segundo lugar las oxigenasas hemo (HOs), en particular la isoenzima HO inducible, HO-1, pueden proporcionar citoprotección antioxidante a través de la degradación enzimática del hemo intracelular. Todo esto resume los conocimientos actuales sobre el papel fisiopatológico del grupo hemo para diversas enfermedades como se demuestra en modelos animales experimentales y en seres humanos (Immenschuh et al., 2017).

El hierro es un mineral vital para el ser humano (Conrad y Umbreit, 2002; Nadadur et al., 2008). Dentro de sus funciones principales se pueden mencionar: transporte de oxígeno a través de la hemoglobina; síntesis de ADN, al formar parte de la enzima ribonucleótido reductasa; y transporte de electrones, por tener la capacidad de aceptarlos y donarlos (Conrad y Umbreit, 2000; West y Oates, 2008).

Por lo general, la anemia es de instauración lenta y progresiva, por lo que suele ser bien tolerada, sobre todo en pacientes jóvenes, y muchas veces es un hallazgo casual. Existen otros síntomas que generalmente sólo aparecen ante un proceso muy prolongado y que, actualmente, sólo se ven raramente: pica (deseo irresistible de comer o lamer sustancias no nutritivas, como tierra o tiza, específica de la ferropenia) y pagofagia (deseo compulsivo de comer hielo), trastornos tróficos epiteliales (caída del cabello, coiloniquia, glositis atrófica, estomatitis angular), disfagia (síndromes de Plummer-Vinson o de Paterson-Kelly), escleróticas azules, “beeturia” (orina roja tras la ingesta de remolacha), infecciones de repetición, etc. (González de Villambrosia et al., 2012).

Según González de Villambrosia et al., (2012), la ID provoca los siguientes cambios en los índices hematológicos:

- ✚ Ferritina sérica: Es un excelente indicador de la reserva de hierro en adultos sanos, habiendo sustituido al estudio de médula ósea como prueba estándar para el diagnóstico de déficit de hierro. La concentración de ferritina varía entre los 40 y 200 ng/mL en los sujetos sanos, y se encuentra disminuida cuando existe un déficit de hierro, no existe otra causa de tal déficit. Hay que tener en cuenta que la ferritina sérica es un

reactante de fase aguda, puede verse incrementado en situaciones de infección, inflamación y cáncer.

- ✚ Sideremia, capacidad total de fijación de hierro (TIBC) e índice de saturación de Tf (Tsat): En los estados de déficit de hierro, la sideremia está reducida y los niveles de Tf, generalmente valorados por la CTFH (TIBC), están elevados. Por lo tanto, el índice Tsat (sideremia/CTFH x 100) estará muy disminuido.
- ✚ Receptor soluble de la Tf (sTfR): El sTfR proporciona una medida cuantitativa del total de la actividad eritropoyética, dado que su concentración en suero es directamente proporcional a la actividad eritropoyética e inversamente proporcional a la disponibilidad del hierro en el tejido. Por tanto, los pacientes con ID tienen incrementados los niveles.
- ✚ Índices eritrocitarios: Principalmente, el volumen corpuscular medio (VCM) y la hemoglobina corpuscular media (HCM) estarán disminuidos, y el índice de amplitud de distribución eritrocitaria (ADE) estará elevado. El análisis morfológico de sangre periférica confirma la anisocitosis, la microcitosis e hipocromía.

2.2.3 Tratamiento

El tratamiento de la anemia ferropénica incluye el tratamiento etiológico, que es fundamental, el tratamiento sustitutivo con hierro y, en caso de anemia grave, la posibilidad de corregir rápidamente la anemia mediante la transfusión de hematíes. En este último aspecto, hay que destacar que la indicación no la marca la cifra de hemoglobina sino la clínica del paciente. Es muy frecuente que pacientes jóvenes, especialmente mujeres, se presenten con cifras muy bajas de hemoglobina (por ejemplo de 5 a 8 g/dL) pero con una tolerancia clínica buena, y en estos casos no está indicada la transfusión. Sí está indicada en casos con inestabilidad hemodinámica o signos de isquemia, que generalmente corresponden a sangrado activo (González de Villambrosia et al., 2012).

Hay algunos principios simples que rigen su uso (Goddard et al., 2011; González de Villambrosia et al., 2012), y que se indican a continuación:

- ✚ El hierro se absorbe mejor en el duodeno y el yeyuno proximal. Por lo tanto, las cápsulas entéricas recubiertas de liberación sostenida son fuentes menos eficientes de hierro.
- ✚ Las sales de hierro no se deben administrar con alimentos, porque numerosos factores presentes en la dieta perjudican su absorción, como los fosfatos, fitatos y tanatos. También el uso de ciertos antibióticos, como quinolonas o tetraciclinas, y los antiácidos dificultan su absorción. Por ello, se recomienda la administración del hierro una hora antes o dos horas después de la ingesta, y el doble de tiempo respecto a la toma de antiácidos. Si es cierto que el zumo de naranja no perjudica y puede favorecer la absorción del hierro, al igual que la vitamina C.
- ✚ El hierro se absorbe mejor como sal ferrosa (Fe^{2+}), por lo que deben evitarse los preparados con sal férrica (Fe^{3+}).

La anemia ferropénica es una enfermedad común con una prevalencia del 19.2 % en poblaciones en riesgo. Sin embargo, la prevalencia de ID en pacientes hospitalizados es poco conocida. Los objetivos de un estudio de cohorte observacional retrospectivo (Hug, 2013) fueron evaluar los procedimientos diagnósticos actuales y el tratamiento de la ID, así como estimar la prevalencia de ID no diagnosticada en pacientes hospitalizados en la división de medicina interna en un centro universitario terciario de referencia de Suiza. Dentro de un período de estudio de 6 meses, los datos de todos los pacientes hospitalizados en la división de medicina interna fueron analizados para detectar la presencia de anemia (definida como niveles de hemoglobina para hombres < 130 g/l y para mujeres < 120 g/l) y ID (ferritina < 15 $\mu\text{g/l}$ o ferritina < 50 $\mu\text{g/l}$ y Tsat < 20 %). Un total de 2781 casos de hospitalización fueron analizados (2251 pacientes únicos, 55.5 % hombres, con una edad media de 66.4 años). En 2267 casos (81.5 %) los resultados de un recuento de glóbulos rojos estaban disponibles. En 329 casos (14.5 %) se determinaron parámetros de hierro (IP) y se detectaron 45 casos/pacientes con ID (13.7 %). En los pacientes con ID, el diagnóstico más frecuente fue IC (24.4 %). De estos pacientes, el 72.7 % tomaban fármacos que facilitaban la

hemorragia al ingreso o al alta hospitalaria. La ID es común en medicina interna y hasta dos tercios de los casos puede que no sean diagnosticados. De cada siete pacientes que tenían parámetros de hierro analizados uno fue hierro deficiente y dos tercios de los pacientes con ID fueron tratados con hierro intravenoso (IV) (Hug, 2013).

De hecho, cuando se precisa tratamiento con hierro vía parenteral, es necesario suplementar con vitamina E para restaurar el estatus antioxidante en este tipo de anemia (Isler et al., 2002).

En ensayos aleatorios se encontró que el uso de agentes estimulantes de la eritropoyesis para alcanzar niveles normales de hematocrito (Hct) (> 39 %) comparado con el 27 %-34.5 % aumenta el riesgo cardiovascular y la mortalidad entre pacientes con enfermedad renal crónica (Zhang, 2014).

La terapia con hierro IV como carboximaltosa férrica (FCM) en pacientes con IC crónica (ICC) y ID mejora los síntomas, la capacidad funcional y la calidad de vida. Filippatos et al., (2013), buscaron investigar si estos resultados beneficiosos son independientes de la anemia. Con respecto a la seguridad, no se observaron diferencias en las tasas de muerte o primera hospitalización entre FCM y placebo tanto en pacientes anémicos como no anémicos.

La heparina interfiere con la vía BMP6/SMAD de la regulación de la hepcidina, actuando como un supresor fuerte. La actividad es también evidente in vivo en modelos animales y las heparinas no anticoagulantes son antagonistas de heparina prometedoras que pueden usarse para tratar estados con un exceso de hepcidina, tal como la anemia de enfermedad crónica, también conocida como anemia de inflamación, que es la forma más frecuente de anemia en los pacientes hospitalizados y la anemia ferropénica de hierro refractaria (IRIDA), relacionada principalmente con las variaciones genéticas del gen *Tmprss6*. La comprensión de cómo la heparina y los sulfatos de heparán participan en el mecanismo de las vías BMP/SMAD está emergiendo, pero espera clarificación de otros estudios (Poli et al., 2017).

Bosch et al., (2017), concluyeron que entre los pacientes con IDA severa sin fuentes extraintestinales de pérdida de sangre o ID, aquellos con cáncer gastrointestinal

(GI) o angiodisplasias difusas mostraron respuestas insuficientes a la transfusión (es decir, incremento de hemoglobina < 1 g/dL por cada unidad trasfundida). Por el contrario, los pacientes con otros trastornos hemorrágicos, que en su mayoría comprenden lesiones GI superiores, presentaron respuestas adecuadas y el incremento de hemoglobina cumplió con la regla convencional 1:1.

Hasta finales de la década de 1970, la mayor parte de la sangre que se transfundía era sangre completa sin separar sus componentes. Si bien esto sigue siendo una práctica común en algunos países, en la mayoría de ellos casi todas las donaciones son procesadas (Fig. 4) en glóbulos rojos, plaquetas y plasma después de la detección de agentes infecciosos y la eliminación de las células blancas (leucodepleción) (McClelland, 2007):

- ✚ Glóbulos rojos. Está especialmente indicado para aumentar los niveles de hemoglobina. Este producto contiene aproximadamente 20 mL de plasma y 100 mL de solución de almacenamiento. Su volumen total oscila entre 180 y 350 mL, esto supone un 57 % del valor de hematocrito. Los glóbulos rojos se almacenan entre 2 y 6 °C durante un máximo de 35 días y el producto debe ser compatible con el grupo ABO y, por lo general con RhD del destinatario.
- ✚ Plaquetas. Están prescritas para la prevención y el tratamiento de la hemorragia en pacientes con trombocitopenia o en aquellos que presentan disfunción plaquetaria. Se almacenan a 22 °C con agitación para asegurar que se mantiene su función, se debe asegurar la compatibilidad de los grupos sanguíneos ABO y RhD, debido a la presencia de plasma.
- ✚ Plasma fresco congelado. Está indicado para el reemplazo de los factores de coagulación en circunstancias especiales y para la púrpura trombocitopenia trombótica. Se debe corresponder el grupo sanguíneo ABO del receptor, para evitar hemólisis, pero no es necesaria la compatibilidad con RhD. Se puede almacenar congelado hasta 2 años. Una vez descongelado, el plasma se puede almacenar a temperatura ambiente durante 4 horas, o durante 5 días a 1-6 °C.

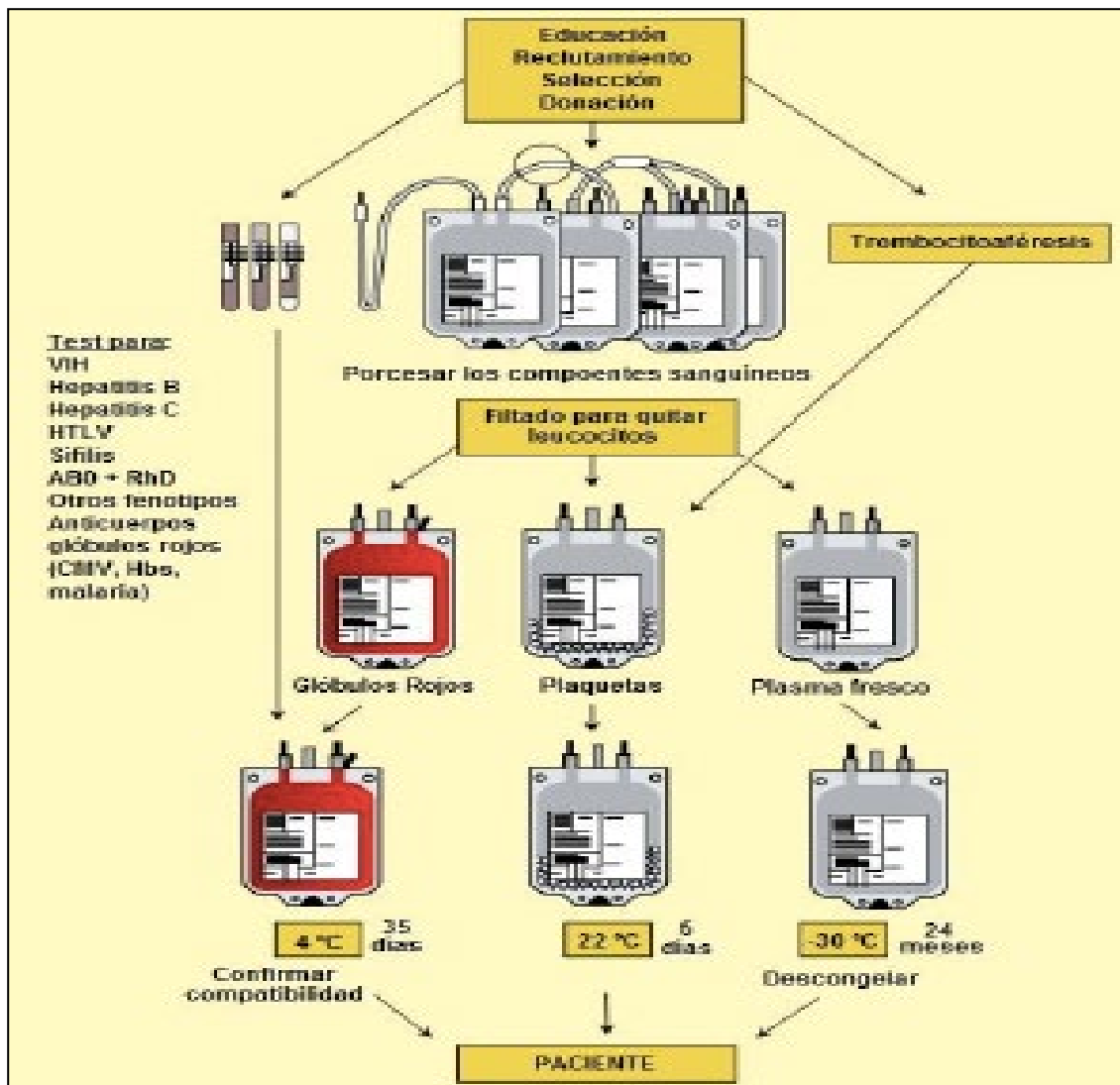


Figura 4. Proceso de obtención de derivados de sangre completa y derivados plasmáticos (modificado de Paul y Nesbitt, 2013).

Según Perfecto et al., (2017), los programas de fortificación de alimentos para reducir la anemia ferropénica requieren formas biodisponibles de hierro que no causen efectos organolépticos adversos. Estudios de roedores muestran que el fosfato férrico de tamaño nanométrico (NP-FePO₄) es tan biodisponible como el sulfato ferroso, pero hay controversia sobre el mecanismo de absorción. Realizaron estudios in vitro para examinar esto utilizando un modelo de células Caco-2 y digestión gastrointestinal (GI) simulada. Las concentraciones de hierro sobrenadante aumentaron inversamente con el pH y la captación de hierro en células Caco-2 fue 2-3 veces mayor cuando se digirió NP-FePO₄ a pH 1 en comparación con pH 2. Se examinó el tamaño y distribución de partículas de NP-FePO₄ durante la digestión GI utilizando microscopía electrónica de

transmisión. El tamaño mediano particular (d_{50}) de la distribución de partículas fue de 413 nm. Utilizando sedimentación centrífuga en disco, se observó un alto grado de aglomeración en NP-FePO₄ tras la digestión GI simulada, con solo un 20 % de las partículas ≤ 1000 nm. En las células Caco-2, el transportador de metal divalente-1 (DMT1) y los inhibidores de endocitosis demostraron que el NP-FePO₄ se absorbía principalmente a través de DMT1. Las partículas pequeñas pueden ser absorbidas por endocitosis mediada por clatrina y micropinocitosis. Estos hallazgos deben considerarse al evaluar el potencial de las nanopartículas de hierro para la fortificación de alimentos.

La nanotecnología ofrece nuevas oportunidades para proporcionar beneficios para la salud en los alimentos. La fortificación de alimentos con nanopartículas de fosfato de hierro (FePO₄ NPs) es un nuevo enfoque prometedor para reducir la ID porque las NP de FePO₄ combinan una alta biodisponibilidad con un rendimiento sensorial superior en alimentos difíciles de fortalecer. Sin embargo, su seguridad sigue siendo ampliamente no probada. Alimentaron a las ratas durante 90 días con dietas que contenían NP de FePO₄ a dosis a las que se ha demostrado que el sulfato de hierro (FeSO₄), un fortificante alimentario de uso común, induce efectos adversos. La alimentación no dio lugar a signos de toxicidad, incluyendo estrés oxidativo, daño a los órganos, acumulación excesiva de hierro en los órganos o cambios histológicos. Estos datos de seguridad fueron corroborados por la evidencia de que las NP fueron absorbidas por líneas celulares gastrointestinales humanas sin reducir la viabilidad celular e inducir el estrés oxidativo. Sus hallazgos sugieren que las NP de FePO₄ parecen ser tan seguras para la ingestión como las de FeSO₄ (Von Moos et al., 2017).

Durante las últimas dos décadas se han realizado muchas investigaciones clínicas sobre la eficacia clínica del tratamiento de la ID o anemia con hierro oral, hierro IV y terapias con eritropoyetina. Los estudios con hierro oral y terapias con eritropoyetina no proporcionaron ningún beneficio clínico y, de hecho, se ha demostrado que estas terapias se asocian con un aumento de los resultados clínicos adversos. Sin embargo, los ensayos clínicos en pacientes con ID en presencia o ausencia de anemia han demostrado considerables beneficios clínicos de la terapia con hierro IV, y sobre la base de estos resultados positivos, la ID se ha convertido en objetivo de

tratamiento de la IC. El presente informe evalúa los enfoques actuales de la ID y la anemia en la IC a la luz de las pruebas recientes (Çavuşoğlu et al., 2017).

Los pacientes con ID en la ICC con una ferritina sérica $< 100 \mu\text{g/L}$ o $< 300 \mu\text{g/L}$ con Tsat reducida $< 20 \%$, a quienes se les administró hierro IV mostraron mejores resultados clínicos. Los datos preliminares sugieren que la ID en pacientes con IC puede ser tratada con hierro oral, con efectos beneficiosos significativos sobre las variables hematológicas y fisiológicas (Makubi y Roberts, 2017).

La biofortificación, el proceso de aumentar el contenido de micronutrientes y la biodisponibilidad en los cultivos básicos, representa una estrategia apasionante basada en la alimentación sostenible para combatir y prevenir la ID, particularmente en entornos de recursos limitados. Finkelstein et al., (2017), examinaron la evidencia hasta la fecha de la eficacia de los cultivos alimentarios básicos con biofortificación de hierro sobre la mejora del estado de hierro en poblaciones de riesgo, incluyendo arroz, mijo perla y frijoles. El estado general de hierro (hemoglobina, ferritina sérica, sTfR, proteína C reactiva, glucoproteína ácida alfa-1) se midió en la inscripción, la línea media y la línea final en cada ensayo. Los resultados primarios evaluados incluyeron hemoglobina, ferritina sérica, sTfR y hierro corporal total. La evidencia actual sugiere que los cultivos con biofortificación con hierro son una intervención eficaz para mejorar el estado general del hierro. Los hallazgos de los tres ensayos también indican que los efectos de los cultivos básicos biofortificados fueron más altos entre los individuos que presentaron ID al inicio del estudio, lo que sugiere mayor potencial de beneficio. Se justifica la evaluación de los resultados funcionales y la consideración de otras poblaciones de alto riesgo, como los niños pequeños, para elucidar el impacto de las intervenciones biofortificadas con hierro en la salud humana.

El tratamiento de la anemia por ID con suplementos orales de hierro puede presentar efectos secundarios en la mucosa del tracto GI incluyendo necrosis, ulceración o isquemia. Los hallazgos endoscópicos particulares y el examen histopatológico establecerán el diagnóstico de gastritis erosiva con depósitos de hierro en la mucosa gástrica. La gastritis inducida por la píldora de hierro es una entidad rara y poco diagnosticada que puede estar presente incluso en edades pediátricas con impacto clínico potencial severo (Meliş et al., 2017).

La hormona peptídica hepcidina es un controlador clave de la homeostasis sistémica del hierro y su expresión en el hígado está regulada principalmente por proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), que son proteínas que se unen a la heparina. De hecho, las heparinas son fuertes supresores de la expresión de hepcidina en líneas celulares hepáticas que actúan inhibiendo la fosforilación de proteínas SMAD1/5/8 provocadas por las BMP. El efecto inhibitorio de las heparinas ha sido demostrado en células y en ratones, donde las inyecciones subcutáneas de heparinas no anticoagulantes inhibieron la expresión de hepcidina hepática y aumentaron la biodisponibilidad del hierro. Las características químicas para una elevada actividad anti-hepcidina *in vitro* e *in vivo* incluyen la sulfonación 20 y 60 y un peso molecular por encima de 7 kDa. Se ha encontrado que las heparinas más potentes son las súper-sulfatadas, activas en la supresión de la hepcidina con un peso molecular tan bajo como 4 kDa. Por otra parte, se ha encontrado que la alteración de los heparanosulfatos endógenos produce una reducción en la expresión de hepcidina *in vitro* e *in vivo*, lo que indica que las heparinas actúan interfiriendo con la interacción entre las BMP y los componentes del complejo implicados en la activación de la vía BMP/SMAD1/5/8. Poli et al., (2017), esta revisión resume los hallazgos recientes sobre la actividad antihepcidina de las heparinas y su posible uso para el tratamiento de la anemia causada por el exceso de hepcidina, incluida la anemia de enfermedades crónicas.

Recientemente, se demostró que el sirolimus es eficaz en el tratamiento de las lesiones vasculares y disminuye la frecuencia del sangrado y la anemia secundaria por ID. Ünlüsoy Aksu et al., (2017), presentaron un caso de un niño con síndrome de nevus de blebna de caucho azul que tenía historia prolongada de anemia por ID secundaria a sangrado gastrointestinal no reconocido. El tratamiento con propranolol, omeprazol y hierro había fallado. Después de 2.5 meses de tratamiento con sirolimus (niveles de 1 a 5 ng/mL), su concentración de hemoglobina mejoró en el rango normal y se mantuvo estable. Las malformaciones vasculares tanto en la lengua del paciente como en el fondo del estómago disminuyeron en los 5 meses posteriores al inicio del sirolimus. En la afectación gastrointestinal del síndrome del nevus de la ampolla de goma azul se encontró que el sirolimus era eficaz incluso en las lesiones vasculares de la lengua.

Aunque la gama de opciones para el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro (IDA) está aumentando debido a la disponibilidad de preparaciones de hierro parenteral eficaces y bien toleradas, actualmente no se dispone de una visión general de la IDA y su tratamiento en pacientes con trastornos gastrointestinales. Además, las definiciones y la evaluación del estado de hierro carecen de armonización y hay pocas directrices de expertos sobre este tema. Stein et al., (2016), esta revisión resume el pensamiento actual sobre la IDA como una comorbilidad común en trastornos gastrointestinales y hepáticos específicos y, por lo tanto, fomenta un enfoque de tratamiento más unificado de la anemia y la ID, ofreciendo a los gastroenterólogos orientación sobre las opciones de tratamiento para la IDA en la práctica clínica diaria.

Una vez diagnosticada la IDA, se debe tratar con hierro oral o parenteral, así como con medicamentos reductores de la presión portal, en el caso de enfermedad hepática crónica. La transfusión de sangre se reserva para la anemia asintomática a pesar de la suplementación con hierro (Gkamprela et al., 2017).

La ID es común en la IC, y la terapia de hierro IV se ha asociado con un mejor estado clínico en pacientes ambulatorios con IC. Hay datos limitados para apoyar la seguridad y la eficacia de la administración de hierro IV en pacientes con IC aguda. Kaminsky et al., (2016), se trata de un estudio retrospectivo de cohortes de pacientes ingresados en el Sistema de Salud de la Universidad de Michigan para IC con estudios de hierro bajo durante el ingreso. Los pacientes se agruparon basándose en la recepción de la terapia con hierro IV. Los resultados del estudio incluyeron cambios en la hemoglobina, reingreso de 30 días y eventos adversos. Cuarenta y cuatro pacientes que recibieron hierro IV y 128 pacientes control fueron identificados. La dosis media de hierro recibida fue de 1.057 (\pm 336) mg. El hierro IV dio lugar a un aumento significativamente mayor de la hemoglobina en el tiempo. El cambio de medio en la hemoglobina los grupos del hierro y el control fue 0.74 g/dL y 0.01 g/dL en el día 7 y 2.61 g/dL y 0.23 g/dL en el día 28, respectivamente. Las tasas de reingreso de treinta días fueron del 30 % y del 22 % para los pacientes en los grupos de hierro y control, respectivamente. En conclusión, la dosis total de la infusión de hierro IV es bien tolerada y se asocia con una mejoría significativa en la hemoglobina en la IC aguda.

La ID ha sido identificada como una comorbilidad importante en pacientes con IC. La terapia con hierro IV redujo los síntomas y re-hospitalizaciones de pacientes con ID con IC en ensayos aleatorios. Wienbergen et al., (2016), el presente estudio multicéntrico investigó el manejo “real” del estado general del hierro en pacientes con IC. La terapia con hierro se realizó en solo el 8.5 % de los pacientes deficientes de hierro con IC; el 2.6 % fueron tratados con terapia de hierro IV. Los pacientes con terapia de hierro se caracterizaron por una alta tasa de IC sintomática y anemia. En conclusión, a pesar de la fuerte evidencia de los efectos beneficiosos de la terapia con hierro sobre los síntomas y las re-hospitalizaciones, los esfuerzos diagnósticos y terapéuticos sobre la ID en la IC son bajos en la práctica clínica real y la conciencia para diagnosticar y tratar la ID en la IC debe ser fuertemente reforzada.

La fortificación de hierro en el hogar de alimentos complementarios que utilizan polvos de micronutrientes (MNPs) reduce efectivamente el riesgo de IDA al asegurar que las necesidades de hierro de los lactantes y niños pequeños se cumplan sin cambiar su dieta tradicional. Sin embargo, la dosis de hierro administrada por los MNPs es alta y comparable en mg de hierro por kg de peso corporal a las dosis suplementarias (2 mg/kg) típicamente administradas a los niños mayores, lo que aumenta el riesgo de diarrea. En estudios controlados, los MNPs que contienen hierro aumentan modestamente el riesgo de diarrea en lactantes; en algunos casos, la diarrea es grave y puede requerir hospitalización. Estudios recientes in vitro e in vivo proporcionan información sobre el mecanismo de este efecto. La provisión de fortificantes de hierro a niños en edad escolar y MNPs que contienen hierro a los recién nacidos en destete disminuye el número de bacterias benígnas de “barrera” comensal (por ejemplo, bifidobacterias), aumenta la relación de enterobacterias a bifidobacterias y la abundancia de patógenos oportunistas (por ejemplo, *Escherichia coli* patogénica), e induce inflamación intestinal. Así, aunque los MNPs que contienen hierro son altamente efectivos en la reducción de la IDA, pueden aumentar la morbilidad gastrointestinal en los lactantes, y se necesitan formulaciones más seguras (Paganini et al., 2016).

La anemia es muy frecuente en mujeres y niños camboyanos, pero los datos sobre las causas de anemia son escasos. Wieringa et al., (2016), realizaron una encuesta nacional de micronutrientes en niños y mujeres para evaluar la prevalencia de

deficiencia de micronutrientes, los trastornos de la hemoglobina y la infección por parásitos. La alta prevalencia de anemia en mujeres y niños camboyanos no puede explicarse únicamente por deficiencias de micronutrientes y trastornos de la hemoglobina. Es probable que las intervenciones de micronutrientes para mejorar la prevalencia de la anemia tengan un impacto limitado en el entorno camboyanos. El enfoque de las intervenciones actuales para reducir la alta prevalencia de la anemia en niños y mujeres debe ampliarse para incluir el zinc y el ácido fólico, así como medidas eficaces contra la anquilostomiasis.

Estudios observacionales sugieren que la IDA protege contra la malaria por *Plasmodium falciparum* y varios ensayos de intervención han indicado que la suplementación con hierro aumenta el riesgo de malaria a través de mecanismo/s desconocido/s. Esto plantea un gran reto para la política de salud. Goheen et al., (2016), investigaron cómo la anemia inhibe la infección por malaria en la fase sanguínea y cómo la suplementación con hierro abroga esta protección. Estos resultados confirman y cuantifican un mecanismo plausible por el cual la anemia protege a los niños africanos contra la malaria por *falciparum*, un efecto que es sustancialmente mayor que la protección ofrecida por el rasgo falciforme. La suplementación de hierro revertió completamente la protección observada y por lo tanto debe ir acompañada de profilaxis de la malaria. Los niveles más bajos de hemoglobina típicamente observados en poblaciones de ascendencia africana pueden reflejar la selección genética pasada por la malaria.

Diagnóstico y cuantificación de hierro para el tratamiento

Debido a la dependencia de los tiempos de relajación transversal T2 y T2* sobre el contenido de hierro en los tejidos, la Imagen por Resonancia Magnética (MRI) ofrece diferentes opciones para la determinación de la concentración de hierro. Éstas son la secuencia spin-eco que lleva mucho tiempo, así como la secuencia de eco-gradiente. Para esta última, se han propuesto varios enfoques de análisis de datos, con diferentes requerimientos para adquisición y post-procesamiento: 1) el desafío matemático R2* y 2) el método de relación señal-intensidad con su alta demanda sobre la homogeneidad de la señal de las imágenes por Resonancia Magnética (RM). Además, los

procedimientos especiales actualmente en evaluación se presentan como perspectivas futuras: la imagen de susceptibilidad cuantitativa, como un tercer enfoque para analizar los datos de eco-gradiente, y el spin-eco de varios contrastes utilizando repetidos pulsos de reenfoque. La teoría de la RM, en la medida en que es necesaria para comprender los métodos se describe brevemente (Wunderlich et al., 2016).

Los valores de $R2^*$ de hígado calculados a partir de imágenes de resonancia magnética (IRM) de eco gradiente múltiple están fuertemente correlacionados con la concentración de hierro hepático (HCI) como se muestra en varios estudios de calibración de biopsia derivados independientemente. Estas calibraciones se establecieron para axial-axial de una sola sonda de retención de imágenes en la ubicación de la vena porta. Escanear en modo multi-corte hace que el examen sea más eficiente, ya que la cobertura de todo el hígado se puede lograr con dos inhalaciones y el corte óptimo se puede seleccionar después. Los ecos del navegador eliminan la necesidad de respirar y permiten su uso en pacientes sedados. Loeffler et al., (2017), han encontrado que el navegador de puerta o respiración multicorte $R2^*$ IRM para determinación de la concentración de hierro en medidas de valores $R2^*$ comparables a la biopsia de validación de un solo corte, una sola respiración de retención de exploración. Llegaron a la conclusión de que estos tres métodos de $R2^*$ pueden ser intercambiables utilizado en calibraciones de $R2^*$ -HIC.

2.3 HIERRO Y SALUD CARDIOVASCULAR

El hierro juega un papel crucial en varios procesos biológicos esenciales, incluida la eritropoyesis y el metabolismo celular. En este sentido, el estado general del hierro está implicado en ECVs (van Haehling et al., 2015). Niveles altos de hierro presenta un efecto perjudicial sobre el riesgo cardiovascular, en cambio niveles bajos de hierro se han relacionado con una menor incidencia de enfermedad cardíaca en mujeres premenopáusicas en comparación con hombres y en mujeres posmenopáusicas (Sullivan, 1981). Las reservas altas de hierro también se han asociado positivamente con los factores de riesgo de ECV, como la diabetes mellitus tipo 2 (Jiang et al., 2004). Además, la ID es uno de los factores de riesgo de mortalidad en todo el mundo, y se

identificó como una comorbilidad común y ominosa en pacientes con IC (Cleland et al., 2016). El corazón es un órgano principal donde el hierro se acumula en una situación de sobrecarga. La acumulación de hierro se asocia con la miocardiopatía, que es una causa importante de morbilidad y mortalidad. La fisiopatología de la miocardiopatía con sobrecarga de hierro es multifactorial, incluida la lesión mediada por oxidantes, la interferencia con la función eléctrica cardíaca, y la promoción de la fibrosis vascular. La ID también tiene consecuencias adversas en el corazón y en los vasos sanguíneos, órganos con altas demandas de energía. Algunos estudios epidemiológicos en la población general han demostrado una asociación entre la mayor ingesta de hierro hemo, las reservas de hierro corporal y el riesgo cardiovascular (Dev y Babitt, 2017). Las guías actuales de la Sociedad Europea de Cardiología para el diagnóstico y el tratamiento de la insuficiencia cardíaca aguda y crónica recomiendan la evaluación de los parámetros del hierro, con la consecuente terapia con hierro en casos de ID (Ponikowski et al., 2013).

En general, el origen de la ID se relaciona con una ingesta reducida de hierro, mayores pérdidas de hierro, y/o la distribución anormal de hierro cuando funcionalmente no está disponible para el cuerpo (Fairbanks y Beutler, 2001). Los pacientes con ECV muestran una ingesta reducida de hierro en su dieta (Hughes et al., 2012), pero aún no se ha estudiado la importancia en el desarrollo de la deficiencia manifiesta de hierro observada en los biomarcadores circulantes. Se ha establecido que el estado inflamatorio que caracteriza a varias enfermedades crónicas (incluida la enfermedad de Crohn) se considera responsable de la alteración de la absorción, el reciclado y la liberación de hierro de las reservas corporales (Wessling-Resnick, 2010). Se ha anticipado que la patogenia de la ID en el curso de la IC se asemeja a los mecanismos patogénicos relacionados directamente con el estado inflamatorio (Silvestri et al., 2013). Además, en pacientes con ECV, Jankowska et al., (2014), demostraron que la hepcidina circulante es extremadamente baja, lo que sugiere que la ID observada en el curso de la ECV es consecuencia de los depósitos de hierro agotados en el organismo.

Por otro lado, una proporción sustancial de las ECVs se pueden prevenir con un estilo de vida más saludable para controlar los factores de riesgo cardiovascular. En este sentido, aunque los productos lácteos pueden tener un alto contenido en grasas saturadas, se estima que los productos lácteos (excluida la mantequilla) contribuyen al

25-30 % de la ingesta de grasas saturadas de la dieta europea (Givens, 2009). Paradójicamente, se ha sugerido que el consumo de productos lácteos puede mejorar las características del síndrome metabólico, que tiene un papel clave en la ECV (van Meijl et al., 2008). Previamente nuestro grupo de investigación ha informado que el consumo de leche de cabra tiene efectos positivos sobre la composición biliar y la secreción, lo que reduce las transaminasas, los triglicéridos y estimula la excreción de colesterol a través de la bilis, lo que lleva a un perfil lipídico cardiovascular más saludable (Díaz-Castro et al., 2013). Además, el consumo de leche de cabra fermentada es más beneficioso para superar los efectos de la ID, aumentar las proteínas clave del metabolismo intestinal del hierro, mejorar la utilización del hierro digestivo y metabólico, aumentar los depósitos de hierro en los órganos diana y favorecer la recuperación de los parámetros hematológicos (Moreno-Fernandez et al., 2016a). Finalmente, también se informó que el consumo de leche de cabra fermentada indujo un efecto protector en los tejidos, aumentando el estado antioxidante total y disminuyendo los biomarcadores de daño oxidativo, protegiendo los principales componentes biológicos celulares (lípidos, proteínas, prostaglandinas y ADN) del daño oxidativo provocado durante la recuperación de la anemia (Moreno-Fernandez et al., 2017), y es bien sabido que el estrés oxidativo es uno de los desencadenantes principales para desarrollar la ECV (Loperena y Harrison, 2017). Sin embargo, a pesar del papel de la ID en la ECV, hasta la fecha, ningún estudio ha probado directamente el efecto de la leche fermentada en la salud cardiovascular durante la recuperación de la anemia.

2.3.1 DEFICIENCIA DE HIERRO Y SALUD CARDIOVASCULAR

Existe gran controversia sobre la susceptibilidad de células para la peroxidación lipídica en la IDA (Aslan et al., 2006; Díaz-Castro et al., 2008.). Por un lado, hay teorías que afirman que la ID no sólo afecta la producción de hemoglobina, sino que también afecta la producción de otras proteínas que contienen Fe^{2+} , tales como citocromos, mioglobina, catalasas y peroxidasas. Se ha indicado que el debilitamiento del sistema de defensa antioxidante, reduce la inmunidad celular y la actividad mieloperoxidasa en pacientes con IDA. Isler et al., (2002), determinaron las actividades antioxidantes de las

enzimas de los eritrocitos en pacientes con IDA y las alteraciones de las actividades enzimáticas después de tratamientos oral y parenteral con hierro y tratamiento parenteral con hierro suplementado con vitamina E. Como conclusión, destacaron que en el tratamiento oral con hierro, además de mejorar la anemia, se incrementa el sistema de defensa antioxidante mediante el aumento de la actividad de superóxido-dismutasa, manteniéndose la actividad glutatión peroxidasa en niveles normales.

Así mismo, se ha descrito que en pacientes con IDA, los agentes pro-oxidantes incrementan con respecto a los antioxidantes, teniendo como resultado un balance positivo hacia el lado oxidativo (Aslan et al., 2006).

Aslan et al., (2006), manifestaron que el incremento del estrés oxidativo puede ser una causa que contribuye a la patogénesis de la IDA, y que parece ser un factor importante que induce daño al ADN. A su vez, la relación entre el incremento del estrés oxidativo y daño al ADN en una anemia severa por ID pueden tener un papel importante en la patogénesis de la misma (Aslan et al., 2006).

Por el contrario, otros autores (Díaz-Castro et al., 2008) afirman que la IDA es un factor que no afecta la estabilidad del ADN o la peroxidación lipídica en ratas. Esto se explicaría por la existencia de una capacidad compensatoria suficiente para mantener elevadas las defensas antioxidantes.

Un estudio de cohortes prospectivo realizado en comunidades de Estados Unidos (Sarnak et al., 2002), evaluó el riesgo de aterosclerosis en la población general, en sujetos cuya edad se encontraba entre 45 y 64 años. Los autores sugirieron que la presencia de anemia constituye un factor de riesgo independiente para ECV. Sin embargo, se trataba de una muestra con bajo riesgo cardiovascular.

La deficiencia temporal de hierro sensibiliza la acción de insulina (Liu et al., 2009), tal como sucede en pacientes lacto-ovo vegetarianos, donde además de tener incrementada la sensibilidad a insulina, tienen menores reservas de hierro, con respecto a los que consumen carne (Hua et al., 2001). Sin embargo, una deficiencia crónica de hierro con anemia, puede acelerar el desarrollo de ECV, tanto en pacientes diabéticos como no diabéticos (Liu et al., 2009).

En un estudio realizado en una población de neonatos (Batida et al., 2000), se encontró una correlación significativa entre los niveles de hierro en plasma y los de HDL-colesterol (HDL-C) y apolipoproteína A-1. Cuando la población de neonatos se clasificó en cuartiles para los niveles de hierro en plasma, también se observó que aquellos con niveles más bajos de hierro presentaron niveles más reducidos de HDL-C. En dicho trabajo (Batida et al., 2000) se sugirió que estos datos son relevantes dado que el estrés oxidativo en el parto es el resultado normal de hiperoxia. (Berguer et al., 1995) señalaron que el plasma del neonato a menudo presenta altos niveles de Tsat y que los niveles bajos de ceruloplasmina y elevados de ascorbato permitirían al hierro del recién nacido existir en forma reducida. Dado que las HDL poseen un sistema enzimático relacionado con la paraoxonasa (Canales y Sánchez-Muniz,, 2003; Nus et al., 2007) y limitan la oxidación de las LDL (Ross, 1999), debe entenderse como un mecanismo protector que se induce en el recién nacido frente a niveles elevados de hierro en plasma.

En cuanto a la relación de anemia y obesidad, diversos estudios en niños y adolescentes muestran correlaciones significativas entre el exceso de adiposidad y ID (Nead et al., 2004; Tussing-Humphreys et al., 2009). Aunque la etiología de la relación anemia-obesidad sigue sin conocerse, se han sugerido factores como: rápido crecimiento, incremento del volumen sanguíneo, inicio temprano de la menstruación, dieta deficiente, escasa actividad física y factores genéticos (Tussing-Humphreys et al., 2009).

Un exceso de grasa, particularmente de distribución visceral, se ha asociado al incremento de citoquinas proinflamatorias e inflamación leve, pero de índole crónica (Mohamed et al., 1998; Sharma, 2002; Tussing-Humphreys et al., 2009). En este sentido, se sabe que las citoquinas incrementan la expresión de la hepcidina, lo que ocasiona un bloqueo en la absorción de hierro y tendencia a deficiencia (Ganz, 2007; De Domenico et al., 2008). No obstante, es preciso profundizar en estos mecanismos y su implicación en la ID en obesos.

Un estudio realizado en adultos obesos (Yanoff et al., 2007; Tussing-Humphreys et al., 2009), demostró que las demandas celulares de hierro pueden ser medidas a través

del TfR y la inflamación a través de la proteína C reactiva. Ambas mediciones, constituyen un buen predictor de los niveles séricos de hierro.

En un estudio cruzado (Tussing-Humphreys et al., 2009) investigaron la relación entre el estatus de hierro y el exceso de adiposidad, inflamación, menarquia, dieta y actividad física en mujeres adolescentes. Se concluyó que las mujeres con mayor peso corporal incrementaron la prevalencia de ID comparadas con las normopeso.

Una hipótesis propone que la relación entre obesidad y ID puede ser similar a la relación entre inflamación y anemia, causando un incremento en la producción de hepcidina. Los niveles elevados de hepcidina inducidos por la inflamación pueden reducir la absorción de hierro e intensificar el secuestro del mineral por los macrófagos del sistema retículo endotelial. Sin embargo, es preciso incrementar las investigaciones sobre los efectos metabólicos que conlleva dicho secuestro intracelular del hierro (Yanoff et al., 2007; Tussing-Humphreys et al., 2009).

Tabla 2. Epidemiología: relación entre ferritina sérica y riesgo de ECV (Toxqui et al., 2010).

Tipo de estudio	Tamaño de muestra	Edades	Hierro/asociación con la enfermedad	Referencia
Cohorte	1931 Hombres	42, 48, 54 y 60	Positivo	Salonen et al., (1992)
Transversal	431 Hombres/Mujeres	40-79	Positivo	Kiechl et al., (1994)
Prospectivo	577 Hombres/Mujeres	≥ 60	No asociación	Aronow y Ahn, (1996)
Caso-Control	730 Hombres/Mujeres	45 a 64	No asociación	Moore et al., (1995)
Caso-Control anidado	172 Hombres/Mujeres	≥ 55	No concluyente, asociación positiva con otros factores de riesgo (fumadores y diabéticos)	Sarnak et al., (2002)

Según Makubi y Roberts, (2017), la ID franca se ha asociado con una amplia gama de anomalías cardíacas y pulmonares incluyendo cardiomiopatía no isquémica. La IDA y la ID aislada son factores pronósticos adversos bien definidos en la IC no isquémica. La ID con o sin anemia afecta a más de un cuarto de la población mundial, pero el impacto de la ID en la IC y el manejo eficaz de la ID en la IC en los países de ingresos bajos y medios no está bien descrito. La IC en las cohortes africanas ocurre a una edad más temprana que en Norteamérica y Europa y es más probable que se deba a la hipertensión. Estudios recientes sugieren que la IDA, que es muy común en pacientes con IC en África, y la ID se asocian independientemente con un mal pronóstico en la IC.

La ID es la deficiencia de micronutrientes más común a nivel mundial y representa una amenaza importante para la salud pública (Finkelstein et al., 2017).

El descubrimiento de la hormona reguladora del hierro hepcidina en 2001 ha revolucionado nuestra comprensión de los trastornos del hierro, y su medición debe avanzar el diagnóstico/tratamiento de estas condiciones. Aunque se han desarrollado varios ensayos, todavía falta un estándar de oro y se están realizando esfuerzos para lograr la armonización. Sin embargo, ya se pueden vislumbrar aplicaciones prometedoras, desde el uso de los niveles de hepcidina para diagnosticar la IDA refractaria hasta aplicaciones globales de salud, como guiar la suplementación segura de hierro en países en desarrollo con alta carga de infección (Girelli et al., 2016).

El trastorno de déficit de atención/hiperactividad (TDAH) es uno de los trastornos psiquiátricos más comunes en niños. Sin embargo, la patogénesis del TDAH sigue siendo poco clara. El hierro, un importante oligoelemento, está implicado en la función cerebral y la actividad dopaminérgica. Estudios recientes (Wang et al., 2017) han investigado la asociación entre la ID y el TDAH, pero los resultados son inconsistentes. La ferritina sérica más baja que el hierro sérico se asocia con el TDAH en niños.

La estimación precisa de la ID es importante en la planificación e implementación de las intervenciones. La ferritina se recomienda como la medida primaria de estado general del hierro, pero la interpretabilidad es difícil en entornos con

infección e inflamación (Namaste et al., 2017). Sus resultados apoyan el uso de la corrección de regresión interna para estimar la prevalencia de reservas de hierro agotadas en regiones con inflamación. Este enfoque parece reflejar matemáticamente la relación lineal de las concentraciones de ferritina con las proteínas de fase aguda. Se necesita más investigación para validar los enfoques propuestos, pero este estudio contribuye a la base de evidencia para guiar las decisiones sobre cómo y cuándo ajustar la ferritina para la inflamación.

Se cree que la ID es una de las deficiencias más frecuentes de micronutrientes en todo el mundo, pero una evaluación precisa en las poblaciones que están frecuentemente expuestas a infecciones está obstaculizada por la respuesta inflamatoria, que causa alteraciones en los biomarcadores del hierro (Rohner et al., 2017). El sTfR puede ser útil para evaluar la eritropoyesis deficiente en hierro, pero la inflamación influye en su interpretación, y el ajuste de sTfR para la inflamación y la malaria debe ser considerado. Se necesita más investigación para evaluar los enfoques propuestos en diferentes contextos, pero este estudio contribuye a la evidencia de cómo y cuando ajustar sTfR para la inflamación y la malaria.

La enfermedad de Kawasaki (EK) es un tipo de vasculitis sistémica que afecta principalmente a niños menores de cinco años de edad. Para los enfermos de EK, se ha encontrado que la inmunoglobulina IV (IVIG) disminuye con éxito la aparición de lesiones de las arterias coronarias. Huang et al., (2016), la anemia se encuentra comúnmente en pacientes con EK, y han demostrado que en los niveles de hepcidina adecuadamente elevados están relacionados con la disminución de la hemoglobina en estos pacientes. Estos resultados proporcionan un estudio longitudinal de los cambios de hemoglobina y entre la primera evidencia de que la hepcidina induce anemia transitoria e hipoferremia durante la fase inflamatoria aguda de EK.

La EK es una enfermedad de tipo autoinmune y síndrome de vasculitis infantil aguda que afecta a varios sistemas pero tiene una etiología desconocida (Huang y Kuo, 2017). Además de los criterios diagnósticos estándar, la anemia está entre las características clínicas más comunes de los pacientes con EK y se cree que tiene una duración más prolongada de la inflamación activa. En 2001, el descubrimiento de una hormona peptídica derivada del hígado conocida como hepcidina comenzó a

revolucionar nuestra comprensión de la relación de la anemia con una serie de enfermedades inflamatorias, incluyendo la EK. Esta revisión se centra en la relación de la ID inducida por hepcidina con la hiposideremia transitoria, la anemia y los resultados de la enfermedad en pacientes con EK, y continúa sugiriendo posibles rutas de estudio adicional.

La principal causa de muerte en niños en países en desarrollo es la desnutrición proteico-energética. En Vietnam, el 25.9 % de los niños menores de 5 años experimentan un crecimiento atrofiado y el 6.6 % están moderadamente agotados. La IDA y la deficiencia de vitamina A contribuyen a estas y otras condiciones de malnutrición (Turk et al., 2017).

Se ha sabido que los nutrientes tienen un papel importante en el mantenimiento de la salud del esqueleto, tanto de hueso como de cartílago. Los nutrientes que han recibido la mayoría de la atención son la vitamina A y el calcio. Sin embargo, se ha dirigido una atención limitada a tres elementos traza que pueden tener un impacto mecánico sobre los tejidos esqueléticos y que pueden comprometer la salud del esqueleto como resultado de una ingesta inadecuada de cobre, hierro y selenio. El papel del cobre y el selenio ha sido conocido, pero el papel del hierro sólo ha recibido una atención reciente. Se cree que la deficiencia de cobre afecta a la salud de los huesos por una disminución de la lisil oxidasa, una enzima que contiene cobre, que facilita la reticulación de las fibrillas de colágeno. El impacto de la ID sobre el hueso sólo se ha descubierto recientemente, pero el mecanismo exacto sobre cómo los estados deficientes mejoran la patología ósea es especulativo. La deficiencia de selenio tiene un impacto en el cartílago, lo que tiene un impacto indirecto en el hueso. Sin embargo, varios estudios sugieren que cuando se consume una micotoxina por los seres humanos es culpable de algunos trastornos del cartílago y la presencia de selenio podría atenuar la patología. Esta revisión (Medeiros, 2016) resume la base de conocimiento actual con respecto a la integridad del esqueleto cuando cada uno de estos tres oligoelementos son inadecuados en dietas de animales y humanos.

La ID, la deficiencia nutricional más común en todo el mundo, se asocia a menudo con trombocitosis reactiva. Aunque la trombocitosis secundaria se considera

comúnmente inofensiva, hay evidencia acumulativa de que el recuento elevado de plaquetas, especialmente en el contexto de la ID, puede conducir a un aumento del riesgo tromboembólico en los sistemas arterial y venoso. Evstatiev, (2016), presentó los mecanismos de la trombocitosis inducida por ID y resumió sus consecuencias clínicas especialmente en pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedad renal crónica o cáncer. Planteó la hipótesis de que la ID es un factor de riesgo tromboembólico subestimado, y que la terapia de reemplazo de hierro puede convertirse en una estrategia preventiva eficaz en una variedad de entornos clínicos.

La ID y la activación inmune son las dos causas más frecuentes de anemia, ambas basadas en alteraciones de la homeostasis del hierro. La IDA se debe a una reducción del contenido de hierro del cuerpo debido a la pérdida de sangre, una ingesta dietética inadecuada de hierro, su malabsorción o una mayor demanda de hierro. La activación inmune conduce a una desviación de los flujos de hierro de la médula ósea eritropoyética, donde tiene lugar la hemoglobinización, a sitios de almacenamiento, particularmente el sistema de fagocitos mononucleares en el hígado y el bazo. Esto da como resultado eritropoyesis y anemia limitadas con hierro. Esta revisión (Nairz et al., 2016) resume los conceptos diagnósticos y fisiopatológicos actuales de la IDA y la anemia de la inflamación, así como las condiciones combinadas, y proporciona una visión breve de las nuevas opciones terapéuticas.

La anemia es frecuente en los países en desarrollo y suele estar relacionada con la ID. Hubo una asociación entre los niveles de hemoglobina y la mortalidad por todas las causas (Shi et al., 2017). La anemia se asoció con un mayor riesgo de mortalidad por todas las causas y la ECV en hombres pero no en mujeres después de ajustar los potenciales factores de confusión. Una baja y alta ingestión de hierro como porcentaje de nutrientes recomendado chino (RNI) se asociaron positivamente con la mortalidad por todas las causas en las mujeres, pero no en los hombres. Tanto los niveles bajos como altos de hemoglobina están relacionados con un mayor riesgo de mortalidad por todas las causas. Tanto el consumo bajo como alto de hierro como porcentaje del RNI se asoció positivamente con la mortalidad en mujeres.

Sharma et al., (2016), su objetivo fue estimar la prevalencia y el patrón de ID en pacientes con IC con o sin anemia. Su estudio destaca la todavía subestimada y

descuidada carga de ID en pacientes con IC en la India. Este estudio sugiere más estudios a gran escala para caracterizar mejor esta condición fácilmente tratable y considerar las pruebas de rutina en futuras directrices indias.

La IDA se asocia con una serie de patologías gastrointestinales distintas de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y también con trastornos hepáticos. Diferentes factores como la hemorragia crónica, la malabsorción y la inflamación pueden contribuir a la IDA. Aunque los pacientes con síntomas de anemia son frecuentemente referidos a gastroenterólogos, el enfoque para el diagnóstico y selección del tratamiento, así como las medidas de seguimiento no está estandarizado y subóptimo. La ID, incluso sin anemia, puede afectar sustancialmente la función física y cognitiva y reducir la calidad de vida. Por lo tanto, la evaluación regular del estado de hierro y la conciencia de las consecuencias clínicas del deterioro del estado de hierro son fundamentales (Stein et al., 2016).

La enfermedad hepática crónica se acompaña de múltiples anomalías hematológicas. La IDA es una complicación frecuente de la enfermedad hepática avanzada. La etiología es multifactorial, debido principalmente a una hemorragia crónica en el tracto gastrointestinal. El diagnóstico de IDA es muy difícil, ya que los métodos simples de laboratorio, como el hierro sérico, la ferritina, la T_{sat} y el volumen corpuscular medio, están afectados por la propia enfermedad hepática o por la causa de la enfermedad, resultando en dificultad en la interpretación de los resultados. Se han estudiado varios nuevos parámetros, como la ferritina de glóbulos rojos, el test e índice de receptores de Tf sérica y la hepcidina, por su utilidad al indicar la ID verdadera en combinación con enfermedad hepática crónica (Gkamprela et al., 2017).

Normalmente se asume que la ID causa la mitad de todos los casos de anemias, siendo las otras causas principales los trastornos hereditarios de la sangre y las infecciones como la anquilostomiasis y la malaria. En los países clasificados como bajos, medios y altos por el Índice de Desarrollo Humano, se realizó una revisión sistemática de encuestas representativas a nivel nacional que informaron la prevalencia de ID, anemia ferropénica y anemia entre niños en edad preescolar y mujeres no embarazadas de edad reproductiva. Utilizando técnicas de metanálisis de efectos

aleatorios, se agruparon datos de 23 países para preescolares y mujeres no embarazadas en edad reproductiva, y se estimó la proporción de anemia atribuible a la ID por región, exposición a la inflamación, prevalencia de la anemia y población urbana/configuración rural. Petry et al., (2016), a pesar de la gran heterogeneidad, sus análisis sugieren que la proporción de anemia asociada a la ID es menor que la que se suponía anteriormente en un 50 % en los países con rango de índice de desarrollo humano bajo, medio o alto. Las estrategias y los programas de reducción de la anemia deben basarse en un análisis de los datos específicos de cada país, ya que la ID puede no ser siempre el determinante clave de la anemia.

La IDA es común entre los lactantes y los niños en el África subsahariana y es un importante contribuyente a la carga mundial de enfermedades, así como un obstáculo para el desarrollo nacional (Paganini et al., 2016).

El estado funcional es una de las principales preocupaciones en el manejo de la IC. Recientemente, los ensayos FAIR-HF y CONFIRM-HF demostraron que la corrección de la anemia mediante la administración IV de suplementos de hierro mejoró las variables funcionales en pacientes con deficiencia absoluta o relativa de hierro. Se supone que la deficiencia relativa de hierro es un marcador de severidad de IC, ya que la concentración de ferritina aumenta con las etapas avanzadas de la IC, pero se sabe poco sobre el impacto de la deficiencia absoluta de hierro (AID). Las evaluaciones funcionales más pobres en pacientes con ID previamente reportadas no son causadas por la fusión de dos poblaciones diferentes (es decir, pacientes con deficiencia absoluta o relativa de hierro). Pozzo et al., (2017), su estudio ha confirmado que los pacientes con IC no anémicos con AID tienen un menor consumo de oxígeno. Sin embargo la AID no tiene ningún impacto en la supervivencia de estos pacientes.

La ID es una comorbilidad frecuente de enfermedades crónicas como la EII que puede afectar gravemente la salud y la calidad de vida de las personas afectadas. Puede existir como una condición silenciosa y manifestarse en síntomas no específicos incluso en ausencia de anemia. A pesar de que la IDA es la complicación más común y la manifestación extra-intestinal de la EII de los pacientes que son diagnosticados con anemia ferropénica y no son tratados. Bou-Fakhredin et al., (2017), en esta revisión, analizaron la ID y la IDA en pacientes con EII y revisaron las opciones diagnósticas y

terapéuticas. Debe haber un acuerdo más unánime entre las diferentes sociedades sobre los valores de corte diagnóstico específicos para los niveles de proteína C reactiva, ferritina sérica y T_{sat} para diferenciar la IDA de la anemia de la enfermedad crónica.

La ID, incluso en ausencia de anemia, puede ser debilitante, y exacerbar cualquier enfermedad crónica subyacente, dando lugar a una mayor morbilidad y mortalidad. La ID es frecuentemente concomitante con la enfermedad inflamatoria crónica; sin embargo, a menudo pasa por alto el tratamiento de la ID, debido en parte a la heterogeneidad entre las guías de práctica clínica. En ausencia de una guía coherente a través de la ICC, la enfermedad renal crónica y la EII, ofrecen recomendaciones prácticas para la deficiencia de hierro a los médicos que tratan: definición, diagnóstico y algoritmos diagnósticos específicos de la enfermedad (Cappellini et al., 2017). Estas recomendaciones deben facilitar el diagnóstico y el tratamiento apropiado de la ID para mejorar la calidad de vida y los resultados clínicos.

Las guías de práctica clínica recomiendan estudios de video cápsula endoscópica (VCE) en pacientes con anemia ferropénica después de las endoscopias convencionales superior e inferior, pero hay necesidad de estudios que demuestren el rendimiento diagnóstico, el impacto clínico y el costo en algunos subgrupos de pacientes. El rendimiento de diagnóstico VCE es bajo en el estudio etiológico de IDA en mujeres pre-menopáusicas y no hay rentabilidad en relación con el impacto clínico (Garrido Durán et al., 2015).

La anemia es un problema global que afecta a la población tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados, y existe un debate sobre el límite de hemoglobina que se debe utilizar para definir la anemia en la población general y particularmente en los ancianos. Buttarello, (2016), presentó un enfoque de laboratorio para diagnosticar las posibles causas de la anemia basadas en parámetros tradicionales y nuevos eritroides. En este artículo, se proporcionan algoritmos de diagnóstico prácticos que abordan el diagnóstico diferencial de la anemia. A partir de las clasificaciones morfológicas y cinéticas, se consideraron tres patrones: microcítico, normocítico y macrocítico. Los parámetros de los eritrocitos y los índices de reticulocitos desempeñan un papel esencial en el diagnóstico diferencial de la anemia y en su tratamiento. Se

necesitan más esfuerzos para armonizar los parámetros cuyos resultados son todavía demasiado diferentes cuando son producidos por diferentes analistas.

El cáncer gástrico es muy prevalente en Cachemira, al igual que las neoplasias malignas gastrointestinales inferiores. El cáncer de colon, el cáncer gástrico y la enfermedad celíaca (EC) son las causas gastrointestinales más importantes de la IDA en todo el mundo. Aproximadamente el 9 % de los pacientes con IDA presentan una lesión sospechosa en el tracto gastrointestinal tras el examen. Sin embargo, la ausencia de síntomas gastrointestinales y una posible lesión responsable de la pérdida de sangre en la IDA no se han estudiado en esta zona con una alta prevalencia de malignidad gastrointestinal. Kadla et al., (2016), su objetivo fue examinar a los pacientes con IDA sin síntomas gastrointestinales para determinar la causa más plausible de su pérdida de sangre. A la luz de la alta incidencia de neoplasias malignas gastrointestinales en este grupo de pacientes, se necesita un umbral bajo para el cribado gastrointestinal, así como un cribado masivo para la IDA.

La IDA es un problema común en todo el mundo, y los médicos de todas las especialidades deben ser competentes en su tratamiento. Mientras que la mayoría de los pacientes responden bien a las preparaciones orales de hierro, una minoría sustancial presenta efectos secundarios que hacen que se adhieran mal a su tratamiento. Para los pacientes con intolerancia al hierro oral, los que responden mal a pesar de una buena adherencia, y los que tienen anemia grave y/o sintomática, el hierro IV es una excelente alternativa. Sin embargo, es más caro y conlleva un riesgo muy pequeño pero potencialmente mortal en las infusiones severas por reacciones de hipersensibilidad. Después de describir las principales características del metabolismo del hierro, Taylor y Rampton, (2015), en esta revisión compararon las indicaciones para la terapia con hierro oral e IV, y se centraron en cómo maximizar la eficacia y la seguridad de las dos rutas diferentes.

La ID causa consecuencias adversas a largo plazo para los niños y es la deficiencia nutricional más común en todo el mundo (Goheen et al., 2016).

La anemia es el desorden hematológico más común que afecta a la humanidad y se observa generalmente en estados de enfermedad crónicos tales como anemia no

específica, que puede causar dificultades diagnósticas. En los enfermos crónicos con anemia, esto tiene un impacto negativo en la calidad de vida, así como la supervivencia. Madu y Ughasoro, (2017), este trabajo tiene como objetivo revisar la patogénesis de esta forma de anemia con el fin de sugerir objetivos futuros para la intervención terapéutica. La capacidad de diagnosticar este trastorno depende de la capacidad del médico para correlacionar las posibles vías clínicas de la enfermedad subyacente con el estado ferrocínético de los pacientes. Es importante destacar la ID y otras causas de la anemia, ya que el diagnóstico erróneo en la mayoría de los casos conduce a una refractaria a la terapia estándar. Las citoquinas y las proteínas de fase aguda juegan un papel importante en la patogénesis de la anemia de la enfermedad crónica. Las alteraciones en el metabolismo del hierro a través de la molécula hepcidina y ferritina son en gran parte responsables de la consiguiente anemia. La ID concomitante podría estar presente y podría afectar al diagnóstico y al protocolo terapéutico. Las opciones de tratamiento incluyen el uso de estimulantes de la eritropoyesis, la transfusión de sangre y los suplementos del hierro, además de tratar la enfermedad subyacente.

En la última década se ha puesto de manifiesto que, de manera similar a las células nucleadas, los glóbulos rojos enucleados son susceptibles a la muerte celular programada por apoptosis. La apoptosis eritrocítica parece desempeñar un papel en el aclaramiento fisiológico de los hematíes envejecidos, pero también puede estar implicada en la anemia de diferentes fuentes etiológicas, incluyendo la terapia con fármacos y las enfermedades infecciosas. En la malaria, la anemia grave es una complicación común que conduce a la muerte de niños y mujeres embarazadas que viven en las regiones endémicas de África. La patogénesis de la anemia palúdica es multifactorial e implica tanto la producción ineficaz de glóbulos rojos por la médula ósea como la eliminación prematura de glóbulos rojos no parasitados, fenómenos potencialmente asociados con la apoptosis. Totino et al., (2016), discutieron las evidencias que asocian la apoptosis eritrocítica con la patogénesis de la anemia grave de la malaria, así como la regulación de la depuración del parásito en la malaria. Los esfuerzos para comprender el papel de la apoptosis eritrocítica en la anemia palúdica pueden ayudar a identificar objetivos potenciales de intervención terapéutica basados en vías apoptóticas y, en consecuencia, mitigar los efectos nocivos de la malaria en la salud pública mundial.

La IDA se asocia con la EC. Aunque la dieta libre de gluten es un tratamiento eficaz para la EC, la IDA sigue siendo un hallazgo ocasional durante el seguimiento y se correlaciona con la exclusión inadecuada de gluten. Poco se sabe acerca de la IDA persistente a pesar de la dieta libre de gluten eficaz. Efthymakis et al., (2017), su objetivo fue evaluar el papel de la endoscopia de la cápsula del intestino delgado en ese contexto. La endoscopia de la cápsula del intestino delgado dio resultados significativos en el 23 % de los celíacos con IDA persistente a pesar de la dieta libre de gluten adecuada. Estos se asociaron a hipoalbuminemia, lo que indica su presencia en estadios más graves de la enfermedad.

La anemia se define como la hemoglobina por debajo del límite de normalidad en los estudios que examinan el tracto gastrointestinal (GI) en la IDA. Aunque el riesgo de cáncer GI aumenta a medida que disminuye la hemoglobina, las pautas no suelen recomendar umbrales de hemoglobina para la investigación de IDA. No solo el cáncer GI, sino también las angiodisplasias difusas causaron la anemia más grave en IDA con valores predefinidos de hemoglobina < 9 g/dL (Bosch et al., 2017).

La esferocitosis hereditaria debe sospecharse siempre frente a un niño con anemia, hiperbilirrubinemia, esplenomegalia o litiasis biliar sin causa evidente, en el asintomático con antecedente familiar positivo y en el neonato con hiperbilirrubinemia sin incompatibilidad. Su detección precoz es fundamental para evitar el kernicterus. El seguimiento de estos niños incluye un control periódico estricto, y se debe informar sobre las pautas de alerta frente a crisis hemolíticas o aplásicas, así como la pesquisa precoz de litiasis biliar. Por lo general, la decisión de esplenectomía está más asociada a calidad que a riesgo de vida y debe ser una decisión consensuada entre paciente, padres y médicos tratantes. El seguimiento posterior se basa en el control del cumplimiento del tratamiento antibiótico profiláctico y la caracterización temprana de todo episodio infeccioso (Comité Nacional de Hematología et al., 2015).

Enjuanes et al., (2016), su objetivo fue evaluar el efecto del déficit de hierro y la anemia en la capacidad de esfuerzo submáxima de pacientes con ICC. El déficit de hierro se definió como un valor de ferritina < 100 ng/mL o una Tsat < 20 % cuando la ferritina era < 800 ng/mL. Se efectuaron también determinaciones de otros marcadores

del estado del hierro. En los pacientes con ICC, el déficit de hierro, pero no así la anemia, se asoció con deterioro de la capacidad de ejercicio submáxima y limitación funcional sintomática.

Tanto un exceso de hierro como la ID puede dar lugar a problemas cardíacos importantes. Los parámetros que representan la heterogeneidad de la repolarización ventricular, como la dispersión QT (QTd), la dispersión QT corregida (QTcd), el intervalo entre el pico y el final de la onda T (Tp-e) y la dispersión Tp-e, no han sido evaluados en niños sanos con bajos niveles de hierro con anterioridad. Karadeniz et al., (2017), sus resultados mostraron que un bajo nivel de ferritina sérica se asocia con cambios en algunos parámetros del electrocardiograma (ECG) como el PWD prolongado, el intervalo Tp-e, el QT, el QTc y dispersiones de TP-e en otros niños sanos y estudios de otras poblaciones indicaron que estos parámetros pueden predecir arritmias en pacientes seleccionados. Estos pacientes pueden considerarse con algún riesgo de desarrollar arritmias. Por lo tanto, una evaluación cuidadosa de estos parámetros del ECG es necesaria en niños sanos con depósitos bajos de hierro.

La anemia es una de las manifestaciones extraintestinales más comunes de la EII. La patogénesis de la anemia en la EII es compleja, pero la ID combinada con la inflamación es el factor más común relacionado con el desarrollo de la anemia. Sin embargo, otras causas, como la vitamina B₁₂ y la deficiencia de folato, hemólisis, mielosupresión y la droga no deben pasarse por alto. Además la ferritina, los marcadores inflamatorios y nuevos parámetros bioquímicos como la hepcidina y el índice de ferritina se están probando como herramienta de diagnóstico. El primer paso para el tratamiento es el control de la actividad de la enfermedad y la suplementación con hierro. Aunque el hierro oral es ampliamente utilizado, la terapia con hierro IV debe considerarse en pacientes que son intolerantes a la terapia con hierro oral, tienen anemia severa y refractaria o están en estado de enfermedad activa. Recientemente, se han introducido nuevas formulaciones de hierro IV y debido a su seguridad y facilidad de uso, se han convertido en la modalidad de tratamiento estándar para controlar la anemia en la EII. La eritropoyetina y la transfusión pueden considerarse en situaciones específicas. La vitamina B₁₂ y los suplementos de folato también son importantes en los pacientes que son deficientes en estos micronutrientes. Dado que la anemia en los

pacientes con EII podrían influir significativamente en el resultado de la enfermedad, se necesitan más estudios y una guía estándar para la EII (Kim, 2015).

Un hombre de 57 años con IDA desarrolló malestar general, disnea de esfuerzo y características de IC desproporcionadas con su anemia (hemoglobina 120 g/L). McGrath et al., (2016), las investigaciones mostraron un ventrículo izquierdo severamente dilatado con una fracción de eyección del 15 %, debido a la cardiomiopatía dilatada. Fue tratado con dosis altas de diuréticos, inhibidores de la ECA y terapia con β -bloqueantes. La investigación subsecuente en su IDA reveló un nuevo diagnóstico de la EC. Después de comenzar una dieta libre de gluten, su función cardíaca mejoró notablemente, con fracción de eyección alcanzando el 70 %, permitiendo que sus medicamentos cardíacos se retirasen. Este caso sugiere un vínculo entre la EC y la cardiomiopatía.

La IC con fracción de eyección conservada (HFpEF) es un síndrome altamente prevalente caracterizado por una elevada morbimortalidad (Lekavich et al., 2015). Los mecanismos fisiopatológicos implicados en la progresión de la enfermedad son multifactoriales y en muchos casos mal descritos (Senni et al., 2014; Upadhyaya et al., 2015). La ID ha surgido como un nuevo factor fisiopatológico y objetivo terapéutico en pacientes con IC con fracción de eyección reducida (HFrEF). En estos pacientes, la ID se asocia a una disminución de la capacidad funcional y disminuyó el riesgo de resultados adversos (Jankowska et al., 2011; Klip et al., 2013). Curiosamente, el tratamiento con carboximaltosa férrica IV resultó en la mejora de la capacidad funcional y disminuyó el riesgo de hospitalizaciones en los ensayos clínicos aleatorios (Anker et al., 2009; Ponikowski et al., 2015).

A pesar de que la prevalencia de la ID en pacientes con HFpEF ha sido reportada como alta (Klip et al., 2013; Kasner et al., 2013), no hay estudios con el objetivo de evaluar las implicaciones fisiopatológicas de ID en pacientes con HFpEF avanzado.

Núñez et al., (2016), en conclusión, encontraron que los parámetros estándar de ID, como la ferritina sérica y el índice de T_{sat} se relacionaron con la capacidad funcional del paciente evaluado por pico VO₂ en HFpEF avanzada.

La anemia es común en pacientes con ICC y un predictor independiente de mal pronóstico. La anemia crónica conduce a hipertrofia ventricular izquierda (VI) e IC, pero sus mecanismos moleculares siguen siendo en gran parte desconocidos. Naito et al., (2009), investigaron los mecanismos, incluida la vía de señalización molecular, de la remodelación cardíaca inducida por la IDA. La sobreexpresión de la concentración de Epo en suero y la fosforilación cardíaca de STAT3 se asocia con un mecanismo adaptativo beneficioso de hipertrofia cardíaca inducida por anemia, y posteriormente, la disminución de los niveles de estas moléculas puede ser fundamental para la transición de hipertrofia cardíaca adaptativa a disfunción cardíaca en anemia a largo plazo. Comprender el mecanismo de la inadaptación cardíaca puede conducir a una nueva estrategia para el tratamiento de la ICC con anemia.

2.3.2 SOBRECARGA DE HIERRO Y SALUD CARDIOVASCULAR

La eficiencia del hierro Fe^{2+} para ceder electrones y la del hierro Fe^{3+} para aceptarlos, es una característica fundamental para muchas reacciones bioquímicas del organismo. Sin embargo, esta característica lo convierte también en un peligro potencial, ya que bajo condiciones aerobias, fácilmente puede catalizar la formación de radicales libres nocivos, especies reactivas de oxígeno o más coloquialmente radicales libres (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

La toxicidad del hierro se basa en la química de Fenton y de Haber-Weiss (Kruszewski, 2003; Papanikolaou y Pantopoulos, 2005), donde pequeñas cantidades del mineral son suficientes para formar radicales hidroxilo (OH^\cdot), a partir de superóxido (O_2^\cdot) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), conocidos como intermediarios reactivos de oxígeno (ROS) (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005; Sarriá et al., 2007).

Cabe mencionar que los ROS se producen inevitablemente por la respiración aerobia y se forman a través de la reducción incompleta de oxígeno molecular en la mitocondria. Así mismo, se pueden generar durante reacciones enzimáticas en otros compartimentos de la célula, tales como peroxisomas, retículo endoplásmico o en el

citoplasma. También se producen en el borde de la membrana celular a través del complejo NADPH oxidasa, una enzima que se expresa principalmente en neutrófilos y macrófagos, pero también es expresada en otros tipos celulares. La NADPH oxidasa es una herramienta importante para la defensa del organismo (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

El potencial redox del hierro no sólo cataliza la formación de radicales hidroxilo; también cataliza la formación de especies reactivas orgánicas, tales como ROOs, Ros, RS o RSOOs. Del mismo modo, el hierro hemo (contenga o no hemoproteínas) cataliza la formación de radicales libres, vía formación de intermediarios de oxoferrilo (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

Finalmente, el hierro ferroso también puede contribuir como reactivo más que como catalizador, para la generación de radicales libres a través de una interacción directa con el oxígeno.

Los radicales libres son especies muy reactivas y promueven la oxidación de proteínas, peroxidación de lípidos de membrana y modificación de ácidos nucleicos.

Un incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno, que va más allá de la capacidad antioxidante del organismo, ocasionando estrés oxidativo, se puede encontrar en ciertas situaciones patológicas como inflamación crónica, reperfusión isquémica causada por una lesión o neurodegeneración (Ischiropoulos y Beckman, 2003; Papanikolaou y Pantopoulos, 2005), y en general las ECVs (Ross, 1999).

Un exceso de hierro con actividad redox agrava el estrés oxidativo y acelera la degeneración tisular. Esto se hace evidente en desórdenes hereditarios o sobrecargas secundarias de hierro.

En condiciones fisiológicas el hierro extracelular se encuentra ligado a la Tf, que además de transportar el hierro a través del plasma, lo mantiene soluble y “prácticamente” no-tóxico, por no ser capaz de llevar a cabo las reacciones de Fenton y Haber-Weiss. En situaciones de sobrecarga de hierro, se satura la capacidad de unión

con la Tf. Así, el hierro no ligado a Tf, se internaliza en tejidos, a través de mecanismos poco definidos que originan daño celular (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

Diversos estudios han investigado el efecto del hierro en la peroxidación lipídica (Crichton et al., 2002; Bartzokis et al., 2007; West y Oates, 2008). El hierro podría estar involucrado en la patología aterosclerótica mediante la promoción de la modificación oxidativa de LDL, aumentando así su potencial aterogénico. La peroxidación lipídica, puede incluso dañar las membranas de otras células; con lo cual se incrementa LDL-colesterol (LDL-C), disminuye HDL-C y se altera la presión sistólica sanguínea; por lo que se define como factor de riesgo de aterosclerosis y ECV (Edison et al., 2008).

La IC es un problema de salud comunitario importante. La prevalencia y la incidencia de la IC han seguido aumentando a lo largo de los años. A pesar de los recientes avances en la terapia de la IC, el pronóstico sigue siendo pobre, la tasa de rehospitalización es muy alta, y la calidad de vida es peor. Las comorbilidades en la IC tienen un impacto negativo en el curso clínico de la enfermedad, deterioran aún más el pronóstico y añaden dificultades al tratamiento del cuadro clínico. Por lo tanto, el manejo exitoso de comorbilidades es muy recomendable además del tratamiento convencional para la IC. Una de las comorbilidades más comunes en la IC es la presencia de ID y anemia. La evidencia actual sugiere que la ID y la anemia son más frecuentes en pacientes con IC y reducción de la fracción de eyección, así como aquellos con IC y fracción de eyección preservada. Por otra parte, la ID y la anemia se denominan predictores independientes de mal pronóstico en la IC. Existe una fuerte relación entre la ID o la anemia y la gravedad del estado clínico de la IC (Çavuşoğlu et al., 2017).

Es habitual para el tratamiento de la anemia el suministro diario y durante un tiempo prolongado de hierro conduciendo en ocasiones a sobrecarga de hierro. La hepatotoxicidad es frecuente en estos pacientes seguida de otras patologías cardiovasculares, endocrinas y musculares. El exceso de hierro podría estar involucrado en la patología aterosclerótica mediante la generación de especies reactivas de oxígeno y la promoción oxidativa de LDL, aumentando así su potencial aterogénico. La peroxidación lipídica, puede incluso dañar las membranas de otras células; con lo cual

se incrementa LDL-C, disminuye HDL-C y se altera la presión sistólica sanguínea; por lo que se define como factor de riesgo de aterosclerosis y ECV (Edison et al., 2008).

La ferritina y el aumento de las reservas de hierro aparecieron por primera vez en la lista de factores de riesgo cardiovascular hace más de 30 años y su papel causal en la patogénesis de la aterosclerosis ha sido muy discutido desde principios de los noventa (Kraml, 2017). Parece que además de los factores tradicionales como la hiperlipoproteinemia, la hipertensión, la diabetes mellitus, la obesidad, la inactividad física, el tabaquismo y la historia familiar, las altas reservas de hierro representan un parámetro adicional que podría modificar el riesgo cardiovascular individual. El papel del hierro en la patogénesis de la aterosclerosis se asoció inicialmente principalmente con su capacidad para catalizar la formación de radicales libres de oxígeno altamente reactivos y la oxidación de las lipoproteínas aterogénicas. Más tarde, quedó claro que el mecanismo es más complejo. La aterosclerosis es un proceso inflamatorio fibroproliferativo crónico y el hierro, a través del aumento del estrés de oxidación, así como directamente, puede controlar tanto las respuestas inmunes nativas como adaptativas. Dentro de la pared arterial, el hierro afecta a todos los tipos de células que participan en el proceso aterosclerótico (monocitos/macrófagos, células endoteliales, células del músculo liso vascular y plaquetas). La mayor parte del hierro intracelular se une a la ferritina, mientras que el hierro redox activo forma una piscina de hierro lábil. Los macrófagos proinflamatorios y antiinflamatorios dentro de la placa arterial difieren con respecto a la cantidad de hierro intracelular y muy probablemente con respecto a su piscina de hierro lábil. Sin embargo, la relación entre la ferritina en plasma y la piscina intracelular de hierro lábil no se ha aclarado completamente. Los datos de estudios de población documentan que el consumo de carne y la falta de actividad física contribuyen al aumento de las reservas de hierro. Los pacientes con hemocromatosis hereditaria, a pesar del almacenamiento extremo de hierro, no muestran una mayor manifestación de aterosclerosis probablemente debido a la baja expresión de hepcidina en los macrófagos.

La cardiomiopatía por sobrecarga de hierro ocurre en una forma primaria rara (es decir, hemocromatosis) y una forma secundaria muy común en una serie de hemoglobinopatías (por ejemplo, talasemia, anemia de células falciformes) de prevalencia global sustancial y creciente que transformado la cardiomiopatía por

sobrecarga de hierro en una epidemia. Se sabe que el calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) es un regulador crítico de la función miocárdica, en el cual desempeña un papel clave en el mantenimiento del acoplamiento excitación-contracción cardíaca. Se ha propuesto que una alteración en la regulación del ciclo cardíaco es un factor importante en la disfunción ventricular izquierda en la cardiomiopatía por sobrecarga de hierro. Khamsekaew et al., (2016), resumen de manera exhaustiva los informes relacionados con los efectos de la sobrecarga de hierro sobre la regulación del calcio cardíaco, incluyendo la alteración en el nivel de calcio intracelular, la función del canal de calcio con voltaje y la actividad de la proteína del ciclo del calcio. Se presentan y discuten informes consistentes, así como hallazgos inconsistentes, tanto de estudios in vitro como in vivo. La comprensión de estos mecanismos ha proporcionado nuevos conocimientos fisiopatológicos importantes y ha llevado al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas y preventivas para pacientes con cardiopatía por sobrecarga de hierro que se encuentran actualmente en ensayos clínicos.

Hay escasas pruebas con respecto al uso de quelantes de hierro en pacientes con hemocromatosis hereditaria que son intolerantes a la flebotomía o a la eritrocitaféresis (Tauchenová et al., 2016). Un hombre de 52 años de edad con hemocromatosis HFE confirmada genéticamente presentaba enfermedad hepática e IC con disfunción sistólica ventricular izquierda grave. Debido a la anemia después del tratamiento inicial, se añadió deferoxamina IV seguida de deferiprona oral a eritrocitféresis menos frecuente, que normalizó la función sistólica en 1 año. La resonancia magnética cardíaca repetida reveló mejoría del tiempo de relajación $T2^*$. Este informe ilustra el efecto beneficioso de los quelantes de hierro en individuos con hemocromatosis HFE y la tolerancia pobre de eritrocitféresis.

Los quelantes de hierro se utilizan para tratar pacientes con cardiopatía por sobrecarga de hierro. Sin embargo, una comparación directa de los beneficios de tres queladores comunes de hierro: 1) deferoxamina (DFO), 2) deferiprona (DFP) y 3) deferasirox (DFX) o un antioxidante (N-acetil cisteína (NAC)) con un DFO combinado y tratamientos de NAC sobre la función ventricular izquierda con sobrecarga de hierro no se han investigado. El tratamiento combinado con DFP y NAC tuvo mayor eficacia que la monoterapia en la cardioprotección mediante la reducción de la deposición

cardíaca de hierro y la mejora de la función mitocondrial cardíaca en ratas sobrecargadas de hierro (Wongjaikam et al., 2016).

Los pacientes con talasemia no dependiente de la transfusión (NTDT) experimentan una amplia gama de complicaciones clínicas a pesar de su independencia de las transfusiones de glóbulos rojos frecuentes y regulares (Saliba y Taher, 2016). Según la comprensión actual de NTDT, estas complicaciones clínicas se derivan de la interacción de múltiples factores fisiopatológicos: eritropoyesis ineficaz, sobrecarga de hierro e hipercoagulabilidad. El estado de anemia crónica e hipoxia resultante de eritropoyesis ineficaz y hemólisis conduce a la expansión de la médula eritroidea y la hematopoyesis extramedular. La eritropoyesis crónica también desencadena un aumento de la absorción intestinal de hierro y la deposición en el hígado y las glándulas endocrinas a pesar de la falta de carga de hierro transfusional. Los pacientes con NTDT también tienen una mayor incidencia de enfermedad tromboembólica, hipertensión pulmonar y isquemia cerebral silenciosa.

El hierro es uno de los elementos más abundantes de la Tierra y un componente fundamental de las enzimas y otras proteínas que participan en una amplia gama de procesos biológicos (Oikonomidou et al., 2016). Como el cuerpo humano no tiene mecanismos para eliminar el exceso de hierro, su metabolismo necesita ser estrictamente controlado para evitar todas las secuelas asociadas con altos niveles de hierro. La sobrecarga de hierro es la principal causa de morbilidad y mortalidad en la beta-talasemia. El regulador maestro de la homeostasis del hierro, la hepcidina, está crónicamente deprimido en este trastorno, lo que lleva a una mayor absorción intestinal de hierro y la consiguiente sobrecarga de hierro. Muchos grupos se han centrado en obtener una mejor comprensión de las vías implicadas en la regulación del hierro. Recientemente se han sintetizado nuevas moléculas y se han utilizado en modelos animales de metabolismo desregulado del hierro, demostrando su capacidad para dirigir y reducir la carga de hierro. Los oligonucleótidos antisentido, así como los pequeños péptidos RNAs de interferencia y minihepcidinas formulados en nanopartículas lipídicas, son agentes novedosos que ya han demostrado ser eficientes en la modulación del metabolismo del hierro en modelos murinos y por lo tanto son candidatos prometedores para el tratamiento de pacientes afectados por trastornos de hierro.

La beta-talasemia es un trastorno hereditario de la hemoglobina causado por la síntesis reducida o ausente de las cadenas de globina beta de la hemoglobina (Kumfu et al., 2017). Esto da lugar a resultados variables que van desde clínicamente asintomáticos a la anemia severa, que entonces típicamente requiere la transfusión de sangre regular. Estas transfusiones regulares de sangre pueden resultar en una condición de sobrecarga de hierro. La condición de sobrecarga de hierro puede conducir a la acumulación de hierro en varios órganos, especialmente en el corazón, lo que lleva a la cardiomiopatía por sobrecarga de hierro, que es la principal causa de mortalidad en pacientes con talasemia. En las últimas décadas, no hay duda de que el uso de ratones β -talasémicos como modelo de estudio para investigar la fisiopatología de la miocardiopatía por sobrecarga de hierro y el papel de diversas intervenciones farmacológicas ha arrojado alguna luz para comprender esta grave complicación y mejorar la disfunción cardíaca asociada. La comprensión en profundidad de alteraciones biomoleculares en el corazón de estos ratones talasémicos con sobrecarga de hierro ayudará a dar una guía para enfoques terapéuticos más eficaces en un futuro próximo.

Las microhemorragias cerebrales están fuertemente ligadas a la disfunción cognitiva en los ancianos. La acumulación de hierro juega un papel importante en la patogénesis de la hemorragia intracraneal. La deferoxamina (DFX), un quelante metálico, elimina la sobrecarga de hierro y protege contra el daño cerebral en la hemorragia intracraneal. En este estudio (He et al., 2016), los efectos protectores de DFX contra las microhemorragias se examinaron en ratones. La acumulación de hierro después de la hemorragia intracraneal indujo un daño secundario grave al cerebro. Propusieron que la acumulación de hierro después de las microhemorragias parietales deterioró la cognición espacial. Después de las microhemorragias parietales múltiples, el aumento del hierro y del contenido de ferritina inducida por la barrera hematoencefálica, la activación microglial, y la pérdida inducida de dendritas, finalmente perjudicó el laberinto de agua, el tratamiento de deferoxamina protegió frente a estos daños.

La prolongación de la repolarización cardíaca (intervalo QT) se ha investigado en estudios de pacientes con sobrecarga de hierro. Sin embargo, previamente no se ha llevado a cabo ningún estudio poblacional anterior que examine el efecto del aumento

de las reservas de hierro en la prolongación del intervalo QT (Henriksen et al., 2016). Han probado la hipótesis de que el aumento de las reservas de hierro y el genotipo hemocromatosis (aumento genético de los depósitos de hierro) se asocian con la prolongación del intervalo QT. Incluyeron 20261 individuos del Danish General Suburban Population Study y examinaron las diferencias en el intervalo QT según la concentración de ferritina, Tsat, concentración de hierro, concentración de Tf y genotipo de hemocromatosis (C282Y/C282Y). Además se realizó un meta-análisis de estudios de casos y controles sobre pacientes con talasemia mayor y intervalo QT. Las asociaciones no fueron explicadas por la inflamación y el genotipo de hemocromatosis no estuvo asociado con la longitud del intervalo QT. En conclusión, el aumento de las reservas de hierro, independiente del genotipo de la hemocromatosis y la inflamación, se asocian con la prolongación del intervalo QTc en los hombres. Este es un hallazgo novedoso. Además el metaanálisis mostró un intervalo QT prolongado en pacientes con talasemia mayor que en controles sanos.

El hígado, como el principal compartimento de almacenamiento de hierro y el lugar de la síntesis de hepcidina, es el órgano central que participa en el mantenimiento de la homeostasis del hierro en el cuerpo. La acumulación excesiva de hierro es un factor importante en la progresión de la enfermedad hepática a cirrosis y carcinoma hepatocelular. Sikorska et al., (2016), revisaron la literatura sobre la patogénesis molecular de la sobrecarga de hierro y sus consecuencias clínicas en las enfermedades hepáticas crónicas. La acumulación excesiva de hierro corporal en la cirrosis hepática es un predictor importante de la insuficiencia hepática y los datos disponibles sugieren que puede ser considerada como objetivo para la terapia adyuvante en esta condición.

La sobrecarga de hierro es un factor pronóstico adverso para pacientes sometidos a trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH). En la configuración de TCMH, la ferritina pre-trasplante y post-trasplante y la Tsat se encontraron elevadas debido a los requisitos de alta transfusión. Además de eso, se demostró que la sobrecarga de hierro post-TCMH estaba relacionada con infecciones, síndrome de obstrucción hepática sinusoidal, mucositis, disfunción hepática y enfermedad aguda de injerto contra huésped. La hiperferritinemia provoca una disminución de las tasas de supervivencia en los entornos pre y post-transplante. Los niveles séricos de ferritina, la resonancia magnética y la biopsia hepática son herramientas de diagnóstico para la sobrecarga de

hierro. La disfunción orgánica debida a la sobrecarga de hierro puede causar altas tasas de mortalidad y por lo tanto se recomienda una terapia de quelación de hierro suficiente en este contexto. En esta revisión se discute el manejo de la sobrecarga de hierro en el TCMH adulto (Atilla et al., 2017).

El hígado juega un papel importante en la homeostasis del hierro: por lo tanto, en pacientes con enfermedad hepática crónica, la regulación del hierro puede estar afectada. Los niveles más altos de hierro están presentes no sólo en pacientes con hemocromatosis hereditaria, sino también en aquellos con enfermedad hepática alcohólica, enfermedad hepática grasa no alcohólica e infección viral por hepatitis C. La enfermedad hepática crónica disminuye las funciones sintéticas del hígado, incluida la producción de hepcidina, una proteína clave en el metabolismo del hierro. Los niveles más bajos de hepcidina dan lugar a una sobrecarga de hierro, lo que conduce a depósitos de hierro en el hígado y a niveles más altos de hierro no ligado a la Tf en el torrente sanguíneo. El hierro combinado con especies reactivas de oxígeno conduce a un aumento de los radicales hidroxilo, que son responsables de la peroxidación de fosfolípidos, la oxidación de las cadenas laterales de aminoácidos, las deformaciones de ADN y la fragmentación de proteínas. El daño celular inducido por hierro puede prevenirse regulando la producción de hepcidina o administrando agonistas de hepcidina. Ambos métodos han dado resultados exitosos en modelos de ratón (Milic et al., 2016).

La sobrecarga de hierro solía estar considerada rara en pacientes en hemodiálisis, pero su frecuencia clínica se está sabiendo cada vez más. El hígado es el sitio principal de almacenamiento de hierro y la concentración de hierro hepático (CHH) está estrechamente correlacionada con las reservas totales de hierro en pacientes con hemosiderosis secundaria y hemocromatosis genética. La resonancia magnética es ahora el método estándar de oro para la estimación y el monitoreo de CHH en pacientes no renales. Los estudios de CHH en pacientes de hemodiálisis por resonancia magnética cuantitativa y susceptometría magnética han demostrado una fuerte relación entre el riesgo de sobrecarga de hierro y el uso de productos de hierro IVs prescritos a dosis determinadas por los límites de biomarcadores de hierro contenidos en las directrices actuales de manejo de anemia. Estos hallazgos han desafiado la validez tanto de los

límites de biomarcadores de hierro como de las guías clínicas actuales, especialmente con respecto a las dosis de hierro IV recomendadas. Tres estudios observacionales a largo plazo han sugerido recientemente que las dosis excesivas de hierro IV pueden estar asociadas con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares y muerte en pacientes en hemodiálisis. Rostoker et al., (2016), postularon que la sobrecarga de hierro iatrogénica en la era de los agentes estimulantes de la eritropoyesis puede aumentar en silencio las complicaciones en pacientes en diálisis sin crear signos y síntomas clínicos francos. Los niveles altos de hepcidina-25 se relacionaron recientemente con eventos cardiovasculares fatales y no fatales en pacientes en diálisis. Por lo tanto, es tentador postular que la vía fisiopatológica principal que conduce a estos eventos puede implicar la hormona principal pleiotrópica hepcidina (sinergizada por el factor de crecimiento de fibroblastos 23), que regula el metabolismo del hierro. El estrés oxidativo como resultado de las infusiones de hierro IV y la sobrecarga de hierro, mediante la liberación de hierro lábil no ligado a la Tf, podría representar un “segundo golpe” en el lecho vascular. Finalmente, la deposición de hierro en el miocardio de pacientes con sobrecarga severa de hierro también podría desempeñar un papel en la patogénesis de la muerte súbita en algunos pacientes.

La nueva ecocardiografía tridimensional de seguimiento de manchas (3DSTE) puede permitir una cuantificación completa de la mecánica miocárdica ventricular izquierda mundial. El índice compuesto del ventrículo izquierdo de deformación, torsión y disincronía derivado de 3DSTE permite la detección sensible de la sobrecarga de hierro miocárdico en pacientes con talasemia (Li et al., 2016).

Faruqi et al., (2016), estudiaron los parámetros del intervalo QT en pacientes con talasemia mayor y su asociación con los niveles séricos de ferritina. La electrocardiografía podría ser un medio útil para la detección preclínica de la afectación cardíaca debido a la sobrecarga de hierro en pacientes con talasemia mayor.

La aparición de deposición de hierro cardíaco es uno de los defectos tardíos del hierro sobre la carga que causa la ECV en los pacientes afectados por la beta-talasemia mayor. La evaluación de algunos factores de riesgo cardiovascular juega un papel crucial en la predicción y prevención de la ECV. Un nivel más alto de algunos factores de riesgo como el equilibrio pro-oxidante-antioxidante, la concentración de la relación

apoB/A1 y los perfiles lipídicos puede implicarse en las consecuencias patológicas pronósticas en pacientes con beta-talasemia mayor. Aun así, contribuyen al desarrollo gradual de las ECVs (Ghorban et al., 2016).

Ari et al., (2017), el propósito de su estudio es determinar la disfunción temprana del miocardio en pacientes con β -talasemia mayor. Cuando la disfunción miocárdica no puede ser detectada por ecocardiografía convencional, puede detectarse mediante la ecografía Doppler (TDI) o la ecocardiografía de localización de manchas (STE). Aunque la Imagen por Resonancia Magnética T2* (T2* MRI)* es la prueba más sensible para detectar la carga de hierro miocárdico, TDI y STE se pueden utilizar para la detección de la disfunción miocárdica. Los valores de deformación anormal, especialmente circunferenciales, pueden ser detectados como el primer hallazgo de carga anormal de hierro y relacionado con los valores de T2*.

Antes de la introducción de agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE) en 1989, las transfusiones repetidas dadas a los pacientes con enfermedad renal terminal causaron sobrecarga de hierro, y la necesidad de hierro suplementario era rara. Sin embargo, con la introducción generalizada de los AEE, se reconoció que el hierro suplementario era necesario para optimizar la respuesta de la hemoglobina y permitir la reducción de la dosis de los AEE por razones económicas y las preocupaciones recientes sobre la seguridad de los AEE. También se encontró que la suplementación con hierro era más eficaz vía IV en comparación con la administración oral, y el uso de hierro IV se ha intensificado en los últimos años. La seguridad de varios compuestos de hierro ha sido de interés teórico debido a su potencial para inducir sobrecarga de hierro, estrés oxidativo, reacciones de hipersensibilidad y un ambiente permisivo para procesos infecciosos. Por lo tanto, se convocó un grupo de expertos para evaluar los beneficios y riesgos del hierro parenteral y para proporcionar estrategias para su uso óptimo mientras se mitiga el riesgo de reacciones agudas y otros efectos adversos (Macdougall et al., 2016).

Diversos factores de riesgo se asocian claramente con aterosclerosis: edad, género, dislipemias, tabaquismo, hipertensión, diabetes mellitus, obesidad y estilo de vida sedentario. Sin embargo, se sugiere que la causa de casi la mitad de los casos de

aterosclerosis no se define por dichos factores. De ahí que la investigación de los posibles factores de riesgo o protección de ECVs sigue siendo motivo de estudio (Meyers, 2000).

En 1981, Jerome Sullivan propuso que la ID era un posible factor protector contra ECVs. Inicialmente, la “hipótesis de hierro” fue formulada para explicar las diferencias entre sexo y riesgo cardiovascular, de modo que la menstruación en las mujeres constituiría un factor que condicionaría un escaso reservorio corporal de hierro y por tanto menor riesgo cardiovascular. Sin embargo, este razonamiento es aún motivo de discusión (Sullivan, 1981; Sullivan, 2007; Fanchini, 2008; Sullivan, 2009).

En 1992, Salonen et al., publicaron un estudio prospectivo acerca de la hipótesis del hierro y las ECVs. Se encontró que una asociación positiva entre las concentraciones de ferritina sérica, indicador de almacenes de hierro, y determinados factores de riesgo de ECVs. La asociación fue fuerte en hombres con altos niveles de LDL-C sérico, sugiriendo un papel sinérgico de altos depósitos de hierro y altos niveles de LDL-C (Lauffer, 1991). Estos hallazgos fueron confirmados por otros investigadores, que muestran que el exceso de hierro estimula la formación de lesiones ateroscleróticas en conejos hipercolesterolémicos (Sullivan, 1990). Kiechl et al., (1994), comprobaron en un estudio asintomático de aterosclerosis carotídea evaluado por ecografía dúplex, la existencia de una fuerte correlación entre la aterosclerosis y los depósitos de hierro en hombres y mujeres, los cuales fueron más prominentes cuando se asociaron con hipercolesterolemia.

Por lo tanto, aunque hay pruebas de que la cantidad total de hierro en el cuerpo está relacionada con la enfermedad aterosclerótica, no está claro si es una relación gradual ni la existencia de una relación causa-efecto. Además los procesos inflamatorios que cursan con ferritina elevada constituirían un factor de confusión. No obstante, sí se conoce una clara relación entre sobrecarga de hierro, peroxidación lipídica elevada y cirrosis hepática en enfermos de hemocromatosis hereditaria (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

En las enfermedades hepáticas, la hiperferritinemia (HYF) está relacionada con células heridas en condiciones genéticas adquiridas y con o sin sobrecarga de hierro. Es

frecuente en pacientes con enfermedad hepática grasa no alcohólica (NAFLD), en la que es necesaria definir la media de HYF para establecer el mejor enfoque para ellos. El presente estudio (Barros et al., 2017) evaluó la importancia de la ferritina elevada en pacientes con NAFLD y esteatohepatitis (NASH). La HYF en pacientes con NAFLD/NASH se asocia más frecuentemente con lesión hepatocelular que la hemocromatosis. Estos datos sugieren la importancia de evaluar cuidadosamente HYF en pacientes con NAFLD/NASH para establecer el enfoque clínico apropiado.

Por otro lado, en un estudio epidemiológico de envejecimiento (Barbieri et al., 2001), se ha observado una interesante asociación positiva entre resistencia a la insulina e hiperlipemia y número de eritrocitos. La hiperinsulinemia es en sí misma un factor de riesgo independiente de ECVs, debido a la capacidad de la insulina de promover el crecimiento de células vasculares y aterosclerosis. Además, se ha visto *in vitro* que el efecto de la insulina sobre el crecimiento celular ocurre también en las células eritropoyéticas. Un incremento de la masa eritrocitaria se asocia con ECV (Barbieri et al., 2001). Barbieri et al., (2001), demostraron *in vivo* que en la resistencia a la insulina hay un incremento en el número de glóbulos rojos, lo cual contribuye a que las personas con síndrome de resistencia a la insulina, tengan un alto riesgo de desarrollar ECVs.

2.4 BIOMARCADORES DE SALUD CARDIOVASCULAR

El ARN circular (ARNcirc), un nuevo tipo de ARN endógeno no codificante (ARNnc), se ha convertido en un punto de conflicto de investigación en los últimos años. Los ARN circulares son abundantes y existen estables en los organismos vivos, y se encuentran con estructuras de bucle cerrado covalentemente en las que son muy diferentes de los ARN lineales. Actualmente un número creciente de científicos han demostrado que los ARN circulares pueden haber desempeñado un papel esencial en la regulación de la expresión génica (Figs. 5, 6 y 7), especialmente actuando como esponjas microARNs (miARN). Han descrito los mecanismos potenciales de varios ARNcirc en las enfermedades, haciendo alusión a sus valores clínicos terapéuticos. Fan et al., (2017), en esta revisión, resumieron la comprensión actual de la biogénesis y las propiedades de los ARNcirc y sus funciones y el papel como biomarcadores en las

ECVs. Los miARNs (o miRs) endógenos son 19-22 nucleótidos, pequeños ARN no codificantes con expresión altamente conservadora y específica de tejido, pueden modular negativamente las expresiones de los genes diana a través de la disminución de la transcripción de ARNm. Se ha informado que el MiR-222 desempeña papeles importantes en una variedad de procesos fisiológicos (Fig. 8) y patológicos (Fig. 9) en el corazón. Ding et al., (2017), aquí han revisado los estudios recientes sobre los papeles de miR-222 en las ECVs. MiR-222 puede ser un potencial biomarcador cardiovascular y un nuevo objetivo terapéutico en las ECVs.

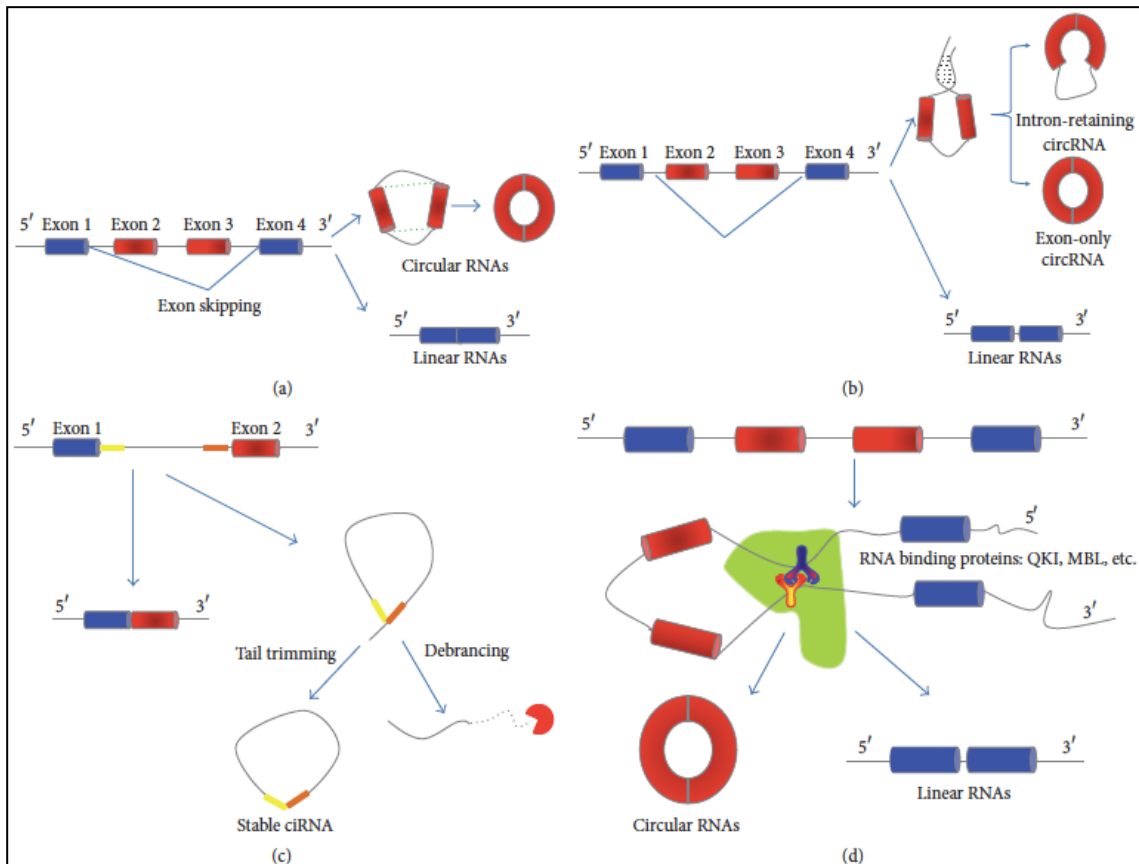


Figura 5. Modelos de biogénesis de ARNcirc (Fan et al., 2017).

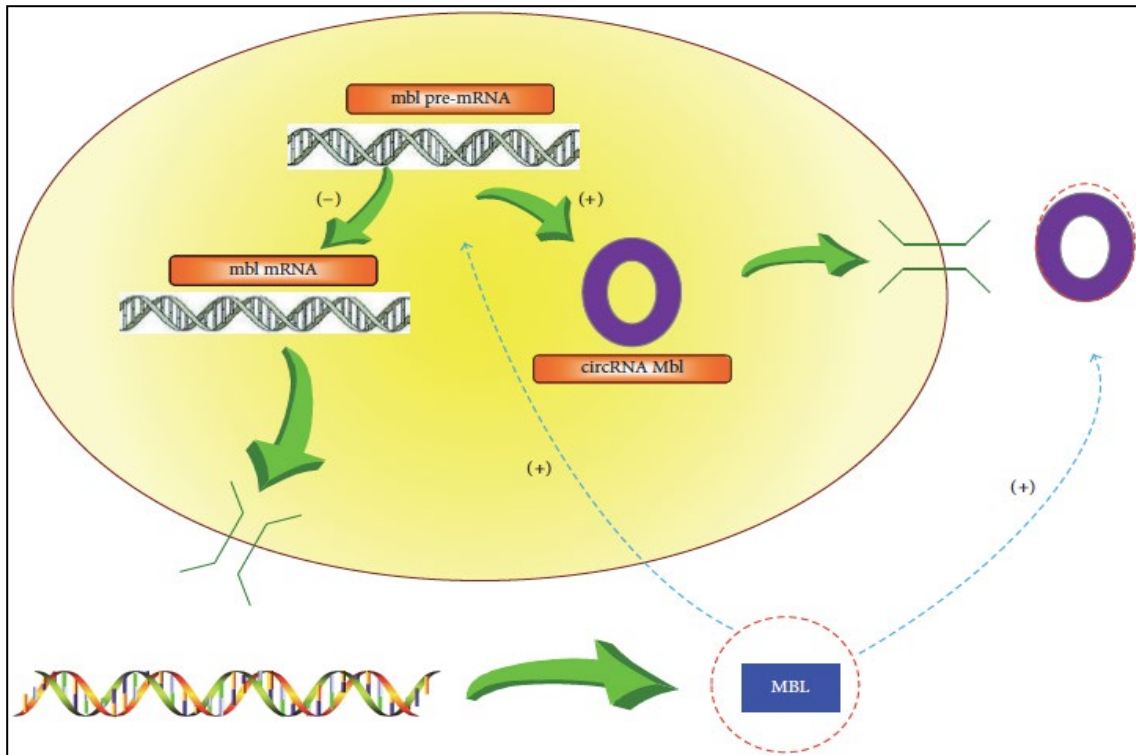


Figura 6. Un modelo de mbl circular (Mblcirc) y MBL (Fan et al., 2017).

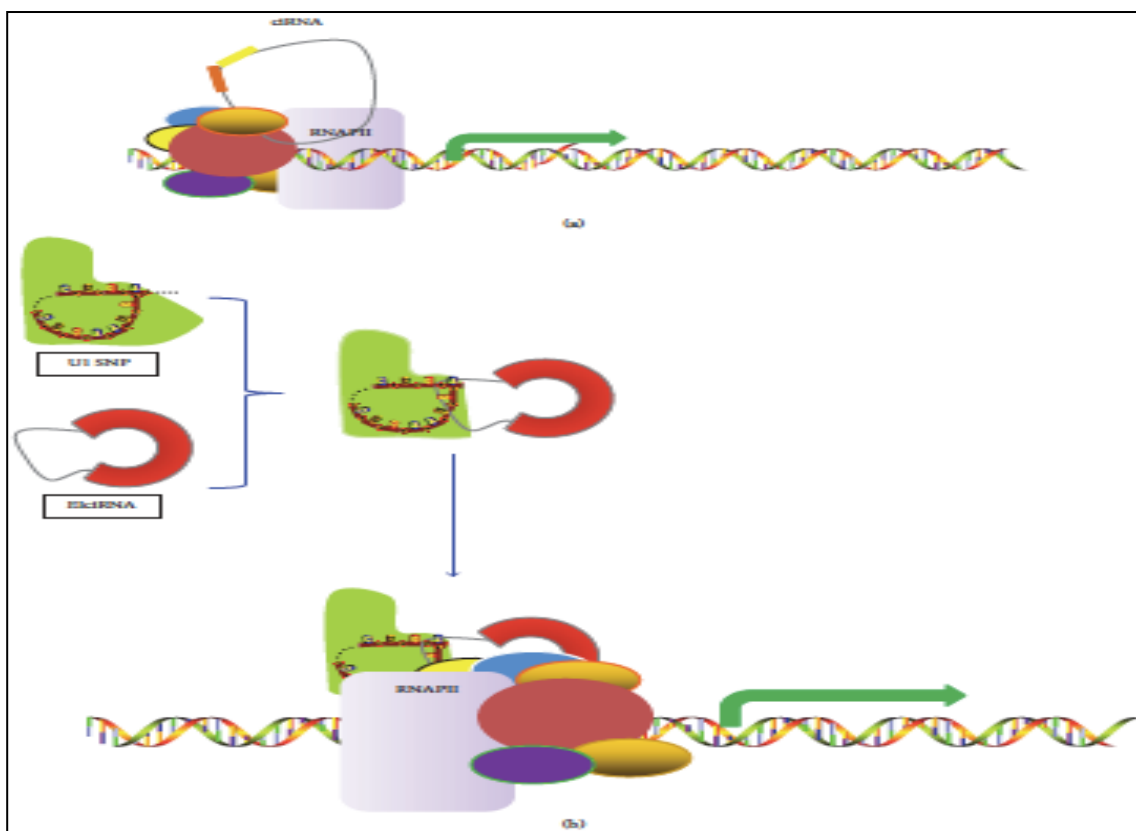


Figura 7. Modelo de ARNcirc que regula un gen parental (Fan et al., 2017).

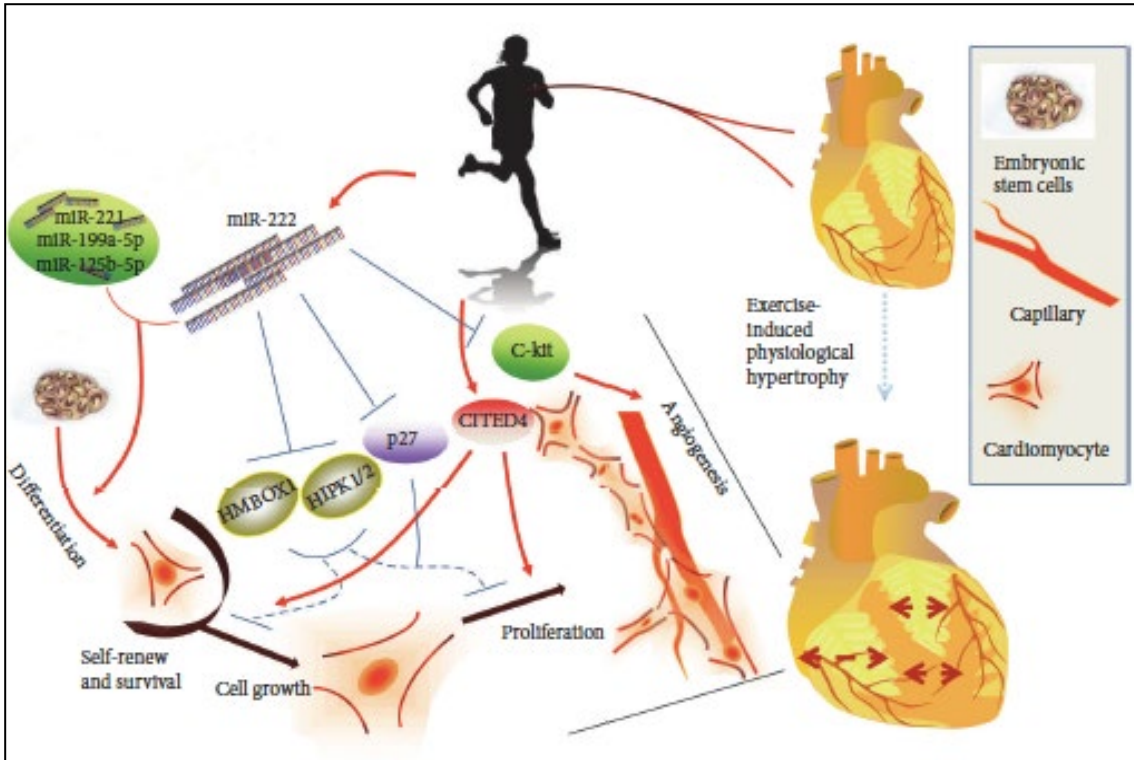


Figura 8. Funciones fisiológicas múltiples de miR-222 (Ding et al., 2017).

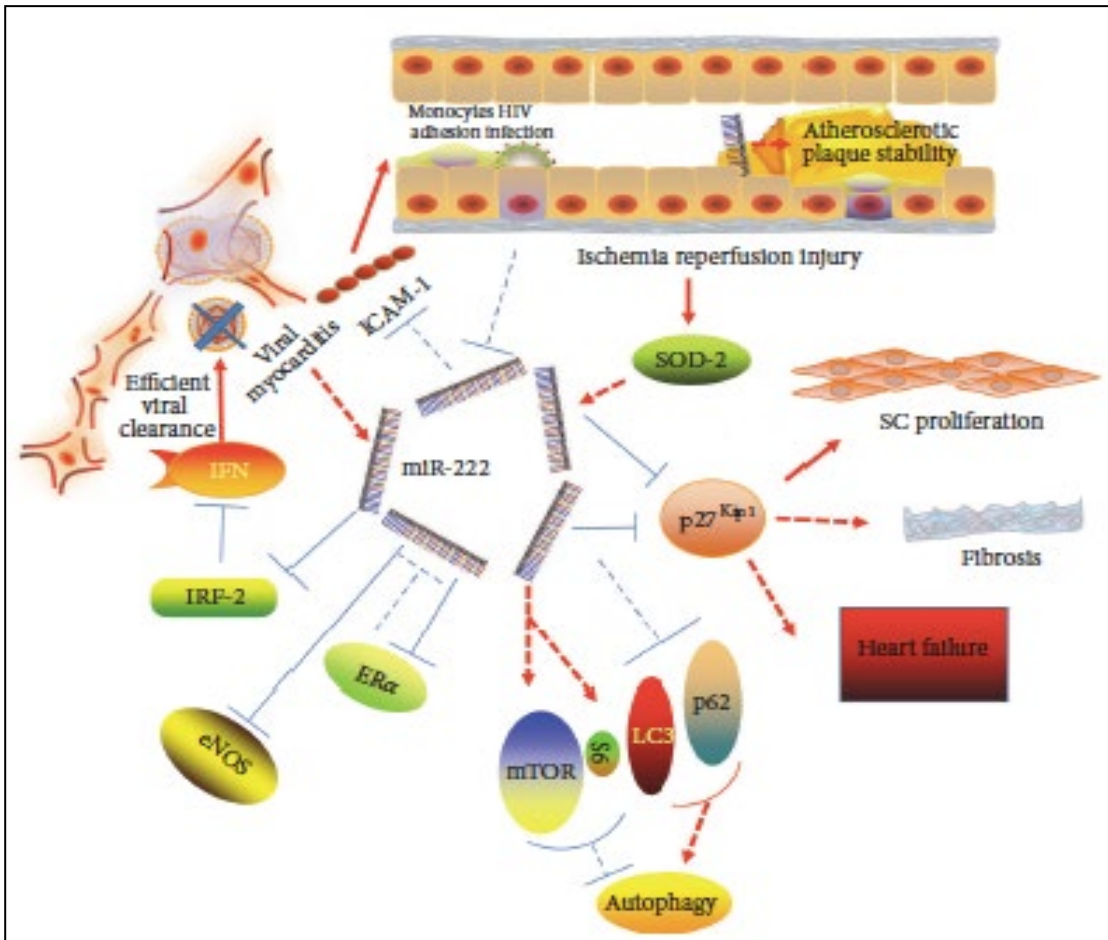


Figura 9. Funciones patológicas múltiples de miR-222 (Ding et al., 2017).

Las plaquetas son cruciales para la fisiología de la coagulación para mantener el equilibrio hemostático y están implicadas en diversas patologías como la aterosclerosis y la trombosis. Los estudios de los últimos años han demostrado que las plaquetas son capaces de tener éxito en la síntesis de proteínas. Adicionalmente, la traducción de ARNm en plaquetas de sangre está regulada por moléculas de miARN. Trabajos recientes postulan la posibilidad de utilizar miARNs como biomarcadores de la aterosclerosis y los episodios isquémicos. Bijak et al., (2016), este artículo de revisión describe estudios clínicos que presentaron cambios de perfil de expresión de miARNs de plaquetas en diferentes estados trombóticos, lo que sugiere el uso de estas moléculas como biomarcadores predictivos.

La caveolina-1 (CAV-1) ha sido identificada recientemente como un potencial regulador de la fisiología y fisiopatología del músculo liso (Thyberg, 2003). Las caveolinas (CAVs) son las unidades estructurales de los orgánulos de las caveolas. Los microdominios Caveolae están asociados con eventos de señalización críticos en varios tipos de células. Múltiples estudios han demostrado que las CAVs no solo forman andamios para el ensamblaje de moléculas de señalización, sino que también regulan el estado de activación de estas moléculas asociadas a la CAV (Razani y Lisanti, 2001; Razani et al., 2002). Por ejemplo, se demostró que CAV-1 regula negativamente el estado de activación de la sintetasa endotelial óxido nítrico, así como v-Src, H-Ras y quinasa regulada por señal extracelular (ERK1/2) (Smart et al., 1999; Razani y Lisanti, 2001; Razani et al., 2002). Por lo tanto, se sugirió que CAV-1 puede poseer capacidades supresoras de tumores (Galbiati et al., 2001). Anteriormente, Hassan et al., (2006), demostraron que la ablación de la expresión génica de CAV-1 en ratones promueve la hiperplasia neointimal *in vivo*, un fenómeno normalmente caracterizado por la migración y la proliferación de células del músculo liso.

Uno de los mediadores bioactivos más importantes liberados por el tejido adiposo es la adipocina adiponectina. La adiponectina es muy abundante en la circulación de individuos sanos, y posee acciones metabólicas y antiinflamatorias bien descritas (Figs. 10 y 11). Los niveles de adiponectina disminuyen al aumentar la masa corporal, y los niveles bajos están relacionados con el desarrollo de hipertensión arterial

pulmonar (HAP) en ratones. Además se ha demostrado, que la sobreexpresión de adiponectina protege a los ratones del desarrollo de HAP en respuesta a la inflamación y la hipoxia. Summer et al., 2011, sugirieron que los efectos de la adiponectina están mediados, en parte, a través de sus propiedades antiinflamatorias y antiproliferativas.

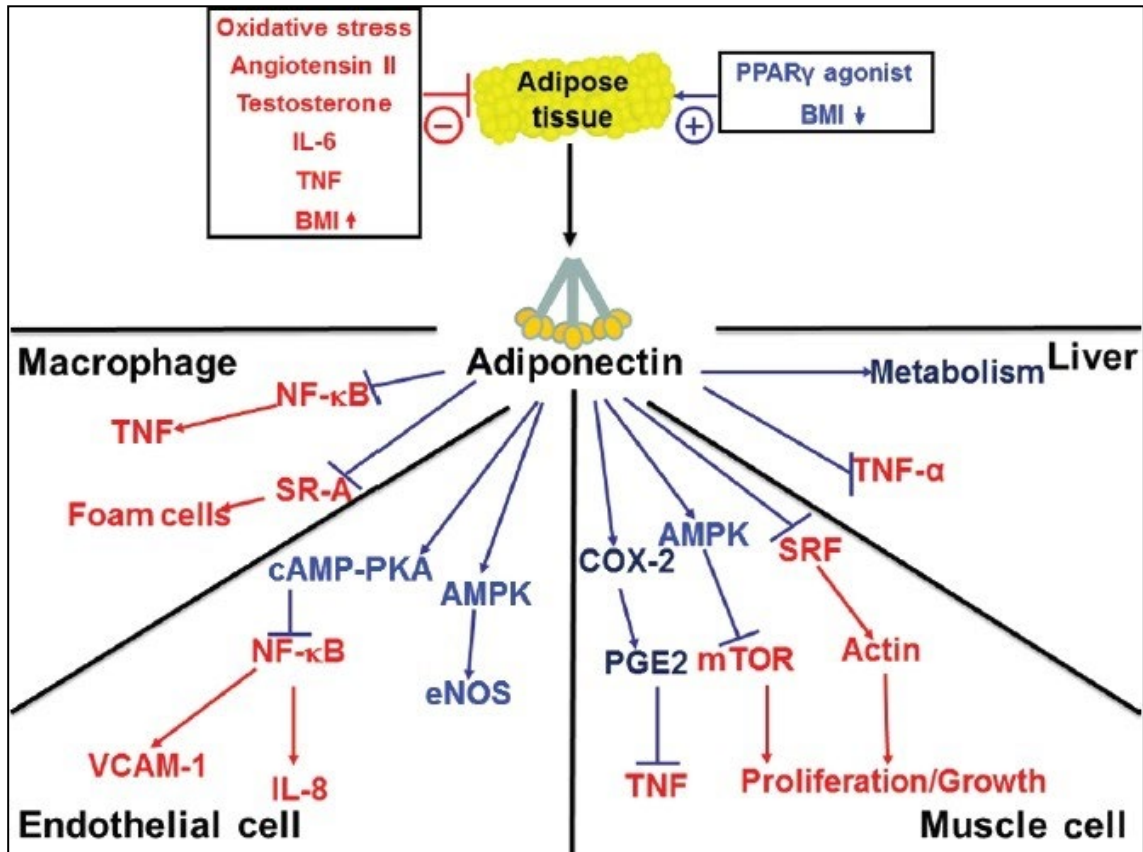


Figura 10. Efectos de la adiponectina en los objetivos celulares clave (Summer et al., 2011).

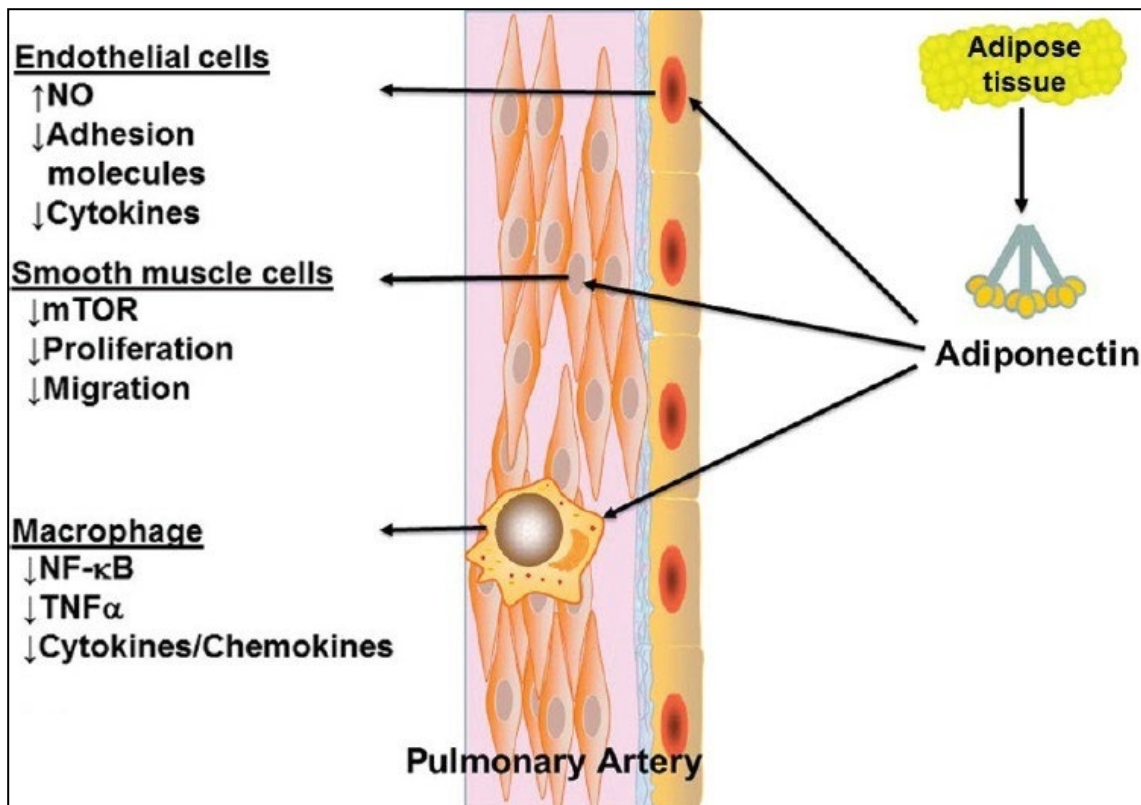


Figura 11. Efectos de la adiponectina en la vasculatura pulmonar (Summer et al., 2011).

La citokina inducida por los neutrófilos quimioatrayente-1 (CINC-1/GRO/KC), originalmente identificado como quimioatrayente en células epiteliales de riñón de rata, está relacionada con células de Kupffer (KC) humana y gro murina. Las proteínas codificadas por estos genes pertenecen a la superfamilia de quimiocinas alfa, la mayoría de las cuales tienen actividad quimiotáctica de neutrófilos (Liu et al., 1993). Dado que las quimiocinas cerebrales pueden desempeñar un papel significativo en la acumulación de neutrófilos en la isquemia cerebral que puede contribuir a la extensión de la lesión tisular en el accidente cerebrovascular (ACV), examinaron la expresión de ARNm de CINC en la corteza cerebral de ratas sometidas a isquemia cerebral focal inducida por oclusión de la arteria cerebral media (MCAO). Estos estudios sugieren que el mensaje para el quimioatrayente de neutrófilos CINC se induce temprano en el tejido cerebral sometido a isquemia y, por lo tanto, respalda la posibilidad de que las quimiocinas derivadas del cerebro ayuden a la infiltración de células inflamatorias circulantes después de un ACV.

La fibrosis cardíaca es un importante factor patogénico en una variedad de ECVs y se refiere a una deposición excesiva de componentes de la matriz extracelular en el corazón, lo que conduce a una disfunción cardíaca y finalmente a una IC manifiesta. La evidencia demuestra un papel crucial del factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) en procesos fibróticos en varios tejidos, incluido el corazón. El CTGF orquesta las acciones de los factores locales importantes que provocan la fibrosis cardíaca. El papel central del CTGF como una proteína matricelular que modula el proceso fibrótico en la remodelación cardíaca lo convierte en un posible biomarcador para la fibrosis cardíaca y un posible candidato para la intervención terapéutica para mitigar la fibrosis en el corazón (Daniels et al., 2009).

Las citokinas son moléculas de comunicación intercelular. Exhiben una gran cantidad de funciones en diferentes sistemas y procesos orgánicos: en particular, ejercen una acción muy importante en los mecanismos que producen la inflamación. La interleucina-6 (IL-6) es una molécula pleiotrópica con acciones proinflamatorias y antiinflamatorias. Diversas fuentes de evidencia la vinculan de modo importante y directo con la fisiopatología de diferentes enfermedades autoinmunes. Saavedra Ramírez et al., (2011), revisaron las bases moleculares y los diversos efectos biológicos de esta citokina, así como la experiencia clínica adquirida hasta esa fecha con terapias dirigidas al bloqueo de sus acciones proinflamatorias en pacientes con artritis reumatoide.

La familia de quimiocinas del tipo CC incluye a la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) y una vez regulada su activación, las células T normales expresadas y secretadas (RANTES), y sus miembros exhiben actividad diferencial de la actividad quimiotáctica de monocitos, subpoblaciones de células T, eosinófilos o células dendríticas (Rollins, 1997).

Las proteasas derivadas de células endoteliales se pueden clasificar de acuerdo con su función fisiológica. Las proteasas implicadas en la degradación de la matriz extracelular son importantes en la migración de células endoteliales, y por lo tanto, en la angiogénesis. Incluyen al activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA) y a las metaloproteasas, colagenasas, gelatinasas y estromelisin. El uPA secretado a partir de las células endoteliales permanece asociado con la membrana celular, en receptores

específicos localizados en la vecindad de los receptores para el plasminógeno. Esto favorece la activación local del plasminógeno en plasmina. La plasmina, generada en la superficie celular, está completamente activa ya que no es inhibida por la alfa 2-antiplasmina. La plasmina actúa directamente al degradar algunos componentes de la matriz extracelular e indirectamente activando las prometaloproteasas. La secreción de PAI por células en migración generalmente es estimulada por los mismos factores que inducen la secreción de uPA, limitando la degradación de la matriz al camino pericelular. La degradación del coágulo de fibrina implica al activador del plasminógeno de tipo tisular (tPA), que al igual que el uPA activa el plasminógeno a la plasmina. Este sistema también está regulado por dos mecanismos diferentes. Por un lado, la fibrina por sí misma favorece su propia degradación mediante la formación de un complejo ternario, fibrina-plasminógeno tPA, en el que la afinidad del tPA por el plasminógeno aumenta notablemente, en comparación con la afinidad del tPA no unido. Además, la plasmina generada en el coágulo está protegida contra la inhibición por la alfa-2-antiplasmina. Por otro lado, en cuanto a uPA, el tPA es inhibido por PAI-1. La importancia de la regulación de este sistema se ilustra por el riesgo trombótico observado cuando hay una disminución en tPA o un aumento en PAI-1, e inversamente por hemorragias en el caso de aumento en tPA (Menashi et al., 1993). En niños con metabolismo no saludable en comparación con niños metabólicos sanos con sobrepeso/obesidad, las concentraciones plasmáticas de resistina, leptina, mieloperoxidasa (MPO) y del inhibidor del activador del plasminógeno tisular total 1 (tPAI-1) fueron más altas, mientras que las concentraciones de adiponectina fueron más bajas. (Rupérez et al., 2018).

Los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 y TIMP-4) (Anand-Apte et al., 1996; Edwards et al., 1996; Gomez et al., 1997; Hayakawa, 2002) ahora se reconocen como una familia de inhibidores intrínsecos de las metaloproteinasas de la matriz (MMPs). La capacidad de estos TIMP para inhibir las MMP sugiere que estos inhibidores juegan un papel importante en la regulación de la actividad de MMP, controlando eficazmente la descomposición de componentes de la matriz extracelular implicados en diversos tipos de fenómenos biológicos importantes y eventos patológicos tales como inflamación e invasión tumoral (Guedez et al., 1996; Nagase, 1996; Woessner y Nagase, 2000; Visse y Nagase, 2003). Se informó que

algunos TIMP, especialmente TIMP-3, tenían actividad inhibidora contra algunos miembros de la familia ADAM (una desintegrina y metaloproteínasa) (Amour et al., 1998; Amour et al., 2000; Loechel et al., 2000) y su nuevo miembro, ADAMTS (una desintegrina y una metaloproteínasa con motivos de trombospondina) (Hashimoto et al., 2001; Kashiwagi et al., 2001). Guo et al., (2006), demostraron que tanto TIMP-1 como TIMP-2 son factores séricos principales que estimulan la inducción de ARNm de TIMP-1 en fibroblastos gingivales humanos quiescentes (células Gin-1) a mediados del G1 (6-9 horas después de la estimulación sérica) del ciclo celular, pero no el de TIMP-2.

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una citokina proinflamatoria con múltiples actividades biológicas y con un potente efecto inotrópico negativo (Saadeddin et al., 2002). Entre las funciones biológicas descritas para el TNF- α se encuentran la producción de citocinas, proteínas de fase aguda, aumento de la expresión de moléculas de adhesión, activación de neutrófilos y coestimulador de activación de células T. El TNF- α transduce señales a través de 2 vías distintas debido a 2 tipos de receptores transmembrana, el receptor TNF- α tipo I (TNFR-I) y el receptor tipo II (TNFR-II) (Tartaglia et al., 1991; Tartaglia y Goeddel, 1992). Se ha identificado la expresión de estos receptores en todos los tipos celulares, excepto en eritrocitos (Tartaglia y Goeddel, 1992; Saadeddin et al., 2002). Además de estos receptores, hay formas solubles que se pueden unir al TNF- α . Estos receptores solubles son formas truncadas de TNF- α , que pueden unirse a esta molécula y regular su actividad biológica (Aggarwal, 2003). Las principales células que sintetizan TNF- α son los monocitos y los macrófagos, aunque otras células que también los sintetizan son los linfocitos T, las células asesinas naturales (NK), las células del músculo liso, las células endoteliales y algunas células tumorales (Bemelman et al., 1996). Tanto el TNF- α como la IL-1 β se han asociado directamente con inflamación local y generalizada debido a que tienen un efecto biológico similar (Saadeddin et al., 2002).

Se ha documentado que el TNF- α influye en la patogénesis de la aterosclerosis debido a que está involucrado en la síntesis de proteínas de fase aguda, como la PCR, y de otras citocinas, como la IL-1 y la IL-6, que actúan como factores de riesgo en ECVs (Saadeddin et al., 2002). Los valores elevados de TNF- α y de sus receptores solubles en plasma se han asociado con la IC, el infarto agudo de miocardio (IAM) y la enfermedad

arterial coronaria (EAC) (Barath et al., 1990). Algunos autores han reportado que la forma soluble de los receptores podría tener un papel protector contra el efecto proinflamatorio del TNF- α (Maury y Teppo, 1989; Hale et al., 1995; Pannitteri et al., 1997). Sin embargo, ahora se sabe que tanto el TNF- α como sus receptores solubles (TNFR-I y TNFR-II) son predictores independientes de mortalidad en la IC (Deswal et al., 2001). Valgimigli et al., (2005), sugirieron que la forma soluble del TNFR-I es el principal predictor, a corto y largo plazo, de mortalidad y eventos cardiovasculares en pacientes que presentaron IAM.

Rosales Torres y Guzmán Sánchez, (2011), recopilaron y analizaron la información más reciente acerca del papel del Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF), sus receptores de membrana (VEGFR1 y VEGFR2) y receptores solubles (sVEGFR1 y sVEGFR2). La principal función del sistema VEGF (VEGF y sus receptores), es controlar la formación de nuevos vasos sanguíneos y la protección de las células endoteliales y de la granulosa. Por ejemplo, es conocido que durante el ciclo ovárico, los cambios vasculares son importantes para controlar el desarrollo folicular, la ovulación y la formación y regresión del cuerpo lúteo. Las evidencias revisadas permiten sugerir que VEGF y VEGFR2 son los principales promotores de la angiogénesis, sin embargo los otros miembros del sistema VEGF; VEGFR1 y VEGFR2, parecen desempeñar funciones anti-angiogénicas en los procesos ováricos mencionados.

Uno de los primeros episodios en la aterogénesis es la adhesión de leucocitos circulantes a las células endoteliales seguido de la migración a través del endotelio. La inducción de la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), la molécula de adhesión a células vasculares (VCAM-1) y la molécula de adhesión de los leucocitos al endotelio (E-selectina) es el paso inicial que permite la unión de las células circulantes al endotelio (Galkina y Ley, 2007). La expresión de ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina es baja en las células endoteliales sanas y aumenta con estímulos aterogénicos, como citocinas proinflamatorias y radicales de oxígeno reactivos (Davies et al., 1993). La inducción de la expresión de las moléculas de adhesión lleva a la sobreexpresión de éstas en la membrana celular y a la liberación de su forma soluble (Pigott et al., 1992), por lo que la determinación de las formas solubles circulantes (sICAM-1, sVCAM-1 y sE-Selectina), es un marcador de la expresión de las moléculas de adhesión en los

tejidos y constituye un marcador de activación y disfunción endotelial. Ramírez Alvarado y Sánchez Roitz, (2015), concluyeron que los niveles séricos de las moléculas de adhesión incrementan al aumentar la resistencia a la insulina, la función de la célula- β y los niveles séricos de PCR en mujeres obesas.

La molécula de adhesión intercelular soluble-1 (sICAM-1) representa una forma circulante de ICAM-1 que se expresa constitutivamente o es inducible en la superficie celular de diferentes líneas celulares. Sirve como un contrarreceptor para el antígeno asociado a la función de los linfocitos (LFA-1). La interacción entre ICAM-1, presente en células endoteliales, y LFA-1 facilita la adhesión de leucocitos y la migración a través del endotelio. ICAM-1 y su forma circulante han estado implicados en el desarrollo de gran cantidad de enfermedades (Witkowska y Borawska, 2004).

2.5 LECHE DE CABRA. COMPOSICIÓN

2.5.1 Grasa

La grasa de la leche es el componente más variable de la misma, cualitativa y cuantitativamente hablando, en términos económicos, en la nutrición, en características físicas y sensoriales; este hecho provoca un impacto en los productos lácteos que van a depender del estado de la lactancia, temporada, raza, genotipo y la alimentación del animal. Las características de la grasa de la leche de cabra que tienen más importancia en la fabricación de productos lácteos son: tamaño de los glóbulos de grasa, que en la de cabra son más pequeños comparados con la leche de vaca (Jenness, 1980), y el perfil de ácidos grasos de la leche de cabra, que contienen mayor contenido de ácidos grasos de cadena corta (Haenlein, 1992).

Aunque el porcentaje de grasa en la leche de cabra y vaca es similar, el tamaño medio de glóbulos de grasa en la leche de cabra es menor que la de la leche de vaca (Silanikove et al., 2010). Los glóbulos de grasa de menor tamaño proporcionan una mejor dispersión y una mezcla más homogénea de la grasa en la leche, su mayor área de

superficie mejora aún más la actividad de la lipasa pancreática, por lo que la leche de cabra es más fácilmente digerible. (Boza et al., 1999).

Tanto en la leche de vaca como de cabra, el rango de tamaños de los glóbulos de grasa oscila entre 1 a 10 μm , pero la proporción de glóbulos menores de 5 μm en la leche de vaca es del 60 %, mientras que en la leche de cabra ronda el 80 %. Esta diferencia da como resultado una textura más suave en los productos de leche de cabra, mientras que provoca una gran dificultad a la hora de producir mantequilla caprina (Silanikove et al., 2010). A parte de la diferencia de tamaño, los glóbulos de grasa de la leche de cabra están mejor distribuidos en la emulsión láctea que los de la leche bovina. Estos pequeños glóbulos de grasa se dispersan mejor, presentando así una homogeneización natural, y proporcionan una mayor superficie de acción de las lipasas favoreciendo la digestión en el hombre (Zervas y Tsiplakou, 2013).

La leche de cabra tiene una alta proporción de ácidos grasos saturados de cadena media y corta (MCT) y de ácidos grasos mono y poliinsaturados de cadena larga (Žan et al., 2006). Como se muestra en la Tabla 3, tales como, butírico (C4:0), caproico (C6:0), caprónico (C8:0), cáprico (C10:0), láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), linoleico (C18:2), esteárico (C18:0), y ácido oleico (C18:1) (Sumarmono et al., 2015).

Tabla 3. Composición en ácidos grasos (AG 100 g^{-1} leche) de la leche de cabra en comparación con la leche de vaca (Žan et al., 2006).

Ácido graso	Leche de cabra	Leche de cabra (tierras altas)	Leche de cabra (montaña)	Leche de Vaca
C_{4:0} butírico	130	-	-	110
C_{6:0} caproico	90	-	-	60
C_{8:0} caprónico	100	106	85	40
C_{10:0} capríco	260	433	321	80
C_{12:0} laurico	120	228	149	90
C_{14:0} mirístico	320	441	392	340
C_{16:0} palmítico	910	984	990	880
C_{16:1} palmitoleico	80	-	-	80
C_{18:0} estearico	440	333	300	400
C_{18:1} oleico	980	-	-	840
C_{18:2} linoleico	110	103	76	80
C_{18:3} linolenico	40	32	26	50

Digestibilidad de la grasa

Alfárez et al., (2001), estudiaron los efectos de la grasa láctea de cabra y de vaca en la utilización digestiva de este nutriente y en algunos de los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo de los lípidos, utilizando ratas con resección del 50 % del intestino delgado distal y animales control (transectados). El contenido de grasa en todas las dietas fue del 10 %, pero la calidad de los lípidos fue variada: la dieta estándar se basó en aceite de oliva, mientras que las otras dos dietas incluyeron grasa obtenida de leche de cabra liofilizada y leche de vaca, respectivamente. La utilización digestiva de la grasa fue menor en los animales resecados que en los transectados para las tres dietas estudiadas. Tanto en los animales resecados como en los transectados, el coeficiente de digestibilidad aparente de la grasa fue mayor con la dieta estándar de aceite de oliva que con las dietas cuyo contenido en grasa fue proporcionado por la leche de cabra o de vaca. La utilización digestiva de la grasa fue mayor en las ratas transectadas y resecadas que recibieron leche de cabra (rica en triglicéridos de cadena media) que las que recibieron una dieta a base de leche de vaca, y se acercaron más a los valores obtenidos para el aceite de oliva. El consumo de leche de cabra redujo los niveles de colesterol, mientras que los niveles de triglicéridos, HDL, GOT y GPT permanecieron dentro de los rangos normales, tanto para los animales transectados como para los resecados. El efecto ventajoso de la leche de cabra sobre el metabolismo de los lípidos con respecto a la leche de vaca sugiere que los primeros deben ser incluidos en los casos de síndrome de malabsorción.

2.5.2 Hidratos de carbono

La lactosa es el carbohidrato principal en la leche de cabra, y el contenido es levemente más bajo que en la leche de vaca (Slacanac et al., 2010). Se sintetiza a partir de glucosa y galactosa en la glándula mamaria, donde la proteína de la leche α -lactalbúmina juega un papel importante (Park et al., 2007). La lactosa es un valioso nutriente, porque favorece la absorción intestinal de calcio, magnesio y fósforo, y la

utilización de la vitamina D (Campell y Marshall, 1975). También es de gran importancia durante la síntesis de leche, y durante la secreción de leche en el sistema de conducto de la ubre (Park et al., 2007).

Otros carbohidratos encontrados en la leche de cabra son oligosacáridos, glucopéptidos, glicoproteínas y nucleótidos en pequeñas cantidades. La leche de cabra es significativamente rica en oligosacáridos derivados de la lactosa en comparación con la leche de vaca (Slacanac et al., 2010). Se cree que los oligosacáridos de la leche son beneficiosos para la nutrición humana debido a sus propiedades prebióticas y antiinfecciosas (Kunz et al., 2000). En modelos animales, oligosacáridos de leche de cabra se ha demostrado que tienen efectos antiinflamatorios en la colitis inducida (Lara-Villoslada et al., 2006; Daddaoua et al., 2006). Estos resultados podrían ser útiles en el manejo de la EII (Daddaoua et al., 2006).

Los nucleótidos en la leche son también de interés ya que son los donantes de glicosilo para la glicosiltransferasa en la leche y la glándula mamaria, y son los precursores de glicoproteínas, glicolípidos y oligosacáridos en la biosíntesis de la leche. Las cabras tienen notablemente alto contenido de nucleótidos en su leche (Park et al., 2007).

2.5.3 Proteínas

Las proteínas de la leche de cabra son similares a las proteínas de la leche de vaca. Ambas contienen β - κ -caseínas, β -lactoglobulina y α -lactalbúmina. Sin embargo, difieren en los polimorfismos genéticos. La leche de cabra tiene un contenido mayor en β -caseína y α -S2 caseínas, mientras que la leche de vaca tiene un contenido mayor en α -S1 caseínas. Por lo tanto, las micelas de caseína de la leche de cabra son de mayor tamaño, menos solvatadas, más susceptibles al calor y a la desnaturalización y tienen mayor contenido en calcio y fósforo.

En la Tabla 4 se muestra la composición en aminoácidos destacando que la leche de cabra tiene un mayor contenido en 6 de los 10 aminoácidos esenciales (treonina,

isoleucina, lisina, cisteína, tirosina y valina) en comparación con la leche de vaca (Haenlein, 2004).

Tabla 4. Composición en aminoácidos (g/100 g leche) de las proteínas de la leche de cabra y vaca (Haenlein, 2004).

	Leche de cabra	Leche de vaca	Diferencia (%) para leche de cabra
Aminoácidos esenciales			
Triptófano	0.044	0.046	
Treonina	0.163	0.149	9
Isoleucina	0.207	0.199	4
Leucina	0.314	0.322	
Lisina	0.290	0.261	11
Metionina	0.080	0.083	
Cisteína	0.046	0.030	53
Fenilalanina	0.155	0.159	
Tirosina	0.179	0.159	13
Valina	0.240	0.220	9
Aminoácidos no esenciales			
Arginina	0.119	0.119	
Histidina	0.089	0.089	
Alanina	0.118	0.113	
Ácido Aspartico	0.210	0.250	
Ácido Glutámico	0.626	0.689	
Glicina	0.050	0.070	
Prolina	0.368	0.319	
Serina	0.181	0.179	

2.5.4 Vitaminas y minerales

La leche contiene la mayoría de las vitaminas conocidas. La leche de cabra tiene cantidades más altas de vitamina A y C que la leche de vaca (Sawaya et al., 1984). La leche de cabra tiene un mayor contenido de vitamina A que la leche de vaca porque las cabras convierte todos los β -carotenos de los alimentos en Vitamina A en la leche (Park et al., 2007; Slacanac et al., 2010). Por la misma razón, la leche de cabra es siempre más blanca que la leche de vaca. La leche de cabra también contiene cantidades suficientes

de tiamina (vitamina B₁), riboflavina (vitamina B₂), niacina (vitamina B₃), ácido pantoténico (vitamina B₅) y vitamina C en relación con las necesidades humanas (Sawaya et al., 1984; Jandal, 1996; Park et al., 2007; Slacanac et al., 2010). Tanto la leche de cabra como la de vaca tienen bajas concentraciones de vitamina B₆ y vitamina D, que son importantes durante la infancia (Park et al., 2007; Slacanac et al., 2010). La leche de cabra también es deficiente en ácido fólico y vitamina B₁₂ (Sawaya et al., 1984; Park et al., 2007; Slacanac et al., 2010). El folato es necesario para el metabolismo celular, la síntesis de glóbulos rojos y previene los defectos del tubo neural en el feto. Tanto la deficiencia de folato como la vitamina B₁₂ pueden causar anemia megaloblástica en los lactantes.

En comparación con la leche de vaca, la leche de cabra tiene deficiencias significativas en ácido fólico y vitamina B₁₂. Los niveles de folato y vitamina B₁₂ en la leche de vaca son cinco veces mayores que en la de cabra, tal y como se describe en la Tabla 5.

El contenido en minerales de la leche de cabra es mayor que el de la leche de vaca como se muestra en la Tabla 6. Tiene mayores niveles de calcio, potasio, magnesio y fósforo. La cantidad de zinc también es mayor en la leche de cabra que en la de vaca, al igual que el selenio (Park et al., 2007).

Tabla 5. Contenido en vitaminas (cantidad en 100g) de la leche de cabra y vaca comparado con leche materna (Park et al., 2007).

Vitamina	Cabra	Vaca	Humana
Vitamina A (IU)	185	126	190
Vitamina D (IU)	2.3	2.0	1.4
Tiamina (mg)	0.068	0.045	0.017
Riboflavina (mg)	0.21	0.16	0.02
Niacina (mg)	0.27	0.08	0.17
Ác. pantoténico (mg)	0.31	0.32	0.20
Vitamina B ₆ (mg)	0.046	0.042	0.011
Ácido fólico (µg)	1.0	5.0	5.5
Biotina (µg)	1.5	2.0	0.4
Vitamina B ₁₂ (µg)	0.065	0.357	0.03
Vitamina C (mg)	1.29	0.94	5.00

Tabla 6. Contenido en minerales (cantidad en 100 g) de la leche de cabra y vaca comparado con la leche materna (Park et al., 2007).

Componentes	Cabra	Vaca	Humana
Mineral			
Ca (mg)	134	122	33
P (mg)	121	119	43
Mg (mg)	16	12	4
K (mg)	181	152	55
Na (mg)	41	58	15
Cl (mg)	150	100	60
S (mg)	28	32	14
Fe (mg)	0.07	0.08	0.20
Cu (mg)	0.05	0.06	0.06
Mn (mg)	0.032	0.02	0.07
Zn (mg)	0.56	0.53	0.38
I (mg)	0.022	0.021	0.007
Se (µg)	1.33	0.96	1.52
Al (mg)	n.a.	n.a.	0.06

2.6 LECHE DE CABRA Y SALUD CARDIOVASCULAR

La leche de cabra es un alimento natural que reduce los niveles de LDL-C y colesterol total por incrementar su excreción biliar (López Aliaga et al., 2005) sin embargo es deficitaria en ácido fólico. Si se añade a la leche de cabra una cantidad normal de esta vitamina, 2 mg/kg de dieta, o mayor cantidad (40 mg/kg dieta), obtendríamos un alimento que podría reducir dos de los factores de riesgo de ECV como son LDL-C y homocisteína.

La leche de cabra es un alimento natural que el grupo de investigación AGR-206 estudia desde hace 20 años. Ha comprobado que el consumo habitual de leche de cabra disminuye los niveles plasmáticos de colesterol y mantiene unos niveles adecuados de triglicéridos (Alfárez et al., 2001; López-Aliaga et al., 2005). Además, este tipo de leche contiene minerales antioxidantes tales como cobre, cinc y selenio y favorece su utilización nutritiva (Barrionuevo et al., 2002; Barrionuevo et al., 2003). Por tanto, la inclusión habitual de la leche de cabra en la dieta puede tener un efecto positivo en la

prevención de los procesos de peroxidación y como consecuencia un descenso en el riesgo de ECVs. Sin embargo, la leche de cabra es deficitaria en ácido fólico y se intenta comprobar si la ingesta de leche de cabra suplementada en ácido fólico tiene un papel protector frente al riesgo de aparición de ECV causado por el exceso de hierro suministrado en el tratamiento de la anemia ferropénica.

La leche de cabra debido a su composición, rica en MCT presenta numerosos beneficios a nivel cardiovascular. Los MCT, son sustratos importantes en el metabolismo energético y de los procesos anabólicos en mamíferos. Estos, modulan el metabolismo del tejido de hidratos de carbono y lípidos que se manifiesta en su mayor parte por un efecto inhibitorio de la glicolisis y la estimulación de la lipogénesis o gluconeogénesis. También modulan la producción de energía mitocondrial por dos mecanismos: 1) proporcionan equivalentes reductores para la cadena respiratoria y 2) disminuyen la eficacia de la síntesis de ATP oxidativo (Schönfeld y Wojtczak, 2016).

Los MCT se absorben rápidamente y pasan directamente a la circulación portal, no sufren re-esterificación en las células intestinales (Fig. 12). Los MCT se transportan al hígado donde son sometidos preferentemente a β -oxidación (Ooyama et al., 2009). Penetran en la mitocondria de las células hepáticas sin necesidad de carnitina y por tanto su β -oxidación es más rápida que la de los triglicéridos de cadena larga (Bach y Babayan, 1985; Alférez et al., 2001).

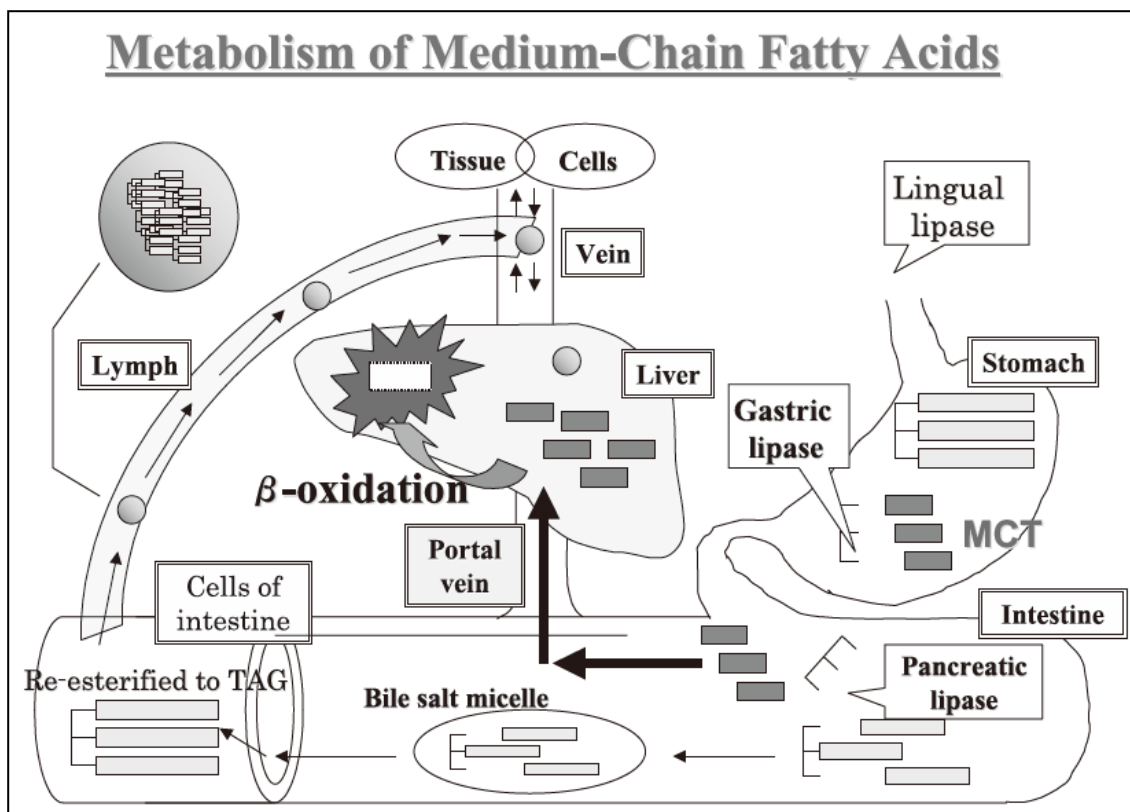


Figura 12. Hidrólisis y absorción de MCT y LCT en el tracto gastrointestinal (Aoyama et al., 2007).

La grasa de la leche de cabra tiene un mayor contenido en carnitina, esta entra en la mitocondria y aumenta la tasa de β -oxidación, además favorece la obtención de energía a partir de las otras grasas presentes en la dieta (Alfárez et al., 2001).

El principal factor de riesgo controlable asociado con eventos de ECVs tales como IAM, ACV, IC y diabetes en etapa terminal es la hipertensión. Una disminución de 5 mm Hg en la presión sanguínea se ha equiparado con una disminución de aproximadamente del 16 % en el riesgo de ECV. En los Estados Unidos los costes anuales de los fármacos antihipertensivos son de aproximadamente 15000 millones de dólares. El sistema renina-angiotensina-aldosterona es un objetivo para el control de la presión arterial. La escisión del angiotensinógeno por la renina produce angiotensina I, que posteriormente es hidrolizada por la enzima convertidora de angiotensina I (ECA) a angiotensina II (un potente vasoconstrictor). Varios efectos secundarios están asociados con el uso de fármacos inhibidores de la ECA en el control de la presión arterial, incluyendo hipotensión, aumento de los niveles de potasio, reducción de la función renal, tos, angioedema, erupciones cutáneas y anomalías fetales. Las proteínas de la

leche, tanto las caseínas como las proteínas del suero de la leche, son una fuente rica de péptidos inhibidores de la ECA (Meisel, 1993; FitzGerald y Meisel, 2000; Walsh y FitzGerald, 2004). Varios estudios en ratas espontáneamente hipertensas muestran que estas casokininas y lactokininas pueden reducir significativamente la presión sanguínea (FitzGerald y Meisel, 2003). La obtención de ingredientes basados en proteínas de leche eficaces/nutracéuticos para la prevención/control de la presión sanguínea, por lo tanto, podría reducir significativamente el costo sanitario global en esta patología (FitzGerald et al., 2004).

Los tripéptidos biológicamente activos derivados de la caseína de la leche, la isoleucil-prolil-prolina (Ile-Pro-Pro) y la valil-prolil-prolina (Val-Pro-Pro), tienen un efecto antihipertensivo documentado relacionado probablemente con la formación reducida de angiotensina. Se ha sugerido que estos tripéptidos pueden reducir la rigidez arterial y mejorar la función endotelial. El objetivo del estudio de Jauhiainen et al., (2010) fue evaluar si la bebida a base de leche que contiene Ile-Pro-Pro y Val-Pro-Pro influye en la rigidez arterial, medida como el índice de aumento aórtico (Aix), y la función endotelial en el hombre. El tratamiento a largo plazo con leche fermentada con *Lactobacillus helveticus* LBK-16H que contiene péptidos bioactivos reduce la rigidez arterial expresada como Aix en sujetos hipertensos.

Las fracciones de caseína y proteína de suero de leche de cabra fueron hidrolizadas por subtilisina y tripsina, individualmente y en combinación, para liberar péptidos inhibidores de la ECA. Los hidrolizados seleccionados se fraccionaron por cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) y se caracterizaron. La mayor actividad inhibidora de ECA se obtuvo a partir de la fracción de caseína hidrolizada por la combinación de ambas enzimas. La SEC presentó 4 fracciones: la fracción F2 contiene la concentración más alta de péptidos y la actividad más alta y son péptidos no identificados previamente a partir de caseínas caprinas pero con similitud estructural con otros péptidos inhibidores de la ECA. La fracción más activa en relación con el contenido de proteína fue la F4 que contenía un compuesto tentativamente identificado como WY, un dipéptido activo no citado previamente de caseínas. La alta capacidad inhibitoria de estas fracciones apunta hacia una ventaja de implementar un proceso de membrana para concentrar los péptidos más activos (Espejo-Carpio et al., 2013).

Los péptidos bioactivos derivados de las proteínas de la leche son de particular interés para la industria alimentaria debido a los papeles potenciales funcionales y fisiológicos que demuestran, particularmente en relación con las ECV (Meisel, 2001). Para 2020 se estima que las enfermedades del corazón y los ACVs se convertirán en la principal causa de muerte y discapacidad en todo el mundo (Murray y Lopez, 1997). Los eventos cardiovasculares agudos y crónicos pueden ser el resultado de alteraciones en la actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Li et al., 2004) y la activación de la cascada de coagulación y de las plaquetas (Andrioli et al., 1996; Weyrich et al., 2003). Los medicamentos que inhiben la ECA se prescriben ampliamente en el tratamiento y prevención de ECVs (Wu y Gerstenblith, 2010) y . Los péptidos inhibidores de ECA son de particular interés debido a la presencia de secuencias de péptidos inhibidores cifrados (Hata et al., 1996). En particular, Ile-Pro-Pro y Val-Pro-Pro son precursores de la inhibición de ECA, y se han incorporado en productos comerciales. Además, se están llevando a cabo estudios para identificar nuevos péptidos adicionales con una bioactividad similar y la capacidad de soportar la digestión durante el tránsito a través del tracto gastrointestinal. Se discuten las fuentes potenciales de tales péptidos en el queso (Abubakar et al., 1998; Hernández et al., 2002; Parrot 2003) y otros productos lácteos (Yamamoto et al., 1999; Saito et al., 2000; Pan y Guo, 2010). También se revisan los desafíos a la biodisponibilidad de tales péptidos en el tracto gastrointestinal. La activación de las plaquetas y la cascada de la coagulación juegan un papel central en la progresión de la ECV. Las plaquetas de los pacientes hipertensos muestran una agregación espontánea (Pechan y Okrucka, 1991) y una sensibilidad aumentada a los agonistas (Andrioli et al., 1996) que dan lugar al daño vascular y la disfunción endotelial asociada con ECV. Se han identificado secuencias peptídicas que presentan actividad antitrombótica (Chabance et al., 1995) a partir de productos lácteos fermentados como el k-caseinoglucopeptido (CGP), también conocido como k-caseína glicomacropéptido (GMP)(Fossa, 1990). En conclusión, debido a la naturaleza generalizada de la ECV, la identificación de compuestos derivados de alimentos que exhiben un efecto beneficioso en áreas tan extendidas de regulación de ECV tendrá un fuerte potencial clínico (Fig. 13) (Phelan y Kerins, 2011).

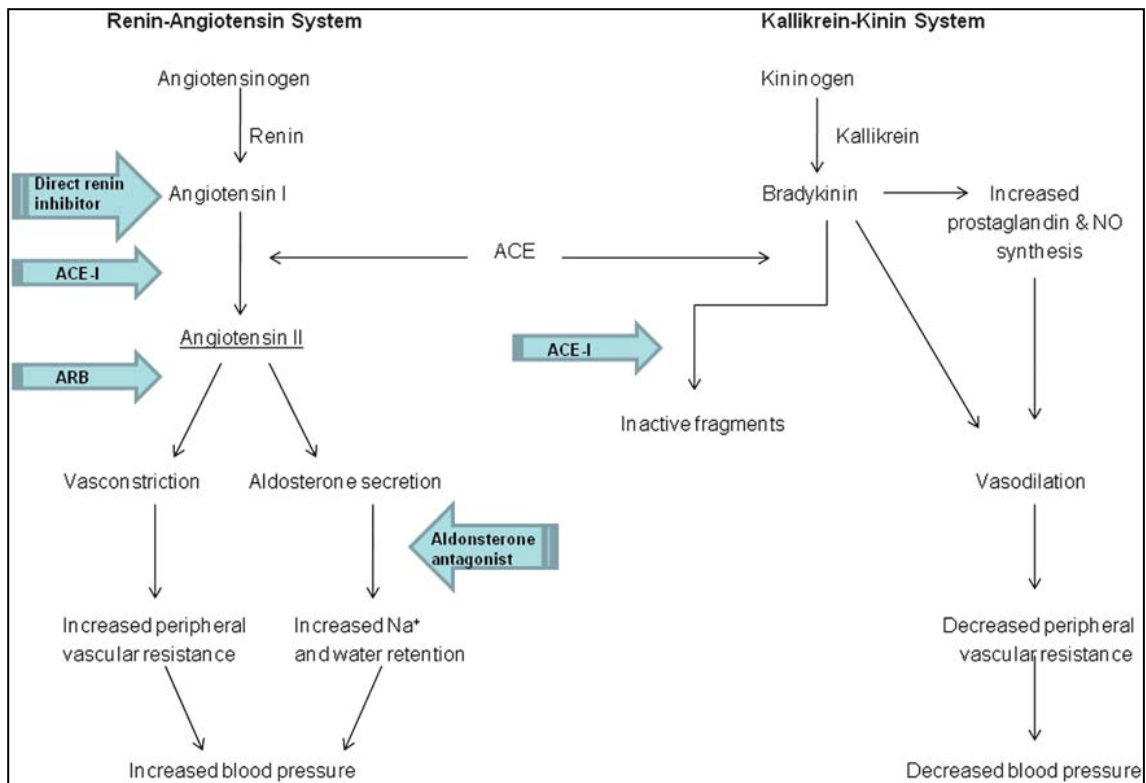


Figura 13. Sistema de renina-angiotensina y Kallikrein-Kinina (Phelan y Kerins, 2011).

En la revisión de Ricci et al., (2010), se centraron en las principales investigaciones en las áreas de aislamiento, identificación y aplicación de péptidos bioactivos con actividad IECA en proteínas de la leche, prestando especial atención a los procesos in vitro, en sistemas de modelos animales y en estudios clínicos de pacientes hipertensos.

2.7 LECHE FERMENTADAS

2.7.1 Introducción

La **leche**, desde un punto de vista biológico, es la secreción de las hembras de los mamíferos, cuya misión es satisfacer los requerimientos nutricionales del recién

nacido en sus primeros meses de vida. Desde un punto de vista legal, se entiende por leche natural o producto íntegro, no alterado ni adulterado y sin calostros, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de las hembras mamíferas domésticas sanas y bien alimentadas. También por legislación, con la denominación genérica de “leche” se entiende única y exclusivamente la leche de vaca. La leche de otras especies de mamíferos se designa indicando el nombre de la especie (p.ej. leche de cabra) (Baró Rodríguez et al., 2010). Desde el punto de vista fisicoquímico, la leche se caracteriza por ser una mezcla muy compleja de diferentes sustancias: caseínas, albúminas, lactosa, grasa, sales, vitaminas, etc. Todos estos compuestos se distribuyen en el medio acuoso formando tres fases:

- ✚ La materia grasa se acumula en unas estructuras relativamente complejas, los glóbulos grasos, formando una emulsión grasa/agua peculiar, una de cuyas propiedades se ha mencionado al hablar del color blanco de la leche.
- ✚ La suspensión coloidal de las caseínas (que forman estructuras denominadas micelas, ligada a la presencia de fosfato cálcico coloidal y, en menor medida, a otras sales) y la solución coloidal de las seroproteínas, ambas en la fase acuosa.
- ✚ La solución verdadera de lactosa y sales minerales solubles.

La leche es una bebida ampliamente consumida que es esencial para la dieta de millones de personas en todo el mundo porque proporciona importantes macro y micronutrientes. La leche se reconoce como útil durante la infancia y la adolescencia debido a su composición; sin embargo, su proporción relativamente alta de grasas saturadas plantea problemas de posibles efectos perjudiciales, a saber, en el sistema cardiovascular. El uso de la leche y los productos lácteos dentro de una dieta equilibrada debe considerarse en ausencia de contraindicaciones claras (Visioli y Strata, 2014).

Bajo la denominación de **leches fermentadas** se engloba una serie de productos que se obtienen utilizando leche en sus diversas formas como materia prima, a la cual se le inocular un cultivo de microorganismos específicos que fermentan la lactosa produciendo modificaciones nutricionales y sensoriales que caracterizan al producto final. En este proceso, parte de la lactosa es transformada en ácido láctico, por lo que a

estos productos también se les denomina “leches ácidas”. También se producen anhídrido carbónico, ácido acético, acetaldehído, diacetilo y otros compuestos que confieren a cada uno de los productos unas características organolépticas específicas. Además, algunas bacterias también producen polisacáridos que confieren a la leche fermentada una textura suave y cremosa, una menor sinéresis y una mejor viscosidad (Staff, 2000; Stack et al., 2010).

La Federación Internacional de Lechería clasifica los productos lácteos fermentados según el tipo de fermentación:

✚ Mediante microorganismos termófilos (fermentación entre 30-45 °C).
Ejemplos:

- ✓ Yogur: obtenido por la acción de las bacterias *Lactobacillus delbruecki* sub. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.
- ✓ Leche acidófila: obtenida por *Lactobacillus acidophilus*.

✚ Mediante microorganismos mesófilos (fermentación por debajo de los 30 °C):

- ✓ Por fermentación láctica (p.ej. leche acidificada por *Lactococcus lactis*).
- ✓ Por fermentación láctica y alcohólica (p.ej. kéfir y kuomis).

Aunque existen numerosos tipos de productos lácteos fermentados y otras leches fermentadas con adición de microorganismos probióticos, el yogur constituye el producto más conocido y consumido.

✚ **Yogur.** El Real Decreto 179/2003, por el que se aprueba la norma de calidad para el yogur, define yogur o yoghurt como “el producto de leche coagulada obtenida por fermentación láctica mediante la acción de *Lactobacillus bulgaricus* (*Lactobacillus delbruecki* sub. *bulgaricus*) y *Streptococcus thermophilus* a partir de leche pasteurizada, leche

concentrada pasteurizada, leche total o parcialmente desnatada, con o sin adición de nata pasteurizada, leche en polvo entera, semidesnatada o desnatada, suero en polvo, proteínas de leche y/u otros productos procedentes del fraccionamiento de la leche”.

Esta norma establece, entre otros requisitos, que:

- ✓ Los microorganismos productores de la fermentación láctica deben ser viables y estar presentes en el producto terminado en cantidad mínima de 10^{10} colonias por gramo o mililitro.
- ✓ Todos los yogures deberán tener un pH igual o inferior a 4.6.
- ✓ El yogur, desde el momento de su fabricación hasta su adquisición por el consumidor, se mantendrá temperaturas comprendidas entre 1 y 8 °C.
- ✓ El yogur deberá ser vendido al consumidor, como máximo dentro de los 28 días siguientes, contados a partir de su fabricación.

El Real Decreto 176/2013 de 29 de marzo de 2013 deroga el requisito establecido en el Real Decreto 179/2003 de la venta del yogur dentro de los 28 días siguientes de su fabricación. De esta forma, actualmente recae sobre las industrias lácteas la responsabilidad de estimar el tiempo de vida útil de sus yogures.

El Real Decreto 179/2003, igualmente, autoriza la denominación de “yogur” o “yoghourt pasteurizado” después de la fermentación para “el producto obtenido a partir del yogur o yoghurt que, como consecuencia de la aplicación de un tratamiento por el calor posterior a la fermentación equivalente a una pasteurización, ha perdido la viabilidad de las bacterias lácticas específicas y cumple todos los requisitos establecidos para el yogur en esta norma, salvo las excepciones indicadas en ésta”. La diferencia entre los dos productos estriba en que el yogur pasteurizado después de la fermentación es sometido, como su propio nombre indica, a un tratamiento térmico para alargar la vida comercial del producto hasta 3 meses o más, además de no necesitar frío para su conservación. En este proceso se destruyen prácticamente todas las bacterias lácticas específicas del yogur. Por lo tanto, si bien el valor nutricional no se modifica sensiblemente, todo aquel beneficio para la salud que pueda estar relacionado con la existencia de bacterias lácticas vivas se pierde.

El Real Decreto 198/2017, de 3 de marzo, por el que se modifican el Real Decreto 1728/2007, de 21 de diciembre, por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los operadores del sector lácteo y se modifica el Real Decreto 217/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan la identificación y el registro de los agentes, establecimientos y contenedores que intervienen en el sector lácteo, y el registro de los movimientos de la leche, el Real Decreto 752/2011, de 27 de mayo, por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los agentes del sector de la leche cruda de oveja y cabra, el Real Decreto 1528/2012, de 8 de noviembre, por el que se establecen las normas aplicables a los subproductos animales y los productos derivados no destinados al consumo humano, y el Real Decreto 476/2014, de 13 de junio, por el que se regula el registro nacional de movimientos de subproductos animales y los productos derivados no destinados al consumo humano.

Mediante el Real Decreto 1728/2007, de 21 de diciembre, por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los operadores del sector lácteo y se modifica el Real Decreto 217/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan la identificación y registro de los agentes, establecimientos y contenedores que intervienen en el sector lácteo, y el registro de los movimientos de la leche, se establecieron, en desarrollo de la normativa reglamentaria correspondiente de la Unión Europea, los controles mínimos obligatorios que deben realizar los operadores económicos vinculados a la producción de la leche cruda de vaca en todas sus etapas, de manera que todos los operadores y laboratorios del sector lácteo actúen de manera homogénea.

Posteriormente, con el Real Decreto 752/2011, de 27 de mayo, por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los agentes del sector de leche cruda de oveja y cabra, se estableció igual regulación para el sector ovino y caprino.

Con la experiencia adquirida en su aplicación, se ha observado la necesidad de modificar ambas normas en determinados aspectos, para el sector de las queserías de campo y pequeñas queserías, en especial en aquellos aspectos de análisis de la leche no previstos en la normativa de la Unión Europea, o que no afectan a la leche de oveja y

cabra, así como adecuar el contenido de los análisis de laboratorio a las necesidades sanitarias. Ello no supone merma alguna de las actuaciones de control oficial para garantizar la seguridad alimentaria, que se mantienen, o incluso de la calidad de la leche, dentro del marco de las acciones previstas en el Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria (PNCOCA), aprobado de acuerdo con el artículo 41 del Reglamento (CE) nº 882/2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre los controles oficiales para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre sanidad animal y bienestar de los animales.

Asimismo, es preciso modificar el apartado 4 del artículo 4 del Real Decreto 1528/2012, de 8 de noviembre, por el que se establecen las normas aplicables a los subproductos animales y los productos derivados no destinados al consumo humano; para prever el régimen de convocatorias de la Comisión Nacional de subproductos de origen animal no destinados a consumo humano; y para eliminar el carácter transitorio de su disposición transitoria quinta sobre recogida, transporte y eliminación de determinados materiales de categoría 3 por métodos distintos de la incineración o el enterramiento “in situ”, incorporando esta posibilidad en el articulado de manera permanente.

Finalmente, es necesario modificar el Real Decreto 476/2014, de 13 de junio, por el que se regula el registro nacional de movimientos de subproductos animales y los productos derivados no destinados al consumo humano, para, en el apartado 1 del artículo 3, concretar que en el Registro nacional de movimientos de subproductos animales y productos derivados no destinados al consumo humano, se inscribirán los operadores con instalaciones registrados o autorizados de acuerdo con el artículo 20 del Real Decreto 1528/2012, de 8 de noviembre; en el apartado 1 del artículo 4 establecer la necesidad de que se suministren ciertos datos para las plantas intermedias, y plantas de transformación que reciban animales muertos en explotación de ganado vacuno, y, en el anexo I, contemplar dichos datos.

✚ **Leches fermentadas con probióticos.** Existe una nueva generación de leches fermentadas a las que hasta hace poco tiempo se las denominaba comercialmente añadiéndoles el prefijo “bio”, término reservado

actualmente a productos con certificación biológica o ecológica. La principal característica de estos productos es que a los fermentos lácticos tradicionales se les asocian otros microorganismos vivos conocidos como “probióticos”, que se clasifican fundamentalmente en los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Se caracterizan por su capacidad para sobrevivir después del paso por el aparato digestivo, contribuir a mejorar el balance microbiano intestinal, y de esta forma ejercer una influencia positiva en la salud del huésped (Baró et al., 2010).

La FAO/OMS define **probióticos** como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren al huésped un beneficio para la salud”. La mayoría de los probióticos pertenecen al grupo de las bacterias productoras de ácido láctico (LAB), como algunas especies del género *Lactobacillus*, pero también se consideran probióticos determinadas especies del género *Bifidobacterium*, algunas levaduras como *Saccharomyces boulardii* e incluso alguna cepa de la especie *Escherichia coli*.

2.7.2 Leche de cabra fermentada

Desafortunadamente, existen muchas dificultades tecnológicas asociadas a la producción de leches fermentadas de cabra con buenas propiedades organolépticas, muchas de ellas relacionadas con su composición (Domagala, 2009).

La consistencia de estos fermentados lácteos se considera uno de los puntos críticos (Farnsworth et al., 2006). La leche de cabra tiene un contenido en caseína ligeramente más bajo que la de vaca, con una baja proporción de α_{s1} -caseína, y un mayor grado de dispersión de las micelas (Vegarud et al., 1999), lo que provoca que el coágulo que se obtiene sea mucho más débil (Novakovic et al., 1997, 1998). Aún así, existe cierta controversia en cuanto a la leche caprina, pues también se ha demostrado que en yogures producidos con mezclas de leche de cabra y vaca, la sinéresis disminuye con la adición de más leche de cabra (Rojas-Castro et al., 2007; Vargas et al., 2008).

Se están llevando a cabo diversas estrategias para mejorar la calidad sensorial de estos productos. El contenido en sólidos no grasos se aumenta mediante distintos procedimientos como concentración de la leche de partida con membranas, adición de leche desnatada en polvo y concentrados de proteínas del suero lácteo, adición de estabilizadores como pectinas e inulina, y empleo de bacterias ácido-lácticas productoras de exopolisacáridos (Martín-Diana et al., 2003; Herrero et al., 2006; Tratnik et al., 2006; Stack et al., 2010).

La concentración de la leche de partida con métodos como la ultrafiltración aporta mejores propiedades organolépticas, sobre todo en cuanto a mejor textura y menor sinéresis, frente a productos con adición de leche en polvo, ya que además ésta puede causar un deterioro o modificación del olor y el sabor (Mehaia et al., 1998). Se ha observado que los fermentados lácteos elaborados con leche de cabra ultrafiltrada y con adición de microorganismos probióticos tienen mejores propiedades organolépticas (Domagala et al., 2008, 2012).

La naturaleza de las caseínas es importante respecto de la resistencia del gel; las β -caseínas que predominan en la leche de cabra originan un gel más fuerte que el obtenido con la leche de vaca (Robinson, 1995).

El punto isoeléctrico de la caseína bovina se sitúa en torno a un pH 4.6, mientras que las proteínas caprinas lo alcanzan a pH 4.2. Cuando se alcanza este pH, es cuando se produce la coagulación de la mayor parte de las caseínas, llevando a la formación del gel y a una mejora en la retención del suero.

El desarrollo de leches fermentadas de cabra adicionadas de microorganismos probióticos ha sido recomendado en el campo de la producción de fermentados lácteos con efectos terapéuticos (Martín-Diana et al., 2003). Es por ello que, al igual que para la leche de vaca, en diversos estudios se promueve el crecimiento de bacterias probióticas en la leche de cabra para conseguir una mejora en la funcionalidad de sus productos fermentados (Martín-Diana et al., 2003; Farnsworth et al., 2006; Kongo et al., 2006; tratnik et al., 2006; Kehagias et al., 2008).

Zalewska et al., (2017), han realizado recientemente un estudio cuyo objetivo ha sido analizar los cambios en la microbiota de los productos lácteos durante la fermentación y el almacenamiento. Se estudiaron dos tipos de yogur, un kéfir y una leche acidófila durante el proceso de fermentación y el almacenamiento utilizando la secuenciación de amplicón 16S ADNr. También se examinaron leche de vaca y cabra, leche cruda y pasteurizada. Se demostró que los organismos más representados en todos los productos manufacturados son los del *Filum Firmicutes*. En algunos productos: yogur 1, yogur 2, leche acidófila y kéfir para los tres tipos de leche: 1) leche pasteurizada de vaca, 2) leche no pasteurizada de vaca y 3) leche pasteurizada de cabra *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* y *Actinobacteria* también estuvieron presentes en grandes cantidades.

2.7.3 Leche de cabra fermentada y efectos sobre la salud

Moreno-Fernández et al., (2016a) han identificado recientemente las diferencias entre los principales macronutrientes y micronutrientes en leches fermentadas deshidratadas de vaca y cabra incluyendo proteínas, grasas, minerales y vitaminas. La leche de cabra fermentada tenía mayor contenido de proteína y menor contenido de cenizas. Todos los aminoácidos (excepto alanina), fueron más altos en la leche de cabra fermentada que en la leche de vaca fermentada. La composición de los ácidos grasos estudiados fueron significativamente diferentes entre ambas leches fermentadas excepto para los valores de C11:0, C13:0, C16:0, C18:0, C20:5, C22:5 y la cantidad total de ácidos grasos saturados y monoinsaturados que es muy próxima. La cantidad de los minerales Ca, Mg, Zn, Fe, Cu y Se fueron mayores en leche de cabra fermentada. En cambio en este tipo de leche fermentada tenía menores cantidades de ácido fólico, vitamina E y C, y valores más altos de vitamina A, D₃, B₆ y B₁₂. El presente estudio demuestra las mejores características nutricionales de la leche de cabra fermentada, lo que sugiere un papel potencial de este producto lácteo como un alimento de alto valor nutricional.

El objetivo de otro estudio llevado a cabo por los mismos autores (Moreno-Fernandez et al., 2016b) fue evaluar la influencia de la leche de cabra o de vaca fermentada sobre los niveles de melatonina, el estado antioxidante durante la recuperación de la anemia. Se utilizaron como animales de experimentación ochenta ratas macho Wistar que fueron colocadas en un período pre-experimental de 40 días y divididas al azar en dos grupos, un grupo control recibió la dieta con contenido normal de hierro (45mg kg^{-1}) y el grupo anémico recibió una dieta baja en hierro (5 mg kg^{-1}). A continuación, las ratas fueron alimentadas con dietas fermentadas de leche de cabra o de vaca con un contenido de hierro normal o sobrecarga de hierro (450mg kg^{-1}) durante 30 días. Después de 30 días de alimentación de las leches fermentadas, el estado antioxidante total (TAS) fue mayor en ambos grupos de animales alimentados con leche de cabra fermentada con el contenido normal de hierro. Los valores de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) en plasma y orina fueron menores tanto en el grupo control como en el anémico alimentados con leche de cabra fermentada. La melatonina y la corticosterona aumentaron en los grupos anémicos durante la reposición de hierro con ambas leches fermentadas. Los isoprostanos en orina fueron menores en ambos grupos alimentados con leche de cabra fermentada. El daño oxidativo de lípidos y proteínas fue mayor en todos los tejidos con leche de vaca fermentada. Durante la recuperación de la anemia, la leche de cabra fermentada tuvo efectos positivos sobre la melatonina y la TAS, incluso en la sobrecarga de hierro, limitando el daño oxidativo evocado.

Moreno-Fernandez et al., (2016c), encontraron que a pesar de los papeles cruciales del Dcytb, el DMT1, la cadena ligera de ferritina (Ftl1), la FPN 1 (FPN1), el TfR1 y el péptido antimicrobiano de hepcidina (Hamp) en el metabolismo del hierro, ningún estudio ha investigado las modulaciones de estos genes durante la repleción de hierro con leches fermentadas. El análisis incluyó marcadores de estado general de hierro y expresión de genes y proteínas en enterocitos de animales control y anémicos alimentados con leches fermentadas. La leche de cabra fermentada reguló los enterocitos Dcytb, DMT1, FPN1 y Ftl1 y reguló la expresión de los genes de TfR1 y Hamp en animales control y anémicos. La anemia disminuyó la expresión de Dcytb, DMT1 y Ftl1 en animales alimentados con leche de vaca fermentada, en cambio aumentó la expresión de TfR1 y Hamp. La sobrecarga de hierro en animales alimentados con leche de vaca fermentada reguló negativamente la expresión de Dcytb y TfR1 y de forma positiva la de los genes de DMT1 y FPN1. La leche de cabra

fermentada, tanto normal como con sobrecarga de hierro, aumentó la expresión de Dcty1b duodenal, DMT1 y FPN1 y disminuyó Hamp y TFR1, mejorando el metabolismo del hierro durante la recuperación de la anemia.

La anemia se asocia con fatiga y disminución de la oxigenación muscular, que puede afectar al músculo esquelético (ME). No hay estudios disponibles sobre las modificaciones de ME durante la recuperación de la anemia; por lo tanto, el objetivo del estudio de Moreno-Fernandez et al., (2016d) fue estudiar la homeostasis del ME durante la recuperación de la anemia con leches fermentadas. Los resultados de este estudio indican que el consumo de leche fermentada durante la recuperación de la anemia disminuye los depósitos de grasa y aumenta la lipólisis, aumentando la expresión de las proteínas UCP1, PepT1 e irisina, con un efecto ergogénico en el ME que es un importante regulador endocrino del metabolismo corporal.

La IDA es uno de los problemas nutricionales más comunes en el mundo, y se acepta que la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) se altera durante la ferropenia. El objetivo de este estudio (Moreno-Fernandez et al., 2017) fue evaluar la influencia de las leches fermentadas de cabra y vaca sobre las actividades antioxidantes enzimáticas, la expresión génica y su papel en la protección contra el daño oxidativo durante la recuperación de la anemia. El consumo de leche de cabra fermentada incrementa la TAS y de biomarcadores de menor daño oxidativo, revelando que la leche de cabra fermentada protege a las biomoléculas celulares principales (lípidos, proteínas, ADN, prostaglandinas) del daño oxidativo evocado durante la recuperación de la anemia.

El objetivo del estudio de Diaz-Castro et al., (2017) fue proporcionar información detallada sobre la homeostasis del tejido adiposo durante la recuperación de la anemia con leches fermentadas ya que hasta la fecha, no había estudios disponibles sobre las modificaciones del tejido adiposo durante la recuperación de la anemia. Se colocaron 40 ratas Wistar machos en un período pre-experimental de 40 días, divididas en dos grupos (dieta normal en hierro y dieta con ID). A continuación, las ratas fueron alimentadas con dietas fermentadas de leche de cabra o de vaca con contenido normal de hierro durante 30 días. La grelina y la adiponectina disminuyeron

en ambos grupos de animales alimentados con leche de cabra fermentada, mientras que la leptina y los ácidos grasos no esterificados (NEFA) aumentaron. La UCP-1 disminuyó en ratas anémicas alimentadas con leche fermentada y la irisina aumentó mucho en ambos grupos de animales alimentados con leche de cabra fermentada. La leche de cabra fermentada reduce la adiposidad, induciendo la elevación de la leptina y la reducción de la grelina. Por el contrario, las concentraciones plasmáticas de adiponectina disminuyeron en animales alimentados con leche de cabra fermentada, mostrando una correlación inversa con NEFA, un importante marcador de movilización lipídica, lo que indica un aumento de la lipólisis. El aumento de irisina en animales alimentados con leche de cabra fermentada contribuye a un perfil metabólico favorable y al pardeamiento del tejido adiposo durante la recuperación de la anemia.

De acuerdo con Costa et al., (2016), la sustitución de la leche de vaca por la leche de cabra podría mejorar la calidad de los productos lácteos, ya que añade nuevas características sensoriales. El objetivo de su estudio fue desarrollar un tipo de yogur con leche de cabra (25, 50, 75 y 100 %) en lugar de la leche de vaca y comparar sus características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales. Los expertos en el análisis sensorial indicaron que los yogures hasta el 50 % de la leche de cabra recibieron promedios favorables y puntuaciones más bajas para concentraciones de leche de cabra más altas (75 % y 100 %). No se informó diferencia alguna en la acidez. Sin embargo, no causa alteraciones en los atributos sensoriales (50 % de leche de cabra) y por lo tanto puede ser considerada como una alternativa para la producción de productos lácteos.

La leche de cabra por sus múltiples propiedades nutracéuticas y por el alto rendimiento de sus productos derivados, representa una alternativa comercial interesante para la elaboración de leches fermentadas especiales. En la actualidad los cultivos probióticos por sus probadas propiedades se están usando ampliamente en la elaboración de leches fermentadas. Hernández-Monzón et al., (2016), teniendo en cuenta estos antecedentes en su trabajo tuvieron como objetivo desarrollar una leche fermentada de cabra con características probióticas, encontrando buena aceptabilidad y adecuada vida utilizando cultivos de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* conjuntamente con los cultivos del yogur.

MATERIAL Y MÉTODOS

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se han utilizado 80 ratas macho (*Rattus norvegicus*, raza Wistar albina), recién destetadas, procedentes del Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Granada. Los protocolos de manejo, cuidado y sacrificio de animales empleados fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad de Granada y de acuerdo con las directrices comunitarias de la Unión Europea.

Tras el destete, las ratas son divididas en dos grupos experimentales. La ferropdeficiencia es inducida en uno de los grupos por la técnica desarrollada previamente por nuestro grupo de investigación (Pallarés et al., 1993): las ratas son sometidas a un periodo pre-experimental (PPE) de 40 días, en los cuales se les suministra dieta estándar AIN-93G (Reeves et al., 1993), pero con bajo contenido en hierro (5.91 ± 0.36 mg/Kg por análisis). La dieta baja en hierro utilizada para inducir la anemia se obtuvo omitiendo el hierro del suplemento mineral de la dieta. El grupo control recibió la misma dieta, pero con un contenido normal en hierro (44.72 ± 0.98 mg/Kg por análisis) (Reeves et al., 1993).

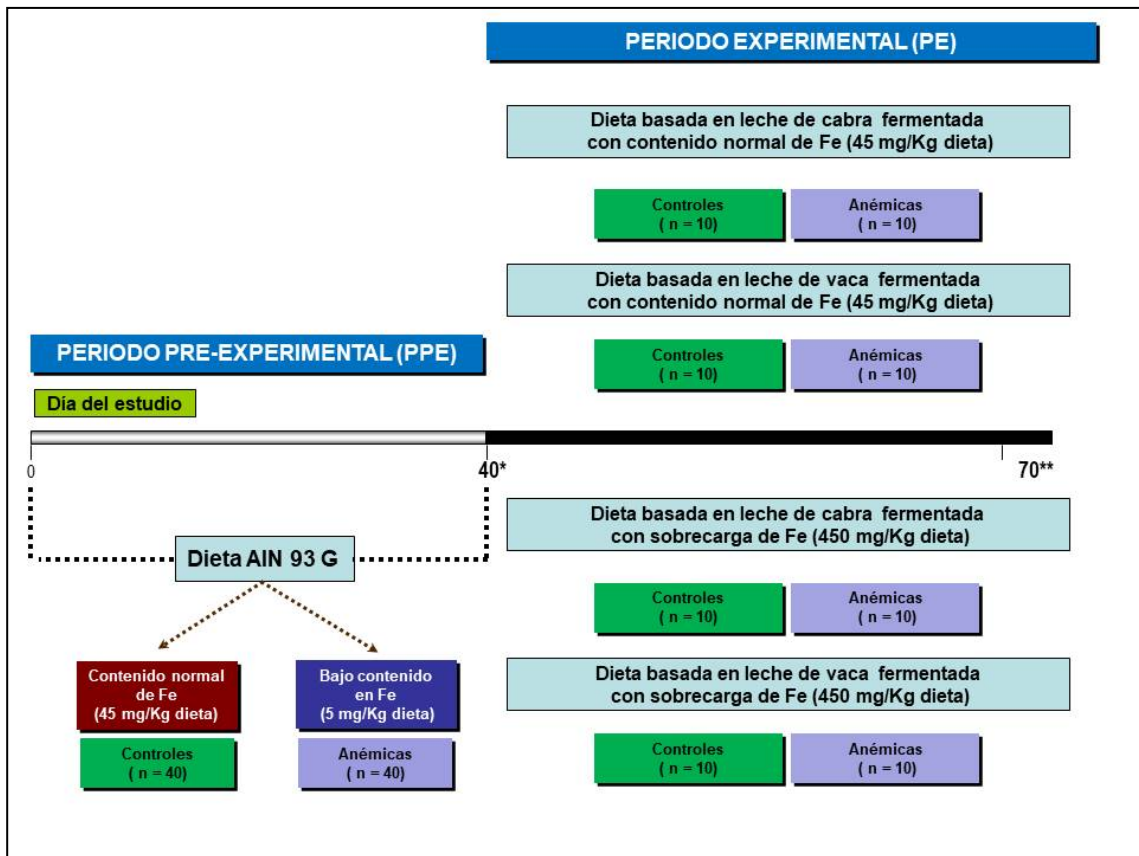
Desde el comienzo del estudio, las ratas fueron alojadas en células individuales de metabolismo. Estas células se encuentran situadas en una habitación aireada y termorregulada (21 ± 2 °C) con fotoperíodo controlado de 12 horas (luz-oscuridad) y un 55-60 % de humedad. El agua bidestilada está disponible ad libitum, mientras que la ingesta de alimento se controla (*pair feed*), de manera que los animales ingieren el 80 % de la ingesta media de cada periodo al día, para evitar las diferencias debidas a la cantidad de dieta ingerida. En el día 40 del PPE, se toman muestras de sangre periférica de la vena caudal para el control hematológico de la anemia.

Tras el PPE, los animales (n=80) se sometieron a un periodo experimental (PE) en el cual, los grupos controles y anémicos eran divididos en cuatro subgrupos,

alimentados durante 30 días con 4 tipos diferentes de dieta: basadas en leche de vaca o cabra fermentada, y con contenido normal (45 mg/kg dieta) o sobrecarga de Fe (450 mg/kg dieta). La dosis de 450 mg hierro/kg dieta es la más común para inducir la sobrecarga crónica de hierro en estudios animales (Raja et al., 1994) (Figura I). El contenido de hierro (mg/Kg) por análisis en las dietas fue: dieta normal de hierro: 43.98 ± 0.39 (dieta basada en leche de vaca fermentada), 44.28 ± 0.76 (dieta basada en leche de cabra fermentada) y dietas con sobrecarga de hierro: 469.82 ± 2.25 (dieta basada en leche de vaca fermentada) y 470.82 ± 2.35 (dieta basada en leche de cabra fermentada).

Al final del PE, los animales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (Sigma Diagnostic, St Louis, MO), totalmente desangrados mediante canulación de la aorta y se analizaron alícuotas de sangre con EDTA para medir los parámetros hematológicos y se determinó el resto de la sangre, se centrifugó (1500 xg, 4 °C, 15 min) para medir citosinas cardiovasculares en plasma. La sangre restante se centrifugó sin anticoagulante para separar los glóbulos rojos del suero y el posterior análisis de hierro, la TIBC, la Tsat, la ferritina y la hepcidina.

Figura I. Diseño experimental del estudio.



3.2 FERMENTACIÓN Y DESHIDRATACIÓN DE LAS LECHES

Las leches fermentadas se prepararon según el método descrito previamente por Moreno-Fernandez et al., (2016b). Ambos tipos de leches fueron inoculadas con iniciadores de yogur tradicional *Lactobacillus bulgaricus subsp. Delbruickii* y *Streptococcus thermophiles* (concentración inicial de 1×10^{11} UFC/mL de inóculo) y se incubaron a 37 °C aproximadamente. Previamente al proceso de deshidratación, la muestra de yogur se acondicionó y trató adecuadamente, homogeneizándose calentando a 20 °C y agitando vigorosamente con vortex. Una vez preparado el producto se deshidrató a una temperatura suave (50 °C) para evitar cambios nutricionales negativos, hasta que la humedad final varió entre el 2.5 % y el 4.5 %.

3.3 DIETAS ENSAYADAS

La Tabla I muestra la composición de las dietas ensayadas durante el PPE y PE.

Tabla I. Dietas ensayadas durante el PPE y PE.

COMPONENTE	CANTIDAD (g/kg)
PPE	
Dieta AIN 93 G (contenido normal o bajo contenido en Fe)^a	
Caseína	200
Aceite de Oliva Virgen	100
Almidón de trigo	500
Ingredientes constantes ^b	200
PE	
Dietas con leche de vaca fermentada (contenido normal o sobrecarga de Fe)^c	
Proteína de leche de vaca	204
Lactosa de leche de vaca	295
Grasa de leche de vaca	100
Almidón de trigo	201

Tabla I (Continuación). Dietas ensayadas durante el PPE y PE.

COMPONENTE	CANTIDAD (g/kg)
PE	
Ingredientes constantes ^b	200
Dietas con leche de cabra fermentada (contenido normal o sobrecarga de Fe)^c	
Proteína de leche de cabra	205
Lactosa de leche de cabra	290
Grasa de leche de cabra	100
Almidón de trigo	205
Ingredientes constantes ^b	200

^aContenido de hierro en la dieta durante el PPE: Las dietas fueron preparadas de acuerdo con las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (Reeves et al., 1993) para las ratas controles (contenido normal de hierro: 45 mg/kg dieta) y con bajo contenido en hierro para las ratas anémicas (5 mg/kg dieta) (Pallarés et al., 1993).

^bLos ingredientes constantes (g/kg dieta) fueron: fibra (celulosa micronizada) 50, sacarosa 100, Cloruro de colina 2.5, L-cistina 3, corrector mineral 35, corrector vitamínico 10.

^c Para las dietas basadas en leche de vaca y cabra fermentada del PE se formularon correctores minerales específicos teniendo en cuenta el contenido mineral que aportaban las leches fermentadas para alcanzar las citadas recomendaciones. Las dietas se prepararon de acuerdo a las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (Reeves et al., 1993) para los grupos control (45 mg/kg dieta) y con elevado contenido en hierro (450 mg/kg dieta) para los grupos de sobrecarga (Raja et al., 1994).

La dieta estándar AIN 93-G del PPE y los suplementos minerales y vitamínicos son preparados de acuerdo a las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (Reeves et al., 1993) pero con ligeras modificaciones en la fuente y nivel de grasa: la grasa proviene de aceite de oliva en lugar de soja (debido a sus conocidos efectos beneficiosos sobre la salud y por ser la más comúnmente consumida en nuestro país) y la proporción de grasa es del 10 % en lugar del 7 %. La fuente de hierro empleada fue citrato férrico.

3.4 CONTENIDO TOTAL DE NITRÓGENO, MATERIA SECA, CENIZAS, GRASA TOTAL, LACTOSA Y MINERALES

El contenido de nitrógeno se midió usando el método Kjeldahl (AOAC, 2005). La materia seca, ceniza, grasa total y lactosa se determinaron de acuerdo con los métodos descritos por AOAC (1995). El contenido mineral en las leches fermentadas y en las dietas se evaluó mediante análisis multielemental mediante un espectrofotómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Las muestras se mineralizaron previamente por método húmedo en un baño de arena (JR Selecta, Barcelona, España). Usando HNO₃ seguido de una mezcla de HNO₃: HClO₄ (69 %: 70 %, v/v; Merck KGaA, Darmstadt, Alemania; proporción 1:4, v/v) hasta la eliminación total de la materia orgánica. El análisis de Ca, P, Fe, Zn, Cu, Mg, Na y K se llevó a cabo utilizando un ICP-OES Optima 8300 (PerkinElmer Inc. Waltham, EE. UU.) con un detector de alto rendimiento de dispositivo de carga segmentada (SCD).

Tabla II. Composición química (%) de leche de vaca y cabra fermentada y deshidratada.

	Leche de vaca fermentada	Leche de cabra fermentada
Proteína	26.2	29.8
Grasa	31.6	31.8
Cenizas	12.7	9.3
Lactosa	29.5	29.1

Determinación y composición de aminoácidos

Las leches fermentadas deshidratadas se suspendieron en agua de modo que la concentración fue de aproximadamente 7 g de polvo/100 mL. Seguidamente 1.28 mL de leche de cabra fermentada y 1.21 mL de leche de vaca fermentada (de manera que había una cantidad igual de proteína de cada muestra) se dividieron en partes alícuotas por duplicado en dos series de tubos de hidrólisis. Una serie se sometió a análisis para los

aminoácidos estables en medio ácido y la otra se sometió a análisis para los aminoácidos azufrados. No se intentó eliminar la grasa de las muestras. Todos los tubos se secaron usando bomba de vacío. Los tubos utilizados para determinar los aminoácidos estables en medio ácido tenían 1 mL de HCl 6 M que contenía 0.1 % de fenol añadido antes de eliminar el gas (usando una bomba de vacío) y se sellaron fundiendo el estrechamiento del cuello del tubo de muestra. Después de la hidrólisis, los tubos se agrietaron y se añadió norleucina como patrón interno antes de volver a secarse. Una vez secos, los aminoácidos se disolvieron mediante la adición de tampón de carga (citrato sódico 67 mM, pH 2,2, con fenol al 0.1 % (p / v)) antes de analizarse usando un sistema de cromatografía líquida de alto rendimiento Waters de intercambio iónico (Waters Corporation, Milford, MA, EE. UU.). Utilizando derivatización y detección de ninhidrina en la columna con una absorbancia a 570 nm (440 nm para la prolina). Los tubos utilizados para determinar los aminoácidos de azufre se trataron con ácido per fórmico antes de la hidrólisis para oxidar cuantitativamente la cisteína y la metionina a los compuestos más estables, ácido cisteico y metionina sulfona. Estos tubos se prepararon por triplicado. Primero se enfriaron en hielo, antes de agregar 1 mL de ácido perfumado enfriado en hielo (proporción 9:1 de ácido fórmico al 88 %: peróxido de hidrógeno al 30 %). Los tubos se incubaron en hielo en un refrigerador durante 16 h. Después de la incubación, se añadieron 0,15 ml de bromuro de hidrógeno a los tubos, que luego se secaron. Una vez secos, los tubos se sometieron a hidrólisis ácida como se ha descrito en el primer paso.

Tabla III. Composición de aminoácidos (g/100 g aminoácidos) de leche de vaca y cabra fermentada y deshidratada.

	Leche de vaca fermentada	Leche de cabra fermentada
Thr	1.51	1.85
Ileu	1.90	2.25
Leu	2.81	4.11
Lys	2.48	2.86
Met	0.81	1.36
Cys	0.05	0.08

Tabla III (Continuación). Composición de aminoácidos (g/100 g aminoácidos) de leche de vaca y cabra fermentada y deshidratada.

	Leche de vaca fermentada	Leche de cabra fermentada
Phe	1.21	1.98
Tyr	0.49	0.88
Val	1.92	2.76
Arg	0.75	1.39
His	0.77	1.42
Ala	1.52	1.48
Asp	2.71	3.40
Glu	5.41	9.46
Gly	0.53	0.86
Pro	2.91	4.12
Ser	1.77	2.33

Determinación y composición de ácidos grasos

Los ésteres metílicos de ácidos grasos se prepararon mediante metanolisis básica catalizada por glicéridos (KOH en metanol) de acuerdo con el procedimiento ISO-IDF (ISO-IDF, 2002). El análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos con cromatografía de gases con un detector de ionización de llama (GC-FID) se realizó en un cromatógrafo de gas-líquido (sistema de red Agilent 6890 N) con un autoinyector. El perfil de ésteres metílicos de ácidos grasos se determinó mediante inyección dividida (1:100) en una columna capilar de sílice fundida CP-Sil 88 (100 mx 0.25 mm con película de 0.20 μm , Varian, Middelburg, Países Bajos) usando un programa de temperatura de gradiente. La temperatura inicial del horno fue de 160 °C. Después de 80 min, la temperatura del horno se elevó a 10 °C min^{-1} a 210 °C y luego se mantuvo durante 35 min. El helio era el gas portador, y el inyector y el detector estaban a 250 °C.

Tabla IV. Composición de ácidos grasos (g/100 g de ácidos grasos totales) de leche de vaca y cabra fermentada y deshidratada.

	Leche de vaca fermentada	Leche de cabra fermentada
C4:0	3.61	2.63
C6:0	2.29	3.21
C8:0	1.38	3.59
C10:0	3.30	11.11
C11:0	0.10	0.11
C12:0	3.61	4.59
C13:0	0.11	0.12
C14:0	12.31	8.02
C14:1	1.07	0.41
C15:0	2.39	0.89
C16:0	34.81	26.77
C16:1	2.09	1.11
C17:0	1.22	0.39
C18:0	8.22	8.64
C18:1 <i>n-9</i>	19.41	24.23
C18:2 <i>n-6</i>	2.29	3.42
C18:0	0.20	0.21
C18:3	0.71	0.42
C20:4	0.22	0.12
C20:5	0.10	0.08
C22:5	0.09	0.11
SFA	73.60	72.90
MUFA	20.80	20.00
PUFA	2.90	3.50
PUFA <i>n-3</i>	0.40	0.70
PUFA <i>n-6</i>	2.30	2.90

Determinación y composición mineral

El análisis multielemental por espectrómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) (Perkin-Elmer Optima 8300, Perkin-Elmer, Shelton, CT) se llevó a cabo para medir Ca, P, Mg, Zn, K, Fe, Cu, Se, I. Las muestras de leche fermentada fueron previamente mineralizadas por método húmedo en un baño de arena (JR Selecta, Barcelona, España); las muestras se colocaron en un matraz resistente y se disolvieron usando ácido nítrico seguido de una mezcla de HNO₃: HClO₄ (69 %: 70 %, v/v; Merck KGaA, Darmstadt, Alemania; en relación 1:4, v/v) hasta la eliminación total de materia orgánica. Finalmente, las muestras se diluyeron con agua Milli-Q ultrapura bidestilada. Todas las mineralizaciones se realizaron por triplicado, y los blancos se prepararon y analizaron siguiendo el mismo procedimiento. Para disminuir el riesgo de contaminación, se utilizaron placas de polipropileno y puntas de pipeta de plástico, reduciéndose al mínimo el material de vidrio. Todos los materiales se lavaron en ácido nítrico y se enjuagaron varias veces con agua desionizada bidestilada. Todo el análisis de la muestra de leche fermentada se llevó a cabo utilizando un Optima 8300 (PerkinElmer Inc. Waltham, EE. UU.) Con un detector de alto rendimiento de dispositivo de carga segmentada (SCD) de matriz segmentada. Los elementos Ca, P, Mg, Zn, K, Fe, Cu, Se, I no se midieron todos en el mismo análisis, porque todos los elementos pueden reaccionar de manera diferente en ciertas soluciones ácidas o en ciertas condiciones de plasma acoplado inductivamente y, por lo tanto, los elementos compatibles analizados juntos bajo un conjunto optimizado de condiciones. Se utilizaron seis métodos analíticos diferentes donde la preparación de la muestra y/o las condiciones del instrumento se optimizaron para el conjunto de elementos que se analizaban. Para la calibración del aparato, se usaron soluciones multielementales de calibración de Astasol (Analytika, Khodlova, Praga). Para preparar la curva de calibración, se prepararon las siguientes diluciones de trabajo del patrón analítico: 0.1, 1.0, 10, 20, 50 mg/L. Como "estándar de verificación", se usó la solución estándar (10 mg/L) después de cada serie de 5 muestras. El resultado aceptable se evaluó como 10 %. Las muestras examinadas se midieron en tres repeticiones. El resultado final fue una media aritmética, que difería menos del 5 %.

Las concentraciones de P se analizaron mediante espectrofotometría visible (espectrómetro UV / VIS de Perkin-Elmer lambda 16) utilizando la técnica de Fiske-Subbarow (Fiske y Subbarow, 1925).

Tabla V. Composición mineral (mg/kg) de leche de vaca y cabra fermentada y deshidratada.

	Leche de vaca fermentada	Leche de cabra fermentada
Ca	7965	9490
P	7530	7340
Mg	809.0	921.1
Zn	24.33	29.31
K	11.82	11.49
Fe	4.58	5.45
Cu	0.28	0.79
Se	0.21	0.32
I	0.05	0.03

Determinación y composición de vitaminas

La vitamina A, la vitamina E, la vitamina B₆, la vitamina B₁₂ y la vitamina C se determinaron en un sistema de HPLC (Hewlett-Packard, Waldbronn, Alemania) que consistía en un dispositivo de degasificación de la serie HP 1050, un HP 1100 (para análisis hidrosoluble), o un automuestreador Waters 717 (para análisis liposoluble) (Waters, Milford, MA), ambos con 20 mL de inyector de bucle fijo y un detector de UV serie HP 1050 de longitud de onda variable. La adquisición de datos se realizó mediante un sistema Chemstation HP 3365-II (Hewlett-Packard). La separación se realizó usando una columna de fase inversa Tracer Spherisorb ODS2 C18 (TR-011019) de 250 x 4.6 mm, diámetro de partícula de 5 mm (Teknokroma, Barcelona, España), con un cartucho protector a juego. Ambos análisis se llevaron a cabo de forma isocrática a un caudal de 1 mL/min. Las vitaminas hidrosolubles se determinaron a partir de 10 g de leches fermentadas deshidratadas con 10 mL de agua Milli-Q. La fase móvil utilizada en la HPLC contenía ácido octanosulfónico (reactivo de emparejamiento iónico) 5 mM, trietilamina al 0.5 %, ácido acético glacial al 2.4 % y 15 % de metanol en agua Milli-Q. La vitamina B₆, la vitamina B₁₂ y la vitamina C se obtuvieron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). La vitamina A y la vitamina E se determinaron a partir de 15 g de leches fermentadas deshidratadas disueltas con 100 mL de agua Milli-Q y se

saponificaron a temperatura ambiente durante la noche usando etanol absoluto, solución de hidróxido de potasio y ácido ascórbico como antioxidante. Las muestras se extrajeron con n-hexano y se añadió hidroxitolueno butilado (BHT) como antioxidante, luego se evaporó y se redisolvió en metanol. Los extractos se inyectaron en el sistema de HPLC. Se utilizó agua-acetonitrilo-metanol (4:1:95, v/v/v) como fase móvil. Las condiciones de trabajo involucraban poca luz y atmósfera de nitrógeno para evitar la degradación de las vitaminas. Trans-Retinol (vitamina A) y tocoferol (vitamina E) se compraron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO).

El ácido fólico se determinó en un sistema de HPLC (Hewlett-Packard, Waldbronn, Alemania) acoplado a un detector de masas en tándem Quattro Ultima (Waters-Micromass, Manchester, Reino Unido). El sistema de HPLC estaba equipado con una columna XBridge C18 de 150 mm x 3 mm (Waters, Milford, PA) mantenida a 40 °C. Se usó una fase móvil de gradiente binario a un caudal de 0.4 mL/min con disolvente A (ácido acético al 0.1 % en agua) y disolvente B (ácido acético al 0.1 % en metanol). El gradiente se inició de forma indirecta durante 0.5 minutos a 10 % de B, seguido de un aumento lineal a 100 % de B en 4.5 minutos. Después de una retención isocrática al 100 % de B durante 5.9 minutos, el gradiente volvió al 10 % de B en 0.1 min para el equilibrio de la columna durante 3 minutos. El espectrómetro de masas se hizo funcionar en modo negativo por electrospray y la adquisición de datos se realizó en modo de monitorización de reacción múltiple. El argón se usó como gas de colisión a 3.2×10^{-3} mbar y el multiplicador fue operado a 750 V. Al comienzo de cada serie, se inyectan patrones de trabajo que contienen ácido fólico para verificar el rendimiento del instrumento.

Tabla VI. Composición vitamínica ($\mu\text{g}/100\text{g}$) de leche de vaca y cabra fermentada y deshidratada.

	Leche de vaca fermentada	Leche de cabra fermentada
Vitamina A	207.25	498.33
Vitamina D₃	0.02	0.07
Vitamina E	0.09	0.03

Tabla VI (Continuación). Composición vitamínica ($\mu\text{g}/100\text{g}$) de leche de vaca y cabra fermentada y deshidratada.

	Leche de vaca fermentada	Leche de cabra fermentada
Vitamina B₆	42.71	33.25
Vitamina B₁₂	0.08	0.45
Ácido fólico	2.21	0.73
Vitamina C	931.12	759.65

3.5 TEST HEMATOLÓGICO

Todos los parámetros hematológicos se realizan a partir de sangre periférica obtenida de la vena caudal y recogida en un tubo con EDTA, para el control hematológico de la anemia. Las determinaciones se han llevado a cabo con un autoanalizador hematológico SYSMEX KX-21 (Sysmex, Tokyo, Japan).

3.6 HIERRO SÉRICO, CAPACIDAD TOTAL DE FIJACIÓN HIERRO (TIBC) Y SATURACIÓN DE TRANSFERRINA (Tsat)

Para calcular la tasa de Tsat, se determinaron la concentración sérica de hierro y TIBC utilizando los reactivos Sigma Diagnostics Iron y TIBC (Sigma Diagnostics). La absorbancia de las muestras se leyó a 550 nm en un lector de microplacas (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA). El porcentaje de saturación se calculó a partir de la ecuación:

$$\text{Saturación de Transferrina (\%)} = \text{concentración sérica de Fe } (\mu\text{g/L}) / \text{TIBC } (\mu\text{g/L}) \times 100$$

3.7 FERRITINA SÉRICA

La concentración de ferritina sérica se determinó usando el kit Rat Ferritin ELISA (Biovendor GmbH, Heidelberg, Germany). La absorbancia de la reacción se leyó a 450 nm usando un lector de microplacas (Bio-tek, Vermont, EE. UU). La intensidad del color desarrollada fue inversamente proporcional a la concentración de ferritina sérica.

3.8 HEPCIDINA SÉRICA

La concentración de hepcidina-25 se determinó usando un kit DRG ELISA (DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany). Los pocillos de microtitulación se recubrieron con anticuerpo monoclonal (de ratón) dirigido hacia un sitio antigénico de la molécula de hepcidina-25. La hepcidina-25 endógena de una muestra compitió con un conjugado de hepcidina-25-biotina para unirse al anticuerpo recubierto. Después de la incubación, el conjugado no unido se retiró por lavado y se añadió un complejo de enzima estreptavidina-peroxidasa a cada pocillo. Después de la incubación, el complejo de enzima libre se eliminó por lavado y se añadió la solución de sustrato. El desarrollo del color azul se detuvo después de un corto tiempo de incubación, cambiando el color de azul a amarillo. La microplaca se leyó a 450 nm en un lector de microplacas (Bio-Rad Laboratories Inc.) y la intensidad del color desarrollado fue inversamente proporcional a la concentración de hepcidina en la muestra.

3.9 PARÁMETROS DE SALUD CARDIOVASCULAR

Se utilizó la tecnología Luminex xMAP (Millipore, Darmstadt, Germany), la cual está construida sobre tecnologías existentes y probadas, la citometría de flujo, uso de microesferas, tecnología láser, procesamiento de las señales digitales y la química

tradicional del inmunoensayo. El sistema Luminex es la combinación de tres tecnologías xMAP básicas. La primera es la de microesferas xMAP, una familia de 100 microesferas de poliestireno de 5.6 micrómetros, coloreadas mediante fluorescencia, que actúan como identificador, y superficie sólida para desarrollar el ensayo. La segunda, es un instrumento basado en citometría de flujo, que integra componentes como láseres, óptica, fluidos avanzados y procesadores de señal digital de alta velocidad. El tercer componente es el software IS, diseñado para la adquisición de datos mediante "templates", con un sólido análisis de regresión de datos. Esta tecnología presenta ciertas ventajas como reducción de coste y trabajo, reducción de tiempo, resultados más reproducibles que con arrays sólidos y posible determinación de entre 1-100 analitos. En definitiva, se realizó un número elevado de determinaciones en un volumen pequeño de muestras (25-50 μ l), lo cual es de gran importancia en este estudio. Se usó el panel de microesferas magnéticas para lesiones vasculares de rata RV1MAG-26K MILLIPLEX MAP (Millipore Corporation, Missouri, EE.UU.), con el siguiente panel de analitos: CAV-1, CINC-1/GRO/KC, CTGF, IL-6, MCP-1, tPAI-1, TIMP-1, TNF- α y VEGF. La adiponectina, la sE-Selectina y la sICAM-1 se determinaron usando el Panel de microesferas magnéticas para lesiones vasculares de rata RV1MAG-26K MILLIPLEX MAP 2 (Millipore). Estos se basan en inmunoensayos en la superficie de esferas fluorescentes codificadas (microesferas), siguiendo las especificaciones del fabricante (50 eventos por perla, 50 μ l de muestra, configuración de compuerta: 8000-15000, tiempo de espera 60 segundos). La placa se leyó en el analizador LABScan 100 (Luminex Corporation, Texas, EE.UU.) con el software xPONENT para adquisición de datos. Los valores promedio para cada conjunto de muestras o estándares duplicados se encontraban dentro del 15 % de la media. Curva estándar: CAV-1: 1.4–1000 ng/mL, CINC-1/GRO/KC, IL-6, MCP-1, PAI-1 (total): 0.1–100 ng/mL, CTGF: 0.3–200 ng/mL, TIMP-1: 0.2–150 ng/mL, TNF α : 0.05–20 ng/mL, VEGF: 0.1–15 ng/mL, adiponectina: 0.3–250 ng/mL, sE-Selectina: 0.1–50 ng/mL, sICAM-1: 0.1–40 ng/mL. Las concentraciones de analitos en muestras de plasma se determinaron comparando la media de muestras duplicadas con la curva estándar para cada ensayo.

3.10 ESTADÍSTICA

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa informático SPSS (versión 24.0, 2016, SPSS Inc., Chicago, IL). Las diferencias entre los grupos alimentados con dietas con contenido normal de hierro o bajo en hierro durante el PPE se evaluaron con significación estadística con la prueba de la t de Student. Los medios individuales se probaron mediante comparación por pares con la prueba de comparación múltiple de Tukey cuando los efectos principales y las interacciones fueron significativos. Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 vías para determinar los efectos del tipo de la dieta, la anemia y el contenido de hierro en la dieta. Las diferencias se consideraron significativas a $P < 0.05$.

TABLAS Y FIGURAS

4 TABLAS Y FIGURAS

Tabla VII. Parámetros hematológicos de ratas controles y anémicas en el día 40 de la ferropdeficiencia (PPE).

	Grupo Control Normal hierro (45mg Fe/Kg dieta) (n=40)	Grupo Anémico Bajo hierro (5mg/Kg dieta) (n=40)
SANGRE TOTAL		
Concentración de Hb (g L⁻¹)	132.95 ± 2.91	61.35 ± 2.86 *
Hematíes (10¹²/L⁻¹)	7.21 ± 0.21	3.10 ± 0.22 *
Hematocrito (%)	40.21 ± 1.09	13.21 ± 1.29 *
VCM (fL)	55.49 ± 0.51	36.82 ± 0.36 *
HCM (pg)	19.45 ± 0.14	14.15 ± 0.64 *
CHCM (g d L⁻¹)	35.57 ± 0.35	30.18 ± 0.76*
ADE (%)	16.25 ± 0.34	19.22 ± 0.36 *
Plaquetas (10⁹ L⁻¹)	729 ± 70.22	2119 ± 116 *
Leucocitos (10⁹ L⁻¹)	8.89 ± 0.38	8.56 ± 0.76
Linfocitos (10⁶ mL⁻¹)	7.87 ± 0.56	5.74 ± 0.81*
SUERO		
Hierro (µg/L⁻¹)	1334 ± 98.76	605 ± 56.03 *
TIBC (µg L⁻¹)	2674 ± 185	17876 ± 587 *
Saturación de Transferrina (%)	49.11 ± 5.86	3.95 ± 0.43 *
Ferritina (µg L⁻¹)	79.82 ± 2.11	49.23 ± 1.63 *
Hepcidina (ng mL⁻¹)	13.70 ± 0.36	15.54 ± 0.72*

Los valores están expresados como medias ± error estándar de la media.

*Valores significativamente diferentes (P < 0.001) con respecto al grupo control mediante el test de la t de Student.

Hb, hemoglobina; VCM, volumen corpuscular medio; HCM, Hb corpuscular media; CHCM, concentración de Hb corpuscular media; ADE, amplitud de distribución eritrocitaria; TIBC, capacidad total de fijación de hierro.

Tabla VIII. Parámetros hematológicos de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro (n=10 animales por grupo).

	Dieta de leche fermentada de vaca			Dieta de leche fermentada de cabra		2-WAY ANOVA		
	Contenido de hierro	Grupo Control	Grupo Anémico	Grupo Control	Grupo Anémico	Dieta	Anemia	Contenido de hierro
Concentración de Hb (g L⁻¹)	Normal	128.97 ± 2.87	129.31 ± 2.55	132.01 ± 2.75	129.22 ± 2.47	NS ¹	NS	< 0.001
	Sobrecarga	142.55 ± 2.62C	141.15 ± 2.91C	141.33 ± 2.99C	146.98 ± 3.01BC	< 0.05	NS	
Hematíes (10¹² L⁻¹)	Normal	7.07 ± 0.17	7.08 ± 0.21	7.40 ± 0.20	7.22 ± 0.21	NS	NS	< 0.05
	Sobrecarga	6.96 ± 0.18	7.18 ± 0.23	8.03 ± 0.29AC	7.12 ± 0.21	< 0.01	NS	
Hematocrito (%)	Normal	40.07 ± 1.18	39.01 ± 0.98	41.96 ± 1.22A	42.96 ± 0.99B	< 0.01	NS	< 0.01
	Sobrecarga	39.43 ± 1.32	44.88 ± 2.75C	44.84 ± 1.27AC	45.47 ± 1.36C	< 0.05	NS	
VCM (fL)	Normal	57.55 ± 0.53	55.35 ± 0.58	57.33 ± 0.56	55.11 ± 0.53	NS	NS	NS
	Sobrecarga	56.81 ± 0.59	53.21 ± 0.56	56.45 ± 0.53	56.18 ± 0.52B	< 0.05	NS	
Plaquetas (10⁹ L⁻¹)	Normal	932.89 ± 70.29	962.78 ± 66.56	926.15 ± 79.58	935.29 ± 67.01	NS	NS	NS
	Sobrecarga	940.01 ± 70.85	965.43 ± 72.17	934.03 ± 81.29	946.01 ± 70.34	NS	NS	

¹ NS, no significativo.

^A Los valores medios del grupo control respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^B Los valores medios del grupo anémico respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^C Los valores medios del grupo correspondiente respecto a los alimentados con contenido normal de hierro fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Student).

Tabla VIII (Continuación). Parámetros hematológicos de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro (n=10 animales por grupo).

	Dieta de leche fermentada de vaca			Dieta de leche fermentada de cabra		2-WAY ANOVA		
	Contenido de hierro	Grupo Control	Grupo Anémico	Grupo Control	Grupo Anémico	Dieta	Anemia	Contenido de hierro
Hierro Sérico ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Normal	1344 \pm 85.91	1352 \pm 86.21	1353 \pm 87.76	1325 \pm 93.49	NS	NS	< 0.01
	Sobrecarga	1589 \pm 99.03C	1588 \pm 99.78C	1555 \pm 100C	1577 \pm 96.93C	NS	NS	
TIBC ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Normal	2785 \pm 156	2797 \pm 136	2784 \pm 144	2791 \pm 159	NS	NS	< 0.01
	Sobrecarga	3146 \pm 178C	3253 \pm 174C	3252 \pm 171C	3194 \pm 167C	NS	NS	
Saturación de transferrina (%)	Normal	46.01 \pm 0.89	45.47 \pm 0.90	46.66 \pm 0.75	46.38 \pm 0.95	NS	NS	< 0.01
	Sobrecarga	47.77 \pm 1.31C	47.85 \pm 1.08C	49.61 \pm 0.97C	48.92 \pm 1.02C	NS	NS	
Ferritina sérica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Normal	83.27 \pm 1.73	82.85 \pm 1.66	84.29 \pm 1.73	82.35 \pm 1.79	NS	NS	< 0.01
	Sobrecarga	87.68 \pm 1.82C	86.85 \pm 1.89C	87.83 \pm 1.91C	86.67 \pm 1.95C	NS	NS	
Hepcidina sérica (ng mL^{-1})	Normal	16.33 \pm 0.59	16.41 \pm 0.50	14.26 \pm 0.55A	14.25 \pm 0.57B	< 0.01	NS	NS
	Sobrecarga	17.73 \pm 0.61C	16.88 \pm 0.59	15.10 \pm 0.61A	14.39 \pm 0.62B	< 0.01	NS	

¹ NS, no significativo.

^A Los valores medios del grupo control respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^B Los valores medios del grupo anémico respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^C Los valores medios del grupo correspondiente respecto a los alimentados con contenido normal de hierro fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Student).

Tabla IX. Biomarcadores de riesgo cardiovascular en plasma de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro (n=10 animales por grupo).

(ng mL ⁻¹)	Contenido de hierro	Dieta de leche fermentada de vaca		Dieta de leche fermentada de cabra		2-WAY ANOVA		
		Grupo Control	Grupo Anémico	Grupo Control	Grupo Anémico	Dieta	Anemia	Contenido de hierro
CAV-1	Normal	0.703 ± 0.045	0.684 ± 0.044	0.946 ± 0.088A	0.961 ± 0.087B	< 0.001	NS ¹	NS
	Sobrecarga	0.685 ± 0.035	0.711 ± 0.049	0.856 ± 0.068A	0.953 ± 0.095B	< 0.001	NS	
CINC-1/GRO/KC	Normal	0.459 ± 0.075	0.508 ± 0.053	0.289 ± 0.051A	0.175 ± 0.020B	< 0.001	NS	NS
	Sobrecarga	0.452 ± 0.025	0.540 ± 0.033	0.303 ± 0.022A	0.185 ± 0.035B	< 0.001	NS	
CTGF	Normal	0.335 ± 0.041	0.791 ± 0.085C	0.391 ± 0.039	0.296 ± 0.065B	< 0.01	< 0.05	< 0.05
	Sobrecarga	0.351 ± 0.052	1.079 ± 0.125CD	0.362 ± 0.083	0.309 ± 0.044B	< 0.01	< 0.05	

¹ No significativo.

^A Los valores medios del grupo control respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^B Los valores medios del grupo anémico respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^C Los valores medios respecto a las ratas controles fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de la t de Student).

^D Los valores medios respecto a los alimentados con contenido normal de hierro fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de la t de Student).

Tabla IX (Continuación). Biomarcadores de riesgo cardiovascular en plasma de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro (n=10 animales por grupo).

(ng mL ⁻¹)	Contenido de hierro	Dieta de leche fermentada de vaca		Dieta de leche fermentada de cabra		2-WAY ANOVA		
		Grupo Control	Grupo Anémico	Grupo Control	Grupo Anémico	Dieta	Anemia	Contenido de hierro
IL-6	Normal	0.483 ± 0.048	0.409 ± 0.044	0.309 ± 0.051A	0.316 ± 0.042B	< 0.01	NS	NS
	Sobrecarga	0.439 ± 0.021	0.423 ± 0.035	0.337 ± 0.018A	0.327 ± 0.031B	< 0.01	NS	
MCP-1	Normal	0.575 ± 0.031	0.767 ± 0.052C	0.458 ± 0.028A	0.507 ± 0.044B	< 0.001	< 0.01	NS
	Sobrecarga	0.580 ± 0.033	0.697 ± 0.048C	0.466 ± 0.039A	0.504 ± 0.052B	< 0.001	< 0.05	
tPAI-1	Normal	0.183 ± 0.019	0.169 ± 0.026	0.122 ± 0.027A	0.142 ± 0.035	< 0.001	NS	NS
	Sobrecarga	0.178 ± 0.028	0.163 ± 0.031	0.125 ± 0.031A	0.135 ± 0.022B	< 0.001	NS	

1 No significativo.

^A Los valores medios del grupo control respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^B Los valores medios del grupo anémico respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^C Los valores medios respecto a las ratas controles fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de la *t* de Student).

^D Los valores medios respecto a los alimentados con contenido normal de hierro fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de la *t* de Student).

Tabla IX (Continuación). Biomarcadores de riesgo cardiovascular en plasma de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro (n=10 animales por grupo).

(ng mL ⁻¹)	Contenido de hierro	Dieta de leche fermentada de vaca		Dieta de leche fermentada de cabra		2-WAY ANOVA		
		Grupo Control	Grupo Anémico	Grupo Control	Grupo Anémico	Dieta	Anemia	Contenido de hierro
TIMP-1	Normal	15.771 ± 0.852	17.861 ± 0.836	7.543 ± 0.509A	7.579 ± 0.602B	< 0.001	NS	< 0.05
	Sobrecarga	15.581 ± 0.651	14.554 ± 0.798D	7.055 ± 0.582A	5.899 ± 0.585BCD	< 0.001	< 0.05	
TNF-α	Normal	0.086 ± 0.045	0.092 ± 0.049	0.061 ± 0.037A	0.063 ± 0.058B	< 0.01	NS	NS
	Sobrecarga	0.085 ± 0.036	0.088 ± 0.033	0.063 ± 0.031A	0.062 ± 0.036B	< 0.01	NS	
VEGF	Normal	0.864 ± 0.088	0.957 ± 0.091	0.537 ± 0.089A	0.651 ± 0.087B	< 0.001	NS	< 0.001
	Sobrecarga	1.345 ± 0.123D	1.556 ± 0.154D	0.856 ± 0.101D	1.181 ± 0.152BD	< 0.001	NS	

1 No significativo.

^A Los valores medios del grupo control respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^B Los valores medios del grupo anémico respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^C Los valores medios respecto a las ratas controles fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de la *t* de Student).

^D Los valores medios respecto a los alimentados con contenido normal de hierro fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de la *t* de Student).

Tabla IX (Continuación). Biomarcadores de riesgo cardiovascular en plasma de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro (n=10 animales por grupo).

(ng mL ⁻¹)	Contenido de hierro	Dieta de leche fermentada de vaca		Dieta de leche fermentada de cabra		2-WAY ANOVA		
		Grupo Control	Grupo Anémico	Grupo Control	Grupo Anémico	Dieta	Anemia	Contenido de hierro
Adiponectina	Normal	44.412 ± 2.891	44.771 ± 3.823	162.225 ± 3.342A	159.823 ± 5.011B	< 0.001	NS	< 0.01
	Sobrecarga	58.221 ± 3.325D	56.325 ± 2.925D	158.532 ± 3.825A	160.325 ± 4.925B	< 0.001	NS	
sE-Selectina	Normal	123.243 ± 10.121	126.181 ± 12.254	50.325 ± 1.321A	49.221 ± 1.925B	< 0.001	NS	NS
	Sobrecarga	124.113 ± 9.981	129.223 ± 0.321	51.225 ± 1.632A	50.876 ± 2.321B	< 0.001	NS	
sICAM-1	Normal	13.225 ± 1.324	12.671 ± 1.223	8.825 ± 1.731A	8.941 ± 1.025B	< 0.001	NS	< 0.01
	Sobrecarga	17.154 ± 1.189D	19.654 ± 1.561D	10.123 ± 1.658A	10.547 ± 1.723B	< 0.001	NS	

1 No significativo.

^A Los valores medios del grupo control respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^B Los valores medios del grupo anémico respecto a los alimentados con dieta de leche de vaca fermentada fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de Tukey).

^C Los valores medios respecto a las ratas controles fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de la t de Student).

^D Los valores medios respecto a los alimentados con contenido normal de hierro fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$, test de la t de Student).

Figura II. Concentración de hemoglobina (g L^{-1}) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

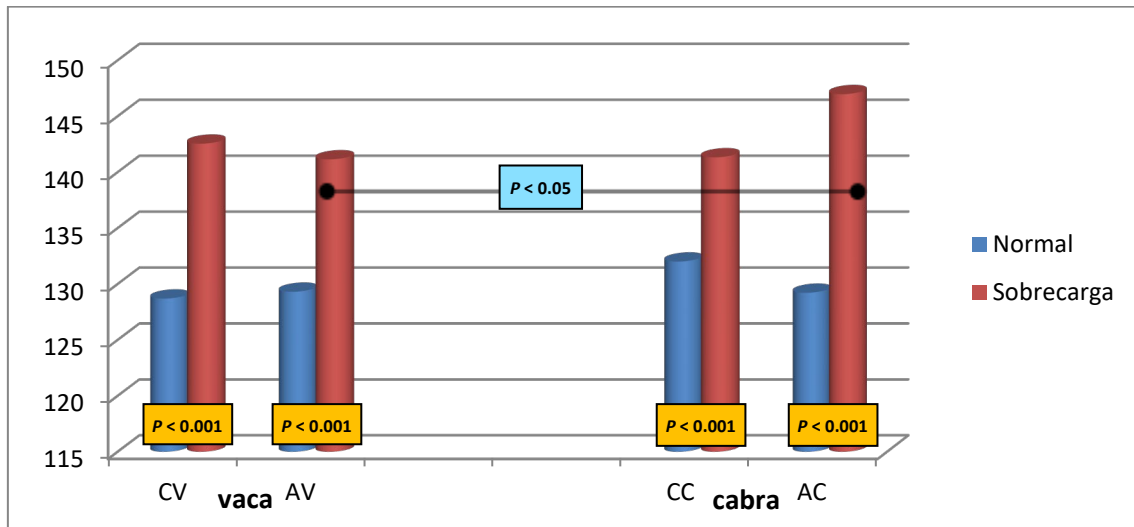


Figura III. Hematíes (10^{12} L^{-1}) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

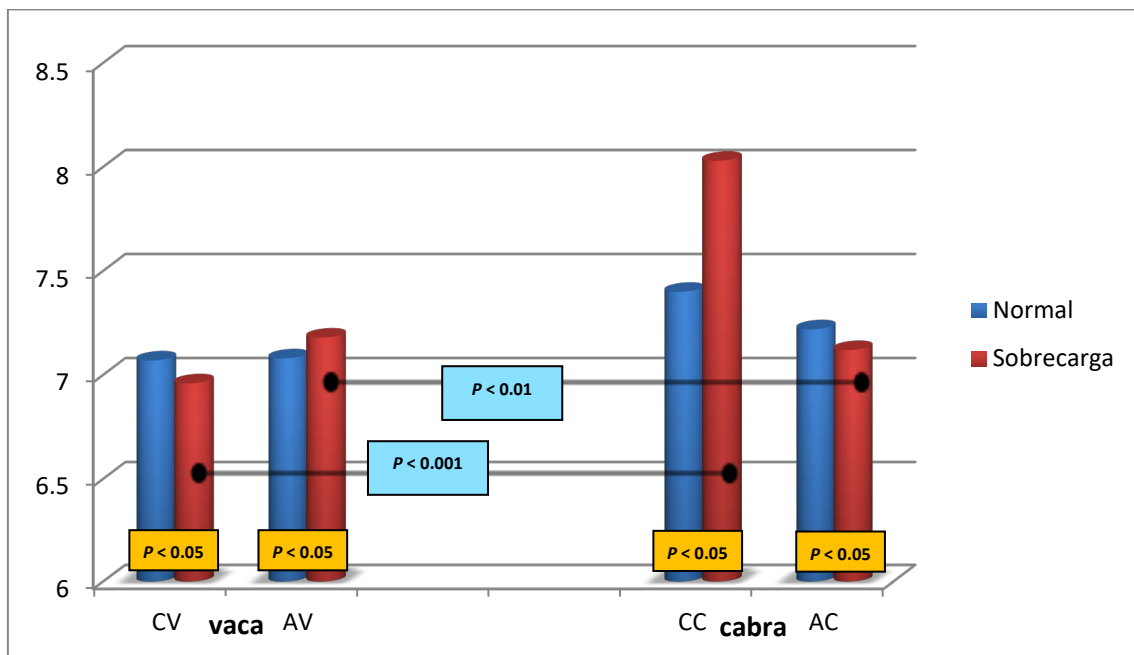


Figura IV. Hematocrito (%) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

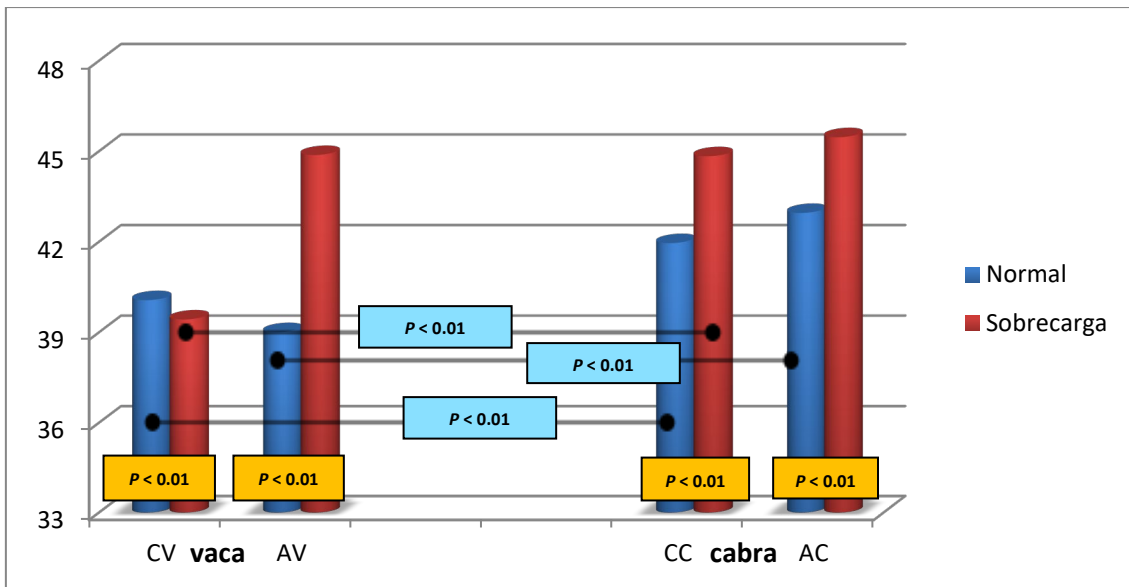


Figura V. VCM (fL) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

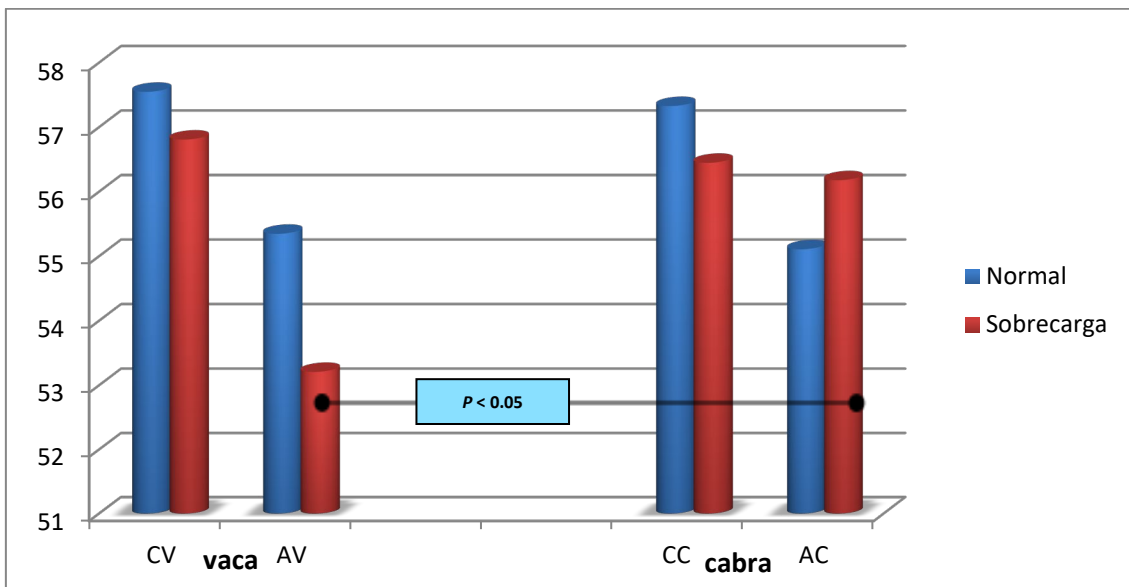


Figura VI. Plaquetas (10^9 L^{-1}) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

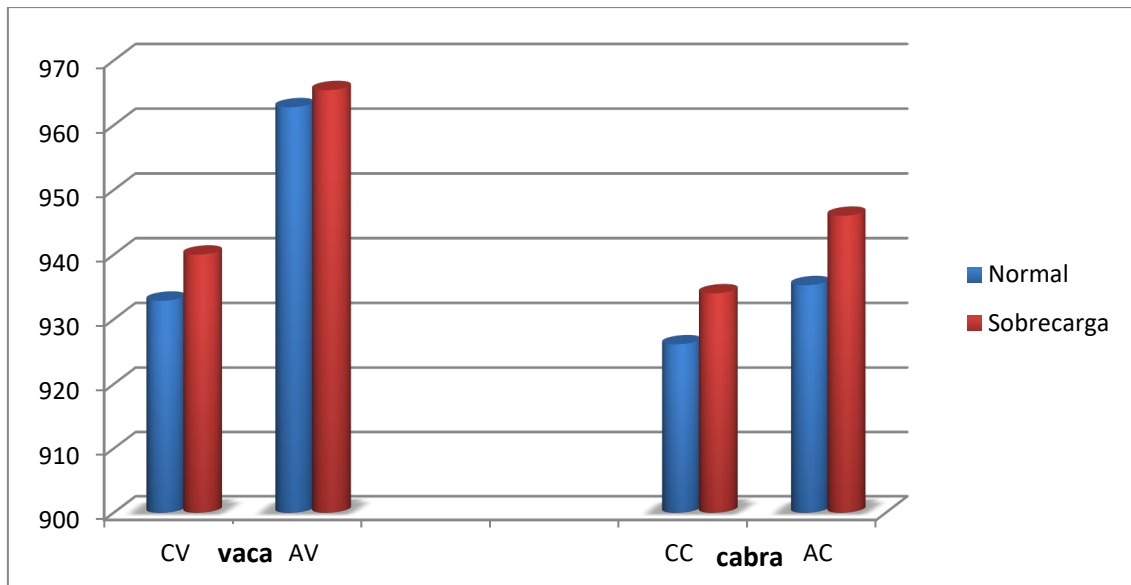


Figura VII. Hierro sérico ($\mu\text{g L}^{-1}$) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

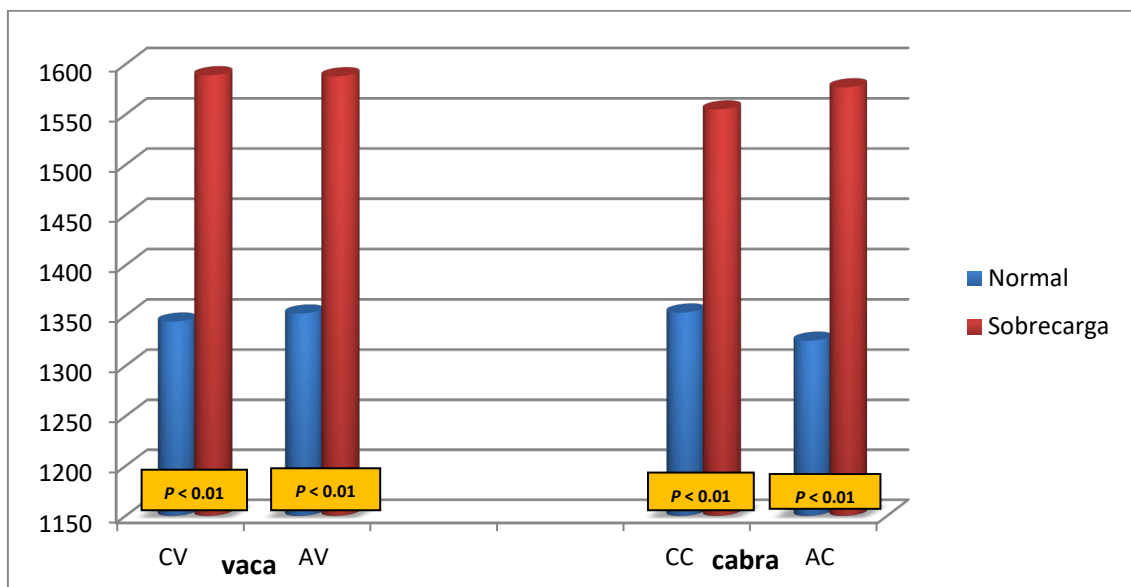


Figura VIII. TIBC ($\mu\text{g L}^{-1}$) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

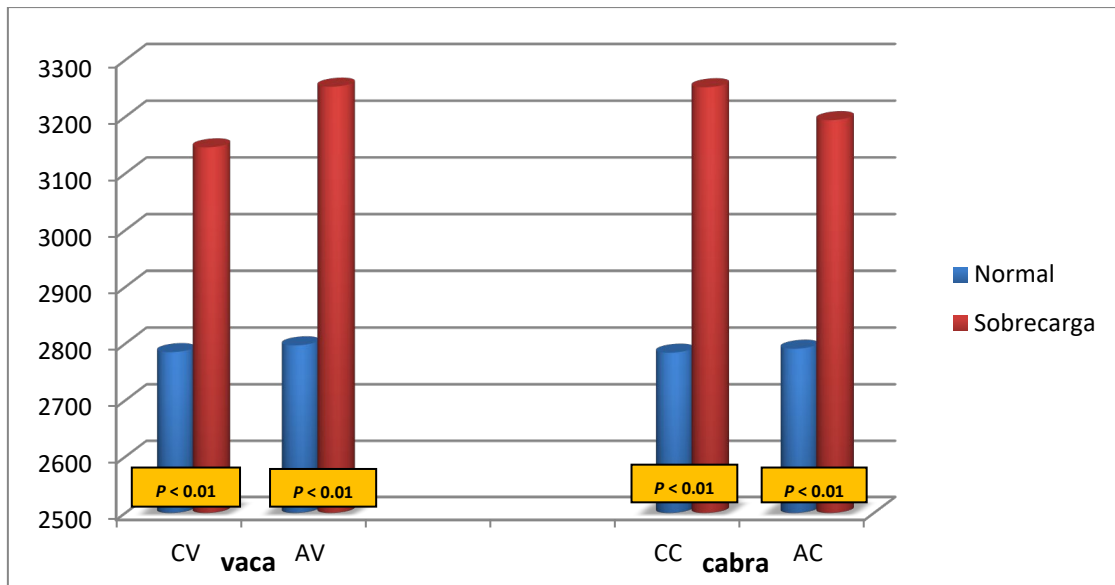


Figura IX. Saturación de transferrina (%) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

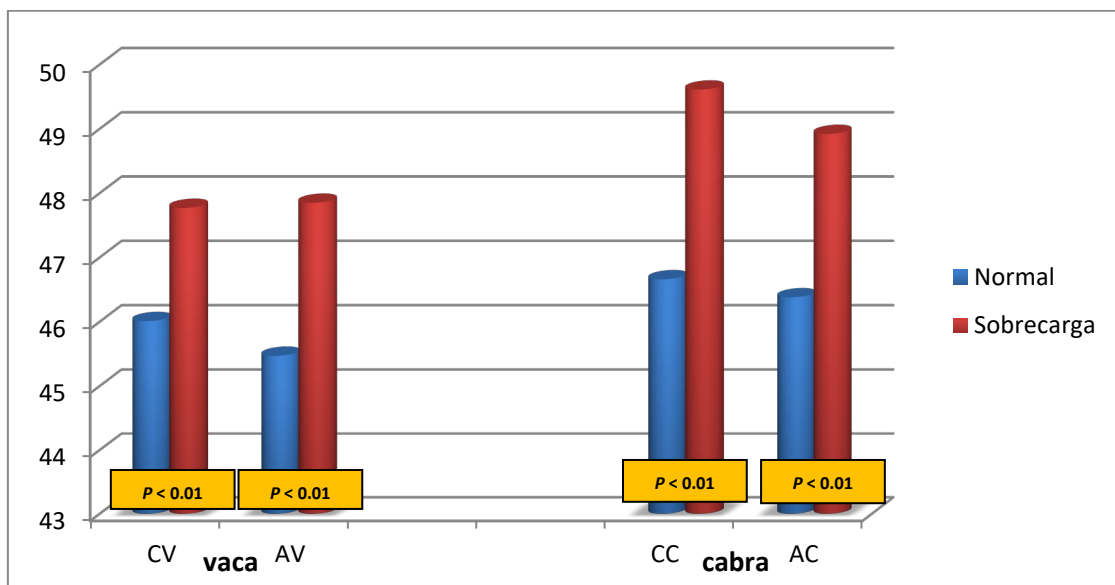


Figura X. Ferritina sérica ($\mu\text{g L}^{-1}$) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

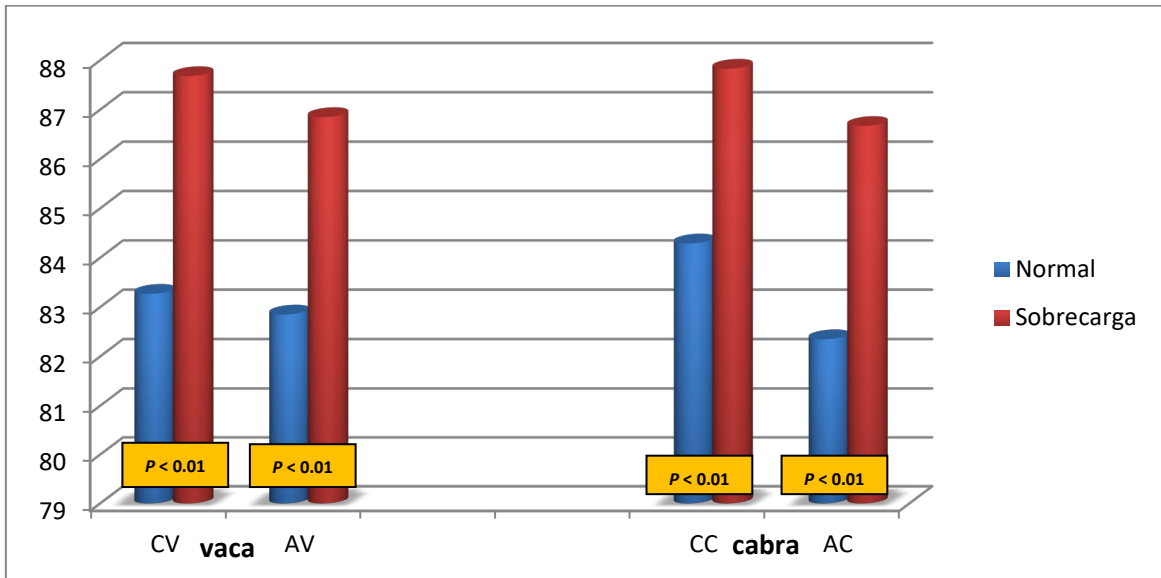


Figura XI. Hepcidina sérica (ng mL^{-1}) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

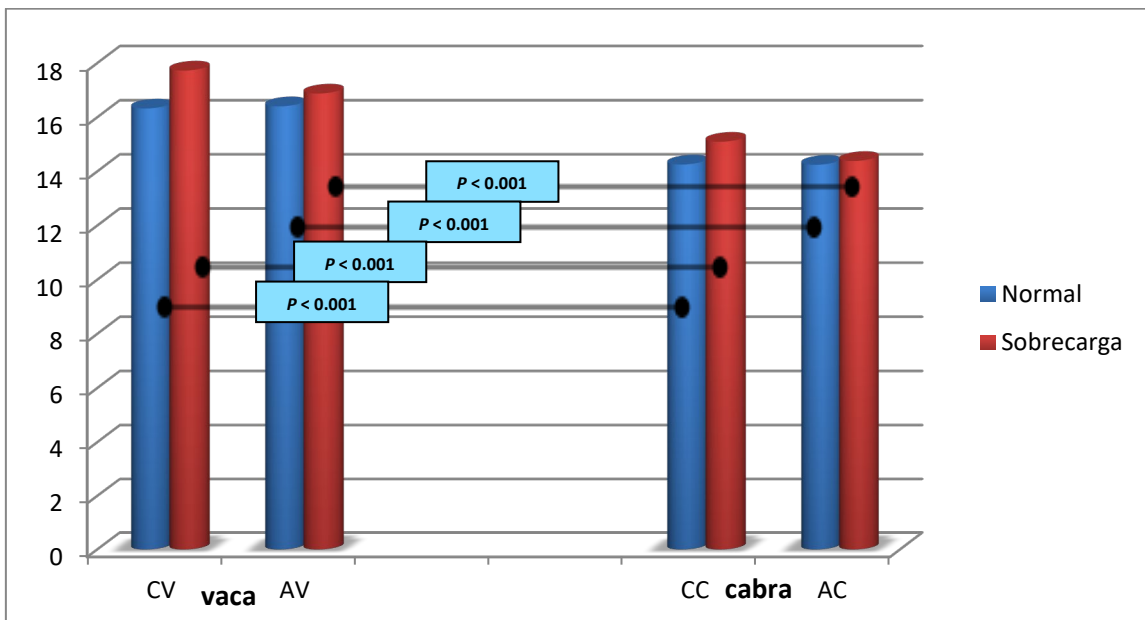


Figura XII. CAV-1 (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

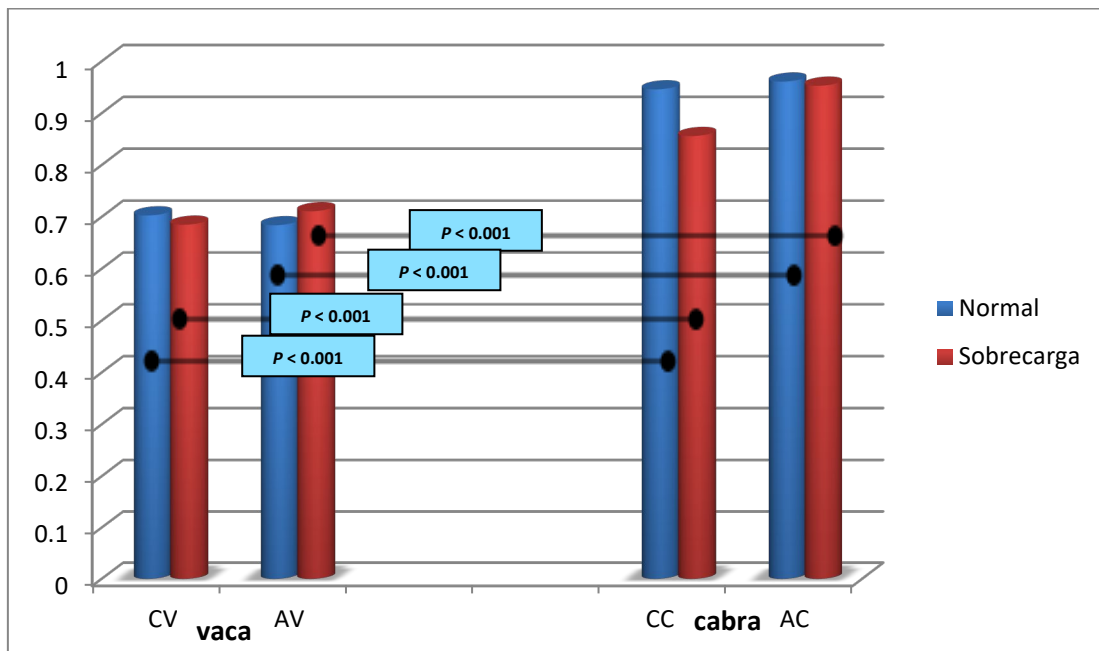


Figura XIII. CINC-1/GRO/KC (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

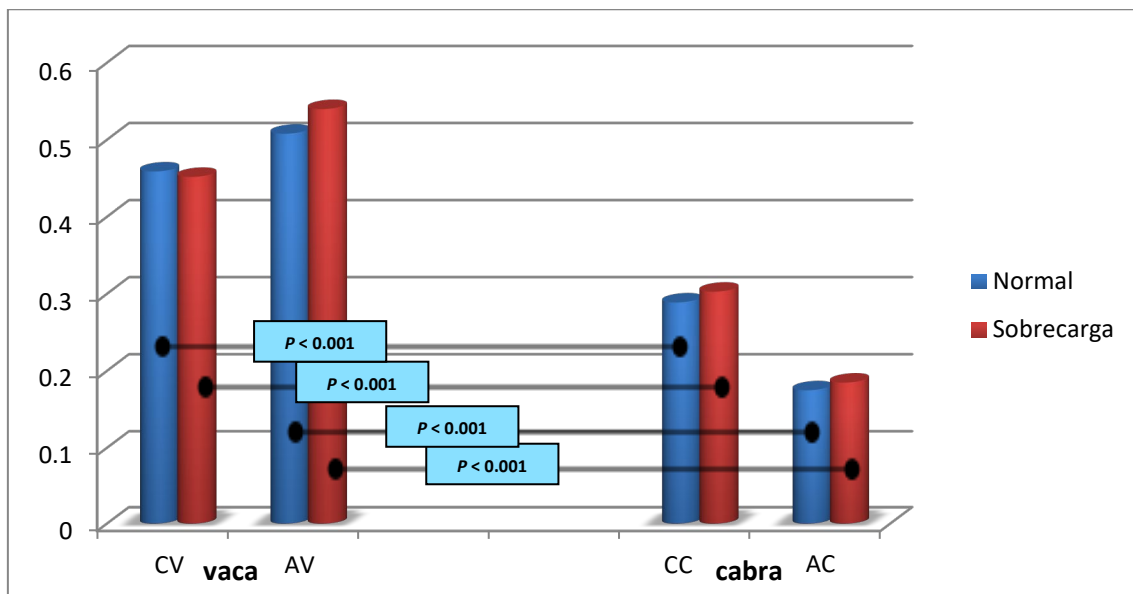


Figura XIV. CTGF (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

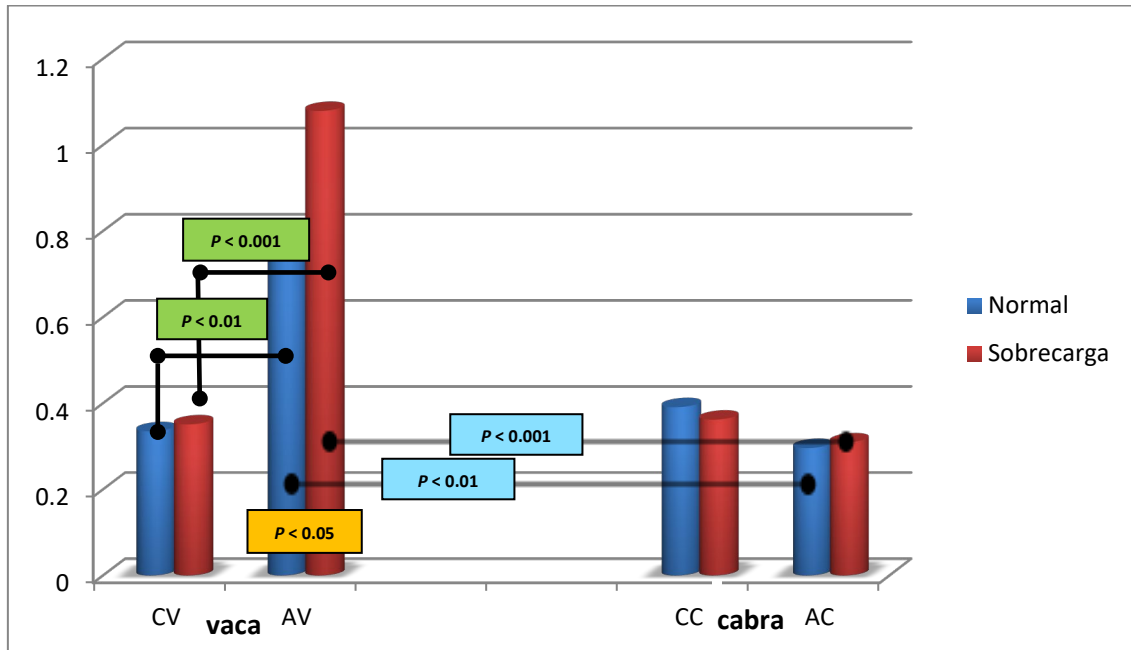


Figura XV. IL-6 (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

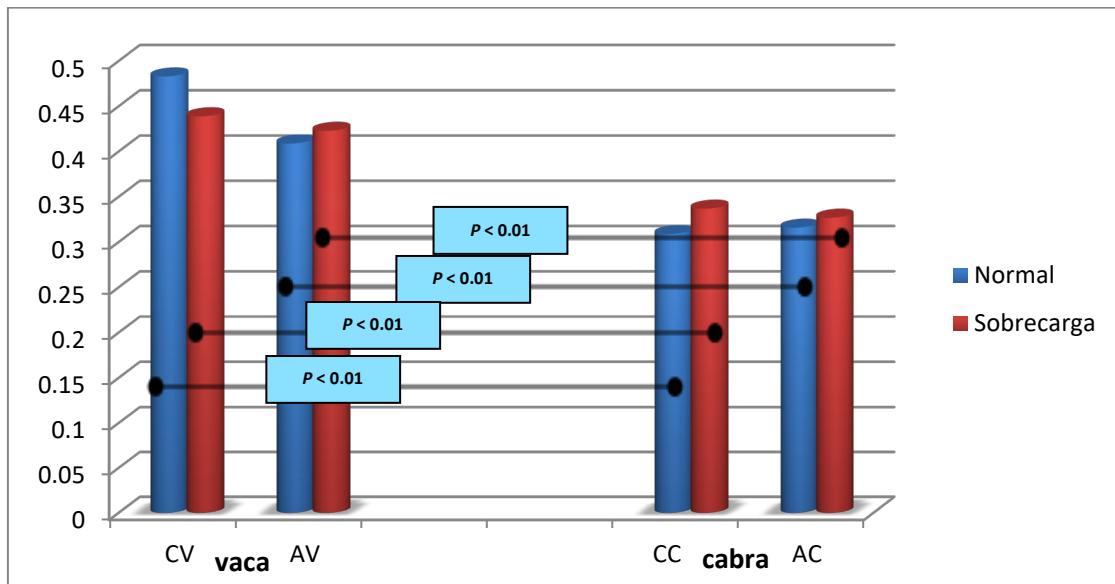


Figura XVI. MCP-1 (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

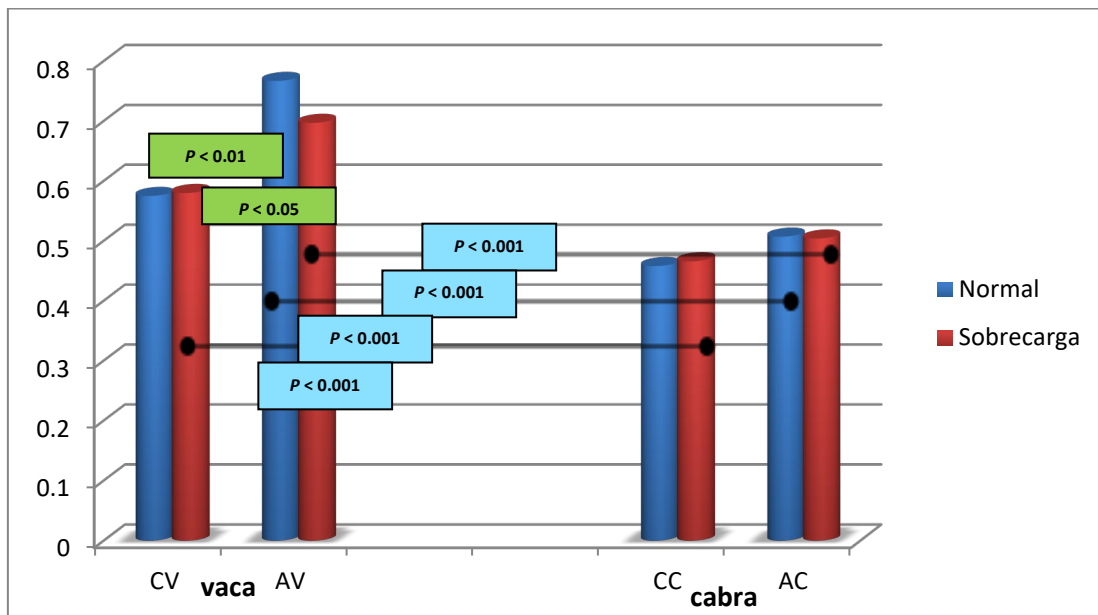


Figura XVII. tPAI-1 (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

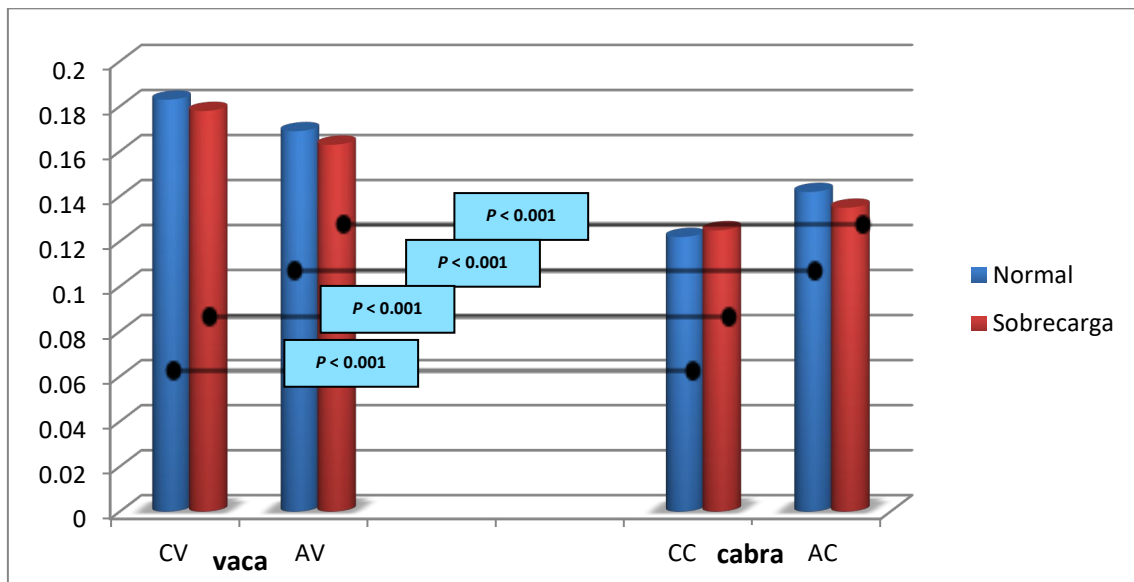


Figura XVIII. TIMP-1 (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

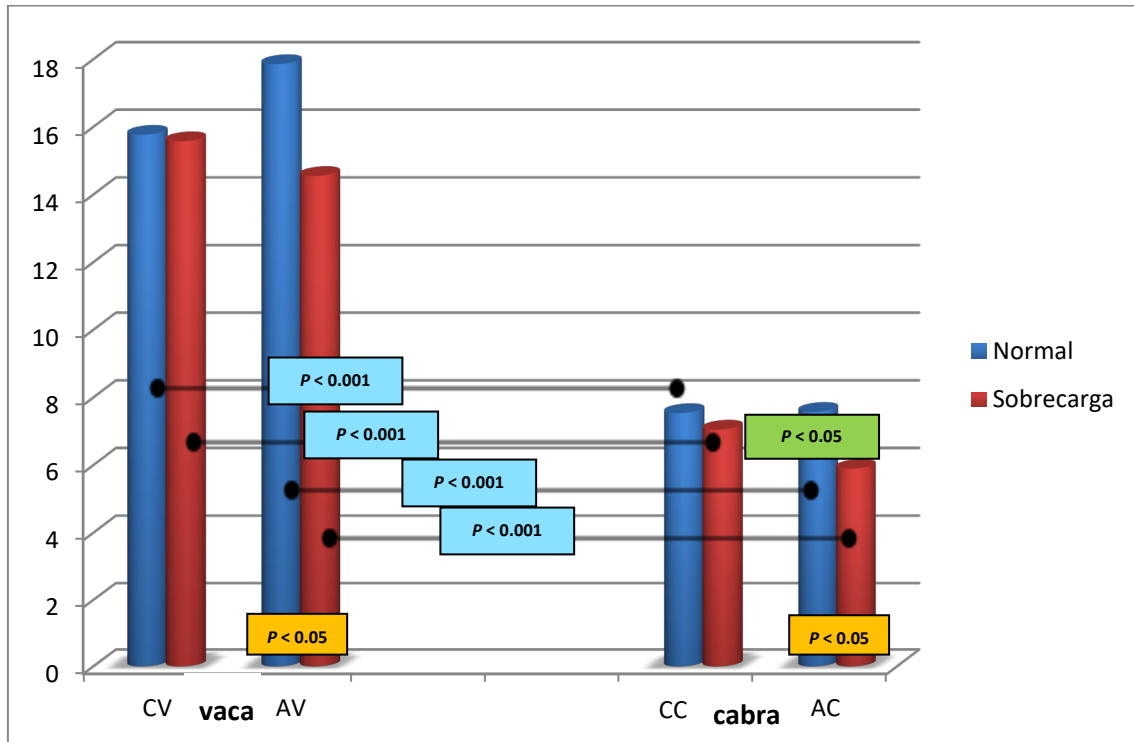


Figura XIX. TNF- α (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

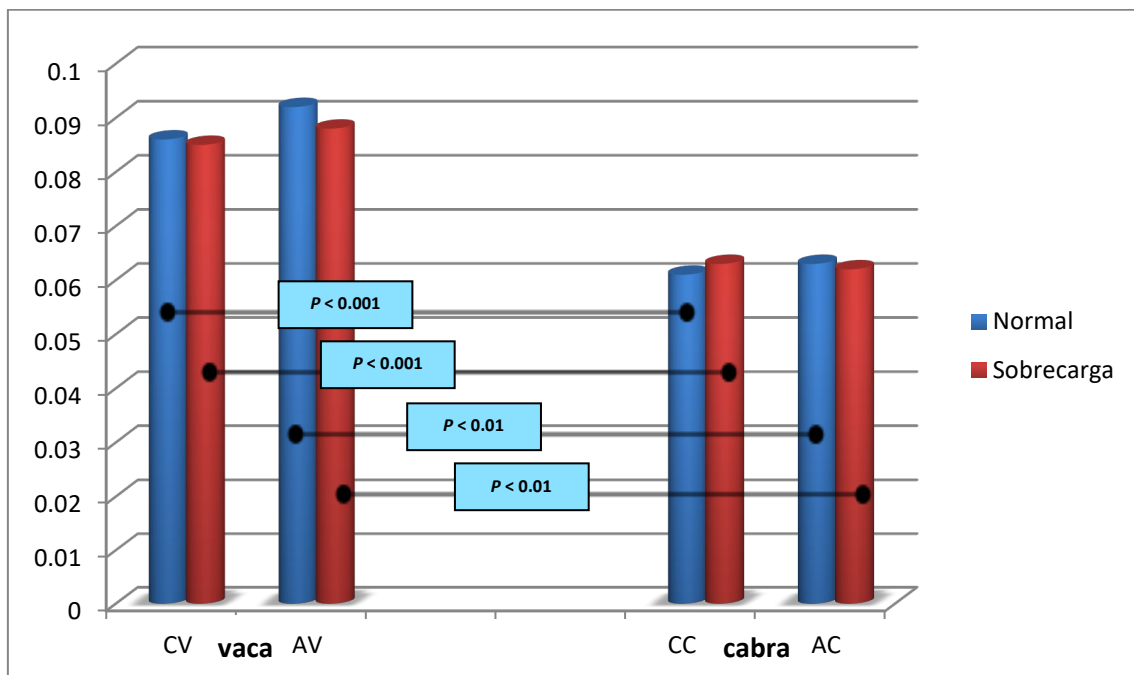


Figura XX. VEGF (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

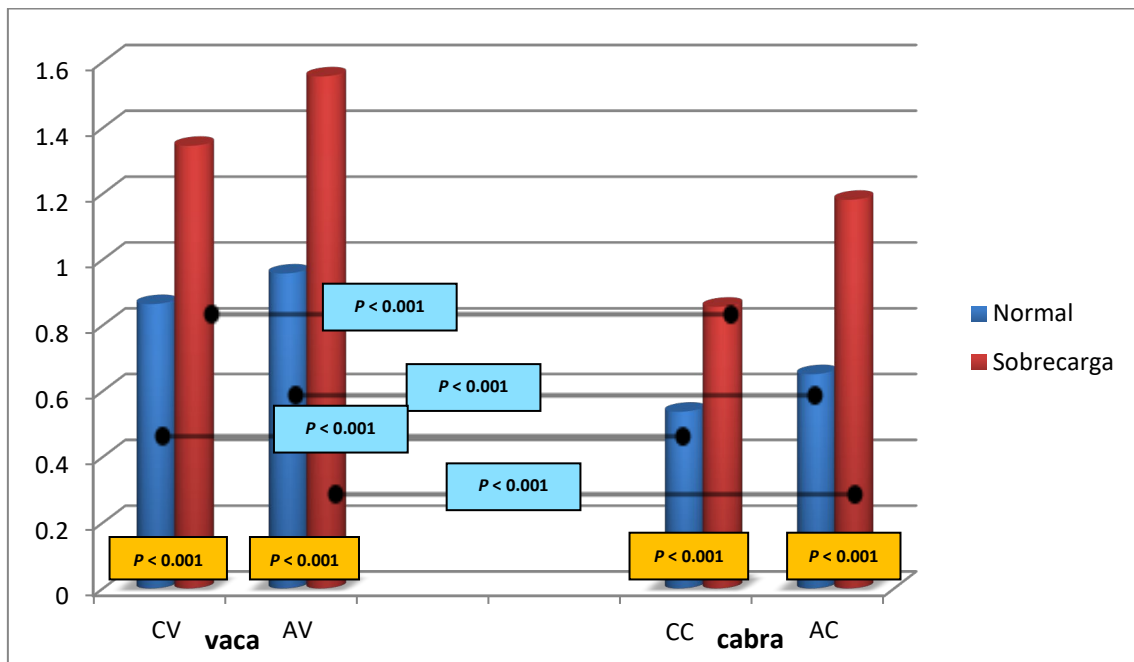


Figura XXI. Adiponectina (ng mL⁻¹) de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

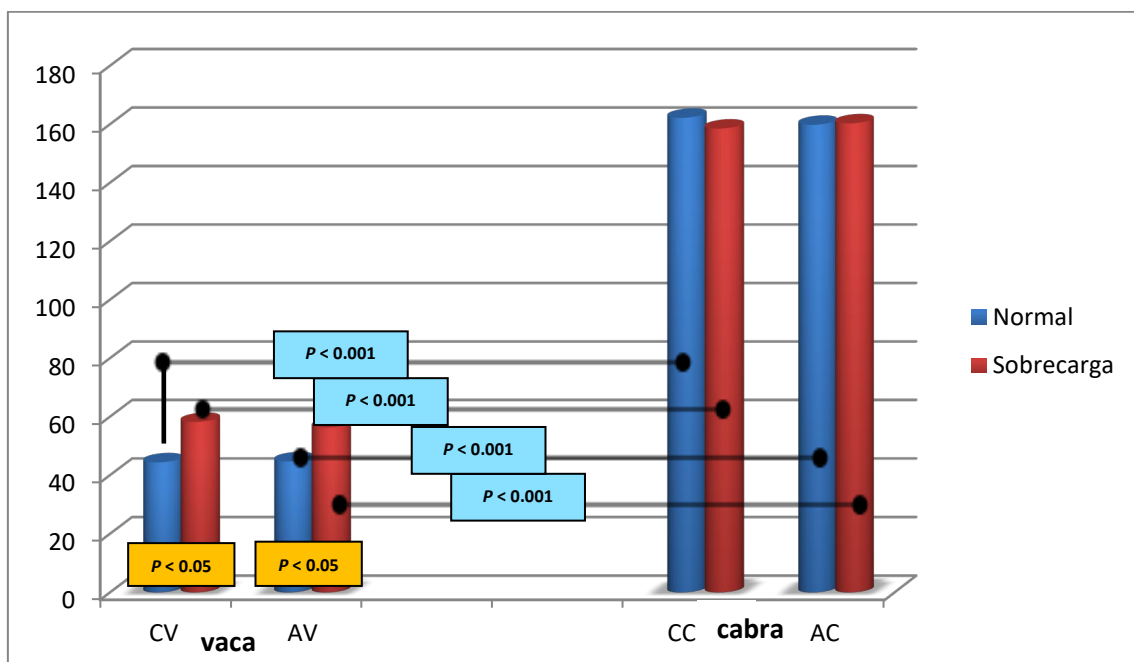


Figura XXII. sE-Selectina de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.

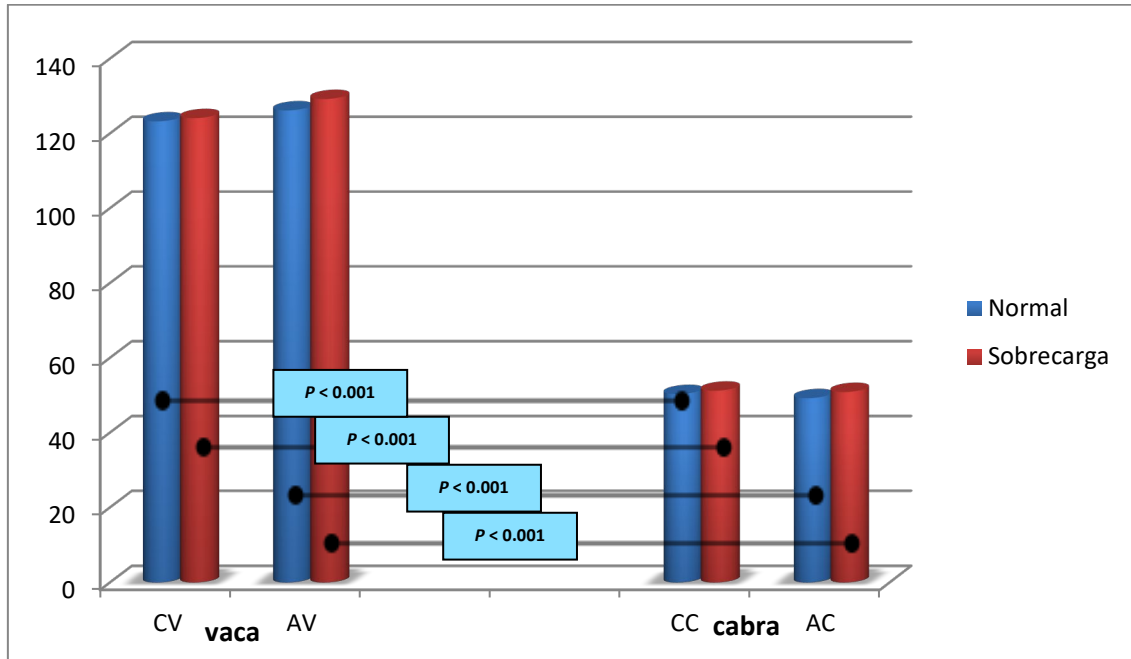
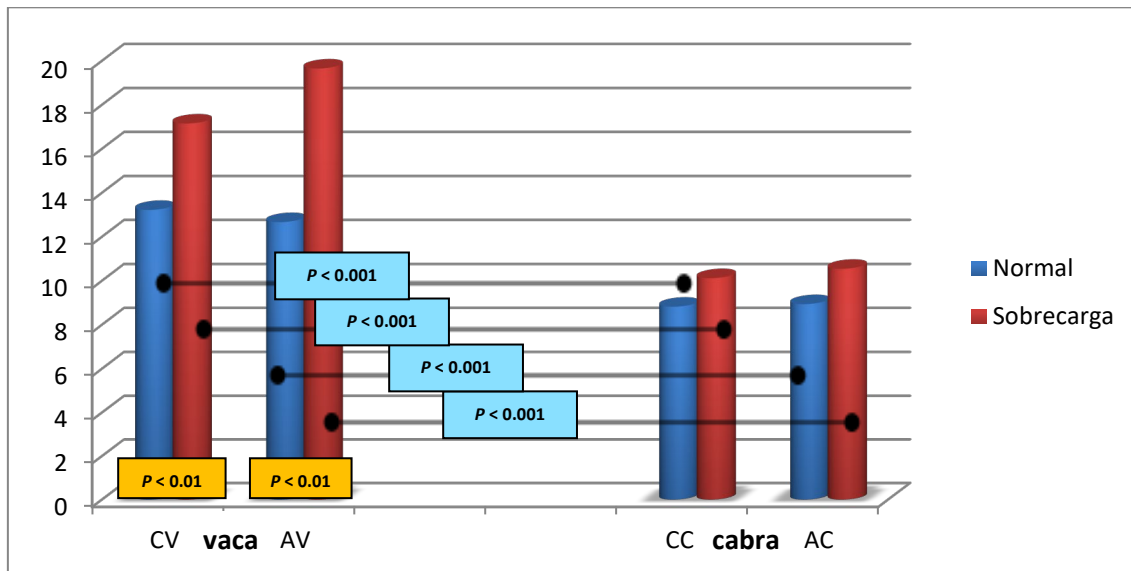


Figura XXIII. sICAM-1 de ratas controles y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de vaca o cabra, con contenido normal o sobrecarga de hierro.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 PERÍODO PREEXPERIMENTAL

Después de una dieta baja en hierro (5 mg Kg⁻¹ dieta) durante 40 días (PPE), todos los parámetros hematológicos eran estadísticamente diferentes entre los animales controles y anémicos ($P < 0.001$), excepto los glóbulos blancos que permanecieron sin cambios (Tabla VII).

En los animales controles, todos los parámetros hematológicos estudiados están dentro del rango de valores normales para esta especie (Campos et al., 1998). Sin embargo, cuando los animales consumen una dieta con bajo contenido en hierro (5 mg Kg⁻¹ dieta) durante 40 días (PPE) se induce una anemia ferropénica nutricional, con una baja concentración de Hb ($P < 0.001$), menor recuento de hematíes, hematocrito, índices eritrocitarios (VCM, HCM, CHCM), linfocitos, hierro sérico, Tsat y ferritina sérica, ($P < 0.001$); en tanto que los niveles de plaquetas, TIBC y hepcidina estaban marcadamente elevados ($P < 0.001$), consecuencia de la depleción progresiva de hierro desde los depósitos corporales (Brownlie et al., 2002) (Tabla VII).

5.2 PERÍODO EXPERIMENTAL

5.2.1 Parámetros hematológicos

Pasados 30 días de alimentación con dietas basadas en leche fermentada de cabra o vaca (PE) con contenido normal o sobrecarga de hierro, los parámetros hematológicos se recuperaron completamente. La hepcidina sérica fue inferior en los animales controles y anémicos alimentados con leche de cabra fermentada normal o sobrecargada de hierro en comparación con la leche de vaca fermentada ($P < 0.001$). Como era de esperar, el hierro sérico fue más alto en los grupos con sobrecarga de

hierro ($P < 0.01$) con ambas dietas basadas en leche fermentada. La sobrecarga de hierro también aumentó la hemoglobina ($P < 0.001$), ferritina sérica, Tsat y TIBC ($P < 0.01$) (Tabla VIII).

En el estudio actual, se ha registrado una disminución en la hepcidina sérica en animales que consumen leche de cabra fermentada, y nuestro grupo de investigación (Díaz-Castro et al., 2014) también ha informado que la expresión de hepcidina duodenal disminuyó en ratas que consumen leche de cabra fermentada en comparación con ratas que consumen leche de vaca. Esta disminución de la hepcidina incrementa el flujo de salida de hierro de las células duodenales, porque se correlaciona inversamente con la actividad de FPN y la absorción de hierro, mejorando los parámetros hematológicos y promoviendo la recuperación de la anemia (Tabla VIII).

El hierro juega un papel fundamental en la distribución y utilización sistémica de oxígeno, contribuye a la eritropoyesis y por lo tanto la ID disminuye la capacidad de transporte de oxígeno de los glóbulos rojos (Jankowska y Ponikowski, 2010). El hierro también es un componente imprescindible de las enzimas involucradas en la respiración celular, la fosforilación oxidativa, la homeostasis vascular, la generación de óxido nítrico y el ciclo del ácido cítrico (Dunn et al., 2007). Por consiguiente, las células con altas demandas de energía, incluidas las musculares esqueléticas, vasculares y cardíacas, son particularmente sensibles a la disminución de las reservas de hierro (Andrews, 1999). La ID está presente en pacientes con IC y se asocia con alteración de la función mitocondrial (Melenovsky et al., 2016), estructura anormal del sarcómero, y disfunción sistólica del ventrículo izquierdo (Jankowska y Ponikowski, 2010), sin embargo, en nuestro estudio, después de suministrar las dietas basadas en leche fermentada con contenido normal o sobrecarga de hierro, se recuperaron los parámetros hematológicos, revelando que se recuperó la ID.

5.2.2 Parámetros relacionados con la enfermedad cardiovascular

Un mayor conocimiento de la fisiología cardiovascular y su relación con el metabolismo del hierro deberían facilitar nuevas estrategias nutricionales para mejorar

el estado hematológico y la salud cardiovascular. En el presente trabajo, utilizando un modelo de deficiencia severa de hierro (Pallarés et al., 1993), se han estudiado varios marcadores relacionados con la salud cardiovascular para demostrar si el consumo de leche fermentada de cabra tiene una influencia positiva en la fisiología vascular y en la hematología.

5.2.2.1 Efecto de la anemia

La Tabla IX muestra que después de 30 días de alimentación con dietas basadas en leche fermentada (PE) la anemia disminuyó el TIMP-1 en los animales alimentados con leche de cabra fermentada con sobrecarga de hierro ($P < 0.001$) y aumentó CGTF y MCP-1 en animales alimentados con leche fermentada de vaca con contenido normal de hierro ($P < 0.05$) o sobrecarga de hierro ($P < 0.01$ para CGTF y $P < 0.05$ para MCP-1). El resto de biomarcadores cardiovasculares no estuvieron afectados por la anemia. La ID tiene consecuencias adversas sobre el corazón y los vasos sanguíneos. Los mecanismos patogénicos sugeridos por algunos estudios incluyen la promoción de la disfunción de las células endoteliales, la adhesión de los monocitos y/o el estrés oxidativo y la inestabilidad de la placa aterosclerótica.

En general los parámetros relacionados con la ECV no se vieron afectados al final del PE por efecto de la anemia cuando los animales consumían la dieta basada en leche de cabra; sin embargo, CTGF y MCP-1 aumentaron en animales anémicos alimentados con dieta de leche de vaca fermentada con contenido normal o sobrecarga de hierro revelando que, aunque el estado hematológico era normal, la homeostasis y el metabolismo del hierro se recuperaron mejor con leche de cabra fermentada, como se describió en un estudio anterior de nuestro Grupo de Investigación (Moreno-Fernandez et al., 2016a). La leche de cabra fermentada produce una sobreexpresión génica y proteica del Dcytb enterocitario, incrementando también la expresión del transportador de metales divalentes 1, ferritina, FPN1. Por otra parte, produce una reducción de la expresión del TfR1 y hepcidina, mejorando la homeostasis y el almacenamiento de

hierro en órganos diana eritropoyéticos (Moreno-Fernandez et al., 2016a), factores que evitan el daño vascular por deficiencia o sobrecarga de hierro.

5.2.2.2 Efecto de la sobrecarga de hierro

La sobrecarga de hierro disminuyó el TIMP-1 en animales anémicos alimentados con ambas leches fermentadas ($P < 0.05$), aumentó el VEGF en todos los grupos alimentados con leches fermentadas ($P < 0.001$), aumentó el CTGF en animales anémicos alimentados con leche de vaca fermentada ($P < 0.001$), y también incrementó la adiponectina y el sICAM-1 en animales controles y anémicos alimentados con leche de vaca fermentada ($P < 0.001$) (Tabla IX).

Los resultados del presente estudio muestran una influencia negativa de la sobrecarga de hierro en los biomarcadores vasculares estudiados (Tabla IX), resultado que está de acuerdo con los reportados por Dev y Babitt, (2017), que indican que la sobrecarga de hierro induce lesiones oxidativas en el endotelio vascular, interferencia con la función de conducción cardíaca y promueve la fibrosis vascular.

5.2.2.3 Efecto de la dieta

Después de 30 días de suministro de dietas basadas en fermentados lácteos (PE), el consumo de leche de cabra fermentada con contenido normal o sobrecarga de hierro disminuyó los biomarcadores de riesgo cardiovascular en ambos grupos de animales (CINC-1/GRO/KC, IL-6, MCP-1, t-PAI, TIMP-1, VEGF, TNF- α , sE-Selectina y sICAM-1) ($P < 0.001$ para CINC-1/GRO/KC, t-PAI, TIMP-1, sICAM-1 y $P < 0.01$ para IL-6, MCP-1, TNF- α y VEGF) y aumentó los biomarcadores CAV-1 y adiponectina ($P < 0.001$) (Tabla IX).

El consumo de leche de cabra fermentada disminuyó la IL-6, el TIMP-1 y el TNF- α en todas las condiciones experimentales. Estas citoquinas actúan como mediadores proinflamatorios y son expresados por células musculares cardíacas, fibroblastos, células endoteliales, células de músculo liso y monocitos/macrófagos. IL-

6, TIMP-1 y TNF- α están implicados en todas las etapas del proceso de aterosclerosis, desde la disfunción endotelial vascular hasta la ruptura de la placa y la trombosis (McLaren et al., 2011), siendo factores clave en el desarrollo de ECVs (Lindsey et al., 2015). Las características nutricionales beneficiosas de la leche de cabra fermentada, en comparación con la de vaca (Moreno-Fernández et al., 2016b), le confieren a este producto lácteo un alto valor nutricional, con propiedades antiinflamatorias al reducir los niveles de estas citoquinas. Las actividades antiinflamatorias de los lípidos de la leche de cabra se han estudiado en productos lácteos de cabra tradicionales (Tsorotioti et al., 2014), y sus fracciones lipídicas presentan actividad inhibidora de la agregación plaquetaria inducida por factores activadores derivados de las plaquetas. Las fracciones lipídicas biológicamente más activas contienen derivados de esfingomiélna, fosfatidilcolina, y fosfatidiletanolamina. Sin embargo, estas fracciones lipídicas no siempre se presentan con una estructura típica de fosfolípidos; comparten una estructura similar a los derivados de fosfatidilcolina (Nasopoulou et al., 2014) y este derivado lipídico tiene varios efectos antiinflamatorios (Eros et al., 2009). Poutzalis et al., (2016), compararon las propiedades inhibidoras del factor activador de las plaquetas de los productos de cabra fermentados, y se comprobó que poseían propiedades inhibidoras del factor activador de las plaquetas. Los datos resultantes indicaron una tendencia creciente de inhibición del factor activador de plaquetas durante la lipólisis (es decir, durante la incubación de leche para obtención de productos fermentados).

Las células endoteliales también secretan el tPA, que desempeña un papel importante en la disolución de los coágulos sanguíneos y en el mantenimiento de un sistema vascular funcional. La generación de plasmina dependiente de uroquinasa se ve facilitada por la presencia de receptores para el plasminógeno y para la uroquinasa en la superficie celular. La trombolisis, sin embargo, está mediada principalmente por interacciones moleculares específicas entre plasminógeno y tPA cuando se unen a los coágulos de fibrina (Hoylaerts et al., 1982). Por lo tanto, la fibrina participa en su propia degradación favoreciendo la interacción del plasminógeno con tPA y protegiendo la plasmina generada de la inhibición por 2-antiplasmina. El sistema fibrinolítico está altamente controlado por la cantidad de tPA liberado de las células endoteliales y por la cantidad de su inhibidor PAI-1. En la circulación, el PAI-1 es el más importante. Dado

que las células endoteliales producen tanto tPA como PAI-1, están muy implicados en la vía fibrinolítica (Collen y Lijnen, 1986; Bachmann, 1987).

Los datos obtenidos en el presente estudio revelan también que el t-PAI fue menor en ratas controles y anémicas alimentadas con leche de cabra fermentada con sobrecarga o contenido normal de hierro, corroborando los resultados previamente descritos (Eros et al., 2009; Poutzalis et al., 2016).

La fermentación realizada con microorganismos como *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, iniciadores de fermentación tradicionales usados en el presente estudio (Muñoz Alférez et al., 2018). Se ha constatado la existencia de productos fermentados en la antigüedad, como productos lácteos, pan, cerveza, etc. Su origen se ha establecido en Oriente Medio. Su producción se inició cuando el estilo de vida del ser humano pasó de ser recolector a productor de alimentos. La fermentación es uno de los métodos más antiguos practicado por el hombre para la transformación de la leche en productos de mayor vida útil. Así, al transformarse la lactosa en ácido láctico, se produce una disminución del pH que inhibe el crecimiento de microorganismos (Baró Rodríguez et al., 2010).

Por otra parte, la leche de cabra fermentada es más rica en ácido oléico y linoleico (Moreno-Fernández et al., 2016b) y es bien sabido que el ácido oléico disminuye el colesterol plasmático total, el LDL-C y los triglicéridos, y tiene un papel potencial que previene la disfunción cardíaca y la IC (Drosatos y Schulze, 2014). Además, el ácido linoleico reduce el colesterol total, protege contra la isquemia cerebral y ejerce efectos positivos en la enfermedad cardíaca (Farvid et al., 2014). Por tanto, estos ácidos grasos tienen efectos moduladores sobre la respuesta proinflamatoria (Reynolds y Roche, 2010).

La expresión de VEGF se asocia con la angiogénesis. La angiogénesis implica la invasión y la formación de nuevos vasos. Esto no solo aumenta la inestabilidad hemodinámica y la fragilidad de la placa, sino que también permite una mayor infiltración de células inflamatorias, aumentando así la inflamación en la lesión aterosclerótica (Libby et al., 2011). El VEGF activa al MCP-1 en células endoteliales y aumenta la permeabilidad de la capa endotelial, lo que provoca un nivel crónico,

inflamación sistémica de bajo nivel e infiltración de monocitos (Menashi et al., 1993). En este sentido, la acumulación de macrófagos sobrecargados de LDLs oxidadas es un factor clave desencadenante de la aterosclerosis. Es ampliamente conocido que los macrófagos son los principales contribuyentes a la progresión aterosclerótica (Nakashima et al., 2007). Una vez que los monocitos son reclutados se infiltran en la íntima con la ayuda de moléculas de adhesión celular que se expresan en la superficie de las células endoteliales vasculares, siendo las más importantes la sE-selectina y SICAM-1. Esta cascada de eventos causa la diferenciación de monocitos en células dendríticas o macrófagos CD36⁺ que interactúan con lipoproteínas aterogénicas (Moore et al., 2013). Los macrófagos CD36⁺ son importantes para la eliminación y endocitosis del colesterol LDL oxidado y la formación de las células espumosas, que a su vez producen y secretan citocinas proinflamatorias activando un círculo vicioso que atrae a más células inflamatorias al lugar de la lesión (Park, 2014). Todas estas moléculas liberadas durante el proceso de aterogénesis pueden servir como marcadores del proceso aterogénico y daño vascular (Tounian et al., 2001). La disminución de VEGF, SICAM-1, sE-Selectina y MCP-1 obtenida en el presente estudio con leche de cabra fermentada se puede atribuir a las beneficiosas características nutricionales de este tipo de leche, que proporciona un menor sustrato para la peroxidación lipídica y consecuentemente disminuye la generación de radicales libres y la migración y la adhesión de monocitos.

Además, las proteínas de la leche de cabra fermentada pueden inhibir los cambios nocivos causados por la oxidación lipídica, debido fundamentalmente a ciertos tipos de aminoácidos como tirosina, metionina, histidina, lisina y triptófano, que son capaces de quelar los iones prooxidantes, inhibir la peroxidación, reducir la producción de hidroperóxidos y contribuir a la mejora del estado antioxidante total, limitando el daño oxidativo de las biomoléculas (Moreno-Fernandez et al., 2017), incluidas en las paredes de los vasos sanguíneos.

El CTGF es un mediador clave de la fibrogénesis tisular en diversas enfermedades crónicas (Dendooven et al., 2011) y está involucrado en diversos procesos biológicos, que incluyen la producción de matriz extracelular, proliferación, apoptosis, quimiotaxis y angiogénesis. Muchos tipos de células expresan el CTGF, incluyendo las células endoteliales, las células del músculo liso vascular, los

fibroblastos y los miocitos cardíacos (Yan et al., 2014). El CTGF está regulado positivamente por estímulos relacionados con el daño cardiovascular, incluido el estrés oxidativo y la inflamación (Daniels et al., 2009; Lan et al., 2013). Nuestro Grupo de Investigación ha informado previamente que la fermentación de la leche de cabra induce una elevación significativa de las principales enzimas endógenas antioxidantes, junto con un aumento en el estado antioxidante total (TAS), disminución de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG), reducción de la fragmentación de la doble hélice del DNA, disminución de hidroperóxidos, 15-F2t-isoprostanos y grupos carbonilo en los tejidos, revelando una mejora de la actividad antioxidante tanto sistémica (a nivel plasmático) como celular y tisular debido al consumo de leche de cabra fermentada (Moreno-Fernandez et al., 2017). Este efecto protector antioxidante en los tejidos, aumentando el TAS y disminuyendo los biomarcadores de daño oxidativo, se correlaciona directamente con la expresión/actividad de enzimas antioxidantes, hecho que podría explicar por qué la leche de cabra fermentada reduce los niveles plasmáticos de CTGF, reduciendo el riesgo cardiovascular durante la recuperación de la anemia.

Con respecto a los biomarcadores cardiovasculares beneficiosos estudiados (CAV-1 y adiponectina) fueron mayores en ambos grupos de animales (control y anémicos) alimentados con leche de cabra fermentada con contenido normal o sobrecarga de hierro con respecto a la dieta de leche de vaca fermentada ($P < 0.001$ para CAV-1 y adiponectina). La sobrecarga de hierro aumentó la adiponectina en ambos grupos de animales alimentados con leche de vaca fermentada ($P < 0.001$).

El consumo de leche de cabra fermentada aumenta los niveles de CAV-1, permitiendo cambios fisiológicos en los vasos sanguíneos que favorecen la detección, organización y transducción de señales, dando a las arterias la capacidad de cambiar sus propiedades físicas y mantener/regular el flujo sanguíneo y la presión en niveles normales frente a condiciones de estrés (Hassan et al., 2006), reduciendo la fragilidad de los vasos sanguíneos durante la recuperación de la anemia.

La adiponectina es una hormona derivada del tejido adiposo que posee propiedades antiinflamatorias que ejerce un papel fundamental en la protección vascular a través de la activación de múltiples cascadas de señalización intracelular. La disminución de los niveles plasmáticos de adiponectina se relaciona con la patogénesis

de muchas ECVs y aterosclerosis (Kishida et al., 2014). Experimentalmente, se ha demostrado que niveles altos de adiponectina evita en modelos animales de experimentación el desarrollo de hipertensión arterial en respuesta a la hipoxia y la inflamación (Summer et al., 2011). La relación inversa entre la hipertensión y la concentración de adiponectina podría atribuirse a la supresión de la secreción de adiponectina por el sistema renina-angiotensina del tejido adiposo, hecho que produce a un incremento de la presión arterial (Abdel-Fadeil et al., 2017). En el presente estudio, los animales que consumen leche de cabra fermentada presentaron niveles más altos de adiponectina y, como se ha descrito previamente por nuestro Grupo, la leche de cabra fermentada es más rica en ácidos grasos de cadena corta y media (Moreno-Fernández et al., 2016b), que tienen un efecto positivo en la secreción de adiponectina (Xiong et al., 2004). Este tipo de leche, además reduce la síntesis de colesterol endógeno y su absorción intestinal. Los ácidos grasos de cadena corta y media pueden pasar a través de la membrana mitocondrial independientemente de la carnitina, no necesitan reesterificación y se oxidan en la mitocondria, proporcionando un aporte de energía rápido y disponible para varias vías metabólicas (Moreno-Fernandez et al., 2016a), reduciendo la lipogénesis de novo y por lo tanto previniendo la expansión de la masa adiposa y la secreción de adiponectina.

Por otra parte, la leche de cabra fermentada induce la elevación de leptina y la reducción de grelina, normalizando los niveles de irisina, lo que contribuye a un perfil metabólico favorable y al pardeamiento del tejido adiposo (Díaz-Castro et al., 2017), hecho que podría contribuir enormemente al mantenimiento de los niveles de adiponectina.

Por otra parte, el CINC-1/GRO/KC es un potente factor quimiotáctico, y los niveles séricos de esta quimiocina se encuentran elevados en la obesidad (Dominguez et al., 2007), por consiguiente, la reducción de la lipogénesis y de la masa grasa en animales alimentados con las dietas basadas en leche de cabra fermentada, relacionada con el aumento de adiponectina, reducirían los niveles de este biomarcador, el cual ejerce también un efecto protector sobre la salud cardiovascular.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

6 RESUMEN Y CONCLUSIONES

La investigación llevada a cabo estudia parámetros hematológicos relacionados con el estatus de hierro y citoquinas cardiovasculares durante la recuperación de la anemia ferropénica nutricional tras el consumo de dietas basadas en leche fermentada de cabra o vaca con un contenido normal o con sobrecarga crónica de hierro.

Los animales se someten a un periodo pre-experimental (PPE) de 40 días en el que un grupo control se alimenta con una dieta estándar con contenido normal de hierro (45 mg/Kg dieta), y otro grupo se alimenta con una dieta con bajo contenido en hierro (5 mg/Kg dieta) para inducir experimentalmente la anemia ferropénica nutricional, realizándose un estudio hematológico en ambos grupos al final de dicho periodo.

Posteriormente, ambos grupos de animales, controles y anémicos, se someten a un periodo experimental (PE) en el que son alimentados “pair feed” durante 30 días con dietas basadas en leche fermentada de cabra o vaca con un contenido normal (45 mg/kg dieta) o sobrecarga de hierro (450 mg/Kg dieta).

Al final del PE los animales son sacrificados previa anestesia y se procede a la obtención de sangre por canulación de la aorta abdominal y se analizaron alícuotas de sangre con EDTA para medir los parámetros hematológicos y el resto de la sangre se centrifugó para medir citoquinas cardiovasculares en plasma. La sangre restante se centrifugó sin anticoagulante para la obtención del suero y el posterior análisis de hierro, la TIBC, la Tsat, la ferritina y la hepcidina.

Tras el análisis de los resultados obtenidos se ha llegado a las siguientes conclusiones:

CONCLUSIÓN PRIMERA

El consumo habitual de leche de cabra fermentada mejora el estado hematológico durante la recuperación de la anemia con contenido normal o sobrecarga de hierro y promueve respuestas metabólicas beneficiosas que pueden atenuar los factores de riesgo cardiovasculares al disminuir el TNF- α , la IL-6 y el TIMP-1, biomarcadores implicados en todas las etapas del proceso aterosclerótico, desde la disfunción endotelial hasta la ruptura de la placa y la trombosis, protegiendo la integridad de las tunicas vasculares.

CONCLUSIÓN SEGUNDA

La leche de cabra fermentada con contenido normal o sobrecarga de hierro conduce a un aumento de los niveles plasmáticos de CAV-1, mejorando el flujo y la presión sanguíneos, y de adiponectina, con propiedades antiinflamatorias, reduciendo la fragilidad vascular durante la recuperación de la anemia. Por otro lado, reduce los niveles plasmáticos de CINC-1/GRO/KC, limitando la activación y adhesión de los macrófagos, y de CTGF, un factor clave de la fibrogénesis involucrado en la apoptosis. Por tanto, la leche de cabra fermentada ejerce un efecto beneficioso sobre la homeostasis vascular.

CONCLUSIÓN TERCERA

Las propiedades antiinflamatorias de las fracciones lipídicas de la leche de cabra fermentada (esfingomielina, fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina) presentan actividad inhibidora de la agregación plaquetaria, gracias a la reducción plasmática de la t-PAI, disminuyendo el riesgo de trombogénesis durante la recuperación de la anemia tanto con contenido normal como con sobrecarga de hierro.

CONCLUSIÓN CUARTA

La disminución de los niveles plasmáticos de VEGF, SICAM-1, s E-Selectina y MCP-1 inducida con leche de cabra fermentada reduce la angiogénesis, limitando la formación de nuevos vasos, lo cual reduce la fragilidad de las tónicas vasculares y evita la infiltración de células inflamatorias, reduciendo la formación de lesiones ateroscleróticas. Esta mejora se debe a que la leche de cabra fermentada proporciona un menor sustrato lipídico para la peroxidación y en consecuencia disminuye la generación de radicales libres y la migración y adhesión de monocitos.

CONCLUSIÓN GENERAL

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el consumo habitual de leche de cabra fermentada mejora el estado hematológico y promueve respuestas metabólicas beneficiosas, que atenúan los factores de riesgo cardiovasculares durante la recuperación de la anemia y la sobrecarga de hierro. Su consumo disminuye la respuesta inflamatoria, la activación de macrófagos y el desarrollo de la placa de ateroma. Por tanto, sería recomendable la inclusión de este alimento en la dieta habitual de la población general y, en especial, para reducir el riesgo cardiovascular durante la recuperación de la anemia.

BIBLIOGRAFÍA

7 BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Fadeil MR, Abedelhaffez AS, Makhoulouf HA, Al Qirshi GA. Obstructive sleep apnea: Influence of hypertension on adiponectin, inflammatory markers and dyslipidemia. *Pathophysiology* 2017;24:305-15.
- Abubakar A, Saito T, Kitazawa H, Kawai Y, Itoh T. Structural analysis of new antihypertensive peptides derived from cheese whey protein by proteinase K digestion. *J Dairy Sci* 1998;81:3131–8.
- Achón M, Alonso-Apperte E, Reyes L, Úbeda N, Varela-Moreiras G. High-dose folic acid supplementation in rats: effects on gestation and the methionine cycle. *Brit J Nutr* 2000;83:177–83.
- Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol* 2003;3:745–56.
- Aisen P, Enns C, Wessling-Resnick M. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *Int J Biochem Cell B* 2001;33:940–59.
- Alférez MJ, Barrionuevo M, López-Aliaga I, Sanz-Sampelayo MR, Lisbona F, Robles JC, et al. Digestive utilization of goat and cow milk fat in malabsorption syndrome. *J Dairy Res* 2001;68:451–61.
- Amour A, Knight CG, Webster A, Slocombe PM, Stephens PE, Knäuper V, et al. The in vitro activity of ADAM-10 is inhibited by TIMP-1 and TIMP-3. *FEBS Lett* 2000;473:275–9.
- Amour A, Slocombe PM, Webster A, Butler M, Knight CG, Smith BJ, et al. TNF- α converting enzyme (TACE) is inhibited by TIMP-3. *FEBS Lett* 1998;435:39–44.
- Anand-Apte B, Bao L, Smith R, Iwata K, Olsen BR, Zetter B, et al. A review of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) and experimental analysis of its effect on primary tumour growth. *Biochem Cell Biol* 1996;74:853–62.
- Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999;341:1986-95.
- Andrioli G, Ortolani R, Fontana L, Gaino S, Bellavite P, Lechi C, et al. Study of platelet adhesion in patients with uncomplicated hypertension. *J Hypertens* 1996;14:1215–21.

- Anker SD, Comin Colet J, Filippatos G, Willenheimer R, Dickstein K, Drexler H, et al. Ferric carboxymaltose in patients with heart failure and iron deficiency. *New Engl J Med* 2009;361:2436-48.
- AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists;2005.
- AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International.16th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists;1995.
- Aoyama T, Nosaka N, Kasai M. Research on the nutritional characteristics of medium-chain fatty acids. *J Med Invest* 2007;54:385-8.
- Ari ME, Ekici F, Çetin İİ, Tavil EB, Yaralı N, Işık P, et al. Assessment of left ventricular functions and myocardial iron load with tissue Doppler and speckle tracking echocardiography and T2* MRI in patients with β -thalassemia major. *Echocardiography* 2017;34:383-9.
- Aronow WS, Ahn C. Three-year follow-up shows no association of serum ferritin levels with incidence of new coronary events in 577 persons aged \geq 62 years. *Am J Cardiol* 1996;78:678-9.
- Aslan M, Horoz M, Kocyigit A, Ozgonül S, Celik H, Celik M, et al. Lymphocyte DNA damage and oxidative stress in patients with iron deficiency anemia. *Mutat Res* 2006;601:144-9.
- Atilla E, Toprak SK, Demirer T. Current Review of Iron Overload and Related Complications in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Turk J Hematol* 2017;34:1-9.
- Bach AC, Babayan VK. Medium-chain triglycerides: an update. *Am J Clin Nutr* 1982;36:950-62.
- Bachmann F. Fibrinolysis. In: Verstraete M, Vermeylen J, Lijnen HR, Arnout J editores. *Thrombosis and Haemostasis*. Leuven University Press; 1987. p. 227-65.
- Barath P, Fishbein MC, Cao J, Berenson J, Helfant RH, Forrester JS. Detection and localization of TNF in human atheroma. *Am J Cardiol* 1990;65:297–302.
- Barbieri M, Ragno E, Benvenuti E, Zito GA, Corsi A, Ferrucci L, et al. New aspects of the insulin resistance syndrome: impact on haematological parameters. *Diabetologia* 2001;44:1232-7.

- Baró Rodríguez L, Lara Villoslada F, Corral Román E. Leche y derivados lácteos. In: Gil A, editor. Tratado de Nutrición. Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. 2nd ed. Madrid: Panamericana;2010. p. 17-8.
- Barrionuevo M, Alférez MJM, López Aliaga I, Sanz-Sampelayo MR, Campos MS. Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorption syndrome. *J Dairy Sci* 2002;85:657-64.
- Barrionuevo M, López Aliaga I, Alférez MJM, Mesa E, Nestares T, Campos MS. Beneficial effect of goat milk on bioavailability of copper, zinc and selenium in rats. *J Physiol Biochem* 2003;59:111-8.
- Barros RK, Cotrim HP, Daltro CH, Oliveira YA. Hyperferritinemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Assoc Med Bras* 2017;63:284-9.
- Bartzokis G, Lu PH, Tishler TA, Fong SM, Oluwadara B, Finn JP, et al. Myelin breakdown and iron changes in Huntington's disease: pathogenesis and treatment implications. *Neurochem Res* 2007;32:1655-64.
- Batida S, Vaquero MP, Veldhuizen M, Sánchez-Muniz FJ. Selected trace elements and minerals in cord blood: association with lipid and lipoproteins at birth. *Acta Paediatr* 2000;89:1201-6.
- Bemelman MHA, Van Tits LJH, Buurman WA. Tumor necrosis factor: function, release and clearance. *Crit Rev Immunol* 1996;16:1-11.
- Berger HM, Mimby S, Gutteridge JMC. Ferrous ions detected in iron-overloaded cord blood plasma from preterm and term babies: implications for oxidative stress. *Free Rad Res* 1995;22:555-9.
- Bijak M, Dzieciol M, Rywaniak J, Saluk J, Zielinska M. Platelets miRNA as a Prediction Marker of Thrombotic Episodes. *Dis Markers* 2016;2016:1.
- Bosch X, Montori E, Guerra-García M, Costa-Rodríguez J, Quintanilla MH, Tolosa-Chapasian PE, et al. Haemoglobin responses to transfusion in severe iron deficiency anaemia: potential impact of gastrointestinal disorders. *Vox Sang* 2017;112:257-67.
- Bosch X, Montori E, Guerra-García M, Costa-Rodríguez J, Quintanilla MH, Tolosa-Chapasian PE, et al. A comprehensive evaluation of the gastrointestinal tract in iron-deficiency anemia with predefined hemoglobin below 9mg/dL: A prospective cohort study. *Digest Liver Dis* 2017;49:417-26.

- Bou-Fakhredin R, Halawi R, Roumi J, Taher A. Insights into the diagnosis and management of iron deficiency in inflammatory bowel disease. *Expert Rev Hematol* 2017;10:801-8.
- Buttarello M. Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how? *Int J Lab Hematol* 2016;38:123-32.
- Campell JR, Marshall RT. *The science of providing milk for man*: McGraw-Hill Book Co, 1975.
- Canales A, Sánchez-Muniz FJ. Paraoxonasa ¿Algo más que un enzima? *Med Clin (Barc)* 2003;12:537-48.
- Cao C, Fleming MD. The placenta: the forgotten essential organ of iron transport. *Nutr Rev* 2016;74:421-31.
- Cappellini MD, Comin-Colet J, de Francisco A, Dignass A, Doehner W, S P Lam C, et al. Iron deficiency across chronic inflammatory conditions: International expert opinion on definition, diagnosis, and management. *Am J Hematol* 2017;92:1068-78.
- Çavuşoğlu Y, Altay H, Çetiner M, Güvenç TS, Temizhan A, Ural D, et al. Iron deficiency and anemia in heart failure. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2017;45(Suppl 2):1-38.
- Chabance B, Jollès P, Izquierdo C, Mazoyer E, Francoual C, Drouet L, et al. Characterization of an antithrombotic peptide from kappa-casein in newborn plasma after milk ingestion. *Brit J Nutr* 1995;73:583-90.
- Cleland JG, Zhang J, Pellicori P, Dicken B, Dierckx R, Shoaib A, et al. Prevalence and outcomes of anemia and hematinic deficiencies in patients with chronic heart failure. *J Am Med Assoc Cardiol* 2016;1:539-47.
- Coffey R, Ganz T. Iron homeostasis: An anthropocentric perspective. *J Biol Chem* 2017;292:12727-34.
- Collen D, Lijnen HR. The fibrinolytic system in man. *Cri Rev Oncol Hemat* 1986;4:249-301.
- Comité Nacional de Hematología, Donato H, Crisp RL, Rapetti MC, García E, Attie M. Esferosis hereditaria. Revisión. Parte II. Manifestaciones clínicas, evolución, complicaciones y tratamiento. *Arch Argent Pediatr* 2015;113:168-76.
- Conrad M, Umbreit J. Iron Absorption and Transport- An Update. *Am J Hematol* 2000;64:287-98.

- Conrad M, Umbreit J. Pathways of iron absorption. *Blood Cells Mol Dis* 2002;29:336-55.
- Costa RG, Beltrão Filho EM, de Sousa S, da Cruz GR, Queiroga Rde C, da Cruz EN. Physicochemical and sensory characteristics of yoghurts made from goat and cow milk. *Anim Sci J* 2016;87:703-9.
- Crichton RR, Wilmet S, Legssyer R, Ward RJ. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. *J Inorg Biochem* 2002;91:9-18.
- Daddaoua A, Puerta V, Requena P, Martinez-Ferez A, Guadix E, Sanchez De Medina F, et al. Goat milk oligosaccharides are anti-inflammatory in rats with hapten-induced colitis. *J Nutr* 2006;136:672-76.
- Daniels A, van Bilsen M, Goldschmeding R, van der Vusse GJ, van Nieuwenhoven FA. Connective tissue growth factor and cardiac fibrosis. *Acta Physiol* 2009;195:321-38.
- Darshan D, Anderson GJ. Liver-gut axis in the regulation of iron homeostasis. *World J Gastroentero* 2007;13:4737-45.
- Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, Pigott R, Woolf N, Katz D, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993;171:223-9.
- De Domenico I, Nemeth E, Nelson JM, Phillips JD, Ajioka RS, Kay MS, et al. The hepcidin-binding site on ferroportin is evolutionarily conserved. *Cell Metab* 2008;8:146-56.
- Dendooven A, Gerritsen KG, Nguyen TQ, Kok RJ, Goldschmeding R. Connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) ELISA: A novel tool for monitoring fibrosis. *Biomarkers* 2011;16:289-301.
- Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the vesnarinone trial (VEST). *Circulation* 2001;103:2055-9.
- Dev S, Babitt JL. Overview of iron metabolism in health and disease. *Hemodial Int* 2017;21:6-20.
- Díaz-Castro J, Alférez MJ, López-Aliaga I, Nestares T, Granados S, Barrionuevo M, et al. Influence of nutritional iron deficiency anemia on DNA stability and lipid peroxidation in rats. *Nutrition* 2008;24:1167-73.

- Díaz-Castro J, Alférez MJM, López-Aliaga I, Nestares T, Sánchez-Alcover A, Campos MS. Bile composition, plasma lipids and oxidative hepatic damage induced by calcium supplementation; effects of goat or cow milk consumption. *J Dairy Res* 2013;80:246-54.
- Diaz-Castro J, Moreno-Fernandez J, Pulido-Moran M, Alférez MJM, Robles-Rebollo M, Ochoa JJ, et al. Changes in Adiposity and Body Composition during Anemia Recovery with Goat or Cow Fermented Milks. *J Agr Food Chem* 2017;65:4057-65.
- Díaz-Castro J, Pulido M, Alférez MJ, Ochoa JJ, Rivas E, Hijano S, et al. Goat milk consumption modulates liver divalent metal transporter 1 (DMT1) expression and serum hepcidin during Fe repletion in Fe-deficiency anemia. *J Dairy Sci* 2014;97:147-54.
- Ding S, Huang H, Xu Y, Zhu H, Zhong C. MiR-222 in Cardiovascular Diseases: Physiology and Pathology. *Biomed Res Int* 2017;2017:1.
- Domagala J, Wszolek M, Dudzinska A. The influence of the fortification method and starter culture type on the texture and microstructure of probiotic yoghurts prepared from goat's milk. *Milchwissenschaft* 2012;67:172-6.
- Domagala J, Wszolek M. Effect of concentration method and starter culture type on the texture and susceptibility to syneresis of yoghurt and bio-yoghurts made of goat's milk. *Zywnosc-Nauka Technologia Jakosc* 2008;15:118-28.
- Domagala J. Instrumental texture, syneresis and microstructure of yoghurts prepared from goat, cow and sheep milk. *Int J Food Prop* 2009;12:605-15.
- Dominguez J, Wu P, Packer CS, Temm C, Kelly KJ. Lipotoxic and inflammatory phenotypes in rats with uncontrolled metabolic syndrome and nephropathy. *Am J Physiol-Renal* 2007;293:670-9.
- Drosatos K, Schulze PC. Savings precede spending: fatty acid utilization relies on triglyceride formation for cardiac energetics. *Circulation* 2014;130:1775–7.
- Dunn LL, Suryo Rahmanto Y, Richardson DR. Iron uptake and metabolism in the new millennium. *Trends Cell Biol* 2007;17:93-100.
- Edison ES, Bajel A, Chandy M. Iron homeostasis: new players, newer insights. *Eur J Haematol* 2008;81:411-24.
- Edwards DR, Beaudry PP, Laing TD, Kowal V, Leco KJ, Leco PA, et al. The roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in tissue remodelling and cell growth. *Int J Obesity* 1996;20:9–15.

- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for iron. *EFSA J* 2015;13:4254.
- Efthymakis K, Milano A, Laterza F, Serio M, Neri M. Iron deficiency anemia despite effective gluten-free diet in celiac disease: Diagnostic role of small bowel capsule endoscopy. *Digest Liver Dis* 2017;49:412-6.
- Enjuanes C, Bruguera J, Grau M, Cladellas M, Gonzalez G, Meroño O, et al. Iron Status in Chronic Heart Failure: Impact on Symptoms, Functional Class and Submaximal Exercise Capacity. *Rev Esp Cardiol* 2016;69:247-55.
- Eros G, Varga G, Váradi R, Czóbel M, Kaszaki J, Ghyczy M, et al. Anti-inflammatory action of a phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and N-acylphosphatidylethanolamine-enriched diet in carrageenan-induced pleurisy. *Eur Surg Res* 2009;42:40-8.
- Espejo-Carpio FJ, De Gobba C, Guadix A, Guadix EM, Jeanette Otte. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of goat milk protein fractions. *Int Dairy J* 2013;32:175-83.
- Evstatiev R. Iron deficiency, thrombocytosis and thromboembolism. *Wien Med Wochenschr* 2016;166:437-46.
- Fairbanks V, Beutler E. Iron deficiency. In: Beutler E, editores. *Williams hematology*. New York: McGrawHill;2001. p. 295–304, 447–50.
- Fan X, Weng X, Zhao Y, Chen W, Gan T, Xu D. Circular RNAs in Cardiovascular Disease: An Overview. *Biomed Res Int* 2017;2017:1.
- Fanchini M, Targher G, Montagnana M, Lippi G. Iron and thrombosis. *Ann Hematol* 2008;87:167-73.
- Farnsworth JP, Li J, Hendricks GM, Guo MR. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Res* 2006;65:113-21.
- Farran A, Zamora R, Cervera P. *Tablas de composición de los alimentos del CESNID (Centro d'Ensenyament Superior de Nutritió i Dietètica)*. 2 ed. Madrid: McGraw Hill Interamericana; 2004.
- Faruqi A, Ahmad SI, Ahmed ST. Evaluation of QT parameters in patients of thalassaemia major with iron overload. *J Pak Med Assoc* 2016;66:799-802.

- Farvid MS, Ding M, Pan A, Sun Q, Chiuve SE, Steffen LM, et al. Dietary linoleic acid and risk of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Circulation* 2014;130:1568–78.
- Fiel MI, Schiano T. A woman with chronic anemia and cholestatic liver disease. *Hepatology* 2009;49:1390-1.
- Filippatos G, Farmakis D, Colet JC, Dickstein K, Lüscher TF, Willenheimer R, et al. Intravenous ferric carboxymaltose in iron-deficient chronic heart failure patients with and without anaemia: a subanalysis of the FAIR-HF trial. *Eur J Heart Fail* 2013;15:1267-76.
- Finkelstein JL, Haas JD, Mehta S. Iron-biofortified staple food crops for improving iron status: a review of the current evidence. *Curr Opin Biotech* 2017;44:138-45.
- Fiske CH, Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 1925;66:375–400.
- FitzGerald RJ, Meisel H. Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. In: Fox PF, McSweeney PLH, editores. *Advanced Dairy Chemistry*. 3rd ed, Part B. New York/Boston/Dordrecht/London/Moscow: Kluwer Academic/Plenum;2003. p. 675–98.
- FitzGerald RJ, Meisel H. Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme. *Brit J Nutr* 2000;84:33–7.
- FitzGerald RJ, Murray BA, Walsh DJ. Hypotensive peptides from milk proteins. *J Nutr* 2004;134:980-8.
- Friedman A, Galazka-Friedman J, Bauminger ER, Koziorowski D. Iron and ferritin in hippocampal cortex and substantia nigra in human brain—implications for the possible role of iron in dementia. *J Neurol Sci* 2006;248:31-4.
- Gage BF, Waterman AD, Shannon W, Boehler M, Rich MW, Radford MJ. Validation of clinical classification schemes for predicting stroke: results from the National Registry of Atrial Fibrillation. *J Am Med Assoc* 2001;285:2864–70.
- Galbiati F, Razani B, Lisanti MP. Emerging themes in lipid rafts and caveolae. *Cell* 2001;106:403–11.
- Galkina E, Ley K. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler Throm Vasc* 2007;27:2292–301.
- Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 2012;1823:1434–43.

- Ganz T. Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:394-400.
- Garrido Durán C, Iyo Miyashiro E, Páez Cumpa C, Khorrami Minaei S, Erimeiku Barahona A, Llompарт Rigo A. [Diagnostic yield of video capsule endoscopy in premenopausal women with iron-deficiency anemia]. *Gastroenterol Hepato* 2015;38:373-8.
- Ghorban K, Shanaki M, Mobarra N, Azad M, Asadi J, Pakzad R, et al. Apolipoproteins A1, B, and other prognostic biochemical cardiovascular risk factors in patients with beta-thalassemia major. *Hematology* 2016;21:113-20.
- Girelli D, Nemeth E, Swinkels DW. Hpcidin in the diagnosis of iron disorders. *Blood* 2016;127:2809-13.
- Givens I. Animal nutrition and lipids in animal products and their contribution to human intake and health. *Nutrients* 2009;1:71–82.
- Gkamprela E, Deutsch M, Pectasides D. Iron deficiency anemia in chronic liver disease: etiopathogenesis, diagnosis and treatment. *Ann Gastroenterol* 2017;30:405-13.
- Goddard AF, James MW, McIntyre AS, Scott BB. British Society of Gastroenterology. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. *Gut* 2011;60:1309–16.
- Goheen MM, Wegmüller R, Bah A, Darboe B, Danso E, Affara M, et al. Anemia Offers Stronger Protection Than Sickle Cell Trait Against the Erythrocytic Stage of Falciparum Malaria and This Protection Is Reversed by Iron Supplementation. *EBioMedicine* 2016;14:123-30.
- Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol* 1997;74:111–22.
- González de Villambrosia S, Núñez J, González Mesones B, Insunza A. Trastornos del metabolismo del hierro y anemia ferropénica. *Medicine* 2012;11:1202–11.
- Guedez L, Lim MS, Stetler-Stevenson WG. The role of metalloproteinases and their inhibitors in hematological disorders. *Crit Rev Oncogenesis* 1996;7:205–25.
- Guo XK, Zhao WO, Kondo C, Shimojo N, Yamashita K, Aoki T, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases-1 (TIMP-1) and -2(TIMP-2) are major serum factors that stimulate the TIMP-1 gene in human gingival fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 2006;1763:296-304.

- Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 11^a edición: Saunders, 2006.
- Haenlein GFW. Goat milk in human nutrition. *Small Rum Res* 2004;51:155-63.
- Haenlein GFW. Role of goat meat and milk in human nutrition. In: Proceedings of the Fifth International Conference on Goats, 2–8 March 1992. Vol. II, Pt. II. New Delhi: Indian Council of Agricultural Research Publishers; 1992. p. 575–80.
- Hale KK, Smith CG, Baker SL. Multifunctional regulation of the biological effects of TNF- α by the soluble type I and type II TNF receptors. *Cytokine* 1995;7:26–38.
- Hashimoto G, Aoki T, Nakamura H, Tanzawa K, Okada Y. Inhibition of ADAMTS4 (aggrecanase-1) by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1, 2, 3, and 4). *FEBS Lett* 2001;494:192–5.
- Hassan GS, Williams TM, Frank PG, Lisanti MP. Caveolin-1-deficient aortic smooth muscle cells show cell autonomous abnormalities in proliferation, migration, and endothelin-based signal transduction. *Am J Physiol-Heart C* 2006;290:2393-401.
- Hata Y, Yamamoto M, Ohni M, Nakajima K, Nakamura Y, Takano T. A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr* 1996;64:767–71.
- Hayakawa T. Multiple functions of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): a new aspect involving osteoclastic bone resorption. *J Bone Miner Metab* 2002;20:1–13.
- He XF, Lan Y, Zhang Q, Liu DX, Wang Q, Liang FY, et al. Deferoxamine inhibits microglial activation, attenuates blood-brain barrier disruption, rescues dendritic damage, and improves spatial memory in a mouse model of microhemorrhages. *J Neurochem* 2016;138:436-47.
- Henriksen LF, Petri AS, Hasselbalch HC, Kanters JK, Ellervik C. Increased iron stores prolong the QT interval - a general population study including 20 261 individuals and meta-analysis of thalassaemia major. *Brit J Haematol* 2016;174:776-85.
- Hernández LB, Recio I, Ramos M, Amigo L. Preparation of ovine and caprine β -lactoglobulin hydrolysates with ACE-inhibitory activity. Identification of active peptides from caprine β -lactoglobulin hydrolysed with thermolysin. *Int Dairy J* 2002;12:805–12.

- Hernández-Monzón A, Torres-Herrera A, Duarte-García C, Rodríguez Villacis D. Desarrollo de una leche fermentada de cabra con cultivos probióticos. *Tecnología Química* 2016;36:267-80.
- Herrero AM, Requena T. The effect of supplementing goats milk with whey protein concentrate on textural properties of set-type yoghurt. *Int J Food Sci Tech* 2006;41:87-92.
- Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin. *J Biol Chem* 1982;257:2912-9.
- Hua NW, Stoohs RA, Facchini FS. Low iron status and enhanced insulin sensitivity in lacto-ovo vegetarians. *Br J Nutr* 2001;86:515-9.
- Huang YH, Kuo HC, Huang FC, Yu HR, Hsieh KS, Yang YL, et al. Hepcidin-Induced Iron Deficiency Is Related to Transient Anemia and Hypoferremia in Kawasaki Disease Patients. *Int J Mol Sci* 2016;17:715.
- Huang YH, Kuo HC. Anemia in Kawasaki Disease: Hepcidin as a Potential Biomarker. *Int J Mol Sci* 2017;18:820.
- Hug BL, Tichelli A, Benkert P, Stirnimann G, Schifferli JA. Diagnosis and treatment of iron deficiency in medical inpatients at a Swiss tertiary university referral hospital: a retrospective observational cohort study of clinical practice. *Swiss Med Wkly* 2013;143:13847.
- Hughes CM, Woodside JV, McGartland C, Roberts MJ, Nicholls DP, McKeown PP. Nutritional intake and oxidative stress in chronic heart failure. *Nutr Metab Cardiovasc* 2012;22:376–82.
- Hylek EM, Evans-Molina C, Shea C, Henault LE, Regan S. Major hemorrhage and tolerability of warfarin in the first year of therapy among elderly patients with atrial fibrillation. *Circulation* 2007;115:2689–96.
- Illing AC, Shawki A, Cunningham CL, Mackenzie B. Substrate profile and metal-ion selectivity of human divalent metal-ion transporter-1. *J Biol Chem* 2012;287:30485-96.
- Immenschuh S, Vijayan V, Janciauskiene S, Gueler F. Heme as a Target for Therapeutic Interventions. *Front Pharmacol* 2017;8:146.
- Ischiropoulos H, Beckman JS. Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect, or association? *J Clin Invest* 2003;111:163-9.

- Isler M, Delibas N, Guclu M, Gultekin F, Sutcu R, Bahceci M, et al. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocytes of patients with iron deficiency anemia: effects of different treatment modalities. *Croat Med J* 2002;43:16-9.
- ISO-IDF. Milk fat-preparation of fatty acid methyl esters. International Standard ISO 15884-IDF 182, 2002.
- Jacobs, DeMott. *Laboratory Handbook* (5th ed.), 2001. Lexi-Comp, Cleveland p. 435.
- Jandal JM, Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res* 1996;22:177-85.
- Jankowska EA, Kasztura M, Sokolski M, Bronisz M, Nawrocka S, Oleśkowska-Florek W, et al. Iron deficiency defined as depleted iron stores accompanied by unmet cellular iron requirements identifies patients at the highest risk of death after an episode of acute heart failure. *Eur Heart J* 2014;35:2468–76.
- Jankowska EA, Ponikowski P. Molecular changes in myocardium in the course of anemia or iron deficiency. *Heart Fail Clin* 2010;6:295-304.
- Jankowska EA, Rozentryt P, Witkowska A, Nowak J, Hartmann O, Ponikowska B, et al. Iron deficiency predicts impaired exercise capacity in patients with systolic chronic heart failure. *J Card Fail* 2011;17:899-906.
- Jauhiainen T, Rönnback M, Vapaatalo H, Wuolle K, Kautiainen H, Groop PH, et al. Long-term intervention with *Lactobacillus helveticus* fermented milk reduces augmentation index in hypertensive subjects. *Eur J Clin Nutr* 2010;64:424-31.
- Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J, Rifai N, Hu FB. Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently healthy women. *J Am Med Assoc* 2004;291:711–7.
- Kadla SA, Shah NA, Bindroo MA, Khan BA, Farooq A, Yousf W, et al. Evaluation of iron deficiency anaemia for gastrointestinal causes in patients without GI symptoms in high prevalent GI malignancy zones. *Arab J Gastroenterol* 2016;17:67-72.
- Kaminsky BM, Pogue KT, Hanigan S, Koelling TM, Dorsch MP. Effects of Total Dose Infusion of Iron Intravenously in Patients With Acute Heart Failure and Anemia (Hemoglobin < 13 g/dl). *Am J Cardiol* 2016;117:1942-6.
- Karadeniz C, Özdemir R, Demiroglu M, Katipoğlu N, Yozgat Y, Meşe T, et al. Low Iron Stores in Otherwise Healthy Children Affect Electrocardiographic Markers of Important Cardiac Events. *Pediatr Cardiol* 2017;38:909-14.

- Kashiwagi M, Tortorella M, Nagase H, Brew K. TIMP-3 is a potent inhibitor of aggrecanase 1 (ADAM-TS4) and aggrecanase 2 (ADAMTS5). *J Biol Chem* 2001;276:12501–4.
- Kasner M, Aleksandrov AS, Westermann D, Lassner D, Gross M, von Haehling S, et al. Functional iron deficiency and diastolic function in heart failure with preserved ejection fraction. *Int J Cardiol* 2013;168:4652-7.
- Kehagias C, Csapo J, Konteles S, Kolokitha E, Koulouris S, Csapo-Kiss ZS. Support of growth and formation of D-amino acids by *Bifidobacterium longum* in cow's, ewe's, goat's milk and modified whey powder products. *Int Dairy J* 2008;18:396-402.
- Khamsekaew J, Kumfu S, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Effects of Iron Overload on Cardiac Calcium Regulation: Translational Insights Into Mechanisms and Management of a Global Epidemic. *Can J Cardiol* 2016;32:1009-16.
- Kiechl S, Aichner F, Gerstenbrand F, Egger G, Mair A, Rungger G, et al. Body iron stores and presence of carotid atherosclerosis: results from the Bruneck Study. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1625-30.
- Kim KO. Management of anemia in patients with inflammatory bowel disease. *Korean J Gastroenterol* 2015;65:145-50.
- Kishida K, Funahashi T, Shimomura I. Adiponectin as a routine clinical biomarker. *Best Pract Res Cl En* 2014;28:119–30.
- Klip IT, Comin-Colet J, Voors AA, Ponikowski P, Enjuanes C, Banasiak W, et al. Iron deficiency in chronic heart failure: an international pooled analysis. *Am Heart J* 2013;165:575-82.
- Kongo JM, Gomes AM, Malcata FX. Manufacturing of fermented goat milk with a mixed starter culture of *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* in a controlled bioreactor. *Lett Appl Microbiol* 2006;42:595-9.
- Kozirowski D, Friedman A, Arosio P, Santambrogio P, Dziwulska D. ELISA reveals a difference in the structure of substantia nigra ferritin in Parkinson's disease and incidental Lewy body compared to control. *Parkinsonism Relat D* 2007;13:214-8.
- Kraml P. The role of iron in the pathogenesis of atherosclerosis. *Physiol Res* 2017;66(Suppl 1):55-67.

- Kruszewski M. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat Res* 2003;531:81-92.
- Kumfu S, Fucharoen S, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Cardiac complications in beta-thalassemia: From mice to men. *Exp Biol Med* 2017;242:1126-35.
- Kunz C, Rudloff S, Baier W, Klein N, Strobel S. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. *Annu Rev Nutr* 2000;20:699-722.
- Lan TH, Huang XQ, Tan HM. Vascular fibrosis in atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol* 2013;22:401-7.
- Lara-Villoslada F, Debras E, Nieto A, Concha A, Galvez J, Lopez-Huertas E, et al. Oligosaccharides isolated from goat milk reduce intestinal inflammation in a rat model of dextran sodium sulfate-induced colitis. *Clin Nutr* 2006;25:477-88.
- Lauffer Rb. Iron stores and the international variation in mortality from coronary artery disease. *Med Hypotheses* 1991;35:96-102.
- Lehninger A, Nelson D, Cox M. *Principios de Bioquímica*. 3ª Edición. Omega, 2001.
- Lekavich CL, Barksdale DJ, Neelon V, Wu JR. Heart failure preserved ejection fraction (HFpEF): an integrated and strategic review. *Heart Fail Rev* 2015;20:643-53.
- Li GH, Le GW, Shi YH, Shrestha S. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutr Res* 2004;24:469-86.
- Li SJ, Hwang YY, Ha SY, Chan GC, Mok AS, Wong SJ, et al. Role of Three-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in the Quantification of Myocardial Iron Overload in Patients with Beta-Thalassemia Major. *Echocardiography* 2016;33:1361-7.
- Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature* 2011;473:317-25.
- Lind M, Boman K, Johansson L, Nilsson TK, Jarvholm LS, Jansson JH. Von Willebrand factor predicts major bleeding and mortality during oral anticoagulant treatment. *J Intern Med* 2012;271:239-46.
- Lind M, Boman K, Johansson L, Nilsson TK, Ohlin AK, Birgander LS, et al. Thrombomodulin as a marker for bleeding complications during warfarin treatment. *Arch Intern Med* 2009;169:1210-5.

- Lindsey ML, Yabluchanskiy A, Ma Y. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1: Actions beyond matrix metalloproteinase inhibition. *Cardiology* 2015;132:147–50.
- Liu Q, Sun L, Tan Y, Wang G, Lin X, Cai L. Role of iron deficiency and overload in the pathogenesis of diabetes and diabetic complications. *Curr Med Chem* 2009;16:113-29.
- Liu T, Young PR, McDonnell PC, White RF, Barone FC, Feuerstein GZ. Cytokine-induced neutrophil chemoattractant mRNA expressed in cerebral ischemia. *Neurosci Lett* 1993;164:125-8.
- Loechel F, Fox JW, Murphy G, Albrechtsen R, Wewer UM. ADAM 12-S cleaves IGFBP-3 and IGFBP-5 and is inhibited by TIMP-3. *Biochem Bioph Res Co* 2000;278:511–5.
- Loeffler RB, McCarville MB, Wagstaff AW, Smeltzer MP, Krafft AJ, Song R, et al. Can multi-slice or navigator-gated R2* MRI replace single-slice breath-hold acquisition for hepatic iron quantification? *Pediatr Radiol* 2017;47:46-54.
- Loperena R, Harrison DG. Oxidative Stress and Hypertensive Diseases. *Med Clin N Am* 2017;101:169-93.
- López Aliaga I, Alférez MJM, Nestares MT, Ros PB, Barrionuevo M, Campos MS. Goat milk feeding causes an increase in biliary secretion of cholesterol and a decrease in plasma cholesterol levels in rats. *J Dairy Sci* 2005;88:1024-30.
- Lynch SR. Iron. In: Sadler MJ, Strain JJ, Caballero B, eds. *Encyclopedia of Human Nutrition*, Academic Press, vol. 2, p. 1153-9, Londres, 1998.
- Macdougall IC, Bircher AJ, Eckardt KU, Obrador GT, Pollock CA, Stenvinkel P, et al. Iron management in chronic kidney disease: conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 2016;89:28-39.
- Madu AJ, Ughasoro MD. Anaemia of Chronic Disease: An In-Depth Review. *Med Prin Pract* 2017;26:1-9.
- Makubi A, Roberts DJ. Investigation and treatment for iron deficiency in heart failure: the unmet need in Lower and Middle Income Countries. *Brit J Haematol* 2017;177:896-904.
- Mant J, Hobbs FD, Fletcher K, Roalfe A, Fitzmaurice D, Lip GY, et al. Warfarin versus aspirin for stroke prevention in an elderly community population with atrial

fibrillation (the Birmingham Atrial Fibrillation Treatment of the Aged Study, BAFTA): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;370:493–503.

- Martín-Diana AB, Janer C, Peláez C, Requena T. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria A.B. *Int Dairy J* 2003;13:827-33.
- Martínez C, Ros G, Periago MJ, López G. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. *Arch Latinoam Nutr* 1999;49:106.
- Maury CPJ, Teppo AM. Circulating tumor necrosis factor- α (cachectin) in myocardial infarction. *J Intern Med* 1989;225:333–6.
- McClelland DBL, editor. *Handbook of transfusion medicine*. 4 ed. London: TSO (The Stationery Office); 2007.
- McGrath S, Thomas A, Gorard DA. Cardiomyopathy responsive to gluten withdrawal in a patient with coeliac disease. *BMJ Case Rep* 2016;2016:1.
- Mckie AT. The role of Dcytb in iron metabolism: an update. *Biochem Soc T* 2008;36:1239-41.
- McLaren JE, Michael DR, Ashlin TG, Ramji DP. Cytokines, macrophage lipid metabolism and foam cells: Implications for cardiovascular disease therapy. *Prog Lipid Res* 2011;50:331–47.
- Medeiros DM. Copper, iron, and selenium dietary deficiencies negatively impact skeletal integrity: A review. *Exp Biol Med* 2016;241:1316-22.
- Meisel H. Bioactive peptides from milk proteins: a perspective for consumers and producers. *Aust J Dairy Technol* 2001;56:83-91.
- Meisel, H. Casokinins as inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme. In: Sawatski G, Renner B, editores. *New Perspectives in Infant Nutrition*. Thieme, Stuttgart, New York;1993. p. 153–9.
- Melenovsky V, Petrak J, Mracek T, Benes J, Bourlaug BA, Nuskova H, et al. Myocardial iron content and mitochondrial function in human heart failure. *Eur J Heart Fail* 2016;19:522-30.
- Meliș LE, Mărginean CO, Mocanu S, Mărginean MO. A rare case of iron-pill induced gastritis in a female teenager: A case report and a review of the literature. *Medicine* 2017;96:e7550.
- Menashi S, Lu H, Soria C, Legrand Y. Endothelial cell proteases: Physiological role and regulation. *Bail Clin Haem* 1993;6:559–76.

- Meyers DG. The iron hypothesis: does iron play a role in atherosclerosis? *Transfusion* 2000;40:1023-9.
- Milic S, Mikolasevic I, Orlic L, Devcic E, Starcevic-Cizmarevic N, Stimac D, et al. The Role of Iron and Iron Overload in Chronic Liver Disease. *Med Sci Monitor* 2016;22:2144-51.
- Miller JL. Iron deficiency anemia: a common and curable disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013;3:a011866 [on line], 2013 [cited 2013 February 14];3(7): [about 13 p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23613366>.
- Mitchell CJ, Shawki A, Ganz T, Nemeth E, Mackenzie B. Functional properties of human ferroportin, a cellular iron exporter reactive also with cobalt and zinc. *Am J Physiol-Cell Ph* 2014;306:450–9.
- Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22:1145-58.
- Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat Rev Immunol* 2013;13:709-21.
- Moore M, Folsom AR, Barnes RW, Eckfeldt JH. No association between serum ferritin and asymptomatic carotid atherosclerosis. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol* 1995;141:719-23.
- Moreiras O, Carvajal A, Cabrera L, Cuadrado C. Ingestas Recomendadas de Energía y Nutrientes Para la Población Española (Revisadas 2015). In: *Tablas de Composición de los Alimentos; Pirámide: Madrid, Spain, 2015; p. 258–9.*
- Moreno-Fernandez J, Diaz-Castro J, Alférez MJ, Boesch C, Nestares T, López-Aliaga I. Fermented goat milk improves antioxidant status and protects from oxidative damage to biomolecules during anemia recovery. *J Sci Food Agr* 2017;97:1433-42.
- Moreno-Fernández J, Díaz-Castro J, Alférez MJ, Hijano S, Nestares T, López-Aliaga I. Production and chemical composition of two dehydrated fermented dairy products based on cow or goat milk. *J Dairy Res* 2016a;83:81-8.
- Moreno-Fernandez J, Diaz-Castro J, Alférez MJ, Nestares T, Ochoa JJ, Sánchez-Alcover A, et al. Fermented goat milk consumption improves melatonin levels and influences positively the antioxidant status during nutritional ferropenic anemia recovery. *Food Funct* 2016b;7:834-42.

- Moreno-Fernandez J, Diaz-Castro J, Pulido-Moran M, Alferez MJ, Boesch C, Sanchez-Alcover A, et al. Fermented Goat's Milk Consumption Improves Duodenal Expression of Iron Homeostasis Genes during Anemia Recovery. *J Agr Food Chem* 2016c;64:2560-8.
- Moreno-Fernandez J, Diaz-Castro J, Pulido-Moran M, Alferez MJM, Nestares T, Lopez-Aliaga I. Fermented goat milk consumption during anaemia recovery: ergogenic effect and improvement of skeletal muscle homeostasis. *Eur J Nutr* 2016d;56:2277-87.
- Muñoz Alferez MJ, Muñoz-García A, Moreno-Fernández J, López-Aliaga I, Díaz-Castro J. Fermented goat milk consumption improves cardiovascular health during anemia recovery. *J Sci Food Agr* 2018; Available from: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9210>.
- Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1436–42.
- Nadadur SS, Srirama K, Mudipalli A. Iron transport & homeostasis mechanisms: their role in health & disease. *Indian J Med Res* 2008;128:533-44.
- Nagase H. Matrix metalloproteinases. In: Hooper NM, editor. *Zinc Metalloproteinases in Health and Disease*. London: Taylor and Francis Ltd.;1996. p. 153–204.
- Nairz M, Theurl I, Wolf D, Weiss G. Iron deficiency or anemia of inflammation? : Differential diagnosis and mechanisms of anemia of inflammation. *Wien Med Wochenschr* 2016;166:411-23.
- Naito Y, Tsujino T, Matsumoto M, Sakoda T, Ohyanagi M, Masuyama T. Adaptive response of the heart to long-term anemia induced by iron deficiency. *Am J Physiol-Heart C* 2009;296:585-93.
- Nakashima Y, Fujii H, Sumiyoshi S, Wight TN, Sueishi K. Early human atherosclerosis: Accumulation of lipid and proteoglycans in intimal thickenings followed by macrophage infiltration. *Arterioscl Throm Vas* 2007;27:1159–65.
- Namaste SM, Rohner F, Huang J, Bhushan NL, Flores-Ayala R, Kupka R, et al. Adjusting ferritin concentrations for inflammation: Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) project. *Am J Clin Nutr* 2017;106:359-71.

- Nasopoulou C, Smith T, Detopoulou M, Tsikrika C, Papaharisis L, Barkas D, et al. Structural elucidation of olive pomace fed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) polar lipids with cardioprotective activities. *Food Chem* 2014;14:1097–105.
- Nead KG, Halterman JS, Kaczorowski JM, Auinger P, Weitzman M. Overweight children and adolescents: a risk group for iron deficiency. *Pediatrics* 2004;114:104-8.
- Novakovic P, Kordic J, Slacanac V, Moslavac T. Rheological changes during fermentation with bacterium *Lactobacillus acidophilus*. *Mljekarstvo* 1997;47:93-101.
- Novakovic P, Kordic J, Slacanac V. Rheological properties of goat's and cow's *acidophilus* milk during storage. *Mljekarstvo* 1998;48:75-86.
- Núñez J, Domínguez E, Ramón JM, Núñez E, Sanchis J, Santas E, et al. Iron deficiency and functional capacity in patients with advanced heart failure with preserved ejection fraction. *Int J Cardiol* 2016;207:365-7.
- Nus M, Sánchez-Muniz FJ, Sánchez-Montero JM. Arilesterasa. Aspectos metodológicos y funcionales de una enzima clave en la enfermedad cardiovascular. Parte I. *An R Acad Nac Far* 2007;74:5-27.
- Oakley AE, Collingwood JF, Dobson J, Love G, Perrott HR, Edwardson JA, et al. Individual dopaminergic neurons show raised iron levels in Parkinson disease. *Neurology* 2007;68:1820-5.
- Oikonomidou PR, Casu C, Rivella S. New strategies to target iron metabolism for the treatment of beta thalassemia. *Ann NY Acad Sci* 2016;1368:162-8.
- Olivares Grohnert M, Arredondo Olguín M, Pizarro Aguirre F. Hierro. In: Gil A, editor. *Tratado de Nutrición*. Tomo I. 2nd ed. Madrid: Panamericana;2010. p. 671-86.
- Ooyama K, Kojima K, Aoyama T, Takeuchi H. Decrease of food intake in rats after ingestion of medium-chain triacylglycerol. *J Nutr Sci Vitaminol* 2009;55:423-7.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 20 de mayo de 2009.
- Paganini D, Uyoga MA, Zimmermann MB. Iron Fortification of Foods for Infants and Children in Low-Income Countries: Effects on the Gut Microbiome, Gut Inflammation, and Diarrhea. *Nutrients* 2016;8:494.
- Pallarés I, Lisbona F, López-Aliaga I, Barrionuevo M, Alférez MJM, Campos MS. Effects of iron deficiency on the digestive utilization of iron, phosphorus, calcium and magnesium in rats. *Br J Nutr* 1993;70:609-20.

- Pan D, Guo Y. Optimization of sour milk fermentation for the production of ACE-inhibitory peptides and purification of a novel peptide from whey protein hydrolysate. *Int Dairy J* 2010;20:472–9.
- Pannitteri G, Marino B, Campa PP, Martucci R, Testa U, Peschle C. Interleukin 6 and 8 as mediators of acute phase response in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1997;80:622–5.
- Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;202:199-211.
- Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald MLE, Franchini PL, Dubé MP, et al. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004;36:77-82.
- Park Y, Juárez M, Ramos M, Haenlein G. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rum Res* 2007;68:88-113.
- Park YM. CD36, a scavenger receptor implicated in atherosclerosis. *Exp Mol Med* 2014;46:99.
- Parrot S, Degraeve P, Curia C, Martial-Gros A. In vitro study on digestion of peptides in Emmental cheese: analytical evaluation and influence on angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Nahrung* 2003;47:87–94.
- Paul B, Nesbitt ID. Anaemia and blood transfusion. *Surgery* 2013;31:59–66.
- Pechan J, Okrucka A. Diltiazem inhibits the spontaneous platelet aggregation in essential hypertension. *Cardiology* 1991;79:116–9.
- Petry N, Olofin I, Hurrell RF, Boy E, Wirth JP, Moursi M, et al. The Proportion of Anemia Associated with Iron Deficiency in Low, Medium, and High Human Development Index Countries: A Systematic Analysis of National Surveys. *Nutrients* 2016;8:693.
- Phelan M, Kerins D. The potential role of milk-derived peptides in cardiovascular disease. *Food Funct* 2011;2:153-67.
- Pietrzik K, Bailey L, Shane B. Folic acid and L-5-methyltetrahydrofolate: comparison of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet* 2010;49:535-48.
- Pigott R, Dillon LP, Gearing AJH. Soluble E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in supernatants of cytokine-activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;87:584–9.

- Pikuleva IA. Cholesterol-metabolizing cytochromes P450. *Drug Metab Dispos* 2006;34:513-20.
- Pinilla-Tenas JJ, Sparkman BK, Shawki A, Illing AC, Mitchell CJ, Zhao N, et al. Zip14 is a complex broad-scope metal-ion transporter whose functional properties support roles in the cellular uptake of zinc and nontransferrin-bound iron. *Am J Physiol-Cell Ph* 2011;301:862–71.
- Piperno A, Mariani R, Trombini P, Girelli D. Hepcidin modulation in human diseases: from research to clinic. *World J Gastroentero* 2009;15:538-51.
- Poli M, Asperti M, Ruzzenenti P, Naggi A, Arosio P. Non-Anticoagulant Heparins Are Hepcidin Antagonists for the Treatment of Anemia. *Molecules* 2017;22:598.
- Ponikowski P, van Veldhuisen DJ, Comin-Colet J, Ertl G, Komajda M, Mareev V, et al. Beneficial effects of long-term intravenous iron therapy with ferric carboxymaltose in patients with symptomatic heart failure and iron deficiency. *Eur Heart J* 2015;36:657-68.
- Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, et al. Inhibiting the hepcidin inhibitor for treatment of iron overload. *Blood* 2013;121:1068–9.
- Poutzalis S, Anastasiadou A, Nasopoulou C, Megalemu K, Sioriki E, Zabetakis I. Evaluation of the in vitro antiatherogenic activities of goat milk and goat dairy products. *Dairy Sci Technol* 2016;96:317-27.
- Pozzo J, Fournier P, Delmas C, Vervueren PL, Roncalli J, Elbaz M, et al. Absolute iron deficiency without anaemia in patients with chronic systolic heart failure is associated with poorer functional capacity. *Arch Cardiovasc Dis* 2017;110:99-105.
- Raja KB, Simpson RJ, Peters TJ. Intestinal iron absorption studies in mouse models of iron-overload. *Brit J Haematol* 1994;86:156–62.
- Ramírez Alvarado MM, Sánchez Roitz CO. Relación entre la concentración sérica de las formas solubles de las moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina y la resistencia a la insulina en mujeres obesas. *Nutr Clin Diet Hosp* 2015;35:42-50.
- Razani B, Lisanti MP. Caveolin-deficient mice: insights into caveolar function and human disease. *J Clin Invest* 2001;108:1553–61.
- Razani B, Woodman SE, Lisanti MP. Caveolae: from cell biology to animal physiology. *Pharmacol Rev* 2002;54:431–67.

- Real Decreto 179/2003, de 14 de febrero, por el que se aprueba la Norma de Calidad para el yogur. BOE núm. 42, 18 Febrero 2003.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993;123:1939–51.
- Reynolds CM, Roche HM. Conjugated linoleic acid and inflammatory cell signalling. *Prostag Leukotr Ess* 2010;82:199–204.
- Ricci I, Artacho R, Olalla M. Milk protein peptides with angiotensin I-converting enzyme inhibitory (ACEI) activity. *Crit Rev Food Sci* 2010;50:390-402.
- Robinson PH, Fredeen AH, Chalupa W, Julien WE, Sato H, Fujieda T, Suzuki H. Ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. *J Dairy Sci* 1995;78:582-94.
- Rohner F, Namaste SM, Larson LM, Addo OY, Mei Z, Suchdev PS, et al. Adjusting soluble transferrin receptor concentrations for inflammation: Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) project. *Am J Clin Nutr* 2017;106:372-82.
- Rojas-Castro WN, Chacón-Villalobos A, Pineda-Castro ML. Características del yogurt batido de fresa derivadas de diferentes proporciones de leche de vaca y cabra. *Agronomía Mesoamericana* 2007;18:221-37.
- Rollins, BJ. Chemokines. *Blood* 1997;90:909–28.
- Rosales Torres AM, Guzmán Sánchez A. Importancia del Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF) y de sus receptores en el ciclo ovárico. Revisión. *Rev Mex Cienc Pecu* 2011;3:89-111.
- Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
- Rostoker G, Vaziri ND, Fishbane S. Iatrogenic Iron Overload in Dialysis Patients at the Beginning of the 21st Century. *Drugs* 2016;76:741-57.
- Rupérez AI, Olza J, Gil-Campos M, Leis R, Bueno G, Aguilera CM, et al. Cardiovascular risk biomarkers and metabolically unhealthy status in prepubertal children: Comparison of definitions. *Nutr Metab Cardiovas* 2018;28:524-30.
- Saadeddin SM, Habbab MA, Ferns GA. Markers of inflammation and coronary artery disease. *Med Sci Monitor* 2002;8:5–12.

- Saavedra Ramírez PG, Vásquez Duque GM, González Naranjo LA. Interleucina-6: ¿amiga o enemiga? Bases para comprender su utilidad como objetivo terapéutico. *Iatreia* 2011;24:157-66. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v24n2/v24n2a05.pdf>.
- Saito T, Nakamura T, Kitazawa H, Kawai Y, Itoh T. Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in Gouda cheese. *J Dairy Sci* 2000;83:1434-40.
- Saliba AN, Taher AT. Morbidities in non-transfusion-dependent thalassemia. *Ann NY Acad Sci* 2016;1368:82-94.
- Salonen JT, Nyyssonen K, Korpela H, Toumiletto J, Seppanen R, Salonen R. High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in Eastern Finnish men. *Circulation* 1992;86:803-11.
- Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Olza J, Aranceta-Bartrina J, Gil Á, González-Gross M, et al. Iron Intake and Dietary Sources in the Spanish Population: Findings from the ANIBES Study. *Nutrients* 2017;9:203.
- Sarnak MJ, Tighiouart H, Manjunath G, MacLeod B, Griffith J, Salem D, et al. Anemia as a risk factor for cardiovascular disease in The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:27-33.
- Sarriá B, Navas-Carretero S, Lopez-Parra AM, Perez-Granados AM, Arroyo-Pardo E, Roe MA, et al. The G277S transferrin mutation does not affect iron absorption in iron deficient women. *Eur J Nutr* 2007;46:57-60.
- Sawaya WN, Khalil JK, Al-Shalhat AF. Mineral and vitamin content of goat's milk. *J Am Diet Assoc* 1984;84:433-5.
- Schönfeld P, Wojtczak L. Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *J Lipid Res* 2016;57:943-54.
- Schulman S, Beyth RJ, Kearon C, Levine MN. Hemorrhagic complications of anticoagulant and thrombolytic treatment: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008;133:257-98.
- Senni M, Paulus WJ, Gavazzi A, Fraser AG, Díez J, Solomon SD, et al. New strategies for heart failure with preserved ejection fraction: the importance of targeted therapies for heart failure phenotypes. *Eur Heart J* 2014;35:2797-815.
- Sharma AM. Adipose tissue: a mediator of cardiovascular risk. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26:5-7.

- Sharma SK, Agarwal SK, Bhargava K, Sharma M, Chopra K, Arumugam G. Prevalence and spectrum of iron deficiency in heart failure patients in south Rajasthan. *Indian Heart J* 2016;68:493-7.
- Sharp P, Srai SK. Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption. *World J Gastroentero* 2007;13:4716-24.
- Shi Z, Zhen S, Zhou Y, Taylor AW. Hb level, iron intake and mortality in Chinese adults: a 10-year follow-up study. *Brit J Nutr* 2017;117:572-81.
- Sikorska K, Bernat A, Wroblewska A. Molecular pathogenesis and clinical consequences of iron overload in liver cirrhosis. *Hepatob Pancreat Dis* 2016;15:461-79.
- Silanikove N, Leitner G, Merin U, Prosser C. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. *Small Rum Res* 2010; 89:110-24.
- Silvestri A, Boffito M, Sartori S, Ciardelli G. Biomimetic Materials and Scaffolds for Myocardial Tissue Regeneration. *Macromol Biosci* 2013;13:984-1019.
- Slacanac V, Bozanic R, Hardi J, Rezessy J, Lucan M, Krstanovic V. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. *Int J Dairy Technol* 2010;63:171-89.
- Smart EJ, Graf GA, McNiven MA, Sessa WC, Engelman JA, Scherer PE, et al. Caveolins, liquid-ordered domains, and signal transduction. *Mol Cell Biol* 1999;19:7289-304.
- Stack HM, Kearney N, Stanton C, Fitzgerald GF, Ross RP. Association of beta-glucan endogenous production with increased stress tolerance of intestinal lactobacilli. *Appl Environ Microb* 2010;76:500-7.
- Stein J, Connor S, Virgin G, Ong DE, Pereyra L. Anemia and iron deficiency in gastrointestinal and liver conditions. *World J Gastroentero* 2016;22:7908-25.
- Suárez H, Cimino F, Bonilla E. Hierro en el sistema nervioso central: metabolismo y consideraciones fisiopatológicas. *Invest Clín* 1985;26:247-322.
- Sullivan JL. Heterozygous hemochromatosis as a risk factor for premature myocardial infarction. *Med Hypotheses* 1990;31:1-5.
- Sullivan JL. Iron and the sex difference in heart disease risk. *Lancet* 1981;1:1293-4.
- Sullivan JL. Iron in arterial plaque: A modifiable risk factor for atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2009;1790:718-23.

- Sullivan JL. Macrophage iron, hepcidin, and atherosclerotic plaque stability. *Exp Biol Med* (Maywood) 2007;232:1014-20.
- Sumarmono J, Sulistyowati M, Soenarto. Fatty acids profiles of fresh milk, yogurt and concentrated yogurt from Peranakan Etawah goat milk. *Procedia Food Sci* 2015;3:216-22.
- Summer R, Walsh K, Medoff BD. Obesity and pulmonary arterial hypertension: is adiponectin the molecular link between these conditions? *Pulm Circ* 2011;1:440–7.
- Tartaglia LA, Goeddel DV. Two TNF receptors. *Immunol Today* 1992;13:151–3.
- Tartaglia LA, Weber RF, Figari IS. The two different receptors for tumor necrosis factor mediate distinct cellular responses. *P Natl Acad Sci USA* 1991;88:9292–6.
- Tauchenová L, Křížová B, Kubánek M, Fraňková S, Melenovský V, Tintěra J, et al. Successful Treatment of Iron-Overload Cardiomyopathy in Hereditary Hemochromatosis With Deferoxamine and Deferiprone. *Can J Cardiol* 2016;32:1574.
- Taylor S, Rampton D. Treatment of iron deficiency anemia: practical considerations. *Pol Arch Med Wewn* 2015;125:452-60.
- The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: design and objectives. The ARIC investigators. *Am J Epidemiol* 1989;129:687-702.
- Thyberg J. Caveolin-1 and caveolae act as regulators of mitogenic signaling in vascular smooth muscle cells. *Arterioscl Throm Vasc* 2003;23:1481–3.
- Totino PR, Daniel-Ribeiro CT, Ferreira-da-Cruz MF. Evidencing the Role of Erythrocytic Apoptosis in Malarial Anemia. *Front Cell Infect Mi* 2016;6:176.
- Tounian P, Aggoun Y, Dubern B, Varille V, Guy-Grand B, Sidi D, et al. Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *Lancet* 2001;358:1400-4.
- Toxqui L, De Piero A, Courtois V, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ, Vaquero MP. Iron deficiency and overload. Implications in oxidative stress and cardiovascular health. *Nutr Hosp* 2010;25:350-65.
- Tratnik L, Bozanic R, Herceg Z, Drgalic I. The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *Int J Dairy Technol* 2006;59:40-6.
- Tsorotioti SE, Nasopoulou C, Detopoulou M, Sioriki E, Demopoulos CA, Zabetakis I. In vitro anti-atherogenic properties of traditional Greek cheese lipid fractions. *Dairy Sci Technol* 2014;94:269–81.

- Turk T, Quang ND, Nga TT, Phuong H, Tung LV, Trang VH. A rapid assessment and response approach for socially marketed nutrition commodities in Viet Nam. *Asia Pac J Clin Nutr* 2017;26:182-9.
- Tussing-Humphreys LM, Liang H, Nemeth E, Freels S, Braunschweig CA. Excess adiposity, inflammation, and iron-deficiency in female adolescents. *J Am Diet Assoc* 2009;109:297-302.
- Ünlüsoy Aksu A, Sari S, Eğritaş Gürkan Ö, Dalgiç B. Favorable Response to Sirolimus in a Child With Blue Rubber Bleb Nevus Syndrome in the Gastrointestinal Tract. *J Pediatr Hematol Onc* 2017;39:147-9.
- Upadhyaya B, Haykowsky MJ, Eggebeen J, Kitzman DW. Exercise intolerance in heart failure with preserved ejection fraction: more than a heart problem. *J Geriatr Cardiol* 2015;12:294-304.
- Valgimigli M, Ceconi C, Malagutti P, Merli E, Soukhomovskaia O, Francolini G, et al. Tumor necrosis factor- α receptor 1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2005;111:863-70.
- van Haehling S, Jankowska EA, van Veldhuisen DJ, Ponikowski P, Anker SD. Iron deficiency and cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol* 2015;12:659-69.
- van Meijl LE, Vrolix R, Mensink RP. Dairy product consumption and the metabolic syndrome. *Nutr Res Rev* 2008;21:148-57.
- Vargas M, Chafer M, Albors A, Chiralt A, González-Martínez C. Physico-chemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cow's and goat's milk. *Int Dairy J* 2008;18:1146-52.
- Vegarud GE, Devold TG, Opheim R, Loeding E, Svenning C, Abrahamsen RK, et al. Genetic variants of Norwegian goat's milk composition, micellar size and renneting properties. *Int Dairy J* 1999;9:367-8.
- Viguria Padilla F, Miján de la Torre A. La pica: retrato de una entidad clínica poco conocida. *Nutr Hosp* 2006;21:557-66.
- Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003;92:827-39.
- Von Moos LM, Schneider M, Hilty FM, Hilbe M, Arnold M, Ziegler N, et al. Iron phosphate nanoparticles for food fortification: Biological effects in rats and human cell lines. *Nanotoxicology* 2017;11:496-506.

- Walsh DJ, FitzGerald RJ. The functional value of dairy proteins. In: Yada R, editor. *Proteins in Food Processing*. Cambridge, UK (in press): Woodhead;2004.
- Wang CY, Jenkitkasemwong S, Duarte S, Sparkman BK, Shawki A, Mackenzie B, et al. ZIP8 is an iron and zinc transporter whose cell-surface expression is up-regulated by cellular iron loading. *J Biol Chem* 2012;287:34032–43.
- Wang Y, Huang L, Zhang L, Qu Y, Mu D. Iron Status in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2017;12:e0169145.
- Weinstein D, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfsdorf JI, Andrews NC. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implication for the anemia chronic disease. *Blood* 2002;100:3776-81.
- Wessling-Resnick M. Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu Rev Nutr* 2010;30:105–22.
- West AR, Oates PS. Mechanisms of heme iron absorption: current questions and controversies. *World J Gastroentero* 2008;14:4101-10.
- Weyrich AS, Lindemann S, Zimmerman GA. The evolving role of platelets in inflammation. *J Thromb Haemost* 2003;1:1897–905.
- Wienbergen H, Pfister O, Hochadel M, Michel S, Bruder O, Remppis BA, et al. Usefulness of Iron Deficiency Correction in Management of Patients With Heart Failure [from the Registry Analysis of Iron Deficiency-Heart Failure (RAID-HF) Registry]. *Am J Cardiol* 2016;118:1875-80.
- Wieringa FT, Dahl M, Chamnan C, Poirot E, Kuong K, Sophonneary P, et al. The High Prevalence of Anemia in Cambodian Children and Women Cannot Be Satisfactorily Explained by Nutritional Deficiencies or Hemoglobin Disorders. *Nutrients* 2016;8:348.
- Witkowska AM, Borawska MH. Soluble intercelular adhesi3n molecule-1 (sICAM-1): an overview. *Eur Cytokine Netw* 2004;15:91-8.
- Witth3ft CM, Arkb3ge K, Johansson M, Lundin E, Berglund G, Zhang JX, et al. Folate absorption from folate-fortified and processed foods using a human ileostomy model. *Br J Nutr* 2006;95:181-7.
- Woessner JF, Nagase H. *Matrix Metalloproteinases and TIMPs*. New York: Oxford Univ Press; 2000.

- Wongjaikam S, Kumfu S, Khamseekaew J, Sripetchwandee J, Srichairatanakool S, Fucharoen S, et al. Combined Iron Chelator and Antioxidant Exerted Greater Efficacy on Cardioprotection Than Monotherapy in Iron-Overloaded Rats. *PLoS One* 2016;11:e0159414.
- Wu KC, Gerstenblith G. Update on Newer Antihypertensive Medicines and Interventions. *J Cardiovasc Pharm T* 2010;15:257–67.
- Wunderlich AP, Cario H, Juchems MS, Beer M, Schmidt SA. Noninvasive MRI-Based Liver Iron Quantification: Methodic Approaches, Practical Applicability and Significance. *Rofo-Fortschr Rontg* 2016;188:1031-6.
- Xiong Y, Miyamoto N, Shibata K, Valasek MA, Motoike T, Kedzierski RM, et al. Short-chain fatty acids stimulate leptin production in adipocytes through the G protein-coupled receptor GPR41. *P Natl Acad Sci USA* 2004;101:1045-50.
- Yamamoto N, Maeno M, Takano T. Purification and characterization of an antihypertensive peptide from a yogurt-like product fermented by *Lactobacillus helveticus* CPN4. *J Dairy Sci* 1999;82:1388–93.
- Yan LF, Wei YN, Nan HY, Yin Q, Qin Y, Zhao X, et al. Proliferative phenotype of pulmonary microvascular endothelial cells plays a critical role in the overexpression of CTGF in the bleomycin injured rat. *Exp Toxicol Pathol* 2014;66:61–71.
- Yanoff LB, Menzie CM, Denking B, Sebring NG, McHugh T, Remaley AT, et al. Inflammation and iron deficiency in the hypoferremia of obesity. *Int J Obes (Lond)* 2007;31:1412-9.
- Zalewska B, Kaevska M, Slana I. Sequence Analysis of Changes in Microbial Composition in Different Milk Products During Fermentation and Storage. *Curr Microbiol* 2017;1-4. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1366-z>.
- Žan M, Stibilj V, Rogelj I. Milk fatty acid composition of goats grazing on alpine pasture. *Small Ruminant Res* 2006;64:45-52.
- Zervas G, Tsiplakou E. Goat Milk. In: Park YW, Haenlein GFW, editors. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*. Oxford: John Wiley & Sons; 2013. p. 498–518.

