

Efecto de la suplementación con diferentes fuentes de hierro durante la recuperación de ratas anémicas

Yenela García-Hernández, Raúl González-Hernández, Águeda García-Pérez*, Sergio C. Ángeles-Campos, Agustín Carmona-Castro***, René Cárdenas-Vázquez*****

Laboratorio de Reconstituyentes, Centro Nacional de Biopreparados, Carretera Beltrán, kilómetro 1 ½, Bejucal, Mayabeque. Cuba. Teléfono 047-682201, extensión 2104. yenela@biocen.cu. *Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito exterior, Ciudad Universitaria, México DF, México. **Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Circuito exterior, Ciudad Universitaria, México DF, México. ***Laboratorio de Biología Animal experimental, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito exterior, Ciudad Universitaria, México DF, México.

Recibido: 21 de enero de 2013

Aceptado: 18 de abril de 2013

Palabras clave: anemia, hierro, ratas, Trofin, sulfato ferroso.

Key words: anemia, iron, rats, Trofin, ferrous sulphate.

RESUMEN: En la naturaleza el hierro (Fe) se encuentra en dos formas químicas diferentes, la iónica y la hemínica cuya fuente fundamental es la hemoglobina de la sangre. Cuba ha desarrollado una línea de antianémicos a partir de sangre bovina que incluye productos como el Trofin[®], el NeoTrofin[®] y el NeoTrofinC[®], los cuales han demostrado una eficacia superior a los preparados de Fe iónico. Existen evidencias experimentales del incremento de la biodisponibilidad mineral cuando se combinan ambas formas químicas del Fe. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antianémico y la biodisponibilidad del Fe durante la recuperación de ratas anémicas suplementadas con mezclas de Fe hemínico e iónico. Ratas hembras Sprague Dawley recién destetadas fueron suplementadas durante seis semanas con una dieta purificada de bajo contenido de Fe para obtener anemia. Los animales anémicos fueron distribuidos en grupos de a siete para recibir suplementación durante 14 d con FeSO₄ o mezclas de la materia prima de Trofin en su forma deshidratada con FeSO₄ en dos proporciones diferentes. Se midió la concentración de hemoglobina y el *status* de Fe en el suero. A partir del incremento del peso corporal y la cantidad de alimento consumido, se calculó la eficiencia de regeneración de hemoglobina como indicador de biodisponibilidad mineral. Se concluyó que la suplementación con mezclas de Trofin y FeSO₄ tuvo un efecto antianémico y una biodisponibilidad mineral superior al FeSO₄.

ABSTRACT: Iron (Fe) can be found as two different chemical forms in nature, the ionic form and the heme form, whose main source is blood hemoglobin. Cuba has developed a line of antianemic products from bovine blood such as Trofin[®], NeoTrofin[®] and NeoTrofinC[®]. These products have demonstrated a higher efficacy than those ones based on ionic Fe. There are experimental evidences of an increase in mineral bioavailability when both chemical forms of Fe are combined. The purpose of this work was to evaluate the antianemic effect and bioavailability of Fe during recovery of anemic rats, supplied with mixtures of heme and ionic iron. Just weaned Sprague-Dawley female rats were supplied for six weeks with a purified diet having low iron content just to make them anemic. The anemic animals were separated in groups of seven rats, each one to receive a supplementation for 14 d with FeSO₄ or different mixtures of dry Trofin and FeSO₄ in two different ratios. Hemoglobin concentration and Fe *status* on serum were measured. Hemoglobin regeneration efficiency was calculated from body weight increase and eaten food

amount as indicator of mineral bioavailability. It was concluded that supplementation with mixtures of Trofin and FeSO₄ had a better antianemic effect and mineral bioavailability than FeSO₄ alone.

INTRODUCCIÓN

La anemia de origen nutricional es el problema de salud pública más extendido en el mundo y está asociada al incremento del riesgo de morbilidad y mortalidad, especialmente, en las embarazadas y los niños pequeños. La deficiencia de hierro (Fe) es considerada el factor de mayor influencia en la extensión de la prevalencia de la anemia.¹ En Cuba, la deficiencia de este mineral es la carencia específica de micronutrientes más extendida y constituye la principal causa de anemia en mujeres en edad fértil, embarazadas, lactantes y niñas y niños hasta cinco años, en especial, los menores de 24 meses.² La elevada frecuencia de anemia en el país la ha convertido en un importante problema de salud pública³ y combatirla ha sido una prioridad para el gobierno cubano.²

El Fe se encuentra en la naturaleza en dos formas químicas, la forma hemínica cuya fuente es la hemoglobina (Hb) y la mioglobina de la sangre y la forma no hemínica o iónica que está presente fundamentalmente en alimentos de origen vegetal, el huevo y que además, se puede obtener por síntesis química en forma de sales.⁴ El Fe de origen hemínico posee mayor biodisponibilidad que el Fe no hemínico.⁵ Los preparados de Fe iónico constituyen el tratamiento más utilizado para la prevención y el tratamiento de la anemia ferropénica. Sin embargo, la efectividad de estos tratamientos está muy comprometida con la baja absorción, el incremento de las reacciones adversas (hasta en un 56 % de los pacientes) así como con la interrupción del tratamiento que ocurre en hasta un 20 % de los pacientes.⁶ La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda utilizar en programas de fortificación con Fe en primer lugar el sulfato ferroso, seguido por el fumarato ferroso y el hierro elemental.⁷ La utilización de preparados de Fe hemínico ha sido mucho menos utilizada por diferentes razones, entre ellas, el rechazo del uso de sangre proveniente de fuentes animales por cuestiones religiosas, éticas o regulatorias, a lo cual se suma la dificultad para su recolección en condiciones estériles y la necesidad de contar con una determinada tecnología para su procesamiento durante la obtención de preparados con fines farmacéuticos. El Centro Nacional de Biopreparados (BIOCEN, Cuba) ha desarrollado una línea de antianémicos de origen natural, obtenidos a partir de sangre bovina, miel de abejas, extracto acuoso abomasal y propóleos.⁸ Este trabajo ha permitido la obtención del producto Trofin[®] en la forma farmacéutica de suspensión oral, junto con el NeoTrofin[®] y el NeoTrofinC[®], estos disponibles en tabletas. Tales productos han demostrado una eficacia superior al 90 % y no se han reportado reacciones adversas gastrointestinales en los diferentes grupos poblacionales evaluados.⁹ Se han realizado algunos estudios nutricionales que han demostrado las ventajas de combinar ambas formas químicas del Fe tanto en modelos animales como en humanos. Sin embargo, estos son escasos y fueron realizados mayoritariamente en la década del 80 y del 90 del pasado siglo.⁵ La suplementación de ratas anémicas y humanos no anémicos con mezclas de sales de Fe y Hb bovina deshidratada ha mostrado una biodisponibilidad mineral mayor que cuando se suplementa con la sal de Fe solamente.^{10,11} La optimización de la utilización de las fuentes de Fe existentes en la naturaleza para solucionar el problema que ocasiona la anemia es una preocupación constante de la comunidad científica internacional. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antianémico y la biodisponibilidad del Fe durante la recuperación de ratas anémicas suplementadas con mezclas de Fe hemínico aportado por la materia prima de Trofin[®] en su forma deshidratada y Fe iónico aportado por el FeSO₄ en dos proporciones diferentes.

PARTE EXPERIMENTAL

Desarrollo de la anemia en ratas

Se utilizó un total de 28 ratas hembras recién destetadas Sprague Dawley con un peso inicial de 35 a 45 g. Se escogió el sexo femenino a partir de los trabajos de Hernández *et al.*, 2006 que

utilizaron ambos sexos en el mismo grupo y no observaron diferencias en la respuesta de los animales anémicos a las diferentes fuentes de suplementación.¹² Los animales fueron suministrados por la colonia del bioterio de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de México (UNAM). Se alojaron durante seis semanas en cajas de acero inoxidable con piso de rejillas y condiciones convencionales, en las que se mantuvo el control de la temperatura y la humedad relativa y ciclos alternantes de 12 h luz/12 h oscuridad. Durante este período, 21 animales recibieron una dieta de caseína con bajo contenido de Fe con el objetivo de desarrollar anemia y los siete restantes recibieron una dieta normal en Fe. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética del bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Tanto el alimento como el agua desionizada fue suministrada *ad libitum*.

La dieta utilizada tuvo como referencia la formulación propuesta por el Instituto Americano de Nutrición en 1976 (AIN-76A),¹³ pero se incluyeron dos modificaciones importantes por cada kilogramo de dieta. Se utilizaron 125 g de caseína en lugar de 200 g y la mezcla de vitaminas se incrementó de 10 a 15 g. La mezcla de vitaminas y minerales se preparó a partir de los ingredientes según las recomendaciones de la AIN-93G, excepto que en el caso de la dieta normal, el Fe se administró como $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en lugar de citrato férrico, de manera que por cada kilogramo de dieta la mezcla mineral aportara 40 mg Fe.¹⁴ El resto de la dieta contenía 500 g de sacarosa y 150 g de almidón de maíz como fuente de carbohidratos, 60 g de aceite de maíz como fuente de grasa, 50 g de celulosa como fibra dietética, 3 g de cloruro de colina y 2 g de metionina como fuente de aminoácidos que se encuentran deficientes en la caseína. Se adicionaron 55 g de agua desionizada por cada kilogramo para favorecer la palatibilidad de las dietas.

El contenido de Fe en las dietas fue determinado por Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA) en un equipo Analyst 100 (Perkin Elmer, Alemania) a partir de la mineralización de 1 g de muestra seca.¹⁵ Se determinó que en la dieta deficiente el Fe fue de 1,25 mg/kg y de 42,54 mg/kg para la dieta normal.

Recuperación de la anemia y evaluación de la biodisponibilidad del Fe

Se determinó el contenido de Fe en 1 g de muestra seca de la materia prima de Trofin® deshidratado (BioCen, Cuba) por EAA, y se obtuvo una concentración de Fe de 951,5 mg/kg. Las ratas anémicas fueron distribuidas en tres grupos de siete animales cada uno, de manera que no existieran diferencias significativas para $p < 0,05$ entre la Hb inicial promedio.

Se alojaron durante 14 d individualmente en jaulas de acero inoxidable con piso de rejillas. Se utilizó en la suplementación del grupo control anémico (CA- FeSO_4 -40) la misma dieta que se le había administrado al grupo control no anémico (CNA- FeSO_4 -40), durante el período de obtención de anemia. Los otros dos grupos anémicos fueron suplementados con mezclas de 1 mg de Fe de Trofin® y 20 mg de Fe de FeSO_4 (A-Trofin® + FeSO_4 -20) o la misma cantidad de Fe Trofin® pero 10 mg de Fe de FeSO_4 (A-Trofin® + FeSO_4 -10).

Se determinó la concentración de Hb inicial y final por el método de la cianometahemoglobina¹⁶ utilizando el reactivo Hemotest (Helfa Diagnostic, Cuba), a partir de una muestra de sangre obtenida por la vena de la cola en animales previamente anestesiados en atmósfera de éter. Se midió el comportamiento del peso corporal y el consumo diario de alimento, restando la cantidad de alimento desechado que fue colectado debajo de cada jaula.

Al término del período experimental, se obtuvo el suero a partir de la sangre colectada de la aorta abdominal para medir la concentración de Fe y la capacidad total de fijación del hierro (TIBC) con el juego de reactivos comercial hierro y capacidad total de fijación del hierro (SIGMA, EUA). A partir de estas dos determinaciones se determinó el porcentaje de saturación de la transferrina por la expresión:

Saturación de la transferrina (%) = (Concentración de Fe en suero/TIBC) * 100

Se determinó la concentración de ferritina en el suero por el juego de reactivos comercial Rat ferritin ELISA (Biovendor, Alemania). La biodisponibilidad del Fe en las diferentes dietas se determinó a partir del cálculo de la eficiencia de regeneración de la hemoglobina (ERH) según la expresión:¹²

$$ERH (\%) = \frac{(\text{mg de Fe en la Hb final} - \text{mg de Fe en la Hb inicial})}{\text{mg de Fe consumidos}} \cdot 100$$

donde:

$$ERH (\%) = * 100$$

$$\text{mg de Fe en la Hb} = (\text{Peso corporal (g)} * \text{Hb (g/L)} * 6,7 * 0,335)/10\ 000$$

6,7 volumen de sangre de las ratas utilizadas en el trabajo (%).

0,335 contenido de Fe en la Hb en el volumen de sangre del 6,7 % del peso corporal.

Análisis estadístico

Se analizó el comportamiento de las variables peso corporal, concentración de Hb y cantidad de Fe en la Hb durante los 14 d de suplementación con las diferentes fuentes de Fe por una prueba t de *Student* para muestras pareadas para $p < 0,05$. Se comparó el valor promedio de los parámetros medidos o calculados en cada uno de los grupos anémicos con respecto al grupo control no anémico utilizando esa prueba para muestras no pareadas y un nivel de significación de $p < 0,05$. Para analizar las diferencias entre grupos anémicos, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía y para analizar las diferencias por pares de grupos anémicos se utilizó la prueba de Tukey para un nivel de significación de $p < 0,05$. En todos los análisis, se utilizó el paquete de programas SPSS V. 19.0, 2010.

RESULTADOS

Se obtuvo un incremento significativo del peso corporal, la concentración de Hb y la cantidad de Fe en la Hb en todos los grupos durante los 14 d de suplementación ($p < 0,001$). El peso corporal y la concentración de Hb al término del período de suplementación fue mayor en el grupo control no anémico que en cada uno de los grupos anémicos ($p < 0,001$). No se observaron diferencias entre el peso corporal alcanzado por los grupos anémicos durante el tratamiento ($p > 0,05$). La concentración de Hb al finalizar el período de suplementación fue mayor en el grupo (A-Trofin[®] + FeSO₄-20) con respecto a los grupos (CA-FeSO₄-40) ($p < 0,05$). Al analizar el incremento del peso corporal y la concentración de Hb entre el grupo (CNA-FeSO₄-40) y cada uno de los grupos anémicos se observó que ambas variables se incrementaron más en cada uno de los grupos anémicos ($p < 0,001$) y no se observaron diferencias entre los grupos anémicos ($p > 0,05$) (Tabla 1).

Tabla 1. Variación del peso corporal y de la concentración de Hb en ratas anémicas y normales tratadas durante 14 d con diferentes fuentes del mineral

Grupos de Tratamiento (n = 7)	Peso corporal (g)			Hb (g · L ⁻¹)		
	Inicial (T = 43 d)	Final (T = 57 d)	Incremento 14 d	Inicial (T = 43 d)	Final (T = 57 d)	Incremento 14 d
CNA- FeSO ₄ -40	138,85 ± 4,30	176,86 ± 5,52	38,00 ± 7,70	129,43 ± 5,74	143,00 ± 5,74	13,57 ± 4,93
CA- FeSO ₄ -40	127,57 ± 5,86 ^{*a}	163,33 ± 4,97 ^{*a}	34,57 ± 9,33 ^a	73,33 ± 5,10 ^{*a}	125,63 ± 5,39 ^{*a}	52,30 ± 9,26 ^{*a}
A-Trofin [®]	129,29 ±	166,86 ±	37,57 ±	76,71 ±	128,7 ±	51,99 ±

+ FeSO ₄ -10	4,61 ^{*a}	5,52 ^{*a}	3,10 ^a	5,26 ^{*a}	4,74 ^{*ab}	6,63 ^{*a}
A-Trofin [®]	128,29 ±	166,71 ±	38,43 ±	73,33 ±	133,14 ±	59,81 ±
+ FeSO ₄ -20	4,57 ^{*a}	4,50 ^{*a}	7,30 ^a	4,21 ^{*a}	4,18 ^{*b}	7,34 ^{*a}

Valores de Media ± DE por grupos. * Diferencias significativas de los grupos anémicos respecto al grupo control sin anemia (CNA- FeSO₄-40) (p < 0,05, prueba t de Student's). Para analizar las diferencias entre los grupos anémicos, se utilizó un ANOVA de una sola vía (p < 0,05). Se utilizó una prueba *Post Hoc* para las diferencias entre pares de grupos anémicos (Prueba de Tukey, p < 0,05). Medias con letras iguales en la misma columna no difieren significativamente.

El incremento del contenido de Fe en la Hb fue mayor en cada uno de los grupos anémicos con respecto al grupo (CA-FeSO₄-40) (p < 0,001). La cantidad de mineral ingerido fue menor en los grupos (A-Trofin[®] + FeSO₄-20) y (A-Trofin[®] + FeSO₄-10) en relación con los grupos (CNA-FeSO₄-40) y (CA-FeSO₄-40). La ERH en los grupos (A-Trofin[®] + FeSO₄-20) y (A-Trofin[®] + FeSO₄-10) fue mayor que en el grupo (A-FeSO₄-40) (p < 0,001). Al comparar la ERH para los grupos (A-Trofin[®] + FeSO₄-20) y (A-Trofin[®] + FeSO₄-10) fue mayor para el segundo (p < 0,001) (Tabla 2).

Tabla 2. Variación de la biodisponibilidad del Fe como ERH en ratas anémicas y normales tratadas durante 14 d con diferentes fuentes del mineral

Grupos de Tratamiento (n = 7)	Incremento del Fe en la Hb (mg)	Cantidad de alimento ingerido (g)	de Fe total ingerido (mg)	ERH (%)
CNA-FeSO ₄ -40	1,64 ± 0,34	143,20 ± 9,05	6,22 ± 0,23	26,32 ± 4,77
CA-FeSO ₄ -40	2,20 ± 0,20 ^{*a}	141,64 ± 3,56 ^a	6,03 ± 0,15 ^a	42,27 ± 5,45 ^{*a}
A-Trofin [®] + FeSO ₄ -10	2,60 ± 0,19 ^{*a}	141,32 ± 11,41 ^a	1,76 ± 0,10 ^{*c}	150,84 ± 13,28 ^{*c}
A-Trofin [®] + FeSO ₄ -20	2,87 ± 0,36 ^{*a}	142,92 ± 6,03 ^a	3,18 ± 0,13 ^{*b}	90,27 ± 11,52 ^{*b}

Incremento del Fe en la Hb: Diferencia entre los mg de Fe en la Hb al término del periodo experimental, ERH: Eficiencia de Regeneración de la Hb. Valores de Media ± DE por grupos. * Diferencias significativas de los grupos anémicos respecto al grupo control sin anemia (CNA- FeSO₄-40) (p < 0,05, Test T de Student's). Para analizar las diferencias entre los grupos anémicos se utilizó un ANOVA de una sola vía (p < 0,05). Se utilizó un test *Post Hoc* para las diferencias entre pares de grupos anémicos (Test de Tukey, p < 0,05). Medias con letras iguales en la misma columna no difieren.

Al analizar el efecto de la anemia, se prueba que en el grupo (A-Trofin[®] + FeSO₄-10) el Fe en suero fue menor que en el grupo (CNA-FeSO₄-40) (p < 0,01). El TIBC en los grupos (A-Trofin[®] + FeSO₄-20) y (A-Trofin[®] + FeSO₄-10) fue menor con respecto al grupo (CNA-FeSO₄-40) (p < 0,05).

El porcentaje de saturación de la transferrina para los tres grupos anémicos fue mayor al grupo (CNA-FeSO₄-40) (p < 0,05). En el grupo (CA-FeSO₄-40) y (A-Trofin[®] + FeSO₄-10) la ferritina sérica fue menor que en el grupo (CNA-FeSO₄-40) (p < 0,01 y 0,001 respectivamente).

Al comparar los tres grupos anémicos se obtuvieron diferencias para la ferritina sérica entre los grupos (A-Trofin[®] + FeSO₄-10) y (A-Trofin[®] + FeSO₄-20) (p < 0,01), siendo mayor en el segundo (Tabla 3).

Tabla 3. Variación del *status* de Fe en el suero a partir de diferentes indicadores en ratas anémicas y normales tratadas durante 14 d con diferentes fuentes del mineral

Grupos de Tratamiento (n = 7)	Contenido de Fe en suero ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	TIBC ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Saturación de la transferrina (%)	Ferritina ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
CNA-FeSO ₄ -40	2014,86 ± 149,83	5945,25 ± 773,54	30,48 ± 2,60	85,41 ± 7,13
CA-FeSO ₄ -40	1835,86 ± 261,92 ^a	5400,64 ± 735,37 ^a	34,05 ± 2,71 ^a	72,55 ± 7,10 ^a
A-Trofin [®] +FeSO ₄ -10	1721,45 ± 34,22 ^a	5062,06 ± 527,26 ^a	34,15 ± 2,54 ^a	64,27 ± 7,65 ^{ab}
A-Trofin [®] +FeSO ₄ -20	1907,50 ± 134,57 ^a	5370,50 ± 685,29 ^a	37,11 ± 2,31 ^a	79,91 ± 7,77 ^{ac}

TIBC: Total Iron Binding Capacity. Valores de Media ± DE por grupos. * Diferencias significativas de los grupos anémicos respecto al grupo control sin anemia (CNA- FeSO₄-40) ($p < 0,05$, Test T de *Student's*). Para analizar las diferencias entre los grupos anémicos se utilizó un ANOVA de una sola vía ($p < 0,05$). Se utilizó un test *Post Hoc* para las diferencias entre pares de grupos anémicos (Test de Tukey, $p < 0,05$). Medias con letras iguales en la misma columna no difieren.

DISCUSIÓN

La absorción de Fe ocurre en el intestino delgado, mediada por dos receptores diferentes, DMT1 para la absorción del Fe iónico y HCP1 para el Fe hemínico. Además, el Fe hemínico se puede absorber por endocitosis.^{1,16} La anemia estimula los mecanismos de absorción del mineral a nivel intestinal, la biodisponibilidad del Fe ingerido y la utilización de este en los tejidos donde tiene lugar la síntesis de los eritrocitos.¹⁷ Las diferencias entre los grupos anémicos y el grupo control no anémico en cuanto al comportamiento del peso corporal, la concentración de Hb, el *status* del Fe en el suero y la biodisponibilidad del Fe medida como ERH evidencian el efecto que tuvo la deficiencia severa del mineral creada durante el período de obtención de anemia. Estas diferencias entre los animales anémicos y los animales controles sin anemia se comportaron de manera similar a los obtenidos por otros autores.¹⁸⁻¹⁹

Los requerimientos de la suplementación con Fe para las dietas de ratas recién destetadas y adultas son de 35 mg/kg.¹³ El aporte basal de los diferentes componentes de la dieta incrementan la cantidad total de Fe en la dieta al suplementar con sales ferrosas hasta valores promedio de 45 mg/kg.¹¹ Los resultados obtenidos en este trabajo en relación con el contenido de Fe en la dieta deficiente (1,25 mg/kg) fue inferior al reportado por otros trabajos de 5 mg/kg.¹⁸ Esto se puede explicar porque en ese trabajo se utilizó como referencia la dieta AIN-93G que incluye una cantidad de proteína aportada por la caseína al 20 %, que fue mayor a la cantidad de proteínas que se utilizó en este estudio.¹⁸ Al comparar la concentración inicial del contenido de Hb en los animales anémicos, con respecto a los reportados por otros autores ($78 \pm 2,6$) g · L⁻¹ y de ($72 \pm 2,0$) g · L⁻¹,¹⁸⁻¹⁹ se puede decir que los resultados obtenidos en este trabajo son aceptables para este indicador. La disminución del contenido de proteínas en la dieta utilizada en este estudio tuvo el objetivo de obtener anemia en menor tiempo en relación con los obtenidos por la mayoría de los autores de 40 d.^{10,18-19} Sin embargo, este objetivo no se cumplió, ya que los animales alcanzaron el valor de Hb esperado en seis semanas (42 d). El análisis conjunto de estos resultados permite concluir que las diferencias en la composición de la dieta y la línea de ratas utilizadas por estos autores que fue Wistar no afectaron la obtención del modelo de anemia en este trabajo.

La mezcla de ambas formas químicas del Fe que fue utilizada tuvo como referencia trabajos publicados anteriormente. En estos estudios, la dieta fue suplementada hasta completar los requerimientos de Fe de la rata con una mezcla de un concentrado de Hb bovina y citrato férrico en una proporción de (Fe no hemo/Fe hemo)/kg de dieta de (50/50) y (80/20). Estos trabajos reportan que la ERH como medida de biodisponibilidad del Fe en las ratas anémicas fue mayor cuando se utilizó la proporción de Fe (80/20), ya que se obtuvo una ERH de 77,5 y 66,8 %, respectivamente.^{10,20} La biodisponibilidad del Fe hemínico es 20 a 35 %, mientras que la del Fe iónico es 1 a 15 %.⁵ Por otra parte, los propóleos y el pólen de las abejas estimulan la ERH en situación de anemia ferropénica.²¹ La absorción del Fe hemínico de la Hb es mayor cuando la molécula es previamente hidrolisada con pepsina.^{16,22} La materia prima de Trofin[®] contiene mayoritariamente Fe de gran biodisponibilidad y proteínas, además de componentes de la miel y de propóleos,⁸⁻⁹ que pueden favorecer la biodisponibilidad del Fe. Además, durante la obtención del preparado previo al proceso de deshidratación tiene lugar una hidrólisis parcial de las proteínas contenidas en la sangre bovina, entre las que se encuentra la Hb.⁹ El análisis conjunto de estos antecedentes permitió suponer que la materia prima de Trofin[®] tendría una biodisponibilidad del Fe superior a la que se habían obtenido en otros estudios con derivados de Hb bovina,^{10,20-22} y que era posible utilizarla como fuente de suplementación combinada con la sal ferrosa con una cantidad de Fe inferior a los requerimientos nutricionales de la especie. Es por ello que las combinaciones evaluadas tuvieron un contenido total de Fe 31,43 % y 60 %, considerando como 100 % los requerimientos de la especie.¹³ En estas combinaciones la proporción de (Fe hemo/Fe no hemo)/kg de dieta fue de (92/8) y (96/4) respectivamente.

El resultado de que la Hb final fue mayor en el grupo (A-Trofin + FeSO₄-20) con respecto al grupo (CA-FeSO₄-40) ($p < 0,05$) y que el incremento durante los 14 d también fue mayor, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, demuestra que la combinación con la proporción (96/4)/kg de dieta tuvo mayor eficacia antianémica que la combinación en la proporción (92/8)/kg. Por otra parte, la ferritina sérica, indicador del estado de las reservas de Fe, logró recuperarse en este grupo a los niveles normales al no obtenerse diferencias en relación con el grupo control no anémico. Aunque la ERH fue mayor para el grupo (A-Trofin[®] + FeSO₄-10) (Tabla 2), el análisis conjunto de la biodisponibilidad y el efecto antianémico indica que la combinación (96/4)/kg tiene mayores potencialidades para continuar en investigación, con vistas a proponer nuevas formulaciones farmacéuticas para la prevención y el tratamiento de la anemia ferropénica en humanos. Las ventajas de esta combinación se complementa con los resultados obtenidos al evaluar en ratas anémicas el efecto gastrointestinal de la suplementación con la misma proporción de Trofin[®] y FeSO₄ de (96/4)/kg. En ese trabajo, se suplementó la dieta de caseína con una cantidad de Fe proporcional a las dosis terapéuticas promedio para embarazadas con anemia. Se comprobó que la suplementación con la combinación de Trofin[®] y FeSO₄ no ocasionó daño a nivel de la mucosa del estómago.²³ Estos resultados sientan las bases para el desarrollo de terapias con Fe con menor cantidad del mineral, lo que permitiría disminuir los efectos adversos gastrointestinales de las terapias que más se utilizan actualmente a partir de comprimidos de Fe de origen iónico.^{1,4,6}

CONCLUSIONES

El análisis conjunto de los resultados obtenidos al comparar ambas combinaciones de Fe hemínico aportado por Trofin[®] y no hemínico aportado por FeSO₄ permite concluir que la proporción (96/4)/kg de dieta y una cantidad total del Fe del 60 % de los requerimientos de la especie fue más eficiente, ya que demostró una mejor recuperación de los indicadores hematológicos y una biodisponibilidad mineral mayor al grupo que recibió FeSO₄.

Los resultados de este trabajo constituyen las primeras evidencias experimentales en modelos animales de la posibilidad de la optimización de las fuentes de Fe disponibles en la naturaleza como nueva alternativa para combatir la deficiencia de Fe en el hombre.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM por las facilidades brindadas para el desarrollo del trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nadadur SS, Srirama K, Mudipalli A. Iron transport and homeostasis mechanisms: Their role in health and diseases. *I J Med Res.* 2008; 128:533-544.
2. Selva LS, Ochoa AA. Acciones para la prevención y control de la anemia por deficiencia de hierro en niños hasta cinco años. *Rev Cub Sal Pub.* 2011; 37(3):200-206.
3. Padrón M. Plan integral para la prevención y control de la anemia por deficiencia de hierro en Cuba. 2009. [Consultado 23 de julio de 2012]. Disponible en: <http://www.inha.sld.cu/Documentos/plan%20anemia.doc>
4. Geissler C and Singh M. Iron, Meat and Health. *Nutrients.* 2011; 3:283-316.
5. European Food Safety Authority (EFSA), Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Scientific Opinion on the safety of heme iron (blood peptonates) for the proposed uses as a source of iron added for nutritional purposes to foods for the general population, including food supplements. *EFSA.* 2010; 8 (4):1-31.
6. Khalafallan AA, Dennis AE. Iron deficiency Anaemia in pregnancy and Postpartum: Pathophysiology and effect of oral versus intravenous iron therapy. *J Pregnancy.* 2012; [Consultada 1 de febrero de 2013]. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/jp/2012/630519/>
7. Harrington M, Hotz C, Zeder C, Polvo GO, Villalpando S, Zimmermann MB, *et al.* A comparison of the bioavailability of ferrous fumarate and ferrous sulfate in non-anemic Mexican women and children consuming a sweetened maize and milk drink. *Eur J Clin Nutr.* 2011; 65:20-25.
8. González R, Aznar E, González M. Composición físico-química del reconstituyente y antianémico Trofín®. *Rev Mex Cien Farm.* 2004; 36(2):2-5.
9. González R, Aznar E, González M, Hernández JC, Varela A, Silva P, *et al.* Nueva línea de productos para prevenir y tratar la anemia partiendo del hierro hemínico. *Informacéutico.* 2008; 15:43-48.
10. Lisbona F, Reyes AM, López-Aliaga I, Barrionuevo M, Alférez MJM, Campos MS. The importance of the proportion of heme/nonheme iron in the diet to minimize the interference with calcium, phosphorus, and magnesium metabolism on recovery from nutritional ferropenic anemia. *J Agric Food Chem.* 1999; 47:2026-2032.
11. Pizarro F, Olivares M, Hertrampf E, Mazariegos DI, Arredondo M, Letelier A, *et al.* Iron bis-glycine chelate competes for the nonheme-iron absorption pathway. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 577-581.
12. Hernández M, Sousa V, Villalpando S, Moreno A, Montalvo I, López-Alarcón M. Cooking and Fe fortification have different effects on iron bioavailability of bread and tortillas. *J Nutr.* 2006; 25(1):1-6.
13. Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. Nutrient Requirements of laboratory rat. En: *Nutrient Requirements of laboratory animals.* Estados Unidos: Academy Press; 1995:p.11-79.
14. Association of Official Analytical Chemist, *Methods* 13th ed. Washington DC: AOAC, 1980:212.

15. Drabkin DL, Austin JH. Spectrophotometric studies: a technique for the analysis of undiluted blood and concentrated hemoglobin solutions. *J Biol Chem.* 1935; 112:105-115.
16. West AR, Oates PS. Mechanisms of heme iron absorption: Current questions and controversies. *W J Gastroent.* 2008; 14(26):4101-10.
17. Kraemer K, Zimmermann MB (eds). *Nutritional anemia.* Switzerland: Sight and Life, Basel; 2007: p.60-66.
18. Alférez MJ, Díaz-Castro J, López-Aliaga I, Pérez-Sánchez LJ, Campos MS. Development of nutritional Iron deficiency in growing male rat: haematological parameters, iron bioavailability and oxidative defense. *Br J Nutr.* 2011; 105:517-525.
19. Díaz-Castro J, Alférez MJM, López-Aliaga I, Nestares T, Campos MS. Effect of calcium-supplemented goat or cow milk on zinc status in rats with nutritional ferropenic anaemia. *Int Dairy J.* 2009;19:116-121.
20. Campos MS, Pallarés DI, Moratalla A, López-Aliaga I, Gómez-Ayala AE, Hartiti S, Alférez MJM, Barrionuevo DM, Lisbona F. Bioavailability of Fe, Ca, P and Mg in Fe deficient rats treated with different dietary iron. *Nutr Res.* 1996; 16(4):683-696.
21. Haro A, López-Aliaga I, Lisbona F, Mercedes Barrionuevo, Alférez MJM., Campos MS. Beneficial Effect of Pollen and/or Propolis on the Metabolism of Iron, Calcium, Phosphorus, and magnesium in Rats with Nutritional Ferropenic Anemia. *J Agric Food Chem.* 2000; 48:5715-5722.
22. Vaghefi N, Nedjaoum F, Guillochon D, Bureau, F, Arhan P, Bougle D. Influence of the Extent of Hemoglobin Hydrolysis on the Digestive Absorption of Heme Iron. An *In Vitro* Study. *J Agric Food Chem.* 2002; 50:4969-4973.
23. García Y, González R, Espinosa G, Carmona A, Cárdenas R. Efecto antianémico y daño gastrointestinal en ratas suplementadas con diferentes formas de hierro. *Rev Cub Alim Nutr.* 2011; 21(1):185-195.