

**Estatus férrico, cambios
ponderales y composición
corporal durante la recuperación
de la anemia en un modelo
experimental: efecto de la leche
fermentada de cabra o vaca**

**Iron status, weight changes and
body composition during anemia
recovery in an experimental
model: the effect of fermented
goat or cow milk**

OR 2817

Estatus férrico, cambios ponderales y composición corporal durante la recuperación de la anemia en un modelo experimental: efecto de la leche fermentada de cabra o vaca

Iron status, weight changes and body composition during anemia recovery in an experimental model: the effect of fermented goat or cow milk

María Robles Rebollo, Inmaculada López-Aliaga, Javier Díaz-Castro, Jorge Moreno-Fernández y María José Muñoz Alférez

Departamento de Fisiología. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos José Mataix. Universidad de Granada. Granada

Recepción: 26/07/2019

Aceptación: 23/09/2019

Correspondencia: María Inmaculada López Aliaga. Departamento de Fisiología e Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix". Centro de Investigación Biomédica. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud. Avda. del Conocimiento, s/n. 18100 Armilla, Granada
e-mail: milopez@ugr.es

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Andalucía en el marco del Proyecto de Excelencia P11-AGR-7648. M. Rebollo y J. Moreno Fernández desean mostrar su agradecimiento al Programa de Doctorado en "Nutrición y Ciencias de los Alimentos" de la Universidad de Granada.

RESUMEN

Introducción: la anemia constituye un problema de salud pública a nivel mundial y, aunque la dieta sigue siendo el principal determinante del estatus férrico del organismo, la adiposidad y la composición corporal también podrían ser determinantes adicionales del estado del hierro. La dieta juega un papel clave en la composición corporal, además de afectar al balance energético; sin embargo, todavía hay información limitada sobre la influencia de determinados alimentos y nutrientes específicos, como los productos lácteos fermentados.

Objetivo: determinar la relación entre estatus férrico, cambios ponderales, ingesta, índice hepatosomático y composición corporal durante la recuperación de la anemia ferropénica con dietas basadas en leche fermentada de cabra o vaca.

Material y métodos: sesenta ratas macho Wistar albinas se han distribuido en dos grupos experimentales (control y anémico) y se han alimentado durante 40 días con dieta AIN-93G con contenido férrico normal (45 mg/kg de dieta) o bajo (5 mg/kg de dieta). Posteriormente, ambos grupos experimentales se alimentaron durante 30 días con dietas basadas en leche de cabra o vaca fermentada. Se han determinado los parámetros hematológicos y bioquímicos relacionados con el estatus de hierro, así como los cambios ponderales y la ingesta de alimento, la relación hepatosomática y la composición corporal.

Resultados: el índice hepatosomático fue mayor en el grupo anémico ($p < 0,05$). En ambos grupos de animales alimentados con dieta de leche fermentada de cabra, el índice hepatosomático fue mayor ($p < 0,001$) debido a un menor peso corporal ($p < 0,01$) y un mayor peso del hígado ($p < 0,001$). La ingesta de alimento, la ganancia de peso y la grasa corporal fueron menores en el grupo anémico ($p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, respectivamente), mientras que la masa magra, el agua libre y el agua total fueron mayores (masa magra: $p < 0,01$; agua libre y total: $p < 0,001$). En ambos grupos de animales alimentados con dieta de leche de cabra

fermentada, el peso y la grasa corporal fueron menores ($p < 0,001$), mientras que los porcentajes de masa magra, agua libre y agua total fueron mayores (masa magra: $p < 0,01$; agua libre y total: $p < 0,001$).

Conclusión: la ferropénica disminuyó la ganancia de peso, la masa magra y la grasa corporal, indicando menores almacenes de energía. La dieta basada en leche de cabra fermentada recupera más eficientemente el nivel de hierro durante la recuperación de la ferropénica, disminuye la adiposidad y aumenta el gasto energético.

Palabras clave: Leche de cabra o vaca fermentada. Anemia ferropénica nutricional. Cambios ponderales. Índice hepatosomático. Composición corporal.

ABSTRACT

Background: anemia is a public health problem worldwide and although diet is still the main determinant of iron status in the body, recent studies suggest that adiposity and body composition could be additional determinants of iron status. Diet plays a key role in body composition, but in addition to affecting the body's energy balance, there is still limited information on the influence of specific foods and nutrients, and in this sense dairy products are an important group of foods and an important source of nutrients in the diet.

Objective: to provide detailed information on iron status, body changes, food intake, hepatosomatic index, and body composition during recovery from severe iron deficiency anemia with fermented cow or goat milk.

Material and methods: sixty male Wistar albino rats were divided into two experimental groups (control and anemic) and fed *ad libitum* an AIN-93G diet for 40 days, receiving a normal Fe diet (45 mg/kg of

diet) or a low-Fe diet (5 mg/kg of diet), respectively. After induction of anemia, both the control and anemic groups were additionally fed for 30 days either a fermented cow milk-based or fermented goat milk-based diet with normal Fe content. Hematological and iron-related biochemical parameters, weight changes, food intake, hepatosomatic index, and body composition were assessed.

Results: The hepatosomatic index was higher in the anemic group versus the control group ($p < 0.05$). In both groups fed a fermented goat milk-based diet the hepatosomatic index was higher ($p < 0.001$) due to lower body weight ($p < 0.01$) and a higher liver weight ($P < 0.001$). Food intake, weight gain, and total body fat were lower ($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, respectively), whereas lean mass and free and total water were higher (lean mass: $p < 0.01$; free and total water: $p < 0.001$) in the anemic group as compared to the control group. In both animal groups fed a fermented goat milk-based diet body weight and body fat were lower ($p < 0.001$) and the percentages of lean mass and free water and total water were higher (lean mass: $p < 0.01$; free and total water: $p < 0.001$).

Conclusion: Iron deficiency decreased weight gain, lean mass, and body fat, indicating lower energy stores. Fermented goat milk-based diet recovers more efficiently iron status, decreased adiposity, and increased energy expenditure.

Keywords: Fermented goat or cow milk. Nutritional ferropenic anemia. Body weight changes. Hepatosomatic index. Body composition.

INTRODUCCIÓN

La anemia constituye un problema de salud pública a nivel mundial. La deficiencia de hierro, en particular, se ha considerado durante mucho tiempo como una de las principales causas de anemia en la

mayoría de las poblaciones (1). Por otra parte, aunque la dieta sigue siendo el principal determinante del estatus férrico del organismo, la adiposidad y la composición corporal podrían ser también un determinante adicional del estado del hierro. Existe una relación inversa entre el estado del hierro y la composición corporal, que implica una necesidad de mayores requerimientos de hierro en los individuos con un alto índice de masa corporal. En este sentido, el exceso de grasa puede provocar respuestas inflamatorias y afectar al estatus del hierro. Uno de los mecanismos clave que explica esta relación tiene como eje central a la hepcidina, un regulador clave por el cual la inflamación causa deficiencia de hierro en los individuos con alto contenido de grasa corporal (2). La dieta juega un papel clave en la composición corporal pero, además de afectar al balance energético, la información sobre la influencia de determinados alimentos y nutrientes específicos es aún limitada y, en este sentido, los productos lácteos constituyen un importante grupo de alimentos y son una importante fuente de nutrientes en la dieta (3). Desafortunadamente, en la actualidad el consumo de productos lácteos se encuentra a veces disminuido por las preocupaciones relacionadas con el riesgo de obesidad y los trastornos metabólicos. Sin embargo, varios estudios observacionales y transversales han revelado una asociación inversa entre el consumo de productos lácteos y la composición corporal (4), aunque muchos aspectos de la fisiología de la composición corporal durante el consumo de estos productos lácteos siguen sin estar completamente claros. Incluso en algunos estudios que se centran en los cambios o el mantenimiento del peso corporal se han publicado resultados contradictorios (5).

Como se ha descrito previamente, la adiposidad podría ser un factor determinante del estatus férrico, por lo que sería interesante evaluar la relación entre el metabolismo del hierro y la composición corporal durante la recuperación de la anemia ferropénica

nutricional con dietas basadas en leche fermentada de cabra o vaca.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental

Los protocolos de manejo, cuidado y sacrificio de los animales empleados fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad de Granada de acuerdo con las directrices comunitarias de la Unión Europea (Declaración de Helsinki, Directiva UE 2010/63/EU para experimentos con animales).

Período pre-experimental (PPE)

Se han utilizado 60 ratas albinas macho de la raza Wistar (*Rattus norvegicus*) recién destetadas, que fueron divididas al azar en dos grupos experimentales (grupo de control y grupo anémico) y alimentadas *ad libitum* durante 40 días con dieta AIN-93G con contenido normal de hierro (45 mg/kg de dieta) (6) o contenido bajo de hierro (5 mg/kg de dieta), respectivamente.

Período experimental (PE)

Ambos grupos experimentales (control y anémico) se alimentaron durante 30 días con dietas basadas en leche de vaca o cabra fermentada, dado los beneficios sobre la salud que posee la fermentación láctica

Se proveyó agua bidestilada *ad libitum* mientras que la dieta se suministró con la metodología *pair-feed*, de manera que los animales ingirieran el 80% de la ingesta media de cada período al día, para evitar las diferencias debidas a la cantidad de dieta ingerida.

Al final de ambos períodos (PPE y PE) se determinó la composición corporal (grasa, masa magra, agua libre y agua total) y, posteriormente, los animales (PPE: 10 controles y 10 anémicos; PE: 20 controles y 20 anémicos) se sacrificaron previa anestesia por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (Sigma-Aldrich Co., St. Louis,

MO, EE. UU.). Después de la laparotomía media, las ratas se desangraron mediante canulación de la aorta abdominal. Se analizaron alícuotas de sangre en tubos con EDTA para determinar los parámetros hematológicos. El resto de la sangre se centrifugó (1500 x g, 4 °C, 15 min) sin anticoagulante para la obtención del suero y el posterior análisis del hierro, la capacidad total de fijación del hierro, la saturación de transferrina, la ferritina y la hepcidina. Así mismo se procedió a la extracción del hígado, que se pesó y lavó con solución salina fría (ClNa al 0,9% p/v), y posteriormente se almacenó a -20 °C para la determinación del contenido de hierro y el índice hepatosomático.

Elaboración de las leches fermentadas y dietas experimentales

Las leches de vaca o cabra fermentadas se prepararon según el método descrito previamente por Moreno Fernández y cols. (2016) (7). La composición de las dietas experimentales ensayadas durante el PPE y el PE se muestra en la tabla I.

Métodos analíticos

Las ratas se pesaron en una balanza digital al inicio y al final de los periodos PPE y PE, y la composición corporal (grasa, masa magra, agua libre y agua total) se determinó usando la resonancia magnética cuantitativa (QMR) con un sistema Echo MRI Analyzer de Echo Medical Systems (Houston, Texas, EE. UU.) según la técnica descrita por Tang y cols. (2000) (8).

Los recuentos de células sanguíneas, la concentración de hemoglobina, el hematocrito, los índices eritrocitarios y el ancho de la distribución eritrocitaria (ADE) se midieron utilizando un analizador de hematología automático Mythic 22CT (C2 Diagnostics, Grabels, Francia).

La concentración sérica de hierro y la capacidad total de fijación del hierro (TIBC) se determinaron utilizando los kits comerciales Sigma

Diagnostics Iron y TIBC (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, EE. UU.). El porcentaje de saturación de la transferrina se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Saturación de transferrina (\%)} = \frac{\text{concentración sérica de hierro } (\mu\text{g/l})}{\text{TIBC } (\mu\text{g/l})} \times 100$$

La concentración de ferritina en suero se determinó usando el kit Rat Ferritin ELISA (Biovendor GmbH, Heidelberg, Alemania).

El índice hepatosomático se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Índice hepatosomático} = \left(\frac{\text{peso del hígado}}{\text{peso corporal}} \right) \times 100$$

La concentración de hierro en el hígado y en las dietas se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (EAA) (PERKIN ELMER 1100B, Norwalk, EE. UU.) a partir de una muestra adecuada, previamente mineralizada por vía húmeda y diluida convenientemente, comparándose frente a una serie de patrones de concentración conocida.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa informático SPSS (versión 22.0, 2013, SPSS Inc., Chicago, Illinois, EE. UU.). Los datos se presentan como valor medio \pm error estándar de la media (EEM). Las diferencias entre los grupos alimentados con dietas con contenido normal de hierro y bajo de hierro durante el periodo pre-experimental (PPE) se evaluaron con la prueba de la *t* de Student. Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía para evaluar en el periodo experimental (PE) el efecto de la anemia y comparar las dos dietas experimentales basadas en leche de vaca o cabra fermentada. En caso de una prueba F significativa ($p < 0,05$), las medias individuales se evaluaron mediante comparación por pares con la prueba de comparación múltiple de Tukey (efectos principales e interacciones significativos). El nivel de significación se estableció en $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros hematológicos

Después de la ingesta de una dieta con bajo contenido en hierro durante 40 días (PPE), todos los parámetros hematológicos fueron menores en el grupo anémico con respecto al grupo de control, excepto el recuento de plaquetas y el TIBC, que fueron mayores ($p < 0,001$) (Tabla II). Estos resultados confirman que la anemia ferropénica nutricional se instauró experimentalmente en el grupo anémico.

Al final del PE todos los parámetros hematológicos se recuperaron con ambas dietas basadas en leche fermentada; sin embargo, los niveles séricos de hierro fueron menores en el grupo anémico alimentado con leche de vaca fermentada en comparación con sus controles ($p < 0,05$), lo que revela que la repleción de hierro fue más eficiente con la leche de cabra fermentada (Tabla III). La mejora de la recuperación de la anemia tras el consumo de leche de cabra se ha demostrado en trabajos anteriores de nuestro grupo de investigación (9) en los que el suministro de una dieta basada en leche de cabra a animales con ferropénica favoreció la recuperación de la anemia ferropénica en comparación con la dieta basada en leche de vaca, debido en parte a los mayores niveles de hemoglobina, hierro sérico y biodisponibilidad férrica que se obtienen gracias a la especial composición nutricional de la leche de cabra, lo que se traduce en una mayor eficacia de la regeneración de la hemoglobina, el índice que relaciona la cantidad de hierro de la dieta que se destina a la síntesis de hemoglobina. Además, esta mejor recuperación de la anemia puede explicarse por las características nutricionales beneficiosas y los componentes bioactivos de la leche de cabra (7,10), que favorecen la absorción de hierro y potencian la actividad y la expresión del transportador de hierro DMT1, mejorando el metabolismo y el almacenamiento del hierro en comparación con la leche de vaca (11).

Cambios ponderales e ingesta de alimento

Al inicio del PPE, el peso corporal de los animales corresponde al peso en el destete, por lo que no hay diferencias entre los dos grupos experimentales (control y anémico); este peso se encuentra dentro de los márgenes normales descritos en la bibliografía para esta especie (12). Al final del PPE, el peso corporal fue menor en el grupo anémico que en el grupo de control ($p < 0,001$), dando lugar a una menor ganancia de peso ($p < 0,001$), consecuencia de una menor ingesta de alimento en el grupo anémico ($p < 0,05$) (Tabla IV) y de los menores niveles de hormonas tiroideas que se encuentran en esta patología (13). Las alteraciones inducidas por la deficiencia de hierro en el control del sistema nervioso central son las responsables de la disminución de las hormonas tiroideas y de la afectación de las respuestas termorreguladoras, disminuyendo la tasa metabólica basal y la ganancia de peso (14). Además, la menor concentración de hemoglobina y el menor recuento de hematíes conducen a un menor suministro de oxígeno a las células, limitando la síntesis de ATP y el incremento de peso.

El menor peso corporal del grupo anémico también se puede explicar porque la ferropatía severa tiene un impacto significativo sobre el proceso de la remodelación ósea, disminuyendo la formación de hueso y aumentando su resorción, lo que conduce a un menor desarrollo esquelético (15).

Tras el consumo de las dietas experimentales, la ganancia de peso en el grupo anémico fue la mitad con la dieta basada en leche de cabra fermentada que con la de vaca ($p < 0,001$), a pesar de que la ingesta de alimento fue similar con ambas dietas (Tabla V).

La grasa de la leche fermentada de cabra tiene mayor contenido en MCT que la de vaca (~ 17% frente a 7%) (16), y estos ácidos grasos se absorben y metabolizan rápidamente para obtener energía (17), conduciendo a un menor depósito de grasa y peso corporal (Tabla IX).

Índice hepatosomático

Al final del PPE, el peso corporal fue menor en el grupo anémico que en el grupo de control ($p < 0,001$), mientras que el peso del hígado no presentó diferencias significativas; en consecuencia, el índice hepatosomático (peso del hígado/peso corporal) fue mayor en el grupo anémico ($p < 0,05$). El contenido de hierro en el hígado fue significativamente menor en el grupo anémico que en el grupo de control ($p < 0,001$) (Tabla VI).

El hígado es el principal órgano de almacenamiento de hierro en el organismo y desempeña un papel crucial en la homeostasis de dicho mineral. Por tanto, los niveles de hierro en el hígado pueden considerarse fiel reflejo del estatus férrico del organismo (18,19). El menor contenido de hierro hepático en el grupo anémico revela que los depósitos de este mineral se encuentran agotados y están directamente correlacionados con la restricción de hierro en la dieta, indicando que se ha alcanzado un grado de ferropdeficiencia severa inducida por el consumo de una dieta con bajo contenido en hierro (19).

En el PE, tras el consumo de las dietas basadas en leche fermentada, el contenido de hierro hepático es mayor en los animales de control que en los anémicos ($p < 0,001$) (Tabla VI), debido a la severa ferropdeficiencia inducida en las ratas durante el PPE, que depleciona los depósitos (20).

El índice hepatosomático de los animales anémicos es similar al de sus controles tras el consumo de las dietas basadas en leche fermentada, y es mayor en ambos grupos de animales alimentados con dieta basada en leche fermentada de cabra que en los alimentados con leche fermentada de vaca ($p < 0,001$), debido al menor peso corporal ($p < 0,01$) y el mayor peso del hígado ($p < 0,001$) encontrado en estos animales (Tabla VII).

Composición corporal

Los parámetros de la composición corporal mostraron diferencias entre ambos grupos experimentales durante el PPE. El peso y la grasa

corporal fueron más bajos en el grupo anémico que en el grupo de control ($p < 0,001$). Por el contrario, la masa magra, el agua libre y el agua total fueron mayores en el grupo con deficiencia de hierro ($p < 0,01$ para la masa magra y $p < 0,001$ para el agua libre y total) (Tabla VIII).

Después de la repleción de hierro con las dietas basadas en leche de cabra o vaca fermentada, los parámetros de la composición corporal no presentaron diferencias por efecto de la anemia excepto en el peso corporal, que permaneció disminuido en comparación con los controles ($p < 0,01$). El peso y la grasa corporal fueron menores en ambos grupos de animales alimentados con leche de cabra fermentada en comparación con los alimentados con leche fermentada de vaca ($p < 0,001$) y, sin embargo, los porcentajes de masa corporal magra, agua libre y agua total fueron mayores ($p < 0,01$ para la masa magra y $p < 0,001$ para agua libre y total) (Tabla IX).

Diversos estudios han confirmado el efecto positivo del consumo de productos lácteos y la ingesta de calcio sobre la composición corporal, reportando una relación inversa con la obesidad, especialmente por disminución de la grasa corporal (21, 22, 23), mostrando así hallazgos similares a los encontrados en este trabajo. El consumo de lácteos, debido a su contenido en calcio, proteínas y otros compuestos bioactivos, podría modular el balance energético del organismo y facilitar la pérdida de peso y grasa corporal.

El calcio puede aumentar la excreción fecal de ácidos grasos, grasas saturadas y ácidos biliares, minimizando los efectos del colesterol sérico y aumentando la pérdida de energía, lo que puede afectar a los marcadores de adiposidad (24) a través de la lipogénesis y la lipólisis. En este sentido, la leche de cabra, debido a su mayor contenido de vitamina D, aumenta la biodisponibilidad del calcio (25), lo que favorece el transporte saturable transcelular dependiente de energía del calcio y puede explicar la disminución de la adiposidad.

Además, la leche de cabra y sus derivados lácteos contienen menor cantidad de caseínas y mayor proporción de proteínas séricas, lo que explica la mayor utilización digestiva de la proteína de la leche de cabra con respecto a la de vaca (26,27). Murphy y cols. (2013) (28) también mostraron una relación inversa entre las proteínas lácteas y los marcadores de adiposidad, indicando que la proteína láctea podría ser el componente responsable de los efectos beneficiosos de la leche sobre la composición corporal (29). Bendtsen y cols. (2013) (30) reportaron el efecto del consumo de proteína láctea y el papel de los lácteos en la saciedad en relación con la pérdida de peso y la prevención del aumento de peso. En este sentido, la leche de cabra fermentada induce una elevación de la leptina y una reducción de la grelina, disminuyendo el apetito, aumentando la sensación de saciedad y, por consiguiente, reduciendo el peso corporal (31).

CONCLUSIONES

La ferropénica disminuye el peso corporal debido a los bajos niveles de hormonas tiroideas que genera, y altera las respuestas termorreguladoras y la síntesis de ATP, disminuyendo la tasa metabólica basal y la ganancia de peso. Los datos del presente estudio revelan que, en situación de anemia ferropénica nutricional, la leche de cabra fermentada tiene efectos positivos en relación con la composición corporal, sugiriendo un potencial papel modulador del balance energético del organismo, y facilita la pérdida de peso y grasa corporal, lo que tiene influencia sobre el metabolismo de los lípidos, incrementando el gasto de energía.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wirth JP, Woodruff BA, Engle-Stone R, Namaste SM, Temple VJ, Petry N, et al. Predictors of anemia in women of reproductive age: Biomarkers reflecting inflammation and nutritional determinants of anemia (BRINDA) project. *Am J Clin Nutr* 2017;106(1):416S-27S. DOI: 10.3945/ajcn.117.999
2. McClung JP, Karl JP. Iron deficiency and obesity: the contribution of inflammation and diminished iron absorption. *Nutr Rev* 2009;67(2):100-4. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2008.00145.x
3. Drewnowski A. The contribution of milk and milk products to micronutrient density and affordability of the U.S. diet. *J Am Coll Nutr* 2011;30(5 Suppl 1):422S-8S. DOI: 10.1080/07315724.2011.10719986
4. Mozaffarian D, Hao T, Rimm EB, Willett WC, Hu FB. Changes in diet and lifestyle and long-term weight gain in women and men. *N Engl J Med* 2011;364(25):2392-404. DOI: 10.1056/NEJMoa1014296
5. Chen M, Pan A, Malik VS, Hu FB. Effects of dairy intake on body weight and fat: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2012;96(4):735-47. DOI: 10.3945/ajcn.112.037119
6. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. 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(11):1939-51. DOI: 10.1093/jn/123.11.1939
7. 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* 2016;83(1):81-8. DOI: 10.1017/S0022029915000722

8. Tang H, Vasselli J, Wu E, Gallagher D. In vivo determination of body composition of rats using magnetic resonance imaging. *Ann N Y Acad Sci* 2000;904:32-41. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06418.x
9. Serrano Reina JA, Nestares T, Alférez MJM, Díaz-Castro J López-Aliaga I. Eficacia de regeneración de la hemoglobina en la recuperación de la anemia ferropénica nutricional con dietas elaboradas a base de leche de cabra. *Nutr Hosp* 2015;32(4):1813-9.
10. 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* 2016;83(1):81-8. DOI: 10.1017/S0022029915000722
11. 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(1):147-54. DOI: 10.3168/jds.2013-7250
12. Krinke GJ. History, strains and models. *The Laboratory Rat (Handbook of experimental animals)*. Bullock G and Bunton T (eds). Academic Press; 2000. pp. 3-16.
13. Moreno-Fernández J, Díaz-Castro J, Alférez MJM, López-Aliaga I. Iron Deficiency and neuroendocrine regulators of basal metabolism, body composition and energy expenditure in rats. *Nutrients* 2019;11:631. DOI: 10.3390/nu11030631
14. McAninch EA, Bianco AC. Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 2014;1311:77-87. DOI: 10.1111/nyas.12374
15. Díaz-Castro J, Ramírez López-Frías M, Campos MS, López-Frías M, Alférez MJ, Nestares T, et al. Severe nutritional iron-deficiency anaemia has a negative effect on some bone

- turnover biomarkers in rats. *Eur J Nutr* 2012;51:241-7. DOI: 10.1007/s00394-011-0212-5
16. Moreno-Fernández J, Díaz-Castro J, Alférez MJM, 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* 2016;83:81-8. DOI: 10.1017/S0022029915000722
 17. García-Unciti MS. Therapeutic utility of medium chain triglycerides (MCT). *Cetogenic diets in infant epilepsy. Nutr Clin* 1996;16:7-35.
 18. Ramm GA, Ruddell RG. Hepatotoxicity of iron overload: Mechanisms of iron induced hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2005;25:433-49. DOI: 10.1055/s-2005-923315
 19. Nemeth E, Ganz T. Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annu Rev Nutr* 2008;26:323-42. DOI: 10.1146/annurev.nutr.26.061505.111303
 20. Muñoz M, Villar I, García-Erce, JA. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol* 2009;15(37):4617-26. DOI: 10.3748/wjg.15.4617
 21. Pfeuffer M, Schrezenmeir J. Milk and the metabolic syndrome. *Obes Rev* 2007;8(2):109-18. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2006.00265.x
 22. Van Loan M. The role of dairy foods and dietary calcium in weight management. *J Am Coll Nutr* 2009;28(1):120S-9S. DOI: 10.1080/07315724.2009.10719805
 23. Kratz M, Baars T, Guyenet S. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur J Nutr* 2013;52(1):1-24. DOI: 10.1007/s00394-012-0418-1
 24. Lorenzen JK, Astrup A. Dairy calcium intake modifies responsiveness of fat metabolism and blood lipids to a high-fat diet. *Br J Nutr* 2011;105(12):1823-31. DOI: 10.1017/S0007114510005581

25. Díaz-Castro J, Ramírez López-Frías M, Campos MS, López-Frías M, Alférez MJ, Nestares T, et al. Goat milk during iron repletion improves bone turnover impaired by severe iron deficiency. *J Dairy Sci* 2011;94(6):2752-61. DOI: 10.3168/jds.2010-4043
26. López-Aliaga I, Alférez MJ, Barrionuevo M, Nestares T, Sanz Sampelayo MR, Campos MS. Study of nutritive utilization of protein and magnesium in rats with resection of the distal small intestine. Beneficial effect of goat milk. *J Dairy Sci* 2003;86(9):2958-66.
27. Díaz-Castro J, Pulido M, Alferez 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(1):147-54. DOI: 10.3168/jds.2013-7250
28. Murphy KJ, Crichton GE, Dyer KA, Coates AM, Pettman TL, Milte C, et al. Dairy foods and dairy protein consumption is inversely related to markers of adiposity in obese men and women. *Nutrients* 2013;5(11):4665-84. DOI: 10.3390/nu5114665
29. Pilvi TK, Korpela R, Huttunen M, Vapaatalo H, Mervaala EM. High-calcium diet with whey protein attenuates body-weight gain in high-fat-fed C57Bl/6J mice. *Br J Nutr* 2007;98(5):900-7. DOI: 10.1017/S0007114507764760
30. Bendtsen LQ, Lorenzen JK, Bendtsen NT, Rasmussen C, Astrup A. Effect of dairy proteins on appetite, energy expenditure, body weight, and composition: a review of the evidence from controlled clinical trials. *Adv Nutr* 2013;4(4):418-38. DOI: 10.3945/an.113.003723
31. Díaz-Castro J, Moreno-Fernández J, Pulido-Morán 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 Agric Food Chem* 2017;65:4057-65. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b00666

Tabla I. Composición de las dietas experimentales

Componente		Cantidad (%)
Período pre-experimental (PPE)		
Dieta AIN-93G (contenido normal o bajo en hierro) ^a		
Carbohidratos	Almidón de trigo	50,00
	Sacarosa	10,00
Lípidos	Aceite de oliva virgen	10,00
Proteína	Caseína	20,00
Fibra	Celulosa micronizada	5,00
Corrector vitamínico		1,00
Corrector mineral		3,50
Bitartrato de colina		0,25
L-Cisteína		0,30
Ter-butilhidroquinona		0,01
Período experimental (PE)		
Dieta basada en leche de vaca fermentada		
Carbohidratos	Almidón de trigo	20,10
	Lactosa de leche de vaca	29,50
	Sacarosa	10,00
Grasa de leche de vaca		10,00
Proteína de leche de vaca		20,40
Fibra	Celulosa micronizada	5,00
Corrector vitamínico		1,00
Corrector mineral ^b		3,50
Bitartrato de colina		0,25
L-Cisteína		0,30
Ter-butilhidroquinona		0,01
Dieta basada en leche de cabra fermentada		
Carbohidratos	Almidón de trigo	20,50
	Lactosa de leche de cabra	29,00
	Sacarosa	10,00
Grasa de leche de cabra		10,00
Proteína de leche de cabra		20,50
Fibra	Celulosa micronizada	5,00
Corrector vitamínico		1,00
Corrector mineral ^b		3,50

Bitartrato de colina	0,25
L-Cisteína	0,30
Ter-butilhidroquinona	0,01

^aContenido en hierro de la dieta durante el PPE: las dietas fueron preparadas de acuerdo con las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (Reeves y cols., 1993) para el grupo de control (contenido normal de hierro: 45 mg/kg de dieta) y con bajo contenido en hierro para el grupo anémico (5 mg/kg de dieta) (Pallarés y cols., 1993). El aporte energético es de 17.940 kJ/kg de dieta. ^bPara las dietas basadas en leche de vaca o 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 con las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (Reeves y cols., 1993) para los grupos control (contenido normal de hierro: 45 mg/kg de dieta) y con bajo contenido en hierro para los grupos anémicos (5 mg/kg de dieta) (Pallarés y cols., 1993). El aporte energético de las dietas basadas en leche de vaca o cabra fermentada es de 17.154 kJ/kg de dieta.

Nutrición
Hospitalaria

Tabla II. Parámetros hematológicos de ratas de control y anémicas (PPE)

	<i>Grupo de control</i> (n = 30)	<i>Grupo anémico</i> (n = 30)
Sangre total		
Concentración de Hb (g/l)	122,35 ± 2,65	60,17 ± 2,33*
Eritrocitos (10 ¹² /l)	7,11 ± 0,20	3,10 ± 0,21*
Hematocrito (%)	41,10 ± 1,05	13,25 ± 1,29*
VCM (fl)	55,33 ± 0,51	37,01 ± 0,36*
HCM (pg)	19,33 ± 0,15	14,21 ± 0,54*
CHCM (g/dl)	34,98 ± 0,33	30,10 ± 0,52*
ADE (%)	16,26 ± 0,36	19,21 ± 0,37*
Plaquetas (10 ⁹ /l)	765 ± 73,61	2021 ± 115*
Suero		
Hierro (µg/l)	1325 ± 98,51	612 ± 53,46*
TIBC (µg/l)	2681 ± 163	17.521 ± 565*
Saturación transferrina (%)	47,95 ± 3,98	4,08 ± 0,40*
Ferritina (µg/l)	78,92 ± 2,07	48,98 ± 1,53*
Hepcidina (ng/ml)	16,85 ± 0,52	13,33 ± 0,61*

Valores medios ± EEM. *Diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo de control ($p < 0,001$, test t de Student). Hb: hemoglobina; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; ADE: ancho de la distribución de eritrocitos; TIBC: capacidad total de fijación de hierro.

Tabla III. Parámetros hematológicos de ratas de control y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche de vaca o cabra fermentada (PE)

	<i>Leche de vaca fermentada</i>		<i>Leche de cabra fermentada</i>	
	<i>Grupo de control (n = 10)</i>	<i>Grupo anémico (n = 10)</i>	<i>Grupo de control (n = 10)</i>	<i>Grupo anémico (n = 10)</i>
Sangre total				
Concentración de Hb (g/l)	130,24 ± 2,77	129,25 ± 2,73	132,07 ± 2,68	128,91 ± 2,53
Eritrocitos (10 ¹² /l)	7,03 ± 0,17	7,05 ± 0,21	7,36 ± 0,20	7,24 ± 0,21
Hematocrito (%)	39,98 ± 1,25 ^a	39,11 ± 1,02 ^A	41,88 ± 1,11 ^b	41,95 ± 1,06 ^B
VCM (fl)	56,87 ± 0,49	54,49 ± 0,50 ^A	55,23 ± 0,51	54,45 ± 0,48 ^B
HCM (pg)	18,53 ± 0,17	18,33 ± 0,22	17,94 ± 0,53	17,81 ± 0,46
CHCM (g/dl)	32,60 ± 0,32	33,03 ± 0,44	31,54 ± 0,50	30,73 ± 0,47
ADE (%)	15,02 ± 0,28	16,06 ± 0,36	15,41 ± 0,42	15,55 ± 0,32
Plaquetas (10 ⁹ /l)	929,15 ± 69,77	963,25 ± 67,39	928,00 ± 77,84	934,67 ± 69,65
Suero				
Hierro (µg/l)	1351 ± 97,31	1220 ± 101,11 ^{A,C}	1359 ± 99,88	1348 ± 96,36 ^B
TIBC (µg/l)	2741 ± 186	2699 ± 192	2787 ± 183	2743 ± 193
Saturación transferrina(%)	45,83 ± 3,34	45,29 ± 4,41	46,32 ± 4,65	45,94 ± 5,11
Ferritina (µg/l)	83,25 ± 2,57	82,97 ± 2,34	84,33 ± 2,33	82,34 ± 2,65

Valores medios ± EEM. ^{a,b} Los valores de una fila de grupos de control con distinto superíndice son estadísticamente significativos ($p < 0,05$, test de Tukey). ^{A,B} Los valores de una fila de grupos anémicos con distinto superíndice son estadísticamente significativos ($p < 0,05$, test de Tukey). ^C Diferencias entre ratas de control y anémicas alimentadas con la misma dieta ($p < 0,05$, test de Tukey). Hb: hemoglobina; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; ADE: ancho de la distribución de eritrocitos; TIBC: capacidad total de fijación de hierro.

Tabla IV. Peso corporal, ganancia de peso e ingesta de alimento en ratas de control y anémicas (PPE)

	<i>Grupo de control</i> (n = 30)	<i>Grupo anémico</i> (n = 30)
Peso corporal (g)		
- Inicial	45,3 ± 5.1	47.2 ± 6.4
- Final	243,7 ± 4,6	200,8 ± 2,6 [†]
Ganancia de peso (g/día)	4,68 ± 0,07	3,53 ± 0,04 [†]
Incremento de peso (%)	428 ± 5,8	312 ± 4,9 [†]
SS ingerida (g/día)	14,31 ± 0,17	12,98 ± 0,22*
Ganancia peso/SS ingerida	0,35 ± 0,02	0,27 ± 0,04*

Valores medios ± EEM. Diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo de control (* $p < 0,05$, [†] $p < 0,001$, test t de Student).

Nutrición
Hospitalaria

Tabla V. Peso corporal, ganancia de peso e ingesta de alimento en ratas de control y anémicas (PE)

	<i>Leche de vaca fermentada</i>		<i>Leche de cabra fermentada</i>	
	<i>Grupo de control (n = 10)</i>	<i>Grupo anémico (n = 10)</i>	<i>Grupo de control (n = 10)</i>	<i>Grupo anémico (n = 10)</i>
Peso corporal (g)				
- Inicial (g)	243,7 ± 4,6	200,8 ± 2,6 ^C	243,7 ± 4,6	200,8 ± 2,6 ^C
- Final (g)	361,1 ± 9,5 ^a	346,5 ± 8,4 ^{A,C}	286,5 ± 6,2 ^b	263,5 ± 3,7 ^{B,C}
Ganancia de peso (g/día)	3,85 ± 0,07 ^a	4,65 ± 0,09 ^A	1,44 ± 0,05 ^b	2,14 ± 0,06 ^B
Incremento de peso (%)	47,6 ± 2,3 ^a	70,4 ± 3,6 ^{A,C}	18,5 ± 1,8 ^b	32,7 ± 2,4 ^{B,C}
SS ingerida (g/día)	15,36 ± 0,23	15,36 ± 0,18	15,20 ± 0,20	15,20 ± 0,25
Ganancia de peso/SS ingerida	0,25 ± 0,02 ^a	0,30 ± 0,03 ^A	0,09 ± 0,01 ^b	0,14 ± 0,02 ^B

Valores medios ± EEM. ^{a,b}Los valores de una fila de grupos de control con distinto superíndice son estadísticamente significativos ($p < 0,05$, test de Tukey). ^{A,B}Los valores de una fila de grupos anémicos con distinto superíndice son estadísticamente significativos ($p < 0,05$, test de Tukey). ^CDiferencias entre ratas de control y anémicas alimentadas con la misma dieta ($p < 0,05$, test de Tukey). SS: sustancia seca ingerida.

Tabla VI. Índice hepatoesomático y contenido de hierro del hígado en ratas de control y anémicas (PPE)

	<i>Grupo de control (n = 10)</i>	<i>Grupo anémico (n = 10)</i>
Peso corporal (g)	243,7 ± 4,6	200,8 ± 2,6 [†]
Peso del hígado (g)	6,415 ± 0,26	6,032 ± 0,34
Peso del hígado/peso corporal (%)	2,59 ± 0,06	2,83 ± 0,09*
Contenido de hierro del hígado (µg/g de peso seco)	609,26 ± 34,12	424,12 ± 23,10 [†]

Valores medios ± EEM. Diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo de control (*p < 0,05, †p < 0,001, test t de Student).

Nutrición
Hospitalaria

Tabla VII. Índice hepatosomático y contenido de hierro en hígado en ratas de control y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche de vaca o cabra fermentada (PE)

	<i>Leche de vaca fermentada</i>		<i>Leche de cabra fermentada</i>	
	<i>Grupo de control (n = 10)</i>	<i>Grupo anémico (n = 10)</i>	<i>Grupo de control (n = 10)</i>	<i>Grupo anémico (n = 10)</i>
Peso corporal (g)	361,10 ± 9,48 ^a	346,51 ± 8,42 ^{A,C}	286,51 ± 6,23 ^b	263,45 ± 3,68 ^{B,C}
Peso del hígado (g)	6,528 ± 0,24 ^a	6,269 ± 0,10 ^A	8,391 ± 0,23 ^b	8,521 ± 0,21 ^B
Peso del hígado/peso corporal (%)	1,84 ± 0,04 ^a	1,77 ± 0,02 ^A	2,95 ± 0,03 ^b	3,27 ± 0,05 ^B
Contenido de hierro del hígado (µg/g de peso seco)	559,56 ± 28,72 ^a	408,56 ± 24,54 ^{A,C}	666,45 ± 33,2 ^b	479,32 ± 29,64 ^{B,C}

Valores medios ± EEM. ^{a,b}Los valores de una fila de grupos de control con distinto superíndice son estadísticamente significativos ($p < 0,05$, test de Tukey). ^{A,B}Los valores de una fila de grupos anémicos con distinto superíndice son estadísticamente significativos ($p < 0,05$, test de Tukey). ^cDiferencias entre ratas de control y anémicas alimentadas con la misma dieta ($p < 0,05$, test de Tukey).

Nutrición Hospitalaria

Tabla XIII. Composición corporal en ratas controles y anémicas (PPE)

	<i>Grupo de control</i> (n = 30)	<i>Grupo anémico</i> (n = 30)
Peso corporal (g)	243,71 ± 4,62	200,83 ± 2,61 [†]
Grasa (g)	18,16 ± 1,83	12,59 ± 1,20 [†]
Grasa (%)	7,45 ± 0,35	6,27 ± 0,39 [†]
Masa magra (g)	220,70 ± 4,01	185,55 ± 2,11 *
Masa magra (%)	90,56 ± 0,45	92,39 ± 0,61*
Agua libre (g)	1,00 ± 0,14	1,46 ± 0,18*
Agua libre (%)	0,41 ± 0,04	0,73 ± 0,09 [†]
Agua total (g)	187,05 ± 3,68	160,48 ± 2,98 [†]
Agua total (%)	76,75 ± 0,56	79,91 ± 0,48 [†]

Valores medios ± EEM. Diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo de control (* $p < 0,05$, [†] $p < 0,001$, test *t* de Student).

Nutrición
Hospitalaria

Tabla IX. Composición corporal en ratas de control y anémicas alimentadas durante 30 días con dietas basadas en leche de vaca o cabra fermentada (PE)

	<i>Leche de vaca fermentada</i>		<i>Leche de cabra fermentada</i>	
	<i>Grupo de control</i> (n = 10)	<i>Grupo anémico</i> (n = 10)	<i>Grupo de control</i> (n = 10)	<i>Grupo anémico</i> (n = 10)
Peso corporal (g)	361,10 ± 9,48 ^a	346,51 ± 8,42 ^{A,C}	286,51 ± 6,23 ^b	263,45 ± 3,68 ^{B,C}
Grasa (g)	31,09 ± 1,88 ^a	30,96 ± 1,21 ^A	22,20 ± 0,97 ^b	18,39 ± 1,06 ^B
Grasa (%)	8,61 ± 0,70 ^a	8,96 ± 0,89 ^A	7,75 ± 0,84 ^b	6,98 ± 0,62 ^B
Masa magra (g)	314,01 ± 5,04 ^a	300,28 ± 4,88 ^A	264,19 ± 4,37 ^b	242,64 ± 4,41 ^B
Masa magra (%)	86,96 ± 0,73 ^a	86,66 ± 0,87 ^A	92,21 ± 1,90 ^b	92,10 ± 0,81 ^B
Agua libre (g)	0,90 ± 0,08 ^a	0,76 ± 0,07 ^A	1,17 ± 0,19 ^b	1,11 ± 0,11 ^B
Agua libre (%)	0,25 ± 0,03 ^a	0,22 ± 0,02 ^A	0,41 ± 0,07 ^b	0,42 ± 0,08 ^B
Agua total (g)	265,84 ± 4,23 ^a	254,96 ± 4,58 ^A	223,82 ± 4,10 ^b	206,83 ± 3,98 ^B
Agua total (%)	73,62 ± 0,58 ^a	73,58 ± 0,65 ^A	78,12 ± 1,48 ^b	78,51 ± 0,61 ^B

Valores medios ± EEM. ^{a,b}Los valores medios de una fila de grupos de control con distinto superíndice son significativamente distintos (p < 0,05, test de Tukey). ^{A,B}Los valores medios de una fila de grupos anémicos con distinto superíndice son significativamente distintos (p < 0,05, test de Tukey). ^CDiferencias entre controles y ratas anémicas alimentadas con la misma dieta (p < 0,05, test de Tukey).