



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Departamento de Didácticas Específicas

Programa Doctorado "Teatro, expresión corporal y sociedade: La investigación didáctica"
Departamento Didácticas Específicas
Bienio 2004/06

TESIS DOCTORAL

STUDY OF THE TOXICITY PRODUCED BY THE CONTINUOUS
SUPPLEMENTATION OF IRON. NUTRITIONAL GUIDELINES
IN CHILDREN AND YOUNG PEOPLE FOR A CORRECT
OPTIMIZATION OF THE HEALTHFUL PHYSICAL ACTIVITY

ESTUDIO DE LA TOXICIDAD PRODUCIDA POR LA
SUPLEMENTACIÓN CONTINUA DE HIERRO. PAUTAS
NUTRICIONALES EN NIÑOS Y JÓVENES PARA UNA CORRECTA
OPTIMIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD FÍSICA SALUDABLE

Doctorando: Victor Arufe Giráldez

Director: Dr. D. José Luís García Soidán (Universidade de Vigo)

Co-Director: Dr. D. José Alberto Ramos Duarte (Universidade do Porto)

Tutor UDC: Dr. D. Alfredo Rodríguez Vázquez (Universidade de A Coruña)

DEPARTAMENTO DE DIDÁCTICAS ESPECÍFICAS
A Coruña
2009

Tesis Doctoral

Estudio de la toxicidad producida por la suplementación continua de hierro. Pautas nutricionales en niños y jóvenes para una correcta optimización de la actividad física saludable



UNIVERSIDADE DE VIGO
(España)

Facultad de Ciencias de
la Educación y del Deporte



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

UNIVERSIDADE DE A CORUÑA
(España)

Facultad de Ciencias de la Educación



UNIVERSIDADE DO PORTO
(Portugal)

Faculdade do Desporto

Programa Doctorado "Teatro, expresión corporal y sociedad: La investigación didáctica"
Departamento Didácticas Específicas
Bienio 2004/06

TESIS DOCTORAL

STUDY OF THE TOXICITY PRODUCED BY THE
CONTINUOUS SUPPLEMENTATION OF IRON.
NUTRITIONAL GUIDELINES IN CHILDREN AND YOUNG
PEOPLE FOR A CORRECT OPTIMIZATION OF THE
HEALTHFUL PHYSICAL ACTIVITY

ESTUDIO DE LA TOXICIDAD PRODUCIDA POR LA
SUPLEMENTACIÓN CONTINUA DE HIERRO.
PAUTAS NUTRICIONALES EN NIÑOS Y JÓVENES PARA
UNA CORRECTA OPTIMIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD
FÍSICA SALUDABLE

Doctorando: Victor Arufe Giráldez

Director: Dr. D. José Luís García Soidán (Universidade de Vigo)

Co-Director: Dr. D. José Alberto Ramos Duarte (Universidade do Porto)

Tutor UDC: Dr. D. Alfredo Rodríguez Vázquez (Universidade de A Coruña)

DEPARTAMENTO DE DIDÁCTICAS ESPECÍFICAS
2009

Tesis Doctoral

Estudio de la toxicidad producida por la suplementación continua de hierro. Pautas nutricionales en niños y jóvenes para una correcta optimización de la actividad física saludable

Tesis realizada durante los años 2005, 2006, 2007, 2008 y 2009 bajo la dirección del **Dr. D. Jose Luis García Soidán** (Director del Laboratorio de Fisiología del Departamento de Didácticas Especiales de la Universidade de Vigo) y del **Dr. D. José Alberto Ramos Duarte** (Director del Laboratorio de Bioquímica y Morfología experimental de la Faculdade de Desporto de la Universidade do Porto) tutorizada por el profesor de la Universidad de A Coruña **Dr. D. Alfredo Rodríguez Vázquez** (Director del Departamento de Didácticas Específicas de la Universidad de A Coruña) y presentada por el Licenciado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte **D. Víctor Arufe Giráldez**, para la obtención del Grado de Doctor, según lo dispuesto en el Capítulo III (“De los estudios de Doctoramiento”) de los Estatutos de la Universidad de A Coruña (Decreto 253/1992 del 10 de septiembre, D.O.G. 17 de septiembre, modificado por el Decreto 245/1998 de julio, D.O.G. del 28 de agosto).

A Coruña, 1 de octubre del 2009

El doctorando,

D. Victor Arufe Giráldez

(Fdo. en el original)

El tutor,

Dr. D. Alfredo Rodríguez Vázquez

(Fdo. en el original)

Tesis Doctoral

Estudio de la toxicidad producida por la suplementación continua de hierro. Pautas nutricionales en niños y jóvenes para una correcta optimización de la actividad física saludable

TRIBUNAL

PRESIDENTE

Dr. D. Isidoro Hornillos Baz
Universidad de A Coruña

SECRETARIO

Dr. D. Xurxo Dopico Calvo
Universidad de A Coruña

VOCAL

Dr. D. Jorge Jesús Fernández y Vázquez
Universidad Complutense de Madrid

VOCAL

Dr. D. Roberto Barcala Furelos
Universidade de Vigo

VOCAL

Dra. D^a. Marina de Saa González
Universidade de Vigo

Fecha lectura: 18/01/2010

Calificación: Sobresaliente Cum Laude

Tesis Doctoral

Estudio de la toxicidad producida por la suplementación continua de hierro. Pautas nutricionales en niños y jóvenes para una correcta optimización de la actividad física saludable

Agradecimientos

Al profesor **Duarte**, por su seriedad y rigurosidad en la parte experimental de este proyecto y por su amabilidad y su acogida durante mi estancia de investigación en Portugal. Donde gustosamente me ofreció todo su equipo de trabajo y todos sus medios técnicos para que este proyecto pudiese ser una realidad.

A **D^a. Celeste, Rita, y Maria João** por su entrega y dedicación a las muchas horas de tratamiento de las muestras en el laboratorio.

A **Jose Luis**, mi gran amigo, profesor y director de esta tesis. Persona que desde los primeros años de carrera supo encauzarme hacia la investigación, enseñándome este fantástico mundo de la ciencia y dándome soluciones a todas las dudas que se me planteaban durante mi etapa de formación investigadora. Gracias por haber compartido estos años de trabajo y demostrarme tu gran valía como persona y como investigador.

A todos mis compañeros del Departamento de Didácticas Específicas de la Universidad de A Coruña, especialmente a **Ángela, Raúl y Lara**, por el gran apoyo y ánimo mostrado en todo momento.

A todos los profesores e investigadores que gustosamente tuve la suerte de conocer a lo largo de mis años como estudiante e investigador, especialmente a **Emerson** por su gran motivación y entusiasmo hacia la docencia, a **Luis Casáis** por su gran capacidad para transmitir conocimientos y especialmente por su gran crítica hacia el conocimiento generado ya por otros, a **María José Martínez**, persona con la que he compartido muy buenos momentos y a la cual admiro mucho como docente, amiga y compañera de batallas, a **Marina y Roberto**, por todo su ánimo ofrecido a lo largo de mi paso por la Licenciatura, a **Nicolás Terrados**, profesor que he tenido la suerte de conocer en el Máster de Alto Rendimiento siendo de las personas que vale la pena conocer y compartir varios cafés con ella, al Profesor **Vanildo**, otra de las personas a la cual admiro mucho profesionalmente y humanamente, gracias por confiar en mi y darme una oportunidad en este mundo, a **Mariano y Maria Luisa**, fantástico dúo al cual tengo una gran admiración por toda su ayuda y apoyo brindado hacia mi persona, sus palabras avivaron siempre mi ánimo como estudiante y como deportista. A

Isidoro, una de las mejores personas que jamás he conocido, su gran entusiasmo, perfección y su gran capacidad para el trabajo son mis objetivos en mi quehacer diario.

A la Facultad de Ciencias do Desporto de la Universidade de Oporto y todo su equipo de profesores y órganos de gobierno, especialmente al **Dr. D. Jorge Bento**, por su gran gestión académica, por su humanidad y principalmente por abrirme las puertas de su casa y hacerme sentir como si de la mía se tratase.

A mis amigos y amigas de la calle, que si bien no entendían por qué dedicaba tantas horas a esto, siempre supieron esperarme y mantener su amistad durante más de 15 años. A mi amigo **Panchito**, simplemente por ser una de las pocas personas que se pueden denominar grandes amigos.

A mis alumnos de la Facultad de Ciencias de la Educación y de los cursos fuera del ámbito universitario, por todo lo que he aprendido de ellos.

A mis compañeros de la Licenciatura en Ciencias del Deporte y la Actividad Física, especialmente a **Maribel, Javi, Richi, Manolo, Angel, Manu e Ismael**, personas encantadoras y de las cuales me llevo un buen recuerdo.

A **Marina**, aunque apareciste tarde en mi vida en tan sólo unos meses me transmitiste una gran motivación para coger fuerzas en el tramo final de este trabajo y poder seguir para adelante. Toda esa energía que me diste se ha transformado en una gran admiración hacia ti, deseo que sigas junto a mí enseñándome todo lo válida que puede llegar ser una persona en la sociedad actual.

A todas las personas que en el algún momento de mi vida se cruzaron conmigo y que supieron transmitirme su conocimiento.

Por último desearía dedicar estas últimas palabras a unas personas que siempre han estado a mi lado, en los momentos duros y en los momentos buenos. Dicen que la derrota es huérfana pero en varias etapas de mi vida cuando parecía que el mundo se me caía encima tuve siempre un gran apoyo de dos personas, **Luchi y Pepe**, quienes siempre han mostrado su

afecto y simpatía hacía mi, inculcando algo que no todos los padres lograr inculcar en sus hijos, la motivación, el interés por las cosas y el saber valorar lo que se tiene. También mi agradecimiento a mis hermanos **Tania, Luchiña y Jose**, de quienes solo tengo muy buenos recuerdos, toda una familia ejemplar, digna de admirar.

Quisiera recordar, a su vez, en esta etapa final de la tesis a mis abuelos que siempre llevaré en mi corazón, sé que le haría mucha ilusión poder verme en la defensa de esta tesis pero lamentablemente aunque no puedan vivirlo en persona, estoy seguro que lo verán desde ahí arriba y cuando sea mi momento se lo diré en persona y le daré un fuerte abrazo de agradecimiento a todos sus cuidados y atención puesta en mi y mis hermanos.

Y no me olvido de **Pitusa, Darling y Bobi**, a pesar que a veces me cueste entenderles, sé que ellos siempre me entendieron a mí, y quizá sean de los pocos seres de la vida que se ponen tristes cuando me voy y se alegran cuando regreso.

Tesis Doctoral
Estudio de la toxicidad producida por la suplementación continua de hierro. Pautas nutricionales en niños y jóvenes para una correcta optimización de la actividad física saludable

ÍNDICE

Abreviaturas	17
Índice de tablas	19
Índice de figuras e imágenes	21
Abstract/Resumen corto.....	25
Resumen largo.....	29
Capítulo I.- INTRODUCCIÓN.....	45
1.1. Motivación de la investigación	47
1.2. Objetivos	49
1.3. Hipótesis	51
Capítulo II.- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	53
2.1. El hierro. Conceptos básicos.	
2.1.1. El hierro como mineral	55
2.1.2. Funciones del hierro en el organismo	57
2.1.3. Manifestaciones del hierro dietario	59
2.1.4. Biodisponibilidad	62
2.1.5. Combinación del hierro con otros alimentos	64
2.1.6. Compuestos farmacológicos utilizados comúnmente para la suplementación de hierro	68
2.1.7. Mecanismo de absorción de hierro en el organismo	72
2.1.8. Requerimientos y pérdida de hierro en las distintas franjas etarias	80
2.1.9. Metabolismo del hierro en el organismo	83
2.1.10. Ciclo biológico del hierro	89
2.1.11. Parámetros bioquímicos relacionados con los cambios en los niveles de de hierro	91
2.1.12. Valoración del nivel de hierro en el organismo	107
2.1.13. Exceso y sobrecarga de hierro en el organismo	108
2.1.14. Deficiencia de hierro	111
2.1.15. Poblaciones vulnerables para la deficiencia de hierro	121
2.1.16. Importancia de una correcta nutrición para la salud y el ejercicio físico en niños y jóvenes	122

2.1.17. Relación del hierro sobre la capacidad física y el rendimiento deportivo	125
2.2. Toxicidad y hierro.	
2.2.1. Toxicodinámica	127
2.2.2. Efectos secundarios de la suplementación de hierro	130
2.2.3. Toxicidad y estrés oxidativo producido por la suplementación hierro	132
Capítulo III.- MATERIAL Y MÉTODO.....	139
3.1. Tipología del estudio	141
3.2. Descripción de la muestra	142
3.3. Protocolo del experimento	143
3.4. Temporalización y recogida de datos	144
3.5. Preparación de tejidos y determinaciones de laboratorio	145
3.6. Análisis estadístico	148
Capítulo IV.- RESULTADOS.....	149
4.1. Efectos de la suplementación con hierro sobre los órganos y diversos aspectos del metabolismo de las ratas: agua, comida, orina, heces y peso	151
4.2. Efectos de la suplementación con hierro sobre diversos marcadores Hematológicos: leucocitos y hematíes	158
4.3. Evaluación smicuantitativa de las alteraciones ultraestructurales del músculo cardíaco y del músculo sóleo	160
4.4. Evaluación del estrés oxidativo producido por la suplementación de hierro en el músculo cardíaco y sóleo	165
Capítulo V.- DISCUSIÓN.....	169
Capítulo VI.- CONCLUSIONES.....	177
6.1 Conclusiones	179
6.2 Limitaciones del estudio y futuras líneas de investigación	181
6.3 Pautas nutricionales para una optimización del ejercicio físico en niños y jóvenes deportistas	183
Capítulo VII.- BIBLIOGRAFÍA.....	185

ANEXOS.....	209
I. Características técnicas del fármaco administrado	210
II. Hoja registro del peso de los órganos y valores de los parámetros hematológicos	219
III. Hoja registro del control de jaulas y temporalización	223
IV. Cuadro resumen resultados T- Test pareado para los distintos grupos	291
V. Análisis estadístico: Prueba T para cada una de las variables	295
VI. Análisis descriptiva de la muestra	319
VII. Cálculo para el ajuste de la dosis de hierro	337
VIII. Valores para el cálculo de la media y desviación patrón de las alteraciones ultraestructurales, de la CS, GSH y GSSG en el músculo cardíaco y sóleo en los 3 grupos experimentales.	341

Nota: Los anexos están disponibles en la obras depositadas en la Universidad de A Coruña

Abreviaturas

CDR: Cantidad Diaria Recomendada
EDTA: Sal de sodio/calcio del ácido etilendiaminotetraacético
Ca: Calcio
Fe. Hierro
ARN_m: Acido Ribonucleico mensajero
Tf: Transferrina
RTf: Receptor de transferrina
ATP: Adenosín trifosfato
NADH: Dinucleotido de nicotinamida y adenina
CCMH: Concentración corpuscular media de hemoglobina
TIBC: Capacidad de Fijación total del hierro
VCM: Volumen Corpuscular medio
HCM: Hemoglobina Corpuscular media
RBC: Glóbulos rojos
WBC: Glóbulos blancos
ADN: Ácido Desoxiribonucleico
EPO: Eritropoyectina
TM/FMOA: Ferrimannitol-ovoalbúmina
GSH: Glutation reducido
GSSG: Glutation oxidado
CS: Citrato Sintetasa
ERO: Especies reactivas del oxígeno
IRP: Proteínas reguladoras del hierro
IRE: Elementos de respuesta al hierro
HFE: Contracción del término inglés HLA-H
DCT 1: Tranportador de cationes divalente
SRE: Sistema retículo endotelial

Índice de tablas

Tabla 1. Registro cuantitativo sobre diversos aspectos metabólicos de cada grupo experimental	36
Tabla 2. Peso medio relativo de cada grupo experimental	36
Tabla 3. Diferencias de las dos manifestaciones del hierro presentes en la dieta	50
Tabla 4. Como incrementar el hierro en la dieta	62
Tabla 5. Grupos de alimentos más comunes que contienen hierro hemo y no hemo	64
Tabla 6. Alimentos facilitadores o inhibidores la absorción del hierro no hemo	65
Tabla 7. Compuestos utilizados comúnmente en la suplementación de hierro. Equivalencia hierro elemental	68
Tabla 8. Nuevas proteínas implicadas en el metabolismo del hierro	79
Tabla 9. Comparación del hierro y del calcio en relación a la proporción necesaria para su absorción	80
Tabla 10. Porcentaje de la CDR del hierro en diversos alimentos	80
Tabla 11. Pérdida de hierro: mecanismos y valores medios	81
Tabla 12. Ingesta de hierro: recomendación diaria	82
Tabla 13. Formación de los eritrocitos. Eritropoyesis	103
Tabla 14. Alteraciones relacionadas con la deficiencia de hierro y parámetros bioquímicos	112
Tabla 15. Puntos de corte para el diagnóstico de la anemia por deficiencia de hierro	115
Tabla 16. Etapas secuenciales del desarrollo progresivo de la deficiencia de hierro	117
Tabla 17. Registro cuantitativo sobre diversos aspectos metabólicos de cada grupo experimental con la correspondiente desviación típica. * $p < 0,05$ vs control	155
Tabla 18. Peso medio relativo de cada grupo experimental con la correspondiente desviación típica. * $p < 0,05$ vs control	157
Tabla 19. Valores medios de las alteraciones ultraestructurales cardíacas observadas en los distintos grupos estudiados	162
Tabla 20. Valores medios de la CS en el músculo cardíaco	165
Tabla 21. Valores medios de la GSH en el músculo cardíaco	165
Tabla 22. Valores medios de la GSSG en el músculo cardíaco	165
Tabla 23. Valores medios de las alteraciones ultraestructurales del músculo sóleo observadas en los distintos grupos estudiados	166
Tabla 24. Valores medios de la CS en el músculo sóleo	166
Tabla 25. Valores medios de la GSH en el músculo sóleo	166
Tabla 26. Valores medios de la GSSG en el músculo sóleo	167

Índice de figuras e imágenes

Figura 1.	Esquema representativo del procedimiento experimental efectuado	34
Figura 2.	Cambios del peso corporal de las ratas del grupo control y los grupos suplementados	35
Figura 3.	Valores medios del nº de leucocitos /mm ³ en los diferentes grupos experimentales	37
Figura 4.	Valores medios del nº de hematíes /mm ³ en los diferentes grupos experimentales	37
Figura 5.	Fotografía de microscopio electrónico de transmisión. Análisis músculo cardíaco	38
Figura 6.	Fotografía de microscopio electrónico de transmisión. Análisis músculo sóleo	38
Figura 7.	En la tierra existen numerosos minerales en cuya composición está presente el hierro	55
Figura 8.	Molécula de hemoglobina	58
Figura 9.	Estructura química del grupo hemo	60
Figura 10.	Transporte celular del hierro	75
Figura 11.	Absorción del hierro en forma de transferrina por parte de los eritroblastos	76
Figura 12.	Distribución del hierro dentro del cuerpo	87
Figura 13.	Formación secuencial de la hemoglobina	96
Figura 14.	Ruta que sigue el hierro en el organismo	128
Figura 15.	Momento en que el animal es pesado en la balanza electrónica	142
Figura 16.	Preparación de las disoluciones con diferentes dosis de hierro	143
Figura 17.	Jaula metabólica utilizada en el experimento	143
Figura 18.	Esquema representativo del procedimiento experimental efectuado	144
Figura 19.	Extracción del músculo sóleo y gastrocnemio	145
Figura 20.	Recuento del número de leucocitos y hematíes	145
Figura 21.	Cambios del peso corporal de las ratas del grupo control y las tratadas con distintas dosis de gluconato ferroso disuelto en agua durante un periodo de 12 semanas y grupo control	151
Figura 22.	Porcentaje de ganancia de peso de los tres grupos experimentales al final de los 90 días	152
Figura 23.	Variación de la cantidad de comida diaria (g) ingerida por rata durante a lo largo de 12 semanas	152
Figura 24.	Cambio de la ingesta diaria por rata a lo largo de las 12 semanas	153
Figura 25.	Media global de agua ingerida por los tres grupos experimentales al final de los 90 días	153
Figura 26.	Alteraciones de la excreción urinaria diaria (g) a lo largo de 12 semanas	154
Figura 27.	Alteraciones de la excreción de heces diaria (g) a lo largo de 12 semanas	154
Figura 28.	Alteraciones del peso medio del hígado en función de la suplementación de hierro	156
Figura 29.	Alteraciones del peso medio del bazo en función de la suplementación de hierro	156
Figura 30.	Valores medios del nº de leucócitos/mm ³ para los diferentes grupos experimentales al final de los 45 y 90 días de suplementación	158
Figura 31.	Nº. de leucocitos/mm ³ de los tres grupos experimentales tras un periodo de suplementación a los 45 y 90 días	158
Figura 32.	Valores medios del nº de hematíes/mm ³ para los diferentes grupos experimentales al final de los 45 y 90 días de suplementación	159
Figura 33.	Nº. de hematíes/mm ³ en los tres grupos experimentales tras un periodo de suplementación de 45 y 90 días.	159

Tesis Doctoral
Estudio de la toxicidad producida por la suplementación continua de hierro. Pautas nutricionales en niños y jóvenes para una correcta optimización de la actividad física saludable

- Figura 34.** Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo cardíaco del grupo control sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental 160
- Figura 35.** Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo cardíaco de animales del grupo 3 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental 161
- Figura 36.** Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo cardíaco en animales del grupo 6 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. 162
- Figura 37.** Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo soleus de animales del grupo control sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental 163
- Figura 38.** Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo soleus de animales del grupo 3 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental 164
- Figura 39.** Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo *soleus* de animales del grupo 6 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental 164

ABSTRACT

ABSTRACT

Iron supplementation is common in many sportsmen and teenagers. Although the positive effects of a continuous iron supplementation for anaemic people or people with iron deficiency are well known, the negative effects of an unnecessary iron supplementation are still uncertain, even though in fact sportsmen have normal levels of iron.

In order to assess the possible toxicity of different doses of iron (3 mg/kg weight and 6 mg/kg weight) a model with animal experimentation have been used. Thirty Charles River CD1 rats have been divided into 3 groups: control group, group of 3 mgFe/kg weight and group of 6 mgFe/kg weight. After 10 days of adaptation to the new life conditions, half of the animals of each group were fed with an iron supplement during 45 days and the other half was fed with the supplementation until 90 days. Once the animals were slaughtered following the protocol proposed by the Ethics Committee and Scientific Council of the Faculty of Sports Science of the University of Oporto and the National Institute of Health, the ultra-structural disorders in various myocardial cells and cells from the soleus muscle were analysed. A biochemical study was done as well, consisting in the logging of the number of leukocytes and haematites besides different metabolic aspects of the animals: weight, water and food ingestion, etc., were registered. The statistical program Spss 17.0 for Windows was used for the data treatment. In the cytological test a transmission electron microscope Zeiss EM 10a to 60 Kvolts was used.

The results show a decrease in the number of leukocytes in the groups fed with an iron supplement and a light increase in the number of haematites. Apart from this, a lower weight gain was registered in the rats that were iron supplemented, especially for the group of 6 mgFe/kg weight. The existence of oedemas, lipid inclusions and giant mitochondrias were detected through the microscopic analysis, being this damage greater in the myocardial cells than in the soleus muscle. Other sign of the existence of damage and oxidative stress was found by means of the analysis of the CS, GSH and GSSG, resulting in a decrease of the CS and GSH values in the groups with an iron supplement of 6 mgFe/kg and 90 days of duration comparing with the control group, and therefore an increase in the GSSG values, that indicates the presence of a high level of oxidative stress.

Finally, although there is an increase in the number of haematites that initially could favour the oxygen transference and enhance the yield of the sportsman, there are many parameters that indicate that also a high level of oxidative stress and toxicity are produced by this supplementation, therefore cost might be greater than benefits. It might be in our best interest continue with this research area, since nowadays many trainers and sport technicians are suggesting iron supplementation to their sportsmen without a previous blood analysis.

RESUMEN CORTO

La suplementación de hierro es frecuente en muchos deportistas y adolescentes. Si bien son conocidos los efectos positivos de la suplementación continua de hierro en personas anémicas o personas con deficiencia de hierro, no son tan conocidos los efectos negativos de una suplementación de hierro innecesaria, cuando realmente el deportista presenta niveles normales de hierro.

Para analizar la posible toxicidad que pueden producir distintas dosis de hierro (3 mgFe/kg de peso y 6 mgFe/kg de peso) se ha utilizado un modelo de experimentación animal. Treinta ratas Charles River CD1 han sido distribuidas en 3 grupos: grupo control, grupo de 3 mgFe/kg de peso y grupo de 6 mgFe/kg de peso. Tras 10 días de adaptación a las nuevas condiciones de vida, se inició la suplementación en los grupos correspondientes. A los 45 días fueron sacrificados la mitad de los animales de cada grupo, mientras que el resto continuó la suplementación hasta los 90 días. Una vez sacrificados todos los animales, siguiendo el protocolo indicado por el Comité Ético del Consejo Científico de la Facultad de Desporto de la Universidad de Oporto y el Instituto Nacional de Salud, se procedió a realizar el análisis de las muestras de diversos tejidos extraídos. Se estudió las alteraciones ultraestructurales producidas en diversas células del miocardio y del músculo sóleo, así como la posible presencia de un mayor estrés oxidativo. Además se realizó un estudio hematológico, registrando el número de leucocitos y hematíes. Para el tratamiento de los datos se utilizó el programa estadístico Spss 17.0 para Windows. Para el análisis citológico se utilizó un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM 10^a, a 60 Kvolts.

Los resultados indican un descenso del número de leucocitos en los grupos suplementados con hierro y un ligero aumento del número de hematíes. A través del estudio microscópico, se detectó a nivel celular, la presencia de edemas, inclusiones lipídicas y mitocondrias gigantes, siendo este daño celular mayor en los miocardiocitos que en el sóleo. Otro indicador de la presencia de daño y estrés oxidativo fue analizado a través de la CS, GSH y GSSG, obteniendo en los grupos suplementados con 6mg de hierro y duración 90 días una disminución de los valores de la CS y GSH respecto el grupo control, aumentando así los valores de la GSSG, lo que indica la presencia de un alto valor de estrés oxidativo.

Concluimos, que pese a existir un ligero aumento del número de hematíes que inicialmente podría favorecer el transporte de oxígeno y mejorar el rendimiento del deportista, existen numerosos parámetros que indican también la existencia de alto nivel de estrés oxidativo y toxicidad producida por esta suplementación, por lo que los costes pudiesen ser mayores que los beneficios. Conviene seguir trabajando en esta línea, pues actualmente muchos entrenadores y técnicos deportivos sugieren la suplementación de hierro a sus deportistas sin realizar un análisis sanguíneo previo.

RESUMEN LARGO

RESUMEN LARGO

El cuerpo humano requiere la presencia aproximadamente de 20 minerales para el correcto desarrollo de las funciones vitales. Dentro de estos, el hierro es uno de los oligoelementos que más importancia tiene debido a una mayor presencia en el organismo y a las funciones que desempeña en el metabolismo. Numerosos estudios han abordado la relación que presentan los minerales y la salud, confirmando que tanto una ingesta insuficiente como un exceso de un determinado mineral pueden contribuir al desarrollo de diversas patologías (1). En el caso del hierro, coexisten un alto número de trastornos asociados al déficit de este mineral, especialmente en determinados grupos de población, como niños y jóvenes en edad de crecimiento, mujeres embarazadas, deportistas de alto nivel de modalidades predominantemente de resistencia aeróbica y personas con dieta vegetariana, entre otros.

Para analizar su metabolismo es necesario tener en cuenta las distintas formas en las que puede presentarse en los alimentos, hierro hemo o no hemo, así como la obtención de este mineral y las distintas vías que recorre por el interior del organismo. Independientemente del tipo de hierro (hemo o no hemo), existen tres formas de obtenerlo: por medio de la dieta, a través de distintos compuestos o mediante los depósitos de ferritina. Una vez obtenido y absorbido por la mucosa duodenal el hierro pasará a distribuirse bien como *hierro funcional* o compuestos de hierro esenciales, formado por proteínas como la hemoglobina o la mioglobina. *Hierro circulante*, es el hierro que circula desde el intestino hasta su salida a la médula ósea y a los tejidos en general. *Hierro de reserva o depósito* es aquel que se encuentra almacenado, está compuesto por aproximadamente entre 400-800 mg (cerca del 20% del total del hierro), en función de diversos parámetros fisiológicos y/o nutricionales la cantidad de este en el organismo puede variar desde 0 a 15 mg por kilogramo de peso corporal (2;3). Este hierro se utiliza para reponer el hierro perdido por la hemoglobina y demás compuestos funcionales, además de proporcionar reservas de este mineral en caso de periodos de un consumo dietético insuficiente. Pueden utilizarse hasta 50 mg/día, de los cuales 20 mg se destinan a la síntesis de hemoglobina y el resto asegura el balance en su provisión, si este es positivo se almacenará, por el contrario si el balance es negativo lo proporcionará. Se almacena unido a proteínas específicas a través de la ferritina (el 95% del hierro hepático) y hemosiderina (forma degradada de la ferritina, alrededor del 5%) (4). Los principales tejidos de almacenamiento son el hígado (60%), el bazo, la médula ósea, células parenquimatosas y en los sistemas monocito-macrófago y sistemas reticuloendotelial (40%) (3;5). Por último se

encuentra *el pool intracelular lábil o tránsito* ligado a compuestos de bajo peso molecular, tal como, aminoácidos, citrato, nucleótidos y azúcares.

La cantidad de hierro total en el organismo es aproximadamente 40 mg por kilogramo de peso corporal, es decir cerca de 3,5 g en la mujer y de 4 a 5 g en el hombre (6). Pueden existir variaciones en función del sexo, edad, tipo de alimentación y tejido u órgano estudiado, puesto que el hierro no se distribuye por igual dentro del cuerpo humano (2;3;7).

En individuos con un estado nutricional óptimo, alrededor del 65% del hierro se encuentra formando parte de la hemoglobina, el 15% está contenido en las enzimas y la mioglobina, el 20% como hierro de depósito y solo entre el 0,1 y 0,2% se encuentra unido con la transferrina como hierro circulante (8).

La absorción del hierro es equilibrada básicamente por la misma cantidad de hierro perdido, a través de la sangre perdida y del cambio de piel y células de la mucosa. Como ya se ha comentado anteriormente la mayoría del hierro se encuentra en la médula ósea eritrocitaria y en los eritrocitos maduros, contenidos dentro del grupo hemo de la hemoglobina. El hierro para la formación de nuevos hematíes es primeramente suministrado por los macrófagos del retículo endotelial, los cuales reciclan hierro desde viejos glóbulos rojos. Una parte del hierro se encuentra circulando unido a la transferrina (0,2%). Este hierro se utiliza para la formación de los precursores de los eritrocitos, así como otros tejidos corporales. El hierro de depósito es primeramente encontrado en los hepatocitos del hígado. Por último decir que la distribución del hierro es alterada en respuesta al estado fisiológico de la persona, embarazo, déficit de hierro, sobrecarga, etc.

El presente trabajo, realizado en animales de experimentación, está orientado al estudio de una posible toxicidad que puede provocar la suplementación de hierro cuando no existe déficit de este mineral. Se puede equiparar, con cierta precaución, a los riesgos que puede acarrear una suplementación de hierro innecesaria en niños, jóvenes o deportistas que no poseen anemia o deficiencia de este mineral y que realicen de forma habitual la práctica de ejercicio físico. Si bien, en la literatura existen un alto número de estudios confirmando que un correcto programa de suplementación ayuda a combatir diversas patologías asociadas al déficit de este mineral y reestablece los niveles normales de distintos parámetros hematológicos. No son tan conocidos los efectos negativos que puede producir la toxicidad del hierro por una suplementación continuada o/y innecesaria en personas no anémicas. Por lo que, en este estudio, analizaremos todas las alteraciones producidas en distintos parámetros

hematológicos y morfológicos tras la suplementación crónica de hierro, además del estrés oxidativo producido por este.

MATERIAL Y MÉTODO

Dada la complejidad del estudio se trabajó primeramente con un modelo de experimentación animal, deponiendo la experimentación en humanos en otra fase de la investigación. El experimento consistió en la administración por vía oral de diferentes dosis de un suplemento de hierro (gluconato ferroso) durante dos intervalos de tiempo 45 y 90 días. Para ello se formaron 3 grupos experimentales: grupo control, grupo suplementado con 3 mgFe/kg de peso y el grupo suplementado con 6 mgFe/kg de peso. La muestra estuvo formada por 30 ratas Charles River CD1 de 4-6 semanas de vida y un peso medio inicial de 28,59 gramos. Durante el protocolo del experimento los animales se colocaron en jaulas metabólicas (2-3 por jaula) y fueron mantenidos en una sala con una temperatura de 21-22 ° C y aproximadamente 50-60% de humedad, recibiendo comida comercial para roedores y agua *ad libitum* en un ciclo de 12 horas invertido luz/oscuridad. Todo el experimento está hecho siguiendo los procedimientos éticos aceptados por el Comité de Ética del Consejo Científico de la Facultad de Desporto de la Universidade do Porto, el cual siguió las directrices de los cuidados y uso de los animales de laboratorio del Instituto Nacional de Salud.

Tras un periodo de adaptación a las nuevas condiciones de vida de los animales se procedió a iniciar la suplementación del fármaco a las ratas asignadas en los grupos de 3mg y 6mg de hierro. Para ello se preparó una solución ferrosa todos los días, consistente en la dilución de un comprimido efervescente de gluconato ferroso (Losferrón), equivalente a 80 mg de hierro elemental, en una cantidad de agua dependiendo del peso medio de los ratones y del agua ingerida por estos. Todos los días, entre las 09:00 y las 11:00 horas, los animales son cuidadosamente pesados, siempre por la misma persona, y se realiza un registro cuantitativo de la comida y bebida ingerida, desperdicio de agua, y heces y orina excretadas. También se observa el comportamiento y apariencia externa de los animales y se examina cualitativamente las heces y orina (textura y color).

Tras 45 días de suplementación se sacrificó a la mitad de los animales de cada grupo, con el fin de conocer los efectos del hierro hasta esa fecha, el resto del grupo continuó la suplementación hasta los 90 días.

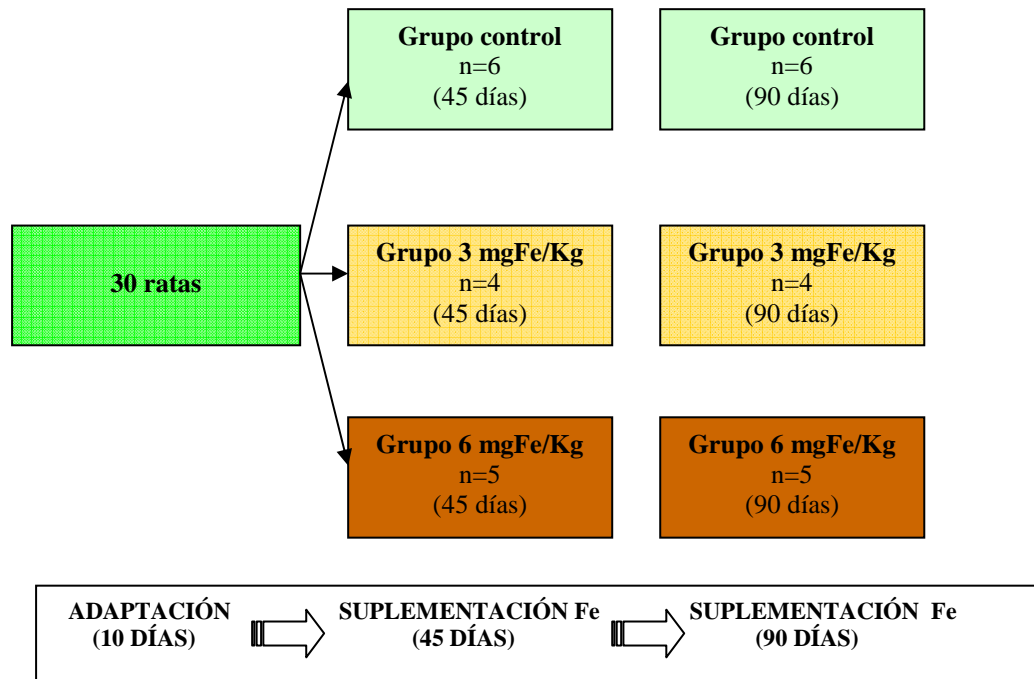


Figura. 1. Esquema representativo del procedimiento experimental efectuado

Todos los datos recogidos son registrados en archivos de Excel y posteriormente tratados con el programa estadístico Spss 14.0 para Windows.

Los animales fueron anestesiados y puestos en posición supina. Posteriormente se procedió a la abertura de la cavidad abdominal recogiendo 1 ml de sangre venoso procedente de la vena cava inferior, la cual fue guardada en un eppendorf impregnado con citrato. Parte de esta sangre se destinó para el análisis de la fracción corpuscular (hematíes y leucocitos) y el resto se congeló a -80°C para su estudio posterior. Acto seguido se procedió al sacrificio del animal por dislocación cervical, extrayéndose rápidamente los órganos y tejidos a estudio: corazón, bazo, hígado, riñones, sóleos y tibiales anteriores. Todos ellos son lavados y pesados en una balanza electrónica modelo Cobor Precision C-300-SX (d.e. 0,01 g).

Para el recuento celular se procedió manualmente a contabilizar el número de leucocitos y hematíes contenidos en 1 mm^3 de sangre, a través de una cámara de recuento de Neubauer mejorada.

Posteriormente fueron cortados los tejidos extraídos en piezas de aproximadamente 1 mm^3 y fijados en glutaraldeído a 2% (diluido en cacodilato de sodio 0.1M), durante 2 horas a 4°C . Después de tres lavados de 15 minutos en tampón de cacodilato de sodio 0.2M, a 4°C , las piezas fueron pos-fijadas con tetróxido de osmio a 2% (disuelto en cacodilato de sodio

0.1M), durante 2 horas a 4° C. Después de un nuevo lavado de 5 minutos con cacodilato de sodio, las muestras fueron sujetas al proceso de deshidratación con utilización de concentraciones crecientes de etanol (de 50% a 100%) durante 90 minutos. En la fase de impregnación las piezas fueron colocadas en misturas de etanol absoluto y LR White, con concentraciones crecientes de resina (50% e 75% v/v de etanol absoluto) durante 30 minutos cada una. Se siguieron dos períodos de 30 minutos cada uno, en LR White a 100% y el montado en cápsulas de gelatina cubiertas, durante toda la noche, a temperatura ambiente y en oscuro. La inclusión fue procesada en estufa a 60° durante 22 a 26 horas. Fueron realizados cortes ultra-finos con grosor de 6070 nm destinados a la observación en microscopio electrónico de transmisión. Los cortes fueron contrastados con una solución acuosa saturada de acetato de uranilo, durante 30 minutos, y con una solución de citrato de plomo, durante 15 minutos, con lavados en el inicio y en el final de cada uno de estos procedimientos. Para el estudio fue utilizado un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM 10A, a 60 Kvolts.

RESULTADOS

El peso medio de las ratas suplementadas con hierro fue inferior al grupo control. Dentro de los grupos de hierro, el grupo de 6 mg obtuvo una menor ganancia de peso que el de 3 mg.

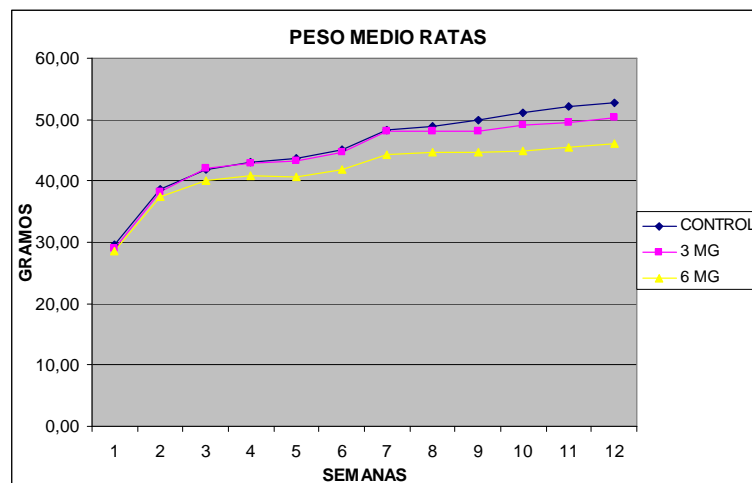


Figura 2. Cambios del peso corporal de las ratas del grupo control y las tratadas con distintas dosis de gluconato ferroso disuelto en agua durante un periodo de 12 semanas.

El consumo de comida fue similar entre el grupo control y el de 3 mg y algo inferior en el grupo de la dosis alta de hierro. Algo similar sucede con el agua ingerida y la orina excretada, en las cuales se encontró disminuido su volumen en las ratas de los grupos tratados

con hierro con respecto al grupo control. El volumen de agua ingerida por las ratas de los grupos tratados con las dosis de 3 y 6 mg de hierro (11,34 y 8,25 ml respectivamente) fue menor que el grupo control (13,43 ml) hallándose un nivel de significación menor de 0,05 entre este y los grupos suplementados con hierro. En la siguiente tabla se muestran los valores medios recogidos con la desviación típica y las variables donde se hallaron diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$.

Tabla 1. Registro cuantitativo sobre diversos aspectos metabólicos de cada grupo experimental con la correspondiente desviación típica. * $p < 0,05$ vs control

GRUPO	Control	3 mgFe/kg	6 mgFe/Kg
Comida ingerida	6,23 ± 0,56	6,37 ± 0,73	5,90 ± 0,45*
Agua ingerida	13,43 ± 4,59	11,34 ± 2,69	8,25 ± 1,05*
Orina	6,05 ± 3,03	4,23 ± 1,91*	2,95 ± 0,31*
Heces	2,71 ± 0,40	2,77 ± 0,52	2,46 ± 0,24*

En relación a la posible influencia de la suplementación de hierro sobre algunos de los principales órganos relacionados con el metabolismo del hierro, se ha hallado un mayor peso medio relativo del hígado de las ratas suplementadas con 3 mg de hierro respecto al grupo control, y un menor peso medio relativo del bazo del grupo experimental de 3 mg de hierro en relación al grupo control.

En la siguiente tabla se refleja toda la información referida a los valores medios relativos del peso de cada órgano.

Tabla 2. Peso medio relativo de cada grupo experimental con la correspondiente desviación típica. * $p < 0,05$ vs control

GRUPO	Control	S.D.	3 mgFe/kg	S.D.	6 mgFe/Kg	S.D.
	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)
Corazón	0,39 ± 0,051		0,38 ± 0,045		0,38 ± 0,031	
Hígado	3,41 ± 0,337		3,67 ± 0,334*		3,22 ± 0,481	
Riñones	1,24 ± 0,151		1,28 ± 0,252		1,33 ± 0,181	
Bazo	0,24 ± 0,036		0,21 ± 0,035*		0,23 ± 0,092	
Sóleo	0,83 ± 0,068		0,78 ± 0,108		0,83 ± 0,103	
Tibial anterior	0,26 ± 0,058		0,23 ± 0,049		0,28 ± 0,063	

En relación al estudio del número de leucocitos de los grupos suplementados y la duración del tratamiento revela diferencias estadísticamente significativas, hallándose un

menor número de glóbulos blancos en los grupos tratados con hierro. Mientras que el número de glóbulos rojos parece aumentar en el grupo suplementado con hierro de 6 mgFe/Kg grupos hasta los 90 días, sin ser estos resultados estadísticamente significativos.

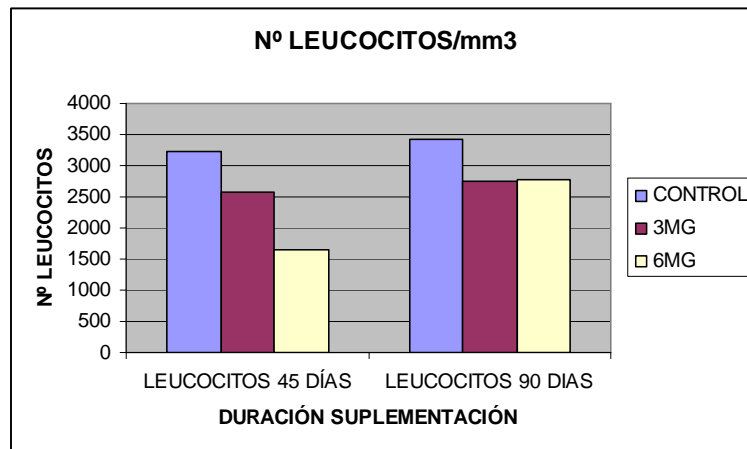


Figura 3. Valores medios del n°.de leucocitos/mm³ para los diferentes grupos experimentales al final de los 45 y 90 días de suplementación

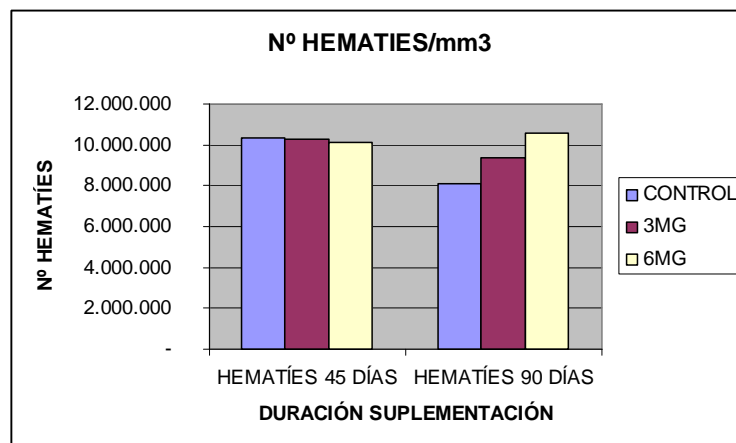


Figura 4. Valores medios del n°. de hematíes/mm³ para los diferentes grupos experimentales al final de los 45 y 90 días de suplementación

Con respecto al análisis del tejido en el microscopio hemos observado en el grupo de 3 mg y en el grupo de 6 mg, tanto en las células del corazón como en el músculo sóleo, la presencia de numerosos edemas, señales de fisión, edema mitocondrial y mitocondrias aberrantes, especialmente en los grupos tratados con 6 mg de hierro, lo que es sinónimo de daño tisular.

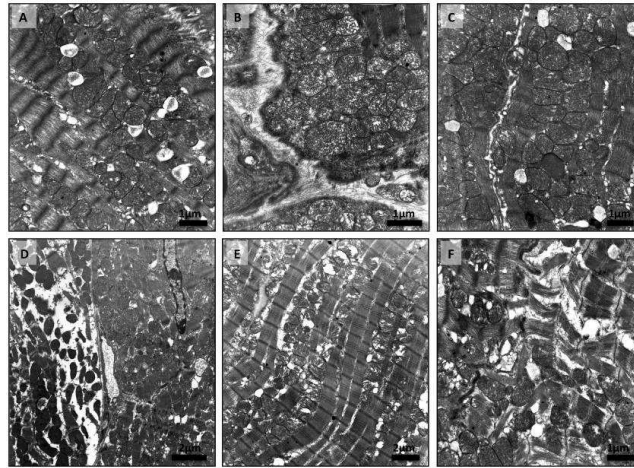


Figura 5. Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo cardíaco en animales del grupo experimental de 6 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. Es evidente, en A y C, la existencia de inclusiones lipídicas dispersas y en C es observable un ligero edema mitocondrial; en A también se puede visualizar un ligero edema del retículo endoplasmático. En D, E y F es evidente el acentuado edema intracelular así como el intenso edema mitocondrial.

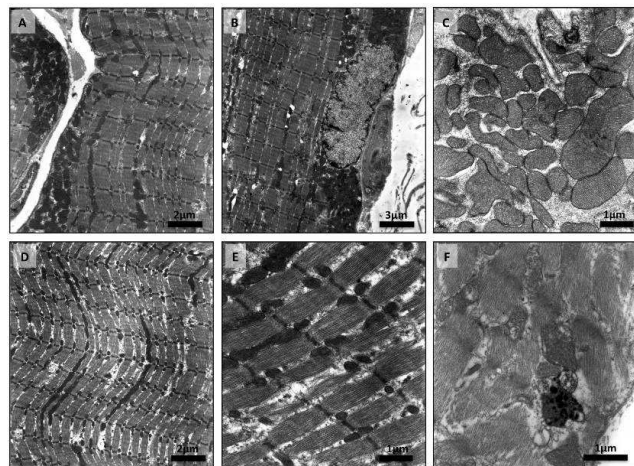


Figura 6. Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo soleus de animales del grupo experimental 3 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. En A y B son evidentes algunas inclusiones lipídicas dispersas así como una cantidad elevada de mitocondrias en la región subsarcolemal; en C son observadas mitocondrias subsarcolemales, de formato aberrantes, presentando una de ellas señales de fisión. D y F muestran mitocondrias de morfología normal y señales de edema intracelular; en F es observado un lisosoma secundario.

Los mayores niveles registrados en el análisis de la citrato-sintetasa y la glutatión oxidada en los grupos de 3 y 6 mg señalan la presencia de niveles altos de estrés oxidativo provocado por la suplementación de hierro.

También es registrada la gravedad de la evaluación semicuantitativa de las alteraciones estructurales estudiadas, siendo esta mucho mayor en el corazón que el sóleo, y dentro de los niveles de suplementación, la dosis de 6 mg de hierro ha producido una mayor cantidad de alteraciones que la de 3 mg.

DISCUSIÓN

En un estudio realizado con 28 ratas Wistar donde se utilizaron suplementos de diferentes compuestos y dosis de hierro no se halló diferencias estadísticamente significativas en relación a la ganancia o pérdida de peso de los grupos suplementados respecto al control (9), sin embargo en nuestro estudio conforme avanzó el periodo de suplementación las ratas de los grupos suplementados obtuvieron una menor ganancia de peso. Esto quizá pueda ser debido al sabor que deja el hierro al diluirse en el agua, provocando una menor ingesta de esta por parte de los animales. En el estudio de Uchida (9) se utilizó la intubación para administrar el hierro, por lo que esta hipótesis cobra una mayor importancia. Tampoco en el trabajo de Yamauchi (10) no se detectaron diferencias significativas en relación al peso corporal de los grupos suplementados y el grupo control, administrándose la solución ferrosa por intubación, Si bien es cierto que otros estudios (Iannotti, 2006; Lee, 2008...) realizados tanto en ratas como en niños de cortas edades, registraron una menor ganancia de peso con la suplementación de hierro.

Nosotros hemos descartado esta forma de suplementar por poder producir heridas e irritaciones en el tracto gastrointestinal de los animales, dado que el experimento posee una larga duración. Quizá este método sea recomendable para periodos de tratamientos inferiores a 15 días o un mes.

Otro estudio donde se analizaron los efectos gastroduodenales de tres preparados distintos de hierro registró una disminución estadísticamente significativa $p < 0,05$ de la ganancia de peso de las ratas anémicas tratadas con succinato ferroso y sulfato ferroso respecto al grupo tratado con TM/FMOA (11). En el estudio de Fischer (12) las distintas concentraciones de hierro utilizadas (dosis baja, adecuada, moderada y alta de sulfato ferroso) no afectaron al peso final de las ratas. Igualmente en el estudio de Appel (13) en el cual 250 ratas fueron tratadas con distintas dosis de hierro (sulfato ferroso y FeEDTA) durante un periodo de 60 días no se registraron diferencias estadísticamente significativas en relación a la media del peso corporal de las ratas entre los grupos.

También en nuestro estudio hemos hallado diferencias significativas en relación a la comida ingerida por el grupo control y la menor cantidad de comida ingerida por el grupo de 6 mgFe/kg, mientras que en el estudio de Uchida (9) y Yamauchi (10) no se observaron diferencias significativas en el consumo de comida, al igual que en otros estudios (13).

La cantidad de orina excretada fue menor en los grupos suplementados con respecto al control, siendo estadísticamente significativa ($p < 0,05$), esto parece lógico al observar que

también fue menor la ingesta de agua. Sin embargo en otros estudios parece disminuir también en las primeras seis semanas el volumen de orina en las ratas tratadas con altas dosis de hierro pero sin hallar diferencias significativas (10). En ese mismo trabajo se observó un aumento significativo del volumen urinario respecto al grupo control al final de las 13 semanas de administración de diferentes dosis de hierro en los grupos suplementados con 200 mg/Kg/día de lactoferrina, mientras que en el resto de los grupos suplementados con las dosis de 600 y 2000 mg/Kg/día de lactoferrina no se hallaron diferencias significativas. Algo similar sucedió en nuestro estudio, donde se disparó la excreción de orina del grupo suplementado con la dosis de 3mgFe/Kg de peso en las últimas semanas de tratamiento.

El número de glóbulos blancos descendió notablemente en los grupos tratados con hierro en relación al grupo control, hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre ambos grupos. Otros estudios (10) no observaron diferencias significativas pero si una ligera disminución.

Contrariamente a los leucocitos, los glóbulos rojos parecen aumentar con la ingesta de hierro pero sin hallarse diferencias estadísticamente significativas, ni en otros estudios (10) ni en el nuestro.

Algunos trabajos realizados sobre la suplementación de hierro exponen en sus resultados el peso relativo de los órganos que acaparan un mayor protagonismo en el metabolismo del hierro (10), sin obtener alguna diferencia estadística significativa. Estos órganos, corazón, bazo, hígado y riñón no parecen sufrir variaciones en su peso con la suplementación de hierro, aunque en nuestro estudio hemos hallado alguna diferencia significativa ($p < 0,05$) en el peso relativo del hígado y bazo, en el grupo control y el de 6 mg, y el control con el de 3 mg, respectivamente. Mientras que la tendencia del peso medio relativo del corazón tiende a mantenerse o disminuir ligeramente en los grupos suplementados con una mayor dosis de hierro, y la del riñón a mantenerse o aumentar ligeramente, así aparece reflejado en los datos de nuestro estudio y en otros trabajos (10). Existen también investigaciones en la literatura que han analizado la cantidad de hierro hallado en estos órganos. El estudio de Zhong (14) describe la diferencia existente entre un grupo de ratas con ejercicio físico y un grupo control sedentario en relación a la cantidad de hierro no hallado en diversos órganos, concluyendo que hay una mayor acumulación de este mineral en el grupo control y con el paso del tiempo la cantidad de hierro se ve aumentada en el hígado, bazo, riñón y corazón. También se registra en otro estudio una mayor cantidad de hierro en el hígado y bazo de una muestra de ratas a las cuales se le inyectó diferentes dosis de hierro

dextran (15). Fischer (12) obtuvo en su estudio un mayor peso relativo del hígado de las ratas que habían sido suplementadas con dosis más altas de hierro, con diferencias estadísticamente significativas $p < 0,01$, obteniendo una mayor concentración de hierro en el hígado y en el bazo, llegando incluso hasta 11,1 y 9,9 $\mu\text{mol/g}$ de tejido respectivamente.

En relación a los resultados presentados sobre la evaluación semicuantitativa de las alteraciones ultraestructurales, decir que, estos sugieren que la suplementación oral de hierro con dosis habitualmente administradas para corregir la deficiencia de hierro en niños, jóvenes y mayores que en muchos casos no presentan tal deficiencia, es inadecuada, tal como muestra nuestro trabajo y otros estudios donde se han registrado indicadores de un mayor nivel de estrés oxidativo en los grupos suplementados con hierro (16-18).

Existen otros trabajos realizados en humanos que confirman también este aumento del estrés oxidativo tras un periodo de suplementación (19-21). La suplementación con compuestos de hierro, especialmente el sulfato ferroso, aumenta el estrés oxidativo, incrementando la producción de especies reactivas de oxígeno que pueden dañar los lípidos, el ADN y las proteínas así como producir daños y muerte celular.

En nuestro estudio y al tratarse de animales de experimentación hemos profundizado en el conocimiento de lo que sucedía a nivel celular, hallándose evidencias de daño (degeneración celular, zonas necróticas y/o pérdida de la organización tisular) en los tejidos analizados, tanto en el músculo sóleo como en el corazón. Siendo este último órgano el más afectado. La muestra perteneciente a los grupos de 6 mgFe/kg de peso registró un mayor daño celular que el grupo de 3 mgFe. No hallándose apenas alteraciones en el grupo control.

En otro estudio (22) realizado en animales donde se suplementó a un grupo de la muestra con un suplemento de hierro y al otro grupo se combinó esa suplementación con un preparado de proteína de leche, se confirmaron los efectos protectores de la proteína de leche previniendo en parte las alteraciones en el estado antioxidante provocadas por la suplementación de hierro y los efectos de estas en los tejidos.

Otros estudios han confirmado también el aumento de niveles de GSSG y otros marcadores del estrés oxidativo en otros órganos, así en el estudio de Lykkesfeldt y cols. (23) se estudió el efecto de la suplementación de hierro combinado con un lípido soluble sobre el daño oxidativo producido en el hígado y en el cerebro, se constataron aumentos en la GSSG hallada en el hígado pero no se registraron cambios en el cerebro, lo que confirma que el cerebro está bien protegido frente a la sobrecarga de hierro combinado con lípidos solubles.

CONCLUSIONES

El objetivo de nuestro trabajo fué estudiar las posibles alteraciones orgánicas que podían producir diferentes dosis de hierro administradas en dos periodos de tiempo, 45 y 90 días en animales que no padecían anemia o deficiencia de hierro. Los resultados mostraron una menor ganancia de peso de las ratas suplementadas con hierro, así como una menor cantidad de agua ingerida y orina excretada por estas. Quizá la menor cantidad de orina excretada guarde relación con la menor cantidad de agua ingerida y esta a su vez puede ser debido a un mal sabor que provoca el hierro en el agua y que por tanto las ratas de este grupo pudiesen tenerlo en cuenta a la hora de ingerir agua.

En relación a la parte de la investigación que trató el estudio de los distintos órganos involucrados en el metabolismo del hierro, no podemos confirmar una estrecha relación entre la carga de hierro y el aumento o disminución del peso de estos tejidos. Tal vez precisaríamos de un mayor tamaño de la muestra.

En el aspecto relacionado con los parámetros hematológicos hay que resaltar la disminución en el número de glóbulos blancos de los grupos tratados con hierro respecto al control y el ligero aumento del número de hematíes, aunque en este último caso no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Con respecto al análisis del estrés oxidativo decir que la actividad de la GSSG se ha de medir conjuntamente con la actividad de la GSH, dado que una aumenta (GSSG, forma oxidada) en pro de la disminución de la otra (GSH, forma reducida). Los aumentos registrados de la GSSG tanto en el músculo como en el corazón indican la oxidación a la que estuvo expuesto el organismo de los animales suplementados con 3 y 6 mg, disminuyendo los valores de GSH especialmente en el grupo de 6 mg, y sin registrarse disminución alguna en el grupo de 3 mg. Todo esto confrontándolo con la disminución de la actividad de la CS junto a la aparición de señales de fisión o edemas mitocondriales, registrados en el estudio citológico a través del microscopio electrónico, sugieren que la actividad oxidativa está comprometida.

Por lo que es necesario un mayor control en la prescripción de suplementos de hierro entre la población escolar y juvenil y especialmente en deportistas con el fin de poder realizar una práctica deportiva saludable. Tal como hemos podido comprobar en este trabajo, la suplementación de hierro en animales que no padecen anemia ocasiona daños en distintos tejidos produciendo un aumento del estrés oxidativo.

Antes de realizar una suplementación farmacológica inadecuada de este mineral, el niño o el deportista debe someterse a un estudio exhaustivo de su dieta diaria, así como la realización de una analítica sanguínea para descartar una posible deficiencia de hierro o anemia. En el estudio de esta analítica debe tenerse en cuenta el registro de algunos marcadores recomendados por los expertos y que guardan una estrecha relación con los niveles de hierro en el organismo, tales como los niveles de ferritina, hierro sérico o hemoglobina. Además, para una mayor validez y fiabilidad de los datos de la analítica, el deportista debe disminuir la carga de entrenamiento los días previos a este examen, con el objetivo de que no se produzca la “pseudoanemia”, una falsa anemia causada por un aumento del volumen plasmático debido al entrenamiento y una ligera disminución aparente de la hemoglobina, provocada por este aumento del volumen plasmático, lo que puede conllevar a una incorrecta interpretación de los resultados.

Nuestro estudio, al igual que la mayoría de los trabajos analíticos experimentales presentó una principal limitación, la carencia económica para poder trabajar con un número mayor de animales. Convendría seguir realizando este mismo protocolo en otros estudios con el fin de tener un mayor número de resultados y poder así compararlos correctamente. Sería óptimo tener una muestra compuesta por 200 ratas para una mayor fiabilidad de los resultados.

También se observa en la revisión bibliográfica realizada la utilización de diferentes protocolos de administración del hierro con lo que resulta complejo contrastar los resultados entre todos los trabajos. Muchos de estos estudios no coinciden en el protocolo de suplementación, especialmente en lo referente a *dosis diaria, modo de administración y periodo de tratamiento, fármaco utilizado, presencia de otros compuestos que pueden facilitar o inhibir la absorción del hierro, etc.* Para futuros estudios se recomienda utilizar protocolos comunes o experimentar los efectos producidos por una suplementación por un periodo superior a 3 meses, con estandarización de las condiciones de administración.

También sería recomendable utilizar este mismo protocolo en ratas que hiciesen un programa de ejercicio aeróbico, puesto que como ya hemos visto en la revisión bibliográfica, el hecho de hacer ejercicio conlleva a una mayor utilización de este mineral.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. MOTIVACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La idea de este proyecto de investigación nace en el año 2005 a raíz de una reunión, en la ciudad de Oporto (Portugal), entre el director de este trabajo el Dr. Jose Luis García Soidán (Universidade de Vigo) y el co-director, el catedrático en medicina Dr. José Alberto Ramos Duarte (Universidad de Oporto). Es allí donde les planteo mi inquietud en conocer un poco más el ámbito de la suplementación de hierro en relación a la posible toxicidad que pueda producir cuando no se padece anemia ni deficiencia alguna de este mineral, pues a raíz de mi experiencia como atleta, he percibido que en el ámbito deportivo es frecuente ver como entrenadores recomiendan la suplementación de un compuesto de hierro cuando el deportista manifiesta cierto estado de fatiga o cansancio, sin realizar un estudio que cerciore el déficit de este mineral.

En la revisión bibliográfica realizada existen una gran cantidad de trabajos que abordan los beneficios de la suplementación de hierro en deportistas anémicos y/o con deficiencia de hierro. Estos estudios poseen una doble línea de actuación, por un lado registran los beneficios a nivel de reestablecimiento de los valores normales de diversos marcadores de hierro, como son la ferritina, hierro, hemoglobina, etc. y por otro lado, registran los beneficios a nivel de mejora del rendimiento deportivo, especialmente lo que atañe a la mejora de la capacidad aeróbica.

Pero paralelamente a estos beneficios, algunos estudios analizan los posibles inconvenientes de la suplementación de este mineral. Y es aquí donde nosotros deseamos intervenir y dar un paso más en el conocimiento de la suplementación de hierro, que es el estudio de la posible toxicidad que puede producir este mineral, no solamente en aquellos casos donde existe deficiencia o anemia, sino que en aquellos casos donde existen niveles normales de hierro, pues tal como hemos comentado anteriormente sospechamos, en algunos casos, de una inadecuada e incorrecta suplementación de hierro en el ámbito deportivo.

En la década de los 70 y 80 se realizaron un gran número de investigaciones sobre el hierro, en la mayoría de ellas se buscaba una posible mejora en el rendimiento físico con la suplementación de este mineral. A día de hoy se sabe que, en sujetos con deficiencia de hierro, existe una recuperación y por tanto homeostasis en los valores hematológicos dependientes de este mineral, tales como hemoglobina, ferritina, etc. Sin embargo no está de todo claro que exista una mejora del rendimiento deportivo o beneficio alguno con la

suplementación de hierro en jóvenes o deportistas no anémicos, ni tampoco son muy conocidos los niveles de toxicidad y efectos secundarios que puede producir un exceso de este mineral.

En la década de los 90 y hasta la actualidad apenas se registran investigaciones sobre este mineral, abordando la mayoría de los trabajos el estudio de otras sustancias ergonutricionales como la creatina, vitaminas, aminoácidos, etc. No obstante, la toxicidad producida por el hierro no es muy conocida por muchas de las personas que recomiendan su suplementación. Es necesario un mayor número de estudios que aborden esta temática para corroborar los efectos tóxicos de la suplementación innecesaria de hierro.

El estudio de los efectos de la suplementación de hierro en animales de experimentación no anémicos es el principal motivo para llevar a cabo esta investigación. Comprobar los niveles de toxicidad que puede producir diferentes dosis de hierro administradas en diversos periodos de tiempo, es la causa por la cual el autor de este trabajo y sus directores ponen a estudio si los jóvenes, deportistas, entrenadores o médicos conocen realmente los efectos negativos de una incorrecta prescripción de la suplementación de este mineral en aquellos casos donde no existe anemia o deficiencia confirmada a través de una correcta analítica sanguínea.

1.2. OBJETIVOS

El objetivo general de la investigación es detectar y describir las posibles alteraciones producidas en distintos órganos y metabolismo tras la suplementación crónica de hierro.

A su vez, hemos planteado estos objetivos más específicos para cada una de las fases de las que consta el proyecto.

- 1) Realizar un análisis descriptivo acerca del metabolismo de las ratas durante el periodo de suplementación, controlando su peso, la cantidad de comida y bebida ingerida, la cantidad de orina y heces excretada, el color de la piel, etc.
- 2) Estudiar cuantitativa y cualitativamente las alteraciones producidas en distintos órganos tras la suplementación continuada de hierro a diferentes dosis (3 mg y 6 mg) en ratas no anémicas durante un periodo de 45 días y 90 días.
- 3) Estudiar cuantitativamente las alteraciones hematológicas producidas por la suplementación continuada de hierro a diferentes dosis (3 mg y 6 mg) en ratas no anémicas durante un periodo de 45 y 90 días.
- 4) Analizar el estrés oxidativo producido en las células del miocardio y del sóleo en ambos periodos de tiempo de la suplementación de hierro.
- 5) Realizar un estudio semicuantitativo de las alteraciones ultraestructurales producidas tras un periodo de suplementación de hierro con dosis de 3 y 6 mg en el corazón y el músculo sóleo.

1.3. HIPÓTESIS

Las hipótesis que nos planteamos fueron las siguientes:

- 1) Existe relación entre el número de leucocitos y la suplementación de hierro.
- 2) La suplementación de hierro en animales no anémicos, influye sobre el número de hematíes.
- 3) Hay un aumento del estrés oxidativo con la suplementación de hierro.
- 4) Aparecen cambios estructurales en las membranas celulares de diversos tejidos tras el periodo de suplementación con hierro.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 EL HIERRO: CONCEPTOS BÁSICOS

2.1.1. EL HIERRO COMO MINERAL

El hierro (del latín *ferrum*) es uno de los minerales más abundantes de la corteza terrestre y ha jugado un papel importante en los fenómenos evolutivos del planeta desde hace miles de millones de años, produciendo una gran variedad de sistemas biológicos e interviniendo en numerosos procesos bioquímicos.

Inicialmente se encontró formando parte de un sulfuro mineral, la pirita, estando también presente en otros minerales como la hematites, magnetita, limonita entre otros, además del agua.

También está presente en organismos unicelulares (bacterias, algas, protozoos, etc.), generando oxígeno a partir del agua del mar y hasta organismos multicelulares superiores, como las plantas y los animales. En el ser humano el hierro se encuentra mayoritariamente formando parte de la hemoglobina, interviniendo en numerosos procesos bioquímicos y fisiológicos (7).



Figura 7. En la tierra existen numerosos minerales en cuya composición está presente el hierro

Pertenece al grupo de minerales denominados elementos de transición. Su número atómico es el 26 y se simboliza con las siglas *Fe*. Posee una masa atómica de 55,845. Químicamente el hierro es un metal activo. Se oxida fácilmente en contacto con el aire y tiene propiedades ferromagnéticas.

Se combina con los halógenos (flúor, cloro, bromo, etc.) y con el azufre, fósforo, carbono y silicio. Forma compuestos con valencia ⁺² (compuestos ferrosos) y con valencia ⁺³

(compuestos férricos). Los compuestos de hierro ⁺² se oxidan con facilidad a compuestos de hierro ⁺³. Sus estados de oxidación varían desde -2 a +6.

El ser humano a lo largo de la historia ha dado diversos usos a este mineral, desde construcciones bélicas, armas, etc., hasta medicamentos. En Egipto (1500 A.C.) el óxido férrico era utilizado para el tratamiento de la calvicie y en Grecia (1200 A.C.) se juntaba con el vino y se utilizaba como tratamiento de la impotencia masculina (24). Los romanos lo utilizaban para las hemorroides, edemas y cistitis y los árabes ingerían aguas con óxido para fortalecer el organismo.

Tras estas creencias, se dio paso a unas evidencias empíricas sobre el uso y propiedades curativas de este mineral. Fue Sydenham en 1681 quien lo utilizó para mejorar el aspecto pálido y débil de las personas enfermas y dotarle de una mayor fuerza (24). En el siglo XVIII se comprueba la presencia de hierro en sangre, es en este momento cuando la aplicación terapéutica de este mineral posee cierto fundamento científico. Así en 1832 Blaud, un médico francés, crea las píldoras denominadas con su propio nombre para combatir la anemia, estas estaban compuestas por 320 mg de sulfato ferroso y carbonato potásico.

También el hierro es esencial para las plantas ya que interviene en la fotosíntesis y en la fijación de nitrógeno además de otras muchas funciones. Al igual que sucede en el organismo de los humanos, un exceso de este mineral puede provocar un mayor estrés oxidativo (25;26).

En el ámbito de la nutrición, el hierro se engloba dentro del grupo de los oligoelementos (minerales traza), entendiéndolos a estos como aquellos minerales que el cuerpo humano necesita en cantidades inferiores a los 100 mg diarios. Estos minerales se conocen como microminerales. Dentro de estos el que mas importancia acapara es el hierro y en menor medida el cobre, cinc, selenio, cromo o selenio.

Por otra parte se encuentran los macrominerales, aquellos cuya CDR es mayor a 100 mg/día. El calcio, el fósforo o el magnesio son algunos ejemplos de estos macrominerales.

2.1.2. FUNCIONES DEL HIERRO EN EL ORGANISMO

De forma general, los minerales realizan dos de las tres funciones básicas de los nutrientes contenidos en los alimentos. Una de ellas es la construcción de los tejidos corporales y otra formando parte de enzimas implicándose en la regulación del metabolismo, tal como sucede en la contracción muscular, transporte de oxígeno, conducción del impulso nervioso, mantenimiento de las reservas de agua corporal, coagulación sanguínea, etc. La única función que no realizan con respecto a los demás nutrientes es la de proporcionar energía.

Si nos adentramos en el conocimiento del hierro, decimos que posee numerosas funciones dentro del organismo dependiendo del lugar donde actúe (músculo, pool, hemoglobina, etc.) y de la forma en que se encuentre (hemo, no hemo, unido a enzimas, combinado con el azufre, etc.). Principalmente se le atribuye la función de transporte y almacenamiento de oxígeno, la cual es desempeñada cuando se encuentra formando parte del grupo hemo y va unido a la globina, hemoglobina. Es importante también la presencia de hierro en diversas enzimas y procesos bioquímicos.

En las siguientes líneas se muestran las funciones de este mineral de forma detallada:

Transporte y almacenamiento de oxígeno

Al estar integrado en la hemoglobina el hierro participará en el transporte y almacenamiento de oxígeno.

Interviene en la fosforilación oxidativa, concretamente en la cadena respiratoria de transferencia de electrones

Dada las propiedades oxido-reductoras de este mineral, recordemos que los estados de oxidación del hierro van desde -2 a +6, le permite participar en la transferencia de electrones así como unirse de forma reversible a diferentes ligandos como pueden ser los átomos de oxígeno, nitrógeno y azufre (3;7;27).

Forma parte de la mioglobina y de las flavoproteínas

El hierro es un componente estructural de la mioglobina permitiendo el paso del oxígeno desde los eritrocitos a las mitocondrias del músculo, así como su almacenamiento.

Optimiza las funciones de diferentes enzimas de gran actividad metabólica

Dejando al margen la hemoglobina y mioglobina, el hierro puede unirse a una gran cantidad de enzimas tales como, las que contienen azufre, las que contienen hierro bajo forma de hemo, y enzimas que contienen hierro bajo forma de no hemo y no están asociadas al azufre. Algunas enzimas de gran actividad metabólica como la citocromo C oxidasa, la citocromo C reductasa, la peroxidasa, la xantina oxidasa, la NADH dehidrogenasa y la aconitasa ven favorecidas sus funciones cuando el hierro está presente. Bajo la forma de hemo forma parte del sitio activo de los citocromos, los que intervienen en múltiples y variadas vías metabólicas como las relacionadas con el metabolismo energético, con el sistema enzimático microsomal P-450, el cual participa en la síntesis de diversos esteroides como la aldosterona, corticosterona, pregnenolona, vitamina D₃, etc. (2;3;24;28-31).

Muchas de estas enzimas en las que está presente el hierro están involucradas en el mantenimiento de la integridad celular, tales como las catalasas, peroxidasas y oxigenasas (32).

Favorece la realización de numerosos procesos bioquímicos

Dadas las propiedades biológicas especiales del hierro, este puede participar en una gran cantidad de procesos bioquímicos. Al igual que muchas enzimas requieren de su presencia, por mínima que sea, para que puedan desarrollar su actividad metabólica.

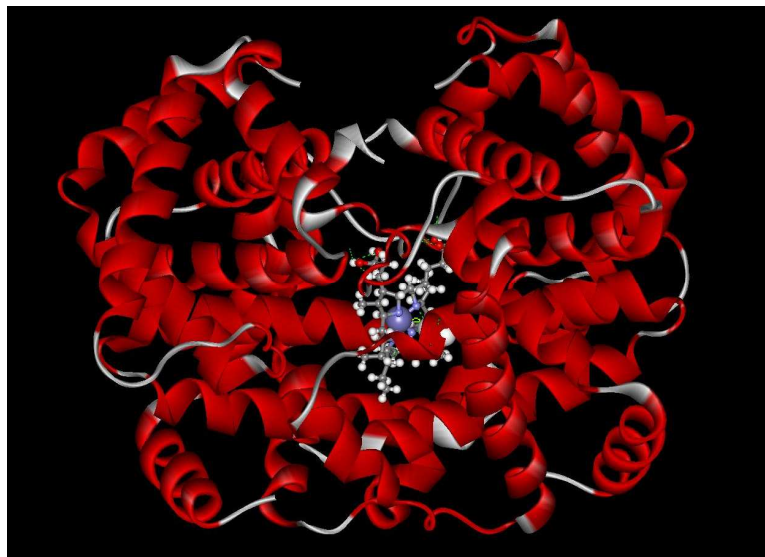


Figura 8. Molécula de hemoglobina (Peñuela, O.)(33)

2.1.3. MANIFESTACIONES DEL HIERRO DIETARIO

El hecho de ser el cuarto mineral más abundante de la corteza terrestre y por tanto estar presente en la propia tierra, hace que las plantas y animales se hayan servido de este para llevar a cabo algunas de sus funciones vitales. Posteriormente el hombre ha utilizado el mundo vegetal y animal como fuentes de alimentación conteniendo estos el hierro dietario.

En este apartado analizaremos la manifestación del hierro dietario, más próxima e importante, de cara a comprender los procesos metabólicos del ser humano que implica la existencia del hierro en los alimentos. Puesto que es de esta forma como lo ingiere el hombre. En una dieta equilibrada, cada 1000 calorías proporcionan 6 mg de hierro.

En general se entiende por mineral como aquel elemento inorgánico que se encuentra en la naturaleza y suele reservarse para los elementos que son sólidos, de ahí que al decir mineral se hable de un elemento, pero un elemento no es necesariamente un mineral.

En el ámbito de la nutrición, se entiende por mineral aquellos elementos incluidos en la dieta que son esenciales para los procesos vitales.

El hierro dietario puede presentarse básicamente de dos formas: **hierro hemo** y **hierro no hemo** (7). La principal diferencia entre estos radica en la forma en que se lleva a cabo los procesos de absorción desde los enterocitos.

El hierro hemo

El hierro hemo (ferroporfirina) es el componente mayoritario de la hemoglobina y forma parte de la mioglobina, citocromos y muchas otras hemoproteínas. Las porfirinas son sustancias químicas necesarias para la respiración celular, su estructura es similar a la de un anillo orgánico complejo, llamado protoporfirina, a la que se une en su parte central un metal, que en este caso es el hierro (átomo de hierro divalente), el cual forma 6 uniones coordinadas; cuatro de ellas se forman con la protoporfirina y de las dos restantes, una lo hace con el nitrógeno de la fracción proteica y la otra queda libre como sitio de unión para una molécula de oxígeno (34).

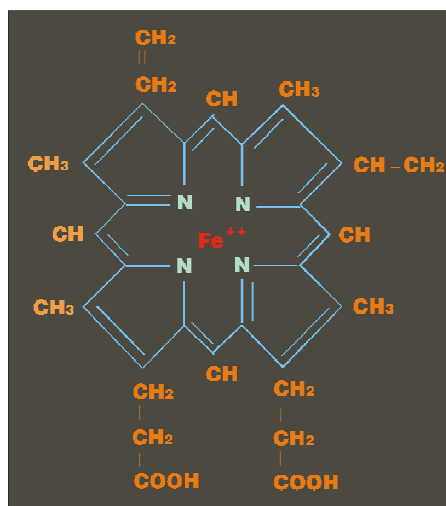


Figura 9. Estructura química del grupo hemo (35)

El hierro hemo representa solamente el 5-10 % del hierro dietario, pero su absorción puede ser de hasta el 35% comparada con el 15% del hierro no hémico (36). A modo de ejemplo, 30 gramos de carne magra proporcionan aproximadamente 1 mg de hierro hemo. En la siguiente tabla se muestra la comparación de diversas características del hierro hemo y hierro no hemo desde varios puntos de vista.

Tabla 3. Diferencias de las dos manifestaciones del hierro presentes en la dieta

HIERRO HEMO	HIERRO NO HEMO
Orgánico	Formado por sales inorgánicas
Soluble	Insoluble (soluble a ph=4)
Ión ferroso (Fe ²⁺)	Ión férrico (Fe ³⁺)
Se encuentra en el intestino y estómago	Se acumula en los depósitos como componente de la ferritina
Unido a proteínas: Forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y otras hemoproteínas.	No está unido a proteínas (grupo hemo)
Constituye el 5-10 % del hierro dietario (dieta occidental)	Constituye el 90-95% del hierro dietario
Representa el 40% de hierro en alimento animal	Representa el 100% de hierro en alimento vegetal y el 60% del hierro de origen animal.
Presenta una absorción muy alta (10-35%). Hasta 35 veces superior al hierro no hemo.	Absorción muy baja (1-15%). Esta depende de la combinación con otros alimentos, de la concentración de ph y de su concentración.
Se oxida con facilidad	Debe reducirse y mantenerse solubilizado (sustancias que favorecen su solubilización) para ser absorbido (estómago).
Presente en las carnes	Presente en vegetales, legumbres, pescados, frutos desecados, cereales y en la mayoría de los fármacos para la deficiencia de hierro.
Su absorción depende de la cantidad de hierro almacenado en el organismo.	Al depender su absorción de otros alimentos, existirán ciertas sustancias que inhiben su absorción y otras que la facilitarán.

El hierro no hemo

A diferencia del anterior no va unido a un grupo hemo. Está formado por sales inorgánicas de este metal. Se encuentra en los vegetales, en frutos desecados, legumbres, productos integrales y en la mayoría de los fármacos utilizados para tratar la deficiencia de hierro. Aproximadamente seis albaricoques desecados o media taza de legumbres proporcionan 3 mg de hierro no hemo. La absorción del hierro no hemo dependerá de su concentración, del pH y de la combinación con otros alimentos y sustancias a la hora de ingerirlo (2;7;37).

En su forma ferrosa debe mantenerse solubilizado para ser absorbido. Algunas sustancias como el ácido ascórbico, azúcares y aminoácidos que contienen azufre, favorecen su solubilización.

Existen estudios que confirman que el hecho de ingerir hierro a través de una dieta vegetariana se ha asociado a reservas de hierro significativamente más bajas, lo cual sugiere un efecto beneficioso del hierro hemo (38), tal como reflejan otros autores en un estudio que confirma el valor de la carne en la prevención de la reducción de las reservas de hierro y de la importancia de las proteínas en la dieta, siendo eficaz noventa gramos de carne de vacuno al día (39;40).

2.1.4. BIODISPONIBILIDAD

La biodisponibilidad hace referencia al grado en que el hierro se encuentra disponible en el interior del cuerpo tras su ingestión. En general, la mayoría de los minerales presentan una absorción baja, siendo el hierro uno de los minerales que menos absorción muestra. Su CDR es 10 veces la cantidad realmente necesaria por el organismo, porque sólo el 10% del hierro consumido en la dieta, aproximadamente 1-1,5 mg, es absorbido por el organismo.

Asimismo, tal como se comenta en el apartado siguiente, dependiendo del tipo de hierro dietario, hierro hemo o no hemo, la cantidad de hierro disponible en los alimentos será distinta. En la siguiente tabla observamos el contenido de hierro total de numerosos alimentos y una estimación de la cantidad de hierro disponible para ese mismo alimento.

Tabla 4. Cómo incrementar el hierro en la dieta. (American Collage of Sports Medicine, 2000) (41)

Alimento (100 g. cocinado sólo carne magra)	Hierro total (mg)	Hierro disponible (mg)*
Ternera		
Bistec, carne asada a la brasa	3.22	0.48
Solomillo a la parrilla	2.85	0.42
Picadillo, magro, a la parrilla	1.79	0.27
Cerdo		
Filete asado	1.31	0.27
Jamón deshuesado, 5-11% grasa	1.19	0.14
Cordero		
Solomillo asado	2.07	0.31
Pollo		
Pechuga asada	0.88	0.13
Pescado		
Atún enlatado	2.72	0.31
Marisco		
6 ostras medianas crudas	5.63	0.63
Cereales**		
½ taza de Cereales con pasas enriquecidos	4.5	0.23
½ taza de harina de avena cocinada	0.80	0.04
Frutas**		
7 mitades albaricoques secos	1.16	0.06
3 mitades ciruelas secas	0.84	0.04
2 cucharadas de pasas	0.38	0.02
Legumbres **		
½ taza alubias cocidas	2.58	0.13
½ taza garbanzos cocidos	2.37	0.12
* Hierro disponible para individuos con reservas de hierro de 500 mg = (hierro hemo x 23%) + (hierro no hemo x 5%). Para este cálculo, se utilizó una cifra del 5% de absorción para el hierro no hemo. El contenido de hierro hemo de la ternera, el cordero y el pollo se estableció en una media del 55% y el contenido del hierro hemo del cerdo, el hígado y el pescado en el 35%.		
** Hierro disponible para individuos con reservas de hierro de 500 mg = (hierro no hemo x 5%). Para este cálculo, se utilizó la cifra de absorción del 5% para el hierro no hemo		

La cantidad de hierro no hémico biodisponible, se ve influenciada por la forma química en que se encuentre en la luz del intestino proximal, y esta a su vez, está condicionada por una serie de factores endógenos y exógenos que determinan la solubilidad del metal. De los factores endógenos, es posible que intervengan manteniendo el hierro apto

para ser absorbido, la mucina (elemento lubricante que facilita la masticación) y las sales biliares antes de formar micelas. También influye la edad, sexo, genética, ph gastrointestinal, etc.

Dentro de los factores exógenos, se encuentra la dieta y por tanto todo lo que esta conlleva, interacción con otros nutrientes, concentración....

La forma química en que se encuentre el hierro es la principal característica susceptible de modificar la biodisponibilidad de este. En un estudio reciente (36) donde niños de dos y tres años de edad de México fueron alimentados con alimentos fortificados con hierro, concretamente se utilizaron fórmulas lácteas (leche en polvo y maltodextrina) y hierro fortificado etiquetado con isótopos de hierro estable, se estudió la absorción del hierro (biodisponibilidad), siendo esta estimada basándose en la cantidad de hierro etiquetado incorporado en la hemoglobina (glóbulos rojos) después de 14 días. En este estudio se utilizaron tres tipos de fuentes de hierro: sulfato ferroso, fumarato ferroso y una mezcla de hierro elemental en polvo con EDTA sódico. Siendo el sulfato ferroso el que presenta una mayor absorción (8%) tres y cinco veces más alta que los otros dos compuestos respectivamente.

Otros de los factores que influyen en la biodisponibilidad de este mineral lo encontramos en el tiempo de cocción de los alimentos. La cocción de los alimentos facilita la ruptura de las sustancias inhibidoras unidas al hierro, favoreciendo la disponibilidad del metal en el intestino. Sin embargo tiempos de cocción prolongados de los alimentos disminuyen la biodisponibilidad de este mineral (42).

En general, el hierro es uno de los minerales que poseen una menor absorción, la CDR es 10 veces la cantidad realmente necesaria para el organismo, porque aproximadamente sólo el 10% del hierro consumido en la dieta es absorbido por el organismo.

2.1.5. COMBINACIÓN DE HIERRO CON OTROS ALIMENTOS

Como ya se ha descrito anteriormente, el hierro puede estar presente en los alimentos de dos formas: hierro hemo (carnes) y no hemo (vegetales, cereales, etc.). Este último tipo de hierro, en su forma ferrosa, debe mantenerse solubilizado para ser absorbido. La absorción mineral puede ser inhibida por algunos compuestos de los alimentos y la ingesta de un mineral puede perjudicar a la absorción de otros. Así, hay presentes en los alimentos distintos factores que afectan a la cantidad de hierro absorbido por el organismo. El factor proteico del músculo (FPM) es una propiedad de las proteínas musculares presentes en las carnes, aves y pescados que facilita la absorción del hierro no hemo. La existencia de este factor se dedujo por el hecho de que pequeñas cantidades de carne añadidas a las verduras o los cereales incrementaban la absorción del hierro no hemo. Algunas sustancias como el ácido ascórbico, azúcares y aminoácidos que contienen azufre, evitan la oxidación del hierro ferroso a la forma férrica favoreciendo así su solubilización y absorbiéndose más rápido.

Sin embargo, en la dieta existen diferentes compuestos como el ácido tánico del té, los fitatos de los vegetales, los oxalatos, los fosfatos y el exceso de fibra que forman complejos insolubles con el hierro, y por tanto, dificultan su absorción o potencian su rápido transporte por el intestino. El té, por ejemplo, rico en taninos reduce la absorción del hierro en un 60%.

Tabla 5. Grupos de alimentos más comunes que contienen hierro hemo y no hemo

Alimentos ricos en hierro hemo	Alimentos ricos en hierro no hemo
<ul style="list-style-type: none">- Carnes rojas.- Pollo.	<ul style="list-style-type: none">- Vegetales.- Pescados.- Cereales.- Legumbres.- Productos integrales.- Frutos desecados: albaricoques, dátiles, higos, pasas, ciruelas...

En la siguiente tabla hemos realizado una recopilación de algunas sustancias que facilitan o inhiben la absorción del hierro no hemo extraídas de diversos estudios sobre este mineral (43-56).

Tabla 6. Alimentos facilitadores e inhibidores de la absorción del hierro no hemo

Facilitan la absorción del hierro	Inhiben la absorción del hierro
<ul style="list-style-type: none"> - Ácidos orgánicos: ácido ascórbico o vitamina C (Naranja, kiwi, mandarina, pomelo etc.), succínico, cítrico, láctico, málico (manzana), tartárico (uva)... - Carnes: especialmente la cisteína y otras aminoácidos azufrados. - Azúcares: fructosa, sorbitol. - Vitamina A y betacarotenos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Fenoles: taninos, polifenoles (te, café, malta, etc.) - Fosfatos, carbonatos, fitatos (productos de soja) y oxalatos (vegetales de hoja verde: espinaca y remolacha). - Fibra: salvado y lignina. - Proteínas: albúmina y yema del huevo, proteínas de las legumbres. - Otros elementos inorgánicos: Ca, Mn, Cu, Cd, Co, Zinc, etc.

Alimentos que favorecen la absorción del hierro

Las carnes y los ácidos

En algunas carnes el hierro se encuentra en forma hemo, mientras que en los vegetales, leche, huevo y otras carnes se encuentra en forma no hemo. En este último caso la absorción dependerá de otros componentes de la dieta, además de la cantidad almacenada en el organismo.

El ácido ascórbico y la carne, son los principales facilitadores de la absorción del hierro. El ácido ascórbico reduce el hierro férrico a hierro ferroso y forma con el hierro, complejos solubles de pequeño tamaño molecular. Mientras que la carne es una fuente de quelantes para formar complejos solubles, además de estimular la secreción gástrica.

Si bien el mecanismo por el cual ocurre no ha sido claramente descrito (28). Existen evidencias experimentales que sugieren que la composición en aminoácidos de las proteínas constitutivas de la carne sería un factor determinante, asignándole a la cisteína, a otros aminoácidos azufrados y a los péptidos que los contienen dicho efecto promotor (48-53).

El ácido fólico es otro ácido que favorece la absorción de hierro. En un estudio realizado en Méjico donde se suplementó con hierro por vía oral a una muestra de población y hierro con folato a otra muestra se constató que los participantes en la terapia de hierro con folato aumentaron sus niveles de hemoglobina, este aumento fue mayor en personas que padecían anemia (57).

Los azúcares y las vitaminas

Los azúcares actúan como facilitadores porque son quelantes del metal y los compuestos azúcar-hierro son solubles.

La vitamina A y los beta-carotenos parecen aumentar la solubilidad del hierro contenido en los alimentos, además de disminuir el efecto inhibitorio producido por los fitatos y polifenoles (54-56).

Alimentos que inhiben la absorción de hierro

La forma como actúan los inhibidores es formando complejos insolubles con el hierro, resistentes a las acciones químicas del tracto gastrointestinal. Los más frecuentes son los fitatos y taninos, presentes en la mayoría de alimentos vegetales. Estos compuestos producen la quelación del hierro dentro del lumen intestinal generando compuestos insolubles de hierro e impidiendo de esta forma que el mismo se encuentre biológicamente disponible para ser absorbido (58-63).

Los fitatos, fenoles, fosfatos y oxalatos.

Son junto a las legumbres y frutas los mayores inhibidores de la absorción de hierro, especialmente el salvado de cereales (fitato) y el té y el café (polifenoles). Los fosfatos producen compuestos insolubles, principalmente con los iones férricos, inhibiendo consecuentemente su absorción(63-65).

Las proteínas y los frutos secos

Algunas proteínas de los frutos secos, la fosfoproteína de la yema del huevo y algunos elementos inorgánicos, reducen la absorción del hierro. La caseína, las proteínas del suero de la leche, la seroalbúmina bovina y las proteínas de la yema constituyen el grupo de las proteínas de origen animal que mayor efecto inhibitorio poseen. De las proteínas de origen vegetal la más importante es una fracción derivada de la proteína de soja denominada 7S congingina, que demostró poseer un efecto inhibitorio sobre la absorción del hierro no hémico similar al producido por los fitatos (49;66-69).

Algunos elementos inorgánicos

Algunos metales cercanos al hierro en la tabla periódica pueden tener potencialmente un efecto negativo en la absorción de este. De ellos el más significativo es el zinc, el cual se suele incorporar como suplemento junto al hierro en determinados grupos de población con

una condición fisiológica especial, como pueden ser niños y embarazadas. Se ha demostrado que el zinc interfiere en la absorción del hierro sólo cuando su concentración molar es muy superior a la del hierro (proporción 2:1) y ambos minerales son suministrados sin ningún alimento (70;71). Sin embargo, cuando ambos compuestos se administran en forma conjunta con los alimentos en dosis que están comprendidas dentro de los requerimientos nutricionales diarios, no se ha encontrado ninguna interacción recíproca en la absorción de los mismos (71-76).

Otro mineral que puede influir es el calcio. Aunque el exceso de calcio reduce la absorción de hierro, la presencia de una cantidad adecuada de calcio ayuda a eliminar fosfato, oxalato y fitato que si se combinan con el hierro, inhiben su absorción.

El calcio es un potencial inhibidor de la absorción del hierro. Existen algunas contradicciones con respecto al grado de inhibición que produce en la absorción del hierro, como así también con respecto al mecanismo por el cual dicho efecto es ejercido. Minotti y cols. (1993) estudiaron el efecto inhibitorio de diferentes fuentes de calcio en la absorción del hierro, demostrando que tanto la forma química en la que se encuentra el calcio como el estado fisiológico con respecto al hierro, son factores determinantes en el efecto inhibitorio que produce el calcio sobre la absorción de hierro (28;77-82).

El cobre también produce cierto antagonismo con el hierro. Un alto nivel dietario de alguno de estos dos elementos reduce la absorción del otro, esta reducción se manifiesta en una disminución de los valores de hemoglobina (83). Si estos se encuentran en la forma de quelatos de aminoácido no habrá cambios significativos en los niveles de hemoglobina, no mermando por tanto su capacidad de absorción.

2.1.6. COMPUESTOS FARMACOLÓGICOS UTILIZADOS COMÚNMENTE PARA LA SUPLEMENTACIÓN DE HIERRO

El hierro y sus sales deben ser administrados sólo para el tratamiento o profilaxis de anemias por deficiencia de hierro. Principalmente se recomienda su administración por vía oral. Existen en el mercado numerosos fármacos destinados para la suplementación de hierro que contienen diversas formas de presentación de este mineral, siendo principalmente sales ferrosas solubles frente las sales férricas que son menos absorbibles. En la siguiente tabla se muestran las equivalencias de 60 mg de hierro elemental en los distintos tipos de compuestos con hierro (84):

Tabla 7. Compuestos utilizados comúnmente en la suplementación de hierro. Equivalencia hierro elemental

Equivalencia de 60 mg de hierro elemental		
Compuesto	mg	Denominación comercial
Sulfato ferroso (secado)	186	Feosol®, Show Fe®, Ferrogradumet®
Sulfato ferroso (heptahidrato)	300	Tardyferon®
Succinato ferroso (anhidro)	185	
Gluconato ferroso (dihidrato)	518	Fergon®, Losferron®.
Fumarato ferroso (anhidro)	183	Foliferrón®, Femiron®, Feostat®
Ascorbato ferroso (anhidro)	437	Ferro-semar®
Aspartato ferroso (tetrahidrato)	422	
Cloruro ferroso (tetrahidrato)	214	

El sulfato ferroso posee una alta biodisponibilidad (85) en comparación con otros compuestos. Es muy utilizado en la suplementación de hierro, siendo utilizado en la mayoría de los alimentos fortificados con hierro. En contraposición y al igual que otras sales ferrosas solubles utilizadas comúnmente posee una acción astringente que produce irritación gastrointestinal y dolor abdominal acompañado de náuseas y vómito, debido a que este tipo de sales se hidrolizan en el lumen, permitiendo el contacto del hierro con la mucosa lo que genera radicales libres con acción irritante para el tejido (86).

Los sacáridos son considerados ligandos potenciales no sólo por su abundancia a nivel biológico, baja toxicidad y alta solubilidad, sino también por su funcionalidad multi-hidroxi y su ya bien definida estereoquímica para la coordinación con metales (87), por tanto los complejos de hierro con ligando tipo azúcares ácidos son moléculas potenciales para uso farmacéutico, ya que su estabilidad es lo suficientemente alta para prevenir la hidrólisis del ión metálico en los sistemas biológicos.

Los aminoácidos son otros buenos ligandos del hierro, encontrándose en distintos estudios, una mayor absorción en compuestos de este mineral con quelato de aminoácidos en contraposición a la sal inorgánica (88). Esto es debido a que los aminoácidos lo protegen de reacciones químicas que pueden interferir en su absorción, reduciendo el potencial de irritabilidad gástrica al evitar que entre en contacto con la mucosa y aumentando su biodisponibilidad al utilizar rutas alternas de absorción, proporcionando un suministro rápido y seguro. Una vez absorbido en la mucosa, el quelato es hidrolizado y la liberación del hierro en el plasma y al resto de los tejidos es regulada como para cualquier otra fuente de hierro.

En relación a los ácidos carboxílicos de bajos peso molecular, tal como el ácido cítrico, ascórbico, fumárico, láctico, succínico o málico se han empleado para formar complejos monoméricos y solubles con hierro, previniendo su polimerización y por lo tanto promoviendo su absorción (89). A modo de ejemplo, el ácido fumárico puede formar una sal de fumarato ferroso con el hierro siendo esta equivalente al gluconato ferroso y al sulfato ferroso como hematínico y bien tolerado por los pacientes.

El gluconato ferroso, actualmente está desplazando la utilización del sulfato ferroso en la fortificación de alimentos, ya que se ha demostrado que este causa mucha menos irritación gástrica que otras sales ferrosas inorgánicas (90).

No se utiliza como suplemento para anemias el carbonato ferroso, debido a su muy baja disponibilidad. Por otra parte, la administración de hierro por vía intravenosa puede utilizarse en personas que no son capaces de tolerar el hierro por vía oral o en casos de patologías graves relacionadas con el déficit de este mineral (91).

Aunque no se consideren propiamente como fármacos, también suelen ser utilizados para la prevención y tratamiento de anemias los siguientes tipos de compuestos:

- Suplementos minerales.
- Suplementos vitamínicos/minerales.
- Alimentos fortificados: harinas, etc.

Clasificación de los distintos fármacos para la suplementación de hierro oral en base a su biodisponibilidad y la formación de quelatos de hierro

En la formación de compuestos entre metales y moléculas orgánicas existen 3 categorías: complejos metálicos, compuestos quelato o metal quelado y compuestos organometálicos.

Cuando un ión metálico se combina con un donador de electrones, la sustancia resultante es un complejo o compuesto de coordinación; si el donador o agente complejante tiene dos o más grupos donadores, de manera que se forman uno o más anillos entre este y el metal, se forma un quelato, pudiendo ser este bidentado, tridentado, etc. Por tanto, casi todos los metales pueden formar complejos y quelatos, pero los agentes complejantes y quelantes se restringen a moléculas con elementos no metálicos de los grupos V y VI, comúnmente nitrógeno, oxígeno y azufre. Los compuestos organometálicos son sólo aquellos que involucran un enlace covalente entre el metal y el carbono; tienen propiedades muy distintas a las de los complejos y quelatos metálicos y no se utilizan para la suplementación oral de minerales (92).

Según Dietfelbinger (93) los suplementos de hierro pueden agruparse en tres tipos: compuestos que suministran **hierro bivalente** para una **rápida puesta en libertad** en el estómago, tal como el sulfato ferroso, compuestos que suministran la **puesta en libertad sostenida** de hierro **bivalente** o **trivalente**, tal como TM/FMOA y succinato proteico, donde el hierro se une a una proteína y compuestos que suministran una **puesta en libertad rápida** de hierro **trivalente**. Este tipo de compuesto posee una escasa eficacia. Estudios con 14 preparaciones orales de hierro di- y trivalente muestran una biodisponibilidad del 46 al 100% para las preparaciones divalentes y del 6 al 29% para las trivalentes. Considerando que las terapias con hierro trivalente debe ser excluida por su escasa eficacia (94). El hierro en su estado de oxidación Fe^{3+} es considerado un ácido duro, mientras que en un estado de oxidación Fe^{2+} , se categoriza como intermedio, de manera que reacciona más favorablemente con bases suaves o intermedias.

Sin embargo en un estudio (21) realizado en niños prematuros donde se administró una dosis diaria durante 6 semanas hierro elemental a una muestra de 32 niños en forma de sulfato ferroso, y a otra muestra formada por 27 niños en forma de un complejo de hierro trivalente no iónico (FeIII) con polisacáridos de bajo peso molecular se concluye que la terapia de suplementación de hierro con preparaciones de hierro trivalente no iónico es tan efectiva y bien tolerada como el tratamiento de sulfato ferroso. Esto puede ser debido a que el complejo de hierro trivalente se absorbe como tal, sin liberar el hierro iónico que es responsable de la mayoría de los efectos adversos asociados con esta terapia.

Otro estudio (20) donde se experimentó la eficacia, tolerabilidad, adhesión y rentabilidad de una suplementación con sulfato ferroso frente a un compuesto de hierro polimaltosato (CHP) en mujeres embarazadas con anemia por deficiencia de hierro, constata

que los efectos adversos fueron significativamente más frecuentes en el grupo de sulfato ferroso, esto pudo deberse a la liberación de radicales libres que provocaron daños celulares, mientras que en el grupo con CHP no se liberan radicales libres, concluyendo que el CHP es efectivo y bien tolerado en el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro en mujeres embarazadas.

Concluimos por tanto, que los complejos y quelatos de hierro con ligandos orgánicos como aminoácidos, sacáridos y ácidos carboxílicos de bajo peso molecular, se presentan como una correcta alternativa para la prescripción de suplementos minerales con el objetivo de reestablecer los valores normales de hierro en el organismo y reducir la irritación gástrica y otros efectos nocivos para el organismo causados por este mineral cuando se ingiere aisladamente.

2.1.7. MECANISMO DE ABSORCIÓN DEL HIERRO EN EL ORGANISMO

Al igual que la mayoría de los alimentos, la absorción del hierro se realiza en el duodeno. Previamente, el hierro no hemo ha sido liberado de la matriz alimentaria y reducido a su forma ferrosa (más soluble) por los jugos digestivos del estómago que proporcionan un medio ácido y una serie de enzimas destinadas a tal fin (95-97). Sin embargo, las sales férricas no son solubles a pH 7, a diferencia de las ferrosas, por lo que en el medio alcalino del intestino el hierro férrico forma precipitados de hidróxido férrico insoluble, a menos que se encuentre quelado o unido a sustancias que ayuden a estabilizarlo y mantenerlo en su forma ferrosa, tal como la mucina, la histidina o el ascorbato.

Los procesos de absorción del hierro desde el lumen intestinal al enterocito van a variar en función del tipo de este mineral: hemo o no hemo (98).

Se distinguen tres fases:

- Captación del hierro por parte de la mucosa intestinal. De la luz intestinal al enterocito.
- Transporte y almacenamiento dentro del eritrocito.
- Transferencia al plasma sanguíneo y tejidos. Del enterocito al plasma sanguíneo.

Paso 1

Captación del hierro por parte de la mucosa intestinal. De la luz intestinal al enterocito

Como hemos dicho anteriormente los mecanismos de absorción del hierro difieren en función del tipo de hierro que se absorbe, especialmente en esta primera fase. Por ello, describiremos individualmente los procesos que sigue el hierro no hemo y el hierro hemo.

El hierro no hemo

Primeramente, para que la absorción del hierro no hemo tenga lugar éste ha de encontrarse en forma soluble, dado que las insolubles no pueden ser absorbidas y son eliminadas por las heces. Por tanto, habrá una reducción de las formas férricas del hierro a ferrosas, esta reducción se consigue a través de la actividad ferrireductasa del citocromo b duodenal al nivel del borde en cepillo del enterocito. Las glándulas gástricas secretarán el jugo digestivo, compuesto principalmente por HCl, moco y enzimas digestivas (gastrina, pepsina y lipasa) que proporcionarán un medio ácido para llevar acabo la reducción del hierro, su solubilización y su liberación de la matriz alimentaria.

El hierro liberado de los alimentos a través de las proteasas gástricas y pancreáticas se unen a ligandos intraluminales, histidina y ascorbato principalmente, que tiene como función

estabilizar la forma ferrosa, manteniendo el hierro soluble y en consecuencia biológicamente disponible para ser captado y transferido al interior del enterocito (3;99) .

Algunos autores, postulan otras sustancias favorecedoras de la captación del hierro hacia el enterocito, tales como la glucoproteína mucina, que podría actuar sinérgicamente con ligadores de hierro de bajo peso molecular como la histidina, el ascorbato, la fructosa, etc. Todos ellos potenciadores de la captación del hierro desde el enterocito (100-102).

Posteriormente esta proteína fijadora es captada por un transportador específico en la superficie luminal del enterocito llamada integrina, cediendo el hierro a esta. De esta forma el hierro es introducido al interior de la célula, para posteriormente ser transferido a ligantes de bajo peso molecular o a una proteína similar a la transferrina, denominada por algunos autores mobilferrina (98;99;103-106).

La cantidad de sitios fijadores de hierro en la mobilferrina determinará cuanto hierro entra en la célula.

Concluimos que para una correcta absorción del hierro no hemo desde el intestino es necesaria la presencia de varias enzimas y proteínas:

- **La mucina:** Capta el hierro desde el lumen intestinal y lo transporta hasta la superficie luminal del enterocito. Es una proteína que forma parte de la saliva y que está presente en el moco que cubre a los enterocitos.
- **La integrina:** Es una proteína de membrana que por difusión facilitada ingresa el hierro al citoplasma epitelial.
- **Mobilferrina:** proteína que transporta dentro del citoplasma el hierro y lo entrega a la apotransferrina para ser transportado al plasma.
- **La apotransferrina** cuando lleva consigo un átomo de hierro será denominada transferrina, la cual lo transportará hasta los tejidos por medio del plasma.

El hierro hemo

El hierro hemo sin embargo al ser soluble en medios alcalinos ya no necesitará de los ligandos específicos intraluminales. Existen controversias en relación a la existencia de un transportador o receptor específico de este tipo de hierro. Sin embargo una vez introducido en el enterocito el hemo es degradado en hierro, monóxido de carbono y bilirrubina por la acción de la enzima hemo-oxigenasa (28). El hierro liberado por este mecanismo se une a ligandos de bajo peso molecular o a una proteína similar a la transferrina (mobilferrina), formando junto al hierro no hemo parte del pool común del hierro intracelular del enterocito (3;107;108).

Paso 2

Transporte y almacenamiento en el interior del enterocito

En el interior del enterocito el hierro está unido a diferentes ligandos, uno de ellos y quizá el más específico es la mobilferrina. Esta, es una proteína con características similares a la transferrina. Posteriormente, este hierro es transportado al polo basal del enterocito para ser cedido a la transferrina, este transporte a través de la membrana plasmática al interior celular es realizado por el DCT 1. Algunos autores atribuyen a la mobilferrina un papel en el control de la absorción del hierro, contribuyendo a la homeostasis de este mineral en el organismo (105;109;110).

El hierro que no ha sido transferido a la transferrina para su transporte o a la apoferritina pasa a formar parte de los depósitos intraenterocíticos como ferritina. Es muy probable que se pierda con las heces cuando el enterocito muera y consecuentemente es decamado. Se ha observado que individuos con deficiencia de hierro poseen menor concentración de ARNm para ferritina, siendo estos valores elevados para aquellos individuos en los cuales se provocó una sobrecarga de este metal. De esta forma la ferritina intraenterocítica tendría una importante función en la regulación primaria de la absorción del hierro (28;111-113)

También una parte de este hierro es entregado por el transportador a las mitocondrias de la célula

La presencia de ferritina en las células de la mucosa intestinal podría regular la cantidad de hierro que se absorbe. Del total de 15 a 18 mg de hierro que se ingieren al día con una dieta de 2500 a 3000 calorías, sólo un 5-10% es absorbido (0,5-2 mg al día).

La xantina-oxidasa actúa junto a la hemo-oxigenasa dentro de la célula liberando el hierro hémico para que se mezcle con el contenido intracelular de hierro libre.

Paso 3

Transferencia al plasma sanguíneo y tejidos. Del enterocito al plasma sanguíneo

El hierro que se encuentra en el interior del enterocito y que no se deposita como ferritina, es transferido a la transferrina (polipéptido transportador de hierro en el plasma), la cual lo distribuirá a los diferentes tejidos del organismo. Previa unión a la transferrina, el hierro debe ser oxidado a su forma férrica (28). En este proceso de oxidación esta involucrada una enzima cobre dependiente con actividad ferroxidasa I. Según algunos autores la

ceruloplasmina estaría involucrada en este proceso; sin embargo existen algunas contradicciones al respecto (114-118).

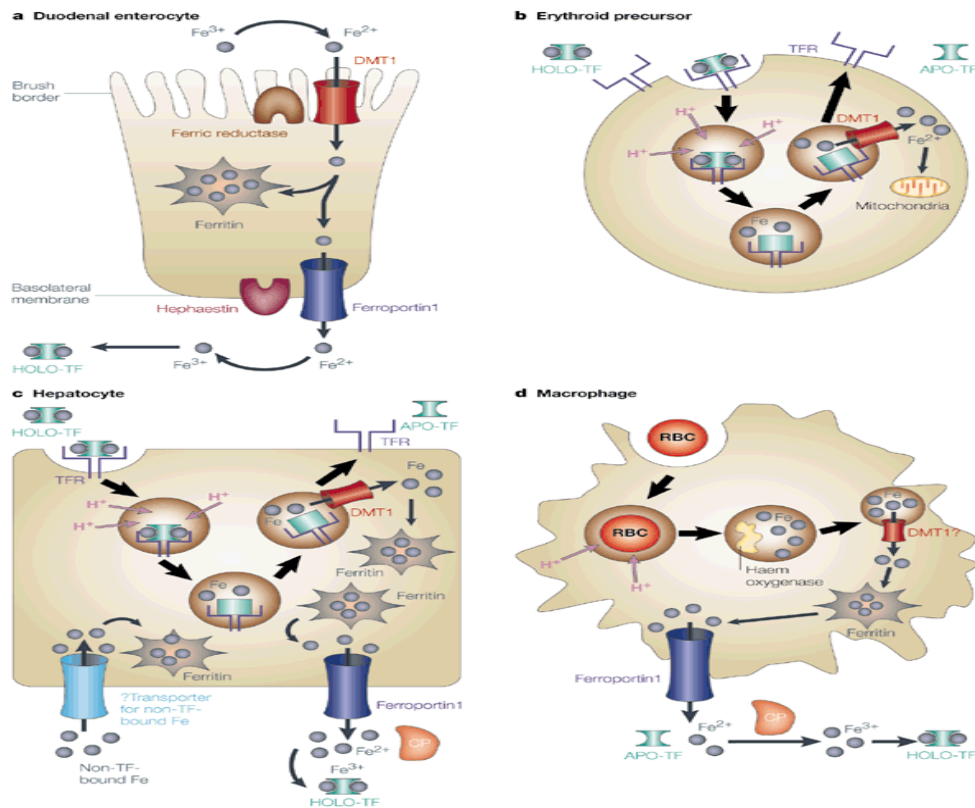


Figura 10. Transporte celular del hierro (119)

El proceso de transferencia ocurre en el polo basal del enterocito, es ahí donde se encuentra la transferrina ligada a los receptores de la membrana basolateral de los enterocitos, denominado receptor de transferrina (RTf), abundante en las personas deficientes en hierro. El receptor es una glucoproteína con un peso molecular de 180 KDa. Los tejidos metabólicamente activos que demandan una mayor cantidad de hierro intracelular tendrán una mayor cantidad de RTf en su superficie celular, este valor se modificará gracias a la síntesis de nuevos RTf o por aumento en la velocidad de translocación de dicho receptor. Por tanto, la captación celular de hierro está regulada por el número de RTf presentes en la superficie, el cual variará en función de las necesidades intracelulares de hierro (120-123).

Posteriormente el complejo formado en la superficie de la célula por la unión de la transferrina y el RTf es captado por esta por endocitosis. En el interior del endosoma tienen lugar numerosos cambios que disminuyen la afinidad de la transferrina por el hierro, tales como la variación del pH a valores cercanos a 5,5, reducción de la forma férrica a ferrosa,

también se ha demostrado que los grupos fosfatos y pirofosfato facilitan la liberación del hierro unido a la transferrina (124-137).

Posteriormente se podrá unir a las proteínas reguladoras de hierro, integrarse a las estructuras de las proteínas que poseen hierro o formar parte de los depósitos celulares de este metal (28;138-141)

El otro fragmento del endosoma que contiene el complejo apoTf-RTf (transferrina sin hierro) se dirigirá al aparato de Golgi para ser empacado junto a RTf recién sintetizados (3).

La transferrina se adhiere a un receptor de membrana, luego es fagocitado y a través de una lisozima liberado y entregado a las mitocondrias para la síntesis del Hem (HEMO).

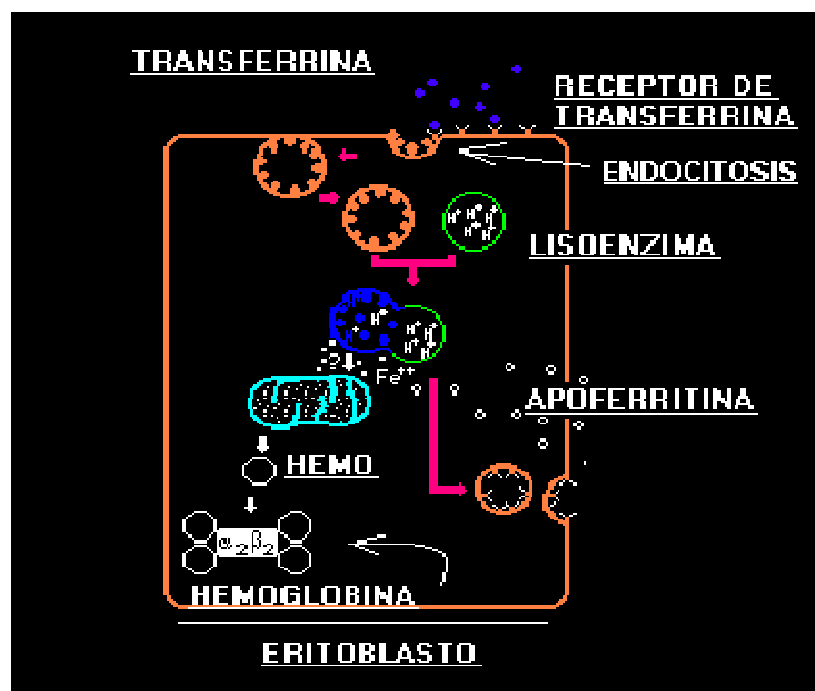


Figura 11. Absorción del hierro en forma de transferrina por parte de los eritroblastos (142)

Control de la absorción del hierro y factores susceptibles de modificarla

La cantidad de hierro almacenada en los enterocitos y la presente en la sangre regulan la absorción del hierro. La absorción del hierro aumenta cuando se agotan las reservas de hierro corporal (ferritina), cuando aumenta la eritropoyesis, la anemia o la hipoxemia y disminuye en las situaciones contrarias. El auténtico control del hierro puede realizarse en la membrana luminal a través de proteínas y lípidos capaces de fijar hierro para introducirlo a las células, el cual, cuando está en exceso, es eliminado con las heces cuando se descama la mucosa, o en el citoplasma de los eritrocitos dependiendo de la distribución entre la ferritina y

las proteínas transportadoras y del pool en tránsito, este hierro es el que se absorbe. Puede darse también en ambos sitios: membrana luminal y citoplasma.

Actualmente se le atribuye al hepatocito como centro de control del mantenimiento de la homeostasis del hierro, además de lugar de almacenamiento de los depósitos de hierro (143), dado que el descubrimiento de la hepcidina reveló la importancia del hígado en el control del estado de hierro.

Esta absorción producida en el duodeno sigue una serie de pasos tales como, la reducción del hierro de los alimentos de su estado férrico a ferroso, la internalización apical del mineral, el almacenamiento intracelular o el tráfico transcelular y la liberación basolateral interviniendo en todos ellos las proteínas involucradas en el metabolismo de este mineral.

A diferencia de otros minerales, la homeostasis del hierro es regulada a través de su absorción y no de su eliminación o excreción.

Existen básicamente 4 factores que influyen en la absorción del hierro, estos son (58;144):

- ***El tipo de hierro ingerido***: el hierro que comúnmente se encuentra en la dieta es el hierro no hemo. (43;145;146)
- ***El estado nutricional de la persona***: una persona con los depósitos de hierro agotados presentará una mayor absorción que otra con los depósitos de hierro repletos. Cuando existe un déficit de hierro, aumenta la cantidad de transferrina en el plasma y disminuye su porcentaje de saturación, por lo que la concentración de hierro en plasma circulante es baja, esto estimula la captación intestinal de hierro luminal por la transferrina y su liberación a la sangre, lo que significa que se desplaza más hierro intracelular a la transferrina y se fija menos a la apoferritina (144;147). Las reservas de ferritina en la mucosa se encuentran disminuidas, por lo que se pierde menos hierro cuando se desprenden las células de la mucosa. Por el contrario, en presencia de una sobrecarga de hierro, la cantidad de transferrina circulante disminuye y su absorción aumenta, de tal forma que se deriva más hierro hacia la apoferritina, aumentan las reservas de ferritina y se pierde más hierro cuando se desprenden las células de la mucosa. Las personas sanas pueden mantener una tasa adecuada de absorción aun cuando la carga ingerida sea de 5 a 10 veces mayor a la necesaria.
- ***El estado fisiológico de la persona***: diferentes estados fisiológicos producen un sustancial incremento en la absorción de este metal, como es el caso de la etapa de

crecimiento o el estado de embarazo, como consecuencia de un aumento de la síntesis de nuevas biomoléculas que poseen hierro en su estructura (148-150). Por otra parte el aumento de la motilidad intestinal disminuye la absorción de hierro al reducir el tiempo de contacto y además por la eliminación más rápida del quimo del área de acidez intestinal más alta. La mala digestión de grasas que origina esteatorrea, también disminuye la absorción.

- ***La presencia de activadores o inhibidores de la absorción:*** Entre los factores que influyen en la absorción del hierro no hémico a nivel del lumen intestinal, tenemos aquellos que producen un aumento en la absorción, que son llamados *activadores* y aquellos que disminuyen la absorción llamados *inhibidores* (28;37). Muchos de estos ya han sido descritos en el apartado de la combinación del hierro con otros alimentos. A modo de ejemplo, utilizamos de referencia el ácido ascórbico como activador, que produce no solo la reducción del hierro a su forma ferrosa, sino también su quelación, manteniendo de esta forma al hierro soluble y biológicamente disponible para ser absorbido (43). En relación a los inhibidores, decir que tienen poco o ningún efecto sobre la absorción del hierro hémico, a excepción del calcio que produce una disminución significativa en su absorción (37;151)

Dada la complejidad que presenta la absorción y regulación de este mineral, en los últimos años numerosos investigadores (152) han abordado el estudio de la red molecular compleja involucrada en la regulación de este mineral, dando lugar al descubrimiento de nuevas proteínas (IRP) que participan en la homeostasis del hierro y que por tanto, están involucradas en su transporte, absorción, reciclaje y balance en el organismo, al margen de las 3 tradicionalmente conocidas: ferritina, transferrina y receptor de transferrina.

En estas nuevas proteínas se encuentran transportadores de hierro ferroso como el transportador de metales divalentes 1 (DMT1) y la ferroporfina; enzimas con actividad ferroxidasa como la hefastina y la ceruloplasmina, o ferrirreductasa como el citocromo b duodenal y proteínas reguladoras como HFE, hepcidina y hemojuvelina, así como un segundo receptor de transferrina (RTf2) (153).

Con el descubrimiento en la última década de nuevas proteínas reguladoras de hierro, conocidas con las siglas (IRP) se amplió el horizonte para comprender los complejos mecanismos del mantenimiento de la homeostasis del hierro (154). Estas proteínas trabajan en conjunto con los IRES para monitorear y responder a los cambios en las cantidad de hierro

quelable en el ambiente intracelular conocido como compartimiento pool de hierro lábil. A través de la interacción de las IRPs con los IREs, la incorporación de hierro vía transferrina aumenta por estabilización del ARNm del RTf, mientras el almacenamiento como ferritina disminuye por bloqueo de la traducción del ARNm de esta proteína. Estos eventos resultan en un aumento del pool de hierro lábil. Inversamente, la incorporación de transferrina disminuye y el nivel de ferritina aumenta cuando la concentración intracelular de hierro es elevada (155;156). En el siguiente cuadro se recogen algunas de estas nuevas proteínas involucradas en el metabolismo del hierro.

Tabla 8. Nuevas proteínas implicadas en el metabolismo del hierro (157)

Gen / proteína	Principal sito de expresión	Función en el metabolismo del hierro
HFE/HFE	Enterocitos y macrófagos	Modula la homeostasia del hierro corporal. Media la incorporación celular de hierro unido a la transferrina. Modula la expresión de la hepcidina
SLC11A2/DMT1	Enterocitos	Transportador de hierro y otros metales divalentes
TFR2/RTf2	Hígado y células mononucleares	Sensor de la saturación de transferrina. Modula la expresión de la hepcidina
Heph/Hefastina	Intestino	En el eflujo de hierro del enterocito al plasma
SLC40A1 /Ferroportina	Placenta, intestino, hígado, bazo, músculo	Exportador de hierro que participa en la absorción del hierro por los enterocitos duodenales y reciclaje de las reservas corporales
HAMP/Hepcidina	Hígado	Hormona reguladora del hierro
HJV/Hemojuvelina	Hígado, corazón, músculo esquelético	Modula la expresión de la hepcidina

2.1.8. REQUERIMIENTOS Y PÉRDIDA DE HIERRO EN LAS DISTINTAS FRANJAS ETARIAS

Dado que los minerales se excretan diariamente a través del sudor, orina y heces, su reemplazo se hace necesario con el fin de conseguir la cantidad necesaria para alcanzar el rango de valores normales recomendado para cada mineral.

De forma general se puede afirmar que los requerimientos de cualquier tipo de mineral para una persona son básicamente la misma cantidad que ha perdido a través de los diversos procesos fisiológicos y/o patológicos. En el caso del hierro, tal como se ha comentado en anteriores apartados no sólo bastará con esta, sino que debemos prestar especial atención a la cantidad de hierro absorbido. Por tanto, para evitar una posible deficiencia de este mineral, el organismo debe absorber la misma cantidad que ha perdido. Recordemos que la forma hemo posee una mayor absorción que el hierro no hemo.

Así por ejemplo, en la siguiente tabla se pueden observar las cantidades diarias recomendadas de ingestión del hierro comparado con el calcio en función de la cantidad perdida y por tanto necesaria para su absorción.

Tabla 9. Comparación del hierro y del calcio en relación a la proporción necesaria para su correcta absorción.

Mineral	Símbolo	CDR (mg)	Cantidad perdida y necesaria de absorción (mg)	Cantidad en el organismo adulto (g)
Hierro	Fe	10-15	1-1.5	5
Calcio	Ca	800	300	1500

En esta otra tabla se indican los porcentajes de la CDR del hierro presente en distintos tipos de alimentos (158).

Tabla 10. Porcentaje de la CDR del hierro en diversos alimentos.

Alimento	1 vaso leche desnatada	Ostras	Cordero	Judías	Solomillo ternera	Hígado ternera
% CDR	1	6	6	19	21	50

A continuación, se muestran los mecanismos por los cuales se genera una pérdida de hierro.

Mecanismos de pérdida de hierro

La mayor cantidad de hierro se pierde a través de la orina, aunque también se pueden perder pequeñas cantidades de hierro por medio de la piel, el tracto gastrointestinal, el pelo o el sudor. Existen situaciones especiales donde se acentúa la pérdida de este mineral, tal es el caso de los adolescentes en edad de crecimiento o de hemorragias, especialmente la menstruación en mujeres. También el embarazo está asociado con un costo de aproximadamente 1 gramo de hierro, así como otras situaciones como anticonceptivos (fundamentalmente los dispositivos intrauterinos y por vía oral), uso frecuente de aspirina, infecciones por parásitos hematófagos, fármacos antiinflamatorios no esteroideos, antiácidos, donaciones de sangre... (2;2;3;20;159-164).

En la siguiente tabla observamos los valores medios de pérdida y el mecanismo por el cual tiene lugar esta pérdida.

Tabla 11. Pérdida de hierro: mecanismos y valores medios

Mecanismos	Valores medios
Orina	0,5-1,0 mg/día
Eritrocitos	0,38 mg/día
Bilis	0,22-0,28 mg/día
Descamación células gastrointestinales	0,24 mg/día
Sudor	0,02 mg/l
Menstruación	0,5-1,4 mg/día (5-45 mg total)

Al margen de los mecanismos de pérdida de hierro en estado fisiológico normal, en ejercicio también puede producirse pérdida de hierro a través de la hematuria, entidad observada en corredores de larga distancia que consiste en la presencia de hemoglobina en la orina debido a los microimpactos continuados de los pies contra el suelo, lo que provoca la rotura de algunos glóbulos rojos de la sangre que liberan hemoglobina a través del proceso de hemólisis. Incluso las pérdidas de hierro a través de las heces, orina y el sudor pueden ser un 75% superiores en deportistas respecto a la población sedentaria (1,75 frente a 1 mg) y aproximadamente un 65% superiores en las deportistas (2,3 frente a 1,4 mg) (165).

Ingesta diario de hierro

La Food and Nutrition Board y la National Academy of Sciences (166) recomienda una ingesta diaria de 8-10 mg de hierro en varones y mujeres posmenopáusicas. Se sugieren 12-18 mg/día en mujeres en edad fértil para compensar las pérdidas menstruales y 27-30 mg/día durante el embarazo. La recomendación para varones adolescentes es de 10-12 mg/día mientras que para las mujeres en esa misma franja etaria se sitúa entre 12-15 mg.

A continuación se muestra una tabla con los valores recomendados en función de la franja etaria y estado fisiológico.

Tabla 12. Ingesta de hierro: Recomendación diaria (167;168)

Grupo etario por sexo y estado fisiológico	Recomendación diaria de ingesta de hierro (mg/día)
1-3 AÑOS	7
4-8 AÑOS	10
9-13 AÑOS	8
14-18 AÑOS	10-12 (hombres)/12-15 (mujeres)
>19 AÑOS	8-10 (sólo hombres)
19-50 AÑOS	12-18 (sólo mujeres)
>51 AÑOS	10 (sólo mujeres)
14-50 AÑOS	27-30 (embarazadas)

Las reservas de este mineral en el cuerpo humano se sitúan alrededor de 4 gramos, donde la hemoglobina supone el 62% (aproximadamente 2,5 gramos) y el resto se reparte entre diversos enzimas, mioglobina, flavoproteínas (aprox. 0,3 gramos) y en forma de depósito como ferritina (20%) y hemosiderina (30%) en el hígado (células del parénquima hepático), bazo y médula ósea (células retículo-endoteliales) aproximadamente un gramo.

El cuerpo de un hombre adulto contiene cerca de 50 mg de Fe/kg de peso, mientras que el de una mujer cuenta con alrededor de 35 mgFe/Kg.

2.1.9. METABOLISMO DEL HIERRO EN EL ORGANISMO

Aspectos generales

El término metabolismo hace referencia a todas las reacciones químicas que tienen lugar en las células. El metabolismo está directamente relacionado con la nutrición y por tanto con la digestión, absorción y excreción, dado que todas las reacciones químicas o actividad metabólica de las células dependen del uso que el cuerpo hace de los alimentos.

Existen dos tipos principales de actividad metabólica: catabolismo y anabolismo. El catabolismo hace referencia a la destrucción o ruptura de moléculas grandes en más pequeñas. Suele ser mayoritariamente por hidrólisis y conllevan una liberación de energía. Mientras que el anabolismo es la síntesis de moléculas mayores a partir de pequeñas. Estas últimas necesitan energía en forma de adenosín trifosfato (ATP).

Todas las formas de vida, desde las algas unicelulares hasta los mamíferos, dependen de la realización simultánea de centenares de reacciones metabólicas reguladas con absoluta precisión, desde el nacimiento y la maduración hasta la muerte. Las células tienen una serie de enzimas o catalizadores específicos que se encargan de activar, controlar y terminar todas estas reacciones, cada una de las cuales está a su vez coordinada con muchas otras que se producen en todo el organismo (169).

Se puede decir que casi todas las células poseen el mismo metabolismo. Los compuestos que generan estas reacciones se denominan metabolitos y cuando un conjunto de reacciones suceden en forma secuencial y dan lugar a un compuesto o a una función reciben un nombre específico. Tal es el caso de la glicolisis (camino metabólico por medio del cual se oxidan los azúcares produciendo piruvato y equivalentes reducidos NADH), el ciclo de Krebs (refiriéndose a la transformación del acetilcoenzima A, proveniente de la descarboxilación del piruvato o de la beta-oxidación de los ácidos grasos, en anhídrido carbónico y equivalentes reducidos), o la cadena de transporte de electrones o fosforilación oxidativa (cuando tiene lugar la transferencia de electrones de los equivalentes reducidos hasta el oxígeno molecular, acoplado con la síntesis de ATP). Este conjunto de reacciones recibe el nombre de metabolismo energético.

La mayoría de reacciones de óxido/reducción que se efectúan en el organismo no involucran la participación directa del oxígeno molecular, sino que los electrones son transferidos a/o desde moléculas específicas (por ejemplo NAD^+ se reduce a NADH). Cuando estas moléculas están en su forma reducida, producto de haber aceptado electrones de un metabolito que se oxidó, se dice que son equivalentes reducidos y son los que se oxidan

por la cadena de transporte de electrones que sí tiene al oxígeno molecular como aceptor final de electrones. Este mismo tipo de sustancias se usan para reducir metabolitos mediante la transferencia de un ion hidruro (NADPH se oxida a NADP⁺).

A las enzimas que catalizan las reacciones de reducción del NAD se les llama deshidrogenasas y a las que catalizan la oxidación del NADPH se les llama reductasa.

Metabolismo específico del hierro

Para analizar el metabolismo del hierro es necesario tener en cuenta las distintas formas en las que puede presentarse el hierro en los alimentos, que como ya hemos visto en el apartado correspondiente podían ser hierro hemo o no hemo.

También es necesario estudiar como se obtiene el hierro en el organismo, su distribución posterior en base a su funcionalidad y su eliminación.

Obtención del hierro

Independientemente del tipo de hierro (hem o no hem), existen tres formas de obtener este mineral: por medio de la dieta, a través de distintos compuestos o mediante los depósitos de ferritina.

- ***A través de la ingesta de alimentos, hierro dietario:*** El organismo aprovecha muy bien el hierro que proviene de los alimentos. Es especialmente en la mucosa intestinal donde se produce la verdadera absorción de este.
- ***A través de compuestos existentes dentro del organismo:*** Dentro del cuerpo, tiene lugar la desintegración y/o catabolismo de distintos compuestos que contienen hierro. El organismo obtiene este mineral a través del reciclaje de estos compuestos aprovechando el hierro existente en su interior, tal es el caso de la hemoglobina.
- ***A través de los depósitos de reserva:*** Existen una cantidad de hierro depositado en forma de ferritina y hemosiderina en la mayoría de las células y en diferentes partes del cuerpo, especialmente en hígado y bazo. Cuando disminuye la cantidad de hierro transportado por la transferrina en suero sanguíneo habrá un mayor aprovechamiento del hierro depositado en forma de ferritina y hemosiderina.

Distribución del hierro por el organismo desde el punto de vista de su funcionalidad

Numerosos autores han establecido principalmente 2 formas de clasificar al hierro en base a su función, estas son: *hierro funcionante* o compuestos de hierro esenciales y *hierro de depósito* o almacenamiento (3;7;24). Tras la revisión bibliográfica exhaustiva realizada, se observó que existe una clasificación, utilizada por algunos autores, más específica basada en 4 modos de agrupar la distribución del hierro por el organismo, esta es:

- ***Hierro funcionante o compuestos de hierro esenciales:*** Es el que mayor hierro contiene (2,5 gramos), especialmente en forma de hemoglobina (2 gramos), lo que supone un 65% del hierro total del organismo, y mioglobina (300 miligramos) el equivalente al 10% del hierro total (98). Entre sus funciones se encuentra la de fijar oxígeno para transportarlo desde los pulmones a los tejidos, y la de almacenarlo en el músculo en forma de mioglobina para ser utilizado durante el proceso de contracción muscular. También acepta y libera electrones para generar fuentes rápidas de energía, así como interviene en los procesos de transporte de estos, como por ejemplo los citocromos de las mitocondrias en la cual intervienen en la producción oxidativa de energía (29;170-173). Los compuestos que requieren de hierro y se utilizan de esta forma son los siguientes (174-176):
 - ***Compuestos y enzimas pertenecientes al grupo hemo:*** Son compuestos que están formados por una o varias molécula de globina y un grupo hemo. Algunas de estos son la hemoglobina, mioglobina, citocromos, citocromo-oxidasa, peroxidasa, catalasa, triptófano-pirrolasa...
 - ***Compuestos formados por proteínas hierro-azufre:*** Ferredoxinas, NADH-deshidrogenasas, succinato-deshidrogenasa, xantino-oxidasa, aldehido-oxidasa, acotinasa...
 - ***Enzimas dotadas de hierro no hémico o hierro-dependientes:*** el contenido de hierro en las enzimas representa apenas un 3%, pero fisiológicamente su presencia resulta indispensable ya que dichas enzimas serían metabólicamente inactivas sin la presencia de este metal. Algunas de estas son: Prolin-hidroxilasa, lisil-hidroxilasa, fenilalanín-hidroxilasa, deshidrogenada del dinucleótido de nicotinamida adenina reducido, etc.

- ***Hierro circulante:*** Compuesto por 3-4 mg de hierro. Es el hierro que circula desde el intestino (tras la absorción a través de la mucosa intestinal) hasta su salida a la médula ósea y a los tejidos en general. También se considera el que procede de la desintegración de algunos compuestos que lo contienen. Representa el balance de la ingesta y salida. Este hierro circula unido a la betaglobulina transferrina.

- ***Hierro de reserva o depósito:*** Es el hierro que se encuentra almacenado en distintos tejidos. Está compuesto por aproximadamente entre 400-800 mg (aproximadamente 20% del total del hierro), en función de diversos parámetros fisiológicos y/o nutricionales la cantidad de este en el organismo puede variar desde 0 a 15 mg por Kilogramo de peso corporal (2;3). Este hierro se utiliza para reponer el hierro perdido por la hemoglobina y demás compuestos funcionales, además de proporcionar reservas de este mineral en caso de periodos de un consumo dietético insuficiente. Pueden utilizarse hasta 50 mg/día, de los cuales 20 mg se destinan a la síntesis de hemoglobina y el resto asegura el balance en su provisión, si este es positivo almacenará, por el contrario si el balance es negativo lo proporcionará. Se almacena unido a proteínas específicas a través de la ferritina (el 95% del hierro hepático) y hemosiderina (forma degradada de la ferritina, alrededor del 5%) (4). Los principales tejidos de almacenamiento son el hígado (60%), el bazo, médula ósea, células parenquimatosas y en los sistemas monocito-macrófago y sistemas reticuloendotelial (40%) (3;5). Existen dos isoformas de la ferritina, la denominada L, de 20 kDa, se encuentra fundamentalmente en el hígado y la denominada H, de 22 kDa predominante en el corazón. La biosíntesis de ambas está regulada por las concentraciones intracelulares de hierro y el estrés oxidativo, entre otros factores (28;177-182). La ferritina puede contener hasta 4500 átomos de hierro por molécula aunque en condiciones normales se encuentra saturada en un 20%. El hierro que contiene la ferritina se encuentra principalmente como fosfato hidratado polimolecular y óxido férrico, entre otras formas complejas de compuestos inorgánicos (183-185).

- ***Pool intracelular lábil o tránsito:*** Se encuentra ligado a compuestos de bajo peso molecular, tal como, aminoácidos, citrato, nucleótidos y azúcares. Este hierro es el que fijan los quelantes, como la desferroxamina. El recorrido de este hierro discurre por el interior de la célula, desde la transferrina hasta el citoplasma, para luego su utilización

por las mitocondrias o almacenarse en forma de ferritina y en sentido inverso a la transferrina circulante.

La cantidad de hierro total en el organismo es aproximadamente 40 mg por kilogramo de peso corporal aproximadamente o de 3´5 a 4 g en la mujer y de 4 a 5 g en el hombre (6). Pueden existir variaciones en función del sexo, edad, tipo de alimentación y tejido u órgano estudiado, puesto que el hierro no se distribuye por igual dentro del cuerpo humano (2;3;7).

En individuos con un estado nutricional óptimo alrededor del 65% del hierro se encuentra formando parte de la hemoglobina, el 15% está contenido en las enzimas y la mioglobina, el 20% como hierro de depósito y solo entre el 0,1 y 0,2% se encuentra unido con la transferrina como hierro circulante (8).

Distribución del hierro en base a su localización

La absorción del hierro es equilibrada básicamente por la misma cantidad de hierro perdido a través de la sangre perdida y del cambio de piel y células de la mucosa. Como ya se ha comentado anteriormente la mayoría del hierro se encuentra en la médula ósea eritrocitaria y en los eritrocitos maduros, contenidos dentro del grupo hemo de la hemoglobina. El hierro para la formación de nuevos hematíes es primeramente suministrado por los macrófagos del retículo endotelial, los cuales reciclan hierro desde viejos glóbulos rojos. Una parte del hierro se encuentra circulando unido a la transferrina (0,2%). Este hierro se utiliza para la formación de los precursores de los eritrocitos, así como otros tejidos corporales. El hierro de depósito es primeramente encontrado en los hepatocitos del hígado. La distribución del hierro es alterada en respuesta al estado fisiológico de la persona, embarazo, déficit de hierro, sobrecarga, etc.

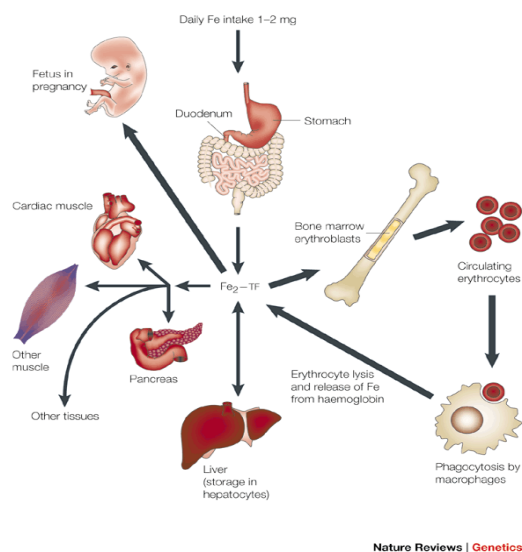


Figura 12. Distribución del hierro dentro del cuerpo (186)

Eliminación del hierro

La eliminación del hierro tiene lugar a través del sudor, heces, orina y exfoliación normal del pelo y piel. El hierro de las heces proviene especialmente del que no fue absorbido de los alimentos, del resto de la bilis y de las células que se exfolian del epitelio gastrointestinal. Existen grandes pérdidas de este mineral en casos de hemorragia (especialmente en la menstruación con pérdidas de hasta 0,5 mg/día), donaciones, etc.

2.1.10. CICLO BIOLÓGICO DEL HIERRO

El ciclo biológico del hierro es el conjunto de procesos que tienen lugar en el ser humano con el fin de que el número de gramos de hierro permanezca constante en el interior del organismo. Este ciclo hace referencia a la circulación del hierro a lo largo de los dos principales compartimentos: funcionante y de depósito. Esta circulación mantiene constante los niveles de hierro, sólo se pierde una pequeña proporción a través de las heces, orina y sudor, básicamente. La reposición de estas cantidades perdidas se realizará con la ingesta de alimentos.

Para mantener la homeostasis del hierro el organismo posee un mecanismo sensible a los cambios en los niveles de este mineral, especialmente basándose en la cantidad que absorbe más que la cantidad que excreta y regulando así los procesos de absorción y almacenamiento de este mineral. Una mala regulación de este mineral conducirá a una deficiencia (anemia) o una posible sobrecarga (187).

Una persona ingiere aproximadamente entre 10-14 mg de hierro al día. La absorción se produce por los enterocitos situados en la mucosa intestinal a nivel del duodeno y porción superior del intestino delgado, siendo alrededor de 0,5-2 mg (5-10%). Este valor variará en función de distintos factores, tales como, el sexo, la edad, etc.

Posteriormente, pasa al plasma sanguíneo siendo transportado por la transferrina a los diferentes tejidos y órganos. El resto del hierro, entre 8 y 13,5 mg/día se considera como hierro no absorbido y sigue su circulación normal por el intestino.

La transferrina distribuye el hierro de la siguiente forma: 20 mg están en equilibrio con la síntesis de hemoglobina en los eritrocitos (las cuales contienen 2,5 gramos de hierro), 5 mg con la síntesis de mioglobina, enzimas y citocromos (lo que supone 0,3 gramos de hierro) y otros 5 mg con la ferritina y hemosiderina (necesitando un total de 1 gramo de hierro) (188).

Las pérdidas de este mineral son de alrededor de 1-2 mg / día, como ya hemos visto anteriormente se producen de forma mayoritaria por la orina. No se conocen mecanismos fisiológicos que regulen la pérdida de hierro, por lo que la homeostasis de este mineral dependerá principalmente de la retroalimentación que se establece entre las necesidades corporales y la absorción intestinal del hierro (189).

Los eritrocitos viejos son reconocidos por las células del sistema reticuloendotelial y son destruidos. La mayor fuente de hierro de nuestro organismo se obtiene a través de este proceso de reciclaje. Se produce la degradación de la fracción proteica de la hemoglobina y del grupo hemo, por la acción de la hemoxigenasa, liberando el hierro que contiene. Este se

transportará en el plasma a través de la transferrina hasta la médula eritroidea para ser reutilizado en la biosíntesis de nuevas moléculas de hemoglobina, que posteriormente son incorporadas a los eritrocitos nuevos (190). Una gran mayoría de las moléculas de transferrina que transportan hierro se unirán a unos receptores específicos situados en la superficie de los precursores de la serie eritroide para, posteriormente, pasar al interior de la célula. Posteriormente se produce la liberación del hierro y el complejo transferrina-receptor regresa a la superficie de la célula, donde las moléculas de transferrina quedan nuevamente libres. Este hierro liberado será usado para sintetizar hemoglobina y el exceso se almacenará en forma de ferritina.

Para mantener el equilibrio de las concentraciones de hierro en el plasma, existe un intercambio permanente de este mineral entre la transferrina y los depósitos de este, formados por la ferritina y la hemosiderina. De esta forma, la ferritina cederá hierro a la transferrina cuando los niveles de hierro en sangre sean bajos y por el contrario la transferrina cederá hierro a la ferritina cuando se absorba una gran cantidad de hierro (191;192).

2.1.11. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS RELACIONADOS CON LOS CAMBIOS EN LOS NIVELES DE HIERRO

A pesar de que muchos deportistas y personas sedentarias inician un periodo de suplementación de hierro de forma voluntaria y sin un previo análisis y/o control de los niveles de distintas sustancias bioquímicas. Existen una serie de parámetros bioquímicos y hematológicos que nos ayudan a controlar y calcular los niveles de hierro en el organismo y por tanto determinarán si es necesaria o no la suplementación de este mineral.

De forma general podemos decir que los valores normales de la mayoría de estos parámetros han sido tabulados y muestran pequeñas variaciones en función principalmente del sexo, la edad de la persona y el grupo de población (deportista, sedentario, etc.). Asimismo, existen otra serie de causas que pueden influir en la mala interpretación de estos valores, tales como diversas patologías, lesiones deportivas, estrés o ansiedad, ingesta de fármacos...

A pesar de todo, las pruebas de laboratorio que informan sobre el estado del metabolismo del hierro se consideran la medición más objetiva y accesible para analizar si realmente es aconsejable la suplementación de este mineral.

Para el análisis de un posible déficit o exceso de este mineral, no bastará con estudiar solo y aisladamente los niveles de algunos de los diversos marcadores relacionados con el metabolismo y absorción de hierro en el organismo. Sino que tendremos que tener en cuenta el análisis global de estos y una hoja de registro de otros análisis realizados previamente. El National Research Council (193) ha señalado que actualmente no existe un único indicador bioquímico que pueda valorar por sí solo el estado del hierro en el organismo.

Los principales parámetros utilizados actualmente en el diagnóstico clínico son el hierro sérico o sideremia, la capacidad de unión del hierro a la transferrina, la hemoglobina y la concentración de ferritina sérica. También puede utilizarse el examen de la médula ósea por punción-aspiración, o por biopsia, para cuantificar los sideroblastos y el hierro depositado en el sistema reticuloendotelial, así como las concentraciones de protoporfirina de los hematíes y de los receptores séricos de la transferrina (194).

A continuación se presentan los parámetros bioquímicos que han sido objeto de estudio por numerosos investigadores relacionados con el metabolismo del hierro normal y patológico (2-5;24;30;80;93;102;104;112;113;120;126;129;139;148;150;177;180;190-192;195-207):

- Ferritina sérica.
- Hierro en plasma.
- Hemoglobina.
- Mioglobina.
- Hematocrito.
- Transferrina.
- % Saturación de transferrina.
- Capacidad de fijación total del hierro (TIBC).
- Índices eritrocitarios:
 - o Volumen corpuscular medio (VCM).
 - o Hemoglobina corpuscular media (HCM).
 - o Concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH).
- Protoporfirina eritrocitaria.
- Receptor de transferrina.
- Haptoglobina.
- Glóbulos rojos o hematíes. (RBC).
- Examen de la médula ósea.
- Marcadores genéticos.

Analizaremos brevemente cada uno de ellos describiendo los resultados de las últimas investigaciones en relación a la fiabilidad de estos parámetros como marcadores de una posible deficiencia de hierro.

Ferritina sérica

Es una proteína que se utiliza para valorar la cantidad de hierro almacenado en los distintos depósitos que posee el organismo, principalmente, está presente en grandes cantidades en el bazo, músculo, hígado y médula ósea. Guarda una estrecha relación con los valores titulares de ferritina (208). Junto a la hemosiderina, se consideran la principal forma de almacenamiento de hierro en los tejidos. Se mantienen en equilibrio con su forma intracelular y ambas poseen una relación directamente proporcional con el contenido de hierro

en los depósitos, aumentando sus valores cuando la cantidad de este mineral se encuentra incrementada y disminuyendo cuando se produce deficiencia de hierro.

La ferritina sérica se encuentra en equilibrio con su apoforma (intra-celular) y es directamente proporcional al contenido de hierro en los depósitos. Por norma general 8-10 mg de hierro en los depósitos son el equivalente a 1µg/l de ferritina sérica (209). En una gran mayoría de los estudios sobre atletas en comparación con no deportistas, este parámetro se encuentra disminuido (206;210-212).

En el caso de ser necesario liberar hierro desde los depósitos, éste es reducido a su forma ferrosa en el interior de la molécula de ferritina, para posteriormente ser liberado a través de los poros de la misma. En este proceso de reducción existen evidencias que involucrarían al ácido ascórbico y al mononucleótido de flavina reducido, como mediadores de dicho proceso (185;213-218)

Cuando el contenido de hierro de la molécula de ferritina es de aproximadamente unos 4000 átomos por molécula, la misma es degradada por las enzimas lisosomales para formar la hemosiderina. Esta proteína es insoluble y posee un contenido de hierro de aproximadamente un 40% de su peso, con una composición que corresponde a formas químicas del hierro menos reactivas que las presentes en las moléculas de ferritina. (181;197;219-222)

Las moléculas de ferritina en la membrana lisosómica pueden agregarse en depósitos que contienen hasta 50% de hierro, estos depósitos se denominan hemosiderina. La ferritina también se encuentra en el plasma, pero la mayor parte del hierro se transporta unido a la transferrina.

Los valores normales se encuentran entre los 12-300 µg/l en hombres y 12-150 µg/l en mujeres. Por debajo de estos niveles puede sospecharse de una deficiencia de hierro.

La edad debe ser tomada en cuenta a la hora de valorar las concentraciones de este parámetro. El valor de corte en niños menores de 5 años para sospechar de una depleción de los depósitos de hierro se encuentra en 12 µg/l (223).

Al igual que otros parámetros bioquímicos los niveles normales de ferritina sérica pueden estar alterados. Estos valores son establecidos por diversos autores que han realizado estudios con grandes muestras de población. Los niveles situados por debajo de estos valores indican una posible deficiencia de hierro. Pero no la gravedad de esta. Para hallar si la deficiencia es más o menos severa, se debe recurrir al análisis de otros parámetros tales como la saturación de transferrina o el receptor de esta.

Existen numerosos factores que pueden aumentar los niveles de ferritina por encima de los valores normales, o viceversa, los niveles altos de ferritina pueden indicar la presencia

de algunas de las siguientes patologías: enfermedad hepática alcohólica, infección aguda o crónica, inflamación crónica, deficiencia de vitamina B₁₂ y ácido fólico, hemacromatosis, anemia hemolítica, anemia megatoblástica, linfoma Hodgkin o personas con una alta actividad neoplásica. En la población pediátrica con una alta tasa de infecciones su valoración puede ser problemática. Algunos autores la consideran, en ausencia de procesos inflamatorios crónicos, el parámetro que mejor informa de las reservas de hierro (194;224).

Por otra parte los niveles inferiores a los normales pueden indicar: sangrado gastrointestinal crónico, sangrado menstrual severo, anemia por deficiencia de hierro o pacientes con hemodiálisis.

Para la medición en el laboratorio de este parámetro se suele utilizar el ensayo inmunoradiométrico, radioinmunoensayo o por ensayo inmunoabsorbente de enlace enzimático. En 1985 la OMS establece los estándares de referencia en relación a la medición de este parámetro.

Hierro sérico

El hierro sérico o también denominado Fe²⁺, ión ferroso o hierro en suero ha recabado la atención de muchos investigadores en los últimos años. No solamente por su relación con la anemia, sino por la posible relación con el rendimiento físico. La medición de este parámetro con el objeto de valorar un posible diagnóstico de deficiencia de hierro no es muy aconsejable, debido principalmente, a la amplia variación que puede experimentar a lo largo del día y situaciones especiales, como sangrados, infecciones crónicas, artritis, etc. Sus valores pueden verse aumentados al inicio del día y después de las comidas, mientras que pueden disminuir en procesos inflamatorios y/o infecciosos (225). Sucediendo algo similar con la transferrina y la saturación de la transferrina.

Entre las funciones de este se encuentran las siguientes (211): es requerido para la síntesis de hemoglobina y mioglobina, transporte de oxígeno, transporte de electrones en la mitocondria, fosforilación oxidativa, síntesis de ADN, etc.

El cuerpo humano contiene alrededor de 3-5 gramos de hierro. La distribución de este como ya hemos visto es diversa.

- ❑ El 60-70% de este se encuentra en la hemoglobina en los glóbulos rojos.
- ❑ El 30% depositado en forma de ferritina o hemosiderina en el hígado, médula ósea, músculo y bazo.
- ❑ Un 3-10% en forma de mioglobina.

- ❑ Un 2% en diversos sistemas biológicos (transporte de electrones, mitocondrias, enzimas antioxidantes, ADN, etc.), o como componentes de proteínas celulares en todo el cuerpo.

La pérdida de hierro normal diaria es de 1 o 2 mg/día (1 mg en hombres y 1,8 en mujeres, aprox.), en total 10-30 mg al mes. Con el entrenamiento prolongado se puede producir una disminución del nivel de hierro y ferritina debido principalmente a los siguientes aspectos (206;210): alta actividad del ciclo del hierro, aumento de la síntesis del hierro contenido en proteínas, cambios en la absorción intestinal y aumento de la pérdida por sudor, por el intestino y por los riñones.

Los valores normales del hierro son: 50-60 a 160-170 µg/dl. Se deberá sospechar de un déficit cuando los valores se encuentren por debajo de 50 µg/dl y una sobrecarga cuando se encuentren valores por encima de 170 µg/dl (226). El hierro del plasma es medido colorimétricamente después de la acidificación y precipitación de las proteínas del plasma usando métodos automatizados.

Hemoglobina

La hemoglobina es una proteína que contiene más del 65% del hierro total del organismo. Constituye el principal componente del hematíe y se define como un pigmento rojo que se encuentra en el interior de estos. Es capaz de unirse reversiblemente con el O₂. Posee cuatro subunidades (tetrámero) formadas por 4 cadenas de globina (cadena polipéptica) y un grupo hemo (porfirínico) que contiene hierro (7;34;227). El hierro se une a los grupos hemo. Existen diversos tipos de hemoglobina. Todo este proceso de formación de la hemoglobina surge de la unión del succinil CoA (derivado de la cuarta reacción del ciclo de Krebs), a una molécula de glicina, formando los anillos de pirrol; de los cuales la suma de cuatro dan origen a la protoporfirina IX, quien se une al hierro absorbido para formar la molécula del Hem, posteriormente se asocia a la proteína Globina (que determinará la diferencia entre Hg alfa, beta, gama, y delta, según la su conformación primaria), para formar la sub unidad de hemoglobina, de la cuales al unirse cuatro dan origen a la Hg como tal (ver figura 7).

Muchos estudios hallaron en deportistas de modalidades de resistencia una disminución en los valores de hemoglobina, hematocrito y RBC en relación a la población sedentaria. Esto esta asociado con la reticulocitosis o el incremento del número de eritrocitos

jóvenes, caracterizados por un contenido bajo de hemoglobina corpuscular y un alto volumen de células (211;228-230).

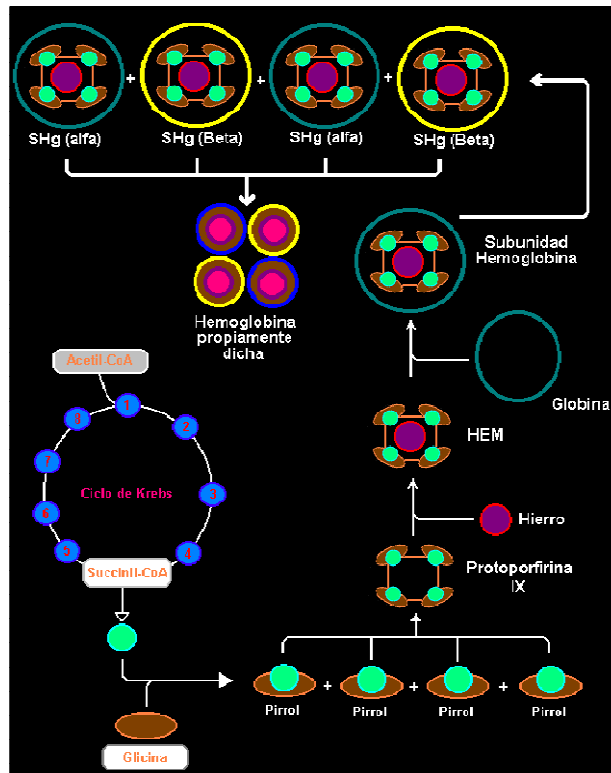


Figura 13. Formación secuencial de la hemoglobina

Si la ferritina nos indicaba la presencia o no de una deficiencia de hierro, la hemoglobina nos proporciona una medida cuantitativa de la severidad de esta deficiencia. Una concentración baja de esta produce tipocromía, la cual es una característica relacionada con la anemia por deficiencia de hierro. Este uso de la hemoglobina como indicador de posible anemia presenta una serie de limitaciones debido a que existen determinadas condiciones que afectan a la misma tales como, deshidratación, procesos inflamatorios crónicos, hábito de fumar, malnutrición proteicocrónica, hemorragias, deficiencias de vitamina B₁₂ y ácido fólico, etc. Los valores para un correcto diagnóstico dependerá de las técnicas utilizadas, de la edad, del sexo y de la raza de la persona, como norma general se sitúan alrededor de los 13 g/100 ml de sangre en hombres y 12 g/100 ml de sangre en mujeres (231;232). Los hombres son considerados como anémicos cuando sus niveles de hemoglobina son inferiores a 13 g, mientras que las mujeres son consideradas anémicas cuando sus niveles de hemoglobina son inferiores a 11 g (158).

Es importante destacar también el papel que juegan otras sustancias para contribuir a los valores normales de hemoglobina, tal como el hierro, la vitamina B¹², y los fosfatos.

Además, la hemoglobina junto a otros parámetros bioquímicos como hematocrito, VCM, etc. varían en función de la altitud sobre el nivel del mar en que habitan las personas.

Mioglobina

Es una proteína formada por una molécula de globina y un grupo hemo (el cual contiene hierro). Se encuentra en el músculo y su función es la de transportar y almacenar oxígeno para ser utilizado durante el ejercicio. La mioglobina contiene alrededor del 10% del total del hierro (300 mg) (7;34).

Hematocrito

Hace referencia a la relación existente entre el plasma sanguíneo y los eritrocitos (se desprecian los valores de los glóbulos blancos y plaquetas). Esta medición se obtiene por centrifugado de una muestra de sangre en un tubo graduado. Los valores obtenidos permiten a los investigadores obtener una estimación porcentual de la masa de eritrocitos u hematíes. Se consideran valores medios normales de 48% para hombres (39-55%) y de 42% en mujeres (36-48%) (233). Estos valores podrán variar en función de la edad, sexo y raza del individuo (231). El valor del hematocrito es correcto si los glóbulos rojos se concentran en la parte más baja de la escala atrapando entre ellos de un 3 a un 8% de plasma. Para obtener el valor real del hematocrito habrá que multiplicar por 0,96 el valor del hematocrito estimado por este método.

Asimismo, en función del tamaño del vaso sanguíneo los valores del hematocrito variarán. Los capilares, arteriolas y otros pequeños vasos poseen valores de hematocrito más bajos, debido a la dificultad de los eritrocitos para deslizarse por las finas y estrechas paredes de los vasos, disminuyendo de esta manera la concentración de hematíes y aumentando el volumen plasmático. Nuevamente habrá que aplicar un factor de corrección para obtener los valores medios de hematocrito, si la sangre se extrae de un vaso de mayor tamaño se multiplica por 0,87, si se utiliza el valor real se multiplicará por 0,91 (233).

En deportes de resistencia, especialmente en corredores de fondo suele estar disminuido, debido principalmente a la expansión del volumen plasmático (211). Pero realmente la cantidad de partículas formes es mayor. En ejercicios con excesiva sudoración puede darse el caso contrario, aumentar el valor del hematocrito debido a una disminución del suero sanguíneo.

En general el cálculo del valor del hematocrito no es un método fiable para analizar el estado de hierro, dada su baja sensibilidad y especificidad. Pero si es un método sencillo y económico que nos puede orientar (232).

Al igual que otros parámetros, el valor del hematocrito puede sufrir pequeñas variaciones en función de diversos factores, tales como hiperglucemia o hipernatremia (se produce una hinchazón de los eritrocitos aumentando el volumen), sexo, edad, altitud, etc.

Transferrina sérica

Principal proteína encargada del transporte plasmático del hierro. Su medición proporciona datos sobre la capacidad de unión de hierro a la transferrina. Sus valores normales oscilan entre los 300 y 360 µg/dl con tendencia a incrementarse en presencia de estados carenciales. Posee básicamente dos funciones (199;234-236) :

- Distribuir el hierro desde el polo basal del enterocito a los diferentes tejidos del organismo. Entre estos no sólo se encuentra la síntesis de hemoglobina, numerosos compuestos requieren de este metal para la realización de diversos procesos metabólicos, tales como la mioglobina, citocromos y algunas enzimas que requieren del hierro para ser metabolitamente activas (191).
- Redistribuir al hierro desde los depósitos a los tejidos que poseen una mayor demanda.

La síntesis de la transferrina tiene lugar en el hígado y son las concentraciones plasmáticas las reguladoras de la biosíntesis de la transferrina hepática. Existen otros tejidos que pueden sintetizarla tales como el riñón, cerebro, testículo y músculo fetal (204;237;238).

Suele medirse con el hierro sérico y la TIBC.

% Saturación de transferrina

El porcentaje de saturación de transferrina se define como la proporción de proteína que fija el hierro, y por tanto, se satura de hierro. La evidencia más directa de un aporte disminuido de hierro para el desarrollo de eritrocitos es una disminución en la saturación de transferrina (menos de 16%). Además, cuando su valor es bajo el hierro es utilizado principalmente para la formación de hemoglobina en la médula ósea, por el contrario con valores altos, el hierro es depositado en el sistema reticuloendotelial y en varios órganos (hígado, riñón, etc.).

Al saturar completamente todos los sitios de fijación disponibles, es posible medir la capacidad total de fijación del hierro (TIBC), lo cual es realmente una medida del nivel de

transferrina sérica. La capacidad total de fijación del hierro y el porcentaje de saturación de transferrina se miden a menudo al mismo tiempo que el hierro sérico.

El porcentaje de saturación de la transferrina puede calcularse como la relación entre el hierro y la TIBC multiplicada por 100 (232).

$$\% \text{ Saturación transferrina} = \frac{\text{Concentración de hierro sérico} \times 100}{\text{TIBC}}$$

Es realmente el hierro que se mide en el laboratorio hierro férrico. Su peso molecular es de 80kDa y cada molécula posee dos sitios de unión para el hierro en su forma férrica. Normalmente cerca del 30% de los lugares disponibles están ocupados, esto se llama porcentaje de saturación de la transferrina, su rango normal se sitúa entre el 20% y el 50% (24;198;205). En casos de anemia ferropénica su porcentaje desciende a valores por debajo del 16% y en casos de sobrecarga potencialmente peligrosa sus valores ascienden por encima del 50-60 % (239;240). Si se presenta el hallazgo de valores superiores de la saturación de transferrina a 50% en mujeres y 60% en hombres es recomendable realizar un estudio genético sobre la presencia de la mutación C282Y (241;242).

Capacidad total de fijación del hierro (TIBC)

Este parámetro posee una relación estrecha con el hierro y la saturación de transferrina. Mide la saturación máxima de la transferrina con el hierro, por lo que es una medida de la cantidad total de transferrina disponible para fijar el hierro.

Está relacionado con el intercambio y transporte del hierro desde el sistema reticuloendotelial a la médula ósea. Cuando medimos el hierro en el suero, tenemos que analizar la transferrina, ya que este no va libre sino que está unido a la transferrina. Cada molécula de esta puede unir hasta dos átomos de hierro. De ahí que se pueda calcular la capacidad de fijación total del hierro, que a su vez está relacionada con el hierro y el porcentaje de saturación de la transferrina. Al saturar completamente todos los sitios de fijación disponibles, es posible medir la capacidad total de fijación del hierro (TIBC), lo cual es realmente una medida del nivel de transferrina sérica. La capacidad total de fijación del hierro y el porcentaje de saturación de transferrina se miden a menudo al mismo tiempo que el hierro sérico. Los valores normales se encuentran entre 240 a 450 µg/dl. El hierro, la TIBC y el porcentaje de saturación de transferrina son unos parámetros útiles para diferenciar los estados deficitarios de hierro de causas nutricionales con respecto de aquellos que son consecuencia de diferentes patologías, asociadas a procesos de infección e inflamación

crónicos, especialmente la TIBC, ya que esta se encuentra aumentada en casos de anemias por deficiencia de hierro y disminuida en el caso de inflamaciones.

Índices eritrocitarios: Volumen Corpuscular Medio (VCM), Hemoglobina corpuscular media (HCM) y Concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH)

Estos límites sirven para determinar el tamaño, contenido y la concentración de la hemoglobina en los hematíes. Para ello, se puede calcular a partir de la determinación de los valores de concentración de hemoglobina, hematocrito y número de glóbulos rojos.

El VCM es el volumen medio de los eritrocitos y se calcula como la relación entre el valor del hematocrito y el número de células rojas. De los diferentes índices eritrocitarios el VCM es el más específico para la deficiencia de hierro. Se observa una reducción de los valores del VCM cuando la deficiencia de hierro se agrava. El valor de corte en adultos es de 80 fl.

La HCM es el contenido promedio de hemoglobina de los eritrocitos y se calcula como la relación entre el valor de la concentración de hemoglobina y el número de células rojas.

La CCMH es la concentración media de hemoglobina en un volumen determinado de glóbulos rojos y se calcula como la relación entre la concentración de hemoglobina y el valor del hematocrito.

Al igual que otros indicadores bioquímicos los valores normales dependerán de distintos factores como el sexo y la edad de la persona. Las posibles desviaciones de estos parámetros pueden facilitarnos información sobre distintos tipos morfológicos de anemias.

Protoporfirina eritrocitaria

La protoporfirina IX es el precursor del hemo de ahí su relación con el metabolismo del hierro. Es la molécula elaborada por las mitocondrias a la que se fija el hierro para formar el hemo. La protoporfirina eritrocitaria en los hematíes es baja, excepto cuando disminuye la cantidad de hierro disponible para la síntesis de hemoglobina, la cual aumenta. Para su determinación se utiliza la técnica de fluorimetría, previamente son extraídas de los eritrocitos utilizando acetato de etilo-ácido acético. Los aumentos de la protoporfirina eritrocitaria libre están asociados a una reducción de hierro a los eritrocitos en desarrollo. Otros factores pueden influir en un aumento de este parámetro, tales como enfermedades crónicas, infecciones, inflamación y cáncer, intoxicación por plomo, etc. (231;232).

Es recomendable para un correcto análisis de este parámetro utilizar una muestra de plasma (lavado de células) y no de sangre total, puesto que la cantidad de porfirinas en los glóbulos rojos es mucho mayor que en el plasma.

Los valores normales de este parámetro en los eritrocitos se sitúan en torno a 20-50 µg/dl de glóbulos rojos, mientras que los valores ferropénicos poseen cifras superiores a 100 µg/dl. También se pueden encontrar concentraciones altas en los niños expuestos al plomo, lo que refleja la inhibición de la hemosintetasa (1). En relación a otros parámetros bioquímicos, la protoporfirina eritrocitaria es bastante estable a lo largo de todo el día.

Uno de los objetivos de la medición de porfirina eritrocitaria libre es la discriminación entre las 2 anemias microcíticas: anemia por deficiencia de hierro y anemia de carácter β-talasémico. En la primera la porfirina estará aumentada (debido a la disminución de la saturación de transferrina) y en la segunda se halla dentro de los valores normales. Algunos autores indican que la protoporfirina eritrocitaria libre es la prueba más sensible para detectar estados carenciales, mientras que las concentraciones de hierro y transferrina se ven influidas por numerosos factores que hacen que su utilidad sea baja (194).

Receptor de transferrina sérica

Constituye una de las medidas más recientes para detectar la deficiencia de hierro a nivel celular. En comparación con otros indicadores como la protoporfirina eritrocitaria, la ferritina sérica o el volumen corpuscular medio, el receptor de transferrina presenta una mayor vulnerabilidad a la variación de sus niveles normales ante el desarrollo de la deficiencia funcional de hierro. Además, ante personas con cualquier tipo de inflamación o patología hepática, los valores de este no varían como sucedía con la ferritina sérica (194), siendo por tanto muy utilizado en el ámbito hospitalario para valorar las deficiencias de hierro en pacientes diagnosticados de procesos inflamatorios crónicos (194).

La cantidad de receptores de transferrina situados en las membranas celulares permiten que el hierro unido a la transferrina pase al interior de la célula. El número de receptores de transferrina aumenta en personas con un estado de hierro bajo, por lo que dará la posibilidad de que entre mayor cantidad de hierro a fin de compensar la deficiencia. También se observa un aumento en personas con ciertas patologías como la β-talasemia, anemia hemolítica autoinmune, etc. Sin embargo, su valor no se suele alterar por inflamaciones, infecciones o enfermedades hepáticas, lo que le atribuye una gran utilidad a la hora de diferenciar las anemias por deficiencia de hierro de otros tipos de anemia (243-245).

La concentración de los receptores de transferrina, señalan la actividad eritropoyética y el déficit de hierro funcional en el eritrocito. Una mayor cantidad de estos indican un déficit de hierro o una deficiente actividad eritropoyética. Con unos valores de ferritina por debajo de 12 µg/l el receptor del suero representa la medición del déficit de hierro en los tejidos.

Los valores normales de este parámetro se sitúan en torno a 3-9 mg/l, utilizando para su análisis técnicas sensibles monoclonales.

Haptoglobina

Es el mejor marcador de la hemólisis (246;247). Numerosos estudios sobre atletas han hallado valores disminuidos de este parámetro en relación a ciclistas o población sedentaria (211).

Glóbulos rojos o hematíes o RBC (red blood cell count)

El hematíe es una célula que carece de núcleo en su forma madura, tiene forma bicóncava y posee un metabolismo basado en la glicolisis anaeróbica (85-80%) y en las pentosas (15-10%). Está compuesto por una gran cantidad de hemoglobina (90% de su peso en seco). Es un pigmento rico en hierro que se une a 4 moléculas de oxígeno de forma reversible. Estos no pueden contener más de 34 g de hb por unidad debido a que existe una limitación metabólica para el mecanismo de formación de hemoglobina celular. La totalidad de sangre de un sujeto sano contiene aproximadamente 15,8 g de hb (13,9-16,3) y 13,5 g en mujeres sanas (12,0-15,0). Cada gramo de hb se combina aprox. con 1,39 g de oxígeno. Cada ml de sangre de un hombre sano puede transportar 21 ml de oxígeno y 19 ml en mujeres.

Los glóbulos rojos viven aprox. 4 meses, después de los cuales se agota la dotación enzimática y son captados por los macrófagos que los desintegran, los sustratos procedentes de esta desintegración son reutilizados por el organismo de la distinta forma: El hierro se reutiliza para la síntesis de hemoglobina, los aminoácidos para la síntesis de proteínas y la molécula de porfirina formará la bilirrubina directa.

La concentración media de eritrocitos en la sangre es de 5.200.000 células por µl de sangre en el hombre (4,4 -5,9 x 10⁶) y 4.700.000 en la mujer (3,5-5,5 x10⁶). Estos valores permanecen constantes, un exceso de estos producirá una mayor viscosidad de la sangre. Los hematíes se producen y se destruyen constantemente, especialmente en deportistas (corredores). Entre las causas de esta destrucción se hallan:

- ***Golpeo de la planta del pie con el suelo*** (foot-strike hemolysis). Algunos autores han concluido que el ejercicio induce a la destrucción de los glóbulos rojos, debido al impacto del pie contra el suelo (248).
- ***Alto ritmo de circulación***. El aumento de la velocidad en la circulación sanguínea y las situaciones metabólicas de gran intensidad que se producen durante el ejercicio físico provocan un agotamiento precoz de las cadenas enzimáticas que acortarán la vida del hematíe.
- ***Alta temperatura corporal alcanzada durante el ejercicio***. El aumento de la temperatura corporal durante el ejercicio afecta negativamente al rendimiento del eritrocito, ya que produce un desgaste precoz y desgarros en la membrana celular, especialmente en eritrocitos maduros.
- Algunos estudios hablan también de ***pérdidas de sangre oculta en las heces*** en deportes de larga duración (249).
- La ***adrenalina*** parece tener un efecto sobre la membrana del hematíe haciendo que esta tenga una mayor tendencia a romperse.

El proceso de maduración del hematíe pasa por diferentes fases, las cuales necesitan distintos substratos plásticos hasta llegar a formar parte del pool de sangre circulante.

A continuación se expone el siguiente cuadro el cual refleja la eritropoyesis en la médula ósea (250).

Tabla 13. Formación de los eritrocitos. Eritropoyesis Adaptado, Terrados, N.; Mora, R.; Padilla, S. (240)

ERITROPOYESIS EN LA MÉDULA ÓSEA		
Síntesis de hemoglobina	Fase de maduración	Otras circunstancias
O	Célula madre multipotencial (Stem o hemocitoblasto)	
O	Célula madre comprometida(eritropoyesis)	Eritroproyetina
+	Proeritroblasto	
++	Eritroblasto basófilo	
+++	Eritroblasto policromatófilo o policromático	
++	Eritroblasto ortocromático	Pérdida del núcleo
+	Reticulocito	
O	Eritrocito maduro	Sangre periférica

Todas las células sanguíneas se producen principalmente en la médula ósea. En la sangre circulante, todas las células proceden de las células madre hematopoyéticas pluripotenciales, cuya reproducción continúa durante toda la vida en su forma original.

Existen vías distintas para la síntesis de cada una de estas estirpes celulares de la sangre: eritrocitos, leucocitos-granulocitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) y monolitos, megacariocitos (que a su vez se dividen en plaquetas de la sangre) y linfocitos.

La eritropoyectina es producida fundamentalmente por los riñones (80-90% del total) el resto es producida por el hígado, un descenso de la oxigenación tisular estimula la producción de eritropoyectina. En ambiente hipóxico los niveles de EPO empiezan a aumentar pasados unos minutos o incluso horas, alcanzando el máximo tras 24 horas.

Funciones de los glóbulos rojos

- Transportan oxígeno cargado en las moléculas de hemoglobina y CO².
- En los capilares sanguíneos que rodean a los alveolos pulmonares, la hemoglobina (hierro y globina (proteína)) se combina con el oxígeno dando lugar a la oxihemoglobina, que circula en la sangre arterial. Ante una situación con presión del oxígeno baja (tejidos periféricos) la oxihemoglobina se disocia y libera el oxígeno para que sea consumido por las células. La regulación de la liberación de oxígeno desde la oxihemoglobina es realizada por el 2-3 difosfoglicerato, el cual está presente en altas concentraciones en el eritrocito. También contienen altas concentraciones de anhidrasa carbónica, enzima que cataliza las reacciones entre el dióxido de carbono y el agua (permite que grandes cantidades de dióxido de carbono sean transportadas desde los tejidos a los pulmones en forma de iones bicarbonato). La hemoglobina juega un papel muy importante en la liberación de oxígeno a los tejidos, por eso se le considera para el diagnóstico de la anemia. También es un regulador (buffer) acidobásico
- Proporcionan oxígeno al músculo a través de la mioglobina.
- Función circulatoria y respiratoria.

Valores anormales del número de glóbulos rojos

Existen ciertos estados fisiológicos o ambientales que provocarán un aumento o una disminución de los valores normales de hematíes. Así, en altitud el número de estas células aumenta ligeramente hasta llegar a valores situados entre los 4,7 y 6,1 millones de células/mcl en hombres y 4,2 a 5,4 células/mcl en mujeres.

Un número alto de hematíes también puede ser indicio de una enfermedad cardíaca congénita, fibrosis pulmonar, policitemia vera, deshidratación (por diarrea severa) o enfermedad del riñón con alta producción de eritropoyetina.

Mientras que un número bajo puede ser indicio de anemia, hemorragia, insuficiencia de la médula ósea (fibrosis, tumores, toxinas, etc.), deficiencia de eritropoyetina, hemólisis por reacción a la transfusión, leucemia, desnutrición, entre otros.

Examen de la médula ósea

El análisis de la médula ósea nos proporciona la cantidad de hemosiderina de las células reticulares. La cual es un indicador relacionado con las concentraciones de hierro no hemo y con los niveles de ferritina sérica. Existen 4 valores posibles: ausente, reducida, normal o incrementada. Con la categorización ausente hacemos referencia a la latente deficiencia de hierro.

La medición del hierro depositado en las células reticuloendoteliales se puede evaluar con la tinción de azul de Prusia en la médula. Como limitaciones de esta medición se encuentran la falta de objetividad de los evaluadores, la habilidad de estos, así como la suficiente cantidad de médula disponible. Además es una técnica invasiva y de poca aplicación para evaluar los almacenes de hierro en la población general. Existen a su vez otros métodos para el análisis de los valores de hierro que no son tan utilizados y por tanto no describiremos.

Marcadores genéticos

Actualmente se conocen varios marcadores genéticos que permiten el escrutinio mediante análisis de ADN de diversas alteraciones en la absorción y transporte del hierro, siendo el descubrimiento del gen de la hemocromatosis uno de los más importantes hallazgos.

Conclusiones

Hemos estudiado una gran variedad de posibles marcadores relacionados con la deficiencia o exceso de hierro. A la vista de estos datos, concluimos que algunos autores proponen utilizar los valores de ferritina sérica para analizar la cantidad de hierro almacenado, siempre y cuando no existan procesos inflamatorios crónicos.

El receptor sérico de transferrina será útil para medir una posible deficiencia de hierro moderada en los tejidos, especialmente indicado si existe enfermedad inflamatoria, ya que

podría distinguir entre anemia por enfermedad crónica y anemia por falta de hierro, teniendo presente que en este tipo de enfermos es común el solapamiento.

La concentración de hemoglobina como medida de deficiencia de hierro avanzada y la protoporfirina eritrocitaria libre como un parámetro muy fiable para detectar estados carenciales de hierro, debido principalmente a su alta sensibilidad, bajo coste y necesidad de una muestra pequeña.

Es importante conocer también los demás parámetros así como la función de los citocromos los cuales están formados por una molécula de globina y un grupo hemo. Se encuentran principalmente en las mitocondrias y otras organelas celulares. Intervienen en los procesos de transporte de electrones, como por ejemplo, en las mitocondrias donde intervienen en la producción oxidativa de energía, o en el caso del citocromo P450 que interviene en los procesos de la degradación oxidativa de compuestos endógenos o de diferentes fármacos (29;170;172;251).

2.1.12. VALORACIÓN DEL NIVEL DE HIERRO EN EL ORGANISMO

La presencia de hierro en el organismo supone aproximadamente 35 y 45 mg/kg de peso corporal de una mujer y un varón, respectivamente (252). Para conocer los niveles de hierro existentes en un determinado tejido o en el cuerpo se suele utilizar la medición directa a través del análisis de un fragmento del tejido (biopsia del hígado, riñón, etc.) usando absorción atómica o técnicas espectro-fotométricas. En pacientes con anemia aplásica está contraindicado debido a su bajo número de plaquetas, para ello se utilizarían métodos indirectos no invasivos realizando una estimación del hierro en los tejidos a través de un aparato de interferencia quantum superconductor.

Dado la escasa posibilidad de encontrar estos medios tecnológicos, actualmente se está estudiando el uso de la resonancia magnética y otras técnicas. Con esta última, se puede estimar la cantidad de hierro presente en la glándula pituitaria, pero llegado el momento de su detección, sea probablemente tarde en términos de la función pituitaria.

El estudio de la cantidad de hierro en el hígado es el indicador más fiable para analizar el hierro presente en todo el organismo. En otros órganos, tal es el caso del corazón, la cantidad de hierro es variable, no hallándose distribuido homogéneamente dicho mineral. Además, la medida del hierro encontrado no guarda relación necesariamente con la disfuncionalidad que se tenga.

2.1.13. EXCESO O SOBRECARGA DE HIERRO EN EL ORGANISMO

Es importante para cualquier persona y más en deportistas mantener el funcionamiento correcto de los factores que sostienen el equilibrio de hierro en el organismo. Para ello, se debe controlar la ingesta de este mineral, evitando su suplementación innecesaria. Ya hemos analizado en el anterior apartado cuales eran los problemas que podíamos padecer si teníamos una deficiencia de este mineral. De igual o incluso mayor grado de importancia se considera la problemática asociada con la sobrecarga de hierro.

La sobrecarga de hierro puede ser primaria, por alteraciones genéticas como la hemocromatosis hereditaria, o secundaria, como la que se observa en los trastornos crónicos de la eritropoyesis, especialmente en los procesos con defectos en la síntesis de hemoglobina y eritropoyesis ineficaz, como la anemia sideroblástica y la talasemia (1;194;253).

Esta sobrecarga sucede cuando el organismo absorbe más hierro del que utiliza y excreta, provocando un desequilibrio en la homeostasis de este mineral. La hemosiderosis ocurre debido al exceso de hemosiderina acumulada en los tejidos por una sobrecarga intensa y prolongada. Grandes cantidades de hemosiderina pueden causar lesiones en los tejidos y provocar hemocromatosis.

Mecanismos y causas de la sobrecarga de hierro

La transferrina se encarga de transportar el hierro a través del plasma desde las células del intestino hasta la médula ósea, hígado y otros tejidos. El 80% de este será entregado a la médula ósea. La capacidad de fijación de hierro a la transferrina se puede llegar a saturar (por ejemplo en la hemacromatosis hereditaria), permaneciendo cierta cantidad de hierro sin fijar a esta y siendo tomado por los hepatocitos y otras células, donde ocasionarán daños a diversos órganos.

Exceso de hierro y Hemocromatosis

La hemacromatosis es una patología que produce una alteración en el sistema regulador de la mucosa duodenal. De esta forma, aunque existan unos niveles de hierro normales, este sistema se comporta como si hubiese deficiencia de hierro, provocando una mayor absorción de este y un excesivo depósito de hierro en los tejidos, disminuyendo la esperanza de vida del paciente.

Hay que decir también, que no siempre la absorción excesiva de este mineral está relacionada con alteraciones en el sistema regulador de la mucosa intestinal, ya que puede haber otras alteraciones distintas a esta.

Existen dos tipos de hemocromatosis: *hereditaria*, mecanismo de transmisión autonómico recesivo y *adquirida*, donde la sobrecarga de hierro es producida por una enfermedad (tal es el caso de anemias que cursan hemocromatosis: como la talasemia, las diseritropoyéticas y las sideroblásticas). Puede ser a su vez por dos motivos:

- Por aporte excesivo de hierro por vía oral: A pesar del control que ejerce la mucosa intestinal sobre la absorción del hierro en función de las necesidades del organismo, la suplementación prolongada de compuestos de hierro pueden producir hemocromatosis.
- Por aporte de hierro innecesario por vía parenteral: la suplementación de hierro por vía parenteral produce un exceso de hierro que no se puede utilizar para sintetizar hemoglobina. Es menos frecuente que el anterior, ocurre principalmente en transfusiones.

En la hemacromatosis hereditaria hay un incremento de la absorción del hierro dietético, una escasez relativa de hierro en los macrófagos del SRE y un aumento de la saturación de la transferrina circulante, lo que hace que los hepatocitos se carguen con hierro probablemente porque la incorporación de hierro de la circulación excede la exportación mediada por la ferroporfirina (152).

Existen otras condiciones en las que se produce una sobrecarga de hierro, tal es el caso de las transfusiones múltiples de glóbulos rojos o las personas con anemias hemolíticas, a estos dos últimos casos se le denomina hemosiderosis en lugar de hemocromatosis.

Daños en los tejidos

Un depósito de hierro excesivo puede producir desestructuración de los parénquimas y fibrosis, principalmente en el hígado, páncreas, miocardio y glándulas de secreción interna.

La acumulación de hierro excesiva en forma de hemosiderina puede producir la adquisición de un color marrón oscuro de las vísceras.

Daños en el hígado

El hígado es el primer órgano que suele verse perjudicado, produciéndose una fibrosis (se ha definido la concentración de 40 μ mol/ 100 mg de tejido hepático seco como umbral

para el desarrollo de la fibrosis hepática), aumentando su tamaño y un deterioro en sus funciones. También se suele producir en estos pacientes la hiperpigmentación cutánea a consecuencia del depósito de hierro en la piel, daño en el páncreas, cirrosis hepática, etc.

Daños en el corazón

El hierro depositado en el miocardio puede ocasionar anomalías rítmicas y además la pérdida de contractilidad que se observaría a través de distintas arritmias.

Daños en la glándula pituitaria

El hierro acumulado en la glándula pituitaria, situada en la base del cerebro, puede ocasionar alteraciones, especialmente en los niños, de crecimiento, de maduración sexual y otras funciones endocrinas.

2.1.14. DEFICIENCIA DE HIERRO

En el siglo XVI se relacionaba la deficiencia de hierro con una enfermedad denominada “enfermedad verde” o “clorosis”. Esta denominación, se utilizaba para referirse al color verdoso-amarillento que adquiriría la piel de quienes padecían anemia ferropénica, principalmente mujeres adolescentes. Sydenham fue la primera persona que utilizó el hierro como tratamiento de la clorosis. Posteriormente en 1832 el médico francés Pierre Blaud utilizó una píldora compuesta por sulfato ferroso y carbonato de potasio con el mismo fin que Sydenham. La denominada “píldora de Blaud” y el tratamiento de Sydenham se utilizaron para combatir la anemia hasta finales del siglo XIX. Al mismo tiempo que muchas personas tomaban la píldora de Blaud, eran postuladas numerosas controversias acerca de la efectividad de la absorción del hierro inorgánico (2;24). Fue entonces cuando se empezó a analizar diversos aspectos relacionados con el hierro: absorción, metabolismo, excreción, biodisponibilidad, etc.

La deficiencia de hierro es el estado carencial más habitual en el mundo (254). Esta deficiencia la padecen principalmente mujeres y adolescentes debido a las pérdidas de hierro durante la menstruación y al crecimiento de los músculos y volumen sanguíneo de los jóvenes adolescentes, respectivamente (19;255). Esta deficiencia no sólo se da en países tercermundistas, tal es el caso de Indonesia donde un 25-30% de la población la padecen (256), en países como Suiza se han detectado deficiencias de este mineral recomendándose la suplementación y fortificación de los alimentos (257).

El término “anemia del deportista” fue usado por primera vez por Yoshimura en 1970 (258) en su artículo sobre la anemia asociada al ejercicio. A partir de entonces comienzan investigaciones para abarcar este fenómeno, dando lugar una gran cantidad de términos relacionados con el objeto de estudio, que en muchas ocasiones no permiten una clara distinción entre estos, creando confusión para los autores y los lectores. Actualmente, la verdadera anemia en el deportista es aquella en la que se utiliza el valor de la hemoglobina para su diagnóstico.

Aun así existen estudios que no encuentran diferencias significativas en los niveles de algunos parámetros bioquímicos (la mayoría en ferritina) en deportistas en relación a la población en general (211;259;260;260;260). El tipo de ejercicio y la duración de este son dos aspectos que se han de tener en cuenta a la hora de analizar las adaptaciones hematológicas y el metabolismo del hierro.

La anemia (patológica) a menudo se confunde con la pseudoanemia (no patológica, respuesta adaptativa), la cual se desarrolla con el entrenamiento debido principalmente a un aumento del plasma sanguíneo y una hemodilución. También existen otros estados los cuales en muchas ocasiones se confunden con la anemia, tales como: anemia prelatente o hemolisis intravascular.

La etiopatogenia de la deficiencia de hierro puede poseer distintos orígenes pudiendo ser por falta de aporte o ingesta inadecuada, falta o dificultades en los procesos de absorción o por aumento de pérdidas o de consumo de este mineral.

Problemas relacionados con la deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro afecta a todas las células y ocasiona diferentes trastornos. Estos variarán en función de la gravedad de la deficiencia y de las características personales del sujeto: distorsiona numerosas reacciones enzimáticas involucradas en la utilización de sustratos de energía por el músculo y otras muchas células, perjudica la mielinización, producción y regulación de los neurotransmisores, citoquinas y hormonas, afecta a la duplicación y reparación del ADN, disminuye el transporte y utilización del oxígeno y la capacidad inmunológica.

Tipos de alteraciones hematológicas relacionadas con el hierro

A continuación se muestra una tabla donde se agrupa los principales tipos de alteraciones relacionadas con la deficiencia de hierro (203).

Tabla 14. Alteraciones relacionadas con la deficiencia de hierro y parámetros bioquímicos

Parámetro / Tipo de anemia	Frecuencia	Hemoglobina	Volumen Corpuscular Medio	Ferritina	Haptoglobina
<i>Pseudoanemia disolución</i>	Común	Ligeramente disminuida	Normal	Normal	Normal
<i>Anemia prelatente</i>	Común	Normal	Normal	Disminuida	Normal
<i>Anemia por deficiencia de hierro</i>	Menos común	Disminuida	Disminuido	Disminuida	Normal
<i>Hemolisis intravascular</i>	Menos común	Normal	Normal	Normal	Disminuida

PSEUDOANEMIA

Es la causa más común de anemia en atletas. De los datos de todos los estudios revisados se confirma que la pseudoanemia es temporal y benigna. La pseudoanemia por

disolución ocurre como resultado de una expansión del plasma sanguíneo, tras unos pocos días de entrenamiento prolongado. Esta expansión no ocurre hasta finalizar el ejercicio completo, de hecho el ejercicio energético origina una disminución del plasma sanguíneo, aproximadamente entre un 6% y 20 % (261). Unas pocas horas después de finalizar el ejercicio físico el volumen de plasma vuelve a los valores iniciales (262). Después, el volumen de plasma se expandirá en función del volumen de entrenamiento y la intensidad. Así, un ejercicio más intenso y largo corresponde con un gran incremento del volumen de plasma (263;264). Con todo, la masa hemoglobina absoluta está aumentada ya que el ejercicio estimula la eritropoyesis, pero debido a la gran expansión del volumen plasmático, mediada por la retención de líquidos en el cuerpo, concluye en un bajo valor de hemoglobina y hematocrito. Una vez expandido el plasma la concentración de hemoglobina disminuye, y como resultado aparece la anemia. Muchos estudios registraron incrementos de entre un 8 y un 24 % del volumen de plasma después de un periodo intenso de entrenamiento e incluso tras una maratón, al igual que una disminución de un 5% de la hemoglobina. Esta disminución de la hemoglobina no debe ser severa ($Hb < 13$ g/dl en hombres y $< 11,5$ g/dl en mujeres). En el estudio de Yorck (211) sobre un total de 747 deportistas, se observó una reducción en los valores de hemoglobina, hematocrito y RBC en el grupo de modalidades de resistencia (ciclismo y atletismo) en comparación con el grupo de deportistas de modalidades de fuerza o entrenamiento mixto. La normalización de los valores de la hemoglobina ha sido observada aproximadamente una semana después del cese del entrenamiento (265). Algunos investigadores sugieren que la benigna pseudoanemia no afecta negativamente al rendimiento del deportista (266). Incluso algunos afirman que puede ser beneficioso, ya que es una respuesta adaptativa a la disminución del volumen intravascular inicial y hemoconcentración que ocurre con el ejercicio (264).

Sin embargo para ejercicios de baja intensidad y corta duración el RBC se mantiene constante y solo se producen cambios a corto plazo del volumen plasmático (207).

La expansión del volumen de plasma produce los siguientes beneficios (211): mejora el rendimiento cardiaco por un bombeo mayor de volumen sanguíneo, mejora el oxígeno deliberado a los músculos por un mayor volumen sanguíneo, disminuye la viscosidad de la sangre, mejorando la liberación de oxígeno y mejora la eficiencia termorreguladora aumentando los fluidos corporales para disipar calor.

Esta pseudoanemia volvería a su estado estable aproximadamente tras el primer mes de ejercicio. En ocasiones se utiliza el término de anemia deportiva, siendo este rechazado por diversos autores pues declaran que es un término confuso y equívoco y su uso debería ser

rechazado pues la causa de la anemia no es el deporte en sí, sino, principalmente la ingesta inadecuada de hierro (230;267).

Mecanismos que han sido postulados en relación a la disminución del volumen del plasma sanguíneo inicial

- El aumento de la presión arterial y contracción muscular causa un incremento de la presión hidrostática capilar, la cual fuerza al fluido a introducirse en el espacio extravascular.
- El ácido láctico y otros metabolitos generados por la contracción muscular arrastran el fluido hacia los tejidos lejos del espacio intravascular.
- El crecimiento indiferente perdido y el sudor contribuyen a una disminución en el volumen de plasma intravascular.

Mecanismos que han sido postulados en relación al aumento del volumen del plasma sanguíneo tras el entrenamiento

A pesar de que el incremento del volumen de plasma post ejercicio está bien documentado, no sucede así con las causas que originan a este. Se sostienen las siguientes (265;268): regulación hormonal, ajuste del volumen intravascular, aumento de agua y sales en la retención renal, disminución de la actividad urinaria, incremento de la producción de aldosterona, renina, vasopresina (aunque algunos estudios no sostiene estos resultados) y aumento de las proteínas como globulinas y albúminas, e hiperhidratación.

Por todo esto interpretaremos una disminución de la hemoglobina (también del hematocrito y el número de hematíes), sin que realmente exista, ya que los valores absolutos de hemoglobina están aumentados (el ejercicio estimula la eritrocitosis). Para descartar una anemia por deficiencia de hierro u otra patología hematológica deben estudiarse también otros parámetros hematológicos como: disminución de ferritina, elevado VCM, hemoglobinuria, o disminución de la haptoglobina.

ANEMIA PRELATENTE

Muchos investigadores han encontrado cierta deficiencia de hierro en deportistas, especialmente en corredores. Nachtigall (269) encontró una disminución de la ferritina sérica (<35ng/l) en 23 de 45 corredores (51%). Sin embargo los niveles de hemoglobina fueron normales y no fueron significativamente diferentes en relación al grupo control.

Son muchos los estudios que verifican una disminución de los niveles de hierro y ferritina en la población atlética con respecto a la sedentaria (210), especialmente en los valores de la ferritina (211).

Yorck (211) concluye en su estudio, después de comparar la disminución de los niveles de ferritina del grupo de atletas de competición con los valores normales del grupo de deportistas recreativos, que el aumento del tiempo de actividad física conducen a una disminución de los niveles de ferritina.

ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO

La deficiencia de hierro es la deficiencia nutricional más común en los Estados Unidos (254;255), así como en el resto de países desarrollados y en vías de desarrollo. Esta ocurre al menos en un 11% en mujeres (frecuentemente premenopáusicas) y en un 4% en hombres (255). La deficiencia de hierro con anemia es menos común, ocurre solo en un 1-2% de los adultos (255). Los niños son un grupo de población con tendencia a poseer este tipo de anemia (1), pudiendo tener importantes efectos sobre el desarrollo psicomotor y la función cognitiva de estos, que podría mejorar con la inclusión de alimentos fortificados con hierro en la dieta (270). Los puntos de corte para diagnosticar anemia por deficiencia de hierro, propuestos por la International Nutritional Anaemia Consultative Group (INAG) se describen en la siguiente tabla (223) :

Tabla 15. Puntos de corte para el diagnóstico de la anemia por deficiencia de hierro

Grupo /Parámetro	Hemoglobina (g/dl)	Hematocrito (%)
Niños(as) 6 meses-5 años	11,0	33
Niños(as) 5-11 años	11,5	34
Niños(as) 12-13 años	12,0	36
Mujeres no embarazadas	12,0	36
Mujeres embarazadas	11,0	33
hombres	13,0	39

La deficiencia de hierro se produce en tres etapas:

- ❑ **Etapa 1 o anemia prelatente:** Asociada con una disminución aislada de la ferritina sérica. La médula ósea no está afectada y los niveles de hemoglobina son normales. Se considera una etapa clave para prevenir que se agrave más la deficiencia. Hay que tener especial precaución a la hora de estudiar el valor de la ferritina, puesto que en pacientes con inflamación o hepatopatía crónica la ferritina sérica está desproporcionadamente aumentada en relación con los depósitos de hierro.

- ❑ **Etapas 2 o eritropoyesis deficiente en hierro:** Se produce una mayor disminución de los depósitos de hierro, del hierro sérico y de la transferrina, aumentando la capacidad total de fijación del hierro. Valores menores al 10% en la saturación de transferrina se consideran inadecuados para la eritropoyesis. Todo ello conlleva a una inadecuada cantidad de hierro disponible para la médula eritroide y los tejidos, lo que dificulta la realización normal de diversos procesos bioquímicos. Inicialmente la anemia no es severa y un poco hipocrómica. El receptor de transferrina sérica se ha encontrado aumentado en esta etapa, al igual que los niveles de protoporfirina eritrocitaria libre. Los niveles de hemoglobina pueden estar reducidos.

- ❑ **Etapas 3 o deficiencia de hierro anemia:** Mayor vaciado de los depósitos de hierro y desarrollo de hipocromia y microcitosis. Además de acentuarse los cambios anteriormente descritos, disminución de la ferritina sérica, hierro y saturación de transferrina, y elevación de la capacidad total de fijación del hierro. La persistente falta de hierro para la producción de eritrocitos provoca una reducción significativa de la concentración de hemoglobina circulante, además de la producción de eritrocitos pequeños y niveles aumentados de protoporfirina eritrocitaria. La protoporfirina eritrocitaria libre es utilizada para formar hemoglobina y esta aumenta cuando la cantidad de hierro disponible no es la adecuada. La evaluación de la médula ósea generalmente no es requerida. Para verificar la existencia de una verdadera anemia por deficiencia de hierro, se puede analizar a través del aumento de la hemoglobina tras la suplementación del fármaco. Si el aumento es mayor de 1g/dl en las tres semanas siguientes al comienzo del tratamiento es que el paciente padecía anemia.

En esta otra tabla extraída de varios autores, observamos que se diferencian 3 etapas hasta llegar a la deficiencia de hierro por anemia. En la primera o denominada etapa de depleción de hierro, se observa principalmente una disminución en los niveles de ferritina sérica. En la segunda etapa o eritropoyesis con deficiencia de hierro, existen unos cambios más acentuados en determinados valores de diversos parámetros bioquímicos, tales como: disminución de hierro en sangre y del porcentaje de saturación de transferrina, aumento de la TIBC, de la concentración de protoporfirina libre eritrocitaria. En la tercera etapa o anemia ferropénica además de acentuarse todavía más los valores anteriormente descritos es característica de esta etapa la disminución de la hemoglobina y del hematocrito.

Etapas secuenciales del desarrollo progresivo de la deficiencia de hierro (extraído de Boccio) (28)

Tabla 16. Etapas secuenciales del desarrollo progresivo de la deficiencia de hierro (2;28;271)

Parámetro	Normal	Etapa I Depleción de hierro	Etapa II Eritropoyesis con deficiencia de hierro	Etapa III Anemia Ferropénica
Hierro médula ósea retículo endotelial	2-3 +	0-1 +	0	0
TIBC (m g/dl)	330± 30	360	390	> 410
Ferritina Plasmática (m g/l)	100± 60	20	10	< 10
Absorción de hierro (%)	5-10	10-15	10-20	10-20
Ferremia (m g/dl)	115± 50	115	< 60	< 40
Saturación de transferrina (%)	35± 15	30	< 15	< 15
Protoporfirina libre eritrocitaria (m g/dl, células rojas)	30	30	100	> 200
Eritrocitos (morfología)	Normal	Normal	Normal	Microcíticos hipocrómicos

La deficiencia de hierro es generalmente evaluada por una serie de test de sangre, incluyendo la hemoglobina, hematocrito, VCM, hierro sérico, TIBC, saturación transferrina y ferritina sérica. Igualmente, se ha de analizar si existe sangrado en la orina o pérdida de sangre gastrointestinal. Otra forma útil es la biopsia de la médula ósea.

Decir también que la ferritina es un marcador sustituto de los depósitos de hierro en la mayoría de los pacientes. Los pacientes quienes tienen una ferritina menor a 10-15 ng/ml casi siempre tienen deficiencia de hierro (272). Por otro lado, niveles altos de ferritina también pueden ser causa de deficiencia de hierro, a causa de inflamaciones subyacentes o condiciones malignas que pueden causar una elevación de los niveles de ferritina sérica (273).

La deficiencia de hierro puede ser originada básicamente por cuatro motivos, que en la mayoría de los casos están relacionados entre sí (269;274):

- ∞ Dieta pobre en hierro: Si una persona no ingiere alimentos ricos en hierro hemo (mayor absorción) y aún por encima realiza ejercicio físico con un alto gasto de

este mineral, seguramente posea un desequilibrio en el balance de este mineral. Hoy en día, se habla más de absorción insuficiente que de ingesta o dieta.

- ☞ Debilitada absorción del hierro: estaría relacionado con lo anteriormente señalado. Debemos ingerir fuentes grandes de hierro hemo y cuando se consuma alimentos ricos en hierro no hemo debemos velar por combinarlos con alimentos que favorezcan su absorción, como el ácido ascórbico y evitar los que inhiben su absorción, como el té, café, etc. La absorción de hierro en una persona con una ligera deficiencia de hierro puede llegar hasta un 30% si procede de una fuente hemo acompañada con ácido ascórbico.
- ☞ Requerimiento elevado: Tiene lugar principalmente durante el periodo de crecimiento, debido al aumento de la masa sanguínea y de tejidos sólidos.
- ☞ Excesiva pérdida de este mineral (pérdida de sangre: sangrado gastrointestinal, hematuria, hemolisis llevando a hemoglobinuria, sudoración...). Existen también unas pequeñas hemorragias constantes, especialmente en deportistas, tales como el footstrike (golpeo de la planta del pie contra el suelo) que produce la muerte de muchas células sanguíneas. Para compensar esta pérdida se produce un ligero aumento en la eritropoyesis, lo que supone la eliminación del hierro de la hemoglobina de los hematíes al exterior y la pérdida de un mililitro es igual a la eliminación de 1 mg de hierro y si se piensa que ésta pérdida es diaria, puede producirse una depleción importante.

HEMOLISIS INTRAVASCULAR

El primer caso registrado de hemoglobinuria después de ejercicio intenso se remonta a 1881 cuando un soldado tras realizar una marcha de campo prolongada orinó oscuro (259;262). Posteriormente se siguió investigando sobre el tema y recientemente se concluyó que la disminución de los niveles de haptoglobina en plasma es un indicador de la hemolisis intravascular.

La hemolisis intravascular no es extraña encontrarla en algunos deportes, aunque mayoritariamente predomine en atletas medio fondistas y fondistas (211). La hematuria y la hemoglobinuria no solo fueron observadas en atletas de fondo, algunos investigadores hallaron casos de estas alteraciones en nadadores, triatletas y después de programas de entrenamiento de fuerza (275-277). Si sospechamos de una hemolisis debemos realizar un análisis poco después del entrenamiento del atleta. El diagnóstico requiere la presencia de una disminución de la haptoglobina. El complejo haptoglobina-hemoglobina es luego procesado

por el hígado y el hierro es reciclado. Si la haptoglobina es saturada la hemoglobina libre es derramada a la orina. El grado de hemolisis no es generalmente suficiente para diagnosticar una anemia, ya que en la mayoría de los sujetos el organismo es capaz de compensar esto con un incremento en la reticulocitosis. De la misma forma, la deficiencia de hierro (anemia) desde una pérdida de hierro a través de la orina es muy rara.

Como tratamiento se propone: alteraciones en el paso, entrenamiento en distintas superficies blandas, disminución de la intensidad del entrenamiento y/o cambio del calzado deportivo.

Causas de la hemoglobinuria asociada al ejercicio

- Impacto energético de los pies sobre superficies duras durante la carrera (foot-strike hemolysis). Esto produce un daño en los glóbulos rojos de la planta del pie. Numerosos estudios afirman que el hecho de correr por superficies duras produce una mayor hemólisis que correr por superficies blandas como hierba (278). Otros investigadores hallaron hemolisis (bajos niveles de haptoglobina) en el grupo de atletas en comparación con el grupo de ciclistas, debido según sus autores a la destrucción de los glóbulos rojos por el movimiento de carrera (211). En otros deportes como la natación ha habido estudios pero no sostienen los investigadores una relación con la hemolisis tan fuerte como en el caso de los corredores donde existen impactos del pie sobre la superficie. Otros estudios realizados en otros deportes: natación, karate, levantamiento de pesas, etc, proponen otras causas como: comprensión de la contracción muscular, aumento de la temperatura del cuerpo (262), incremento del flujo de sangre renal y presión, daño en la permeabilidad glomerular, los cambios inducidos por el ejercicio en la vulnerabilidad de los glóbulos rojos para la oxidación y estrés osmótico pueden ser causas de hemólisis, cambios en la estructura de la membrana de los glóbulos rojos han sido vistos después del ejercicio prolongado los cuales pueden afectar a la hemolisis, los glóbulos rojos más viejos son más frágiles que los jóvenes más deformables.

Síntomas y signos de la deficiencia de hierro

Entre los síntomas que produce la deficiencia de hierro destacamos la pérdida de la capacidad de trabajo. Especialmente son los deportistas los que perciben de forma mayoritaria esta pérdida de la capacidad de trabajo, puesto que verán mermado su rendimiento en los entrenamientos diarios. También se produce pérdidas en la capacidad de atención y aumenta

el tiempo de reacción ante los estímulos, debido principalmente a la reducción de la transmisión neuronal y funciones mentales. Las defensas y el sistema inmunitario se verán perjudicados con la deficiencia de este mineral. Pueden existir daños irreversibles o reversibles en la función mental.

En cuanto los signos se pueden producir palpitaciones, fatiga, cefaleas, irritabilidad y mareos. En niños se pueden producir alteraciones en el crecimiento y en adultos trastornos epiteliales y reducción en la acidez gástrica. Así como alteraciones gastrointestinales, tales como gastritis atrófica y la aclorhidria .

En casos de anemia grave se pueden producir alteraciones en la morfología normal de la lengua, uñas, boca y estómago. La piel y la conjuntiva de los párpados adoptarán un color pálido. Si persistiese durante mucho tiempo la anemia, se producirá una falta de funcionalidad en el sistema cardiovascular y respiratorio pudiendo provocar la insuficiencia cardíaca.

También se pueden producir alteraciones de la capacidad para regular la temperatura corporal en un ambiente frío.

2.1.15 POBLACIONES VULNERABLES PARA LA DEFICIENCIA DE HIERRO

Los niños pequeños son particularmente vulnerables a la deficiencia de hierro, así lo confirman numerosos estudios que hallaron un número alto de casos de anemia en la población infantil (255;279). Las reservas de hierro prenatal pueden sufrir depleción los primeros meses de vida. Algunos de los factores causantes de esta disminución de las reservas de hierro son: la frecuente extracción de muestras de sangre, el rápido crecimiento o la ingesta inadecuada (21). Para combatir esta patología se están elaborando alimentos y fórmulas lácteas fortificadas con hierro.

Otras poblaciones vulnerables a la deficiencia de hierro son los deportistas (especialmente de modalidades aeróbicas), las personas con dieta vegetariana y las personas con estados fisiológicos especiales, tales como mujeres en periodo fértil, mujeres embarazadas o adolescentes en fase de crecimiento (74;75;259;280).

En el caso de los deportistas algunos investigadores confirman que la ingesta de proteínas debe aumentar durante las primeras fases de un programa de ejercicio físico aeróbico a fin de prevenir el desarrollo de un estado carencial de hierro denominado, anemia deportiva o pseudoanemia (258). Esta afección aparece cuando el organismo se está adaptando al ejercicio y utiliza las proteínas para sintetizar hemoglobina, mitocondrias y otras proteínas musculares esenciales para el uso de del oxígeno contenido en la hemoglobina, por eso se puede producir un descenso transitorio de los niveles de la hemoglobina. Aunque algunos investigadores sugieren que esta pseudoanemia no está provocada por la pérdida de hemoglobina sino por una expansión del plasma que genera una dilución de la concentración de hemoglobina tal como se explicó anteriormente, y que se puede desarrollar solo en algunos individuos (158).

2.1.16. IMPORTANCIA DE UNA CORRECTA NUTRICIÓN PARA LA SALUD Y EL EJERCICIO FÍSICO EN NIÑOS Y JÓVENES

Los dos determinantes principales del estado de salud de una persona son la genética y el estilo de vida. Dentro del estilo de vida se engloba entre otros aspectos la nutrición y la práctica de ejercicio físico. El ejercicio físico programado y bien dirigido actúa con una doble función en la salud de los ciudadanos, por un lado como rehabilitador o atenuador de ciertas patologías asociadas al sedentarismo, tal es el caso de la hipercolesterolemia, obesidad, diabetes, osteoporosis, patologías cardiovasculares, etc. y por otro lado actúa como medio de prevención de dichas patologías (281;282;282-284).

Lo mismo sucede con la nutrición, unos hábitos nutricionales correctos y una dieta equilibrada proporcionará al individuo los nutrientes esenciales para poder llevar a cabo de forma óptima las numerosas funciones fisiológicas y biomecánicas necesarias para la vida previniendo el desarrollo de patologías crónicas (282;285).

El concepto de dieta equilibrada se basa en que, comiendo una amplia variedad de alimentos con moderación, se obtienen todos los nutrientes necesarios para el crecimiento y el desarrollo de todos los tejidos, se regulan los procesos metabólicos y se proporciona energía necesaria para el control de peso.

Al margen de los problemas de desnutrición, existe actualmente otro menos graves pero quizá con un mayor protagonismo en las sociedades actuales, la malnutrición. La mala alimentación es uno de los principales problemas de salud en el mundo, ya sea por problema de una sobrealimentación o por una alimentación deficitaria. Los estudios confirman que aunque los deportistas deseen una dieta correcta para optimizar su rendimiento físico su conocimiento sobre la nutrición es inadecuado (286-288). Esto conlleva a la ingesta de una cantidad inferior a la cantidad diaria recomendada (CDR) para algunos nutrientes, sobre todo en deportistas y escolares que deseen perder peso. Si bien algunas personas pueden necesitar suplementos dietéticos por diversos motivos, el uso de estos suplementos no debe ser una práctica rutinaria, especialmente si hablamos de personas jóvenes.

Solo una evaluación clínica y bioquímica puede revelar el estado nutricional de los individuos respecto a un nutriente en particular y por tanto ver la posibilidad o no de ingerir un suplemento. Numerosos estudios epidemiológicos y de laboratorio han revelado que tanto una ingesta inadecuada como un exceso de minerales en distintos segmentos de población pueden contribuir al desarrollo de diversos problemas de salud (158).

En la mayoría de los estudios (288) realizados sobre hábitos nutricionales en deportistas, las mujeres presentaron mayores deficiencias nutricionales que los hombres y el nutriente con una deficiencia más significativa fue el hierro, junto con el cinc, el calcio, las proteínas y algunas vitaminas del grupo B. Por nutriente entendemos aquella sustancia específica que se encuentra en los alimentos y que realiza una o más funciones fisiológicas o biomecánicas en el cuerpo humano. Principalmente existen 6 grandes tipos de nutrientes: hidratos de carbono, grasas, proteínas, vitaminas, minerales y el agua. Para que nuestro cuerpo funcione de forma óptima se precisan más de 40 nutrientes específicos esenciales en una cantidad denominada CDR (cantidad diaria recomendada), basada principalmente en la edad, altura y peso de la persona. La deficiencia o exceso de algunos de estos nutrientes puede acarrear serios problemas de salud.

Este déficit de minerales puede ser debido a una dieta baja en calorías. Para paliar los déficit de vitaminas y minerales que pueden poseer muchos alimentos que ingerimos hoy en día tras sufrir ciertos procesos mecánicos de elaboración, protección, conservación y transporte se ha generado una importante industria de empresas que lanzan constantemente numerosos suplementos dietéticos y fármacos de vitaminas y minerales. Entendiendo por suplemento dietético como aquel producto alimentario que contiene al menos uno de los siguientes ingredientes: vitaminas, minerales, hierbas, aminoácidos o combinaciones de los anteriores. Si bien es cuestionable toda la información que transmiten estas empresas de los posibles beneficios para nuestra salud que se pueden obtener a través de la ingesta de esos suplementos, no es tan cuestionable la cantidad de personas que ingieren estos suplementos y fármacos sin tener realmente deficiencia en algún mineral o vitamina. La ingesta de estos productos ha de ir siempre propuesta por un facultativo con competencia en el ámbito de la alimentación y nutrición previo estudio nutricional del sujeto.

Thomas (289) señala algunos aspectos a estudiar entorno al conocimiento que versa sobre la ingesta de estos suplementos:

- Ausencia de organismos científicos que recomienden el uso rutinario de suplementos dietéticos para la población general.
- Los alimentos son algo más que la suma de los nutrientes. Existen interacciones positivas y negativas entre estos.
- Ingerir suplementos de un único nutriente en grandes cantidades puede provocar efectos adversos para la salud.
- La calidad de los suplementos dietéticos varía enormemente de una marca a otra.

Por tanto, es importante que tanto padres como técnicos deportivos y/o educadores conozcan los posibles efectos negativos que puede ocasionar la suplementación de un mineral como el hierro en aquellos casos en los que el adolescente o niño no posee una deficiencia de este mineral y por tanto no es recomendada su suplementación.

2.1.17. RELACIÓN DEL HIERRO SOBRE LA CAPACIDAD FÍSICA Y EL RENDIMIENTO DEPORTIVO

La deficiencia de hierro y/o la anemia están asociadas a personas que realizan regularmente entrenamientos de resistencia aeróbica. El hierro es un mineral de gran importancia para el rendimiento en este tipo de modalidades deportivas.

La auténtica deficiencia de hierro por anemia disminuye la capacidad de trabajo físico debido a una disminución de la concentración de hemoglobina (290). Algunos investigadores han hallado una disminución en la capacidad aeróbica, resistencia y eficiencia energética en estudios realizados en animales y humanos deficientes de hierro anémicos (291).

Sin embargo procesos anteriores a la anemia, donde existe una deficiencia de hierro no son completamente comprendidos y existe una gran controversia al respecto. Datos de estudios en animales sugieren condiciones perjudiciales de capacidad de resistencia (292-294), pero en humanos, no ha sido adecuadamente investigado.

Por otro lado, si nos planteamos la pregunta de si puede la suplementación de hierro mejorar el rendimiento deportivo de los deportistas sin deficiencia de este mineral, según los estudios publicados al respecto la respuesta parece depender de los niveles de hierro de cada sujeto y existe cierta controversia al respecto. Algunos autores realizaron estudios en deportistas con deficiencia de hierro a los cuales se le administró distintas dosis con el fin de restablecer los valores normales de este mineral demostrando una mejora significativa de la capacidad de trabajo y por tanto un mejor rendimiento (201;202;295-301), mientras que otros no hallaron ninguna mejora significativa sobre el rendimiento físico de deportistas con deficiencia de hierro no anémicos (200;302-305)

La última cuestión que se plantea es si en deportistas no anémicos y con niveles de hierro normales la suplementación de este mineral podría mejorar su rendimiento. Varios estudios bien diseñados han demostrado que los suplementos de hierro administrados a mujeres muy activas en periodo de entrenamiento no elevaban los niveles de hemoglobina de la sangre o el porcentaje de hemoglobina saturada con hierro. Tampoco se señaló ninguna evidencia de mejora del rendimiento.

2.2. TOXICIDAD Y HIERRO

2.2.1. TOXICODINÁMICA DEL HIERRO

En este apartado describiremos que sucede cuando ingerimos una sustancia tóxica o potencialmente tóxica en nuestro organismo pensando para ello en un suplemento de hierro administrado por vía oral.

Cuando un tóxico llega al organismo, dependiendo de la vía de exposición, entra en contacto con las superficies epiteliales del tracto digestivo, del aparato respiratorio o de la piel. Cuando cruza esas membranas y alcanza el torrente sanguíneo, se considera que el tóxico penetró al organismo. La sangre lo transporta a los distintos órganos y en uno o varios de ellos puede llegar a causar un daño permanente.

La cantidad de tóxico que penetra en el organismo puede ser muy diferente de la cantidad inhalada o ingerida, debido a que la sustancia no siempre está 100% biodisponible. Por ej. el hierro se absorbe mejor con zumo de naranja que con leche. Para ingestas de una misma dosis de hierro, una persona tendrá una concentración mayor de hierro en sangre cuando el vehículo es el ácido ascórbico (306).

Cuando el xenobiótico es transportado por el torrente sanguíneo hacia los distintos órganos del cuerpo por los que se distribuye y pudiendo ocasionar ya un daño, se inician el conjunto de reacciones que convierte dichas sustancias tóxicas en especies químicas que pueden ser más o menos dañinas que el tóxico original, este proceso recibe el nombre de biotransformación.

A continuación exponemos un modelo que permite observar gráficamente el camino seguido por el hierro desde que se ingiere hasta llegar a los órganos, durante este periodo el hierro puede causar daños en el estómago e intestino durante su digestión y absorción, respectivamente, también puede manifestar sus efectos nocivos durante la distribución de este y finalmente en los tejidos donde es requerido y/o almacenado.

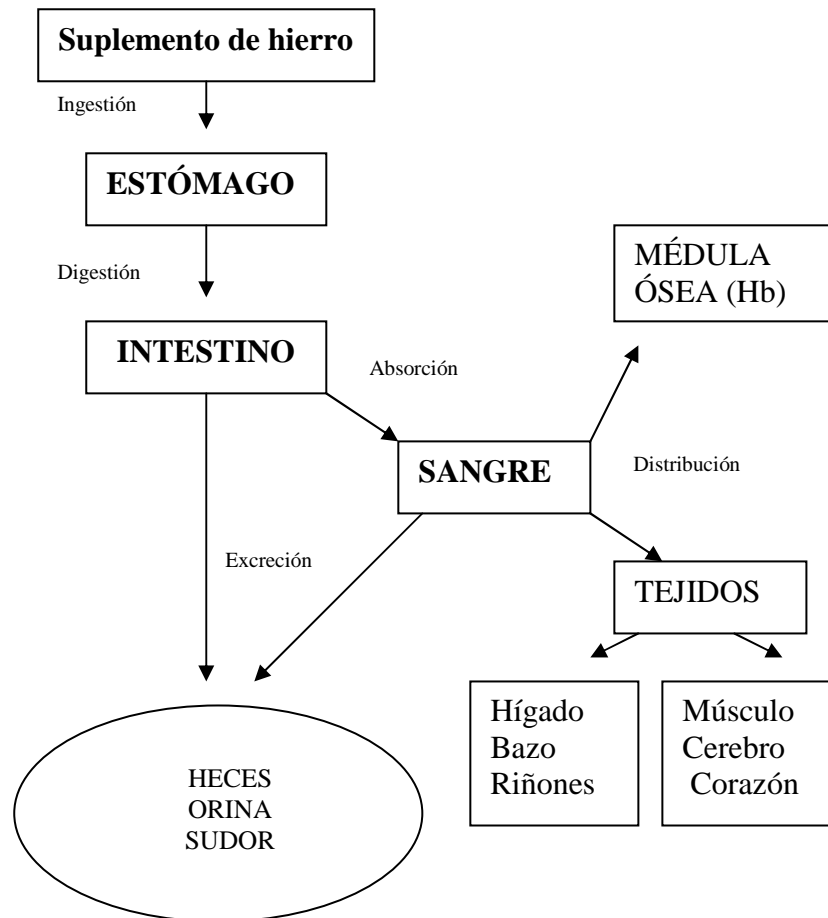


Figura 14. Ruta que sigue el hierro en el organismo

A continuación describiremos brevemente las fases por las que pasa un suplemento de hierro desde su ingestión hasta su absorción y excreción.

La absorción

Previamente a la absorción el hierro se digiere en el estómago, aunque en el intestino puede continuar dicho proceso antes de su absorción. La absorción del hierro como ya hemos visto, es el paso de este a través de las capas de la mucosa intestinal con el fin de llegar al enterocito y pasar a la sangre. El tracto gastrointestinal es la principal zona de absorción, presenta una alta irrigación sanguínea y posee una gran cantidad de vellosidades (intestino). La absorción se produce mayoritariamente en el estómago e intestino, aunque también puede realizarse en otras zonas del tracto gastrointestinal. Todas las sustancias tóxicas que llegan al intestino delgado y se absorben pasan al hígado por medio del sistema portal. El hígado y los riñones son los órganos más involucrados en la transformación y excreción de tóxicos.

Dependiendo del estado de ionización del compuesto, la zona de absorción será una u otra. Así, los ácidos débiles se absorberán en el estómago, dado que hay un pH más bajo, mientras que las bases débiles se absorberán mejor en el intestino debido a un pH más alto. Para que un compuesto ingerido pueda alcanzar la circulación general, acceder al resto del organismo y tener la posibilidad de causar un daño, debe primero ser capaz de resistir la acción de las enzimas digestivas, el pH del estómago, la biodegradación por la flora intestinal y la biotransformación por las enzimas hepáticas.

Distribución

La distribución hace referencia a la localización y grado de concentración del tóxico en los distintos órganos y zonas del organismo.

El hierro puede dirigirse a su sitio de acción captado por proteínas plasmáticas, transportado hacia determinadas células y/o ver restringido su paso por membranas selectivas.

Una vez que el hierro alcanza el torrente sanguíneo éste puede transportarse a diferentes sitios: ir con la hemoglobina, almacenarse como ferritina, en el hígado, músculo, etc., o ir a la médula ósea.

La distribución dependerá del flujo sanguíneo, de la velocidad de difusión en las interfaces sangre-tejido y de la permeabilidad de la membrana y de la afinidad del tejido por el hierro.

Excreción

El exceso de hierro puede eliminarse a través de la excreción. Las tres principales vías de excreción son las heces, la orina y sudor. Estas vías, junto al aire exhalado son las mismas que las que utiliza el organismo cuando excreta desechos metabólicos endógenos.

A continuación se detalla cada una de ellas:

- Orina: Los riñones, por remover directamente las sustancias tóxicas de la sangre, se le consideran los principales órganos en la excreción. Para eliminar una sustancia por la orina es necesario que esta sea soluble, los compuestos liposolubles se han de biotransformar en hidrosolubles para poder ser excretados por esta vía.

- Heces: Derivan de las sustancias que no se absorbieron, secreciones biliares, secreciones intestinales y microflora. Ninguna sustancia se absorbe al 100%, siempre hay un porcentaje mínimo que se excreta y no es absorbido.

- Otros mecanismos de excreción de diversos tóxicos: bilis, sudor, saliva, etc.

2.2.2. EFECTOS SECUNDARIOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE HIERRO

La suplementación de hierro por vía oral es muy utilizada en los deportistas, especialmente en deportes de resistencia y mujeres. Sin embargo, un alto porcentaje de pacientes son intolerantes a este tratamiento, principalmente, por las molestias gastrointestinales como gastritis, estreñimiento, diarrea, náuseas; que están en relación directa con la cantidad de sales inorgánicas de hierro ingeridas, las cuales suelen administrarse en cantidades elevadas, debido principalmente al bajo porcentaje de absorción.

No debemos menospreciar los efectos negativos de la suplementación de hierro, especialmente cuando no es necesaria dicha suplementación. Es aquí donde el mecanismo de transporte transmembrana se satura y provoca el ingreso de hierro libre en la sangre. Este hierro, ionizable, causa disfunción celular generalizada; además, puede producirse daño hepatocitario y muerte celular debido a la interferencia con el transporte de electrones por peroxidación lipídica.

Diversos estudios realizados en animales han demostrado que el exceso de hierro aumenta la peroxidación lipídica (307-309)

Un consumo prolongado de grandes cantidades de hierro puede provocar una alteración metabólica en individuos susceptibles. El hierro tiende a acumularse en el hígado en forma de hemosiderina, que en exceso puede provocar hemocromatosis en las personas genéticamente predispuestas, dando lugar a cirrosis y a la destrucción total del hígado.

Los deportistas que son tratados con suplementación de hierro están expuestos a una serie de efectos secundarios que pueden limitar la dosis de este mineral. Generalmente se administra sulfato ferroso el cual puede provocar náuseas o estreñimiento en el atleta. El gluconato ferroso suele producir menos efectos adversos. Aunque algunos autores señalen que los efectos secundarios dependen más de la cantidad de hierro ingerida que del tipo de compuesto.

Otros efectos secundarios que puede provocar la toxicidad del hierro son:

- A nivel general de todo el cuerpo:
 - Deshidratación.
 - Niveles bajos de azúcar en sangre.
 - Acumulación de líquidos en los pulmones.
 - Fiebre.

- A nivel del aparato digestivo:
 - Náuseas.
 - Vómitos.

Se están investigando en nuevos tratamientos alternativos que produzcan menores efectos secundarios.

2.2.3. TOXICIDAD Y ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCIDO POR LA SUPLEMENTACIÓN DE HIERRO

A pesar de la importancia que acapara este mineral en algunas de sus funciones, tal es el caso del transporte de oxígeno y de electrones, para la vida de prácticamente todas las formas biológicas, las propiedades que posee el mismo lo convierten en un posible elemento tóxico al ser capaz de generar y estimular la producción de radicales libres que provocan daño oxidativo de importantes componentes celulares (152;310).

Los diferentes mecanismos por los que puede estimular la producción de radicales libres son:

- Por degradar hidroperóxidos lipídicos pre-existentes (ROOH) en los tejidos, formando el radical lipídico alcoxil (RO).
- Por participar en las reacciones de tipo Fenton produciendo radicales hidroxil (OH[•])
- Por formar complejos con oxígeno, tal como los complejos Fe²⁺/Fe³⁺, los cuales son responsables por iniciar reacciones de peroxidación lipídica.

La toxicidad del hierro es producida por una agresión oxidante que degrada todas las moléculas que forman las estructuras orgánicas. La sobrecarga del hierro provoca un exceso de la deposición de este mineral en las células parénquimas de distintos tejidos. La agresión al ADN es la base de la acción carcinogénica.

Algunas de las proteínas que podemos utilizar para analizar el estrés oxidativo producido en el interior de las células son la GSH, la GSSG y la CS.

La GSH (glutathion reducida), o forma activa es una pequeña molécula de proteína, formada por tres aminoácidos, ácido glutámico, glicina y cisteína. Posee una gran capacidad para donar electrones. El poder reductor del GSH es una medida de su capacidad para eliminar radicales libres. La cisterna posee un grupo SH y en condiciones oxidantes puede ocurrir la formación de puentes disulfurato formándose la GSSG y por tanto dejando de actuar como antioxidante.

Por otra parte la GSSG (glutathion oxidada) es la forma oxidada usada/inactiva de la GSH. La relación GSH/GSSG puede ser un indicador sensible de estrés oxidativo. La forma activa de la glutathion dentro de las células es generalmente alrededor del 90% y la forma oxidada o inactiva raramente pasa del 10%. Si estos valores cambian significativamente, la

célula será vulnerable al ataque de peligros internos y externos. Asimismo, la presencia de niveles bajos de GSH son indicadores de daños en la célula.

La presencia de daño oxidativo en la célula puede relacionarse con la aparición de patologías como: arteriosclerosis, cáncer, respuesta inmunitaria disminuida, destrucción de células, envejecimiento acelerado, etc. (311)

También debemos señalar que niveles bajos de CS junto la presencia de señales de fisión y edemas mitocondriales indican que la actividad oxidativa está comprometida.

Intestino y toxicidad

La mayoría de los efectos adversos de la suplementación continua de hierro es la toxicidad gastroduodenal que produce, principalmente atribuida a los efectos tóxicos directos del hierro sobre la glándula epitelial. La mucosa del intestino está a su vez compuesta por tres capas: muscular de la mucosa, laminar la cual contiene vasos sanguíneos y la epitelial. En las células epiteliales del intestino se encuentra el vello intestinal que son extensiones de aproximadamente 0,5-1,5 mm, cuya función es incrementar el área de superficie de contacto aumentando así la superficie de absorción. Ésta se hace aún más grande a través de las microvellosidades. Cualquier tóxico que altere la estructura morfológica del vello y microvello afectará la absorción, y por tanto ocasionará una posible desnutrición al disminuir la absorción de proteínas, minerales esenciales y otros nutrientes (312).

El estudio de Gastearena (11) compara la toxicidad gastroduodenal producida por la suplementación de tres compuestos diferentes de hierro en ratas anémicas y no anémicas. Para analizar el daño en la mucosa gastroduodenal se utilizó el microscópico electrónico. Como resultado se obtuvo que el daño en ambos tipos de ratas fue menor en animales tratados con el **ferrimannitol-ovoalbumina** (TM/FMOA) que en los tratados con **succinato proteico** o **sulfato ferroso**. En las ratas no anémicas tratadas con estos dos últimos compuestos se registró alteraciones severas estructurales en la mucosa duodenal. Sin embargo, en ratas anémicas los cambios estructurales producidos por los tres tipos de compuestos son mínimos. La efectividad en relación de resolver la anemia es similar en los tres grupos. Como conclusión se obtiene que el TM/FMOA ejerce un efecto protector en contra de los efectos tóxicos de la suplementación de hierro, esto es atribuido al hecho de que la administración de hierro unido a una proteína permite una puesta en libertad de este gradual.

También en el estudio de Wurzelmann (313) se sugiere que una ingesta elevada de hierro aumenta el riesgo de cáncer de colon.

Se estima que el tiempo de renovación de la mucosa intestinal en el ser humano es de 5 a 6 días, por lo que podría ser aconsejable administrar una dosis de hierro semanalmente a la población vulnerable a la deficiencia de este mineral actuando de esta forma como una medida de prevención de anemia. Sin embargo, existe cierta controversia en relación a estos resultados de diversos estudios que han utilizado la suplementación de hierro una vez por semana, debido principalmente a la falta de un protocolo común de investigación.

Testículos, ADN y toxicidad

Estudios realizados en ratas (314) a las cuales se le administró diferentes tipos de dosis con el fin de producir una sobrecarga de hierro, hallaron un incremento del daño oxidativo (formación de especies reactivas del oxígeno) en testículos y ADN. Esta oxidación puede modificar la función del espermatozoide, llevando a una disfunción del sistema reproductor masculino y posibilidad de cáncer en el progenitor.

Hígado y toxicidad

La acción de un tóxico podría llegar al hígado a través de dos sistemas circulatorios, la vena portal, la cual transporta los compuestos absorbidos en el tracto gastrointestinal (vía de ingreso de los tóxicos que penetran por vía oral) y la arteria hepática transporta un 25% del gasto cardíaco y se encarga de oxigenar todos los tejidos del hígado.

El hígado es el principal sitio de acumulación de hierro y por tanto una sobrecarga de este mineral puede inducir a estrés oxidativo y daño en el tejido. Otro factor que predispone al hígado a sufrir toxicidad se encuentra en los procesos de almacenamiento y biotransformación de las sustancias que recibe por medio del torrente circulatorio y el sistema portal. El hígado puede aumentar la acción del tóxico (transformando el tóxico en sustancias aún más tóxicas) o disminuyendo la toxicidad de estas (destoxificación). El hígado cuenta con una gran cantidad de enzimas con funciones oxidativas y reductivas, entre las cuales se encuentra el sistema del citocromo de la proteína 450, peroxidasas, hidroxilasa, amilasas, etc (312).

En un estudio realizado por Lykkesfeldt y cols. (23) hallaron incrementos en los marcadores bioquímicos del estrés oxidativo y daño celulares en respuesta al incremento de las concentraciones de hierro en el hígado.

Por último decir que debido a su función excretora hace que se concentren tóxicos dentro de él.

Riñones y toxicidad

Al igual que el hígado también desempeña funciones de excreción (vía orina). El riñón está compuesto por la corteza y la médula. La corteza es alcanzada primeramente por la acción de un tóxico mientras que la médula posee un menor riesgo de toxicidad. Aunque pueden causar daños considerables, puesto que en esta región tiene lugar la reabsorción del agua en que el tóxico llega disuelto (pudiendo alcanzar concentraciones 100 veces mayores que en sangre).

Las respuestas del riñón ante un tóxico comprenden desde aberraciones químicas imperceptibles hasta necrosis que conducen a apoptosis.

Sangre y toxicidad

La sangre está compuesta por la fracción forme (hematíes principalmente) y por el plasma, líquido donde se hallan varias proteínas, tales como la globulina, albúmina, etc. las cuales desempeñan un papel importante en el control de tóxicos. Cualquier situación que libere un compuesto unido a estas proteínas del plasma, va a provocar que una mayor cantidad de tóxico llegue a su sitio de acción. El hierro libre es más tóxico que el hierro unido a proteínas. Nuestro metabolismo impide la presencia del hierro libre dentro y fuera de las células con el fin de evitar que se produzcan daños. Sin embargo, cuando los depósitos de transferrina se saturan pueden llegar a circular complejos de bajo peso molecular de hierro. Es a través de este mecanismo por el cual se puede formar el más activo de los radicales libres del oxígeno relacionado con la toxicidad del hierro, el **hidroxilo**.

Estos radicales libres afectan también a las proteínas, degradándolas por acción directa o indirectamente.

Corazón y toxicidad

Algunos estudios realizados en Finlandia en los años noventa (315) señalan una relación entre los altos niveles plasmáticos de ferritina (superiores a 200 µg/l) y el riesgo de ataques cardíacos. Una hipótesis sugiere que procesos inflamatorios en las arterias coronarias provocan un aumento del número de glóbulos blancos que pueden liberar hierro. El hierro es un potenciador de la oxidación y puede oxidar el LDL colesterol, una reacción considerada como una de las causas de la aterosclerosis.

El Dr. Hidehiro Matsuoka (316) realizó una investigación sobre la suplementación de altas dosis de hierro en humanos voluntarios. La suplementación fue realizada por vía endovenosa en sujetos sanos. En otra fase de la investigación se administraba la misma dosis de hierro pero buscando la reducción de este por medio del quelante específico deferoxamina en 10 sujetos fumadores, sin antecedentes de enfermedad. El resultado fue el aumento de los niveles de malondialdehído en sangre y alteración de la función endotelial en el grupo de sujetos sanos sin quelantes. Mientras que en el grupo que recibieron el quelante mejoró la función endotelial y se redujo el estrés oxidativo (producción de malondialdehído). Por tanto, el hierro induce un estrés oxidativo catalizando las reacciones de radicales libres como la de Fenton y las de peroxidación lipídica. Otras observaciones han sugerido una relación entre el hierro plasmático y la enfermedad coronaria, exponiendo que las mujeres poseen una menor incidencia de padecer ataques cardíacos debido a que presentan mayores pérdidas de sangre y por tanto niveles más bajos de hierro.

Sobre este último aspecto, al menos 7 estudios epidemiológicos han encontrado una relación positiva entre las enfermedades coronarias y los niveles de hierro en el organismo. Mientras que 18 estudios epidemiológicos han encontrado una relación negativa o no entre ambos, por lo que estas hipótesis no se sustentan todavía en datos fiables para poder ser corroboradas (317) (318).

Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres

En el organismo humano se generan especies reactivas del oxígeno (ERO) que intervienen en la fisiopatología de numerosos eventos patológicos. Las células están continuamente produciendo radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ERO) como parte del proceso metabólico. Algunos de estas especies vinculadas al estrés oxidativo son: el radical anión superóxido, el radical hidroxil, el peróxido de hidrógeno, el óxido nítrico y el peroxinitrito. Sin embargo, el propio organismo desarrolla mecanismos protectores, constituidos por enzimas y compuestos de bajo peso molecular que participan en las transformaciones de estas especies reactivas del oxígeno neutralizándolas. Algunos ejemplos de enzimas antioxidantes son la catalasa, el superóxido dismutasa o la glutatión reducida. Mientras que las sustancias no enzimáticas más importantes son la vitamina A, E, C, flavonoides, ubiquinonas y la glutatión reducida.

Por tanto, el estrés oxidativo puede ser debido a un aumento de las EROS o una disminución de la capacidad antioxidante celular.

La glutatión peroxidasa cataliza la reducción del peróxido o lipoperóxido, para lo cual utiliza como agente reductor al glutatión reducido (319). Esta enzima desempeña un importante papel en la defensa antioxidante por su localización en todos los órganos y tejidos, como parte del sistema antioxidante del glutatión, por lo que está involucrada en la fisiopatología de varias enfermedades (320).

La glutatión peroxidasa fue encontrada en el eritrocito bovino por *Millis* en 1957, más tarde fue reportada en otros tejidos como el eritrocito humano, pulmón e hígado de rata e inclusive en músculo, piel y hepatopáncreas de los peces, por lo que aparenta ser una enzima universal (320-322).

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODO

3.1. TIPOLOGÍA DEL ESTUDIO

Este estudio se engloba dentro del grupo de estudios analíticos experimentales y a su vez lo definimos como un ensayo de campo, en el cual se administra gluconato ferroso (suplemento de hierro, Losferrón®) a una muestra de ratas sanas. En todo momento, el investigador interviene utilizando unas condiciones ideales de laboratorio que le van a facilitar la demostración de sus hipótesis y controlar aquellos factores que puedan influir negativamente en la validez de la investigación.

3.2. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Se utilizaron 30 ratas machos Charles River CD1 con 4-6 semanas de vida y un peso medio inicial de $28,59 \pm 1,97$ gramos. Durante el protocolo del experimento los animales se colocaron en jaulas metabólicas (2-3 por jaula) y fueron mantenidos en una sala con una temperatura de 21-22 ° C y aproximadamente 50-60% de humedad, recibiendo comida comercial para roedores y agua *ad libitum* en un ciclo de 12 horas invertido luz/oscuridad.

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 3 grupos: control (n=12), suplementados con 3 mgFe/Kg de peso (n=8) y suplementados con 6 mgFe/Kg de peso (n=10).

Todo el experimento está hecho siguiendo los procedimientos éticos aceptados por el Comité de Ética del Consejo Científico de la Faculdade de Desporto da Universidade do Porto, el cual siguió las directrices de los cuidados y uso de los animales de laboratorio del Instituto Nacional de Salud.



Figura 15. Momento en que el animal es pesado en la balanza electrónica

3.3. PROTOCOLO DEL EXPERIMENTO

Los animales permanecieron inicialmente durante 10 días sin recibir ninguna suplementación con el objetivo de adaptarse a las nuevas condiciones de vida.

Todos los días, entre las 09:00 y las 11:00 horas, los animales fueron cuidadosamente pesados, siempre por la misma persona, y se realiza un registro cuantitativo de la comida y bebida ingerida, desperdicio de agua, y heces y orina excretadas. También se observa el comportamiento y apariencia externa de los animales y se examina cualitativamente las heces y orina (textura y color).

Los animales del grupo de 3 mgFe/Kg y 6 mgFe/Kg de peso fueron suplementados diariamente con un fármaco de hierro compuesto por gluconato ferroso (Losferrón®, laboratorios Andrómaco). Para ello se preparó una solución todos los días, consistente en la dilución de un comprimido efervescente de gluconato ferroso (Losferrón), equivalente a 80 mg de hierro elemental, en una cantidad de agua dependiendo del peso medio de los ratones y del agua ingerida por estos. Obteniendo finalmente dos disoluciones una correspondiente a la dosis de 3 mg y otra a la de 6 mg por Kg de peso corporal. Para una mejor administración de este, cada semana se realizaba el ajuste de la dosis en función del peso medio de las ratas y del agua ingerida.



Figura 16. Preparación de las disoluciones con diferentes dosis de hierro



Figura 17. Jaula metabólica utilizada en el experimento

3.4. TEMPORALIZACIÓN Y RECOGIDA DE DATOS

La duración total del experimento fue de 90 días, sacrificándose la mitad de los animales a los 45 días.

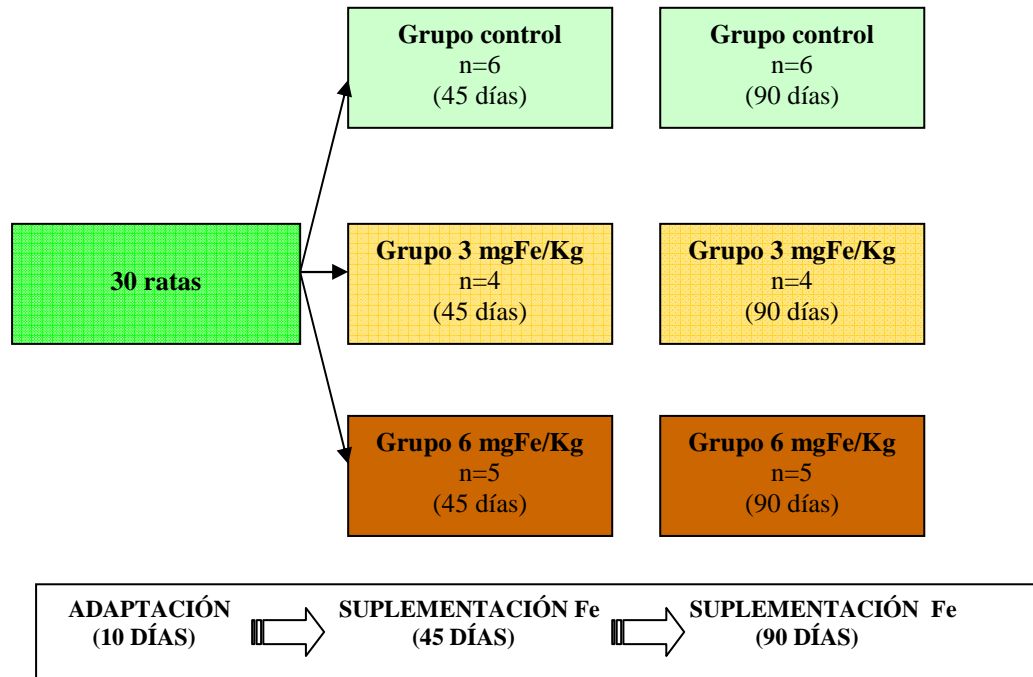


Figura 18. Esquema representativo del procedimiento experimental efectuado

Durante el periodo de suplementación, se recogió semanalmente una muestra de orina de cada jaula y una de heces el día anterior de cada sacrificio de los animales. Todos los datos recogidos son registrados en archivos de Excell y posteriormente tratados con el programa estadístico SPSS 17.0 para Windows.

3.5. PREPARACIÓN DE TEJIDOS PARA EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN Y DETERMINACIONES DE LABORATORIO

La comida fue extraída de las jaulas 12 horas antes del sacrificio. Los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical y puestos en posición supina. Se procedió a la abertura de la cavidad abdominal recogiendo 1 ml de sangre venosa procedente de la vena cava inferior y guardándose esta en un recipiente eppendorf, impregnado con citrato de sodio. Parte de esta sangre se destinó para el análisis de la fracción corpuscular (hematíes y leucocitos) y el resto fue centrifugado a 3000 g durante 10 minutos, siendo el plasma resultante congelado a -80 °C para posteriores análisis bioquímicas.

Para el recuento celular se procedió manualmente a contabilizar el número de leucocitos y hematíes contenidos en 1 mm³ de sangre, a través de una cámara de recuento de Neubauer mejorada.

Después de la extracción sanguínea se recogieron rápidamente muestras de los órganos y tejidos a estudio: corazón, bazo, cerebro, intestino, hígado, riñones, *soleus* y tibiales anteriores. Todos ellos son lavados y pesados en una balanza electrónica modelo Cobor Precision C-300-SX (d.e. 0,01 g).

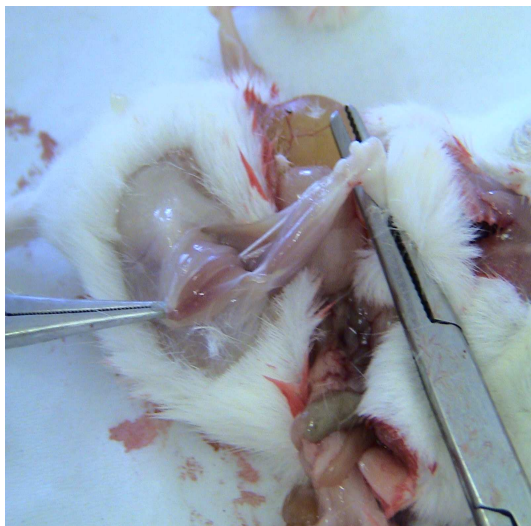


Figura 19. Extracción del músculo sóleo y gastrocnemio



Figura 20. Recuento del número de leucocitos y hematíes

Preparación de los tejidos para el microscopio electrónico de transmisión

Posteriormente fueron cortados los tejidos extraídos en piezas de aproximadamente 1mm³ y fijados en glutaraldehído a 2% (diluido en cacodilato de sodio 0.1M), durante 2 horas a 4° C. Después de tres lavados de 15 minutos en tampón de cacodilato de sodio 0.2M, a 4° C,

las piezas fueron pos-fijadas con tetróxido de osmio a 2% (disuelto en cacodilato de sodio 0.1M), durante 2 horas a 4° C. Después de un nuevo lavado de 5 minutos con cacodilato de sodio, las muestras fueron sujetas al proceso de deshidratación con utilización de concentraciones crecientes de etanol (de 50% a 100%) durante 90 minutos. En la fase de impregnación las piezas fueron colocadas en mezclas de etanol absoluto y LR White, con concentraciones crecientes de resina (50% e 75% v/v de etanol absoluto) durante 30 minutos cada una. Se siguieron dos períodos de 30 minutos cada uno, en LR White a 100% y el montado en cápsulas de gelatina cubiertas, durante toda la noche, a temperatura ambiente y en oscuridad. La inclusión fue procesada en estufa a 60° durante 22 a 26 horas. Fueron realizados cortes ultra-finos con grosor de 6070 nm destinados a la observación en microscopio electrónico de transmisión. Los cortes fueron contrastados con una solución acuosa saturada de acetato de uranilo, durante 30 minutos, y con una solución de citrato de plomo, durante 15 minutos, con lavados en el inicio y en el final de cada uno de estos procedimientos. Para el estudio fue utilizado un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM 10A, a 60 Kvolts.

Evaluación semicuantitativa de las alteraciones ultraestructurales

Las evidencias del daño tisular fueron calculadas de acuerdo con su gravedad e incidencia en cada rejilla, siguiendo la metodología utilizada por Dinis-Oliveira et al. (323). Para cada animal y para cada órgano analizado, fueron observadas de modo ciego, entre 3 a 4 rejillas, con cerca de 100 células cardíacas o 30 fibras musculares por rejilla, con la finalidad de semicuantificar la intensidad de los siguientes parámetros: i) degeneración celular, ii) zonas necróticas, y iii) pérdida de la organización tisular.

La gravedad de la degeneración celular fue clasificada en función del número de células, que evidenciaron alteraciones en sus organelas o en su estructura general, tales como, dilatación, vacuolización, inclusiones y núcleos picnóticos en el campo visual: grado 0 = sin alteraciones, grado 1 = un número limitado de células aisladas (hasta 5% del total del número de células); grado 2 = grupos de células (5-30% del total de células) y grado 3 = daño difuso de células (30% del total del número de células).

Las zonas necróticas fueron cuantificadas de la siguiente forma: grado 0 = sin zonas necróticas; grado 1 = necrosis local dispersa; grado 2 = áreas confluentes de necrosis; grado 3 = necrosis intensa afectando a mucho tejido.

La gravedad de la desorganización tisular fue clasificada de acuerdo con el porcentaje de tejidos afectados: grado 0 = estructura normal; grado 1 = menos de un tercio del tejido; grado 2 = superior a un tercio y menos de dos tercios; grado 3 = haciendo referencia a mas de

dos tercios del tejido.

Para cada órgano analizado, la puntuación total fue calculada por la suma de la puntuación de cada parámetro, siendo la mayor puntuación posible de 9 y la menor de 0 (323).

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS 17.0 para Windows[®]. Primeramente se anularon todos los valores extremos que se situaban fuera del diagrama de cajas con el objeto de conseguir una mejor estimación de la tendencia central.

El análisis para calcular los valores referidos a los datos sobre el metabolismo de las ratas consistió en la comparación de las distintas variables dependientes (nº leucocitos, nº hematíes, peso relativo de los órganos, etc.) en función del grupo experimental (variable cualitativa independiente).

Posteriormente se procedió a la comparación de medias utilizando para ello la prueba T para muestras relacionadas. Ofreciendo para cada pareja de variables la correlación, diferencia promedio entre las media, prueba t e intervalo de confianza para la diferencias entre medias. Se descartó el procedimiento ANOVA por no tener la muestra estudiada más de 30 casos. La muestra presentó una distribución normal, pero al ser pequeña, se utilizó la prueba no paramétrica para muestras relacionadas cuantitativas, denominada Test de Friedman. El nivel de significación se estableció en el 95% ($p < 0,05$). En la bioquímica las muestras morfológicas que no se utilizaron, fue porque no tuvieron un nivel significativo en los tejidos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Para una mejor comprensión de los resultados hemos optado por presentarlos en 4 grupos:

- Resultados relativos al metabolismo de los animales.
- Resultados relativos al análisis hematológico.
- Resultados relativos al análisis citológico: Alteraciones ultraestructurales del corazón y músculo sóleo.
- Resultados relativos al análisis bioquímico y estrés oxidativo.

4.1. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON HIERRO SOBRE DIVERSOS ASPECTOS DEL METABOLISMO DE LAS RATAS: AGUA, COMIDA, ORINA, HECES, PESO Y ÓRGANOS.

Los valores del peso medio de las ratas de los tres grupos registrados semanalmente son mostrados en la figura 15. El estudio estadístico de los tres grupos experimentales (control, 3 mgFe/kg y 6 mgFe/kg de peso) reveló diferencias significativas.

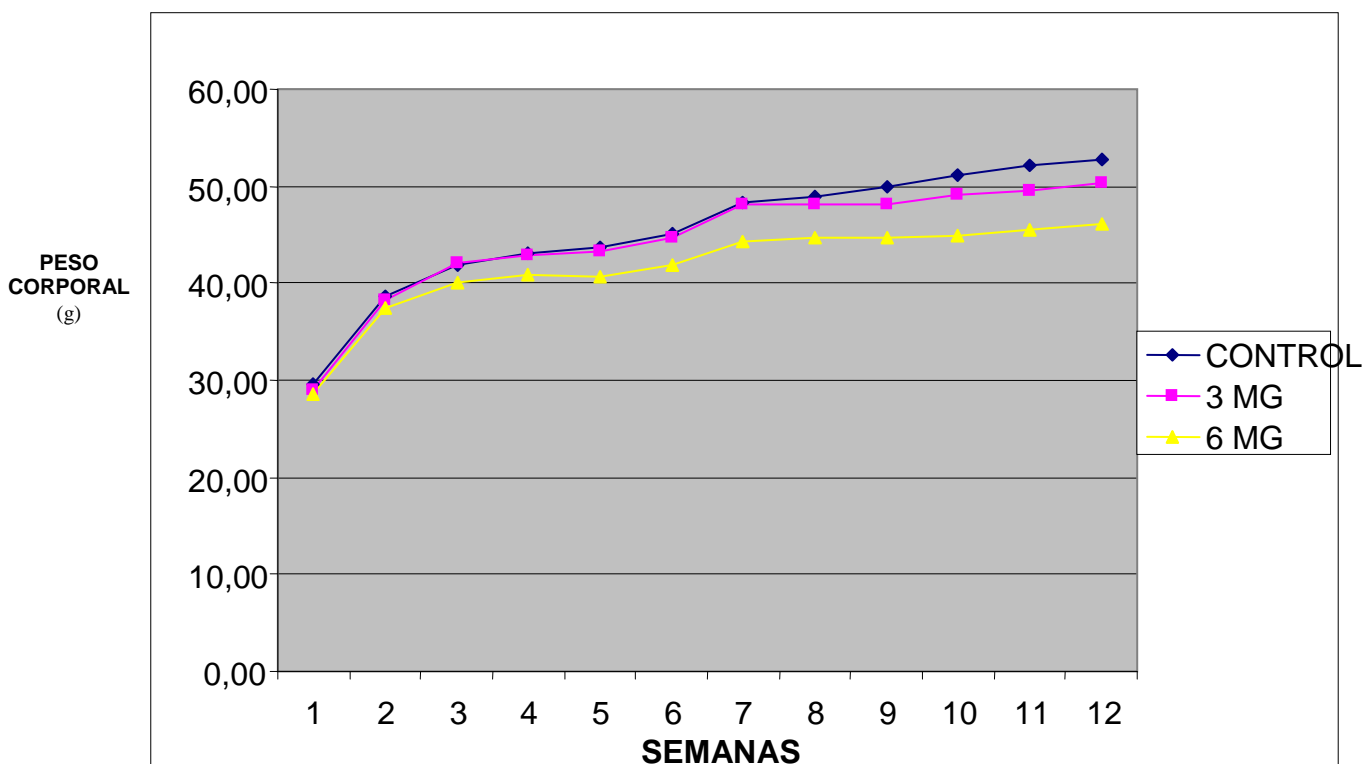


Figura 21. Cambios del peso corporal de las ratas del grupo control y las tratadas con distintas dosis de gluconato ferroso disuelto en agua durante un periodo de 12 semanas.

El análisis de la ganancia de peso en términos porcentuales está representado en la siguiente gráfica:

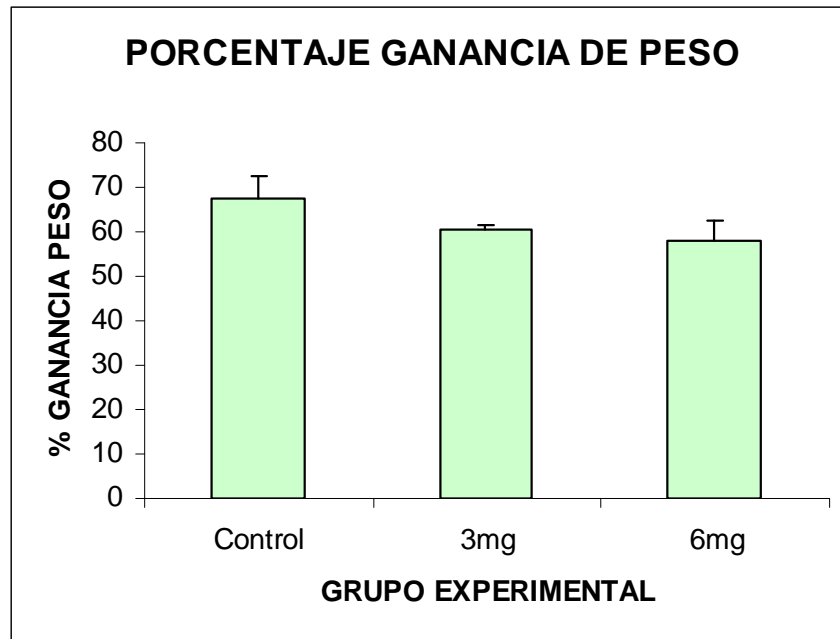


Figura 22. Porcentaje de ganancia de peso de los tres grupos experimentales al final de los 90 días

El consumo de comida se muestra en la figura 23. El estudio estadístico del consumo de comida de los grupos suplementados con hierro, fue comparado con el grupo control, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre los grupos suplementados y el grupo control.

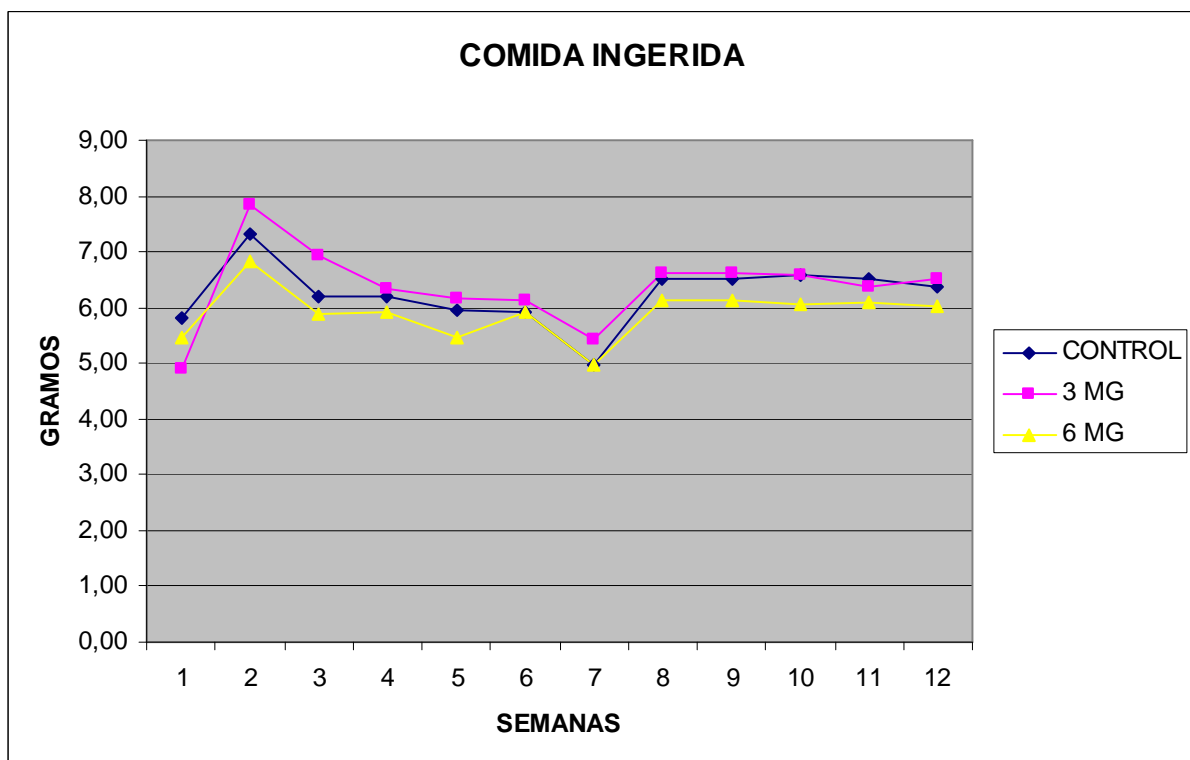


Figura 23. Variación de la cantidad de comida diaria (g) ingerida por rata durante a lo largo de 12 semanas.

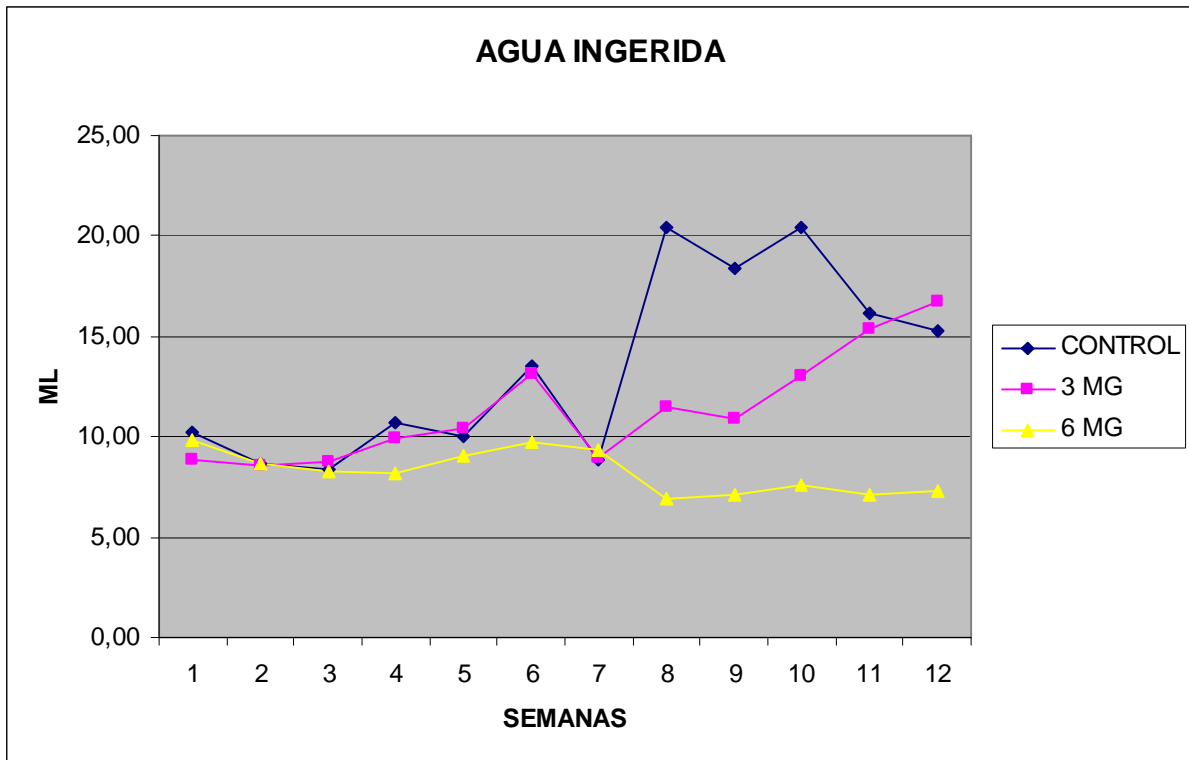


Figura 24. Cambio de la ingesta diaria por rata a lo largo de las 12 semanas

La cantidad de agua ingerida por las ratas de los grupos tratados con las dosis de 3 y 6 mg de hierro (11,34 y 8,25 ml respectivamente) fue menor que el grupo control (13,43 ml) hallándose un nivel de significación menor de 0,05 entre este y los grupos suplementados con hierro.

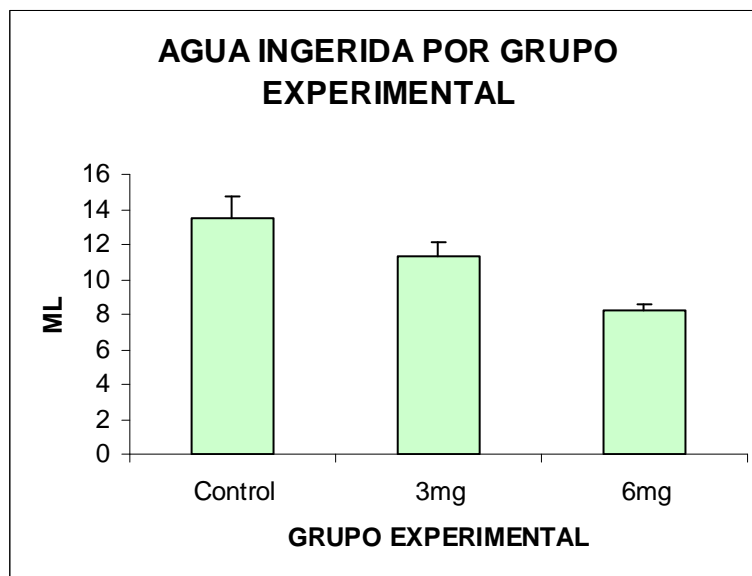


Figura 25. Media global de agua ingerida por los tres grupos experimentales al final de los 90 días

También en la cantidad de orina excretada por día, se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los suplementados con hierro, mientras que en la excreción de heces, la diferencia se encontró en el grupo control y el de 6 mg de hierro.

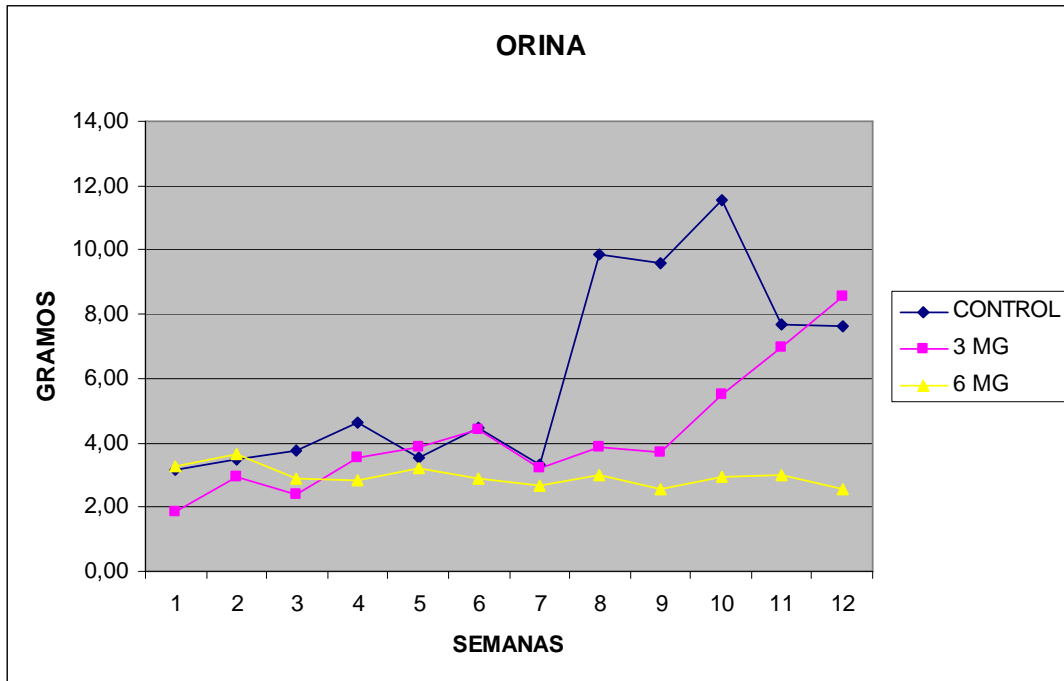


Figura 26. Alteraciones de la excreción urinaria diaria (g) a lo largo de 12 semanas

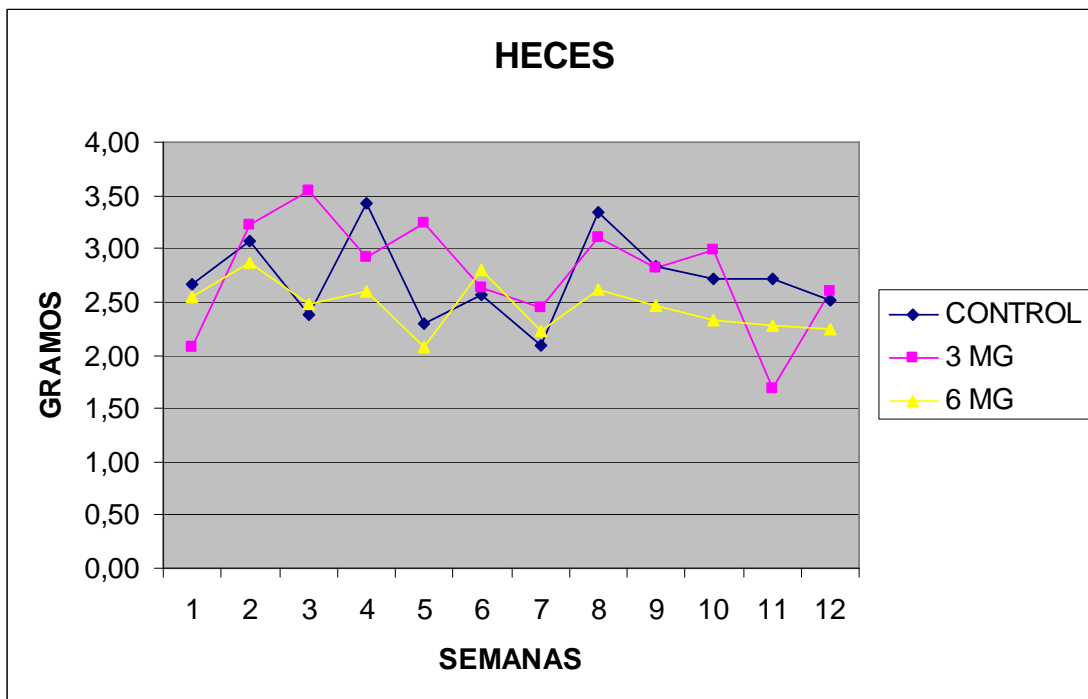


Figura 27. Alteraciones de la excreción de heces diaria (g) a lo largo de 12 semanas

Tabla 17. Registro cuantitativo sobre diversos aspectos metabólicos de cada grupo experimental con la correspondiente desviación típica.

* $p < 0,05$ vs control

GRUPO	Control	3 mgFe/kg	6 mgFe/Kg
Comida ingerida (g)	6,23 ± 0,56	6,37 ± 0,73	5,90* ± 0,45
Agua ingerida (g)	13,43 ± 4,59	11,34 ± 2,69	8,25* ± 1,05
Orina (g)	6,05 ± 3,03	4,23* ± 1,91	2,95* ± 0,31
Heces (g)	2,71 ± 0,40	2,77 ± 0,52	2,46* ± 0,24

Efecto de la suplementación con hierro sobre diversos órganos y músculos: hígado, riñón, bazo, corazón, sóleo y tibial anterior

En relación a la posible influencia de la suplementación de hierro sobre algunos de los principales órganos relacionados con el metabolismo del hierro, se ha hallado un menor peso medio relativo del hígado de las ratas suplementadas con la dosis alta de hierro respecto al grupo control y un menor peso medio relativo del bazo del grupo experimental de 3 mg de hierro en relación al grupo control.

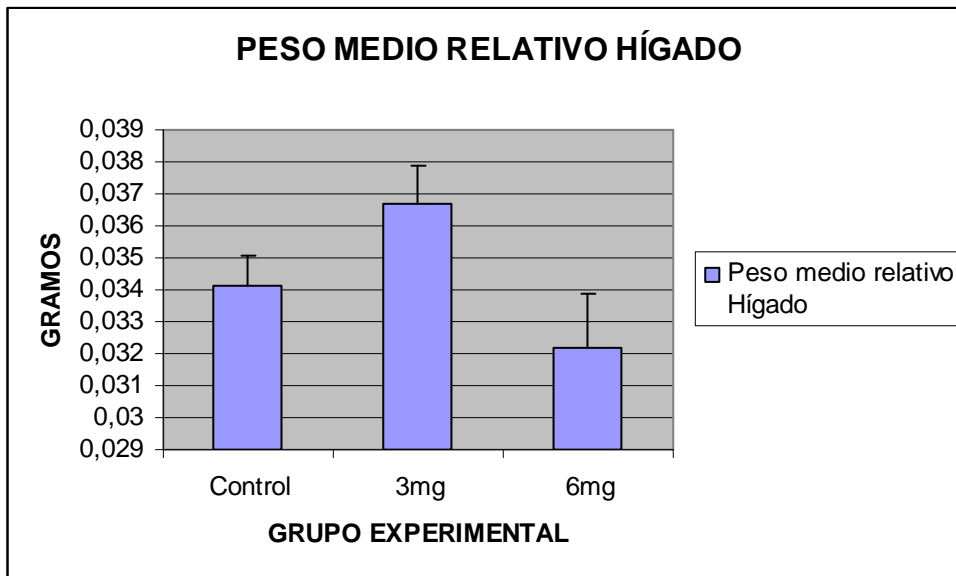


Figura 28. Alteraciones del peso medio del hígado en función de la suplementación de hierro

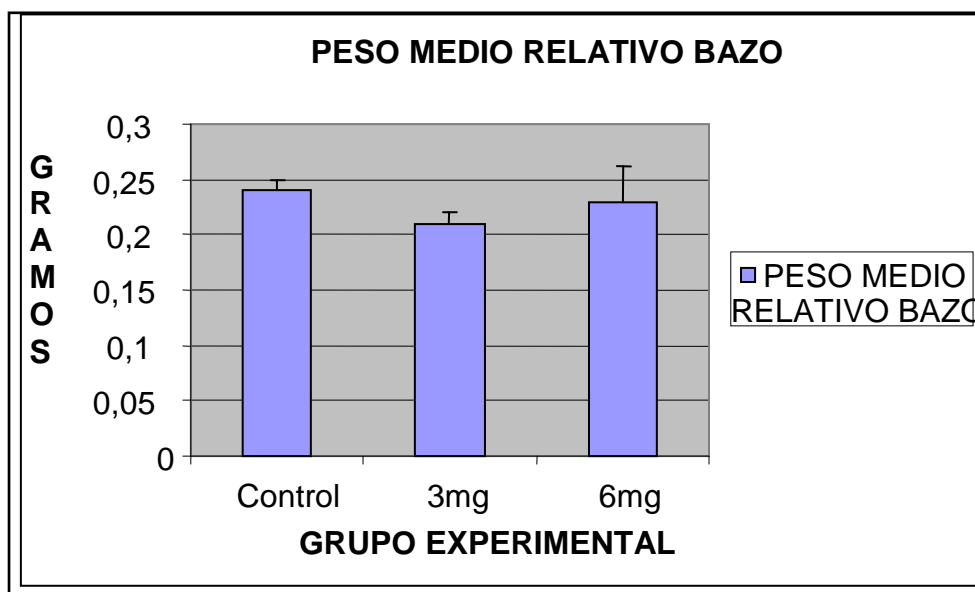


Figura 29. Alteraciones del peso medio del bazo en función de la suplementación de hierro

En la siguiente tabla se refleja toda la información referida a los valores relativos del peso de cada órgano.

Tabla 18. Peso medio relativo de cada grupo experimental con la correspondiente desviación típica.

* $p < 0,05$ vs control

GRUPO	Control (g %)	S.D. (g %)	3 mgFe/kg (g %)	S.D. (g %)	6 mgFe/Kg (g %)	S.D. (g %)
Corazón	0,39	0,051	0,38	0,045	0,38	0,031
Hígado	3,41	0,337	3,67*	0,334	3,22	0,481
Riñones	1,24	0,151	1,28	0,252	1,33	0,181
Bazo	0,24	0,036	0,21*	0,035	0,23	0,092
Soleo	0,83	0,068	0,78	0,108	0,83	0,103
Tibial anterior	0,26	0,058	0,23	0,049	0,28	0,063

4.2. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON HIERRO SOBRE DIVERSOS MARCADORES HEMATOLÓGICOS: LEUCOCITOS Y HEMATÍES

El estudio del número de leucocitos entre los grupos suplementados y la duración del tratamiento revela diferencias estadísticamente significativas, hallándose un menor número de glóbulos blancos en los grupos tratados con hierro (figura 30). Mientras que el número de glóbulos rojos parece aumentar en los grupos suplementados con hierro hasta 3 meses, a pesar de no existir relación estadística alguna (figura 32).

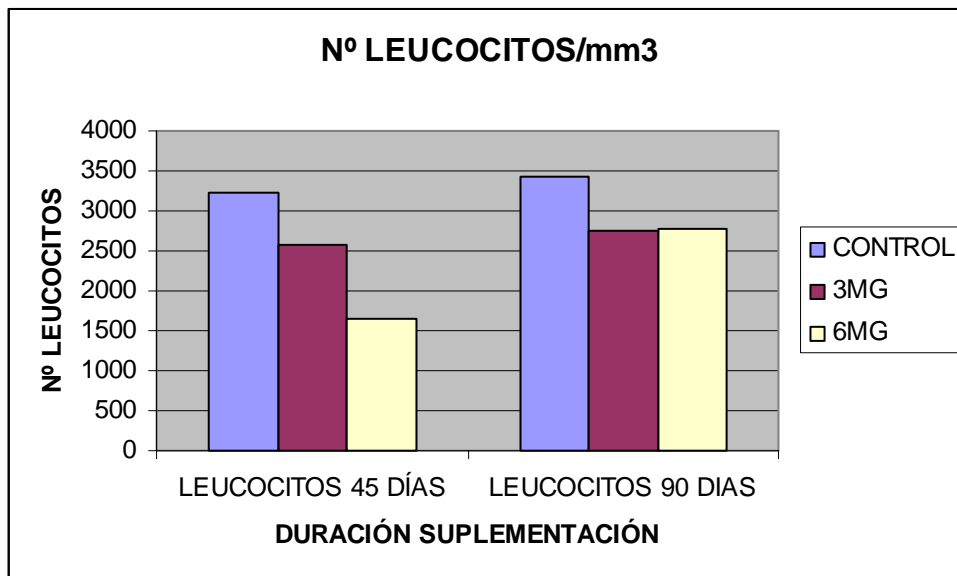


Figura 30. Valores medios del nº de leucocitos/mm³ para los diferentes grupos experimentales al final de los 45 y 90 días de suplementación

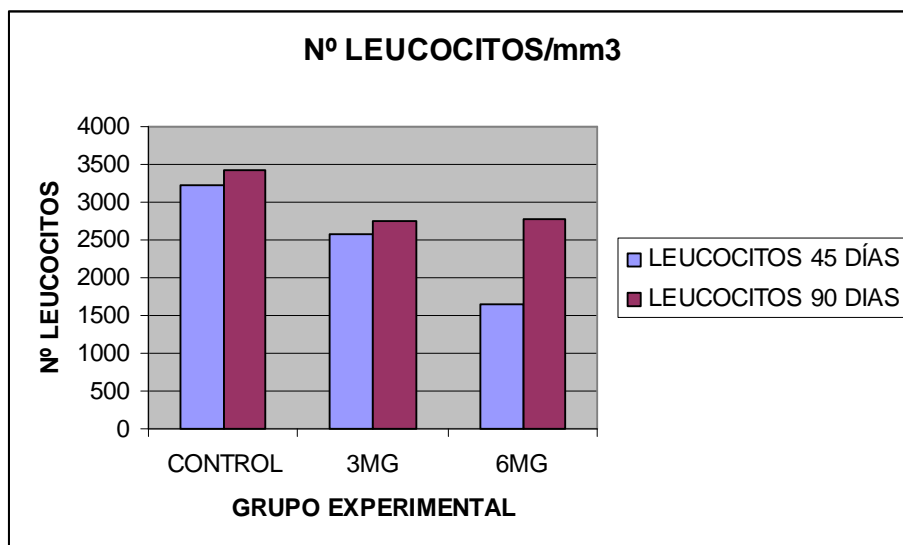


Figura 31. Nº. de leucocitos/mm³ de los tres grupos experimentales tras un periodo de suplementación a los 45 y 90 días

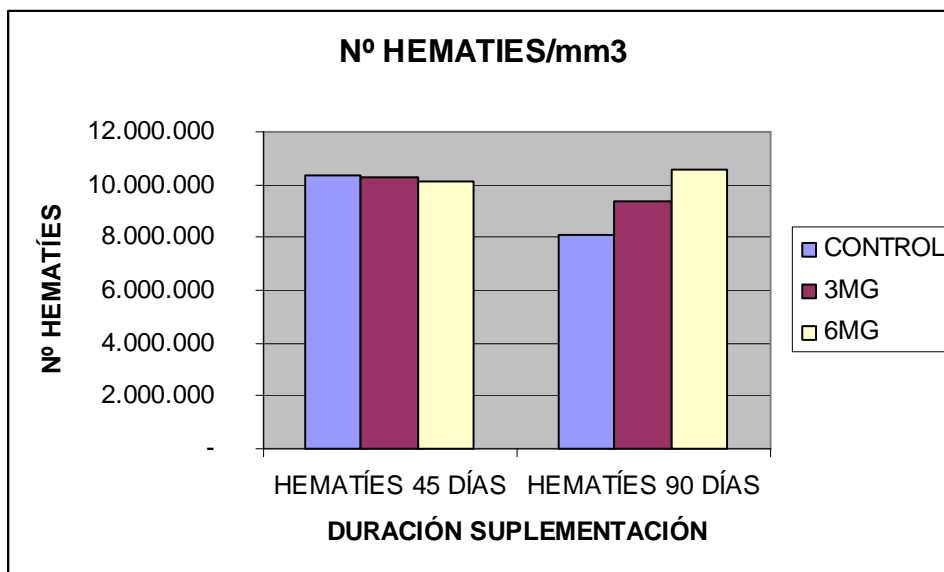


Figura 32. Valores medios del nº de hematíes/mm³ para los diferentes grupos experimentales al final de los 45 y 90 días de suplementación

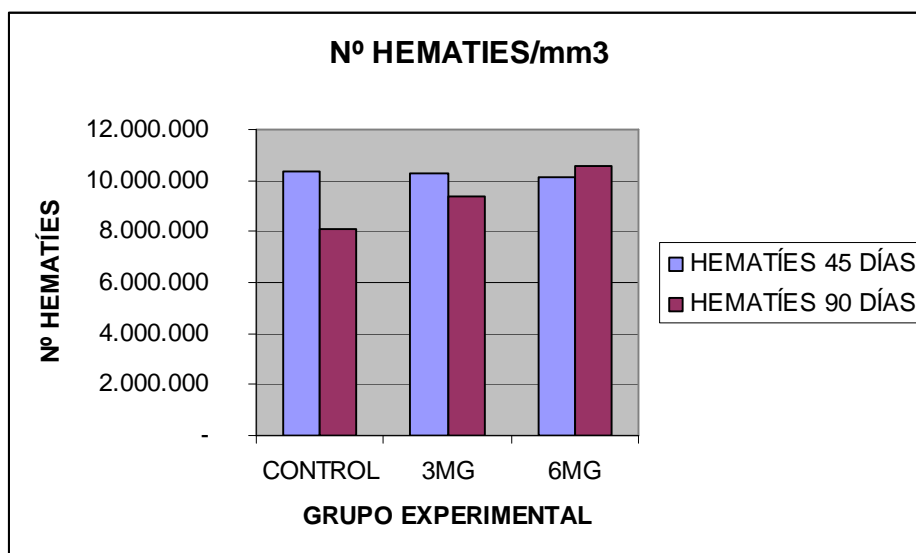


Figura 33. N.º. de hematíes/mm³ en los tres grupos experimentales tras un periodo de suplementación de 45 y 90 días.

4.3. EVALUACIÓN SEMICUANTITATIVA DE LAS ALTERACIONES ULTRAESTRUCTURALES DEL MÚSCULO CARDÍACO Y DEL MÚSCULO SÓLEO

Músculo cardíaco

El músculo cardíaco de los animales del grupo control presentó una ultraestructura normal en los dos momentos de la evaluación.

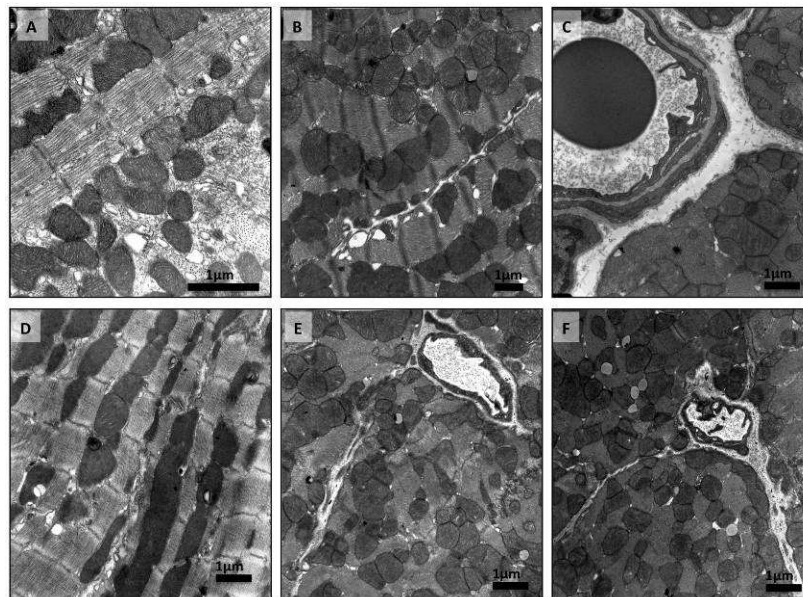


Figura 34. Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo cardíaco del grupo control sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. Tal como ilustra la figura, el músculo cardíaco presentaba una ultraestructura normal en los dos momentos de la evaluación.

En los animales del grupo de 3 mg sacrificados a los 45 días, fue evidente una elevada densidad mitocondrial, con numerosas mitocondrias evidenciando señales de fisión (división en dos de una mitocondria); fueron además observadas numerosas inclusiones lipídicas dispersas por el sarcoplasma afectando a casi la totalidad de las células observadas (Figura 35). Los animales de este grupo sacrificados a los 90 días presentaron mitocondrias con algo de tumefacción, así como un ligero edema intracelular, afectando a algunos cardiomiocitos; en el citoplasma de estas células fueron además identificadas inclusiones electro-densas dispersas, sugestivas de depósitos de hierro. Fue también observada una intensa actividad lisosómica, con evidentes señales de autofagia.

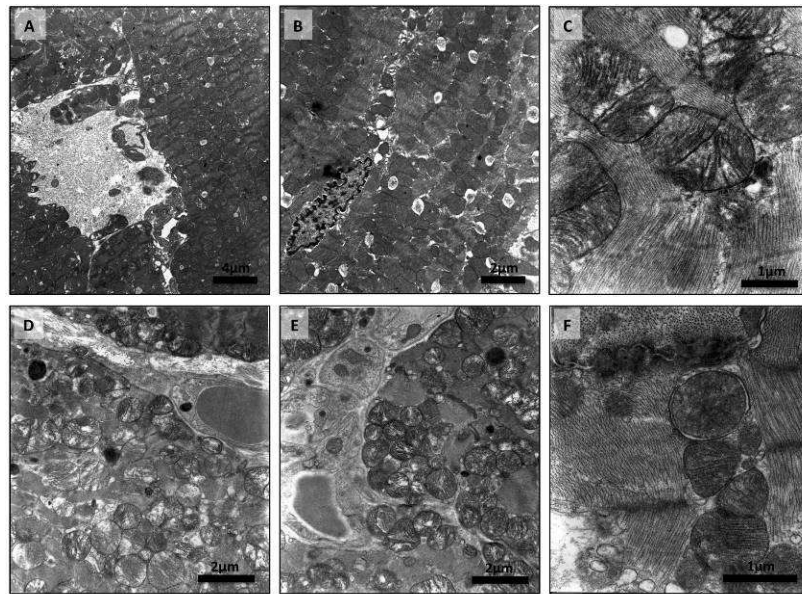


Figura 35. Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo cardíaco de animales del grupo experimental 3 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. En A y B, además de una grande densidad mitocondrial, es posible observar numerosas inclusiones lipídicas dispersas; en C son observadas tres mitocondrias con señales de fisión. En D y E es evidente un ligero edema mitocondrial así como la presencia de lisosomas secundarios; en F es posible observar una vacuola de fagocitosis con una organela en su interior, aparentemente una mitocondria.

En los animales del grupo de 6 mg sacrificados a los 45 días, fue notoria la tumefacción mitocondrial, con señales de fisión en muchas mitocondrias, particularmente en la región subsarcolemal; fueron también observadas numerosas inclusiones lipídicas dispersas por el citoplasma y un ligero edema del retículo endoplasmático afectando a un gran porcentaje de cardiomiocitos. En los animales de este grupo sacrificados a los 90 días, tanto la tumefacción mitocondrial como el edema intracelular fueron más intensos y frecuentes, con numerosas inclusiones electro-densas, sugestivas de depósitos de hierro; en este grupo fue también observada una intensa activación lisosómica y señales sugestivas de necrosis celular afectando cardiomiocitos dispersos.

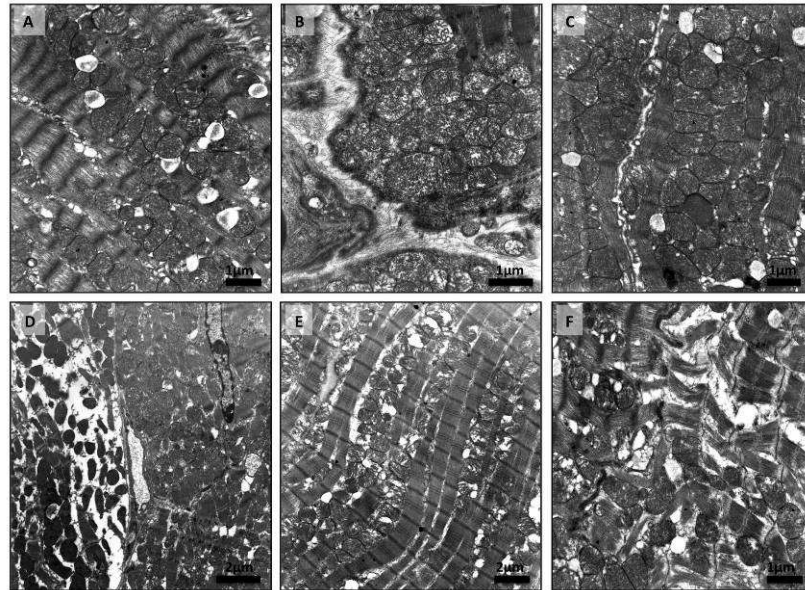


Figura 36. Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo cardíaco en animales del grupo experimental de 6 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. Es evidente, en A y C, la existencia de inclusiones lipídicas dispersas y en C es observable un ligero edema mitocondrial; en A también se puede visualizar un ligero edema del retículo endoplasmático. En D, E y F es evidente el acentuado edema intracelular así como la intensa tumefacción mitocondrial.

Con respecto a los valores medios de las alteraciones ultraestructurales observadas en el corazón, se ha encontrado una mayor cantidad de alteraciones más graves en los grupos de 6 mg y 3 mg, siendo en este último, menor que en el de 6 mg; sin apenas registrarse alteración alguna en el grupo control.

Tabla 19. Valores medios (\pm desviación típica) de las alteraciones ultraestructurales cardíacas observadas en los diferentes grupos de estudiados

Tiempo /Grupo	Grupo control	Grupo 3 mg	Grupo 6 mg
45 días	0.4 \pm 0.5	2.0 \pm 0.8	3.2 \pm 0.7
90 días	0.1 \pm 0.3	2.7 \pm 0.9	4.1 \pm 1.1

Músculo soleo

En los animales del grupo control, el músculo presentó una ultraestructura normal, en los dos momentos de la evaluación.

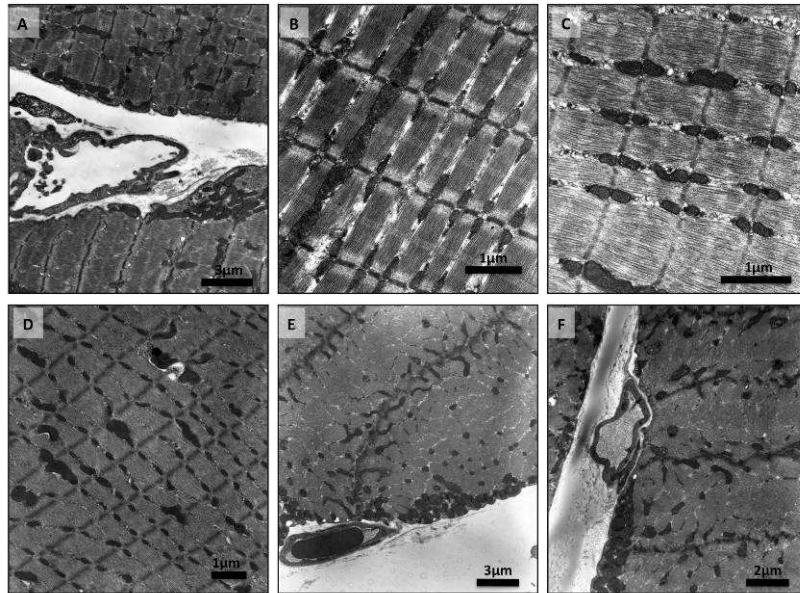


Figura 37. Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo soleus de animales del grupo control sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. Tal como ilustra la figura, el músculo presentaba una ultraestructura normal en los dos momentos de la evaluación.

En los animales del grupo de 3 mg sacrificados a los 45 días del protocolo experimental, fue notorio un aumento de la densidad mitocondrial, particularmente en la región subsarcolemal, con numerosas mitocondrias gigantes y de formato aberrante, presentando muchas de ellas señales sugestivas de fisión. En estos animales fueron también observadas numerosas inclusiones lipídicas dispersas afectando a una gran mayoría de las fibras observadas. En los animales de este grupo sacrificados a los 90 días se observó un ligero edema intracelular afectando a fibras dispersas, con algunas inclusiones intracelulares electro-densas sugestivas de depósitos de hierro; en estos animales fue también observada una intensa actividad lisosómica.

En los animales del grupo 6 mg sacrificados a los 45 días, fue notorio un acentuado aumento de la densidad mitocondrial, con mitocondrias tumefactas, con señales ligeras de edema; en estos animales fueron también observados lisosomas secundarios en fibras dispersas. En los animales sacrificados a los 90 días, la tumefacción mitocondrial fue mas intensa, con inclusiones electro-densas dispersas afectando a la mayoría de las fibras,

sugestivas de depósitos de hierro; en estos animales fue también visible una intensa activación lisosómica, un edema intracelular afectando un gran número de fibras, así como algunas fibras con zonas sugestivas de necrosis segmentar.

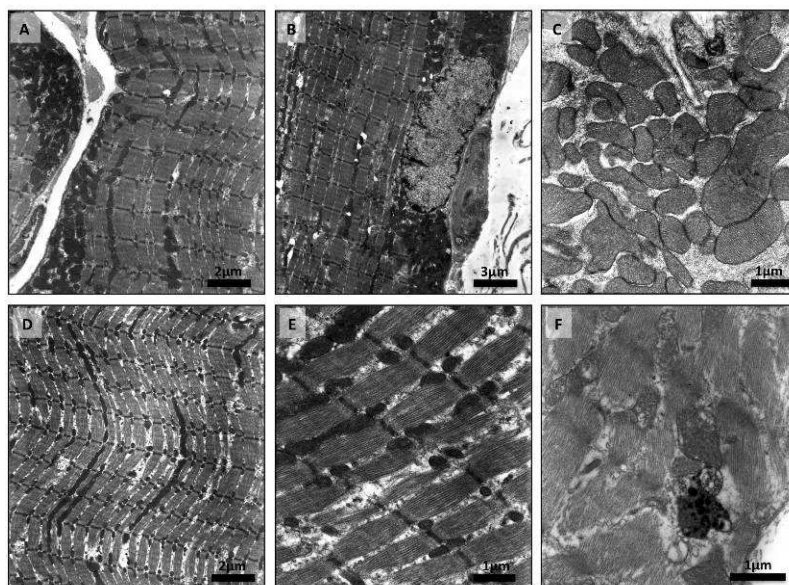


Figura 38. Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo soleus de animales del grupo experimental 3 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. En A y B son evidentes algunas inclusiones lipídicas dispersas así como una cantidad elevada de mitocondrias en la región subsarcolemal; en C son observadas mitocondrias subsarcolemales, de formato aberrantes, presentando una de ellas señales de fisión. D y F muestran mitocondrias de morfología normal y señales de edema intracelular; en E es observado un lisosoma secundario.

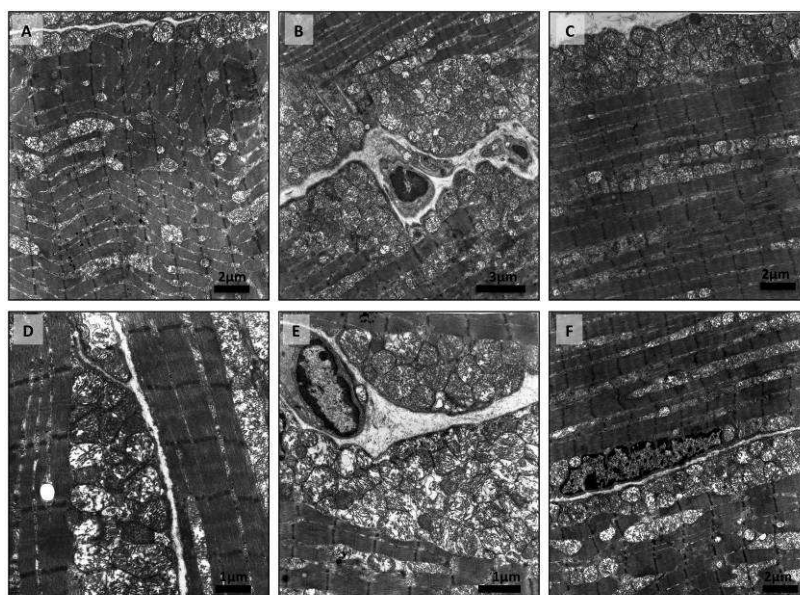


Figura 39. Fotografías de microscopio electrónico de transmisión del músculo *soleus* de animales del grupo experimental 6 mg, sacrificados a los 45 días (A, B, C) y a los 90 días (D, E, F) del protocolo experimental. En A, B y C es evidente una acentuada densidad mitocondrial con edema. En D, E y F también se observa una gran densidad mitocondrial con acentuado edema y tumefacción.

4.4. EVALUACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCIDO POR LA SUPLEMENTACIÓN DE HIERRO EN EL MÚSCULO CARDÍACO Y SÓLEO

Músculo cardíaco

Para analizar el daño del estrés oxidativo y presencia de radicales libres se han estudiado 3 parámetros relacionados con estos: la actividad de la citrato sintetasa, del glutatión reducido y del glutatión oxidado, registrándose en los valores de la CS una ligera disminución en el grupo de 6 mg que continuó la suplementación hasta los 90 días respecto al grupo control.

Tabla 20 – Valores medios (\pm desviación típica) de la CS en el músculo cardíaco (mmol/min/mg proteína) en los 3 grupos experimentales y en ambos periodos de experimentación (45 y 90 días).

Tiempo /Grupo	Grupo control	Grupo 3 mg	Grupo 6 mg
45 días	7.4 \pm 0.4	9.6 \pm 0.9	7.6 \pm 0.4
90 días	7 \pm 0.8	9.1 \pm 0.9	6.7 \pm 0.5

La GSH y la GSSG fueron analizadas en conjunto para comprobar el daño oxidativo. El aumento de la GSSG observado en los grupos de 3 mg y 6 mg respecto al grupo control, es sinónimo de la presencia de oxidación y por tanto de lesión. Este aumento se produce en detrimento de la GSH, encontrándonos los valores de esta reducidos en el grupo de 6 mg respecto al grupo control, mientras que en el grupo de 3 mg hay un ligero incremento, encontrándose un ligero aumento de la capacidad oxidativa.

Tabla 21. Valores medios (\pm desviación típica) de la GSH en el músculo cardíaco (mmol/min/mg proteína) en los 3 grupos experimentales y en ambos periodos de experimentación (45 y 90 días).

Tiempo /Grupo	Grupo control	Grupo 3 mg	Grupo 6 mg
45 días	121.1 \pm 6.4	123.9 \pm 4.9	118.7 \pm 4.7
90 días	117.7 \pm 6,5	129.5 \pm 6.7	115.4 \pm 7.6

Tabla 22. Valores medios (\pm desviación típica) de la GSSG en el músculo cardíaco (mmol/min/mg proteína) en los 3 grupos experimentales y en ambos periodos de experimentación (45 y 90 días).

Tiempo /Grupo	Grupo control	Grupo 3 mg	Grupo 6 mg
45 días	10.1 \pm 1.0	18.2 \pm 2.2	19.9 \pm 2.2
90 días	9.6 \pm 1.7	22.8 \pm 3.5	17.1 \pm 3.6

Músculo sóleo

Con respecto a los valores medios de las alteraciones ultraestructurales observadas en el músculo soleo se encontró el mayor nivel de alteraciones más graves en los grupos de 6 mg, y menos graves en el de 3 mg, sin registrarse alteración alguna en el grupo control.

Tabla 23. Valores medios (\pm desviación típica) de las alteraciones ultraestructurales observadas en el músculo soleus de los diferentes grupos estudiados.

Tiempo/grupo	Grupo control	Grupo 3 mg	Grupo 6 mg
45 días	0.0 \pm 0.0	1.3 \pm 1.1	2.0 \pm 0.8
90 días	0.0 \pm 0.0	1.4 \pm 1.1	2.1 \pm 0.9

Si analizamos nuevamente en el músculo sóleo los niveles de CS hallamos un ligero descenso en el grupo de 6 mg y 90 días de la actividad de la CS respecto al grupo control. Algo similar sucedió en el análisis del músculo cardíaco.

Tabla 24. Valores medios (\pm desviación típica) de la CS en el músculo soleo (mmol/min/mg proteína) en los 3 grupos experimentales y en ambos periodos de experimentación (45 y 90 días).

Tiempo /Grupo	Grupo control	Grupo 3 mg	Grupo 6 mg
45 días	6.1 \pm 0.5	8.1 \pm 0.9	6.6 \pm 0.7
90 días	6.0 \pm 0.6	8.3 \pm 0.5	5.6 \pm 1.4

En la actividad de la GSH se registra un ligero incremento en el grupo de 3 mg respecto al grupo control, y un ligero descenso en los valores del grupo de 6 mg respecto al control.

Tabla 25. Valores medios (\pm desviación típica) de la GSH en el músculo soleo (mmol/min/mg proteína) en los 3 grupos experimentales y en ambos periodos de experimentación (45 y 90 días).

Tiempo /Grupo	Grupo control	Grupo 3 mg	Grupo 6 mg
45 días	36.4 \pm 2.3	41.7 \pm 1.6	33.3 \pm 4.2
90 días	33.0 \pm 3.7	39.8 \pm 2.3	30.4 \pm 2.8

Los resultados de los valores de GSSG indican aumentos en la actividad de esta proteína tanto en el grupo de 3 mg como el de 6 mg, siendo mayores en este último.

Tabla 26. Valores medios (\pm desviación típica) de la GSSG en el músculo soleo (mmol/min/mg proteína) en los 3 grupos experimentales y en ambos periodos de experimentación (45 y 90 días).

Tiempo /Grupo	Grupo control	Grupo 3 mg	Grupo 6 mg
45 días	5.0 \pm 1.2	10.9 \pm 1.7	12 \pm 2.8
90 días	6.3 \pm 1.4	11.4 \pm 1.4	13.4 \pm 2.9

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Después de una revisión exhaustiva de la literatura científica actual, hemos encontrado pocos trabajos similares al que hemos diseñado, que tratase el estudio de las alteraciones orgánicas inducidas por una suplementación crónica de hierro administrado por vía oral en ratas no anémicas. Si bien es cierto que son muchos los estudios que acaparan la atención de este mineral, son pocos los que han trabajado en el ámbito de la suplementación de hierro sin padecer anemia o deficiencia alguna de este elemento, siendo la mayoría de los estudios registrados trabajos que han estudiado los beneficios y riesgos de la suplementación de hierro en personas o ratas anémicas, administrando para ello un suplemento de hierro por vía oral, por vía intravenosa o a través de alimentos fortificados.

Para esta discusión nos ceñiremos a los aspectos específicos de distintos estudios que podamos contrastar y equiparar con los resultados de nuestro trabajo, siendo conscientes de las consecuencias que puede acarrear la diversidad de protocolos existentes utilizados en los trabajos revisados en la literatura.

En un estudio realizado por Uchida et al. (9) con 28 ratas Wistar donde fueron utilizados suplementos de diferentes compuestos y dosis de hierro no se halló diferencias estadísticamente significativas en relación a la ganancia o pérdida de peso de los grupos suplementados respecto al control (9), sin embargo en nuestro estudio conforme avanzó el periodo de suplementación las ratas de los grupos suplementados obtuvieron una menor ganancia de peso. Esto también se confirma en el trabajo de Fischer y cols. (324) donde el grupo de ratas a las cuales se suministró una dosis alta de hierro obtuvo un menor peso final respecto al grupo control y grupo de ratas con dosis bajas de hierro. También en el trabajo de Lee & cols (335) se observó una disminución del peso, registrándose que la misma pudo ser debida a la diarrea que padecían los animales. En nuestro estudio se llevó a cabo también un registro cualitativo de las heces y aunque no se apreció diarrea si es cierto que en muchas ocasiones las heces eran blandas.

En nuestro caso quizá la menor ganancia de peso de los grupos suplementados con hierro pudo ser debido al sabor que deja el hierro al diluirse en el agua, provocando una menor ingesta de esta por parte de los animales.

En el estudio de Uchida et al. (9) se utilizó la intubación para administrar el hierro, por lo que esta hipótesis cobra una mayor importancia. Tampoco en el trabajo de Yamauchi et al. (10) no se detectaron diferencias significativas en relación al peso corporal de los grupos

suplementados y el grupo control, administrándose la solución ferrosa por intubación. Nosotros hemos descartado esta forma de suplementar dado que se podrían producir heridas e irritaciones en el tracto gastrointestinal de los animales, puesto que nuestro protocolo experimental posee una larga duración en el tiempo. Quizá este método sea recomendable para periodos de tratamientos inferiores a 15 días o un mes.

Sin embargo, existen diversos estudios en la literatura realizados en humanos, que hallaron menores ganancias de peso en niños de 1-2 años de vida, los cuales fueron tratados con suplementos de hierro, de 1-2 mg de hierro/kg de peso (279;325-327).

Otro estudio donde se analizaron los efectos gastroduodenales de tres preparados distintos de hierro registró una disminución estadísticamente significativa $p < 0,05$ de la ganancia de peso de las ratas anémicas tratadas con succinato ferroso y sulfato ferroso respecto al grupo tratado con TM/FMOA (11). En el estudio de Fischer et al. (12) las distintas concentraciones de hierro utilizadas (dosis baja, adecuada, moderada y alta de sulfato ferroso) no afectaron al peso final de las ratas. Igualmente en el estudio de Appel et al. (13), en el cual 250 ratas fueron tratadas con distintas dosis de hierro (sulfato ferroso y FeEDTA), durante un periodo de 60 días, no se registraron diferencias estadísticamente significativas, en relación a la media del peso corporal de las ratas entre los grupos.

También en nuestro estudio hemos encontrado diferencias significativas en relación a la comida ingerida por el grupo control y la menor cantidad de comida ingerida por el grupo de 6 mgFe/kg, mientras que en el estudio de Uchida et al. (9) y Yamauchi et al. (10) no se observaron diferencias significativas en el consumo de comida, al igual que en otros estudios (13).

La cantidad de orina excretada fue menor en los grupos suplementados con respecto al control, siendo estadísticamente significativa ($p < 0,05$), esto parece lógico al observar que también fue menor la ingesta de agua. Sin embargo, en otros estudios, parece disminuir también en las primeras seis semanas el volumen de orina en las ratas tratadas con altas dosis de hierro, pero sin hallar diferencias significativas (10). En ese mismo trabajo se observó un aumento significativo del volumen urinario respecto al grupo control, al final de las 13 semanas de administración de diferentes dosis de hierro, especialmente en los grupos suplementados con 200 mg/Kg/día de lactoferrina; mientras que en el resto de los grupos suplementados con las dosis de 600 y 2000 mg/Kg/día de lactoferrina, no se hallaron diferencias significativas. Algo similar sucedió en nuestro estudio, donde aumentó

considerablemente la excreción de orina del grupo suplementado con la dosis de 3mgFe/Kg de peso, en las ultimas semanas de tratamiento.

La menor ganancia en el grupo de 6 mgFe guarda relación con la menor cantidad de heces excretada y por la menor cantidad de agua y comida ingerida por este grupo de animales. Si comparamos esta disminución de ganancia de peso en relación a masa de los órganos/peso corporal, observamos que en los animales suplementados con la dosis más alta de hierro la masa de algunos órganos es inferior a la del grupo control, hallándose incluso diferencias estadísticamente significativas en el peso del hígado. Lo que nos podría indicar, si se confirmase en más estudios posteriores, que la disminución del peso provocada por el hierro, podría ser debido a una disminución de la cantidad de materia grasa.

Con respecto al análisis de la fracción corpuscular del plasma, decir que el número de glóbulos blancos descendió notablemente en los grupos tratados con hierro en relación al grupo control, hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre ambos grupos. Otros estudios (10) no observaron diferencias significativas pero si una ligera disminución.

Contrariamente a los leucocitos, los glóbulos rojos parecen aumentar con la ingesta de hierro pero sin hallarse diferencias estadísticamente significativas, ni en otros estudios (10) ni en el nuestro.

Algunos estudios realizados sobre la suplementación de hierro exponen en sus resultados el peso relativo de los órganos que poseen un mayor protagonismo en el metabolismo del hierro (10), sin obtener alguna diferencia estadística significativa. Estos órganos, corazón, hígado y riñón no parecen sufrir variaciones en su peso con la suplementación de hierro, aunque en nuestro estudio hemos hallado alguna diferencia significativa ($p < 0,05$) en el peso relativo del hígado y bazo, en el grupo control y el de 6 mg, y el control con el de 3 mg, respectivamente. Encontrándose un incremento del peso del hígado en el grupo tratado con 3 mg de hierro (3.67 g/100 mg) respecto al grupo control (3.41 g/100 mg) y el de 6 mg (3,22 g/100 mg). Esta misma tendencia puede comprobarse en el estudio de Fischer (324) donde el grupo de ratas suplementadas con una dosis moderada de hierro obtuvo un peso relativo de 3,5 g/100 mg, frente a los 3,4 g/100 mg del grupo de una dosis muy alta de hierro y los 3,4 g/100 mg del grupo que ingirió una dosis normal de hierro dietario.

Mientras que la tendencia del peso medio relativo del corazón tiende a mantenerse o disminuir ligeramente en los grupos suplementados con una mayor dosis de hierro y la del riñón a mantenerse o aumentar ligeramente, así aparece reflejado en los datos de nuestro estudio y en otros trabajos (10). El estudio de Zhong et al. (14) describe la diferencia existente entre un grupo de ratas con ejercicio físico y un grupo control sedentario en relación a la cantidad de hierro no hemo hallado en diversos órganos, concluyendo que hay una mayor acumulación de este mineral en el grupo control y con el paso del tiempo la cantidad de hierro se ve aumentada en el hígado, bazo, riñón y corazón. También se registra en otro estudio una mayor cantidad de hierro en el hígado y bazo de una muestra de ratas a las cuales se le inyectó diferentes dosis de hierro dextran (15). Fischer et al. (12) obtuvo en su estudio un mayor peso relativo del hígado de las ratas que habían sido suplementadas con dosis más altas de hierro, con diferencias estadísticamente significativas $p < 0,01$, obteniendo una mayor concentración de hierro en el hígado y en el bazo, llegando incluso hasta 11,1 y 9,9 $\mu\text{mol/g}$ de tejido respectivamente.

En relación a los resultados presentados sobre la presencia de un mayor estrés oxidativo, sugieren que la suplementación oral de hierro con dosis habitualmente administradas para corregir la deficiencia de hierro en niños, jóvenes y mayores, que en muchos casos no presentan tal deficiencia, es inadecuada, tal como muestra nuestro trabajo y otros estudios donde se han registrado indicadores de un mayor nivel de estrés oxidativo, en los grupos suplementados con hierro (16-18).

En el trabajo de King (16) se somete a una suplementación oral de 98 mg de hierro de sulfato ferroso a un grupo de 12 mujeres con deficiencia de hierro, no anémicas, durante un periodo de 8 semanas hallándose en él un aumento de casi un 40% sobre los niveles base de dos índices de la peroxidación lipídica estudiados, el malonildialdehído plasmático y la exhalación de etano (328). Algo similar halló Knutson (329) en su tesis doctoral donde también encontró un aumento del 44% en los indicadores de MDA plasmático después de suplementar a un grupo de mujeres 4 semanas con una dosis diaria de 120 mg de hierro. Este mismo autor, también constataba en un trabajo realizado en ratas un incremento de la peroxidación lipídica tras un periodo de suplementación de hierro (307).

Existen otros estudios realizados en humanos que confirman también este aumento del estrés oxidativo tras un periodo de suplementación (19-21). La suplementación con compuestos de hierro, especialmente el sulfato ferroso, aumenta el estrés oxidativo,

incrementando la producción de especies reactivas de oxígeno que pueden dañar los lípidos, el ADN y las proteínas así como producir daños y muerte celular.

Por otra parte, en la literatura se registran estudios con otros compuestos tal es el caso del complejo de hidróxido de hierro (III) y polimaltosa (complejo de hierro polimaltosado) que no provocan aumento en las ERO y tienen propiedades similares a la ferritina (19).

Tampoco se vió afectada la peroxidación lipídica en el trabajo realizado por Gropper et al. (330) donde se administró una dosis de 50 mg de hierro diaria durante 8 semanas a un grupo de mujeres con deficiencia de hierro no anémicas, o en el estudio de Derstine y cols. (331) en el cual la ingesta de 17-21 mg de hierro al día no produjo cambios significativos en los niveles de oxidación de lipoproteínas plasmáticas de baja densidad (LDL).

Si bien es cierto que muchos de estos trabajos que no hallan relación alguna, son realizados con dosis bajas de hierro, o en periodos cortos de suplementación. Además el uso de compuestos y otras sustancias acompañando la ingesta de hierro, pueden mermar su capacidad de absorción, evitando así posibles daños, como el que puede ocasionar el hierro libre catalizando la formación de radicales hidróxilo y estimulando la peroxidación lipídica.

El trabajo en humanos quizá presente una mayor limitación para poder profundizar más a nivel celular en el origen y causas de este aumento de algunos indicadores del estrés oxidativo, así como para poder suministrar dosis más altas y prolongadas de hierro.

En otro estudio (22) realizado en animales donde se suplementó a un grupo de la muestra con un suplemento de hierro y a otro grupo se combinó esa suplementación con un preparado de proteína de leche, se confirmaron los efectos protectores de la proteína de la leche previniendo en parte las alteraciones en el estado antioxidante provocadas por la suplementación de hierro y los efectos de estas en los tejidos.

En el trabajo de Colpo (306) se administró una dosis única de hierro combinado con ácido ascórbico, una dosis de hierro solo y una dosis de ácido ascórbico en 9 voluntarios sin hallarse diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos en relación a los parámetros bioquímicos evaluados (hierro, ferritina, catalasa, entre otros), desmintiendo por tanto la hipótesis de que la combinación de concentraciones altas de ácido ascórbico y hierro, o hierro solo, podrían causar in vivo daño oxidativo después de su suplementación.

Debemos prestar atención al protocolo utilizado en este último estudio, en el que solamente se administró una única dosis de hierro de 150 mg de carbonilo de hierro, que difiere al protocolo utilizado en otros estudios en el que la suplementación fué a diario.

Otros estudios han confirmado también el aumento de niveles de GSSG y otros marcadores del estrés oxidativo en otros órganos, así en el estudio de Lykkesfeldt y cols. (23) se estudió el efecto de la suplementación de hierro combinado con un lípido soluble sobre el daño oxidativo producido en el hígado y en el cerebro, se constataron aumentos en la GSSG hallada en el hígado pero no se registraron cambios en el cerebro, lo que confirma que el cerebro está bien protegido frente a la sobrecarga de hierro combinado con lípidos solubles.

La actividad de la GSSG se debe de medir conjuntamente con la actividad de la GSH, dado que una aumenta (GSSG, forma oxidada) mientras que la otra disminuye (GSH, forma reducida). Los aumentos registrados de la GSSG, tanto en el músculo como en el corazón, indican la oxidación a la que estuvo expuesta el organismo de los animales suplementados con 3 y 6 mg, disminuyendo los valores de GSH especialmente en el grupo de 6 mg, y sin registrarse disminución alguna en el grupo de 3 mg. Todo esto confrontándolo con la disminución registrada de los niveles de la CS, junto a las señales de fisión y edema mitocondrial analizados con el microscopio parece indicar la presencia de lesiones en el tejido muscular.

Respecto a esta última referencia al análisis citológico señalar que en nuestro estudio y al tratarse de animales de experimentación hemos profundizado en el conocimiento de lo que sucedía a nivel celular, hallándose evidencias de daño (degeneración celular, zonas necróticas y/o pérdida de la organización tisular) tanto en el miocardiocito como en las células del sóleo. Siendo el corazón el órgano más afectado. La muestra perteneciente a los grupos de 6 mgFe/kg de peso registró un mayor daño celular que el grupo de 3 mgFe. Sin apenas registrarse alteraciones en el grupo control.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

6.1. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta las hipótesis que nos planteamos al inicio del trabajo, podemos concluir que en mayor o menor medida todas ellas se han cumplido, así:

1) Existe relación entre el número de leucocitos y la suplementación de hierro.

Podemos afirmar que esta primera hipótesis se cumplió, ya que analizando los parámetros hematológicos, nos encontramos con una disminución significativa del número de glóbulos blancos en los grupos tratados con hierro, respecto al grupo control.

Esta menor cantidad de leucocitos sugiere una menor eficacia del sistema inmunitario que podría estar causada por los altos niveles de estrés oxidativo registrados, además de las numerosas alteraciones ultraestructurales halladas en los tejidos analizados a través del microscopio.

Respecto a la segunda de las hipótesis, que hacía referencia a que:

2) La suplementación de hierro en animales no anémicos, influye sobre el número de hematíes.

Nos encontramos con que esta hipótesis también se cumple, ya que la suplementación con hierro en animales no anémicos, si influye en el número de hematíes, como lo demuestran los resultados obtenidos en las ratas suplementadas con 3 y 6 mg de hierro, respectivamente. Si bien es cierto que este ligero incremento hallado no era estadísticamente significativo.

En la tercera de las hipótesis, planteábamos que:

3) Hay un aumento del estrés oxidativo con la suplementación de hierro.

Y podemos confirmar que esta hipótesis también se cumple, ya que los niveles de la GSSG estaban aumentando en el grupo de 6 mg de hierro y 90 días respecto al grupo control, este aumento se hizo a costas de la GSH, obteniendo para este mismo grupo un menor nivel con respecto a los otros grupos.

También destacar, el descenso de los niveles de la CS que junto a las señales de fisión y edemas mitocondriales sugiere que la actividad oxidativa ha estado comprometida especialmente en el grupo de ratas que ingirieron la dosis más alta de hierro y continuaron su ingesta hasta los 90 días.

La última de las hipótesis planteadas, hacía referencia a que:

- 4) Aparecen cambios estructurales en las membranas celulares de diversos tejidos, tras el periodo de suplementación con hierro.

También se cumple. Hemos encontrado numerosas alteraciones ultraestructurales en los dos tejidos estudiados, músculo cardíaco y sóleo. Conociendo a través de la evaluación semicuantitativa de las alteraciones ultraestructurales de ambos tejidos hemos podido tener una idea del grado de toxicidad y protagonismo de cada órgano en relación a la sobrecarga del hierro. En este sentido, el corazón ha estado más afectado que el sóleo. Encontrándose en ambos periodos de suplementación importantes diferencias. A su vez estas diferencias también estuvieron presentes entre ambos grupos de 3 mg y 6 mg respecto al grupo control, (hallándose mayores alteraciones ultraestructurales en el grupo de 6 mg.) y entre los dos órganos a estudio, sóleo y corazón.

El aumento del tamaño de las mitocondrias hallado a través del microscopio en los grupos suplementados con hierro, especialmente el grupo de 6 mg, indicó claramente señales de lesión, interfiriendo negativamente en la capacidad de trabajo de esta.

Podemos concluir, que los resultados encontrados demostraron una afectación multisistémica, acompañada de una menor ganancia de peso de las ratas suplementadas con hierro, así como una menor cantidad de agua ingerida y orina excretada por estas. Aunque no pudimos confirmar una relación directa entre la carga de hierro y el aumento o disminución del peso de estos tejidos, si podemos sospechar de cierta influencia de la sobrecarga de hierro en el peso de los órganos involucrados con su metabolismo, tal como el hígado o el bazo.

Al igual que otros minerales, el hierro posee un peligroso doble efecto, tanto su deficiencia como su sobrecarga afectan a la salud humana. Por tanto, la alimentación es un factor importante a tener en cuenta, y antes de realizar una suplementación farmacológica inadecuada, el niño o deportista debe someterse a un estudio exhaustivo de su dieta diaria así como una analítica sanguínea para descartar una posible deficiencia de hierro o anemia.

6.2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

No hemos podido contrastar nuestros resultados con más estudios, dada la falta de información que existe en relación a algunos de los parámetros analizados. Es preciso que los trabajos sobre suplementación de hierro en ratas, aborden también el estudio de diversos aspectos que intervienen en el metabolismo del animal; así como los principales órganos y tejidos, que pueden verse afectados por esta sobrecarga de hierro y que contemplen un protocolo común, que sea similar y por tanto, comparable.

Por eso, recomendaríamos que de cara a comprender mejor los procesos involucrados en el metabolismo del hierro, las futuras investigaciones no se centren solamente en el resultado o producto final del trabajo, sino que estudien y registren todos los datos extraídos del proceso. Como hemos podido comprobar, no están de todo claro algunos aspectos metabólicos, tal como la confirmación de una posible menor ganancia de peso de los animales suplementados, la disminución de peso de algunos órganos involucrados en el metabolismo del hierro, el ligero incremento del número de hematíes, etc.

En la bibliografía consultada para este trabajo, no hemos encontrado ningún estudio que trabajase con ratas no anémicas y una suplementación oral crónica de hierro. Muchos estudios han tratado la suplementación aguda de este mineral a través de inyecciones o por cánula. Sin embargo observamos que si queremos traspasar estos resultados a la población humana se debe hacer hincapié en trabajos que utilicen la vía oral para la suplementación de hierro, ya que es de esta forma como lo ingiere la mayoría de los deportistas, mujeres y niños.

También se observa en la revisión bibliográfica realizada, que los estudios que abordan esta temática utilizan distintos protocolos de administración del hierro con lo que dificulta la contrastación de los resultados y una posible conclusión. Muchos de estos estudios no coinciden en el protocolo de suplementación, especialmente en lo referente a ***dosis diaria*** recomendada, ***modo de administración*** (*oral, intravenoso, cánula...*), ***fármaco administrado*** (*gluconato ferroso, sulfato ferroso...*), ***periodo de tratamiento*** (*3 días, 4 semanas, 3 meses...*) y ***presencia de compuestos inhibidores o facilitadores*** (*calcio, proteínas...*).

Para futuros estudios se recomienda la realización de un trabajo con un periodo superior a 3 meses, con estandarización de las condiciones de administración, puesto que escasean este tipo de estudios, abordando la mayoría de ellos un periodo de 4-6 semanas.

Otras limitaciones del trabajo, han sido, al igual que la mayoría de los estudios analíticos experimentales, la imposibilidad de no poder trabajar con un mayor número de animales. Convendría seguir realizando este mismo protocolo en otros estudios, con el fin de obtener un mayor número de resultados y poder así comparar y verificar nuestros resultados iniciales. Con una muestra de 100 o 200 animales se podrían obtener datos importantes. Asimismo, el trabajo con cerdos sería ideal, puesto que su sistema circulatorio es más parecido al humano.

La realización de un programa de ejercicio físico por parte de los animales, sería una buena aportación si queremos traspasar los resultados al ámbito deportivo, puesto que a través del ejercicio físico se produce una mayor utilización de este mineral.

6.3. PAUTAS NUTRICIONALES PARA UNA OPTIMIZACIÓN DEL EJERCICIO FÍSICO EN NIÑOS Y JÓVENES DEPORTISTAS

Para finalizar se exponen algunas recomendaciones nutricionales para la optimización de la actividad física saludable.

- Establecer pautas nutricionales para una optimización del ejercicio físico, que contemplen dosis adecuadas de hierro, además de conocer los tipos de hierro dietario existentes en nuestra alimentación y como influye su absorción en combinación con otros alimentos es de vital importancia para los niños, jóvenes y adultos.
- El educador deportivo debe inculcar hábitos nutricionales correctos a niños y adolescentes, con el fin de poder optimizar la actividad física y obtener así una mejor calidad de vida y salud, de ahí la necesidad de contemplar la ingesta diaria de hierro dentro de la alimentación escolar y deportiva. Pequeños consejos y recomendaciones impartidos por el docente serán de gran utilidad en la vida diaria de los jóvenes.
- El conocimiento sobre los posibles beneficios o efectos secundarios que puede acarrear la ingestión de suplementos minerales y vitamínicos deben ser conocidos por el educador deportivo. En el caso del hierro, la mezcla de pequeñas cantidades de carne con alimentos vegetales ricos en hierro no hemo mejorará el aporte de hierro en la dieta.
- Ser conscientes que en una gran mayoría de los casos con la confección de una dieta equilibrada no será necesaria la suplementación de hierro, evitando así los posibles efectos negativos que puede conllevar esta ingesta innecesaria de este mineral cuando no se padece anemia o deficiencia. En el caso de ser necesaria esta suplementación algunos estudios sugieren que la ingestión de estos suplementos llevando acabo un programa de ejercicio físico incrementa las concentraciones plasmáticas de hierro mucho más que los suplementos ingeridos en reposo (332).
- En el caso de deportistas especialmente de modalidades aeróbicas, debemos reconocer que generalmente la ingesta de más calorías que conlleva su dieta ya lleva consigo una mayor cantidad de hierro, por lo que la suplementación solo se realizará cuando fuese clínicamente necesaria.
- También debe hacerse hincapié en la interacción positiva o negativa que posee la ingesta de hierro conjuntamente con otros minerales, tal es el caso del zinc, que

interfiere negativamente en la absorción del hierro y viceversa cuando alguno de estos se ingiere en gran cantidad pudiendo provocar una disminución del crecimiento del joven deportista, pérdida de apetito o respuesta inmune deteriorada (1).

- Existen ciertos efectos negativos para la salud tras un periodo de suplementación de hierro. Entre las consecuencias negativas hallábamos el efecto antagónico en la absorción de otros minerales, el aumento del estrés oxidativo y el agravamiento de síntomas en enfermedades en que la absorción del hierro está aumentada. En niños se ha podido demostrar un aumento del riesgo de diarreas (333). También se han indicado efectos negativos a largo plazo, tal como un posible aumento de enfermedades cancerosas en pacientes con un índice de saturación de transferrina elevado, como los portadores del gen de la hemocromatosis que ingieren de forma inadvertida y regularmente suplementos de hierro.(334)

Dentro del ámbito educativo-deportivo, para conseguir una correcta optimización del ejercicio físico se han de seguir ciertas pautas en los hábitos nutricionales del joven escolar:

- Es necesario que todos los jóvenes escolares y deportistas estén informados del contenido de hierro existente en su dieta.
- Realizar una dieta equilibrada de acorde con el sexo, edad y nivel de actividad del sujeto. Previamente se deberá realizar un registro de todos los hábitos nutricionales realizados a lo largo de una semana, para ver la cantidad de calorías ingeridas en cada parte del día así como conocer los porcentajes ingeridos de los distintos nutrientes.
- Rechazar dietas con alto contenido en grasas saturadas y colesterol, sal, sodio y azúcares.
- Ingerir el hierro no hemo con los alimentos que favorecen su absorción evitando combinar en esa comida con alimentos inhibidores de la absorción del hierro.
- Realizar un programa de ejercicio físico al menos 3 días a la semana combinando ejercicio aeróbico, con un programa de fuerza, velocidad y flexibilidad. Sin olvidar el trabajo de los factores perceptivo motrices.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Reference List

- (1) Lieu PT, Heiskala m, Peterson PA, Yang Y. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med* [22], 1-87. 2001.
- (2) Goodman G. *The pharmacological basis of therapeutics*. New York. USA: 1996.
- (3) Beard J, Piñero D. *Metabolismo del hierro. Deficiencia de hierro*. Buenos Aires. Argentina.: 1997.
- (4) Lanzkowski P. *Metabolismo del hierro y anemia ferripriva*. *Hematología pediátrica*. 3ª ed. La Habana: 1985. p. 121-93.
- (5) Deiss A. Iron metabolism in reticuloendothelial cells. *Semin Hematol* 1983;(20):81-90.
- (6) Refsun A, Schreiner B. Regulation of iron balance by absorption and excretion. *Scand J Gastroenterol* 1984;(19):867-74.
- (7) Dallman P. *Iron. Present knowledge in nutrition*. 6ª ed. North American: 1990.
- (8) Wick M, Pinggera W, Lehmann P. *Iron metabolism, diagnosis and therapy of anemias*. 3ª ed. New York: Springer; 1996.
- (9) Uchida T, Oda T, Sato K, Kawakami H. Availability of lactoferrin as a natural solubilizer of iron for food products. *International dairy journal* 2005;16:95-101.
- (10) Yamauchi K, Toida T, Nishimura S, Nagano E, Kusuoka O, Teraguchi S, et al. 13-Week oral repeated administration toxicity study of bovine lactoferrin in rats. *Food and Chemical Toxicology* 2000;38:503-12.
- (11) Gastearna MA, et al. A comparative study on the gastroduodenal tolerance of different antianaemic preparations. *Human & Experimental Toxicology* 2003;22:137-41.
- (12) Fischer J, Glauert H, Yin T, Sweeny M, Larmonier N, Black M. Moderate iron overload enhances lipid peroxidation in livers of rats, but does not affect Nf-kb activation induced by the peroxisome proliferator, Wy-14,643. *Biochemical and molecular actions of nutrients* 2002;2525-31.
- (13) Appel M, Kuper CF, Woutersen RA. Disposition, accumulation and toxicity of iron fed as iron (II) sulfate or as sodium iron EDTA in rats. *Food and Chemical Toxicology* 2000;39:261-9.
- (14) Zhong Q, De Sheng X, Qin L, Kwok H. Effect of different durations of exercise on transferrin-bound iron uptake by rat erythroblast. *The journal of Nutritional Biochemistry* 2002;13:47-54.

- (15) Theurl I, Ludwickzek S, Eller P, Seifert M, Artner E, Brunner P, et al. Pathways for the regulation of body iron homeostasis in response to experimental iron overload. *Journal of Hepatology* 2005;43:711-9.
- (16) King S, Donangelo C, kNUTSON m, Walter P, Ames B, Viteri F, et al. Daily supplementation with iron increases lipid peroxidation in young women with low iron stores. *Exp.Biol.Med.* [233], 701-707. 2008.
- (17) Lund EK, Wharf SG, Fairweather TSJ, Johnson IT. Oral ferrous sulfate supplements increase the free-radical-generating capacity of feces from healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* [69], 250-255. 1999.
- (18) Carrier J, Aghdassi E, Platt I, Cullen J, Allard J. Effect of oral iron supplementation on oxidative stress and colonic inflammation in rats with induces colitis. *Aliment Pharmacol Ther* [15], 1989-1999. 2001.
- (19) Dres D, Chandra RK, Geisser P. *Arzneimittel Forchung. Drug Research* 58[8], 389-397. 2008.
- (20) Saha L, Pandhi P, Gopalan S, y cols. Comparasion of Efficacy, Tolerability, and Cost of Iron Polymaltose Complex with Ferrous Sulphate in the Treatment of Iron Deficiency Anemia in Pregnat Women. *Medscape General Medicine* 9[1]. 2007.
- (21) Naude S, Clijsen S, Naulaers G, y cols. A Study Comparing the Effect and Tolerance of a Fe²⁺ and a Nonionic Fe^{III} Compound. *Journal of Clinical Pharmacology* 40[12], 1447-1451. 2000.
- (22) Zunquin G, Rouleau V, Bouhllab S, Bureau F, Theunynck D, Rousselot P, et al. Iron and exercise induced alterations in antioxidant status. Protection by dietary milk proteins. *Free Radic Res* 40[5], 535-542. 2006.
- (23) Lykkesfeldt J, Morgan E, Christen S, Skovgaard LT, Moos T. Oxidative stress and damage in liver, but not in brain, of Fischer 344 rats subjected to dietary iron supplementation with lipid-soluble [(3,4,5-trimethylhexanoyl) ferrocene]¹. *J Biochem Mol Toxicol* 21[3], 145-155. 2007.
- (24) Castro del Pozo S. *Metabolismo del hierro normal y patológico*. 2ª ed. Barcelona: 1995.
- (25) Briat JF, Lobreaux S. Iron storage and ferritin in plants. In: Sigel A, Sigel H, editors. *Iron transport and storage in microorganismos, plants, and animals*. New York: Marcel Dekker; 1998. p. 563-79.
- (26) Briat JF. *Biotechnology Intelligence Unit Series*. In: Montagu M, Inzé D, editors. *Oxidative Stress in Plants*. Landes Company Bioscience Publishers; 1996.
- (27) Fernández H. *Elementos de grupo VIII. Química general e inorgánica*. Buenos Aires. Argentina.: 1978.
- (28) Boccio J, Salgueiro J, Lysionek A, Zubillaga M, Goldman C, Weill R, et al. *Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2003;53(2).

- (29) White K, Marletta M. Nitric oxide synthase is a cytochrome P-450 type hemeprotein. *Biochemistry* 1992;31:6627-31.
- (30) Mayer B, John M, Heinzl B, Werner E, Wachter H, Schultz G, et al. Brain nitric oxide synthase is a biopterin- and flavin-containing multi-functional oxido-reductase. *FEBS Lett* 1991;(288):187-91.
- (31) Stuehr D, Ikeda-Saito M. Spectral characterization of brain and macrophage nitric oxide synthases. Cytochrome P-450-like hemoproteins that contain a flavin semiquinone radical. *J Biol Chem* 1992;267:20547-50.
- (32) Andrews NC, Bridge KR. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: Nathan, Oski's, editors. *Hematology of infancy and childhood*. 5^a ed. Philadelphia: WB Saunders; 1998. p. 423-61.
- (33) Peñuela O. Hemoglobina, una molécula modelo para el investigador. *Colombia Médica* 2005;36:215-25.
- (34) Lehninger A, Nelson D, Cox M. *Principles of biochemistry*. New York. USA: 1995.
- (35) Estructura química del grupo hemo. [www med virginia edu 2006](http://www.med.virginia.edu/medicine/clinical/pathology/educ/innes/text/bheme.html) Available from:
URL:
<http://www.med.virginia.edu/medicine/clinical/pathology/educ/innes/text/bheme.html>
(Consultada 14/09/2008)
- (36) Pérez AB, Villapando S, Rivera JA, Griffin IJ, Abrams AS. Ferrous sulfate is more bioavailable among preschoolers than other forms of iron in a milk-based weaning food. *J Nutr* [135], 64-69. 2005.
- (37) Lynch S. Absorción de hierro: interacción con otros nutrientes. *Deficiencia de hierro*. *CESNI* 1997;49-65.
- (38) Snyder A, et al. Influence of dietary iron source on measures of iron status among female runners. *Medicine-and-science-in-sports-* 1989;(21):7-10.
- (39) Weight LM. Dietary iron deficiency and sports anaemia. *British Journal of Nutrition* 1992;(68):253-60.
- (40) Telford RD. Iron status and diet in athletes. *Medicine and Science in Sport and Exercise* 1993;(25):196-800.
- (41) American College of Sports Medicine. *Resource Manual for Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. Paidotribo; 2000.
- (42) Crichton R. *Inorganic biochemistry of iron metabolism: from molecular mechanisms to clinical consequences*. 2 ed. Jhon Wiley & Sons; 2001.
- (43) Siegenberg D, Baynes R, Bothwell T, Macfarlane B, Lamparelli R, Car N, et al. Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. *American Journal Clinic Nutrition* 1991;53:537-41.

- (44) Derman D, Bothwell T, MacPhail A, Torrance J, Bezwoda W, Charlton R, et al. Importance of ascorbic acid in the absorption of iron from infant foods. *Scand J Haematol* 1980;25:193-201.
- (45) Derman D, Bothwell T, Torrance J, Bezwoda W, MacPhail A, Kew M, et al. Iron absorption from maize (*Zea mays*) and Sorghum (*Sorghum vulgare*) beer. *Br J Nutr* 1980;43:271-9.
- (46) Ballot D, Baynes R, Bothwell T, Gillooly M, Macfarlane B, MacPhail A, et al. The effects of fruit juices and fruits on the absorption of iron from a rice meal. *Br J Nutr* 1987;57:331-43.
- (47) Lynch S. Interaction with other nutrients. *Nutr Rev* 1997;55:102-10.
- (48) Martinez Torres C, Romano E, Layrisse M. Effect of cysteine on iron absorption in man. *American Journal Clinic Nutrition* 1981;34:322-7.
- (49) Kane A, Miller D. In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability. *American Journal Clinic Nutrition* 1984;39:393-401.
- (50) Layrisse M, Martinez Torres C, Leets I, Taylor P, Ramirez J. Effect of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans. *J Nutr* 1984;114:217-23.
- (51) Lynch S, Dassenco S, Mork T, Beard J, Cook J. Soy protein products and heme iron absorption in humans. *American Journal Clinic Nutrition* 1985;41:13-20.
- (52) Taylor P, Martinez Torres C, Romano E, Layrisse M. The effect of cysteine-containing peptides related during meat digestion on iron absorption in humans. *American Journal Clinic Nutrition* 1986;43:68-71.
- (53) Hurrell R, Lynch S, Trinidad T, Dassenko S, Cook J. Iron absorption in humans: bovine serum albumin compared with beef muscle and egg white. *American Journal Clinic Nutrition* 1988;47:102-7.
- (54) Suharno D, West C, Muhila L, Karyadi D, Hautvast J. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet* 1993;342:1325-8.
- (55) García Casal M, Layrisse M, Solano L, Baron M, Arguello F, Llovera D, et al. Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. *J Nutr* 1998;128:646-50.
- (56) García Casal M, Leets I, Layrisse M. Beta-carotene and inhibitors of iron absorption modify iron uptake by Caco-2 cells. *J Nutr* 2000;130:5-9.
- (57) Juarez J, Bonizzoni E, Scotti A. Iron plus folate is more effective than iron alone in the treatment of iron deficiency anaemia in pregnancy: a randomised, double blind clinical trial. *An intern.J.of Obstetrics and gynaecology*. 9[109], 1009-1014. 2002.
- (58) Bezwoda W, Torrance J, Bothwell T, MacPhail A, Graham B, Mills W. Iron absorption from red and white wines. *Scand J Haematol* 1985;34:121-7.

- (59) Disler P, Lynch S, Charlton R, Torrance J, Bothwell T, Walker R, et al. The effect of tea on iron absorption. *Gut* 1975;16:193-200.
- (60) Cook J, Noble N, Mork T, Lynch S, Petersburgs S. Effect of fiber on nonheme iron absorption. *Gastroenterology* 1983;85:1354-8.
- (61) Gillooly M, Bothwell T, Charlton R, Torrance J, Bezwoda W, MacPhail A, et al. Factors affecting the absorption of iron from cereals. *Br J Nutr* 1984;51:37-46.
- (62) Reddy M, Hurrell R, Juillerat M, Cook J. The influence of different protein sources on phytate inhibition of nonheme-iron absorption in humans. *American Journal Clinic Nutrition* 1996;63:-203.
- (63) Sandberg A, Brune M, Carlson N, Hallberg L, Skoglund E, Rosander-Hulthen L. Inositol phosphates with different numbers of phosphate groups influence iron absorption in humans. *American Journal Clinic Nutrition* 1999;70:240-6.
- (64) Brune M, Rosander-Hulthen L, Hallberg L, Glerup A, Sandberg A. Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. *J Nutr* 1992;122:442-9.
- (65) Jackson LLK. The effect of dairy products on iron bioavailability. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992;31-259.
- (66) Derman D, Ballot D, Bothwell T, Macfarlane B, Baynes R, MacPhail A, et al. Factors influencing the absorption of iron from soy-bean protein products. *Br J Nutr* 1987;57:345-53.
- (67) Hurrell R, Furniss D, Burri J, Whittaker P, Lynch S, Cook J. Iron fortification of infant cereals: a proposal for the use of ferrous fumarate or ferrous succinate. *American Journal Clinic Nutrition* 1989;49:1274-82.
- (68) Hurrell R, Juillerat M, Reddy M, Lynch S, Dassenko S, Cook J. Soy protein, phytate, and iron absorption in humans. *American Journal Clinic Nutrition* 1992;56:573-8.
- (69) Lynch S, Dassenko S, Cook J, Juillerat M, Hurrell R. Inhibitory effect of a soybean-protein-related moiety on iron absorption in humans. *American Journal Clinic Nutrition* 1994;60:567-72.
- (70) Crofton R, et all. Inorganic zin and the intestinal absorption of ferrous iron. *Am.J.Clin.Nutr.* [5], 141-144. 1989.
- (71) Rosander-Hulthen L, Brune M, Sandstrom B, Lonnerdal B, Hallberg L. Competitive inhibition of iron absorption by manganese and zinc in humans. *American Journal Clinic Nutrition* 1991;54:152-6.
- (72) Hamilton D, Bellamy J, Valberg J, Valberg L. Zinc, cadmium, and iron interactions during intestinal absorption in iron-deficient mice. *Can J Physiol Pharmacol* 1978;56:334-89.
- (73) Valberg L, Flanagan P, Chamberlain M. Effects of iron, tin, copper on zinc absorption in humans. *American Journal Clinic Nutrition* 1984;40:536-41.

- (74) Yip R, Reeves J, Lonnerdal B, Keen C, Dalman P. Does iron supplementation compromise zinc nutrition in healthy infants? *American Journal Clinic Nutrition* 1985;42:683-7.
- (75) Yadrick M, Kenny M, Winterfieldt E. Iron, copper, and zinc status: response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females. *American Journal Clinic Nutrition* 1989;49:145-50.
- (76) Davisson L, Almgren A, Sandstrom B, Hurrell R. Zinc absorption in adult humans: the fortification effect of iron. *Br J Nutr* 1995;74:417-25.
- (77) Cook J, Dassenko S, Whittaker P. Calcium supplementation: effect on iron absorption. *American Journal Clinic Nutrition* 1991;53:106-11.
- (78) Minotti P, Buchonski S, Miller D. Effects of calcium supplementation, calcium source and lactose on iron absorption in the rat. *Nutr Rev* 1993;13:1173-81.
- (79) Rosander-Hulthen L, Hallberg L, Brune M, Gleerup A. Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. *Eur J Clin Nutr* 1992;46:317-27.
- (80) Gleerup A, Rosander-Hulthen L, Hallberg L. Duration of the inhibitory effect of calcium on non-haem iron absorption in man. *Eur J Clin Nutr* 1993;47:875-9.
- (81) Reddy M, Cook J. Effect of calcium intake on nonheme-iron absorption from a complete diet. *Eur J Clin Nutr* 1997;65:1820-5.
- (82) Hallberg L. Does calcium interfere with iron absorption? *American Journal Clinic Nutrition* 1998;68:3-4.
- (83) Grassman E, Kirchgessner M. On the metabolic availability of absorbed copper and iron. Trace elements metabolism in man and animals. Canberra City: Australia Academy of Science; 1981. p. 593-8.
- (84) Sweetman SC. Martindale The complete drug reference. 34 ed. London: Pharmaceutical Press.; 2005.
- (85) Todd McDiarmid MD, E. Diane Johnson M. Are any oral iron formulations better than ferrous sulfate? *The journal of family practice* 2002;51(6).
- (86) Martindale. The complete drug reference. 32 ed. USA: The Pharmaceutical Press; 1999.
- (87) Rao C, Et al. Transition metal saccharide chemistry and biology; syntheses, characterization, solution stability and putative bio-relevant studies of iron saccharide complexes. *Inorganica Chimica Acta* [297], 373-382. 2000.
- (88) Novell-Benjamin AC, FE Viteri & LH Allen. Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trisglycinate in whole maize is regulated by iron status. *American Journal Clinic Nutrition* [71], 1138-1141. 2000.

- (89) Harmon B, Abrahamson A, Rezvanil B, Brushmiller G. Photochemical and spectroscopic studies of complexes of iron (III) with citric acid and other carboxylic acids. *Inorganica Chimica Acta* 226[1-2], 117-127. 1994.
- (90) <http://www.chemguide.co.uk/inorganic/complexions/shapes.html>. 2005. Consultada 10-5-2005.
- (91) Garneata L. Intravenous, iron inflammation, and oxidative stress: Is iron a friend or an enemy of Uremic Patients? *Journal of renal nutrition* 18[1], 40-45. 2008.
- (92) Pérez LJ, Tobón G. Iron compounds for oral supplementation: principles and advances-systematic review-. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 13[1], 85-95. 2006.
- (93) Dietzfelbinger H, et al. Investigations of iron absorption by postabsorption serum iron concentration curves. *Arzneimittelforschung Drug Res* 1987;37:107-12.
- (94) Dietzfelbinger H. Bioavailability of bi- and trivalent oral iron preparations. Investigations of iron absorption by postabsorption serum iron concentrations curves. *Arzneimittelforschung* 37[1a], 107-112. 1987.
- (95) Skikne B, Lynch S, Cook J. Role of gastric acid in food iron absorption. *Gastroenterology* 1981;81:1068-71.
- (96) Carpenter C, Mahoney A. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992;31:333-67.
- (97) Hernández M. Anemia ferropénica. *Medicine* 1993;10:545-54.
- (98) Conrad M, Umbreit J, Moore J. Iron absorption and transport. *Am J Med Sci* 1999;318:213-29.
- (99) Raja K, Simpson R, Peters T. Comparison of $^{59}\text{Fe}^{3+}$ uptake in vitro and in vivo by mouse duodenum. *Biochem Biophys Acta* 1987;901:52-60.
- (100) Conrad M, Umbreit J, Moore J. A role of mucin in the absorption of inorganic iron and other metal cations. A study in rats. *Gastroenterology* 1991;100:129-36.
- (101) Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Takizawa T, Adachi T, Kimura S. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1994;41:281-91.
- (102) Hofman A. Regulation of metal absorption in the gastrointestinal tract. *Gut* 1996;39:625-8.
- (103) Stremmenl W, Lotz G, Niederau C, Teschke R, Strohmeyer G. Iron uptake by rat duodenal microvillous membrane vesicles: evidence for a carrier mediated transport system. *Eur J Clin Invest* 1987;17:136-45.
- (104) Teichmann R, Stremmenl W. Iron uptake by human upper small intestine microvillous membrane vesicles. Indication for a facilitated transport mechanism mediated by a membrane iron-binding protein. *J Clin Invest* 1990;86:2145-53.

- (105) Conrad M, Umbreit J, Peterson R, Moore J, Harper K. Function of integrin in duodenal mucosal uptake of iron. *Blood* 1993;81:517-21.
- (106) Ikeda Y, Orimo H, Hisayasu S, Yoshino Y. Characteristics of iron binding to solubilize brush border membrane of the rat intestine. *J Nutr Sci Vitaminol* 1995;41:419-32.
- (107) Raffin S, Woo C, Roost K, Price D, Schmid R. Intestinal absorption of hemoglobin hemo iron cleavage by mucosal hemo oxygenase. *J Clin Invest* 1974;54:1344-52.
- (108) Uzel C, Conrad M. Absorption of heme iron. *Sem Hematol* 1998;35:27-34.
- (109) Conrad M, Umbreit J, Moore J. Rat duodenal iron-binding protein mobilferrin is a homologue of calreticulin. *Gastroenterology* 1993;104:1700-4.
- (110) Conrad M, Umbreit J, Moore J. Regulation of iron absorption: proteins involved in duodenal mucosal uptake and transport. *J Am Coll Nutr* 1993;12:720-8.
- (111) Whittaker P, Skikne B, Covell A, Flowers C, Cooke A, Lynch S, et al. Duodenal iron proteins in idiopathic hemochromatosis. *J Clin Invest* 1989;83:261-7.
- (112) Pietrangelo A, Rocchi E, Casalgrandi G, Rigo G, Ferrari A, Pirini M, et al. Regulation of transferrin, transferrin receptor, and ferritin genes in human duodenum. *Gastroenterology* 1992;(102):802-9.
- (113) Pietrangelo A, Casalgrandi G, Quaglino D, Gualdi R, Conte D, Milani S, et al. Duodenal ferritin synthesis in genetic hemochromatosis. *Gastroenterology* 1995;(108):208-17.
- (114) Bakker G, Boyer R. Iron incorporation into apoferritin. The role of apoferritin as a ferroxidase. *J Biol Chem* 1986;(28):13182-5.
- (115) Wollenberg P, Mahlberg R, Rummel W. The valency state of absorbed iron appearing in the portal blood and ceruloplasmin substitution. *Biol Met* 1990;(3):1-7.
- (116) Mukhopadhyay C, Attieh Z, Fox P. Role of ceruloplasmin in cellular iron uptake. *Science* 1996;(279):714-7.
- (117) Urbanowski J, Piper R. The iron transporter Fth1p forms a complex with the Fet5 iron oxidase and resides on the vacuolar membrane. *J Biol Chem* 1999;(274):38061-70.
- (118) Wessling-Resnick M. Biochemistry of iron uptake. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1999;(34):285-314.
- (119) Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. *Nature Reviews Genetics* 2000;1:208-17.
- (120) Iacopetta B, Morgan E, Yeoh G. Transferrin receptors and iron uptake during erythroid cell development. *Biochim Biophys Acta* 1982;(687):204-10.
- (121) Iacopetta B, Morgan E. The kinetics of transferrin endocytosis and iron uptake from transferrin in rabbit reticulocytes. *J Biol Chem* 1983;(258):9108-15.

- (122) Young S, Bomford A, William R. The effect of the iron saturation of transferrin on its binding and uptake by rabbit reticulocytes. *Biochem J* 1984;(219):505-10.
- (123) Callus B, Iacopetta B, Kuhn L, Morgan E. Effects of overexpression of the transferrin receptor on the rates of transferrin recycling and uptake of non-transferrin-bound iron. *Eur J Biochem* 1996;(238):463-9.
- (124) Iacopetta B, Morgan E. Transferrin endocytosis and iron uptake during erythroid cell development. *Biomed Biochim Acta* 1983;(42):182-6.
- (125) Paterson S, Armstrong N, Iacopetta B, McArdle H, Morgan E. Intravesicular pH and iron uptake by immature erythroid cells. *J Cell Physiol* 1984;(120):225-32.
- (126) Rothenberger S, Iacopetta B, Kuhn L. Endocytosis of the transferrin receptor requires the cytoplasmic domain but not its phosphorylation site. *Cell* 1987;(49):423-31.
- (127) Iacopetta B, Rothenberger S, Kuhn L. A role for the cytoplasmic domain in transferrin receptor sorting and coated pit formation during endocytosis. *Cell* 1988;(54):485-9.
- (128) Núñez M, Gaete V, Watkins J, Glass J. Mobilization of iron from endocytic vesicles. The effects of acidification and reduction. *J Biol Chem* 1990;(265):6688-92.
- (129) Bali P, Zak O, Aisen P. A new role for the transferrin receptor in the release of iron from transferrin. *Biochemistry* 1991;(30):324-8.
- (130) Gaete V, Núñez M, Glass J. Cl⁻, Na⁺, and H⁺ fluxes during the acidification of rabbit reticulocyte endocytic vesicles. *J Bioenerg Biomembr* 1991;(23):147-60.
- (131) Watkins J, Núñez M, Gaete V, Alvarez O, Glass J. Kinetics of iron passage through sub cellular compartments of rabbit reticulocytes. *J Membr Biol* 1991;(119):141-9.
- (132) Bali P, Aisen P. Receptor-induced switch in site-site cooperativity during iron release by transferrin. *Biochemistry* 1992;(31):3963-7.
- (133) Escobar A, Gaete V, Nuñez M. Effect of ascorbate in the reduction of transferrin-associated iron in endocytic vesicles. *J Bioenerg Biomembr* 1992;(24):227-33.
- (134) Egan T, Zak O, Aisen P. The anion requirement for iron release from transferrin is preserved in the receptor-transferrin complex. *Biochemistry* 1993;(32):8162-7.
- (135) Scheiber B, Goldenberg H. NAD(P)H: ferric iron reductase in endosomal membranes from rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1993;(305):225-30.
- (136) Marques H, Walton T, Egan T. Release of iron from C-terminal monoferric transferrin to phosphate and pyrophosphate at pH 5.5 proceeds through two pathways. *J Inorg Biochem* 1995;(57):11-21.
- (137) Schonborn J, Akompong T, Wessling-Resnick M. Mechanism of transferrin receptor down-regulation in K562 cells in response to protein kinase C activation. *Biochem* 1995;(270):3698-70.

- (138) Young S, Roberts S, Bomford A. Intracellular processing of transferrin and iron by isolated rat hepatocytes. *Biochem* 1985;(232):819-23.
- (139) Mattia E, Jossic D, Ashwell G, Klausner R, van Renswoude. Regulation of intracellular iron distribution in K562 human erythroleukemia. *J Biol Chem* 1986;(261):4587-93.
- (140) Richardson D, Baker E. Intermediate steps in cellular iron uptake from transferrin. Detection of a cytoplasmic pool of iron, free of transferrin. *J Biol Chem* 1992;(267):21384-9.
- (141) Li C, Watkins J, Hamazaki S, Altazan J, Glass J. Iron binding, a new function for the reticulocyte endosome H(+)-ATPase. *Biochemistry* 1995;(34):5130-6.
- (142) Absorción del hierro en forma de transferrina por parte de los eritroblastos. www.med.virginia.edu/medicine/clinical/pathology/educ/nnes/text/bheme.html) 2000
- (143) Roy CN, Andrews NC. Anemia of inflammation: The hepcidin link. *Curr Opin Hematol* [12], 107-111. 2005.
- (144) Charlton R, Bothwell T. Iron absorption. *Ann Rev Med* 1993;(34):55-68.
- (145) Reddy M, Hurrell R, Cook J. Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition. *Am J Clin Nutr* 2000;(71):937-43.
- (146) Bothwell T, Baynes R, Macfarlane B, MacPhail A. Nutritional iron requirements and food iron absorption. *J Intern Med* 1989;(226):357-65.
- (147) Schumann K, Elsenhans B, Ehtechami C, Forth W.. Rat intestinal iron transfer capacity and the longitudinal distribution of its adaptation to iron deficiency. *Digestion* 1990;(46):35-45.
- (148) Bezwoda W, Bothwell T, Torrance J, MacPhail A, Charlton R, Kay G, et al. The relationship between marrow iron stores, plasma ferritin concentrations and iron absorption. *Scand J Haematol* 1979;(22):113-20.
- (149) Cook J. Adaption in iron metabolism. *Am J Clin Nutr* 1990;(51):301-8.
- (150) Hulten L, Gramatkovski E, Glerup A, Hallberg L. Iron absorption from the whole diet. Relation to meal composition, iron requirements and iron stores. *Eur J Clin Nutr* 1995;(49):794-808.
- (151) Hallberg L, Rosander-Hulthen L, Brune M, Glerup A. Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *Br J Nutr* 1993;(69):533-40.
- (152) Forrellat M, Fernandez N, Hernandez P. Nuevos conocimientos sobre el metabolismo del hierro. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Medicina Transfusional* 21[3]. 2005.
- (153) Beaumont C. Molecular mechanisms of iron homeostasis. *Med Sci* [20], 68-72. 2004. Ref Type: Journal (Full)

- (154) Cazzola M. Novel genes, proteins and inherited disorders of iron overload: iron metabolism is less boring than thought. *Haematologica* [87], 115-116. 2002.
- (155) Eisenstein RS, Blemings KP. Iron regulatory proteins, iron responsive elements and iron homeostasis. *J.Nutr.* [128], 2295-2298. 1998.
- (156) Hentze MW, Kuhn LC. Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide and oxidative stress. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* [93], 8175-8182. 1996.
- (157) Roy CN, Andrews NC. Recent advances in disorders of iron metabolism: mutations, mechanisms and modifiers. *Hum.Mol.Genet.* [10], 2181-2186. 2001.
- (158) Williams M. Minerals. In: McGraw-Hill, editor. *Nutrition for health, fitness & sport*. 5ª ed. United States: 2002. p. 241-73.
- (159) Margen S, King J. Effect of oral contraceptive agents on the metabolism of some trace minerals. *Am J Clin Nutr* 1975;(28):392-402.
- (160) Guillebaud J, Barnett M, Gordon Y. Plasma ferritin levels as an index of iron deficiency in women using intrauterine devices. *Br J Obstet Gynaecol* 1979;(86):51-5.
- (161) Frasinelli-Gunderson E, Margen S, Brown J. Iron stores in users of oral contraceptive agents. *Am J Clin Nutr* 1985;(41):703-12.
- (162) Kivijarvi A, Timonen H, Rajamaki A, Gronroos M. Iron deficiency in women using modern copper intrauterine devices. *Obstet Gynecol* 1986;(67):95-8.
- (163) Sayers M, English G, Finch C. Capacity of the store-regulator in maintaining iron balance. *Am J Hematol* 1994;(47):194-7.
- (164) Waller.M., e, Haymes EM. The effects of heat and exercise on sweat iron loss. *Medicine and science in sports and exercise* 1996;(28):197-203.
- (165) Weaver C, Rajaram S. Exercise and iron status. *Journal of Nutrition* 1992;(122):782-7.
- (166) Institute of Medicine FaNB. *Dietary References Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*. Washington, DC: National Academy Press; 2001.
- (167) Institute of Medicine. *Dietary referente intakes for vitamina A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganeso, molybdenum, níkel, silicon, vanadium, and zinc*. Washington: 2002.
- (168) National Academy of Sciences. *Tabla de alimentos y nutrición*. 1994. United States, National Academy of Sciences- National Research Council.
- (169) Microsoft ENCARTA 2006 [computer program]. Microsoft Corporation; 2006.
- (170) Davies K, Maguire J, Brooks G, Dallman P, Packer L. Muscle mitochondrial bioenergetics, oxygen supply, and work capacity during dietary iron deficiency and repletion. *Am J Physiol* 1982;(242):418-27.

- (171) Johnson J, Willis W, Dallman P, Brooks G. Muscle mitochondrial ultrastructure in exercise-trained iron-deficient rats. *J Appl Physiol* 1990;(68):113-8.
- (172) Beri R, Chandra R. Chemistry and biology of heme. Effect of metal salts, organometals, and metalloporphyrins on heme synthesis and catabolism, with special reference to clinical implications and interactions with cytochrome P-450. *Drug Metab Rev* 1993;(25):49-152.
- (173) Coon M, Vaz A, McGinnity D, Peng H. Multiple activated oxygen species in P450 catalysis: contributions to specificity in drug metabolism. *Drug Metab Dispos* 1998;(26):1190-3.
- (174) Siddhanta U, Wu C, Abu-Soud H, Zhang J, Ghosh D, SD. Heme iron reduction and catalysis by a nitric oxide synthase heterodimer containing one reductase and two oxygenase domains. *J Biol Chem* 1996;(271):7309-12.
- (175) Cooper.C. Nitric oxide and iron proteins. *Biochim Biophys Acta* 1999;(1411):290-309.
- (176) Lall S, Singh B, Gulati K, Seth S. Role of nutrition in toxic injury. *Indian J Exp Biol* 1999;(37):109-16.
- (177) Zahringer J, Balliga B, Munro H. Novel mechanism for translational control in ferritin synthesis by iron. *Proc Natl Acad Sci* 1976;(73):857-61.
- (178) Aziz N, Munro H. Both subunits of rat liver ferritin are regulated at a translational level by iron induction. *Nucleic Acids Res* 1986;(14):915-27.
- (179) Worwood M. Ferritin. *Blood Rev* 1990;(4):259-69.
- (180) Andrews NC, Arosio P, Botteke V, Briat J, Von Dari M, Harrison P, et al. Structure, function, and evolution of ferritins. *J Inorg Biochem* 1992;(47):161-74.
- (181) Harrison P, Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochem Biophys Acta* 1996;(1275):161-203.
- (182) Thomson A, Roger J, Leedman P. *Iron-regulatory proteins, iron-responsive elements and ferritin mRNA translation*. *Int J Biochem Cell Biol* 1999;(31):1139-52.
- (183) Treffry A, Harrison P, Cleton M, de Bruijn W, Mann S. A note on the composition and properties of ferritin iron cores. *J Inorg Biochem* 1987;(31):1-6.
- (184) De Silva D, Guo J, Aust J. Relationship between iron and phosphate in mammalian ferritins. *Arch Biochem Biophys* 1993;(303):451-5.
- (185) Chasteen N, Harrison P. Mineralization in ferritin: an efficient means of iron storage. *J Struct Biol* 1999;(126):182-94.
- (186) Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. *Nature Reviews Genetics* 2000;1:208-17.
- (187) Roy CN. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood* [93], 4020-4027. 2000.

- (188) Finch C, Deubelbliss K, Cook J, Eschbach J, Harker L, Funk D, et al. Ferrokinetics in man. *Medicine* 1970;(49):17-43.
- (189) Fleming RE, Bacon BR. Orchestration of iron homeostasis. *N.Engl J.Med* [352], 1741-1744. 2005.
- (190) Finch C, Huebers H. Iron metabolism. *Clin Physiol Biochem* 1986;(4):5-10.
- (191) Huebers H, Finch C. Transferrin: Physiologic behavior and clinical implications. *Blood* 1984;(64):763-7.
- (192) Cazzola M, Huebers H, Sayers M, MacPhail A, Eng M, Finch C. Transferrin saturation, plasma iron turnover, and transferrin uptake in normal humans. *Blood* 1985;(66):935-9.
- (193) National Research Council. Diet and Health. Implications for Reducing Chronic Disease Risk. National Academy Press; 2007.
- (194) Jimenez R, Martos EDM. Metabolismo del hierro. *An Pediatr Contin* 3[6], 352-356. 2005.
- (195) Absorción del hierro en forma de transferrina por parte de los eritroblastos. www.med.virginia.edu/medicine/clinical/pathology/educ/nnes/text/bheme.html 2000. Consultada 17/05/2006)
- (196) Brain nitric oxide synthase is a biopterin- and flavin-containing multi-functional oxido-reductase. *FEBS Lett* 1991;288:187-91.
- (197) Andrews NC, Brady M, Treffry A, Williams J, Mann S, Cleton M, et al. Studies on haemosiderin and ferritin from iron-loaded rat liver. *Biol Met* 1988;(1):32-42.
- (198) Baker E, Lindley P. New perspectives on the structure and function of transferrins. *J Inorg Biochem* 1992;(47):147-60.
- (199) Bomford A, Munro H. Transferrin and its receptor: their roles in cell function. *Hepatology* 1985;(5):870-5.
- (200) Fogelholm M, Jaakkola L, Lamppisjaervi T. Effects of iron supplementation in female athletes with low serum ferritin concentration. *International-journal-of-sports-medicine-* 1992;13(2):158-62.
- (201) Friedmann B, Weller E, Mairbaurl H, Bartsch P. Effects of iron repletion on blood volume and performance capacity in young athletes. *Medicine and science in sports and exercise* 2001;33(5):741-6.
- (202) Hinton PS, et al. Iron supplementation improves endurance after training in iron-depleted, nonanemic women. *J appl Physiol* 2000;88(3):1103-11.
- (203) Kelly W, et al. Hematologic disorders in the athlete. Elsevier Saunders . 2005. 6-3-2005.

- (204) McKnight G, Lee D, Hemmaplarh D, Finch C, Palmiter R. Transferrin gene expression. Effects of nutritional iron deficiency. *J Biol Chem* 1980;(255):144-7.
- (205) Morgan E. The role of plasma transferrin in iron absorption in the rat. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 1980;(65):239-52.
- (206) Newhouse IJ. Iron status in athletes: an update. *Sports Medicine* 1988;5:337-52.
- (207) Schmidt W, et al. Changes in plasma volume and red cell formation after a marathon competition. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1989;58:453-8.
- (208) Siimes M, Addiego JE, Dallman PR. Ferritin in serum: diagnosis of iron deficiency and iron overload in infants and children. *Blood* [43], 581-590. 1974.
- (209) Lipschitz DA, Cook J, Finch CA. A clinical evaluation index of iron stores. *N Engl J Med* [290], 1213-1216. 1974.
- (210) Lampe JW, Slavin JL, Apple FS. Poor iron status of women runners training for a marathon. *International-journal-of-sports-medicine-* 1986;7:111-4.
- (211) Yorck OS, et al. Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performance. *Medicine and science in sports and exercise* 2002;34(5):869-75.
- (212) Newhouse I, Et al. Iron status in athletes: an update. *Sports Medicine* 1988;(5):337-52.
- (213) Treffry A, Harrison P. Non-random distribution of iron entering rat liver ferritin in vivo. *Biochem J* 1984;(220):857-9.
- (214) De Silva D, Aust S. Stoichiometry of Fe(II) oxidation during ceruloplasmin-catalyzed loading of ferritin. *Arch Biochem Biophys* 1992;(298):259-64.
- (215) Levi S, Yewdall S, Harrison P, Santambrogio P, Cozzi A, Rovida E, et al. Evidence of H- and L-chains have co-operative roles in the iron uptake mechanism of human ferritin. *Biochem* 1992;(288):591-6.
- (216) Bauminger E, Harrison P, Hechel D, Hodson N, Nowik I, Treffry A, et al. Iron (II) oxidation and early intermediates on iron-core formation in recombinant human H-chain ferritin. *Biochem J* 1993;(296):709-19.
- (217) Harrison P, Treffry A, Lilley T. Ferritin as an iron-storage protein: mechanisms of iron uptake. *J Inorg Biochem* 1986;(27):287-93.
- (218) Santambrogio P, Levi S, Cozzi A, Corsi B, Arosio P. Evidence that the specificity of iron incorporation into homopolymers of human ferritin L- and H-chains is conferred by the nucleation and ferroxidase centres. *Biochem J* 1996;(314):139-44.
- (219) O'Connell M, Peters T. Ferritin and haemosiderin in free radicals generations, lipid peroxidations and protein damage. *Chem Phys Lipids* 1987;(45):241-9.
- (220) Brock J. Iron-binding proteins. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1989;(361):31-43.

- (221) Weir M, Gibson J, Peters T. Biochemical studies on the isolation and characterization of human spleen haemosiderin. *Biochem J* 1984;(223):31-8.
- (222) Weir M, Sharp G, Peters T. Electron microscopic studies of human haemosiderin and ferritin. *J Clin Pathol* 1985;(38):915-8.
- (223) Stoltzofus R, Dreyfus M. Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anaemia. *Internacional Nutritional Anaemia Consultative Group*, editor. 1998. Washington, *ILSI press*.
- (224) Cook J, Skikne B, Baynes R. Serum transferrin receptor. *Annu Rev Med* [44], 63-74. 1993.
- (225) Male C, Persson L, Freeman V, Guerra A, Vant Hof MA, Haschke F. *Europ-Growth Iron Study Group*. Prevalence of iron deficiency in 12 month-old-infant from 11 European areas and influence of dietary factor on iron status. *Acta Paediatr* [90], 492-498. 2001.
- (226) Cook J. The measurement of serum transferrin receptor. *Am J Med Sci* [318], 269-276. 1999.
- (227) Ponka P. Cell biology of heme. *Am J Med Sci* 1999;(318):241-56.
- (228) Casoni IC, et al. Reduced hemoglobin concentration and red cell hemoglobinization in Italian marathon and ultramarathon runners. *Int J Sport Med* 1985;6:176-9.
- (229) Spodaryk K, et al. Haematological and iron-related parameters of male endurance and strength trained athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1993;67:66-70.
- (230) Weight LM, et al. Sports anemia: a real or apparent phenomenon in endurance trained athletes? *International-journal-of-sports-medicine-* 1992;13:344-7.
- (231) Gibson R. Principles of nutritional assessment. New York: *Oxford University Press*; 1990.
- (232) Henry J. Hematology and coagulation. In: Todd-Sanford-Davidsohn, editor. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 17 ed. *Philadelphia: Saunders & Co*; 1988.
- (233) Viru A, Viru M. Biochemical monitoring of sport training. Estados Unidos: *Human kinetics*; 2001.
- (234) Bomford A, Young S, Williams R. Release of iron from the two iron-binding sites of transferrin by cultured human cells: modulation by methylamine. *Biochemistry* 1985;(24):3472-8.
- (235) De Jong G, Van Dijk J, Van Eijk H. The biology of transferrin. *Clin Chim Acta* 1990;(190):1-46.
- (236) Van Dijk J, De Jong G. The physiology of iron, transferrin, and ferritin. *Biol Trace Elem Res* 1992;(35):13-24.

- (237) Idzerda R, Huebers H, Finch C, McKnight G. Rat transferrin gene expression: tissue-specific regulation by iron deficiency. *Proc Natl Acad Sci* 1986;(83):3723-7.
- (238) Zakin M. Regulation of transferrin gene expression. *FASEB* 1992;(6):3253-8.
- (239) Oski FA. Iron deficiency in infancy and Childhood. *N Engl J Med* [329], 190-193. 1993.
- (240) Mura C, LeGac, Raguenes MA, LeGuen O, Ferec A, Ferec C. Relation between HFE mutations and mild iron-overload expression. *Mol Genet Metab* [69], 295-391. 2000.
- (241) Adams PC. Hemochromatosis. *Clin Liver Dis* [8], 735-753. 2004.
- (242) Powell LW, Yapp T. Hemochromatosis. *Clin Liver Dis* [4], 211-218. 2000.
- (243) Ferguson B, Skikne B, Simpson K, Baynes R, Cook J. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med* 1992;(119):385-90.
- (244) Kuvibidila S, Yu L, Ode D, Warriar R, Mbele V. Assessment of iron status of Zairean women of childbearing age by serum transferrin receptor. *Am J Clin Nutr* 1994;(60):603-9.
- (245) Rusia U, Flowers C, Madan N, Agarwal N, Sood S, Sikka M. Serum transferrin receptors in detection of iron deficiency in pregnancy. *Ann Hematol* 1999;(78):358-63.
- (246) Magnusson BL, et al. Iron metabolism and "sports anemia". A study of several iron parameters in elite runners with differences in iron status. *Acta Med Scand* 1984;216:157-64.
- (247) Dufaux BA, et al. Serum ferritin, transferrin, haptoglobin, and iron in middle and long distance runners, elite rowers, and professional racing cyclists. *Int J Sport Med* 1981;2:43-6.
- (248) Eichner ER. Runner's macrocytosis: a clue to footstrike hemolysis: runner's anemia as a benefit versus runner's hemolysis as a detriment. *American-journal-of-medicine* 1985;78:321-5.
- (249) Green GA. Pérdida de sangre oculta en relación al ejercicio. *Clínicas de Medicina Deportiva* . 1992.
- (250) Terrados N, Mora R, Padilla S. La recuperación de la fatiga del deportista. *Gymnos ed. Madrid*: 2004.
- (251) Johnson J, Willis W, Dallman P, Brooks G. Muscle mitochondrial ultrastructure in exercise-trained iron-deficient rats. *J Appl Physiol* 1990;(68):113-8.
- (252) Andrews NC. Medical progress: disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* [341], 1986-1995. 1999.

- (253) Walter PB, Fung EB, Killilea DW, Jiang Q, Hudes M, Madden J, et al. Oxidative stress and inflammation in iron -overload patients with beta-thalasaemia or sickle cell disease. *Br J Haematol* [135], 254-263. 2006.
- (254) Scrimshaw N. Iron deficiency. *Scientific American* 1991;(265):46-52.
- (255) Looker AC, et al. Prevalence of iron deficiency in the United States. *Journal-of-American-Medical-Association* 1997;277(12):973-6.
- (256) Benny K, Soewarta K, De Pee S. Iron deficiency in Indonesia: Current situation and intervention. *Nutrition Research* 18[12], 1953-1963. 1998.
- (257) Eichholzer M. Micronutrient deficiencies in Switzerland: causes and consequences. *J.of Food Engineering* [56], 171-179. 2003.
- (258) Yoshimura H. Anemia during physical training (sports anemia). *Nutrition Rev* 1970;28(10):251-3.
- (259) Balaban EP, Cox JV, Snell P, Vaughan RH, Frenkel EP. The frequency of anemia and iron deficiency in the runner. 1989.
- (260) Resina A, Gatteschi L, Giamberardino MA, Imrch F, Rubenni HG, Vecchiet L. Hematological comparison of iron status in trained top-level soccer players and control subjects. *International-journal-of-sports-medicine-* 1991;12(5):453-6.
- (261) Costill DL, et a. Plasma volume changes following exercise and thermal dehydration. *J appl Physiol* 1974;37(4):521-5.
- (262) Balaban EP. Sports anemia. *Clin Sport Medicine* 1992;11(2):313-25.
- (263) Selby GB. When does an athlete need iron? 1991.
- (264) Selby GB. Hematocrit and performance: the effect of endurance training on blood volume. *Semin Hematol* 1994;31(2):122-7.
- (265) Convertino VA, et al. Exercise training-induced hypervolemia: role of plasma albumin, renin, and vasopressin. *Journal of applied physiology* 1980;4(48):665-9.
- (266) Dressendorfer RH, et al. Development of pseudoanemia in marathon runners during a 20 day road race. *Journal-of-American-Medical-Association* 1981;246(11):1215-8.
- (267) Eichner ER. Sports anemia, iron supplements, and blood doping. 1992.
- (268) Wilkerson JE, et al. Exercise induced changes in blood, red cell, and plasma volumes in man. *Medicine-and-science-in-sports-* 1977;9:155-8.
- (269) Nachigall D. Iron deficiency in distance runners. A reinvestigation using Fe-labelling and non-invasive liver iron quantification. *International-journal-of-sports-medicine-* 1996;17(7):473-9.

- (270) Salinas-Piélago JE, Vega-Dienstmaier JM, Rojas-Oblitas M. Efecto de las galletas fortificadas con hierro heme sobre el estado intelectual en preescolares. *Rev Neurol* [27], 400-404. 1998.
- (271) Herbert V. The 1986 Herman Award Lecture. Nutrition science as a continually unfolding story: the folate and vitamin B12 paradigm. *Am J Clin Nutr* 1987;(46):387-402.
- (272) Guyatt GH, et al. Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia: an overview. *Journal Gen Intern Med* 1992;7(2):145-53.
- (273) Cook JD, et al. Clinical evaluation of iron deficiency. *Semin Hematol* 1982;19(1):6-18.
- (274) Pate RR. Sports anemia: a review of the current research literature. *Physician-and-sportsmedicine* 1983;11:115-27.
- (275) Guglielmini C, Casoni I, Patracchini M, Manfredini F, Grazi G, Ferrari M, et al. Reduction of Hb levels during the racing season in nonsideropenic professional cyclists. *Int J Sport Med* 1989;10:352-6.
- (276) Selby GB. Endurance swimming, intravascular hemolysis, anemia and iron depletion: new perspective on athlete's anemia. *Am J Med* 1986;81:791-4.
- (277) Abarbanel J, et al. Sports hematuria. *J Urol* 1990;143:887-90.
- (278) Telford RD. Footstrike is the major cause of hemolysis during running. *J appl Physiol* 2003;94(1):38-42.
- (279) Iannotti L, Tielsch M, Black M, Black R. Iron supplementation in early childhood: health benefits and risks. *Am J Clin Nutr* [84], 1261-1276. 2006.
- (280) Center for Disease Control and Prevention. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. *Morb Mortal Wkly Rep* [47], 1-29. 1998.
- (281) Caspersen CJ, Kriska AM, Dearwater SR. Physical activity epidemiology as applied to elderly populations. *Bailliere'S Clinical Rheumatology* 1994;1(8):7-27.
- (282) Blair S, et al. Physical activity, nutrition, and chronic disease. *Medicine-and-science-in-sports-* 1996;(28):335-49.
- (283) Fentem P. Exercise in prevention of disease. *British Medical Bulletin* 1992;(48):638-50.
- (284) Pate R, et al. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and American College of Sports Medicine. *Journal-of-American-Medical-Association* 1995;(273):402-6.
- (285) Gabel L, et al. Dietary prevention and treatment of disease. *American Family Physician* 1992;5 Suppl(46):41S-8S.

- (286) Corley G. Nutrition knowledge and dietary practices of college coaches. *Journal of the American Dietetic Association* 1990;(90):705-9.
- (287) Graves K, et al. Nutrition training, attitudes, knowledge, recommendations, responsibility and resource utilization of high school coaches and trainers. *Journal of the American Dietetic Association* 1991;(91):321-4.
- (288) Short S. *Nutrition in exercise and sport*. Florida: 1994.
- (289) Thomas P. Food for thought about dietary supplements. *Nutrition Today* 1996;(31):46-54.
- (290) Edgerton V. Iron deficiency anemia and physical performance and physical activity of the rat. *Journal of Nutrition* 1972;102:381-400.
- (291) Hass JD, et al. Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. *J Nutr* 2001;131(2s-s):676s-88s.
- (292) Davies Keal. Distinguishing effects of anemia and muscle iron deficiency on exercise bioenergetics in the rat. *American journal of physiology* 1984;246:E535-E543.
- (293) Finch CA. Lactic acidosis as a result of iron deficiency. *Journal of Clinical Investigation* 1979;64:129-37.
- (294) Tobin B, et al. Exercise training alters feed efficiency and body composition in iron deficient rats. *Medicine-and-science-in-sports-and-exercise-* 1993;25(1):52-9.
- (295) Ohira Y. Work capacity, heart rate and blood lactate responses to iron treatment. *Br J Haematol* 1979;41(3):365-72.
- (296) Magazanik A, Weinstein Y, Abarbanel J, Lewinski U, Shapiro Y, Inbar O, et al. Effect of an iron supplement on body iron status and aerobic capacity of young training women. 1991.
- (297) Hudgins PM. Effects of iron supplementation on hematologic profile and performance in female endurance athletes. *FASEB Journal* 1990;(4):A1197.
- (298) Brownlie T, et al. Marginal iron deficiency without anemia impairs aerobic adaptation among previously untrained women. *Am J Clin Nutr* 2002;75(4):734-42.
- (299) Brownlie T, et al. Tissue iron deficiency without anemia impairs adaptation in endurance capacity after aerobic training in previously untrained women. *Am J Clin Nutr* 2004;79(3):437-43.
- (300) Rowland TW, et al. The effect of iron therapy on the exercise capacity of nonanemic iron-deficient adolescent runners. *Am J Dis Child* 1988;142(2):165-9.
- (301) Zhu YI, et al. Altered metabolic response of iron-depleted nonanemic women during a 15 km time trial. *J appl Physiol* 1998;84(5):1768-75.
- (302) Celsing Feal. Effects of iron deficiency on endurance and muscle enzyme activity in man. *Medicine-and-science-in-sports-and-exercise-* 1986;18:156-61.

- (303) Newhouse IJ, Clement DB, Taunton JE, McKenzie DC. The effects of prelatent/latent iron deficiency on physical work capacity. *Medicine-and-science-in-sports-and-exercise*- 1989;21(3):263-8.
- (304) LAMANCA JJ, Haymes EM. Effects of iron repletion on VO₂ max. endurance, and blood lactate in women. *Medicine and science in sports and exercise* 1993;(25):1386-92.
- (305) Powell P, Tucker A. Iron supplementation and running performance in female cross-country runners. *International Journal of Sports Medicine* 1991;(12):462-7.
- (306) Colpo Eeta. A single high dose of ascorbic acid and iron is not correlated with oxidative stress in healthy volunteers. *Ann Nutr Metab* [53], 79-85. 2008.
- (307) Knutson MD, Walter P, Ames B, Viteri F. Both iron deficiency and daily iron supplements increase lipid peroxidation in rats. *J Nutr* [130], 621-628. 2000.
- (308) Galleano M, Puntarulo S. Role of antioxidants on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats. *Biochim Biophys Acta* [1271], 321-326. 1995.
- (309) Kawabata T, Ogino T, Awai M. Protective effects of glutathione against lipid peroxidation in chronically iron-loaded mice. *Biochim Biophys Acta* [1004], 89-94. 1989.
- (310) Puntarulo S. Iron, oxidative stress and human health. *Mol Aspects Med* [26], 299-312. 2005.
- (311) Baker JF, Ghio A. Iron homoeostasis in rheumatic disease. *Rheumatology* . 2009.
- (312) Peña C, Carter D, Ayala-Fierro F. Toxicología ambiental. Evaluación de riesgos y restauración ambiental. [Http://superfund pharmacy arizona edu/toxamb](http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb) 2001 [cited 2005 Nov 23]; Available from: URL: [Http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb](http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb) (Consultada 20/08/2007)
- (313) Wurzelmann Jeal. Iron intake and the risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiology and Biomarkers of Prevention* 1996;(5):503-7.
- (314) Lucesoli F, et al. Dose-dependent increase of oxidative damage in the testes of rats subjected to acute iron overload. *Arch Biochem Biophys* 1999;372(1):37-43.
- (315) Salonen JT, Nyssonen KkhTSR, Salonen R. High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern finnish men. *Circulation* [86], 803-811. 1992.
- (316) Japanese Heart-Disease Study Focuses on Role of Iron, 2000. <http://archives.cnn.com/2000/HEALTH/10/26/health.heart.iron.reut> . 2006. (Consultada 16-1-2006).
- (317) Meyers D. The iron hypothesis: Does iron cause atherosclerosis? *Clinics in Cardiology* 1996;(12):925-9.

- (318) Sullivan JL. Iron and the Genetics of Cardiovascular Disease. *Circulation* [100], 1260-1263. 1999.
- (319) Lam KW, Wang L, Hong BS, Treble D. Purification of phospholipid hydroxiperoxide glutathione peroxidase from bovine retina. *Curr Eye Res* 1993;12(1):9-15.
- (320) Cisneros E, Pupo J, Céspedes E. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutathion peroxidasa. *Rev Cubana Invest Biomed* 1997;16(1):10-5.
- (321) Vertechy M, Cooper MB, Ghirardi O, Ramacci M. The effect of age on the activity of enzymes of peroxide metabolism in rat brain. *Exp Gerontol* 1993;28(1):77-85.
- (322) Zachara B. Mammalian selenoproteins. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1991;6(3):137-45.
- (323) Dinis-Oliveira RJ, Sousa C, Remiao F, Duarte JA, Navarro AS, Bastos ML, et al. Full survival of paraquat-exposed rats after treatment with sodium salicylate. *Free.Radic.Biol.Med.* 7[42], 1017-1028. 2007.
- (324) Fischer JG, Et al. Moderate Iron Overload Enhances Lipid Peroxidation in Liver of Rats, but Does Not Affect NF-kB Activation Induced by the Peroxisome Proliferator, Wy-14,643. *J Nutr* [132], 2525-2531. 2002.
- (325) Idjradinata P, Watkins WE, Pollitt E. Adverse effect of iron supplementation weight gain of iron-replete young children. *Lancet* [343], 1252-1254. 1994.
- (326) Majumdar I, Paul P, Talib VH, Ranga S. The effects of iron therapy on the growth of iron-replete and iron deplete children. *J Trop Pediatr* [49], 84-88. 2003.
- (327) Dewey KG, Domellof M, Cohen RJ, Rivera LL, Hernell O, Lonnerdal B. Iron supplementation affects growth and morbidity of breast fed infants: results of a randomized trial in Sweden and Honduras. *J Nutr* [132], 3249-3255. 2002.
- (328) Knutson MD, Lim AK, Viteri F. A practical and reliable method for measuring ethane and pentane in expired air from humans. *Free Radic Biol Med* [27], 560-571. 1999.
- (329) Knutson MD. Studies of daily and intermittent oral iron supplements of iron status and lipid peroxidation in rats and humans. Berkeley: University of California; 1998.
- (330) Gropper SS, Kerr S, Barksdale JM. Non anemic iron deficiency, oral iron supplementation and oxidative damage in college-aged females. *J Nutr Biochem* [14], 409-415. 2003.
- (331) Derstine JL, Murray-Kolb LE, Yu-Poth S, Hargrove RL, Kris-Etherton PM, Beard JL. Iron status in association with cardiovascular disease risk in three controlled feeding studies. *Am J Clin Nutr* [77], 56-62. 2003.
- (332) Schmid A. Effect of physical exercise and vitamin C on absorption of ferric sodium citrate. *Medicine and science in sports and exercise* 1996;(28):1470-3.

- (333) Gera T, Sachdev H. Effect of iron supplementation on incidence of infectious illness in children; systematic review. *BMJ* [325], 1142-1151. 2002.
- (334) Mainous AG, Gill JMECJ. Transferrin saturation, dietary iron intake and risk of cancer. *Ann Fam Med* [3], 131-137. 2005.
- (335) Domitrovic, R.; Tota, M; Milin, C. Oxidative stress in mice: effects of dietary corn oil and iron. *Biol Trace Elem Res.* 2006; 113 (2): 177-91.
- (336) Lee, SH.; Shinde, P.; Choi, j.; Park, M.; Ohh, S.; Kwon, IK; Pak, SI; Chae, BJ. Effects of dietary iron levels on growth performance, hematological status, liver mineral concentration, fecal microflora, and diarrhea incidence in weaning pigs. *Biol Trace Elem Res.* 2008; 126. Suppl 1: S57-68.

ANEXOS

A disposición del lector en las obras depositadas en la Universidad de A Coruña

<i>I.</i>	<i>Características técnicas del fármaco administrado</i>	211
<i>II.</i>	<i>Hoja registro del peso de los órganos y valores de los parámetros hematológicos</i>	219
<i>III.</i>	<i>Hoja registro del control de jaulas y temporalización</i>	223
<i>IV.</i>	<i>Cuadro resumen resultados T- Test pareado para los distintos grupos</i>	291
<i>V.</i>	<i>Análisis estadístico: Prueba T para cada una de las variables</i>	295
<i>VI.</i>	<i>Análisis descriptiva de la muestra</i>	319
<i>VII.</i>	<i>Cálculo para el ajuste de la dosis de hierro</i>	337
<i>VIII.</i>	<i>Valores para el cálculo de la media y desviación patrón de las alteraciones ultraestructurales, de la CS, GSH y GSSG en el músculo cardíaco y sóleo en los 3 grupos experimentales.</i>	341