



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

EFECTOS DE LA EXCLUSIÓN
DUODENO-YEYUNAL SOBRE LA
SOBRE INGESTA DE HIERRO EN
RATAS NO OBESAS

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
FISIOLOGÍA

ROBERTO ERNESTO VIGIL GUERRERO

LIMA – PERÚ

2026

ASESOR

Dr. Gustavo Francisco Gonzales Rengifo

Doctor en Medicina

Doctor en ciencias con mención en fisiología

CO ASESOR

Dr. Manuel Enrique Gasco Tantachuco

Doctor en ciencias con mención en Fisiología

JURADO DE TESIS

DR CÉSAR PAUL EUGENIO CÁRCAMO CAVAGNARO
PRESIDENTE

DR ALEJANDRO JOAQUÍN BUSALLEU RIVERA
VOCAL

DR JOSÉ LUIS MACARLUPÚ BERNUY
SECRETARIO

DEDICATORIA

A mi mami Luz Angélica,
a mi esposa Gisella Rossana,
a mi hija Susana Gisella
y a mi nieta Clara

AGRADECIMIENTOS

A los profesores y tesisistas del Laboratorio de Endocrinología y Reproducción de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la UPCH.

A Jeannett Mariela Rivera Manhualaya, Magister en Inmunología, mi asistente en todas las fases del proyecto

Al Departamento Académico de Biología de la UPCH

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UPCH

Al Dr. Víctor Javier Mamani Palomino, Patólogo Veterinario

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Tesis Autofinanciada

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	VIGIL GUERRERO ROBERTO ERNESTO

Pertenecientes al programa de la **DOCTORADO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN FISIOLÓGÍA**, autores del trabajo titulado: **EFFECTOS DE LA EXCLUSIÓN DUODENO-YEYUNAL SOBRE LA SOBRE INGESTA DE HIERRO EN RATAS NO OBESAS**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN FISIOLÓGÍA** bajo la modalidad de **TESIS**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	GONZALES RENGIFO GUSTAVO FRANCISCO	FACI	ASESOR
2.	GASCO TANTACHUCO MANUEL ENRIQUE	FACI	CO ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **7%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **2894577858**; fecha de entrega: **04-03-2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 04 de marzo de 2026**



Firma del asesor
N° DNI: 09998072
ORCID: 0000-0003-1611-2894



Firma del Co-asesor
N° DNI: 16707351
ORCID: 0000-0001-8739-9533

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

INTRODUCCIÓN..... 1

OBJETIVOS 3

MARCO TEÓRICO 4

MATERIAL Y MÉTODOS 24

RESULTADOS 35

DISCUSIÓN 47

CONCLUSIONES 60

RECOMENDACIONES 63

REFERENCIAS 65

ANEXOS: FOTOS DEL PROCEDIMIENTO

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de las variables en los grupos experimentales con y sin sobrecarga férrica.....	36
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Absorción de hierro y transporte a través del enterocito duodenal.	8
Figura 2. Curva de riesgo de deficiencia y sobrecarga de hierro.	10
Figura 3. Diagrama del procedimiento quirúrgico del baipás gástrico y las alteraciones en el tracto gastrointestinal.	19
Figura 4. Diagrama de la exclusión duodeno yeyunal (EDY) en ratas.....	29
Figura 5. Resultados de la variación del peso corporal, peso del hígado, peso del ciego y hierro hepático	40
Figura 6. Resultados del hematocrito, glucemia, ALT/AST, colesterol sérico, y triglicéridos séricos.	41
Figura 7. Cortes histológicos de hígado teñidos con Hematoxilina-Eosina y Azul de Prusia	43
Figura 8. Cortes histológicos de ciego teñidos con Hematoxilina-Eosina y Azul de Prusia.....	45

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
C	Control
CF	Con sobrecarga férrica
Cp	Ceruloplasmina
DcytB	Citocromo B duodenal
DIOS	Síndrome de sobrecarga férrica dismetabólica
DMT1	Transportador de metales divalente
EDY	Exclusión duodeno yeyunal
EE	Error estándar
Fe	Hierro
Fp	Ferroportina
Ft	Ferritina
GIP	Polipéptido insulínico dependiente de glucosa
GLP-1	Péptido similar al glucagón tipo 1
GPX4	Glutación peroxidasa 4
HE	Tinción de Hematoxilina-Eosina
HEP	Hepcidina
Hf	Hefaestina
HH	Hemocromatosis hereditaria
IL-6	Interleucina 6
JAK/STAT3	Janus quinasa/transductor de señal y activador de la transcripción 3
LID	Laboratorios de Investigación y Desarrollo
LPI	Hierro plasmático lábil
LTBI	Hierro no unido a la transferrina
LXR	Receptor X hepático
MAFLD-F	Disfunción metabólica asociada a la enfermedad hepática grasa con componente férrico
mg/dL	Miligramos por decilitro
NAFLD	Enfermedad hepática grasa no alcohólica

NASH	Esteatohepatitis no alcohólica
PYY	Péptido tirosina tirosina
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
S	Sham
SC	Subcutánea
SF	Sin sobrecarga férrica
SREBP	Proteína de unión al elemento regulador del estero1
TG	Triglicéridos
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
U/L	Unidades por litro
UPCH	Universidad Peruana Cayetano Heredia
$\mu\text{g/g}$	Microgramo por gramo de tejido

RESUMEN

Introducción: La anemia por deficiencia de hierro es un problema de salud pública global. Aunque los suplementos y alimentos fortificados han sido ampliamente utilizados, el exceso de hierro puede provocar efectos adversos como inflamación hepática y daño oxidativo. Dado que el duodeno es el principal sitio de absorción de hierro, su exclusión quirúrgica podría modificar su biodisponibilidad. **Objetivo:** Evaluar el efecto de la exclusión duodeno-yeyunal (EDY) sobre la acumulación de hierro hepático en un modelo animal de ratas macho no obesas ni diabéticas expuestas a altas dosis de hierro. **Metodología:** Se emplearon 35 ratas macho Holtzman (10–12 semanas, 280–320 g). Tras la cirugía, los animales se distribuyeron en grupos control, sham y EDY. Cada grupo recibió por sonda orogástrica ya sea una sobrecarga de hierro (6 mg de hierro elemental/20 mg.kg⁻¹) o agua destilada, por 30 días. Se registró el peso corporal semanal, y al finalizar el experimento se determinaron los pesos del hígado y del ciego. Se obtuvieron muestras para análisis hematológicos, bioquímicos e histológicos. **Resultados:** Las ratas EDY presentaron menor peso corporal que los grupos control y sham. En los animales con sobrecarga férrica, el peso hepático fue inferior en el grupo EDY. En los animales sin sobrecarga férrica, el peso del ciego fue mayor en el grupo EDY respecto al grupo sham. El contenido hepático de hierro fue significativamente menor en ratas EDY sin sobrecarga férrica en comparación con los grupos control y sham del mismo tratamiento, así como con las ratas EDY con sobrecarga férrica. **Conclusión:** La EDY reduce la acumulación de hierro hepático y modifica parámetros metabólicos asociados. Este modelo experimental ofrece un enfoque útil

para el estudio traslacional de trastornos relacionados con la sobreingesta de hierro, así como de otras condiciones fisiopatológicas vinculadas al metabolismo férrico.

PALABRAS CLAVE

metabolismo del hierro; sobrecarga férrica; exclusión duodeno-yeyunal; ratas

ABSTRACT

Introduction: Iron deficiency anemia is a major global public health problem. Although iron supplementation and food fortification strategies have been widely implemented, excessive iron intake may lead to adverse effects such as hepatic inflammation and oxidative damage. Since the duodenum is the primary site of iron absorption, its surgical exclusion may alter iron bioavailability. **Objective:** To evaluate the effect of duodenojejunal bypass (DJB) on hepatic iron accumulation in a non-obese, non-diabetic male rat model exposed to high iron intake. **Methods:** A total of 35 male Holtzman rats (10–12 weeks old, 280–320 g) were used. Following surgery, animals were allocated to control, sham, and DJE groups. Each group received either an oral iron overload (6 mg elemental iron; 20 mg·kg⁻¹) or distilled water by orogastric gavage for 30 days. Body weight was recorded weekly, and liver and cecum weights were measured at the end of the protocol. Blood and tissue samples were collected for hematological, biochemical, and histological analyses. **Results:** DJB rats exhibited lower body weight compared with control and sham groups. In iron-overloaded animals, liver weight was lower in the DJB group. In animals without iron overload, cecum weight was higher in the DJB group compared with sham-operated rats. Liver iron content was significantly lower in EDY rats without iron overload compared to the control and sham groups of the same treatment, as well as to EDY rats with iron overload. **Conclusion:** DJB reduces hepatic iron accumulation and modifies associated metabolic parameters. This experimental model provides a useful translational approach for the study of disorders related to iron overconsumption, as well as other pathophysiological conditions associated with iron metabolism.

KEYWORDS

iron metabolism; iron overload; duodenojejunal bypass; rats

INTRODUCCIÓN

El hierro es un micronutriente esencial para muchos procesos metabólicos en casi todos los organismos. La anemia por deficiencia de hierro es un problema de salud pública en el Perú y el mundo, y para prevenirla se promueve el consumo de hierro y/o de alimentos fortificados con hierro (1).

El duodeno es el sitio principal de absorción del hierro no hemo, regulado por proteínas como el transportador de metales divalente (DMT1) y ferroportina (2). La sobrecarga férrica, inducida por la administración oral de hierro a altas dosis, provoca una acumulación preferente en el hígado, con daño oxidativo, inflamación y eventualmente fibrosis (3). La mayoría de los mamíferos no tienen mecanismos propios de excreción de hierro, por lo que el principal punto de control es su absorción en el intestino (4).

En modelos quirúrgicos de baipás gastrointestinal (como el baipás gástrico o la exclusión duodeno yeyunal -EDY) se ha observado una reducción en la absorción de hierro (5) y mejoras en enfermedades hepáticas como la esteatosis hepática no alcohólica (6).

Si bien no se ha encontrado evidencia directa en la literatura que demuestre que la EDY reduzca la acumulación de hierro hepático en ratas alimentadas con dosis altas de hierro (100–300 mg/kg de peso corporal), la fisiología de absorción duodenal y los estudios sobre baipás y restricción de hierro sugieren fuertemente que la EDY reduciría la absorción intestinal, y presumiblemente disminuiría la acumulación hepática de hierro en estos modelos (7,8)

Este estudio busca llenar ese vacío experimental, lo cual puede tener implicancias para el tratamiento de condiciones como la hemocromatosis, la sobrecarga secundaria de hierro o enfermedades metabólicas con acumulación hepática de hierro.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar los efectos de la EDY sobre la acumulación de hierro en los tejidos de ratas macho no obesas ni diabéticas en condiciones de ingesta de dosis altas de hierro.

Objetivos específicos:

1. Cuantificar la acumulación de hierro hepático de ratas expuestas a la ingesta de dosis altas de hierro.
2. Comparar los niveles de hierro hepático entre ratas sometidas a EDY y ratas sin intervención, expuestas a la ingesta de dosis altas de hierro.
3. Comparar parámetros hematológicos y bioquímicos hepáticos entre ratas sometidas a EDY y ratas sin intervención, expuestas a la ingesta de dosis altas de hierro.
4. Caracterizar y comparar los cambios histológicos en el hígado y en el ciego entre ratas sometidas a EDY y ratas sin intervención, expuestas a la ingesta de dosis altas de hierro.

MARCO TEÓRICO

El hierro es esencial para funciones celulares como el transporte de oxígeno, la síntesis de ADN y el metabolismo energético (9).

Metabolismo del hierro

El hierro (Fe) en la dieta (Figura 1) es predominantemente trivalente (férrico), y en el borde de absorción de la célula duodenal el citocromo B duodenal (DcytB) lo transforma en divalente (ferroso), que es la forma en que ingresa al enterocito por acción del transportador de metales divalente (DMT1), y la forma en que se almacena en la célula como ferritina (Ft) (10). En la sangre, el hierro divalente se transforma en trivalente por acción de la hefaestina (Hf) y la ceruloplasmina (Cp). El hierro circula unido a la transferrina para ser liberado a todos los órganos y tejidos a través del receptor de transferrina 1 (11).

El hierro para salir de la célula requiere del transportador ferroportina (Fp). La ferroportina exporta hierro de los enterocitos duodenales que absorben el hierro de la dieta, de los macrófagos que reciclan hierro en el bazo y el hígado, y de los hepatocitos que almacenan hierro (12). La hepcidina (HEP) es el único modulador de este proceso al ser capaz de inhibir la ferroportina (13).

La hepcidina es una hormona peptídica sintetizada principalmente por los hepatocitos y constituye el regulador central de la homeostasis sistémica del hierro (14). Su función biológica se ejerce mediante la interacción directa con la

ferroportina, el único exportador conocido de hierro celular, expresado en la membrana basolateral de los enterocitos duodenales, así como en macrófagos del sistema reticuloendotelial y hepatocitos (15).

La unión de la hepcidina a la ferroportina induce un cambio conformacional que desencadena la ubiquitinación, internalización y posterior degradación lisosomal de la ferroportina, lo que resulta en la inhibición del eflujo de hierro desde las células hacia la circulación sistémica (16).

Como consecuencia de este mecanismo molecular, el aumento de los niveles de hepcidina conduce a una reducción de la absorción intestinal de hierro y a una retención intracelular del hierro en los compartimentos de almacenamiento y reciclaje, con la consiguiente disminución del hierro sérico disponible para la eritropoyesis (17).

La expresión de la hepcidina está finamente regulada por múltiples señales fisiológicas y patológicas, incluyendo el estado de las reservas de hierro corporal, la actividad eritropoyética, la hipoxia y los procesos inflamatorios. En particular, durante la inflamación, la inducción de hepcidina mediada por citocinas como la interleucina-6 activa la vía Janus quinasa / transductor de señal y activador de la transcripción (3JAK/STAT3), lo que contribuye al desarrollo de la hipoferremia inflamatoria y a la fisiopatología de la anemia de las enfermedades crónicas (18,19).

En modelos experimentales de mamíferos, macrófagos del sistema reticuloendotelial (especialmente en bazo, hígado y médula ósea) fagocitan eritrocitos senescentes y reciclan hierro para su reutilización en la eritropoyesis.

Este proceso está bien descrito tanto en revisiones como en estudios con modelos animales, donde macrófagos especializados extraen hierro de la hemoglobina y lo liberan al plasma a través de ferroportina, contribuyendo a la homeostasis sistémica del hierro (20,21)

En modelos animales murinos, el hierro liberado por la eritrofagocitosis de macrófagos es una fuente principal de hierro para la eritropoyesis en la médula ósea. Estudios experimentales con macrófagos derivados de médula ósea de ratón demuestran que, tras la fagocitosis de eritrocitos envejecidos, el hierro es extraído del hemo y exportado al plasma, proceso necesario para abastecer a los precursores eritroides en el hueso (22). Además, en ratones con alteraciones en la exportación de hierro desde macrófagos, se observa anemia y reducción de hierro disponible para la producción de eritrocitos, lo que confirma que el hierro reciclado por macrófagos constituye la principal fuente funcional para la eritropoyesis en condiciones fisiológicas (23).

En modelos animales, la absorción intestinal de hierro ocurre predominantemente en el duodeno y yeyuno proximal, mediada por enterocitos especializados que expresan transportadores específicos de hierro, como DMT1, Dcytb y ferroportina (12,24). Estudios experimentales en ratones han demostrado que este proceso se regula dinámicamente de acuerdo con los requerimientos sistémicos y el estado de las reservas corporales, principalmente a través del eje hepcidina–ferroportina, el cual controla la exportación de hierro desde el enterocito hacia la circulación (25,26). La absorción intestinal compensa las pérdidas inevitables de hierro,

asociadas a la descamación epitelial y a pérdidas sanguíneas mínimas, dado que los mamíferos carecen de un mecanismo activo de excreción de hierro (27,28).

El exceso de hierro no utilizado para la eritropoyesis se almacena principalmente en el hígado y en macrófagos tisulares, en forma de ferritina y hemosiderina, constituyendo un reservorio metabólicamente regulado. Estudios experimentales en modelos animales han demostrado que los hepatocitos y los macrófagos hepáticos (células de Kupffer) desempeñan un papel central en el almacenamiento y la movilización del hierro corporal, procesos regulados principalmente por el eje hepcidina–ferroportina (12,21). En este contexto, las reservas hepáticas de hierro en animales de experimentación representan un compartimento clave para evaluar alteraciones en el metabolismo del hierro inducidas por intervenciones quirúrgicas, dietarias o genéticas, ya que pueden cuantificarse mediante análisis histológicos, bioquímicos y moleculares (29).

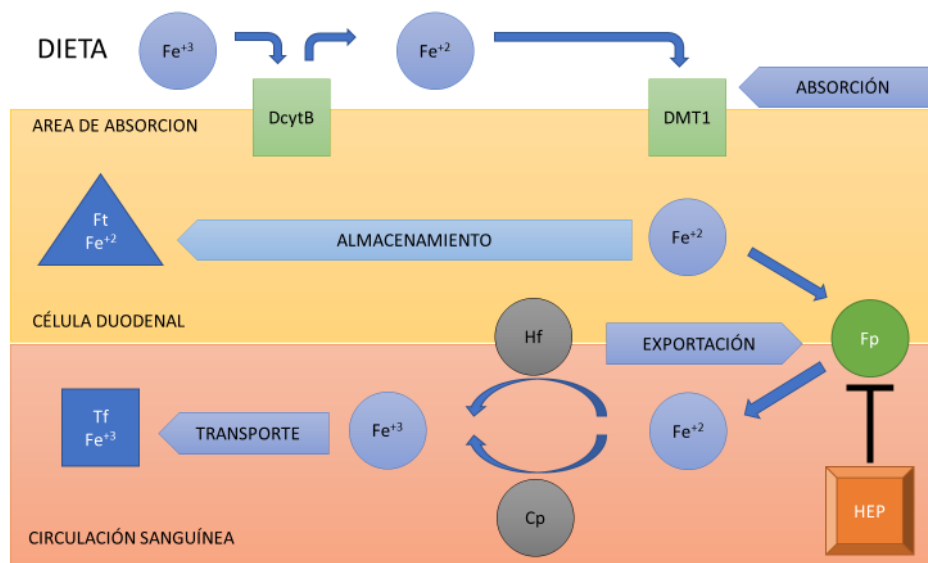


Figura 1. **Absorción de hierro y transporte a través del enterocito duodenal.** Fe^{+2} : hierro divalente. Fe^{+3} : hierro trivalente. DcytB: citocromo B duodenal. DMT1: transportador de metales divalentes 1. Ft: ferritina. Fp: ferroportina. HEP: hepcidina. Hf: Hefaestina. Cp: ceruloplasmina. Tf: transferrina (adaptado de Bjorklund et al, 2021).

Homeostasis del hierro

La homeostasis del hierro en los mamíferos es un proceso finamente regulado, ya que tanto su deficiencia como su exceso pueden causar alteraciones fisiopatológicas significativas (30).

La deficiencia de hierro compromete procesos esenciales como la eritropoyesis, el transporte de oxígeno y múltiples reacciones enzimáticas dependientes de hierro, lo que conduce al desarrollo de anemia ferropénica, caracterizada por hipoxia tisular, disminución del rendimiento metabólico y alteraciones neurológicas e inmunológicas (31).

Por el contrario, el exceso de hierro resulta igualmente perjudicial debido a su capacidad para catalizar la formación de especies reactivas de oxígeno mediante reacciones de tipo Fenton, promoviendo estrés oxidativo, daño lipídico, proteico y del ADN (32). La acumulación patológica de hierro puede provocar toxicidad tisular progresiva, particularmente en órganos como el hígado, el corazón y el páncreas, contribuyendo al desarrollo de enfermedades como la hemocromatosis, insuficiencia hepática, cardiomiopatía y diabetes mellitus (33).

A diferencia de muchos nutrientes cuya deficiencia produce daño, pero cuyo exceso suele ser bien tolerado, el hierro presenta una curva de riesgo en forma de U notablemente más estrecha, de modo que pequeñas variaciones en su dosis pueden traducirse en cambios significativos en el riesgo fisiológico. Esta característica evidencia su margen terapéutico limitado y la necesidad de una regulación estricta de su absorción y almacenamiento (34). En este contexto, resulta particularmente preocupante la suplementación con hierro en poblaciones con niveles suficientes de este elemento, dado el potencial riesgo asociado a la sobrecarga férrica (Figura 2).

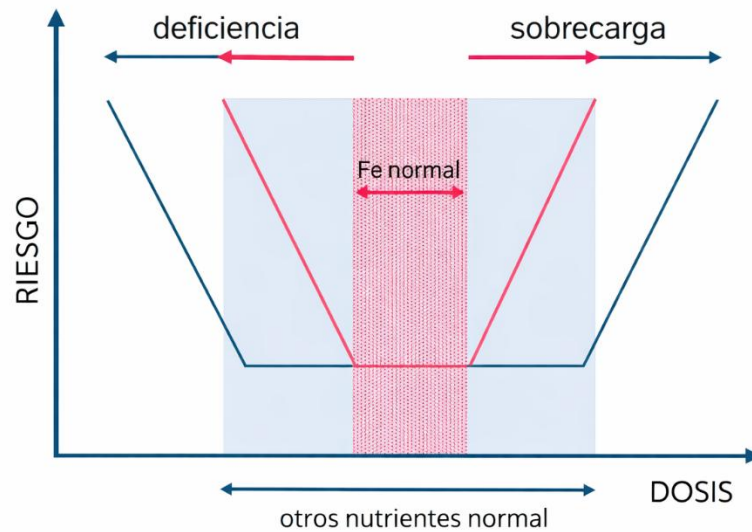


Figura 2. **Curva de riesgo de deficiencia y sobrecarga de hierro.** La línea azul representa la curva en U característica de la mayoría de los nutrientes, mientras que la línea roja corresponde al hierro, que presenta un rango de valores normales y de riesgo más estrecho. Los valores normales (columna roja) y los riesgos de deficiencia y sobrecarga (flechas rojas) del hierro ocurren en intervalos de dosis más reducidos que los observados para otros nutrientes (columna y flechas azules). *Adaptado de Georgieff et al., 2019.*

Sobrecarga de hierro y acumulación hepática

El exceso de hierro se puede deber a la suplementación excesiva de hierro, envejecimiento, factores inflamatorios y genéticos, entre otros. Si bien la suplementación usualmente alivia los efectos negativos de la deficiencia de hierro, los riesgos asociados al exceso de hierro por suplementación no deben ser subestimados. El exceso de hierro por suplementación se puede presentar en niños y mujeres grávidas, que es la población con mayor porcentaje de deficiencia de hierro y anemia ferropénica. El exceso de hierro en niños puede causar diarrea, alterar la función inmune y alteraciones neurocognitivas irreversibles; y durante el

embarazo puede asociarse a diabetes gestacional, estrés oxidativo, inflamación, hasta deformidad y muerte fetal (34). También hay relación del exceso de hierro con el envejecimiento (35). Las personas mayores tienen una tendencia a acumular hierro en hígado, riñón, cerebro y otros órganos, que los puede llevar a la sobrecarga de hierro causando alteraciones en la producción de sangre, falla renal, enfermedad de Alzheimer y, como consecuencia de esto, muerte (36).

La acumulación de hierro corporal puede manifestarse con o sin sobrecarga franca (37). Entre los cuadros sin sobrecarga destacan la obesidad, el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2, el consumo excesivo de alcohol, algunas infecciones y enfermedades inflamatorias crónicas, y algunos tipos de cáncer.

Por otro lado, las condiciones con sobrecarga de hierro incluyen la hemocromatosis hereditaria, el síndrome de sobrecarga férrica dismetabólica (DIOS), anemias con depósitos elevados de hierro, sobrecargas secundarias por transfusiones excesivas o uso de hierro parenteral, y enfermedades hepáticas crónicas de larga evolución.

Hay evidencia que vincula la acumulación tisular de hierro con intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2, incluso en ausencia de sobrecarga sistémica (38).

Mecanismos biológicos implicados en la sobrecarga de hierro

Estudios experimentales en ratas de laboratorio han demostrado que cuando la absorción intestinal de hierro excede la capacidad del organismo para regularlo, se desencadena una serie de reacciones fisiopatológicas en cadena. En condiciones de

sobrecarga férrica, el sistema de transporte de hierro se satura, lo que provoca un incremento del hierro no unido a la transferrina (NTBI) en el plasma sanguíneo. Modelos animales han evidenciado que este hierro circulante puede ser captado rápidamente por órganos como el hígado y el corazón a través de mecanismos independientes de la transferrina, favoreciendo su acumulación tisular y promoviendo el daño oxidativo (39,40).

Dentro del NTBI, una fracción particularmente reactiva corresponde al hierro plasmático lábil (LPI), el cual posee un elevado potencial redox y es capaz de catalizar la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante reacciones tipo Fenton. En modelos murinos de sobrecarga de hierro y de hemocromatosis experimental, el aumento de LPI se ha asociado con un incremento del estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y daño celular en tejidos parenquimatosos, especialmente en el hígado y el miocardio (40,41).

Por otra parte, el hierro no absorbido que permanece en el tracto gastrointestinal puede actuar como catalizador en la generación de radicales libres, lo que provoca daño oxidativo en la mucosa intestinal y alteraciones en la permeabilidad del epitelio. Estas modificaciones comprometen la integridad de la barrera intestinal y contribuyen a procesos inflamatorios locales, como ha sido demostrado en diversos estudios experimentales en animales (42–44).

Cuando la ingesta de hierro supera de manera sostenida la capacidad reguladora del organismo, este metal se acumula progresivamente en tejidos parenquimatosos, siendo el hígado uno de los órganos más afectados. El hígado es particularmente

vulnerable a los efectos tóxicos del hierro debido a su elevada capacidad para captar NTBI, lo que favorece el desarrollo de sobrecarga hepática (40,44). En modelos experimentales con ratas, se ha observado que una exposición crónica a concentraciones elevadas de NTBI conduce a citotoxicidad hepática, consolidando el papel central del NTBI y del LPI en la toxicidad inducida por hierro (39).

La sobrecarga hepática de hierro induce un marcado estrés oxidativo y una respuesta inflamatoria caracterizada por la producción de mediadores proinflamatorios, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina 6 (IL-6) (45,46). Además, el exceso de hierro puede generar alteraciones metabólicas significativas, incluyendo resistencia a la insulina con hipertrigliceridemia, disfunción del metabolismo del tejido adiposo visceral y la activación de un estado pro-lipogénico que favorece el desarrollo de esteatosis hepática (47,48).

En estadios más avanzados, el daño hepático inducido por hierro puede desencadenar procesos de peroxidación lipídica que culminan en un tipo específico de muerte celular regulada conocida como ferroptosis. Este fenómeno resulta de una compleja interacción entre la elevada disponibilidad de hierro, la generación excesiva de ROS, el exceso de glutamato y la depleción de cisteína, condiciones ampliamente descritas en modelos experimentales animales (49–53).

En conjunto, estas alteraciones hepáticas inducidas por la sobrecarga de hierro reproducen características fisiopatológicas observadas en enfermedades humanas como la hemocromatosis hereditaria (HH) y la disfunción metabólica asociada a la

enfermedad hepática grasa con componente férrico (MAFLD-F), dentro del espectro de las esteatosis hepáticas metabólicas (54,55).

La evidencia disponible muestra que la acumulación de hierro ya sea por incremento en su absorción, por defectos genéticos o por alteraciones metabólicas, desencadena mecanismos de daño oxidativo, inflamación, disfunción hepática y alteraciones metabólicas. Tanto en modelos animales como en humanos se observa una convergencia de eventos fisiopatológicos, entre ellos la generación de ROS, la lipotoxicidad y la ferroptosis.

Este conjunto de alteraciones constituye la base conceptual para comprender la asociación entre sobrecarga o acumulación de hierro y enfermedades metabólicas complejas como hemocromatosis, MAFLD-F, DIOS y diabetes mellitus tipo 2.

Enfoques terapéuticos en la sobrecarga de hierro

El objetivo principal del tratamiento de la sobrecarga de hierro es la reducción de las fracciones circulantes de hierro potencialmente tóxicas, en particular NTBI y LPI, con el fin de minimizar el daño tisular mediado por procesos oxidativos dependientes del hierro (57). En la práctica clínica, la flebotomía terapéutica constituye la estrategia de primera línea en la hemocromatosis hereditaria, ya que la extracción periódica de sangre estimula la eritropoyesis y promueve la movilización del hierro almacenado hacia la síntesis de hemoglobina; la eritrocitoaféresis representa una alternativa más selectiva al permitir la remoción dirigida de eritrocitos, optimizando la depleción férrica en determinados pacientes (57). En individuos con sobrecarga de hierro no asociada a hemocromatosis

hereditaria, se emplean quelantes de hierro como deferoxamina, deferiprona y deferasirox, los cuales se unen al hierro tisular y facilitan su excreción renal o biliar, reduciendo la disponibilidad de NTBI y LPI y, consecuentemente, el daño oxidativo sistémico (58–60).

De forma complementaria, han emergido estrategias terapéuticas dirigidas al eje hepcidina–ferroportina, orientadas a restaurar la homeostasis del hierro mediante la modulación de su absorción intestinal y su liberación desde los macrófagos, constituyendo una línea de investigación prometedora en el tratamiento de la sobrecarga férrica (30).

Asimismo, en patologías metabólicas como la enfermedad hepática grasa no alcohólica (NAFLD) y el síndrome metabólico, con o sin obesidad, asociados a DIOS, los cambios en el estilo de vida, incluyendo la restricción calórica, la pérdida de peso y el aumento de la actividad física, son fundamentales para mejorar el metabolismo del hierro y reducir el daño hepático (43,44). Finalmente, el uso de productos naturales con propiedades antioxidantes ha sido propuesto como estrategia adyuvante para mitigar el estrés oxidativo inducido por el exceso de hierro, aunque su eficacia clínica requiere aún mayor validación (45).

Los enfoques terapéuticos para la sobrecarga de hierro han sido extensamente estudiados en modelos animales, principalmente en ratas y ratones, con el objetivo de reducir la acumulación tisular de hierro, limitar la generación de ROS y prevenir el daño orgánico asociado.

Uno de los abordajes terapéuticos más consolidados es el uso de quelantes de hierro, los cuales se unen al hierro libre o mal regulado, facilitando su excreción y disminuyendo su potencial redox. En modelos murinos de sobrecarga férrica, la administración de deferoxamina redujo significativamente los niveles de hierro tisular, así como el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial (56–61).

En modelos animales de sobrecarga férrica, tanto deferasirox como deferiprona han demostrado reducir el depósito de hierro en órganos clave como hígado y corazón, lo que se asocia con la disminución de formas de hierro altamente tóxicas en plasma (NTBI/LPI) (63). En un modelo gerbil con sobrecarga por hierro dextran, deferasirox redujo el contenido hepático de hierro en aproximadamente 51% y deferiprona en alrededor de 25%, además de disminuir el hierro cardíaco, evidenciando la eficacia de estos quelantes orales para movilizar hierro almacenado en tejidos susceptibles a daño oxidativo (62). Estas observaciones respaldan que la terapia quelante puede limitar la exposición tisular a NTBI/LPI y proteger órganos vulnerables en escenarios de sobrecarga férrica.

Otro enfoque terapéutico evaluado en experimentos con animales es la modulación de la absorción intestinal de hierro. Estudios en ratas han demostrado que la restricción dietaria de hierro induce una disminución significativa del hierro corporal y hepático, acompañada de una regulación adaptativa de los transportadores intestinales de hierro, particularmente DMT1 y ferroportina. En ratas alimentadas con dietas pobres en hierro, se observó una reducción del contenido de hierro hepático junto con modificaciones en la expresión de genes

clave del metabolismo del hierro, lo que refleja una menor disponibilidad sistémica de hierro y una limitación de su absorción intestinal (63).

Asimismo, modelos experimentales en ratas con deficiencia de hierro durante el desarrollo mostraron una regulación significativa de DMT1 y ferroportina en el intestino y otros tejidos, evidenciando un control dinámico del transporte de hierro en respuesta a la carga férrica dietaria (64). De manera complementaria, se ha demostrado que la expresión de DMT1 en hígado, corazón y páncreas se regula inversamente a la carga de hierro corporal en ratas sometidas a dietas deficientes o sobrecargadas en hierro, lo que contribuye a limitar la captación de hierro por tejidos parenquimatosos bajo condiciones de exceso (65).

En otras líneas de investigación, estudios en animales de experimentación han demostrado que la administración exógena de hepcidina o la activación farmacológica de su vía de señalización constituyen una estrategia eficaz para limitar la acumulación hepática de hierro. Este efecto se explica principalmente por la unión de la hepcidina a la ferroportina y su posterior internalización y degradación, lo que restringe la absorción intestinal de hierro y la liberación del metal desde macrófagos, reduciendo así su disponibilidad para los tejidos parenquimatosos (66). En modelos murinos de hemocromatosis y sobrecarga férrica inducida, tanto la sobreexpresión de hepcidina como su mimetización farmacológica mediante agonistas específicos se han asociado con una disminución significativa del hierro hepático y con una atenuación del daño tisular inducido por hierro, consolidando el papel protector de la vía hepcidina–ferroportina frente a la acumulación progresiva de hierro en el hígado (67–69).

Paralelamente, se han explorado estrategias antioxidantes como terapias adyuvantes con el objetivo de mitigar el daño tisular inducido por la sobrecarga férrica. En distintos modelos animales de sobrecarga de hierro, la suplementación con taurina (40), vitamina E (70,71) y diversos polifenoles (72), han demostrado un efecto protector caracterizado por la disminución de la peroxidación lipídica y del estrés oxidativo, generados por el hierro libre, sin modificaciones sustanciales en los depósitos totales de hierro tisular.

Más recientemente, los estudios experimentales han puesto énfasis en la prevención de la ferroptosis, una forma de muerte celular regulada dependiente del hierro (49). En modelos animales, la inhibición de la peroxidación lipídica mediante el fortalecimiento de los sistemas antioxidantes celulares, como el aumento de glutatión intracelular o la activación de la glutatión peroxidasa 4 (GPX4), ha demostrado un efecto protector frente al daño hepático inducido por sobrecarga férrica (73,74). Asimismo, se ha observado que la modulación del metabolismo del glutamato y la disponibilidad de cisteína reduce la susceptibilidad celular a la ferroptosis en modelos experimentales de toxicidad por hierro (75,76).

En conjunto, los estudios preclínicos en animales indican que el tratamiento eficaz de la sobrecarga de hierro requiere un enfoque terapéutico multifactorial que combine la reducción directa del hierro corporal mediante quelación, la limitación de la absorción intestinal, el control del estrés oxidativo y la prevención de la muerte celular inducida por hierro. Estos modelos experimentales han sido fundamentales para el desarrollo de estrategias terapéuticas actualmente aplicadas o en evaluación

clínica para enfermedades humanas como la hemocromatosis hereditaria y las hepatopatías asociadas a disfunción metabólica con componente férrico.

Baipás gástrico y EDY

El baipás gástrico (Figura 3) es un procedimiento quirúrgico en el cual el estómago se secciona en su porción superior, generando una pequeña bolsa gástrica que se anastomosa al intestino delgado, excluyendo una porción variable del tracto gastrointestinal según la técnica empleada. Esta intervención, ampliamente utilizada en el tratamiento de la obesidad mórbida, reduce el volumen gástrico funcional, limita la ingesta alimentaria y modifica la absorción de nutrientes, constituyendo una de las principales modalidades de la cirugía bariátrica (77).

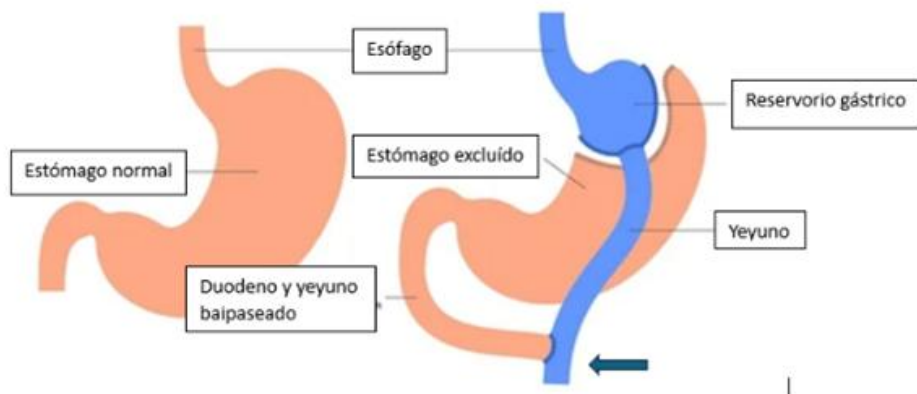


Figura 3. **Diagrama del procedimiento quirúrgico** del baipás gástrico y las alteraciones en el tracto gastrointestinal. El alimento pasa del reservorio gástrico al yeyuno proximal y se junta con los jugos gastrointestinales en el yeyuno distal (flecha).

La exclusión del intestino proximal lograda mediante el baipás gástrico produce, además, efectos metabólicos independientes de la pérdida de peso, particularmente

en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, donde se ha observado una mejora temprana del control glucémico (78). Este conjunto de efectos ha llevado a definir este tipo de procedimientos como cirugía metabólica (79).

Dentro de este contexto, la exclusión quirúrgica del duodeno y el yeyuno proximal, (EDY), adquiere especial relevancia en la regulación del metabolismo del hierro. Estos segmentos intestinales representan la principal zona de absorción del hierro dietario; por lo tanto, su exclusión reduce significativamente el contacto del hierro luminal con la mucosa intestinal, impactando de manera directa sobre el flujo de hierro hacia la circulación portal y su posterior almacenamiento hepático.

El impacto clínico de esta intervención sobre el metabolismo del hierro ha sido documentado en patologías caracterizadas por sobrecarga férrica, como la hemocromatosis hereditaria y DIOS. En pacientes obesos con hemocromatosis hereditaria sometidos a baipás gástrico se ha reportado una disminución significativa de los niveles de ferritina sérica y, en algunos casos, la reducción o suspensión de la necesidad de flebotomías terapéuticas (80–83). Estos cambios se acompañan de una mejora global del perfil metabólico del hierro, además de los beneficios asociados a la pérdida de peso y al control glucémico.

De manera similar, pacientes obesos con síndrome de sobrecarga férrica dismetabólica (DIOS) intervenidos mediante baipás gástrico han mostrado una mejora sostenida de los niveles de ferritina sérica, reforzando la noción de que la exclusión intestinal proximal contribuye a modular la sobrecarga férrica en contextos metabólicos complejos (84).

La relevancia de la EDY se extiende también al ámbito experimental. Estudios en modelos animales han demostrado que los beneficios metabólicos de la exclusión duodeno-yeyunal pueden manifestarse incluso en ausencia de restricción gástrica o pérdida de peso. En ratas diabéticas no obesas sometidas a EDY, se observó una mejora inmediata del control glucémico tras la cirugía (85). Asimismo, en modelos experimentales de obesidad, NAFLD y esteatohepatitis no alcohólica (NASH), la EDY ha demostrado efectos beneficiosos sobre la función hepática, reduciendo la inflamación y mejorando la resistencia a la insulina (86).

La capacidad de la EDY para inducir cambios metabólicos profundos y sostenidos, que afectan el peso corporal, la glucemia y el metabolismo del hierro, ha abierto nuevas perspectivas terapéuticas. En este sentido, se ha propuesto la aplicación de técnicas de exclusión duodeno-yeyunal sin reducción de la cámara gástrica, como la gastroyeyunostomía en asa con preservación del píloro o la duodenoyeyunostomía en Y de Roux, como potenciales alternativas para sujetos no obesos con sobrecarga de hierro (81).

Uso de modelos animales en estudios de hierro

El uso de modelos animales resulta fundamental para el estudio de los mecanismos fisiológicos y patológicos del metabolismo del hierro, ya que permite un control estricto de variables críticas como la ingesta dietaria, la edad, el sexo, el microbiota intestinal y las condiciones ambientales. En este contexto, las ratas de laboratorio han demostrado ser modelos adecuados para el análisis de la absorción intestinal de hierro, su transporte sistémico y su acumulación hepática, debido a la alta

conservación de las principales vías moleculares involucradas, incluyendo la regulación de hepcidina, ferroportina y transferrina (87).

Las cepas Holtzman y Sprague–Dawley (SD), pertenecientes a la especie *Rattus norvegicus*, son ampliamente utilizadas en investigaciones de toxicología, nutrición, endocrinología y cirugía experimental. Ambas se clasifican como cepas outbred, lo que implica una mayor diversidad genética y confiere a los resultados una mayor relevancia traslacional en comparación con cepas consanguíneas (88,89).

En este tipo de estudios experimentales se recomienda la inclusión de un grupo sham, con el fin de discriminar los efectos específicos de la intervención quirúrgica de aquellos derivados del procedimiento per se, como la anestesia, la manipulación quirúrgica o la administración de fármacos perioperatorios (90). En una cirugía sham, los animales son sometidos a las mismas etapas del procedimiento quirúrgico, excepto por la intervención activa que se desea evaluar (91).

En su conjunto, estos modelos animales de sobrecarga férrica inducida por vía oral permiten generar de manera controlada y reproducible la acumulación de hierro, reproduciendo aspectos clave de la fisiopatología de la sobrecarga férrica. Su utilización proporciona un marco experimental robusto para analizar el impacto directo de la manipulación intestinal sobre la absorción sistémica y el almacenamiento hepático de hierro. En este contexto, la evidencia disponible sustenta el estudio de la EDY como una potencial alternativa terapéutica para la

reducción de la sobrecarga férrica, particularmente a través de la modulación del eje intestino–hígado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Para este experimento se utilizaron 35 ratas macho Holtzman, de 10–12 semanas de edad y un peso corporal inicial de 280–320 g, obtenidas del Bioterio Central de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Los animales fueron alojados en el Bioterio del Laboratorio de Endocrinología y Reproducción de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) de la UPCH, mantenidos a una temperatura controlada de 22 °C y bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas.

Durante un período de adaptación de siete días, y a lo largo de todo el experimento, las ratas recibieron alimento estándar para roedores (proteína 17%, grasa 3%, fibra 6%, humedad 14%, ceniza 10%), con un contenido de 75 mg de hierro por kilogramo de alimento, y agua *ad libitum*.

Al final del experimento, y bajo anestesia profunda, se procedió a la obtención de las muestras biológicas, produciéndose la muerte del animal por exanguinación. Todos los desechos biológicos fueron eliminados en áreas destinadas a residuos biológicos y contaminados, de acuerdo con los estándares internacionales de bioseguridad.

Diseño experimental y definición del tamaño muestral

El tamaño muestral fue definido considerando la complejidad técnica del modelo quirúrgico y las tasas de mortalidad previamente reportadas en modelos experimentales similares de exclusión intestinal en roedores (85,92,93). Dado el carácter experimental del estudio, no se estableció un tamaño muestral fijo *a priori*.

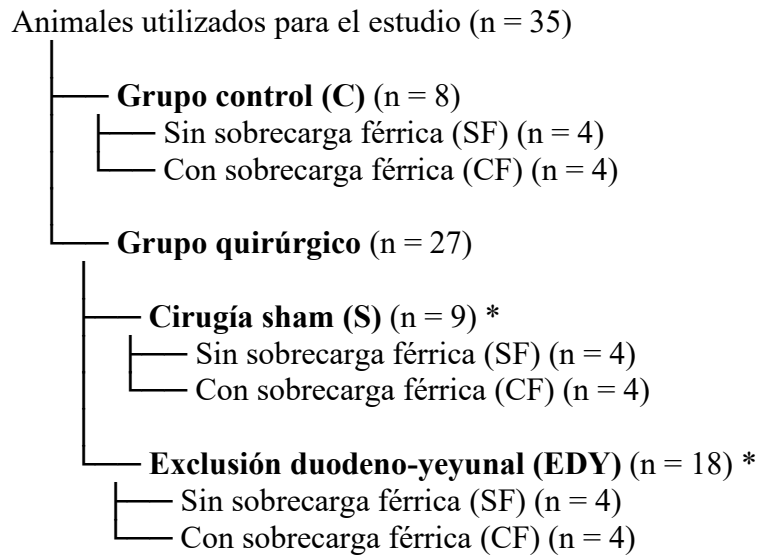
Los animales fueron incorporados de manera progresiva al experimento y asignados secuencialmente a los distintos grupos experimentales. Este enfoque permitió compensar las pérdidas postoperatorias inherentes al modelo quirúrgico y asegurar un número mínimo de animales viables por grupo para el análisis de las variables de interés, en concordancia con las recomendaciones metodológicas para estudios experimentales en animales sometidos a procedimientos quirúrgicos complejos (90,94,95).

Criterio de cierre del reclutamiento

El criterio de finalización del reclutamiento fue alcanzar un mínimo de cuatro animales viables por subgrupo sometido a EDY, tanto en condiciones con sobrecarga férrica como sin ella. Los grupos control y sham se constituyeron en paralelo, utilizando el mismo esquema de asignación progresiva.

Grupos experimentales

Los animales se distribuyeron en dos grandes grupos: grupo control y grupo quirúrgico, según el siguiente esquema:



(*) Una rata del grupo sham y 10 del grupo EDY no ingresaron al protocolo por muerte perioperatoria.

Ingesta de hierro

Las ratas que recibieron las dosis altas de hierro ingirieron 2 ml de sulfato ferroso (6 mg de hierro elemental, aproximadamente 20 mg/k) por 30 días. Las demás recibieron 2 ml de agua destilada por 30 días. La solución de sulfato ferroso y el agua destilada fueron administradas vía oral utilizando una sonda orogástrica a partir del tercer día del post operatorio.

Cirugía

Ocho horas antes de la cirugía se suspendió el alimento sólido, manteniéndose el agua *ad libitum*. La anestesia se realizó con pentobarbital sódico 6.5% 1 ml/2.5 kg vía intraperitoneal. El plano anestésico se comprobó con el reflejo de pedal. La cirugía se realizó sobre una manta térmica. El cirujano y su ayudante estuvieron adecuadamente vestidos para la cirugía: gorro, máscara, mandil y guantes quirúrgicos estériles. El cirujano además usó lentes de aumento. Todo el material quirúrgico estuvo estéril.

Después de comprobar que la rata estaba en plano anestésico se realizó una incisión mediana abdominal de 3 cm a partir del borde inferior del esternón, con apertura de los planos hasta la cavidad peritoneal. Las anastomosis se realizaron con sutura no absorbible prolene 6-0 y la pared abdominal se cerró en un solo plano con hilo absorbible trenzado de ácido poliglicólico 3-0. Terminado el procedimiento gastrointestinal se aplicó en la pared abdominal xilocaína 0.5% hasta un máximo de 7 mg/kg como anestésico local, y se administró 10 ml de suero salino fisiológico (solución de cloruro de sodio al 0.9%) a 37°C intraperitoneal y 10 ml de suero salino fisiológico a 37°C subcutánea, para prevenir la deshidratación en el periodo post operatorio inmediato. La piel se cerró con hilo absorbible de poliglactina 4-0. Se aplicó una solución antiséptica a base de yodo, y se roció un antibiótico local a base de rifocina 1%. Luego se administraron meloxicam 1 mg/kg vía subcutánea (SC), y enrofloxacin 10 mg/kg SC.

Después de la cirugía, el animal fue transferido a su caja individual y mantenido bajo luz infrarroja para preservar la normotermia corporal durante el período

postoperatorio inmediato, hasta su recuperación anestésica completa. Se mantuvo el ayuno, iniciándose agua *ad libitum* en el periodo nocturno. Los dos primeros días del post operatorio recibieron 2 ml de solución polielectrolítica vía oral, meloxicam 1 mg/kg SC y enrofloxacino 10 mg/kg SC cada 24 horas. Al tercer día del post operatorio se inició la dieta sólida.

En las ratas sham se manipuló el estómago y el intestino proximal. Se realizó una incisión puntiforme en el estómago y en el yeyuno las cuales fueron cerradas con prolene 6/0 sutura continua. Se retornó el estómago a la cavidad y se procedió a cerrar la pared abdominal después de un tiempo aproximadamente igual que la cirugía EDY.

En la cirugía EDY (Figura 4) se expuso el estómago y los intestinos manteniéndolos húmedos con gasas empapadas en suero estéril. A nivel de la curvatura mayor del estómago, entre las dos partes glandulares, se realizó una incisión de 2 mm hasta ingresar a la cavidad gástrica. Con un isopo se realizó la limpieza del estómago retirando los restos de alimento. A partir del ángulo de Treitz se contaron 35 cm de yeyuno, y a ese nivel se realizó una incisión de 2 mm en la cara antimesentérica. Se realizó una anastomosis gastroyeyunal laterolateral en asa, sentido horario, con sutura continua en la cara anterior y puntos separados en la cara posterior. El duodeno se seccionó a nivel inmediatamente post pilórico y ambos cotos se cerraron con prolene 6/0 sutura continua. Se retornaron los órganos a la cavidad peritoneal y se cerró la cavidad peritoneal (96).

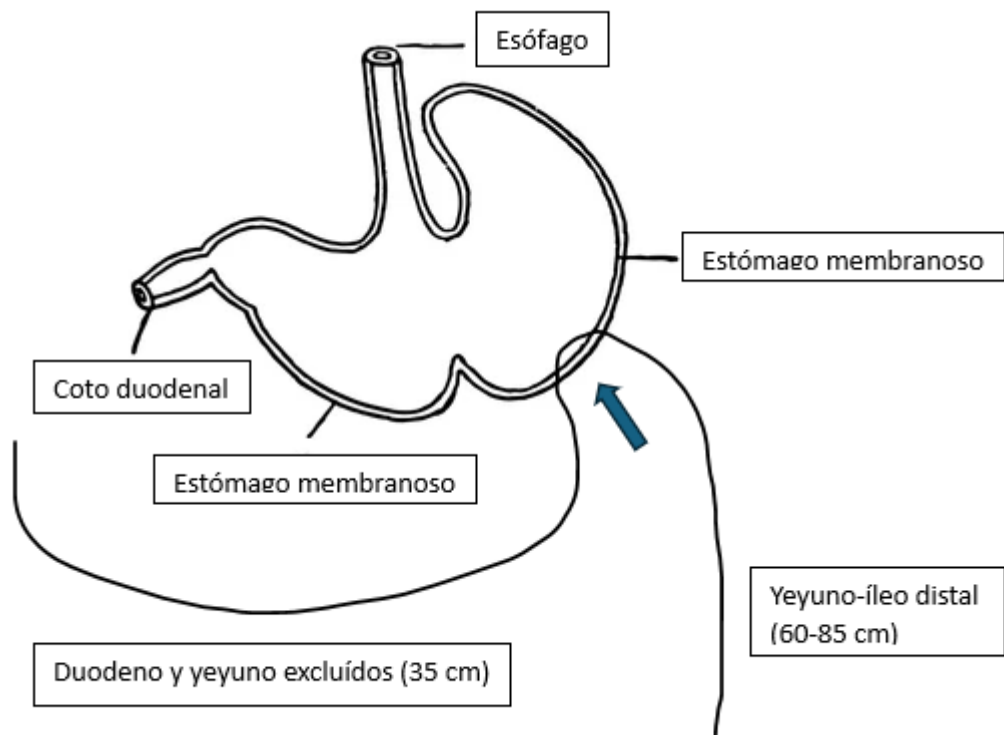


Figura 4. **Diagrama de la EDY en ratas.** La flecha indica la zona de la anastomosis gastroyeyunal. La longitud del segmento excluido en ratas simula la EDY en humanos (150-200 cm).

Registro de variables operatorias

Durante las cirugías se realizó el registro cualitativo de variables operatorias relevantes. El tiempo quirúrgico total se clasificó como corto, intermedio o prolongado según su duración relativa entre animales. Las complicaciones intraoperatorias se consignaron de forma descriptiva, incluyendo sangrado leve o moderado y dificultad técnica ocasional durante la anastomosis.

Para la cirugía EDY, se verificó la homogeneidad del segmento excluido, confirmándose la medición constante de 35 cm de yeyuno desde el ángulo de Treitz en todos los animales. La reproducibilidad del procedimiento se aseguró mediante la ejecución de todas las cirugías por el mismo operador entrenado, siguiendo un protocolo estandarizado.

Se registraron también la mortalidad intraoperatoria, incluyendo muertes ocurridas durante la anestesia, y la mortalidad postoperatoria inmediata durante las primeras 48 horas.

Toma de muestras

Los controles del peso se realizaron antes de la cirugía y a cada tres días. Al final del experimento, bajo anestesia general, se procedió a tomar las muestras de sangre por punción cardiaca. Se procedió a infundir una solución de fosfato neutra a través de la punción del ventrículo izquierdo hasta conseguir aclarar la coloración de la córnea. Se procedió a la extracción y pesaje del hígado y ciego (sin contenido luminal).

Las muestras de sangre total se colocaron en tubos capilares y en tubos para suero. Los capilares heparinizados fueron sellados por un extremo con cera especial y centrifugados a 11,000 rpm por cinco minutos. Los tubos para suero fueron centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos y el suero obtenido fueron guardados en -4° C, para las pruebas bioquímicas. Una porción de hígado y el ciego fueron guardados en formol para los estudios histopatológicos. Otra porción del hígado fue desecada en un horno microondas mediante ciclos controlados de calentamiento

durante varios días, hasta obtener un peso constante que confirmara la eliminación estable de humedad. Tras alcanzar el peso final, las muestras se almacenaron a -4°C hasta su procesamiento posterior.

Pruebas Sanguíneas

El hematocrito se determinó mediante el método de microhematocrito con tubos capilares, a partir de la sangre total. Después de centrifugarlos, se midió por duplicado el porcentaje del hematocrito como la relación entre la altura de la columna de eritrocitos y la altura total de la muestra, utilizando una regla lectora para microhematocrito. El valor final fue la media de los dos valores obtenidos (97).

La glucemia se determinó mediante el método de glucocinta con tiras reactivas (glucosa oxidada), utilizando un glucómetro portátil marca Accu-Chek Instant. Una gota de sangre fue depositada directamente sobre la cinta reactiva, y el valor de la glucemia se obtuvo luego de algunos segundos según las instrucciones del fabricante del equipo. Los resultados se expresaron en miligramos por decilitro (mg/dL) (98).

Las concentraciones séricas de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) se determinaron en suero de rata mediante un método cinético UV sin piridoxal fosfato, según las recomendaciones de la International Federation of Clinic Chemistry. Las mediciones se realizaron utilizando un espectrofotómetro automatizado a una longitud de onda de 340 nm, a 37°C según el manual del fabricante (GESAN Productions SRL, Italia). Los resultados se expresaron en unidades por litro (U/L) (97).

Las concentraciones séricas de colesterol total y triglicéridos se determinaron mediante un método enzimático colorimétrico utilizando kits comerciales (GESAN Productions SRL, Italia). Las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm, y los resultados se expresaron en mg/dL (97).

Kaneko et al. (97) fue citada únicamente como referencia metodológica de las determinaciones bioquímicas, dado que los principios analíticos descritos son aplicables de forma general, sin emplearse para la comparación de resultados ni para valores de referencia en ratas de laboratorio.

Determinación del hierro hepático

Las fracciones de hígado desecadas en microondas y guardadas a -4°C se reconstituyeron rehidratándolas. La concentración de hierro total en tejido hepático se determinó mediante espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) utilizando el método EPA 6010D (99). Para la preparación de las muestras, el tejido hepático fue sometido a digestión ácida con ácido nítrico (HNO_3) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), siguiendo el protocolo del método EPA 200.3 (100). Se utilizó un estándar certificado de hierro (Inorganic Venture, EEUU) para la calibración del equipo. Las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro ICP-OES, y los resultados se expresaron en microgramos de hierro por gramo de tejido húmedo ($\mu\text{g/g}$).

Estudios histopatológicos

Se recolectaron muestras de hígado y ciego de las ratas al momento de la eutanasia. Los tejidos fueron fijados en formol al 10% tamponado durante al menos 24 horas,

luego procesados mediante técnicas histológicas estándar, incluidos deshidratación en alcoholes de concentración creciente, aclaramiento en xilol e inclusión en parafina. Posteriormente se realizaron cortes de 5 μm de espesor con micrótomo y se montaron en láminas portaobjetos.

Dos tipos de tinción se aplicaron a los cortes:

- Tinción de Hematoxilina-Eosina (HE): se utilizó para la evaluación general de la arquitectura tisular, incluyendo la morfología hepática (hepatocitos, sinusoides, núcleos, infiltrados inflamatorios, degeneración o necrosis) y la estructura del ciego (mucosa, submucosa, muscular, serosa). Las observaciones se realizaron bajo microscopía óptica convencional (101).
- Tinción de Azul de Prusia (tinción de Perls): Para detectar depósitos de hierro férrico, se aplicó la tinción de Azul de Prusia, mediante la incubación de los cortes en una solución de ferrocianuro potásico y ácido clorhídrico. Los depósitos de hierro se visualizaron como gránulos de color azul intenso en el citoplasma de los hepatocitos o en células del sistema fagocítico mononuclear (102).

Las láminas teñidas fueron examinadas con un microscopio de luz, y las imágenes representativas fueron capturadas con cámara digital acoplada al microscopio. El análisis histológico fue realizado de forma independiente por un patólogo veterinario.

Aspectos Éticos

Este estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para el uso de Animales de la UPCH con carta de aprobación 003-11-23, y siguió las normas éticas para el cuidado y bienestar de los animales de acuerdo a la guía del National Research Council (2011) (103).

Plan de Análisis

Software utilizado: Stata versión 19 (104). Verificación de normalidad (Shapiro-Wilk). ANOVA de dos vías, con prueba post hoc de Tukey para comparar los subgrupos dentro de cada grupo; Nivel de significancia $p < 0.05$. Datos expresados como media \pm error estándar (EE).

RESULTADOS

La mortalidad total del estudio fue del 34% (12 de 35 ratas), y ocurrió exclusivamente en el grupo quirúrgico. Tres ratas murieron durante la inducción anestésica (una asignada a cirugía sham y dos asignadas a cirugía EDY). De las 16 ratas sometidas a EDY, ocho murieron en el postoperatorio inmediato (50%), y una durante la segunda semana del tratamiento experimental.

El tiempo quirúrgico se mantuvo dentro de rangos similares entre animales, sin diferencias apreciables entre los grupos. Las complicaciones intraoperatorias fueron escasas y de carácter leve, consistiendo principalmente en sangrado discreto o dificultad transitoria durante la confección de la anastomosis, sin registrarse lesiones de órganos adyacentes.

En todas las ratas sometidas a EDY, el segmento excluido (35 cm desde el ángulo de Treitz) se mantuvo constante, confirmando la homogeneidad del modelo quirúrgico. Asimismo, la técnica mostró buena reproducibilidad, sin variaciones relevantes durante las intervenciones.

Los resultados relacionados a la variación del peso corporal, peso del hígado, peso del ciego, hematocrito, glucemia, transaminasas, colesterol total, triglicéridos, y hierro hepático, se muestran en la tabla 1 y en las figuras 5 y 6.

Tabla 1. Resultados de las variables en los grupos experimentales con y sin sobrecarga férrica.

	Sin sobrecarga férrica (SF)				Con sobrecarga férrica (CF)			
	CONTROL (C) n=4 X ± EE [IC 95%]	SHAM (S) n=4 X ± EE [IC 95%]	EDY n=3 X ± EE [IC 95%]	Prueba ANOVA <i>p</i>	CONTROL (C) n=4 X ± EE [IC 95%]	SHAM (S) n=4 X ± EE [IC 95%]	EDY n=4 X ± EE [IC 95%]	Prueba ANOVA <i>p</i>
Variación de peso (gr)	71.75 ± 8.87 [43.5; 99.9]	53.5 ± 4.94 [37.8; 69.2]	20.6 ± 13.1* [0; 76.7]	0.0126	111 ± 13.54 [67.9; 154.1]	102.0 ± 16.5 [49.5; 154.5]	33.2 ± 4.76** [18.0; 48.3]	0.0035
Glucemia (mg/dL)	117.2 ± 3.49 [106.1; 128.3]	121.7 ± 2.78 [112.8; 130.]	119 ± 9.86 [76.5; 161.4]	0.823	128 ± 4.38 [114.1; 141.9]	131.75 ± 4.92 [100.0; 163.3]	118.25 ± 1.93 [112.0; 124.3]	0.3471
Hematocrito (%)	46 ± 1.08 [42.5; 49.4]	47.5 ± 2.21 [40.4; 54.5]	46.67 ± 0.88 [42.9; 50.4]	0.7977	52.25 ± 1.25 [48.2; 56.2]	50 ± 2.2 [43.0; 56.9]	47.5 ± 1.26 [43.5; 51.5]	0.1757
Peso del ciego (gr)	1.43 ± 0.13 [1.03; 1.82]	1.2 ± 0.07 [0.97; 1.42]	1.74 ± 0.09* [1.36; 2.11]	0.0204	1.89 ± 0.28 [0.99; 2.78]	2.06 ± 0.36 [0.91; 3.20]	2.01 ± 0.18 [1.43; 2.58]	0.9123
Peso hígado (gr)	11.04 ± 0.63 [9.0; 12.9]	12.37 ± 0.38 [11.2; 13.6]	11.66 ± 0.28 [10.4; 12.9]	0.1914	14.61 ± 0.8 [12.1; 17.1]	15.81 ± 0.86 [13.1; 18.5]	10.64 ± 0.69** [8.4; 12.8]	0.0030
ALT (U/L)	34.5 ± 7.19 [11.6; 57.4]	40.5 ± 5.42 [23.2; 57.7]	58.67 ± 14.19 [0; 119.6]	0.1483	31.5 ± 4.27 [17.9; 45.1]	33.5 ± 3.52 [22.3; 44.7]	56.5 ± 17.0 [2.4; 110.6]	0.2186
AST (U/L)	133.75 ± 21.9 [64.0; 203.4]	204.75 ± 35.5 [91.8; 317.7]	123.3 ± 19.3 [40.2; 206.4]	0.1398	124.7 ± 16.5 [72.1; 177.3]	139 ± 23.0 [65.7; 212.3]	131.5 ± 16.5 [79.1; 183.9]	0.8697
Colesterol (mg/dL)	89.25 ± 2.69 [80.7; 97.8]	97 ± 3.24 [86.7; 107.3]	78.33 ± 10.17 [34.6; 122.0]	0.1151	72 ± 4.8 [56.7; 87.3]	75.75 ± 2.69 [67.1; 84.3]	71 ± 6.49 [50.9; 92.2]	0.8323
Triglicéridos (mg/dL)	73.25 ± 7.12 [50.5; 96.0]	84.25 ± 7.58 [60.1; 108.4]	70.67 ± 2.96 [0; 172.9]	0.3670	97.75 ± 23.79 [22.0; 173.5]	127.5 ± 12.45 [87.9; 167.1]	63.5 ± 8.5 [36.4; 90.5]	0.0610
Fe hepático (µg/gr tejido)	299.11 ± 22.0 [229.1; 369.1]	326.3 ± 19.0 [265.8; 386.8]	129.1 ± 18.5** [49.7; 208.5]	0.0004	402.7 ± 154.7 [0; 895.0]	315.3 ± 41.5 [183.4; 447.2]	246.9 ± 20.5 [‡] [181.8; 311.9]	0.5211

Prueba post-hoc Tukey. Grupo SF: Variación del peso: *C vs EDY: $p=0.010$, S vs EDY: $p=0.079$; Peso del ciego: *S vs EDY: $p=0.016$; Fe hepático: *C vs EDY $p=0.001$; *S vs EDY $p=0.0001$. Grupo CF: Variación del peso: *C vs EDY: $p=0.005$; *S vs EDY: $p=0.010$. Peso hígado: *C vs EDY: $p=0.015$; *S vs EDY: $p=0.003$; Triglicéridos: S vs EDY: $p=0.051$. Fe hepático: [‡]CF vs SF $p=0.009$.

Variación del peso corporal, peso hepático y peso del ciego

La variación del peso corporal osciló entre $20,6 \pm 13,1$ g y $109,5 \pm 11,9$ g. Esta variación de peso corporal mostró diferencias significativas entre los grupos tanto en ausencia como en presencia de sobrecarga férrica. En el grupo sin sobrecarga férrica, el ANOVA evidenció diferencias significativas ($p = 0.0126$), observándose una menor ganancia de peso en el grupo sometido a exclusión duodeno-yeyunal (EDY) en comparación con el grupo control ($20,66 \pm 13,14$ g vs $71,75 \pm 8,87$ g; $p = 0.010$), mientras que la diferencia respecto del grupo sham no alcanzó significación estadística ($20,66 \pm 13,14$ g vs $53,5 \pm 4,94$ g; $p = 0.079$). En el grupo con sobrecarga férrica, el ANOVA también mostró diferencias significativas ($p = 0.0035$), con una reducción marcada de la ganancia ponderal en el grupo EDY respecto de los grupos control ($33,2 \pm 4,76$ g vs $111 \pm 13,54$ g; $p = 0.005$) y sham ($33,25 \pm 4,76$ g vs $102 \pm 16,5$ g; $p = 0.010$). No se encontró diferencia significativa entre las ratas EDY de ambos grupos.

El peso hepático presentó valores comprendidos entre $10,64 \pm 0,69$ g y $15,81 \pm 0,86$ g. El peso hepático no presentó diferencias significativas entre los grupos sin sobrecarga férrica ($p = 0.1914$); sin embargo, en presencia de sobrecarga férrica, el ANOVA mostró diferencias significativas ($p = 0.0030$), observándose un menor peso hepático en el grupo EDY en comparación con los grupos control ($10,64 \pm 0,69$ g vs $14,61 \pm 0,8$ g; $p = 0.015$) y sham ($10,64 \pm 0,69$ g vs $15,81 \pm 0,86$ g; $p = 0.003$). No se encontró diferencia significativa entre las ratas EDY de ambos grupos.

El peso del ciego se situó entre $1,2 \pm 0,07$ g y $2,06 \pm 0,36$ g. El peso del ciego mostró diferencias significativas únicamente en el grupo sin sobrecarga férrica ($p = 0.0204$), con valores mayores en el grupo EDY en comparación con el grupo sham ($2,06 \pm 0,36$ g vs $1,2 \pm 0,07$ g; $p = 0.016$), mientras que no se observaron diferencias en el grupo con sobrecarga férrica ($p = 0.9123$). No se encontró diferencia significativa entre las ratas EDY de ambos grupos.

Hematocrito y bioquímica sanguínea

El hematocrito varió entre $46 \pm 1,08$ % y $52,25 \pm 1,25$ %. La glucemia varió entre $117,25 \pm 3,49$ mg/dL y $131,75 \pm 9,96$ mg/dL. No se observaron diferencias significativas entre los grupos para hematocrito ni glucemia, independientemente de la condición de sobrecarga férrica ($p > 0.05$).

ALT varió entre $31,5 \pm 4,27$ U/L y $58,67 \pm 14,19$ U/L; y la AST varió entre $123,33 \pm 19,33$ U/L y $204,75 \pm 35,48$ U/L. Las actividades séricas de ALT y AST no mostraron diferencias significativas entre los grupos, tanto en ausencia como en presencia de sobrecarga férrica ($p > 0.05$).

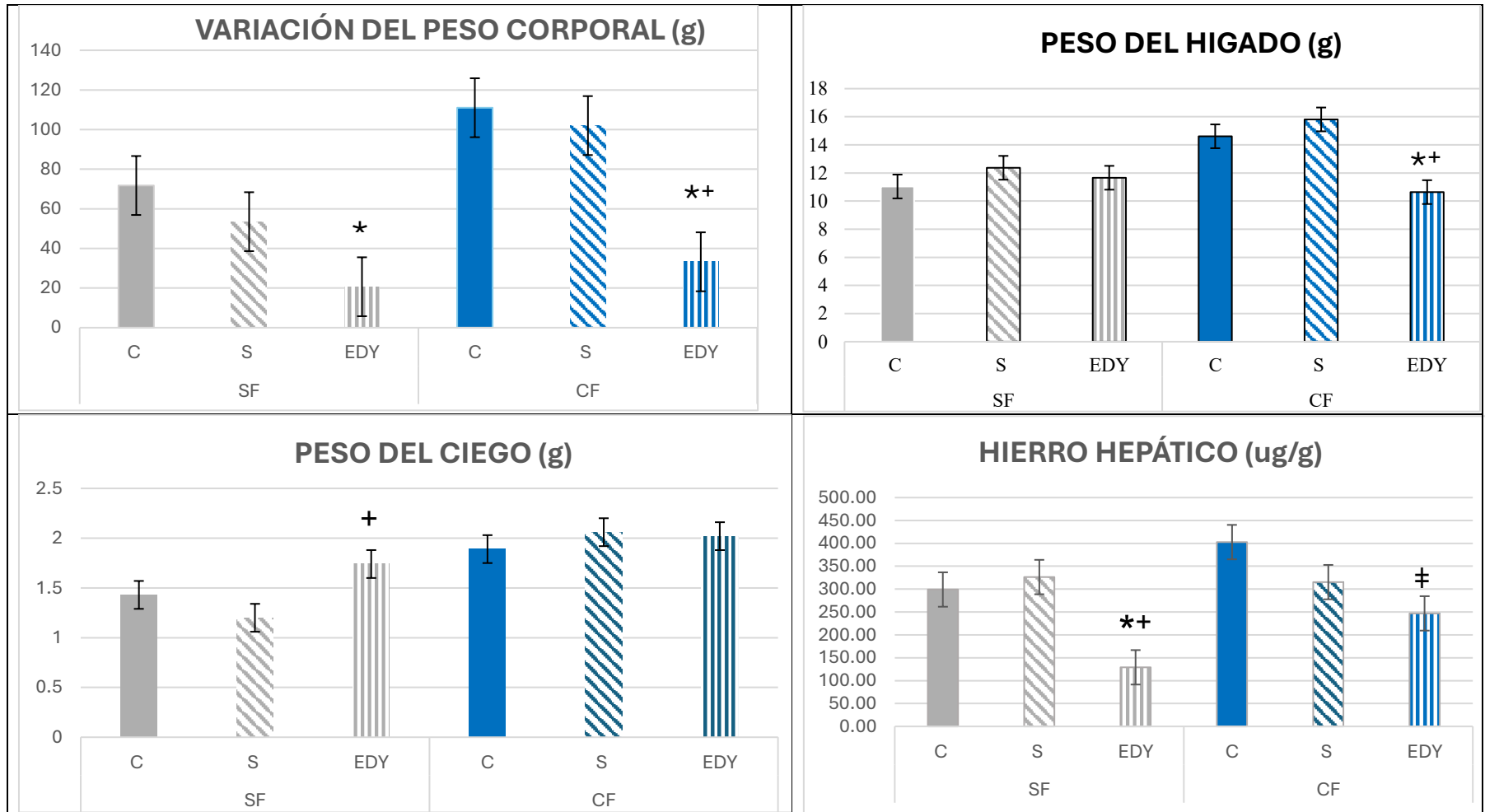
Los valores de colesterol sérico variaron entre $71 \pm 6,40$ mg/dL y $97 \pm 3,24$ mg/dL. Los triglicéridos séricos variaron entre $63,5 \pm 8,5$ mg/dL y $127,5 \pm 12,45$ mg/dL. Los niveles de colesterol no presentaron diferencias significativas entre los grupos en ninguna de las condiciones experimentales ($p > 0.05$). En cuanto a los triglicéridos, no se observaron diferencias significativas en el grupo sin sobrecarga férrica ($p = 0.3670$); en el grupo con sobrecarga férrica se observó una tendencia a la significación estadística ($p = 0.061$), con una diferencia marginal entre los grupos sham y EDY ($127,5 \pm 12,45$ mg/dL vs $63,5 \pm 8,5$ mg/dL; $p = 0.051$).

No se encontraron diferencias significativas entre las ratas EDY de ambos grupos ni en el hematocrito, ni en los valores de glucemia, ALT, AST, colesterol y triglicéridos.

Hierro hepático

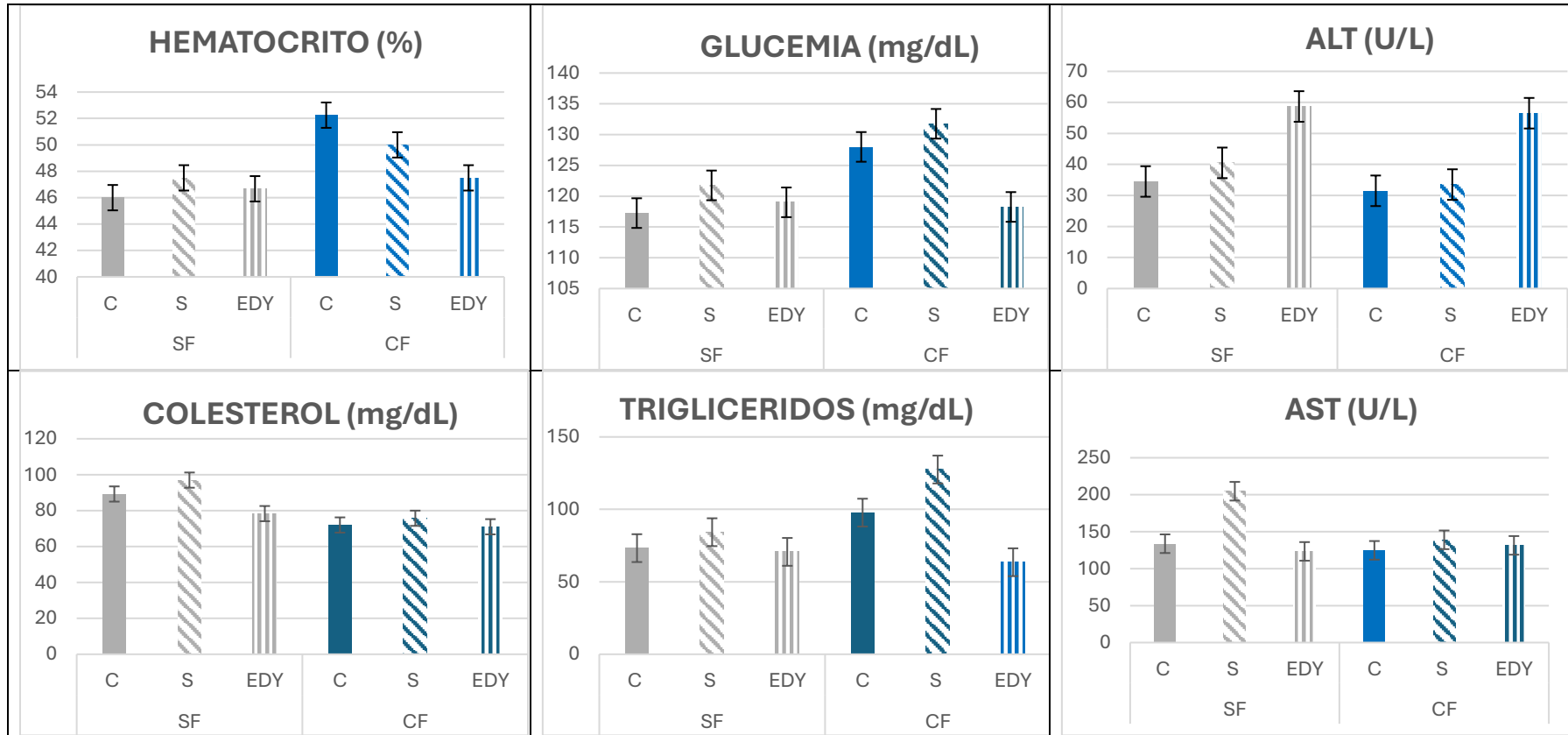
El hierro hepático varió entre 129.1 ± 18.5 ug/g y 402.7 ± 154.7 ug/g. El contenido de hierro hepático mostró diferencias altamente significativas entre los grupos sin sobrecarga férrica ($p = 0.0004$), evidenciándose una reducción marcada en el grupo EDY en comparación con los grupos control (129.1 ± 18.5 ug/g vs 299.11 ± 22.0 ug/g; $p = 0.001$) y sham (129.1 ± 18.5 ug/g vs 326.3 ± 19.0 ug/g; $p = 0.0001$). En el grupo con sobrecarga férrica, no se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p = 0.5211$). No obstante, al comparar el grupo EDY entre ambas condiciones experimentales, se observó un aumento significativo del hierro hepático en presencia de sobrecarga férrica respecto de la condición sin sobrecarga (2459.63 ± 204.71 ug/g vs 1291.26 ± 184.61 ug/g ; $p = 0.009$).

Figura 5. Variación del peso corporal, peso del hígado, peso del ciego y hierro hepático



Grupos Control (C), Sham (S), EDY; sin sobrecarga de hierro (SF), con sobrecarga de hierro (CF). Las comparaciones se realizaron mediante ANOVA de dos vías seguido del test post hoc de Tukey. * $p < 0,05$ vs C; + $p < 0,05$ vs S; ‡ $p < 0,05$ vs EDY (SF).

Figura 6. Hematocrito, glucemia, ALT/AST, colesterol sérico, y triglicéridos séricos.

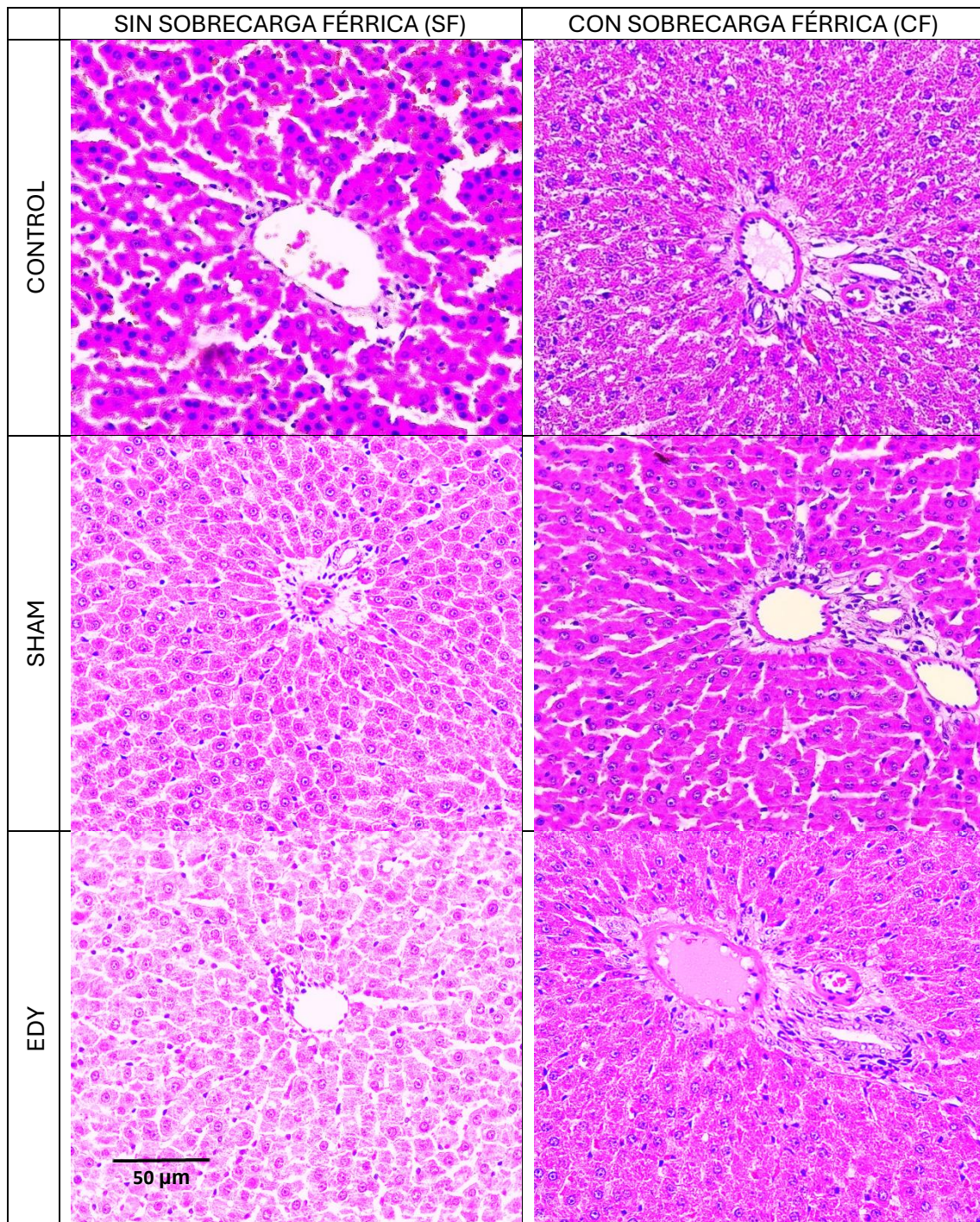


Grupos Control (C), Sham (S), EDY; sin sobrecarga de hierro (SF), con sobrecarga de hierro (CF). Las comparaciones se realizaron mediante ANOVA de dos vías seguido del test post hoc de Tukey. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

Histología

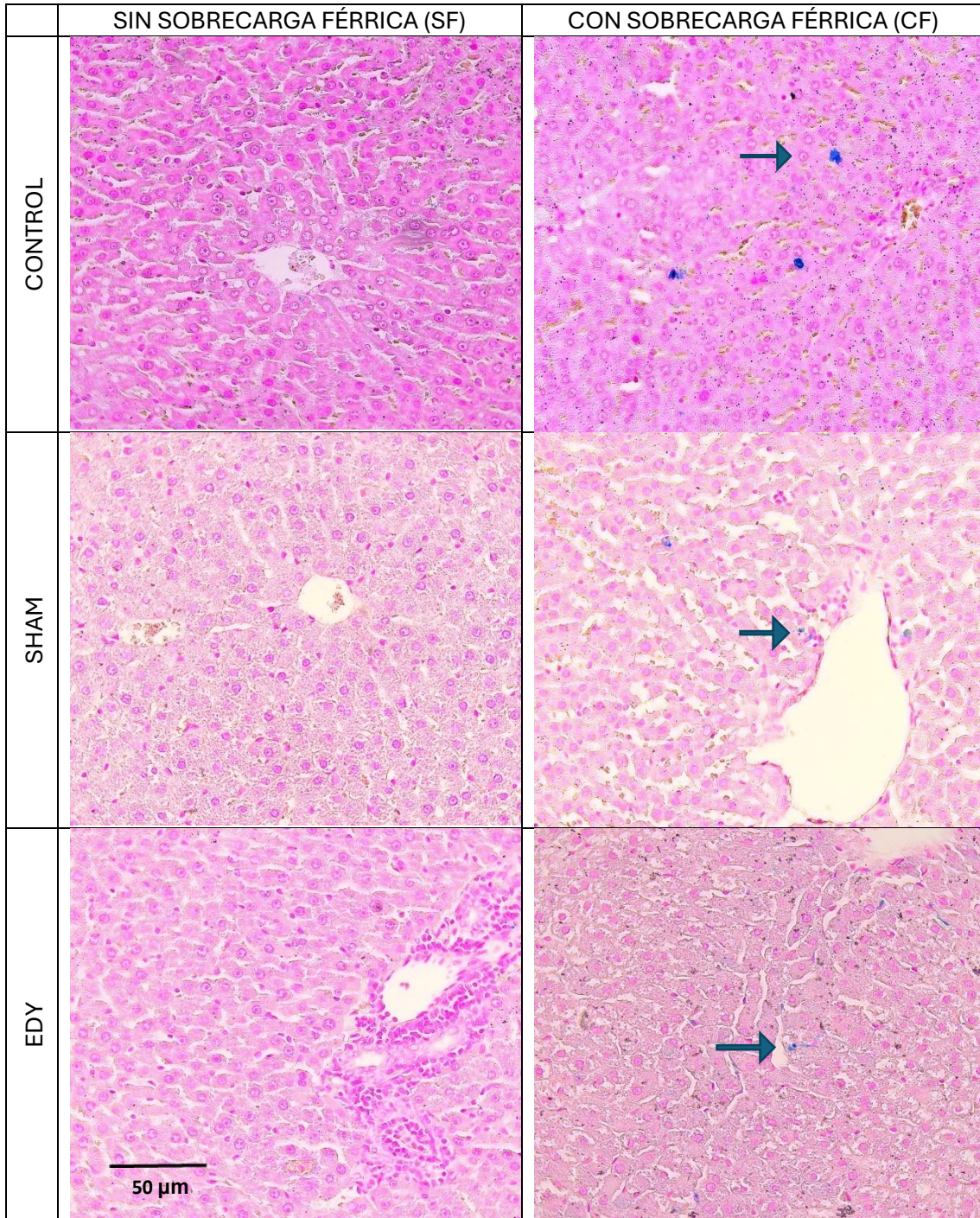
No se encontraron alteraciones estructurales a la microscopía óptica en las muestras histopatológicas de hígado y ciego teñidas con HE en ninguno de los grupos (Figura 7A y 8A). En las muestras de hígado teñidas con HE de las ratas EDY de ambos grupos se evidenció vacuolización periférica leve. En las muestras de hígado con tinciones con Azul de Prusia se observó presencia de hierro en las ratas control, sham y EDY del grupo con sobrecarga férrica (flechas) (Figura 7B). No se observó presencia de hierro en las muestras de ciego del grupo con sobrecarga férrica (Figura 8B).

Figura 7 A. Cortes histológicos de hígado teñidos con Hematoxilina-Eosina.



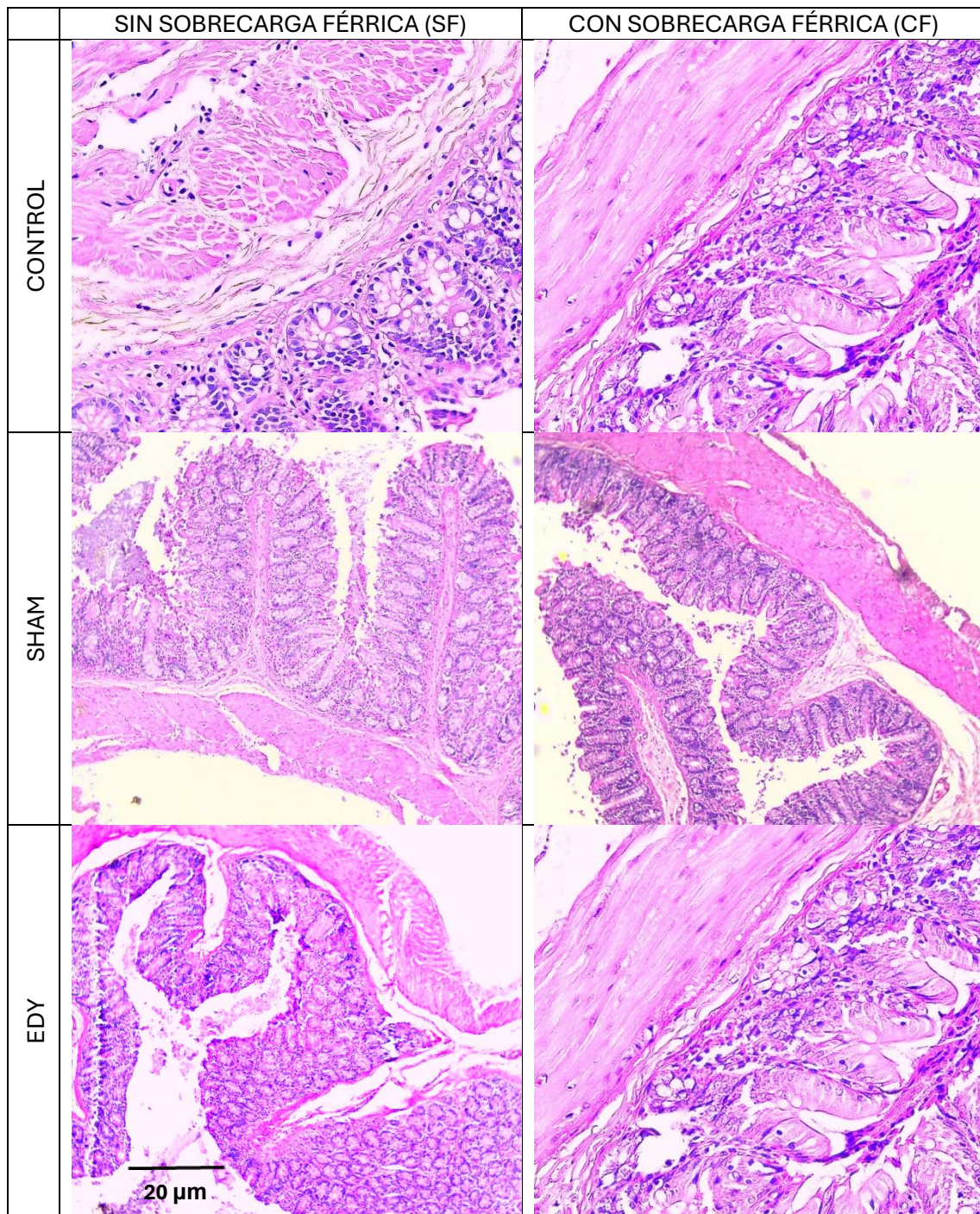
Todas las imágenes fueron obtenidas a 40x. Barra de escala = 50 μm.

Figura 7 B. Cortes histológicos de hígado teñidos con Azul de Prusia. La flecha indica presencia de hierro.



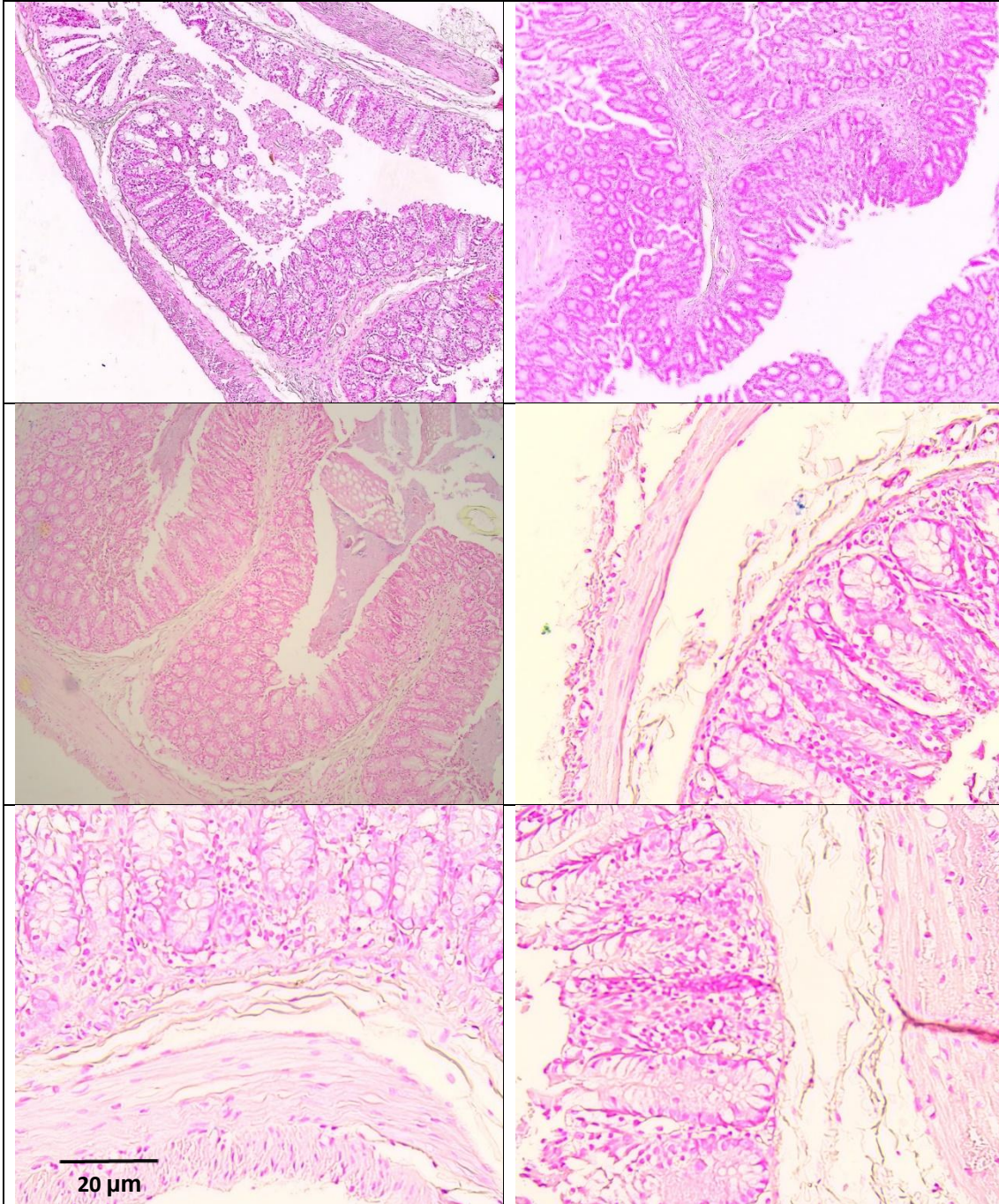
Todas las imágenes fueron obtenidas a 40x. Barra de escala = 50 μm.

Figura 8 A. Cortes histológicos de ciego teñidos con Hematoxilina-Eosina.



Todas las imágenes fueron obtenidas a 100×. Barra de escala = 20 μm.

Figura 8 B Cortes histológicos de ciego teñidos con Azul de Prusia.



Todas las imágenes fueron obtenidas a 100×. Barra de escala = 20 μm

DISCUSIÓN

El presente estudio se enmarca en un enfoque experimental, orientado a caracterizar el impacto de la exclusión duodeno-yeyunal sobre el metabolismo del hierro en un modelo controlado. Hasta donde alcanza nuestro conocimiento, no existen estudios previos que evalúen específicamente el efecto de la EDY sobre la acumulación de hierro hepático en ratas no obesas ni diabéticas expuestas a una ingesta elevada de hierro.

Tamaño muestral y pérdidas experimentales

Desde el punto de vista estadístico, el tamaño muestral utilizado se considera adecuado para detectar diferencias biológicamente relevantes en la variable primaria del estudio, el contenido de hierro hepático. Asumiendo una diferencia mínima esperada del 25–30% entre grupos y una desviación estándar relativa cercana al 20–25%, valores habituales en estudios experimentales de metabolismo férrico, un tamaño muestral de cuatro animales por grupo permite identificar efectos de magnitud moderada a grande, particularmente en modelos con intervención quirúrgica y control estricto de las condiciones experimentales (105,106).

Las pérdidas experimentales observadas son inherentes a modelos quirúrgicos complejos y han sido ampliamente documentadas en estudios de cirugía digestiva en roedores. En el presente trabajo, dichas pérdidas ocurrieron mayoritariamente en el período postoperatorio temprano y no se asociaron con la variable de resultado principal, la cual fue evaluada al final del protocolo experimental.

En este contexto, las pérdidas pueden considerarse esencialmente aleatorias y su principal efecto potencial es una reducción del poder estadístico, incrementando el riesgo de error tipo II (la posibilidad de no detectar diferencias reales entre los grupos analizados), sin introducir un sesgo sistemático que comprometa la validez interna de las comparaciones entre grupos (105,106).

Finalmente, el diseño progresivo del reclutamiento permitió equilibrar las exigencias éticas de reducción del número de animales con la necesidad de obtener información experimental relevante en un modelo quirúrgico de alta complejidad, reforzando la solidez metodológica del estudio dentro de su marco experimental.

Modelo de EDY

Los resultados del presente estudio muestran que la mortalidad asociada al modelo de EDY se encuentra dentro de los rangos reportados en la literatura para cirugías metabólicas en roedores, donde las muertes durante la anestesia y el postoperatorio temprano representan un porcentaje significativo de las pérdidas experimentales (96,107,108). La sensibilidad variable al anestésico intraperitoneal y la complejidad inherente de la manipulación gastrointestinal pueden contribuir a estos desenlaces.

El tiempo quirúrgico estable entre animales sugiere adecuada estandarización técnica, elemento fundamental para la reproducibilidad experimental. Las complicaciones intraoperatorias observadas fueron leves y comparables a las descritas en modelos similares, lo cual respalda la factibilidad del procedimiento (96).

La homogeneidad del segmento excluido es un aspecto crítico del modelo, dado que variaciones en la longitud del asa pueden modificar la magnitud de los efectos

metabólicos. La constancia en esta medición fortalece la validez interna del estudio. Finalmente, la reproducibilidad obtenida confirma que este modelo quirúrgico puede aplicarse de manera consistente para evaluar alteraciones fisiológicas o metabólicas en investigaciones posteriores.

Efectos sobre el peso corporal y hepático

En nuestro estudio, la ingesta de altas dosis de hierro aumentó significativamente el peso corporal y el peso del hígado en las ratas control y sham. Este resultado puede variar dependiendo del modelo de estudio, de la dosis y del tiempo de administración (47,48)

En ratas no obesas y no diabéticas, la ingesta oral elevada de hierro puede aumentar el peso, promover la acumulación de grasa (esteatosis), y empeorar la salud metabólica al aumentar el estrés oxidativo, lo que lleva a una tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina deterioradas, incluso sin diabetes u obesidad preexistentes, lo que sugiere que la sobrecarga de hierro en sí misma altera el metabolismo y la función tisular, impactando el peso corporal y la distribución de la grasa (69,70).

La EDY disminuyó el peso corporal en ambos grupos (con y sin hierro) de manera similar. Este efecto es consistente con la mayoría de los estudios en ratas no obesas sometidas a EDY, donde la reducción de peso no se debe principalmente a la disminución del tamaño de la cámara gástrica, sino a otros mecanismos (85,86). Es notable que la EDY logró reducir el peso corporal de las ratas con sobrecarga de hierro a niveles similares a los del grupo sin hierro.

El aumento del peso del hígado en dietas con exceso de hierro puede ser resultado de sobrecarga hepática con depósitos de hierro en hepatocitos y células de Kupffer, estrés

oxidativo que estimula citoquinas proinflamatorias (llevando a hipertrofia, infiltrado inflamatorio y fibrosis incipiente), y en algunos casos, acumulación de grasa (esteatosis) (109). La EDY disminuyó el peso hepático exclusivamente en el grupo con hierro, lo que sugiere un posible efecto protector o modulador de la EDY en el hígado sobrecargado de hierro.

Efectos sobre el peso del ciego

Observamos un aumento del peso del ciego, sin alteraciones histológicas al microscopio óptico, tanto con la administración de altas dosis de hierro como con la EDY. Cuando se administra hierro en exceso, una porción significativa del hierro no absorbido llega al ciego, lo que puede alterar el microbioma, provocar hiperplasia e hipertrofia de la mucosa, y activar mecanismos inflamatorios leves con infiltrado celular y engrosamiento de la mucosa (110–112).

La EDY, como modelo de malabsorción, se asoció con un aumento del peso del ciego en ambos grupos, siendo este aumento incluso mayor que el observado en las ratas control y sham. Esto puede deberse a adaptaciones fisiológicas y microbiológicas del intestino grueso en respuesta a cambios en el tránsito intestinal y la absorción. El aumento del contenido no digerido en el ciego puede promover la proliferación bacteriana y la fermentación colónica, así como cambios en la motilidad intestinal con hipertrofia compensatoria (113). Los efectos más comunes incluyen cambios en el pH cecal, alteraciones en el microbiota y el metabolismo de ácidos grasos de cadena corta, con una posible absorción compensatoria de agua y electrolitos. Estos efectos se magnifican cuando la EDY se combina con una alta ingesta de hierro (114).

Impacto en enzimas hepáticas y perfil metabólico

La ALT es una transaminasa citosólica altamente específica del hepatocito, y su elevación sérica refleja daño o lesión hepatocelular. En este sentido, el aumento de ALT observado en las ratas sometidas a exclusión duodeno-yeyunal (EDY) en ambos grupos sugiere la presencia de algún grado de injuria hepatocelular asociada al procedimiento quirúrgico.

Sin embargo, este hallazgo debe interpretarse en el contexto del modelo experimental. En primer lugar, no se observó elevación de ALT en las ratas control ni sham del grupo con sobrecarga férrica, lo que concuerda con la literatura que indica que ratas no obesas, no diabéticas y sin enfermedad hepática preexistente pueden acumular hierro hepático sin desarrollar aumento de transaminasas, particularmente en ausencia de inflamación o fibrosis significativa (115).

En segundo lugar, no existen reportes consistentes de elevación de ALT inducida por EDY per se, salvo en modelos combinados con dietas altas en grasa, exposición a tóxicos hepáticos o inflamación intestinal severa, como colitis experimental (116). Esto sugiere que la EDY aislada no induce necesariamente un daño hepático estructural severo.

En este contexto, la elevación de ALT observada en las ratas EDY podría estar relacionada con alteraciones metabólicas y nutricionales secundarias al procedimiento, más que con un daño hepatocelular progresivo o irreversible. Se ha descrito que la EDY puede asociarse indirectamente con vacuolización citoplasmática de los hepatocitos, predominantemente en zonas periportales, posiblemente como consecuencia de ayuno prolongado, restricción calórica postoperatoria y cambios en el metabolismo hepático (117). Este tipo de vacuolización, generalmente reversible, puede acompañarse de

liberación transitoria de enzimas hepáticas sin que ello implique necrosis hepatocelular franca.

Por lo tanto, si bien la elevación de ALT en las ratas EDY indica la presencia de una injuria hepatocelular leve, este hallazgo parece estar más vinculado a los efectos metabólicos y nutricionales del baipás intestinal que a la sobrecarga férrica o a un daño hepático inflamatorio significativo.

Con respecto al perfil metabólico, la glucemia se mantuvo y los triglicéridos (TG) aumentaron en el grupo con hierro. Altas dosis de hierro, especialmente con acumulación hepática, pueden contribuir al aumento de los triglicéridos séricos (118), aunque el mecanismo exacto no está completamente dilucidado.

El exceso de hierro en el hígado genera radicales libres que dañan los hepatocitos e interfieren con el metabolismo lipídico, aumentando la síntesis de TG y su liberación al plasma (48). Además, el exceso de hierro se ha asociado con resistencia a la insulina, lo que favorece niveles elevados de TG y otros desórdenes metabólicos (47).

A diferencia de la literatura (119), no encontramos una relación entre la alta ingesta de hierro y el aumento del colesterol sérico en nuestro estudio. La acumulación de hierro tiene una relación compleja y multifactorial con el metabolismo del colesterol, afectando la expresión de genes implicados en su síntesis y excreción (como SREBP y LXR) y desbalanceando el perfil lipídico (120).

Los dos eventos conocidos de las técnicas de baipás intestinal son la disminución de la glucemia y de los triglicéridos séricos (121). En nuestro trabajo, la disminución de ambos se observó en el grupo con hierro. El aumento previo de los triglicéridos asociado a la

sobrecarga de hierro también es consistente con la capacidad de la EDY para disminuirlos.

Efectos sobre el hierro hepático y el hematocrito

En las ratas EDY sin sobrecarga férrica, se observó una disminución significativa del hierro hepático, lo que podría reflejar una respuesta adaptativa orientada a sostener la eritropoyesis en un contexto de absorción intestinal comprometida. La exclusión del duodeno y el yeyuno proximal —principales sitios de absorción del hierro no hemo— reduce el ingreso de hierro dietético y puede inducir una movilización parcial de los depósitos hepáticos para mantener la disponibilidad sistémica de hierro. Este mecanismo ha sido descrito en modelos experimentales en roedores, en los que la disminución de la absorción intestinal se asocia con cambios en la regulación de la hepcidina hepática y de la ferroportina intestinal y macrofágica, favoreciendo la liberación de hierro desde los depósitos tisulares (25,122).

Estudios experimentales han demostrado que la alteración del tránsito intestinal y la reducción del contacto del hierro dietético con el intestino proximal inducen modificaciones significativas en el balance corporal del hierro. Modelos murinos han demostrado que modificaciones en la absorción intestinal proximal tienen un impacto significativo en el balance corporal del hierro y los parámetros hematológicos. Por ejemplo, ratones con deficiencia de *Ptpn2* muestran reducción de hierro no hemo en el duodeno y yeyuno, junto con disminución de las reservas corporales de hierro y características de anemia, lo que indica que una menor captación de hierro en el intestino proximal compromete la homeostasis del hierro corporal (123).

Además, investigaciones en modelos murinos con alteraciones en la regulación de hierro mediante hepcidina/ferroportina han confirmado que la absorción de hierro en el intestino proximal correlaciona estrechamente con los niveles sistémicos de hierro y los parámetros hematológicos, subrayando la dependencia del estado del hierro respecto de la integridad funcional de esta región intestinal (124).

En el presente estudio la EDY en el grupo con sobrecarga férrica indujo una disminución significativa del hematocrito, confirmando el impacto funcional de la exclusión intestinal sobre el estado hematológico. En este mismo grupo se observó una reducción leve, aunque no estadísticamente significativa, del hierro hepático, la cual no fue suficiente para evitar la persistencia de depósitos férricos evidenciables en el análisis histopatológico hepático. Estos resultados sugieren que, si bien la EDY limita el ingreso intestinal de hierro, no promueve una movilización hepática suficiente como para revertir una sobrecarga férrica previamente establecida dentro del período experimental evaluado.

Estos hallazgos experimentales son consistentes con observaciones clínicas y preclínicas. En humanos, el estudio Swedish Obese Subjects (SOS) reportó un aumento significativo en la prevalencia de anemia por deficiencia de hierro tras el baipás gástrico en pacientes obesos (125). De manera concordante, Griffin et al. demostraron en un modelo experimental de ratas obesas sometidas a baipás gástrico una disminución marcada del hierro sérico y el desarrollo de anemia severa, particularmente en hembras (126).

En conjunto, esta evidencia indica que, si bien la EDY puede modular el metabolismo del hierro y limitar su absorción intestinal, también conlleva un riesgo de deficiencia férrica a largo plazo, lo que resulta especialmente relevante al considerar su potencial aplicación terapéutica fuera del contexto de la obesidad.

Discusión comparativa con la literatura

Nuestros resultados en ratas no obesas con sobreingesta de hierro —caracterizados por aumento del peso corporal, hierro hepático, hematocrito, peso del hígado y del ciego, disminución del colesterol sérico y aumento de triglicéridos— muestran tanto similitudes como diferencias con los hallazgos previamente reportados en modelos experimentales de sobrecarga férrica. Estas discrepancias pueden atribuirse, al menos en parte, a diferencias metodológicas relevantes entre estudios, particularmente en relación con la dosis administrada, la forma química del hierro y la duración de la exposición, así como al modelo específico de administración empleado.

En el presente estudio, se optó por la administración de 6 mg de hierro elemental por sonda orogástrica durante 30 días, una estrategia diseñada deliberadamente para inducir una sobreingesta férrica moderada sin provocar alteraciones estructurales intestinales significativas que pudieran interferir con la interpretación de los efectos de la EDY. Esta aproximación difiere de otros estudios que emplearon dietas enriquecidas en hierro o dosis más altas y/o períodos de exposición más prolongados, condiciones asociadas a cambios histológicos intestinales y hepáticos más marcados.

En este sentido, Dongiovanni et al. (47) observaron en ratones un aumento del hierro hepático, de la expresión de hepcidina y de los niveles séricos de glucosa y triglicéridos, junto con resistencia a la insulina. Sin embargo, a diferencia de nuestros hallazgos, reportaron una disminución del peso corporal, lo cual podría explicarse por diferencias en la especie (ratón vs. rata), en el tipo de dieta utilizada y en el metabolismo energético inducido por el hierro en un contexto metabólico distinto.

Por su parte, Lobo et al. (127) describieron alteraciones de la mucosa cecal en ratas alimentadas con dietas ricas en hierro a partir de la cuarta semana de exposición, lo que contrasta con nuestro modelo, en el cual no se observaron cambios estructurales intestinales evidentes, probablemente debido a la duración limitada del tratamiento y a la forma de administración controlada por sonda, evitando una exposición luminal continua elevada.

Valenzuela et al. (48) reportaron esteatosis hepática y elevación de transaminasas sin cambios en el peso corporal ni hepático, mientras que Fang et al. (128) describieron estrés oxidativo y alteraciones estructurales intestinales y hepáticas tras exposiciones más intensas o prolongadas al hierro. En conjunto, estos resultados sugieren que la severidad del daño hepático e intestinal depende críticamente de la dosis acumulativa y del tiempo de exposición, lo que concuerda con la ausencia de daño estructural severo en nuestro modelo.

De manera concordante, Gujja-Poma et al. (129), en un estudio realizado en ratas albinas Holtzman, administraron 4 mg de hierro elemental como sulfato ferroso asociado a vitamina C durante 7 días, observando cambios histológicos hepáticos más pronunciados que aquellos inducidos por hierro hemo. Estas diferencias resaltan la importancia de la forma química del hierro y de cofactores que potencian su absorción, aspectos que no estuvieron presentes en nuestro protocolo y que podrían explicar la menor severidad del daño hepático observado.

Nuestros resultados muestran que la exclusión duodeno-yeyunal no previno completamente la acumulación de hierro hepático en ratas no obesas ni diabéticas con sobreingesta de hierro, a pesar de que el duodeno y el yeyuno proximal constituyen los

principales sitios de absorción del hierro no hemo. Este hallazgo sugiere la existencia de mecanismos compensatorios de absorción en segmentos intestinales distales (130) o la persistencia de señales reguladoras de la absorción en el intestino remanente, como ha sido sugerido en estudios clínicos en mujeres sometidas a baipás gástrico (8).

Asimismo, el hecho de que nuestro modelo de EDY preservara el estómago implica el mantenimiento de un medio gástrico ácido, condición que favorece la solubilización y absorción del hierro (131,132), lo que podría contribuir a explicar la persistencia de la acumulación hepática observada.

El aumento del peso hepático en las ratas con sobrecarga férrica podría relacionarse principalmente con la acumulación de lípidos intrahepáticos (133), más que con un aumento del colesterol, lo que se refleja en la elevación de los triglicéridos séricos. Por otro lado, la elevación de ALT observada en los grupos EDY, independientemente de la ingesta de hierro, podría estar vinculada a vacuolización hepatocelular leve asociada al ayuno preoperatorio y a la restricción dietética postoperatoria (134).

El aumento del peso del ciego en las ratas EDY sin sobrecarga férrica sugiere la acumulación de alimento baipaseado, y en las ratas con sobrecarga de hierro además de la acumulación del alimento baipaseado el hierro no absorbido, lo que potencialmente podría inducir, a largo plazo, alteraciones estructurales de la mucosa colónica (111) y modificaciones en la microbiota intestinal (112).

Finalmente, aunque diversos estudios clínicos han reportado una mejora en la homeostasis del hierro en pacientes obesos con hemocromatosis tras cirugía bariátrica (85), este efecto no se observó de manera completa en nuestro modelo experimental. Esto

podría explicarse por el hecho de que, en pacientes obesos, los beneficios metabólicos globales de la cirugía —incluyendo la pérdida de peso, la mejora de la homeostasis glucídica y la reducción de la inflamación sistémica— contribuyen de forma significativa a la regulación del metabolismo del hierro, efectos que son menos pronunciados en un modelo de ratas no obesas.

Limitaciones del estudio

La mortalidad post operatoria. En el grupo de EDY fue del 50%, lo que limitó el número de animales en el grupo de estudio. Esto podría haber limitado la potencia estadística, especialmente para diferencias no significativas entre grupos EDY.

La duración limitada del experimento. El período de exposición puede ser insuficiente para evidenciar completamente los efectos acumulativos del hierro o las posibles adaptaciones intestinales a la EDY.

Ausencia de cuantificación directa de absorción intestinal: no se midió la absorción intestinal directa de hierro, lo que impide establecer una relación causal definitiva entre la EDY y la reducción en la absorción.

Evaluación histológica limitada: la evaluación se realizó sólo mediante microscopía óptica y tinciones convencionales. Cambios subcelulares o inflamación leve podrían no haber sido detectadas sin técnicas más sensibles como inmunohistoquímica o microscopía electrónica.

Sin análisis de expresión génica o proteica: no se midieron niveles de proteínas clave en el metabolismo del hierro, lo que limita la interpretación mecanística del efecto observado.

Dificultad para discriminar efectos de la EDY: algunos efectos observados podrían deberse a la cirugía más que a la EDY.

CONCLUSIONES

La EDY se asoció con una reducción de la acumulación hepática de hierro en comparación con animales no sometidos a exclusión intestinal, incluso en condiciones de sobreingesta férrica, lo que refuerza la importancia funcional del intestino proximal como principal sitio de absorción de este mineral.

La persistencia de hierro hepático en las ratas EDY con sobreingesta férrica sugiere la existencia de mecanismos compensatorios de absorción distal o adaptaciones en la fisiología intestinal.

La EDY afectó parámetros hematológicos, evidenciada por una disminución del hematocrito incluso en condiciones de sobreingesta férrica, lo que indica una menor biodisponibilidad funcional del hierro para la eritropoyesis.

La EDY se asoció con cambios metabólicos adicionales, incluyendo la reducción de la glucemia y de los triglicéridos séricos, efectos que podrían estar relacionados con alteraciones hormonales o modificaciones en el microbiota intestinal, aunque estos mecanismos no fueron evaluados directamente en el presente estudio.

A nivel hepático, se observaron signos de alteración funcional, como el aumento de ALT y vacuolización hepatocelular leve, sin evidencia de daño estructural agudo, lo que sugiere que la EDY podría inducir estrés metabólico hepático en ausencia de lesión histológica manifiesta.

Este modelo experimental podría constituir una herramienta útil para el estudio de trastornos asociados a la sobreingesta de hierro y otras condiciones fisiopatológicas

relacionadas con el metabolismo férrico, mediante la modulación controlada de la absorción intestinal.

Hipótesis mecánicas y proyecciones para investigaciones futuras

Dado que el presente estudio no incluyó mediciones directas de absorción intestinal, expresión de transportadores, regulación hormonal ni caracterización del microbiota, los mecanismos fisiológicos subyacentes a los efectos observados no pueden establecerse de manera concluyente. No obstante, a partir de los hallazgos obtenidos y de la evidencia disponible en la literatura, pueden plantearse hipótesis mecánicas de carácter teórico, que deberán ser evaluadas específicamente en estudios futuros.

Absorción compensatoria distal de hierro. En ausencia de un duodeno-yeyuno funcional, es posible que segmentos distales del intestino, como el íleon o incluso el colon, desarrollen mecanismos adaptativos que permitan una absorción parcial de hierro. Estos podrían involucrar cambios en la expresión o actividad de transportadores como DMT1 y ferroportina, fenómeno descrito en otros modelos de restricción de absorción proximal.

Reducción de la señalización hepcidina- ferroportina. La disminución de la absorción intestinal de hierro inducida por la EDY podría alterar la señalización hepática de hepcidina, reduciendo su expresión y desinhibiendo la ferroportina residual en el epitelio intestinal. Este mecanismo hipotético podría contribuir a explicar la persistencia de hierro circulante y su acumulación hepática parcial, aun tras la exclusión del intestino proximal.

Cambios en el microbiota y en productos de fermentación. El aumento del peso del ciego observado en los grupos EDY sugiere una mayor llegada de sustratos no absorbidos al intestino distal. Esto podría inducir modificaciones en la composición y actividad del microbiota intestinal, con mayor producción de metabolitos como ácidos grasos de

cadena corta, los cuales han sido implicados en la regulación del metabolismo hepático, la glucemia y el perfil lipídico.

Secreción alterada de hormonas intestinales. La exclusión del intestino proximal podría modificar la secreción de hormonas enteroendocrinas, como GIP, GLP-1 o PYY, lo que potencialmente contribuiría a los cambios observados en glucemia y triglicéridos. Estos efectos podrían reflejar una mejora en la sensibilidad insulínica o en el manejo metabólico postprandial, mecanismos descritos en otros contextos de cirugía intestinal.

Estrés hepático por alteración metabólica. Las alteraciones funcionales hepáticas observadas, como el aumento de ALT y la vacuolización hepatocelular leve, podrían relacionarse con un desequilibrio entre el flujo de nutrientes hacia el hígado y su capacidad de procesamiento metabólico. Este fenómeno podría verse exacerbado por cambios en el tránsito intestinal y en el manejo de lípidos, más que por un daño hepático estructural directo.

En conjunto, estas hipótesis proporcionan un marco conceptual para futuras investigaciones orientadas a dilucidar los mecanismos fisiológicos y moleculares que subyacen a los efectos de la exclusión duodeno-yeyunal sobre el metabolismo del hierro y el estado metabólico sistémico.

RECOMENDACIONES

La implementación de un seguimiento experimental más prolongado permitiría evaluar adaptaciones compensatorias tardías del intestino distal, así como los efectos hepáticos crónicos de la exclusión duodeno-yeyunal, incluyendo posibles cambios estructurales, inflamatorios o fibróticos que no son evidentes en protocolos de corta duración.

El aumento del número de animales por grupo permitiría fortalecer el poder estadístico del estudio y detectar diferencias de menor magnitud entre los grupos experimentales. Esto facilitaría la transición desde un diseño de caracterización inicial hacia estudios confirmatorios con hipótesis mecanísticas específicas.

La incorporación de técnicas que permitan cuantificar directamente la absorción intestinal, como el uso de hierro marcado isotópicamente o estudios de balance férrico, permitiría establecer relaciones causales entre la exclusión intestinal y la disminución de la biodisponibilidad del hierro.

El análisis de la expresión génica y/o proteica de mediadores clave del metabolismo del hierro, como hepcidina, DMT1, ferroportina y transferrina, tanto a nivel intestinal como hepático, permitiría esclarecer los mecanismos regulatorios implicados en la respuesta observada tras la EDY.

Estudios orientados a evaluar el tránsito intestinal, la capacidad absorptiva de los segmentos excluidos y no excluidos, así como la composición y función del microbiota intestinal, contribuirían a una comprensión más completa de las adaptaciones intestinales inducidas por la EDY.

La inclusión de grupos experimentales sometidos a resecciones intestinales parciales u otros tipos de derivaciones permitiría determinar si los efectos observados son específicos de la exclusión duodeno-yeyunal o representan una respuesta general a la alteración del tránsito intestinal proximal.

Dado que la EDY se asoció con cambios en el peso corporal, la glucemia y el perfil lipídico, futuros estudios deberían incorporar la medición de marcadores de estado nutricional, sensibilidad a la insulina e inflamación sistémica (como insulina, leptina, IL- 1β , TNF- α), con el fin de caracterizar de manera más precisa el impacto metabólico global de la intervención.

REFERENCIAS

1. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993–2005 | Public Health Nutrition | Cambridge Core [Internet]. [cited 2025 Nov 17]. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/public-health-nutrition/article/worldwide-prevalence-of-anaemia-who-vitamin-and-mineral-nutritioninformationsystem19932005/E201EDE33949AF3D632F6596052FCF8F>
2. Ganz T. Systemic iron homeostasis. *Physiol Rev*. 2013 Oct;93(4):1721–41. doi:10.1152/physrev.00008.2013 PubMed PMID: 24137020.
3. Liu Y, Li G, Lu F, Guo Z, Cai S, Huo T. Excess iron intake induced liver injury: The role of gut-liver axis and therapeutic potential. *Biomed Pharmacother*. 2023 Dec;168:115728. doi:10.1016/j.biopha.2023.115728
4. Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell*. 2004 Apr 30;117(3):285–97. doi:10.1016/s0092-8674(04)00343-5 PubMed PMID: 15109490.
5. Gesquiere I, Steenackers N, Lannoo M, Foulon V, Mertens A, Gils A, et al. Predicting iron absorption from an effervescent iron supplement in obese patients before and after Roux-en-Y gastric bypass: a preliminary study. *J Trace Elem Med Biol Organ Soc Miner Trace Elem*. 2019 Mar;52:68–73. doi:10.1016/j.jtemb.2018.12.002 PubMed PMID: 30732902.
6. Axelrod CL, Langohr I, Dantas WS, Heintz EC, Vandanmagsar B, Yang S, et al. Weight-independent effects of Roux-en-Y gastric bypass surgery on remission of nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Obes Silver Spring Md*. 2023 Dec;31(12):2960–71. doi:10.1002/oby.23876 PubMed PMID: 37731222; PubMed Central PMCID: PMC10895705.
7. Marambio A, Watkins G, Castro F, Riffo A, Zúñiga R, Jans J, et al. Changes in iron transporter divalent metal transporter 1 in proximal jejunum after gastric bypass. *World J Gastroenterol*. 2014 Jun 7;20(21):6534–40. doi:10.3748/wjg.v20.i21.6534 PubMed PMID: 24914374; PubMed Central PMCID: PMC4047338.
8. Ruz M, Carrasco F, Rojas P, Codoceo J, Inostroza J, Rebolledo A, et al. Iron absorption and iron status are reduced after Roux-en-Y gastric bypass. *Am J Clin Nutr*. 2009 Sep;90(3):527–32. doi:10.3945/ajcn.2009.27699 PubMed PMID: 19625680.
9. Dutt S, Hamza I, Bartnikas TB. Molecular Mechanisms of Iron and Heme Metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2022 Aug 22;42:311–35. doi:10.1146/annurev-nutr-062320-112625 PubMed PMID: 35508203; PubMed Central PMCID: PMC9398995.
10. Morgan EH, Oates PS. Mechanisms and Regulation of Intestinal Iron Absorption. *Blood Cells Mol Dis*. 2002 Nov;29(3):384–99. doi:10.1006/bcmd.2002.0578

11. Camaschella C, Nai A, Silvestri L. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era. *Haematologica*. 2020;105(2):260–72. doi:10.3324/haematol.2019.232124 PubMed PMID: 31949017; PubMed Central PMCID: PMC7012465.
12. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, et al. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab*. 2005 Mar;1(3):191–200. doi:10.1016/j.cmet.2005.01.003 PubMed PMID: 16054062.
13. Billesbølle CB, Azumaya CM, Kretsch RC, Powers AS, Gonen S, Schneider S, et al. Structure of hepcidin-bound ferroportin reveals iron homeostatic mechanisms. *Nature*. 2020 Oct;586(7831):807–11. doi:10.1038/s41586-020-2668-z PubMed PMID: 32814342; PubMed Central PMCID: PMC7906036.
14. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*. 2001 Mar 16;276(11):7806–10. doi:10.1074/jbc.M008922200 PubMed PMID: 11113131.
15. Sangkhae V, Nemeth E. Regulation of the Iron Homeostatic Hormone Hepcidin. *Adv Nutr Bethesda Md*. 2017 Jan;8(1):126–36. doi:10.3945/an.116.013961 PubMed PMID: 28096133; PubMed Central PMCID: PMC5227985.
16. Nemeth E, Ganz T. The Role of Hepcidin in Iron Metabolism. *Acta Haematol*. 2009;122(2–3):78–86. doi:10.1159/000243791
17. Stefanova D, Raychev A, Arezes J, Ruchala P, Gabayan V, Skurnik M, et al. Endogenous hepcidin and its agonist mediate resistance to selected infections by clearing non-transferrin-bound iron. *Blood*. 2017 Jul 20;130(3):245–57. doi:10.1182/blood-2017-03-772715
18. Kim A, Fung E, Parikh SG, Valore EV, Gabayan V, Nemeth E, et al. A mouse model of anemia of inflammation: complex pathogenesis with partial dependence on hepcidin. *Blood*. 2014 Feb 20;123(8):1129–36. doi:10.1182/blood-2013-08-521419 PubMed PMID: 24357728; PubMed Central PMCID: PMC9632791.
19. Nemeth E, Ganz T. Hepcidin and Iron in Health and Disease. *Annu Rev Med*. 2023 Jan 27;74(1):261–77. doi:10.1146/annurev-med-043021-032816
20. Sukhbaatar N, Weichhart T. Iron Regulation: Macrophages in Control. *Pharmaceuticals*. 2018 Dec 14;11(4):137. doi:10.3390/ph11040137
21. Ganz T. Macrophages and Iron Metabolism. Gordon S, editor. *Microbiol Spectr*. 2016 Oct 14;4(5):4.5.22. doi:10.1128/microbiolspec.MCHD-0037-2016
22. Delaby C, Pilard N, Hetet G, Driss F, Grandchamp B, Beaumont C, et al. A physiological model to study iron recycling in macrophages. *Exp Cell Res*. 2005 Oct;310(1):43–53. doi:10.1016/j.yexcr.2005.07.002
23. Crisafulli L, Correnti M, Gammella E, De Camilli E, Brindisi M, Palagano E, et al. Iron trapping in macrophages reshapes the homeostasis of the haematopoietic system. *Br J Haematol*. 2025 May;206(5):1485–96. doi:10.1111/bjh.20031

24. Gunshin H, Starr CN, DiRenzo C, Fleming MD, Jin J, Greer EL, et al. Cybrd1 (duodenal cytochrome b) is not necessary for dietary iron absorption in mice. *Blood*. 2005;106(8):2879–83.
25. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*. 2002 Oct 1;110(7):1037–44. doi:10.1172/JCI0215686
26. Anderson GJ, Frazer DM. Current understanding of iron homeostasis. *Am J Clin Nutr*. 2017 Dec;106:1559S-1566S. doi:10.3945/ajcn.117.155804
27. McLaren GD, Nathanson MH, Jacobs A, Trevett D, Thomson W. Regulation of intestinal iron absorption and mucosal iron kinetics in hereditary hemochromatosis. *J Lab Clin Med*. 1991 May;117(5):390–401. PubMed PMID: 2019794.
28. Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res*. 2012 Sep;1823(9):1434–43. doi:10.1016/j.bbamcr.2012.01.014
29. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*. 2010 Jul 9;142(1):24–38. doi:10.1016/j.cell.2010.06.028 PubMed PMID: 20603012.
30. Roemhild K, von Maltzahn F, Weiskirchen R, Knüchel R, von Stillfried S, Lammers T. Iron metabolism: pathophysiology and pharmacology. *Trends Pharmacol Sci*. 2021 Aug;42(8):640–56. doi:10.1016/j.tips.2021.05.001 PubMed PMID: 34090703; PubMed Central PMCID: PMC7611894.
31. Camaschella C. Iron-Deficiency Anemia. Longo DL, editor. *N Engl J Med*. 2015 May 7;372(19):1832–43. doi:10.1056/NEJMra1401038
32. Crichton RR, Wilmet S, Legssyer R, Ward RJ. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. *J Inorg Biochem*. 2002 Jul;91(1):9–18. doi:10.1016/S0162-0134(02)00461-0
33. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol*. 2008 Jul;88(1):7–15. doi:10.1007/s12185-008-0120-5
34. Chatterjee R, Shand A, Nassar N, Walls M, Khambalia AZ. Iron supplement use in pregnancy – Are the right women taking the right amount? *Clin Nutr*. 2016 Jun;35(3):741–7. doi:10.1016/j.clnu.2015.05.014
35. Zeidan RS, Han SM, Leeuwenburgh C, Xiao R. Iron homeostasis and organismal aging. *Ageing Res Rev*. 2021 Dec;72:101510. doi:10.1016/j.arr.2021.101510 PubMed PMID: 34767974; PubMed Central PMCID: PMC8620744.
36. Möller HE, Bossoni L, Connor JR, Crichton RR, Does MD, Ward RJ, et al. Iron, Myelin, and the Brain: Neuroimaging Meets Neurobiology. *Trends Neurosci*. 2019 Jun;42(6):384–401. doi:10.1016/j.tins.2019.03.009

37. Sandnes M, Ulvik RJ, Vorland M, Reikvam H. Hyperferritinemia-A Clinical Overview. *J Clin Med*. 2021 May 7;10(9):2008. doi:10.3390/jcm10092008 PubMed PMID: 34067164; PubMed Central PMCID: PMC8125175.
38. Andrews M, Arredondo M. Rol del hierro en el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 [Internet]. [cited 2025 Nov 17]. Available from: http://www.revistasoched.cl/3-2012/5_%203-2012.pdf
39. Brissot P, Wright TL, Ma WL, Weisiger RA. Efficient clearance of non-transferrin-bound iron by rat liver. Implications for hepatic iron loading in iron overload states. *J Clin Invest*. 1985 Oct 1;76(4):1463–70. doi:10.1172/JCI112125
40. Oudit GY, Trivieri MG, Khaper N, Husain T, Wilson GJ, Liu P, et al. Taurine supplementation reduces oxidative stress and improves cardiovascular function in an iron-overload murine model. *Circulation*. 2004 Apr 20;109(15):1877–85. doi:10.1161/01.CIR.0000124229.40424.80 PubMed PMID: 15037530.
41. Duca L, Di Pierro E, Scaramellini N, Granata F, Graziadei G. The Relationship Between Non-Transferrin-Bound Iron (NTBI), Labile Plasma Iron (LPI), and Iron Toxicity. *Int J Mol Sci*. 2025 Jul 3;26(13):6433. doi:10.3390/ijms26136433
42. Murali AR, Gupta A, Brown K. Systematic review and meta-analysis to determine the impact of iron depletion in dysmetabolic iron overload syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res Off J Jpn Soc Hepatol*. 2018 Feb;48(3):E30–41. doi:10.1111/hepr.12921 PubMed PMID: 28593739.
43. Hsu CC, Senussi NH, Fertrin KY, Kowdley KV. Iron overload disorders. *Hepatol Commun*. 2022 Aug;6(8):1842–54. doi:10.1002/hep4.2012 PubMed PMID: 35699322; PubMed Central PMCID: PMC9315134.
44. Imam MU, Zhang S, Ma J, Wang H, Wang F. Antioxidants Mediate Both Iron Homeostasis and Oxidative Stress. *Nutrients*. 2017 Jun 28;9(7):671. doi:10.3390/nu9070671 PubMed PMID: 28657578; PubMed Central PMCID: PMC5537786.
45. Saporito-Magriñá C, Musacco-Sebio R, Acosta JM, Bajicoff S, Paredes-Fleitas P, Reynoso S, et al. Copper(II) and iron(III) ions inhibit respiration and increase free radical-mediated phospholipid peroxidation in rat liver mitochondria: Effect of antioxidants. *J Inorg Biochem*. 2017 Jul;172:94–9. doi:10.1016/j.jinorgbio.2017.04.012 PubMed PMID: 28445841.
46. Tang Y, Wang D, Niu X, Wu H, Yang J, Zhang Y, et al. Mild iron overload induces TRIP12-mediated degradation of YY1 to trigger hepatic inflammation. *Free Radic Biol Med*. 2020 Dec;161:187–97. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.013 PubMed PMID: 33080340.
47. Dongiovanni P, Ruscica M, Rametta R, Recalcati S, Steffani L, Gatti S, et al. Dietary iron overload induces visceral adipose tissue insulin resistance. *Am J Pathol*. 2013 Jun;182(6):2254–63. doi:10.1016/j.ajpath.2013.02.019 PubMed PMID: 23578384.

48. Valenzuela R, Rincón-Cervera MÁ, Echeverría F, Barrera C, Espinosa A, Hernández-Rodas MC, et al. Iron-induced pro-oxidant and pro-lipogenic responses in relation to impaired synthesis and accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in rat hepatic and extrahepatic tissues. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2018 Jan;45:49–58. doi:10.1016/j.nut.2017.07.007 PubMed PMID: 29129237.
49. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 2012 May 25;149(5):1060–72. doi:10.1016/j.cell.2012.03.042 PubMed PMID: 22632970; PubMed Central PMCID: PMC3367386.
50. Kim KM, Cho SS, Ki SH. Emerging roles of ferroptosis in liver pathophysiology. *Arch Pharm Res*. 2020 Oct;43(10):985–96. doi:10.1007/s12272-020-01273-8 PubMed PMID: 33079307.
51. Xu S, He Y, Lin L, Chen P, Chen M, Zhang S. The emerging role of ferroptosis in intestinal disease. *Cell Death Dis*. 2021 Mar 17;12(4):289. doi:10.1038/s41419-021-03559-1 PubMed PMID: 33731703; PubMed Central PMCID: PMC7969743.
52. Bertrand RL. Iron accumulation, glutathione depletion, and lipid peroxidation must occur simultaneously during ferroptosis and are mutually amplifying events. *Med Hypotheses*. 2017 Apr;101:69–74. doi:10.1016/j.mehy.2017.02.017 PubMed PMID: 28351498.
53. Latunde-Dada GO. Ferroptosis: Role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2017 Aug;1861(8):1893–900. doi:10.1016/j.bbagen.2017.05.019 PubMed PMID: 28552631.
54. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology*. 2010 Aug;139(2):393–408, 408.e1-2. doi:10.1053/j.gastro.2010.06.013 PubMed PMID: 20542038.
55. Ji J, Wu L, Wei J, Wu J, Guo C. The Gut Microbiome and Ferroptosis in MAFLD. *J Clin Transl Hepatol*. 2023 Feb 28;11(1):174–87. doi:10.14218/JCTH.2022.00136 PubMed PMID: 36406312; PubMed Central PMCID: PMC9647110.
56. Yatmark P, Morales NP, Chaisri U, Wichaiyo S, Hemstapat W, Srichairatanakool S, et al. Effects of Iron Chelators on Pulmonary Iron Overload and Oxidative Stress in β -Thalassemic Mice. *Pharmacology*. 2015;96(3–4):192–9. doi:10.1159/000438994
57. Wang YH, Li N, Guan Y, Li T, Zhang Y, Cao H, et al. SiO₂ Induces Iron Overload and Ferroptosis in Cardiomyocytes in a Silicosis Mouse Model. *Biomed Environ Sci BES*. 2024 Jun 20;37(6):617–27. doi:10.3967/bes2024.087 PubMed PMID: 38988112.
58. Wongjaikam S, Kumfu S, Khamsekaew J, Sripetchwandee J, Srichairatanakool S, Fucharoen S, et al. Combined Iron Chelator and Antioxidant Exerted Greater Efficacy on Cardioprotection Than Monotherapy in Iron-Overloaded Rats. *PloS One*. 2016;11(7):e0159414. doi:10.1371/journal.pone.0159414 PubMed PMID: 27428732; PubMed Central PMCID: PMC4948821.

59. Xue H, Chen D, Zhong YK, Zhou ZD, Fang SX, Li MY, et al. Deferoxamine ameliorates hepatosteatosis via several mechanisms in ob/ob mice. *Ann N Y Acad Sci.* 2016 Jul;1375(1):52–65. doi:10.1111/nyas.13174 PubMed PMID: 27447538.
60. Mohammed A, Abd Al Haleem EN, El-Bakly WM, El-Demerdash E. Deferoxamine alleviates liver fibrosis induced by CCl₄ in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2016 Aug;43(8):760–8. doi:10.1111/1440-1681.12591 PubMed PMID: 27168353.
61. Kim BK, Huebers H, Pippard MJ, Finch CA. Storage iron exchange in the rat as affected by deferoxamine. *J Lab Clin Med.* 1985 Apr;105(4):440–8. PubMed PMID: 3920336.
62. Wood JC, Otto-Duessel M, Gonzalez I, Aguilar MI, Shimada H, Nick H, et al. Deferasirox and deferiprone remove cardiac iron in the iron-overloaded gerbil. *Transl Res J Lab Clin Med.* 2006 Nov;148(5):272–80. doi:10.1016/j.trsl.2006.05.005 PubMed PMID: 17145573; PubMed Central PMCID: PMC2896322.
63. Kamei A, Watanabe Y, Kondo K, Okada S, Shinozaki F, Ishijima T, et al. Influence of a Short-Term Iron-Deficient Diet on Hepatic Gene Expression Profiles in Rats. Müller M, editor. *PLoS ONE.* 2013 Jun 5;8(6):e65732. doi:10.1371/journal.pone.0065732
64. Oh S, Shin PK, Chung J. Effects of developmental iron deficiency and post-weaning iron repletion on the levels of iron transporter proteins in rats. *Nutr Res Pract.* 2015 Dec;9(6):613–8. doi:10.4162/nrp.2015.9.6.613 PubMed PMID: 26634050; PubMed Central PMCID: PMC4667202.
65. Nam H, Wang CY, Zhang L, Zhang W, Hojyo S, Fukada T, et al. ZIP14 and DMT1 in the liver, pancreas, and heart are differentially regulated by iron deficiency and overload: implications for tissue iron uptake in iron-related disorders. *Haematologica.* 2013 Jul;98(7):1049–57. doi:10.3324/haematol.2012.072314 PubMed PMID: 23349308; PubMed Central PMCID: PMC3696608.
66. Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D, Ganz T. Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood.* 2005 Sep 15;106(6):2196–9. doi:10.1182/blood-2005-04-1766 PubMed PMID: 15933050; PubMed Central PMCID: PMC1895137.
67. Nicolas G, Viatte L, Lou DQ, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, et al. Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet.* 2003 May;34(1):97–101. doi:10.1038/ng1150 PubMed PMID: 12704388.
68. Ramos E, Ruchala P, Goodnough JB, Kautz L, Preza GC, Nemeth E, et al. Minihepcidins prevent iron overload in a hepcidin-deficient mouse model of severe hemochromatosis. *Blood.* 2012 Nov 1;120(18):3829–36. doi:10.1182/blood-2012-07-440743 PubMed PMID: 22990014; PubMed Central PMCID: PMC3488893.
69. Gong J, Du F, Qian ZM, Luo QQ, Sheng Y, Yung WH, et al. Pre-treatment of rats with ad-hepcidin prevents iron-induced oxidative stress in the brain. *Free Radic Biol Med.* 2016 Jan;90:126–32. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.11.016 PubMed PMID: 26582371.

70. Brown KE, Poulos JE, Li L, Soweid AM, Ramm GA, O'Neill R, et al. Effect of vitamin E supplementation on hepatic fibrogenesis in chronic dietary iron overload. *Am J Physiol.* 1997 Jan;272(1 Pt 1):G116-123. doi:10.1152/ajpgi.1997.272.1.G116 PubMed PMID: 9038884.
71. Bartfay WJ, Hou D, Brittenham GM, Bartfay E, Sole MJ, Lehotay D, et al. The synergistic effects of vitamin E and selenium in iron-overloaded mouse hearts. *Can J Cardiol.* 1998 Jul;14(7):937-41. PubMed PMID: 9706279.
72. Zhang Y, Tian X, Teng A, Li Y, Jiao Y, Zhao K, et al. Polyphenols and polyphenols-based biopolymer materials: Regulating iron absorption and availability from spontaneous to controllable. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2023 Nov;63(33):12341-59. doi:10.1080/10408398.2022.2101092 PubMed PMID: 35852177.
73. Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell.* 2014 Jan 16;156(1-2):317-31. doi:10.1016/j.cell.2013.12.010 PubMed PMID: 24439385; PubMed Central PMCID: PMC4076414.
74. Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol.* 2014 Dec;16(12):1180-91. doi:10.1038/ncb3064 PubMed PMID: 25402683; PubMed Central PMCID: PMC4894846.
75. Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, Bush AI, Conrad M, Dixon SJ, et al. Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell.* 2017 Oct 5;171(2):273-85. doi:10.1016/j.cell.2017.09.021 PubMed PMID: 28985560; PubMed Central PMCID: PMC5685180.
76. Gao M, Monian P, Pan Q, Zhang W, Xiang J, Jiang X. Ferroptosis is an autophagic cell death process. *Cell Res.* 2016 Sep;26(9):1021-32. doi:10.1038/cr.2016.95 PubMed PMID: 27514700; PubMed Central PMCID: PMC5034113.
77. Wiggins T, Majid MS, Agrawal S. From the Knife to the Endoscope-a History of Bariatric Surgery. *Curr Obes Rep.* 2020 Sep;9(3):315-25. doi:10.1007/s13679-020-00386-x PubMed PMID: 32430773.
78. Cohen RV, Rubino F, Schiavon C, Cummings DE. Diabetes remission without weight loss after duodenal bypass surgery. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg.* 2012;8(5):e66-68. doi:10.1016/j.soard.2011.07.007 PubMed PMID: 21925965; PubMed Central PMCID: PMC4209845.
79. Rubino F, Schauer PR, Kaplan LM, Cummings DE. Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: clinical outcomes and mechanisms of action. *Annu Rev Med.* 2010;61:393-411. doi:10.1146/annurev.med.051308.105148 PubMed PMID: 20059345.
80. Barton JC. Hemochromatosis, HFE C282Y homozygosity, and bariatric surgery: report of three cases. *Obes Surg.* 2004;14(10):1409-14. doi:10.1381/0960892042583798 PubMed PMID: 15603661.

81. Ott M, Stouffer C, Foote J, Foster A. Roux-en-Y gastric bypass: a novel approach to the treatment of hemochromatosis? *Am J Hematol.* 2007 Nov;82(11):1033. doi:10.1002/ajh.20901 PubMed PMID: 17654678.
82. Kudva GC, Bacon BR. Iron deficiency anemia in hereditary hemochromatosis after gastric bypass surgery. *Ann Hematol.* 2009 Mar;88(3):291–2. doi:10.1007/s00277-008-0580-y PubMed PMID: 18685850.
83. Gopaluni S, Martinez-Balzano C, Graziano S. Gastric bypass surgery as an intervention for obese patients with hemochromatosis. *QJM Mon J Assoc Physicians.* 2014 Dec;107(12):1023–5. doi:10.1093/qjmed/hcs073 PubMed PMID: 22543684.
84. de Jesus RN, Callejas GH, David Mendonça Chaim F, Antonio Gestic M, Pimentel Utrini M, Callejas-Neto F, et al. Roux-en-Y Gastric Bypass as a Treatment for Hepatic Iron Overload: An Exploratory Study. *Obes Surg.* 2022 Jul;32(7):2438–44. doi:10.1007/s11695-022-06103-y PubMed PMID: 35543890.
85. Rubino F, Marescaux J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg.* 2004 Jan;239(1):1–11. doi:10.1097/01.sla.0000102989.54824.fc PubMed PMID: 14685093; PubMed Central PMCID: PMC1356185.
86. Angelini G, Castagneto-Gissey L, Casella-Mariolo J, Caristo ME, Russo MF, Lembo E, et al. Duodenal-jejunal bypass improves nonalcoholic fatty liver disease independently of weight loss in rodents with diet-induced obesity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2020 Oct 1;319(4):G502–11. doi:10.1152/ajpgi.00357.2019 PubMed PMID: 32812775.
87. Guillén MMEN. Directrices para una investigación de calidad basada en la comprensión del modelo animal [PhD Thesis] [Internet]. Universidad Nacional Autónoma de México; 2022 [cited 2025 Nov 21]. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Mario-Navarro-21/publication/388323390_Directrices_para_una_investigacion_de_calidad_basada_en_la_comprension_del_modelo_animal/links/6792a8724c479b26c9b08214/Directrices-para-una-investigacion-de-calidad-basada-en-la-comprension-del-modelo-animal.pdf
88. Mamani J. Parámetros bioquímicos y sanguíneos de la rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*): revisión de la literatura. *Rev Peru Med Integrativa.* 2020 Mar 7;5:37–9. doi:10.26722/rpmi.2020.51.169
89. History, Strains and Models. In: *The Laboratory Rat* [Internet]. Academic Press; 2000 [cited 2025 Nov 21]. p. 3–16. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/abs/pii/B9780124264007500406> doi:10.1016/B978-012426400-7.50040-6
90. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 2020 Jul 14;18(7):e3000410. doi:10.1371/journal.pbio.3000410 PubMed PMID: 32663219; PubMed Central PMCID: PMC7360023.

91. Candamo-Lourido M, López-Arias E, López-Amoedo S, Correa-Paz C, Bravo SB, Bugallo-Casal A, et al. RELEVANCE OF SHAM CONTROL GROUP IN PRECLINICAL ANIMAL STUDIES OF CEREBRAL ISCHEMIA [Internet]. *Neuroscience*; 2023 [cited 2025 Nov 24]. Available from: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2023.12.21.572908>
doi:10.1101/2023.12.21.572908
92. Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G, et al. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Ann Surg*. 2006 Nov;244(5):741–9. doi:10.1097/01.sla.0000224726.61448.1b PubMed PMID: 17060767; PubMed Central PMCID: PMC1856597.
93. Kindel TL, Martins PJF, Yoder SM, Jandacek RJ, Seeley RJ, D’Alessio DA, et al. Bypassing the Duodenum Does Not Improve Insulin Resistance Associated With Diet-Induced Obesity in Rodents. *Obesity*. 2011 Feb;19(2):380–7. doi:10.1038/oby.2010.263
94. Festing MFW, Altman DG. Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals. *ILAR J*. 2002 Jan 1;43(4):244–58. doi:10.1093/ilar.43.4.244
95. Kilkenny C, Browne W, Cuthill I, Emerson M, Altman D. Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *Animals*. 2014 Feb 3;4(1):35–44. doi:10.3390/ani4010035
96. Siebert MA, Chevallier JM, D’Aurelle De Paladines D, Pottier Y, Msika S, Le Gall M, et al. One-anastomosis Gastric Bypass (OAGB) in Rats. *J Vis Exp*. 2018 Nov 10;(141):58776. doi:10.3791/58776
97. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals [Internet]. Academic press; 2008 [cited 2025 Nov 17]. Available from: <https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=spsD4WQbL0QC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Kaneko,+Harvey,+Bruss.+Clinical+Biochemistry+of+Domestic+Animal.+Sixth+Edition.+2008.+Academic+Press&ots=T2c38Eoq1h&sig=uy9APKONSKIM87yQEM3lrFEFQIU>
98. Accu-Chek® Instant: Soporte y ayuda para el glucómetro y tiras reactivas [Internet]. [cited 2025 Dec 3]. Available from: <https://www.accu-cheklatam.com/en/support/instant>
99. EPA U. Method 6010D (SW-846): inductively coupled Plasma-Atomic emission spectrometry. U S Environ Prot Agency Revis. 2014;1–14.
100. McDaniel WD. Sample Preparation Procedure for Spectrochemical Determination of Total Recoverable Elements in Biological Tissues: Test Method 200.3. US Environmental Protection Agency; 1991.
101. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques [Internet]. Elsevier health sciences; 2008 [cited 2025 Nov 17]. Available from: <https://books.google.com/books?hl=pt->

BR&lr=&id=Dhn2KispfdQC&oi=fnd&pg=PR13&dq=Bancroft+JD,+Gamble+M.+Theory+and+Practice+of+Histological+Techniques.+6th+ed.+Churchill+Livingstone%3B+2008.&ots=JCoCgvVwDb&sig=hcZmkVWLHAr-k--Jkh6cRj31QpY

102. Kiernan J. Histological and histochemical methods [Internet]. Scion publishing ltd; 2015 [cited 2025 Nov 17]. Available from: <https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=tTaAEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Kiernan+JA.+Histological+and+Histochemical+Methods:+Theory+and+Practice.+4th+ed.+Scion+Publishing%3B+2008.&ots=QgfnM9hvRc&sig=r1K8yzLMOqg7fO8uHvabWWbRyvo>
103. Council NR, Earth D on, Research I for LA, Care C for the U of the G for the, Animals U of L. Guide for the care and use of laboratory animals [Internet]. 2010 [cited 2025 Nov 17]. Available from: [https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=Vp5mgXtxYdQC&oi=fnd&pg=PP2&dq=National+Research+Council+\(US\)+Committee+for+the+Update+of+the+Guide+for+the+Care+and+Use+of+Laboratory+Animals.+Guide+for+the+Care+and+Use+of+Laboratory+Animals.+8th+ed.+Washington+\(DC\):+National+Academies+Press+\(US\)%3B+2011.+ISBN:+978-0-309-15400-0.+Disponibile+en:+https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/&ots=FtYaa-JDo7&sig=Pt2mvd3lH-Av3l7bGJPUrRBGX7Y](https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=Vp5mgXtxYdQC&oi=fnd&pg=PP2&dq=National+Research+Council+(US)+Committee+for+the+Update+of+the+Guide+for+the+Care+and+Use+of+Laboratory+Animals.+Guide+for+the+Care+and+Use+of+Laboratory+Animals.+8th+ed.+Washington+(DC):+National+Academies+Press+(US)%3B+2011.+ISBN:+978-0-309-15400-0.+Disponibile+en:+https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/&ots=FtYaa-JDo7&sig=Pt2mvd3lH-Av3l7bGJPUrRBGX7Y)
104. StataCorp LLC. Stata meta-analysis reference manual. Stata Release 17 Stat Softw [Internet]. 2021 [cited 2025 Nov 18]. Available from: <https://stata-nz.com/docs/manuals/stata19/meta.pdf>
105. Dell RB, Holleran S, Ramakrishnan R. Sample Size Determination. *ILAR J*. 2002 Jan 1;43(4):207–13. doi:10.1093/ilar.43.4.207
106. Charan J, Kantharia ND. How to calculate sample size in animal studies? *J Pharmacol Pharmacother*. 2013 Dec;4(4):303–6. doi:10.4103/0976-500X.119726
107. Meguid MM, Ramos EJB, Suzuki S, Xu Y, George ZM, Das UN, et al. A surgical rat model of human Roux-en-Y gastric bypass. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract*. 2004;8(5):621–30. doi:10.1016/j.gassur.2004.02.003 PubMed PMID: 15240001.
108. Han LO, Zhou LH, Cheng SJ, Song C, Song CF. Key details of the duodenal-jejunal bypass in type 2 diabetes mellitus rats. *World J Gastroenterol WJG*. 2011 Dec 7;17(45):5021–7. doi:10.3748/wjg.v17.i45.5021 PubMed PMID: 22174553; PubMed Central PMCID: PMC3236578.
109. Ganz T, Nemeth E. Iron homeostasis in host defence and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2015 Aug;15(8):500–10. doi:10.1038/nri3863 PubMed PMID: 26160612; PubMed Central PMCID: PMC4801113.
110. Lund EK, Wharf SG, Fairweather-Tait SJ, Johnson IT. Increases in the Concentrations of Available Iron in Response to Dietary Iron Supplementation Are Associated with Changes in Crypt Cell Proliferation in Rat Large Intestine , ,. *J Nutr*. 1998 Feb;128(2):175–9. doi:10.1093/jn/128.2.175

111. Luo Q, Lao C, Huang C, Xia Y, Ma W, Liu W, et al. Iron Overload Resulting from the Chronic Oral Administration of Ferric Citrate Impairs Intestinal Immune and Barrier in Mice. *Biol Trace Elem Res*. 2021 Mar;199(3):1027–36. doi:10.1007/s12011-020-02218-4 PubMed PMID: 32468223.
112. Mayneris-Perxachs J, Cardellini M, Hoyles L, Latorre J, Davato F, Moreno-Navarrete JM, et al. Iron status influences non-alcoholic fatty liver disease in obesity through the gut microbiome. *Microbiome*. 2021 May 7;9(1):104. doi:10.1186/s40168-021-01052-7 PubMed PMID: 33962692; PubMed Central PMCID: PMC8106161.
113. Brown K, Abbott DW, Uwiera RRE, Inglis GD. Removal of the cecum affects intestinal fermentation, enteric bacterial community structure, and acute colitis in mice. *Gut Microbes*. 2018;9(3):218–35. doi:10.1080/19490976.2017.1408763 PubMed PMID: 29227180; PubMed Central PMCID: PMC6291264.
114. Shi J, Xie Y, Li Y, Ren D, Zhang Y, Shao H, et al. Effects of food-grade iron(III) oxide nanoparticles on cecal digesta- and mucosa-associated microbiota and short-chain fatty acids in rats. *Biosci Microbiota Food Health*. 2024;43(1):43–54. doi:10.12938/bmfh.2023-012 PubMed PMID: 38188661; PubMed Central PMCID: PMC10767317.
115. Atarashi M, Izawa T, Mori M, Inai Y, Kuwamura M, Yamate J. Dietary Iron Overload Abrogates Chemically-Induced Liver Cirrhosis in Rats. *Nutrients*. 2018 Oct 2;10(10):1400. doi:10.3390/nu10101400 PubMed PMID: 30279328; PubMed Central PMCID: PMC6213820.
116. Abe N, Tsuchida T, Yasuda SI, Oka K. Dietary iron restriction leads to a reduction in hepatic fibrosis in a rat model of non-alcoholic steatohepatitis. *Biol Open*. 2019 May 16;8(5):bio040519. doi:10.1242/bio.040519 PubMed PMID: 31097447; PubMed Central PMCID: PMC6550076.
117. de Waal EJ, Vreeling-Sindelárová H, Schellens JP, Houtkooper JM, James J. Quantitative changes in the lysosomal vacuolar system of rat hepatocytes during short-term starvation. A morphometric analysis with special reference to macro- and microautophagy. *Cell Tissue Res*. 1986;243(3):641–8. doi:10.1007/BF00218073 PubMed PMID: 3955637.
118. Kim J, Jia X, Buckett PD, Liu S, Lee CH, Wessling-Resnick M. Iron loading impairs lipoprotein lipase activity and promotes hypertriglyceridemia. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2013 Apr;27(4):1657–63. doi:10.1096/fj.12-224386 PubMed PMID: 23241313; PubMed Central PMCID: PMC3606537.
119. Lee J, Jang H, Doo M, Kim BH, Ha JH. High Iron Consumption Modifies the Hepatic Transcriptome Related to Cholesterol Metabolism. *J Med Food*. 2024 Sep;27(9):895–900. doi:10.1089/jmf.2024.k.0139 PubMed PMID: 38905120.
120. Silva M, da Costa Guerra JF, Sampaio AFS, de Lima WG, Silva ME, Pedrosa ML. Iron dextran increases hepatic oxidative stress and alters expression of genes related to lipid metabolism contributing to hyperlipidaemia in murine model. *BioMed Res Int*.

2015;2015:272617. doi:10.1155/2015/272617 PubMed PMID: 25685776; PubMed Central PMCID: PMC4313725.

121. Hu C, Zhang G, Sun D, Han H, Hu S. Duodenal-jejunal bypass improves glucose metabolism and adipokine expression independently of weight loss in a diabetic rat model. *Obes Surg*. 2013 Sep;23(9):1436–44. doi:10.1007/s11695-013-0976-1 PubMed PMID: 23636998.
122. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem*. 2001 Mar 16;276(11):7811–9. doi:10.1074/jbc.M008923200 PubMed PMID: 11113132.
123. Lei H, Shawki A, Santos AN, Canale V, Manz S, Crawford MS, et al. PTPN2 Regulates Iron Handling Protein Expression in Inflammatory Bowel Disease Patients and Prevents Iron Deficiency in Mice. *Int J Mol Sci*. 2025 Apr 3;26(7):3356. doi:10.3390/ijms26073356
124. Aslam MF, Frazer DM, Faria N, Bruggraber SFA, Wilkins SJ, Mirciov C, et al. Ferroportin mediates the intestinal absorption of iron from a nanoparticulate ferritin core mimetic in mice. *FASEB J*. 2014 Aug;28(8):3671–8. doi:10.1096/fj.14-251520
125. Johansson K, Svensson PA, Söderling J, Peltonen M, Neovius M, Carlsson LMS, et al. Long-term risk of anaemia after bariatric surgery: results from the Swedish Obese Subjects study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021 Aug;9(8):515–24. doi:10.1016/S2213-8587(21)00141-8 PubMed PMID: 34217404.
126. Griffin RL, Varley AN, Hajnal A, Booth JL. Severe Anemia in Sprague-Dawley Rats After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery. *Comp Med*. 2023 Jun 1;73(3):194–9. doi:10.30802/AALAS-CM-22-000074 PubMed PMID: 37258053; PubMed Central PMCID: PMC10290484.
127. Lobo AR, Cocato ML, De Sá LRM, Colli C. Dietary iron overload: short- and long-term effects on cecal morphometry in growing rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2014;60(6):397–402. doi:10.3177/jnsv.60.397 PubMed PMID: 25866302.
128. Fang S, Zhuo Z, Yu X, Wang H, Feng J. Oral administration of liquid iron preparation containing excess iron induces intestine and liver injury, impairs intestinal barrier function and alters the gut microbiota in rats. *J Trace Elem Med Biol Organ Soc Miner Trace Elem GMS*. 2018 May;47:12–20. doi:10.1016/j.jtemb.2018.01.002 PubMed PMID: 29544798.
129. Guija-Poma E, Troncoso-Corzo L, Palomino-Paz F, Guija-Guerra H, Oliveira-Bardales G, Ponce-Pardo J, et al. Estudio histopatológico de los efectos de la administración de hierro hemo y sulfato ferroso con vitamina C en cerebro e hígado de rata. *Horiz Méd Lima*. 2019 Jun 8;19(2):12–8. doi:10.24265/horizmed.2019.v19n2.03
130. Srigriridhar K, Nair KM, Subramanian R, Singotamu L. Oral repletion of iron induces free radical mediated alterations in the gastrointestinal tract of rat. *Mol Cell Biochem*. 2001 Mar;219(1–2):91–8. doi:10.1023/a:1011023111048 PubMed PMID: 11354259.

131. Bjørklund G, Peana M, Pivina L, Dosa A, Aaseth J, Semenova Y, et al. Iron Deficiency in Obesity and after Bariatric Surgery. *Biomolecules*. 2021 Apr 21;11(5):613. doi:10.3390/biom11050613 PubMed PMID: 33918997; PubMed Central PMCID: PMC8142987.
132. Gulec S, Anderson GJ, Collins JF. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*. 2014 Aug 15;307(4):G397–409. doi:10.1152/ajpgi.00348.2013
133. Britton LJ, Subramaniam VN, Crawford DH. Iron and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2016 Sep 28;22(36):8112–22. doi:10.3748/wjg.v22.i36.8112 PubMed PMID: 27688653; PubMed Central PMCID: PMC5037080.
134. Albero R, Sanz A, Playán J. Metabolismo en el ayuno. *Endocrinol Nutr*. 2004 Jan;51(4):139–48. doi:10.1016/S1575-0922(04)74599-4

ANEXOS



Foto 1 Rata anestesiada, inmovilizada, asepsia y antisepsia, vestida para la cirugía



Foto 2 Gastroyeyunoanastomosis anterior puntos corridos



Foto 3 Gastroyeyunoanastomosis posterior puntos separados



Foto 4 Sección duodenal después de ligar ambos cotos. El coto proximal se invagina dentro del estómago.



Foto 5 Cierre de la pared abdominal