



DIETA DEFICIENTE EN HIERRO COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA INDUCIR ANEMIA EN RATONES BALB/C

IRON-DEFICIENT DIET AS AN EXPERIMENTAL MODEL TO INDUCE ANEMIA IN BALB/C MICE

Elías Ernesto Aguirre-Siancas ^{1,a}, Ronald de la Cruz-Rodríguez ^{1,b}, Josué Guillermo Matuda-Silvestre ^{1,c}, Nelly Maritza Lam-Figueroa ^{1,d}

RESUMEN

Introducción: Con el objetivo de desarrollar un modelo experimental de anemia en ratones Balb/c mediante una dieta deficiente en hierro, se realizó un estudio experimental y longitudinal con 16 ratones Balb/c machos de cuatro semanas de edad, divididos en dos grupos: uno con dieta estándar y otro con dieta deficiente en hierro (2,83 mg/Kg). **Métodos:** Se midieron hemoglobina y peso al inicio y a los 30 días mediante hemoglobinómetro EKF Diagnostic® y balanza digital Soehnle®. Se utilizó la prueba t de Student para el análisis estadístico, con $p < 0,05$ como nivel de significancia. **Resultados:** No hubo diferencias significativas iniciales, pero a los 30 días el grupo con dieta deficiente presentó una reducción significativa de hemoglobina ($5,30 \pm 1,67$ g/dL vs $15,65 \pm 0,96$ g/dL; $p < 0,001$) y peso ($28,63 \pm 6,19$ g vs $38,13 \pm 2,167$ g; $p < 0,003$). **Conclusión:** El modelo experimental permitió inducir anemia en ratones Balb/c, proporcionando una herramienta reproducible para estudios preclínicos.

Palabras clave: Anemia; Deficiencia de hierro; Hierro; Hemoglobinas; Modelos animales. (Fuente: DeCS-BIREME)

ABSTRACT

Introduction: In order to develop an experimental model of anemia in Balb/c mice using an iron-deficient diet, an experimental and longitudinal study was conducted with 16 male Balb/c mice, four weeks old, divided into two groups: one with a standard diet and the other with an iron-deficient diet (2.83 mg/Kg). **Methods:** Hemoglobin levels and weight were measured at baseline and after 30 days using an EKF Diagnostic® hemoglobinometer and a Soehnle® digital scale. The Student's t-test for independent samples was used for statistical analysis, with $p < 0.05$ as the significance level. **Results:** No significant differences were found initially; however, after 30 days, the iron-deficient diet group showed a significant reduction in hemoglobin (5.30 ± 1.67 g/dL vs. 15.65 ± 0.96 g/dL; $p < 0.001$) and weight (28.63 ± 6.19 g vs. 38.13 ± 2.167 g; $p < 0.003$). **Conclusion:** The experimental model successfully induced anemia in Balb/c mice, providing a reproducible tool for preclinical studies.

Keywords: Anemia; Iron deficiency; Iron; Hemoglobins; Models, Animal. (Source: MESH-NLM)

¹ Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

^a Doctor en neurociencias.

^b Bachiller en odontología.

^c Bachiller en enfermería.

^d Doctora en medicina.



Citar como: Aguirre-Siancas EE, De la Cruz-Rodríguez R, Matuda-Silvestre JG, Lam-Figuero NM. Dieta deficiente en hierro como modelo experimental para inducir anemia en ratones Balb/c. Rev Fac Med Hum. 2025;25(1):133-139. doi:10.25176/RFMH.v25i1.6657

Journal home page: <http://revistas.urp.edu.pe/index.php/RFMH>

Artículo publicado por la Revista de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Ricardo Palma. Es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons: Creative Commons Attribution 4.0 International, CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada. Para uso comercial, por favor póngase en contacto con revista.medicina@urp.pe



INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro y la consiguiente anemia constituyen un problema de salud pública de gran magnitud, con impacto en todas las etapas de la vida, especialmente en poblaciones vulnerables, y con repercusiones significativas en países en vías de desarrollo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la prevalencia global de anemia es del 40 % en niños de 6 a 59 meses y del 37 % en mujeres embarazadas. En Perú, la prevalencia de anemia en niños de 6 a 35 meses alcanza el 40,1 %⁽¹⁾. Estas cifras evidencian la magnitud del problema y la necesidad de investigaciones dirigidas a comprender sus causas, consecuencias y posibles intervenciones.

El hierro es un micronutriente esencial para el organismo, ya que participa en diversos procesos biológicos, entre ellos, el transporte de oxígeno a través de la hemoglobina, la síntesis y reparación del ADN, la función mitocondrial y la producción de energía celular⁽²⁾. Su deficiencia puede provocar múltiples complicaciones, entre las que destacan disnea, cefalea, fatiga, síndrome de piernas inquietas y disminución del rendimiento físico y mental⁽³⁾. Estas manifestaciones no solo afectan la calidad de vida del individuo, sino que también generan repercusiones sociales y económicas⁽⁴⁾. Dada la necesidad de profundizar en el estudio de las consecuencias de la deficiencia de hierro, resulta fundamental disponer de modelos experimentales que faciliten la investigación de los factores asociados con esta condición. Aunque existen estudios que describen la inducción experimental de deficiencia de hierro en animales, muchos de ellos no detallan con precisión la fórmula dietética utilizada o recurren a procedimientos complejos para lograr dicho objetivo^(5,6). Estas limitaciones evidencian la necesidad de desarrollar protocolos accesibles y estandarizados para la inducción de anemia en modelos preclínicos.

El presente estudio tuvo como objetivo desarrollar un modelo experimental de anemia en ratones Balb/c

mediante una dieta deficiente en hierro, con el fin de disponer de modelos preclínicos adecuados para el estudio de diversas variables asociadas a la anemia.

MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio experimental y longitudinal en el bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). El estudio incluyó 16 ratones Balb/c machos de aproximadamente cuatro semanas de edad, adquiridos del Instituto Nacional de Salud en óptimas condiciones sanitarias y con tamaños y pesos adecuados para su edad. Los animales fueron aclimatados durante tres días con una dieta estándar para ratones antes del inicio de la fase experimental. Posteriormente, se dividieron aleatoriamente en dos grupos de ocho animales cada uno: el grupo A, que continuó con la dieta estándar, y el grupo B, que recibió una dieta deficiente en hierro.

Para evaluar el desarrollo de la anemia experimental, se utilizaron dos indicadores principales: el nivel de hemoglobina y el peso corporal en ambos grupos de animales. Estos parámetros fueron registrados al inicio del experimento y a los 30 días, siguiendo metodologías descritas en estudios previos⁽⁸⁾. El nivel de hemoglobina se determinó mediante un hemoglobímetro EKF Diagnostic®, basado en fotometría de absorción óptica mediante el método azida metahemoglobina. Para la obtención de la muestra de sangre, se realizó una incisión en la parte distal de la cola del ratón con una hoja de bisturí N°10, descartando la primera gota y utilizando la segunda para su análisis^(10,11).

La anemia experimental se indujo mediante una dieta deficiente en hierro, cuya composición se basó en estudios previos^(7,8). La fórmula consistió en 100 g de mezcla láctea, a la que se añadieron 4 g de maicena y 2 g de salvado de trigo en polvo. Esta dieta tuvo una concentración de hierro de 2,83 mg/Kg (Tabla 1).



Tabla 1. Características organolépticas y físico-químicas de fórmula láctea empleada.

Parámetro	Resultado
Sabor	A leche
Color	Blanco cremoso
Consistencia	Polvo
Proteína	22,00%
Grasas totales	24,00%
Cenizas	Max.7,00%
Acidez titulable expresada en % de ácido láctico	0,10 - 0,15

Ficha técnica de la mezcla láctea de la empresa Danilac® E.I.R.L

La dieta estándar para ratón se adquirió en la Universidad Nacional Agraria La Molina y estuvo compuesta por harina de maíz, torta de soya (48 % proteína), harina integral extruida de soya, subproductos de trigo, aceite de soya, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, cloruro de colina al 60 %, cloruro de sodio, aminoácidos sintéticos, premezcla vitamínico-mineral, antioxidantes y antifúngicos⁽⁹⁾, con una concentración de hierro de 205,59 mg/Kg. El análisis de ambas dietas se realizó en un laboratorio

certificado, con los informes de ensayo N° DT-03581-01-2023 y N° DT-03581-03-2023, respectivamente.

La hemoglobina se midió en muestras de sangre obtenidas de la vena caudal de los ratones mediante el procedimiento descrito en la Figura 1. Se realizó una incisión en la parte distal de la cola con una hoja de bisturí N°10 y se descartó la primera gota de sangre, utilizando la segunda colectada en una microcubeta para su análisis en el hemoglobinómetro^(12,13).

ORIGINAL BREVE

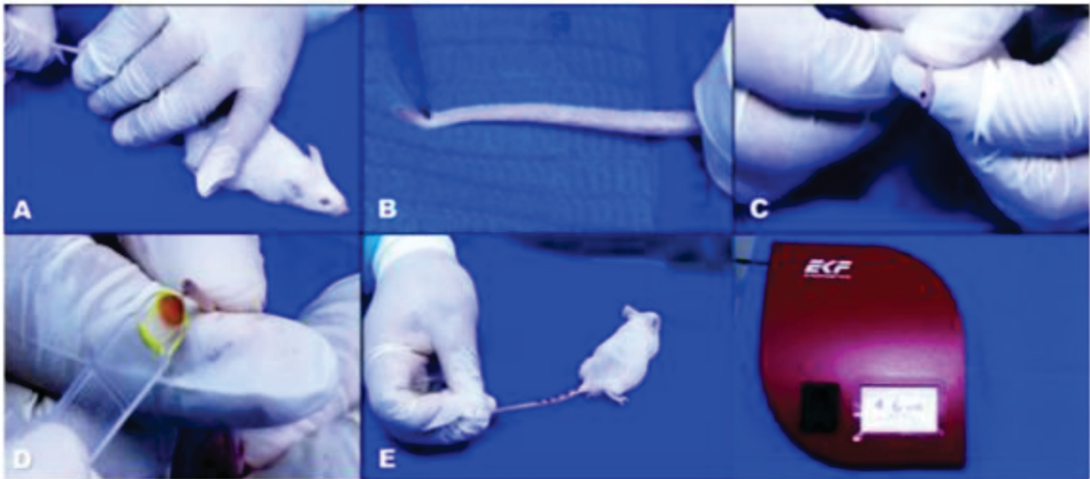


Figura 1. Procedimiento para la medición de la hemoglobina.

- A) Se procede con la sujeción y la asepsia de la cola utilizando una torunda de algodón impregnada en alcohol medicinal al 70°.
- B) Se realiza una incisión en la parte distal de la cola utilizando una hoja bisturí N°10 y un mango de bisturí N°03.
- C) Se aplica presión sobre la cola para obtener la primera gota, la cual se desecha.
- D) Se obtiene la segunda gota, la cual se coloca en la cubeta del hemoglobinómetro.
- E) Se introduce la cubeta en el equipo y se realiza la lectura.

La evaluación de la anemia a los 30 días se realizó considerando el tiempo propuesto en estudios previos para la inducción de anemia, en particular los trabajos de Amaro-Terrazos et al. y Gonzales-Carazas et al., cuyos grupos experimentales incluyeron un grupo de hierro deficiente (HD) y un grupo de hierro deficiente con extracto de *Erythroxylum coca* (HD-EC), respectivamente^(7,8). El peso de los animales se registró en los mismos puntos temporales utilizando una balanza digital Soehnle®.

Los datos se analizaron con el programa GraphPad Prism, versión 10.4.1. Se evaluó la normalidad de los datos y, en función de los resultados, se aplicó la prueba t de Student para muestras independientes.

Se consideró un nivel de significancia de 0,05. El estudio se realizó cumpliendo las normativas éticas para la investigación con animales de experimentación. Se obtuvo la aprobación del proyecto con el código N° A23012381-RR 006081-R-23/UNMSM y el acta de aprobación ética de la Facultad de Medicina de la UNMSM con el número N° 0155-2023.

RESULTADOS

En la evaluación inicial no se halló diferencia significativa en ninguno de los 2 indicadores; sin embargo, sí hubo diferencia estadística a los 30 días al comparar la hemoglobina y el peso entre el grupo A vs B, como se observa en la Tabla 2 tras aplicar la prueba t de Student para muestras independientes.

Tabla 2. Comparación de los niveles de hemoglobina y peso entre ratones Balb/c con dieta estándar (A) y dieta deficiente en hierro (B).

Indicador	Grupo	Medición basal (Media ± DE)	Valor de p	Medición a los 30 días (Media ± DE)	Valor de p
Hemoglobina (g/dL)	A	13,61 ± 1,06	0,442	15,65 ± 0,96	<0,001*
	B	14,20 ± 0,66		5,30 ± 1,67	
Peso (g)	A	11,61 ± 1,39	0,659	38,13 ± 2,167	<0,003*
	B	12,32 ± 2,82		28,63 ± 6,19	

* Diferencia estadísticamente significativa. Valores de t: 1,56 (comparación basal de hemoglobina), 15,21 (comparación a los 30 días de hemoglobina), 0,4504 (comparación basal de peso), 4,099 (comparación a los 30 días de peso). DE: desviación estándar.

La dieta convencional fue molida con el objetivo que tenga la misma consistencia que la dieta deficiente en hierro, la cual se presentaba en forma de polvo, como se observa en la Figura 2. En dicha figura también se

aprecian las diferencias visibles de peso entre un animal de cada grupo a los 30 días. Visualizando un color más pálido en las cubetas de las muestras del grupo sometido a dieta deficiente en hierro.

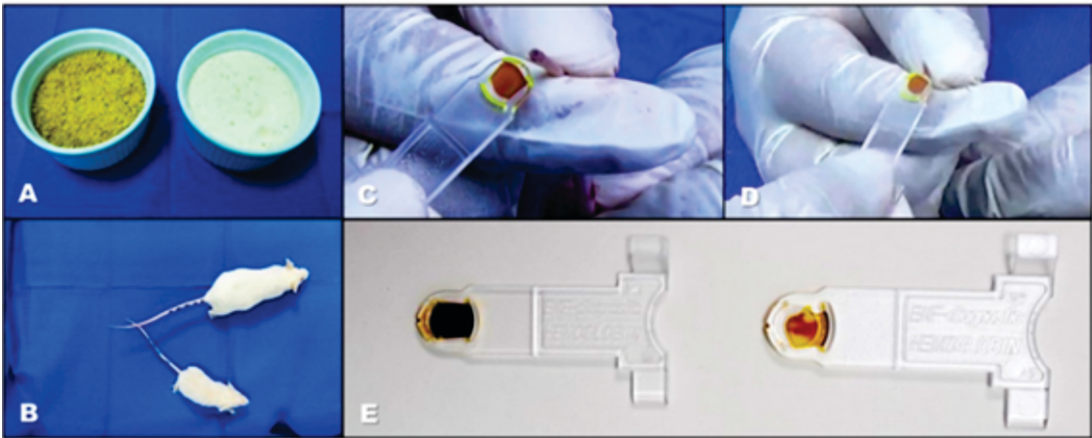


Figura 2. Diferencias macroscópicas entre un animal sometido a dieta normal vs dieta ferropénica. A) Dietas aplicadas, la dieta marrón es la normal y la blanca la deficiente en hierro. B) Diferencias visibles en el peso y tamaño entre un representante de cada grupo. C-E) Clara diferencias en la coloración de las muestras de sangre, siendo las más pálidas la correspondiente al animal bajo dieta deficiente en hierro.



DISCUSIÓN

En la evaluación inicial no se encontraron diferencias significativas en los niveles basales de peso y hemoglobina entre los grupos experimentales. Sin embargo, luego de 30 días de administración de la dieta estándar y la dieta deficiente en hierro, se observaron diferencias significativas en ambos parámetros. Además, se evidenció un marcado contraste en la coloración de la sangre obtenida entre los grupos, lo que sugiere un efecto directo de la restricción de hierro en la eritropoyesis. Estos resultados confirman que el modelo preclínico utilizado es efectivo para replicar condiciones de anemia por deficiencia de hierro, lo que permitirá estudiar sus consecuencias moleculares y fisiológicas.

La administración de la dieta deficiente en hierro impactó significativamente los niveles de hemoglobina, como se evidenció en la medición a los 30 días, donde los valores fueron de 15,65 g/dL en el grupo A y 5,30 g/dL en el grupo B. Esto sugiere que la fórmula dietética utilizada fue efectiva en la inducción de anemia, lo cual se atribuye a su bajo contenido de hierro (2,83 mg/Kg). Estudios previos en roedores han reportado una reducción significativa de hemoglobina tras la administración de dietas deficientes en hierro, en concordancia con los hallazgos del presente estudio^(5,7). Esta disminución se debe a que la restricción de hierro en la alimentación altera la eritropoyesis, proceso fundamental en la producción de eritrocitos⁽¹⁴⁾.

En cuanto al peso corporal, se observó una diferencia significativa entre los grupos experimentales tras 30 días de intervención (38,13 g en el grupo A vs 28,63 g en el grupo B). Se ha reportado que la deficiencia de hierro en etapas tempranas puede afectar el crecimiento^(15,16), lo que concuerda con nuestros hallazgos. Esta alteración podría estar relacionada con la reducción de la ingesta alimentaria, un fenómeno observado en estudios previos donde la anemia disminuye el apetito y la actividad física, afectando el peso corporal. Además, la deficiencia de hierro podría desregular la concentración de grelina, hormona clave en la regulación del metabolismo energético, lo que a su vez impacta el crecimiento^(17,18).

Un estudio preclínico que indujo anemia por deficiencia de hierro y posteriormente reintrodujo este micronutriente en la dieta mostró que los animales con deficiencia de hierro pesaban menos que el grupo control, y que esta diferencia persistió incluso después de la reposición del hierro⁽¹⁹⁾. Estos hallazgos respaldan la importancia del hierro como nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo temprano. Asimismo, la anemia genera una condición hipóxica en los hepatocitos, lo que inhibe la acción del factor de crecimiento similar a insulina tipo 1 (IGF-1) debido al incremento de su proteína de unión (IGFBP-1)⁽¹⁵⁾. Dado que IGF-1 es una hormona que interviene en el crecimiento óseo a nivel de las placas epifisiarias de los huesos largos, su inhibición puede afectar el desarrollo normal⁽²⁰⁾. En el presente estudio, estos eventos biológicos se reflejaron en las diferencias de tamaño entre los grupos experimentales.

En relación con la coloración de la sangre, la hemoglobina está compuesta por una globina y un grupo prostético hemo, el cual contiene hierro y porfirina, otorgándole su color rojo característico⁽³⁾. En este estudio, la deficiencia de hierro provocó una evidente diferencia en la pigmentación de la sangre obtenida de los ratones, donde aquellos alimentados con dieta estándar presentaron una coloración más oscura en comparación con los alimentados con la dieta deficiente en hierro.

Las implicancias de este estudio están relacionadas con la alta prevalencia de la anemia por deficiencia de hierro a nivel mundial y sus repercusiones en el desarrollo cognitivo, físico y metabólico. Estos hallazgos resaltan la importancia de continuar con investigaciones preclínicas que permitan ampliar y profundizar el conocimiento en esta área, con el objetivo de desarrollar estrategias efectivas para la prevención y el tratamiento de esta condición⁽²¹⁾. Además, sería relevante replicar este estudio en animales hembras para evaluar posibles diferencias en la respuesta a la deficiencia de hierro. Entre las fortalezas del estudio destaca la implementación de un método sencillo y accesible para inducir anemia mediante una dieta deficiente en hierro, elaborada con insumos comerciales

comerciales de fácil adquisición, lo que facilita su replicación. Asimismo, se utilizaron instrumentos y equipos accesibles y de fácil estandarización, lo que garantiza la viabilidad del procedimiento. Sin embargo, dentro de las limitaciones del estudio, se debe considerar que la mezcla láctea empleada como base de la dieta deficiente en hierro es producida por una empresa peruana, lo que podría dificultar su replicación en otros países.

Además, la inclusión de un mayor número de animales y la realización de evaluaciones en diferentes puntos temporales (15, 45 y 60 días) habrían permitido una visión más completa del proceso de inducción de anemia.

Contribuciones de autoría: EAS: Conceptualización, investigación, redacción - borrador original, financiación. RDR: Curación de datos, análisis formal, redacción - borrador original. JMS: Metodología, análisis formal, redacción - borrador original. NLF: Supervisión, validación, redacción - revisión y edición. Todos los autores aprobaron la versión final a publicar.

Financiamiento: Esta investigación fue financiada por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – RR N° 006081-2023-R/UNMSM con código de proyecto A23012381.

Correspondencia: Elías Ernesto Aguirre-Siancas.

Correo electrónico: eaquirres@unmsm.edu.pe

REFERENCIAS

- Ortiz KJ, Ortiz YJ, Escobedo JR, de la Rosa LN, Jaimes CA. Análisis del modelo multicausal sobre el nivel de la anemia en niños de 6 a 35 meses en Perú. *Enferm Glob*. 2021;20(64):426–55. doi:[10.6018/eglobal.472871](https://doi.org/10.6018/eglobal.472871).
- Dutt S, Hamza I, Bartnikas TB. Molecular mechanisms of iron and heme metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2022;42:311–35. doi:[10.1146/annurev-nutr-062320-112625](https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-062320-112625).
- Benson AE, Shatzel JJ, Ryan KS, Hedges MA, Martens K, Aslan JE, et al. The incidence, complications and treatment of iron deficiency in pregnancy. *Eur J Haematol*. 2022;109(6):633–42. doi:[10.1111/ejh.13870](https://doi.org/10.1111/ejh.13870).
- Takeshima T, Yamamoto Y, Iwasaki K, Ha C, Oishi M, Sato A, et al. Prevalence, treatment status, medical costs, quality of life, and productivity loss in Japanese adult patients with anemia: a real-world database study. *J Med Econ*. 2023;26(1):1386–97. doi:[10.1080/13696998.2023.2271752](https://doi.org/10.1080/13696998.2023.2271752).
- Amaro-Terrazos JZ, Iparraguirre ME, Jiménez-Soria A. Efecto del consumo del extracto de quinua en anemia ferropénica inducida en ratones. *Rev Salud Pública*. 2020;21(2):232–5. doi:[10.15446/rsap.v21n2.65311](https://doi.org/10.15446/rsap.v21n2.65311).
- Susanti T, Dirgahayu P, Indarto D. Development of rat model with iron deficiency anemia by modification of its standard food. In: *Proceedings of the 2nd Public Health International Conference (PHICo 2017)*. Medan, Indonesia; 2018. doi:[10.2991/phico-17.2018.22](https://doi.org/10.2991/phico-17.2018.22).
- Amaro-Terrazos JZ, Iparraguirre ME, Isla-Ponciano PC. Efecto del consumo del extracto de alfalfa (*Medicago sativa*) en anemia ferropénica inducida en ratones (*Mus musculus*). *Rev Salud Pública*. 2020;20:730–4. doi:[10.15446/rsap.v20n6.65795](https://doi.org/10.15446/rsap.v20n6.65795).
- Gonzales-Carazas EF, Melgarejo-García GC, Chávez-Conde LK, Arellán-Bravo LJ, Carbajal-Lázaro E, Cabrera-Gómez YA, et al. Efecto terapéutico del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* spp. en anemia ferropénica inducida en ratas Holtzman macho. *An Fac Med*. 2013;74(1):7–10.
- Lume Tovar CW. Evaluación de la calidad de aceites vegetales comestibles extraídos de la pulpa de *Mauritia flexuosa* (Aguaje) [tesis de Maestría]. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2022 [citado el 12 de febrero de 2025]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/5240>.
- Marin N, Moragon A, Gil D, García-García F, Bisbal V. Acclimation and blood sampling: effects on stress markers in C57Bl/6J mice. *Animals*. 2023;13(18):2816. doi:[10.3390/ani13182816](https://doi.org/10.3390/ani13182816).
- Björner M, Zhu L. A minimally invasive, low-stress method for serial blood collection in aging mice. *Pathobiol Aging Age-related Dis*. 2019;9(1):1647400. doi:[10.1080/20010001.2019.1647400](https://doi.org/10.1080/20010001.2019.1647400).

CONCLUSIÓN

En conclusión, la implementación de una dieta deficiente en hierro permitió desarrollar un modelo experimental de anemia en ratones Balb/c de cuatro semanas de edad a los 30 días de evaluación. Este modelo constituye una metodología sencilla y reproducible para inducir anemia en un entorno preclínico, facilitando el estudio de diversas variables asociadas a esta condición.

AGRADECIMIENTO

Al Dr Miguel Hernán Sandoval Vegas por su apoyo en la parte experimental y al Sr. Reinaldo Madrid Prado que estuvo a cargo del cuidado y mantenimiento de los animales de experimentación.

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Recibido: 03 de Julio, 2024.

Aprobado: 17 de Marzo, 2025.



12. Vilchez Cáceda H, Flores López OE. Efecto sobre la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos en ratas albinas alimentadas a dosis repetidas (28 días) con miel de abeja en etanol. *Horizonte Med (Lima)*. 2018;18(4):61–9. doi:[10.24265/horizmed.2018.v18n4.09](https://doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n4.09).
13. Arunachalam K, Sasidharan SP. General considerations and collection of animal blood. In: Arunachalam K, Sasidharan SP, eds. *Bioassays in Experimental and Preclinical Pharmacology*. New York, NY: Springer US; 2021;51–5. doi:[10.1007/978-1-0716-1233-0_7](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1233-0_7).
14. Silvestri L, Nai A. Iron and erythropoiesis: a mutual alliance. *Semin Hematol*. 2021;58(3):145–52. doi:[10.1053/j.seminhematol.2021.05.002](https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2021.05.002).
15. Medise BE, Julia M, Devaera Y, Sitaresmi MN, Asmarinah, Widjaja NA, et al. Understanding the pubertal, psychosocial, and cognitive developmental trajectories of stunted and non-stunted adolescents: protocol of a multi-site Indonesian cohort study. *Front Pediatr*. 2024;12. doi:[10.3389/fped.2024.1296128](https://doi.org/10.3389/fped.2024.1296128).
16. Zhao Q, Zhang M, Ji B, Chu Y, Pan H, Yan W, Ban B. Relationship between hemoglobin and insulin-like growth factor-1 in children and adolescents with idiopathic short stature. *BMC Endocr Disord*. 2020;20(1):119. doi:[10.1186/s12902-020-00600-w](https://doi.org/10.1186/s12902-020-00600-w).
17. Hanley-Cook G, Toe LC, Tesfamariam K, de Kok B, Argaw A, Compaoré A, et al. Fortified balanced energy-protein supplementation, maternal anemia, and gestational weight gain: a randomized controlled efficacy trial among pregnant women in rural Burkina Faso. *Journal Of Nutrition*. 2022;152(10):2277–2286. doi:[10.1093/jn/nxac171](https://doi.org/10.1093/jn/nxac171).
18. Mulyantoro DK, Kusriani I. Protein energy deficiency increases the risk of anemia in pregnant women. *IOP Conference Series Earth And Environmental Science*. 2021;810(1):012043. doi:[10.1088/1755-1315/810/1/012043](https://doi.org/10.1088/1755-1315/810/1/012043).
19. Knight LC, Dilger RN. Longitudinal effects of iron deficiency anemia and subsequent repletion on blood parameters and the rate and composition of growth in pigs. *Nutrients*. 2018;10(5):632. doi:[10.3390/nu10050632](https://doi.org/10.3390/nu10050632).
20. Wang J, Zhu Q, Cao D, Peng Q, Zhang X, Li C, et al. Bone marrow-derived IGF-1 orchestrates maintenance and regeneration of the adult skeleton. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2023;120(1):e2203779120. doi:[10.1073/pnas.2203779120](https://doi.org/10.1073/pnas.2203779120).
21. Sundararajan S, Rabe H. Prevention of iron deficiency anemia in infants and toddlers. *Pediatr Res*. 2021;89(1):63–73. doi:[10.1038/s41390-020-0907-5](https://doi.org/10.1038/s41390-020-0907-5).