

Efecto comparativo de los galactooligosacáridos de la matriz de dos dietas diferentes en la salud ósea de ratas en crecimiento

Comparative effect of galactooligosaccharides from two different diet matrices on bone health of growing rats

Efeito comparativo dos galactooligosacarídeos da matriz de duas dietas diferentes na saúde óssea de ratos em crescimento

Seijo, Mariana^{1*}; Klarreich Schwartz, Francesca¹; Zeni Coronel, Magali Estefania¹; Bryk, Gabriel¹; Bonanno, Marina Soledad¹; Aceval, Lucia¹; Vénica, Claudia²; Bozzini, Clarisa³; Pita Martín de Portela, María Luz¹; Perotti, María Cristina²; Zeni, Susana¹.

Recibido: 11 de marzo de 2025. Aceptado: 13 de mayo de 2025.

¿Qué se sabe?

Los galactooligosacáridos (GOS) son oligosacáridos reconocidos como prebióticos, que promueven el crecimiento de bacterias beneficiosas colónicas. En ratas en crecimiento, los GOS modulan la microbiota intestinal colónica favoreciendo el desarrollo de bacterias benéficas. El producto de la fermentación de los GOS por dichas bacterias son los ácidos grasos de cadena corta. Se ha documentado que estos compuestos mejoran la absorción de minerales como calcio, fósforo y magnesio. Esta mayor absorción se traduce en mayor biodisponibilidad de minerales indispensables para el hueso, contribuyendo a una mejor salud ósea.

¿Qué aporta este trabajo?

Este estudio experimental en ratas en crecimiento compara el efecto del consumo de GOS sobre el desarrollo óseo cuando se suministra de dos maneras: en una mezcla con fructooligosacárido (FOS) o en una matriz de yogur. Los resultados demuestran que los GOS favorecen la absorción y retención de minerales esenciales para la salud ósea, independientemente de la matriz alimentaria que actúa como vehículo del prebiótico; mejorando no solo la densidad ósea sino las características biomecánicas del hueso. Estos hallazgos sugieren que el consumo de los GOS contribuye a alcanzar el óptimo desarrollo óseo durante el crecimiento.

* Correspondencia: Mariana Seijo mseijo@fmed.uba.ar

1. Laboratorio de Osteopatías Metabólicas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo, INIGEM/CONICET/UBA, Buenos Aires, Argentina.

2. Instituto de Lactología Industrial UNL/CONICET, Facultad de Ingeniería Química, Santa Fe, Argentina.

3. Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

Resumen

Introducción: Estudios anteriores demostraron la eficacia de los GOS para aumentar la absorción y biodisponibilidad del calcio (Ca) y mejorar la retención ósea.

Objetivo: Comparar el efecto de los GOS de dos matrices alimentarias diferentes sobre la formación y la calidad ósea durante el crecimiento normal.

Métodos. Se dividieron ratas macho en 3 grupos al destete y se alimentaron durante 40 días con: dieta control AIN-93G (C), mezcla GOS-FOS en una proporción de GOS/FOS[®] 9:1 (MP) o GOS contenido en un yogur experimental (YE). Se determinó: longitud del fémur (LF) (cm) y su contenido en Ca y fosfato (Pi), densidad mineral ósea (DMO) del esqueleto total (Et), columna lumbar (Cl), fémur total (Ft), tibia proximal (Tp) y contenido mineral óseo (CMO) Et por densitometría, porcentaje de volumen óseo (%VO), cartílago epifisario (GPC.Th) e hipertrófico (HpZ.Th) (μm) por histología, resistencia máxima a la fractura (N), y rigidez ósea (N/mm) por biomecánica.

Resultados. La LF y el DMO Et fueron similares entre grupos. El Ca y el Pi fueron mayores en los grupos MP y YE. El CMOEt y el DMOCl fueron mayores en el grupo MP ($p < 0.05$), mientras que el DMOTp y el Ft fueron más altos en YE ($p < 0.05$). El %VO fue similar y los valores más altos de GPC.Th y HpZ.Th se observaron en MP ($p < 0.05$). Los grupos MP y YE mostraron valores similares en los parámetros de biomecánica.

Conclusiones: La absorción inducida por ambas fuentes de GOS permitió una retención de minerales que benefició la salud ósea durante el crecimiento.

Palabras clave: crecimiento, prebióticos, modelos animales.

Abstract

Introduction: Previous studies have shown the efficacy of GOS in increasing calcium (Ca) absorption and bioavailability and improving bone retention.

Objective: To compare the effects of GOS from two different food matrices on bone formation and quality during normal growth.

Methods: Male rats were divided into three groups at weaning and fed until 40 days of age with: AIN-93G control diet (C), GOS-FOS mixture in a ratio of GOS/FOS® 9:1 (MP) or GOS contained in an experimental yoghurt (YE). The following parameters were determined: femur length (LF) (cm) and its Ca and phosphate content (Pi); bone mineral density (BMD) of the total skeleton (Et), lumbar spine (Cl), total femur (Ft), proximal tibia (Tp) and bone mineral content (BMC) Et by densitometry, bone volume percentage (%VO), epiphyseal cartilage (GPC.Th) and hypertrophic (HpZ.Th) cartilage (µm) by histology, maximum fracture toughness (N), and bone stiffness (N/mm) by biomechanics.

Results: LF and BMD Et were similar between groups. Ca and Pi were higher in MP and YE. CMOEt and DMOCl were higher in MP ($p < 0.05$), while DMOTp and Ft were higher in YE ($p < 0.05$). %VO was similar between groups and the highest significant values of GPC.Th and HpZ.Th were observed in MP ($p < 0.05$). MP and YE showed similar values in biomechanical parameters.

Conclusions: Absorption induced by both sources of GOS facilitated bone mineral retention, benefiting bone health during growth.

Keywords: growth; prebiotics; models, animal.

Resumo

Introdução: estudos anteriores demonstraram a eficácia dos GOS no aumento da absorção e biodisponibilidade do cálcio (Ca) e na melhora da retenção óssea.

Objetivo: comparar o efeito dos GOS de duas matrizes alimentares diferentes na formação e qualidade óssea durante o crescimento normal.

Métodos: ratos machos no desmame foram divididos em 3 grupos e alimentados até os 40 dias de idade: dieta de controle AIN-93G (C), mistura de GOS-FOS numa proporção de GOS/FOS® 9:1 (MP) ou GOS contido num iogurte experimental (IE). Comprimento do fêmur (CF) (cm) e seu conteúdo de Ca e fosfato (Pi); densidade mineral óssea (DMO) do esqueleto total (Et), coluna lombar (CL), fêmur total (Ft), tibia proximal (Tp) e conteúdo mineral ósseo (CMO) Et por densitometria; percentagem de volume ósseo (%VO), cartilagem epifisária (GPC.Th) e cartilagem hipertrófica (HpZ.Th) (µm) por histologia; resistência máxima à fratura (N), e rigidez óssea (N/mm) por biomecânica.

Resultados: O CF e DMO foram semelhante entre os grupos. Ca e Pi foram mais elevados em MP e IE. CMOEt e DMOCl foram maiores em MP ($p < 0,05$); DMOTp e Ft foram maiores em IE ($p < 0,05$). O %VO foi semelhante entre os grupos e os maiores valores significativos de GPC.Th e HpZ.Th foram observados no MP ($p < 0,05$). O MP e o IE apresentaram valores semelhantes nos parâmetros biomecânicos.

Conclusões: A absorção induzida por ambas as fontes de GOS permitiu a retenção de minerais no osso, o que beneficiou a saúde óssea durante o crescimento.

Palavras-chave: crescimento, prebióticos, modelos animais.

Fuentes de financiamiento:

UBACYT 2023 200220220400137BA

Conflicto de intereses:

Las/os autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Introducción

El pico de masa ósea (PMO) es la máxima cantidad de hueso que un individuo puede alcanzar al finalizar el periodo de crecimiento, que se produce entre el final de la adolescencia y los 20 años de edad (1,2). Este capital óseo será utilizado más adelante para enfrentar la pérdida de hueso que normalmente ocurre con el envejecimiento. La nutrición, que regula el crecimiento lineal, es el factor modificable más importante para la adquisición de masa ósea durante el desarrollo y su mantenimiento en la etapa adulta, lo cual es crucial para la prevención de la osteoporosis (3).

El calcio (Ca) es un nutriente esencial para la salud ósea, tanto para lograr el PMO como para reducir la pérdida ósea en la etapa adulta. La biodisponibilidad del Ca depende de varios factores, incluyendo la fuente de obtención, la edad del consumidor, el tiempo de tránsito intestinal, la cantidad ingerida, el contenido intestinal, el tipo de dieta y factores hormonales, que influyen en la velocidad de absorción (2,4). Los productos lácteos son beneficiosos no solo por su contenido de Ca, sino también por sus componentes bioactivos, que los convierte en excelentes vehículos para el enriquecimiento nutricional (2).

Además de los productos lácteos, los oligosacáridos no digeribles (OND) con función prebiótica, como los galactooligosacáridos (GOS) y fructooligosacáridos (FOS), juegan un papel importante en la salud ósea. Estos OND pasan sin ser digeridos al colon, donde actúan como sustrato para el desarrollo de bacterias benéficas (potencialmente probióticas) como las Bifidobacterias y los Lactobacilos, favoreciendo su crecimiento y/o actividad sobre otros microorganismos. Entre los productos de metabolización de los probióticos se encuentran los ácidos grasos de cadena corta (AGCC): ácido láctico, ácido propiónico y ácido butírico. Este último ejerce un efecto trófico sobre los colonocitos al aumentar la profundidad y densidad de las criptas colónicas, y con ello la absorción paracelular/transcelular de minerales (5-8). Asimismo, los AGCC descienden el pH intestinal, aumentando la solubilidad de diferentes sales de Ca y favoreciendo su absorción. Aunque la mayor parte de la absorción de Ca se produce en el intestino delgado, alrededor del 10% puede ocurrir en el colon si permanece en forma iónica y soluble (5-8).

En base a lo expuesto, el objetivo del presente estudio fue comparar el efecto de los GOS presente en dos matrices alimentarias diferentes sobre la formación y la calidad del hueso en ratas durante el crecimiento normal.

Materiales y métodos

Animales

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, pertenecientes al bioterio de la cátedra de Nutrición, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (UBA). El proto-

colo de estudio fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio o Experimentación (CICUAL) de dicha facultad (Res. CS. 4081/04; 0 07416 0/ 2017). Las ratas se mantuvieron en jaulas de acero inoxidable con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas, con temperatura controlada de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de 55%. Tanto el alimento como el agua fueron administrados *ad libitum*. Al finalizar la experiencia, los animales fueron sacrificados mediante exanguinación total, previa anestesia con una mezcla de clorhidrato de ketamina (Holliday-Scott SA, Argentina) y clorhidrato de xilacina (Lab Richmond, Div. Veterinaria SA, Argentina) en dosis de 70 mg/kg y 10 mg/kg respectivamente por vía intraperitoneal, finalizando con aplicación intracardiaca de Euthanyle.

Diets

Al destete (Ti), los animales fueron divididos en tres grupos de 8 animales cada uno y alimentados hasta los 40 días de vida (Tf), con una de las tres dietas semisintéticas ensayadas, formuladas acorde con los lineamientos de AIN'93-G, que corresponde a la dieta recomendada para animales en crecimiento (9):

- Grupo C (control): dieta AIN'93-G.
- Grupo MP (mezcla prebiótica): dieta AIN'93-G con la adición de GOS/FOS® en una proporción 9:1.
- Grupo YE (yogur experimental): dieta a base de yogur liofilizado, cumpliendo con las especificaciones de AIN'93-G, que por su proceso de elaboración contenía GOS y era reducido en lactosa.

El yogur fue desarrollado por el Instituto de Lactología Industrial (INLAIN-UNL/CO-NICET, Santa Fe). La base láctea empleada contenía leche descremada en polvo y concentrado de proteína de suero. Se inoculó con el fermento, compuesto por *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*, microorganismos específicos para que el producto cumpla con la definición legal de yogur. Simultáneamente, se adicionó la enzima β -galactosidasa (YNL-2 GODO®, Shusei Company Limited, Tokio, Japón), con actividad de transgalactosidasa. Mediante este procedimiento, parte de la lactosa fue transformada en GOS. Luego de su obtención, el yogur fue liofilizado para obtener el polvo que se utilizó para alimentar a los animales. Sobre una muestra representativa de yogur liofilizado, se determinó la composición fisicoquímica, el recuento microbiológico y el perfil de carbohidratos utilizando las técnicas normalizadas por Vénica et al. (10).

Parámetros zoométricos

Desde el destete y hasta el final de la experiencia se registró diariamente la ingesta de alimentos de cada animal. El peso corporal (PC) se registró con una frecuencia de dos veces por semana.

Parámetros óseos

Previo al sacrificio, se determinaron "in vivo" la densidad mineral (DMO) y el contenido mineral (CMO) de esqueleto total (Et), mediante la técnica de DXA y bajo anestesia débil. El

equipo utilizado consta de un software diseñado específicamente para evaluar pequeños animales (Lunar DPX Alfa Corp., Madison, WI). Todas las ratas fueron analizadas utilizando el mismo tipo de exploración. La precisión del software fue evaluada por la medición de una misma rata cinco veces con reposición entre dos exploraciones en el mismo y en diferentes días. El análisis de las subáreas de interés de columna lumbar (Cl), tibia proximal (Tp) y fémur total (Ft) se realizó utilizando la imagen del animal visualizado en la pantalla de la computadora mediante operación manual delimitando una ventana específica (ROI) para cada segmento. El coeficiente de variación (CV) para DMOEt fue de 0,9%, para la DMOCl fue de 1,8% y para DMOTp y DMOFt fue de 3,5%. Todos los análisis fueron realizados por el mismo observador con el fin de reducir al mínimo la variación inter observador (11). Los valores de DMO fueron normalizados por PC.

El fémur desgrasado limpio de todo resto muscular fue pesado utilizando una balanza analítica Denver (APX 200) con una precisión ± 0.1 mg. La longitud del mismo fue medida con un calibre Vernier (VIS, Polonia). El contenido de Ca y Pi del fémur se determinó luego de la mineralización con una mezcla de HCl-HNO₃ (1:1) y su valor fue normalizado por el peso del fémur (mg/g fémur).

Parámetros histológicos

Inmediatamente después del sacrificio, la tibia derecha de cada animal se limpió de tejidos blandos y fue fijada por inmersión en buffer formalina durante un período de 48 horas. Posteriormente, fue descalcificada en EDTA al 10% (pH 7) durante 25 días e incluida en parafina a 56-58°C. Finalmente se realizaron cortes longitudinales (8-10 μ m de espesor) que se tiñeron con hematoxilina-eosina y se micro-fotografiaron (equipo AXIOSKOP®, Carl Zeiss, Alemania). En los cortes se determinaron el volumen óseo (BV/TV) (%) en el hueso esponjoso subcondral y el ancho del cartilago de crecimiento a través de la imagen digitalizada, utilizando el programa de computación Image-Pro-4.5®.

Parámetros biomecánicos

Al finalizar el estudio, el fémur derecho se embebió en solución fisiológica y se almacenó en freezer a -20°C hasta realizar las pruebas biomecánicas. Dichas determinaciones fueron realizadas mediante la prueba de flexión de tres puntos en un equipo Instron 4411® de análisis universal de materiales. Se determinaron los siguientes parámetros diafisarios femorales: fuerza máxima de fractura (N) y rigidez ósea (N/mm).

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media \pm desvío estándar (DE). La normalidad de las variables fue evaluada mediante el

test de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante el test de Levene. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) de un factor seguido del test de Bonferroni para comparaciones entre grupos, considerando significativo un $p < 0.05$ para ambas pruebas. Los parámetros histológicos fueron evaluados por medio de un análisis factorial de un solo punto. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 19.0® para Windows (SPSS, Inc. Chicago, IL). Un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo.

Resultados

Durante el período experimental, todos los animales permanecieron en buen estado de salud general y no se observaron efectos secundarios por el consumo de las distintas dietas ensayadas, como diarrea. El consumo de dieta no mostró diferencias significativas entre los grupos ensayados durante toda la experiencia (datos no mostrados). El PC fue similar entre los grupos al inicio de la experiencia; sin embargo, al final de la misma, el PC de los animales del grupo YE fue significativamente mayor comparado con los otros dos grupos (Tabla 1).

La DMOEt no mostró diferencias significativas entre los grupos. El DMOEt fue significativamente mayor en el grupo MP comparado con los otros dos grupos ($p < 0.05$) mientras que el grupo YE presentó valores similares a C. La DMOCl fue significativamente mayor en el grupo MP comparado con los otros dos grupos ($p < 0.05$); por otra parte, el grupo YE presentó valores similares a C. La DMOTp y la DMOFt fueron significativamente mayores en el grupo YE ($p < 0.05$) comparado con MP y C ($p < 0.05$); no se observaron diferencias entre los grupos MP y C (Tabla 1).

La longitud de fémur fue similar entre los grupos estudiados. El contenido de Ca fue significativamente mayor en el grupo MP ($p < 0.05$) mientras que el grupo YE presentó valores similares a C. El contenido de Pi disminuyó significativamente en el siguiente orden MP > YE > C ($p < 0.05$) (Tabla 1).

El volumen óseo fue similar entre los grupos analizados. Tanto el cartilago epifisario como hipertrófico disminuyeron el siguiente orden MP > C > YE ($p < 0.05$) (Tabla 1).

La resistencia máxima de fractura fue significativamente mayor en YE comparado con C ($p < 0.05$); sin embargo, el YE no presentó diferencias respecto del grupo MP en este parámetro. La rigidez ósea fue significativamente mayor en MP comparado con YE y C ($p < 0.05$) mientras que YE y C mostraron valores similares (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros analizados en cada uno de los grupos de estudio

	C	MP	YE
Parámetro antropométrico			
Peso inicial (g)	43.4±4.8	42.6±6.2	56.2±6.7
Peso final (g)	180±24	170±13	218±15 ^{*,**}
Parámetros Densitométricos			
DMO Et (mg/cm ² /PC)	142±10	147±9	145±9
CMO Et (mg/100g PC)	2.2±0.4	3.2±0.3 [*]	2.3±0.2 ^{**}
DMO Cl (mg/cm ² /PC)	103±11	188±8 [*]	115±12 ^{**}
DMO Tp (mg/cm ² /PC)	102±10	119±9 [*]	139±10 ^{*,**}
DMO Ft (mg/cm ² /PC)	102±10	119±9 [*]	139±10 ^{*,**}
Largo y contenido mineral en fémur			
Longitud del Fémur (cm)	3.4±0.1	3.4±0.2	2.7±0.1
Contenido de Ca (mg/g)	126.7±0.6	175.2±1.1 [*]	128.4±9.0 ^{**}
Contenido de Pi (mg/g)	75.7±1.2	99.5±1.4 [*]	85.5±5.6 ^{*,**}
Parámetros Histológicos			
VO (%)	32	38	35
GPC.th (µm)	512±73	576±68	452±30 ^{**}
HpZ.th (µm)	297±33	340±58	259±22 ^{**}
Parámetros Biomecánicos			
Fuerza Máxima de fractura (N)	57.5±5.9	64.1±8.3	68.5±6.7 [*]
Módulo de elasticidad (N/mm)	119.0±12.1	154.1±10.9 [*]	130.1±8.1 ^{*,**}

DMO: densidad mineral ósea, CMO: contenido mineral óseo, Et: esqueleto total, Cl: columna lumbar, Tp: tibia proximal, Ft: fémur total; GPC.th: cartílago epifisario, HpZ.th: cartílago hipertrófico; Ca: calcio, Pi: fósforo; VO: volumen óseo. *p<0.05 vs C y ** p<0.05 vs. MP.

Discusión

Los resultados del presente estudio demostraron que los GOS, independientemente de la dieta en la cual se encontraron contenidos, permitieron a los animales tratados alcanzar los valores densitométricos normales. La DMOEt es un parámetro que refleja la densidad mineral global en el esqueleto axial, fundamentalmente cortical (12). El organismo posee mecanismos de homeostasis mineral altamente eficientes que garantizan el mantenimiento de niveles adecuados de Ca y P en el esqueleto axial. Hormonas como la parathormona (PTH), la vitamina D e IGF1 juegan un papel crucial en el proceso homeostático, la reabsorción renal y

el almacenamiento de los minerales indispensables para la salud ósea (12,13). Estudios sugieren que la suplementación con prebióticos puede aumentar la biodisponibilidad de estos minerales y, por ende, contribuir a la densidad mineral ósea (8). En nuestro estudio comprobamos que los GOS aumentaron la biodisponibilidad mineral y con ello la retención en hueso. Los GOS, al actuar como prebióticos, promueven la proliferación de bacterias beneficiosas en el tracto gastrointestinal, y aumentan consecuentemente la producción de AGCC. Éstos reducen el pH intestinal, facilitando la solubilidad de sales de Ca y su absorción (6,8,11,14,15). En experimentos realizados previamente pudimos observar que tanto la adición de la mezcla GOS/FOS® y del yogur con GOS

permitieron aumentar significativamente el desarrollo de colonias de Lactobacilos y la concentración de AGCC en el colon. Este aumento en la concentración de los AGCC llevaría a la disminución del pH del intestino grueso favoreciendo el mantenimiento de los iones Ca en solución, mejorando la disponibilidad de Ca y Pi para su absorción (6,8,11–13). Se ha postulado que los GOS podrían tener un efecto directo sobre el metabolismo óseo modificando la expresión de genes relacionados con la formación y resorción ósea, promoviendo un balance positivo en la masa ósea (8,14,15).

La densidad mineral en las distintas áreas evaluadas alcanzó los niveles del grupo control. La DMOCl y DMOTp que presentan fundamentalmente hueso trabecular, indicaría que, también a nivel de este tipo de hueso (metabólicamente más activo que el cortical) el consumo de GOS permitió alcanzar los estándares normales. Como mencionamos anteriormente, el esqueleto total está compuesto principalmente por hueso cortical (aproximadamente 80%), mientras que en la columna lumbar y la tibia proximal predomina el hueso trabecular (12). En la rata, la columna lumbar es una región que no soporta mucho peso, por ello es más sensible a los cambios de masa ósea que las áreas que sí lo hacen, como la tibia proximal (11). A pesar de ello, las dietas suplementadas con

GOS también permitieron el normal desarrollo de hueso trabecular, probablemente, mediando cambios en la microbiota intestinal y en la producción de AGCC, que han demostrado tener efectos positivos sobre la salud ósea, como ya se ha explicado. En concordancia con la densitometría ósea, los datos antropométricos e histológicos (longitud del fémur y el volumen óseo) también mostraron similitud entre los grupos. Estos resultados indicarían que los GOS efectivamente favorecen la proliferación y la formación de hueso nuevo (6,8,11,14,15). Finalmente, los parámetros estructurales correspondientes a la calidad del hueso formado también fueron similares en las dos dietas evaluadas. Estos resultados sugieren que los GOS también afectaron en forma positiva la calidad ósea en términos de resistencia mecánica. (1,6,8,15).

Conclusiones

El agregado de GOS en la dieta, independientemente de la matriz alimentaria en la que se suministró, permitió el crecimiento adecuado de los animales. Esto favoreció la absorción y retención de Ca y Pi en hueso, permitiendo que el hueso formado alcanzara calidad similar al reportado para ratas Wistar macho durante el crecimiento normal.

Contribución de los/as autores:

MS y SZ: búsqueda bibliográfica, recolección de datos, diseño del estudio, análisis de los datos, preparación del manuscrito, revisión del manuscrito.

FKS y LA: búsqueda bibliográfica, recolección de datos, análisis de los datos, preparación del manuscrito.

MEZC: recolección de datos, análisis de los datos, preparación del manuscrito.

GB: recolección de datos, diseño del estudio, análisis de los datos, preparación del manuscrito.

MSB y MCP: recolección de datos, revisión del manuscrito.

CV: recolección de datos, diseño del estudio, análisis de los datos, revisión del manuscrito.

CB: determinaciones de parámetros biomecánicos, análisis de los datos, revisión del manuscrito.

MLPMdP: diseño del estudio, análisis de los datos, preparación del manuscrito, revisión del manuscrito.

Referencias bibliográficas:

1. Akhiiarova K, Khusainova R, Minniakhmetov I, Mokrysheva N, Tyurin A. Peak Bone Mass Formation: Modern View of the Problem. *Biomedicines* [Internet]. 2023 [Citado 27 de agosto de 2024];11(11):2982. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines11112982>
2. Weaver CM, Gordon CM, Janz KF, Kalkwarf HJ, Lappe JM, Lewis R, et al. The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteoporos Int* [Internet]. 2016 [Citado 27 de agosto de 2024];27(4):1281–386. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-015-3440-3>. Erratum in: The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteoporos Int* [Internet]. 2016 [Citado 27 de agosto de 2024];27(4):1387–1387. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-016-3551-5>
3. Salam RA, Das JK, Ahmed W, Irfan O, Sheikh SS, Bhutta ZA. Effects of Preventive Nutrition Interventions among Adolescents on Health and Nutritional Status in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* [Internet]. 2019 [Citado 28 de agosto de 2024];12(1):49. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu12010049>
4. Shkemi B, Huppertz T. Calcium Absorption from Food Products: Food Matrix Effects. *Nutrients* [Internet]. 2021 [Citado 28 de agosto de 2024];14(1):180. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu14010180>
5. Ilesanmi-Oyelere BL, Kruger MC. The Role of Milk Components, Pro-, Pre-, and Synbiotic Foods in Calcium Absorption and Bone Health Maintenance. *Front Nutr* [Internet]. 2020 [Citado 28 de agosto de 2024];7:578702. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fnut.2020.578702>
6. Seijo M, Bonanno M, Vénica C, Marotte C, Pita Martín M, Bergamini C, et al. A yoghurt containing galactooligosaccharides and having low-lactose level improves calcium absorption and retention during growth: experimental study. *Int J Food Sci Technol* [Internet]. 2022 [Citado 2 de agosto de 2024];57(1):1–10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/1365-3113.12811>

- septiembre de 2024];57(1):48–56. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.15212>
7. Whisner CM, Castillo LF. Prebiotics, Bone and Mineral Metabolism. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 2018; [Citado 5 de septiembre de 2024] 102(4):443–79. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00223-017-0339-3>
8. Weaver CM, Martin BR, Nakatsu CH, Armstrong AP, Clavijo A, McCabe LD, et al. Galactooligosaccharides improve mineral absorption and bone properties in growing rats through gut fermentation. *J Agric Food Chem*. 2011; 59(12):6501-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf2009777>
9. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J Nutr* 1993;123:1939-51. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939>
10. Vénica CI, Wolf IV, Suárez VB, Bergamini CV, Perotti MC. Effect of the carbohydrates composition on physicochemical parameters and metabolic activity of starter culture in yogurts. *LWT* [Internet]. 2018 [Citado 5 de septiembre de 2024];94:163-71. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.034>
11. Bryk G, Zeni Coronel M, Pellegrini G, Mandalunis P, Rio ME, de Portela ML, Zeni SN. Effect of a combination GOS/FOS® prebiotic mixture and interaction with calcium intake on mineral absorption and bone parameters in growing rats. *Eur J Nutr* [Internet]. 2015 [Citado 8 de septiembre de 2024] ;54(6):913–23. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-014-0768-y>
12. Zaidi M, Yuen T, Sun L, Rosen CJ. Regulation of skeletal homeostasis. *Endocr Rev* [Internet]. 2018 [Citado 6 de septiembre de 2024]; 39(5):701–18. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1210/er.2018-00050>
13. Wu Z, Li W, Jiang K, Lin Z, Qian C, Wu M, et al. Regulation of bone homeostasis: signaling pathways and therapeutic targets. *MedComm* [Internet]. 2024 [Citado 6 de septiembre de 2024];5(8):e657. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/mco2.657>
14. Seijo M, Bonanno MS, Vénica CI, Pita Martín de Portela ML, Bozzini C, Bergamini CV, et al. Absorción mineral y retención ósea en ratas normales en crecimiento por el consumo de un yogur experimental reducido en lactosa que contiene galactooligosacáridos (GOS). *Actual. Osteol.* [Internet]. [citado 8 de septiembre de 2024];18(2):60-74. Disponible en: <https://ojs.osteologia.org.ar/ojs33010/index.php/osteologia/article/view/19>
15. Bryk G, Zeni Coronel M, Medina D, Pellegrini G, Pita Martín de Portela ML, Zeni SN. Efecto de una mezcla de galactooligosacáridos (GOS) / fructooligosacáridos (FOS) sobre la absorción intestinal y retención ósea de calcio, fósforo y magnesio: modelo experimental en ratas durante el crecimiento normal. *Actual. Osteol.* [Internet]. 2024 [citado 8 de septiembre de 2024];9(3):245-56. Disponible en: <https://ojs.osteologia.org.ar/ojs33010/index.php/osteologia/article/view/442>