



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EFEECTO DE LA DESNUTRICIÓN ENERGÉTICO
PROTEÍNICAS EN EL CONTENIDO DE
PROTEÍNAS PLASMÁTICAS, PROTEÍNAS EN
MUCOSA INTESTINAL Y DE GRASA EN
HÍGADO DE RATAS JÓVENES.

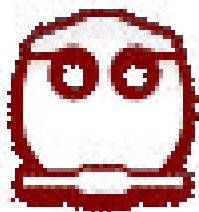
TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

SARAH CAROLINA GONZÁLEZ PILLADO



MÉXICO, D.F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Ángela Sotelo López	Termini
Vocal	Lucia Gabriela Bascuñan	
Secretario	Lucia Cornejo Barrera	
1er. Suplente	Leticia Gil Vieyra	osa
2do. Suplente	Rosa María Argote Espin	

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 111, Departamento de Farmacia, Conjunto E, Facultad de Química


Asesor del tema

Ángela Sotelo López



Supervisor técnico

Iliana Elvira González Hernández



Sustentante

Sarah Carolina González Pillado



AGRADECIMIENTOS

A mi papá, que es la persona más importante en mi vida y que gracias a su apoyo he logrado llegar al lugar en el que me encuentro ahora.

A mi abuelita que ella con su cariño y paciencia me ayudo a salir adelante.

A mis tías Yola y Lety por su apoyo y cariño durante toda mi vida.

A mis tíos por su cariño y ayuda en todo momento.

A Karla, Ari y Dafne por escucharme y ayuda incondicional.

A Susana, Erika, Berenice, Vanesa, Yuriria y Paola por compartir una amistad muy especial, su tiempo, ayuda y cariño.

A Jaime por el amor y ayuda que hemos compartido.

A Gilda, Ale, Liz, Laura y Viky por la ayuda, tiempo y compañía en laboratorio.

Agradezco profundamente a las personas que han apoyado mi carrera y durante la realización de este proyecto.

Ángela Sotelo López

Iliana González Hernández

Lucia Cornejo Barrera

Lucia Bascuñan Termini

Leticia Gil Vieyra

Rosa Maria Argote Espinosa

INDICE

	Páginas
Introducción	1
Capítulo 1. Objetivo	3
1.1. Objetivo general	3
1.2. Objetivos específicos	3
Capítulo 2. Antecedentes	4
2.1. Desnutrición	4
2.1.1. Proteínas plasmáticas	8
2.1.2. Hígado	9
2.1.3. Proteínas de la mucosa intestinal	10
2.1.4. Problemática	12
Capítulo 3. Metodología	13
3.1. Diagrama general de trabajo	13
3.2. Animales y dietas	14
3.3. Método analítico para la cuantificación de proteínas plasmáticas totales	16
3.3.1. Fundamento	16
3.3.2. Material y equipo	16
3.3.3. Reactivos	17
3.3.4. Preparación de soluciones	17
3.3.5. Preparación de la curva para la cuantificación de proteínas plasmática totales	18
3.3.6. Preparación de muestras	18
3.3.7. Cálculos	19
3.4. Metodología para la cuantificación de lípidos en hígado	19

3.4.1. Fundamento	19
3.4.2. Material y equipo	19
3.4.3. Reactivos	20
3.4.4. Preparación de soluciones	20
3.4.5. Metodología	21
3.4.6. Cálculos	21
3.5. Cuantificación de proteínas en hígado y proteínas de la mucosa intestinal por el método de Lowry	22
3.5.1. Fundamento	22
3.5.2. Material y equipo	22
3.5.3. Reactivos	23
3.5.4. Preparación de las soluciones	23
3.5.5. Método	24
3.5.5.1. Determinación de proteínas en hígado	24
3.5.5.2. Determinación de proteínas en la mucosa intestinal	24
3.5.6. Curva de calibración de albúmina	25
3.5.7. Cálculos	26
3.6. Análisis estadístico de los datos obtenidos en el bioensayo	26
Capítulo 4. Resultados y discusión	27
4.1. Uso de ratas jóvenes (recién destetadas) Sprague-Dawley	27
4.2. Incremento acumulativo en peso	27
4.3. Contenido de proteínas plasmáticas totales	28
4.4. Contenido de grasa en hígado	30
4.5. Contenido de proteínas en hígado	32
4.6. Contenido de grasa por proteína en hígado	33

4.7. Contenido de proteínas en la mucosa intestinal	35
Capítulo 5. Conclusiones	38
Capítulo 6. Recomendaciones	39
Bibliografía	40

INTRODUCCIÓN:

La nutrición es una situación bio-psico-social que se enfoca en el balance de los nutrientes aportados por la dieta y el aprovechamiento de estos por el organismo, en donde para un organismo normal debe de existir un equilibrio entre la actividad y lo consumido, además de que los nutrientes deben de tener una buena calidad y estar en cantidades suficientes como una correcta utilización de estos por el organismo.

La desnutrición es una enfermedad conocida desde hace muchos años que proviene de un desequilibrio entre el aporte de nutrientes a los tejidos, ya sea por una dieta inapropiada o por una utilización defectuosa por parte del organismo. Existen varios factores que influyen en la desnutrición como son la ignorancia, pobreza, reducción en la práctica y en la duración en la lactancia materna combinada con prácticas inadecuadas del destete, presencia del ciclo infección-desnutrición-infección. Por otra parte condiciones de vivienda poco higiénicas están asociadas con elevadas tasas de desnutrición infantil. La desnutrición infantil, usualmente llamada desnutrición energético proteínica (DEP) es una problemática a analizar para tratar de combatir mediante programas de rehabilitación, provisión oportuna de medicamentos, apoyo alimentario directo, información, educación etc., ya que si no se combate adecuadamente puede tener consecuencias inmediatas o a largo plazo. La DEP es la enfermedad nutricional más importante en los países en vías de desarrollo debido a su alta prevalencia y asociación con altas tasas de mortalidad infantil.

La DEP se ve con mayor frecuencia en niños menores de 2 ó 3 años porque su crecimiento impone mayores requerimientos nutricionales, no pueden adquirir alimentos por sus propios medios y, cuando viven en condiciones poco higiénicas, frecuentemente se enferman con diarrea y otras infecciones. Los lactantes que son destetados en forma prematura y los que son amamantados durante un período muy prolongado sin alimentación complementaria adecuada, pueden desnutrirse debido a una ingestión insuficiente de energía y proteínas. La prevención de la DEP es un reto enorme, ya que las causas son a menudo numerosas y complejas, y porque no existe una sola estrategia sencilla, universal y económica, que pueda aplicarse en todas partes para reducir la prevalencia o gravedad.

Se conocen las diferencias entre las manifestaciones clínicas de la desnutrición grave: la desnutrición tipo marasmo (deficiencia energética principalmente) y la desnutrición tipo kwashiorkor (deficiencia de proteínas de conversión eficiente) con respecto a las adaptaciones que los niños presentan, tales como la presencia disminuida de albúmina plasmática (predominante en el kwashiorkor) con respecto a una dieta normal, y la presencia de hígado graso también en la desnutrición tipo kwashiorkor.

En este trabajo se indujo una desnutrición causada por una dieta pobre en proteínas de conversión eficiente y una desnutrición causada por una dieta baja en energía y todos los nutrimentos en ratas jóvenes para su utilización como modelo en estudios futuros.

Para este estudio, se trabajó con tres grupos de ratas, cada uno de los cuales fue alimentado con una dieta diferente: el grupo 1, fue alimentado con una dieta con bajo contenido energético y de todos los nutrimentos; el grupo 2, se alimentó con una dieta con proteínas de baja conversión, en donde se empleó como fuente de proteína una mezcla de maíz, gelatina y leche mientras que el grupo 3 fue alimentado con una dieta con proteínas de conversión eficiente (caseína y leche) y con un aporte suficiente en energía y todos los nutrimentos, este último grupo sirvió como un grupo testigo para el experimento.

Para analizar la diferencia de los tres grupos, con respecto a la adaptación bioquímica del hígado, se midió el contenido de lípidos en este órgano. Asimismo se evaluó la diferencia con respecto al contenido de proteínas plasmáticas y proteínas de la mucosa intestinal.

Con los parámetros antes mencionados es posible determinar si las dietas propuestas pueden inducir tipos de desnutrición grave similares a los que se presentan en niños (marasmo y kwashiorkor). Lo anterior es importante para contar con modelos animales que permitan el estudio de los diferentes tipos de desnutrición, y permitan conocer los cambios producidos en el organismo.

OBJETIVOS:

1.1. Objetivo general:

- Evaluar en ratas machos jóvenes, la factibilidad de establecer una desnutrición con deficiencia de proteínas de conversión eficiente y otra con deficiencia energética y de todos los nutrimentos.

1.2. Objetivos específicos:

- Inducir la desnutrición en ratas jóvenes con dos tipos de dieta diferentes.
- Evaluar el contenido de lípidos en el hígado de las ratas alimentadas con las diferentes dietas.
- Evaluar el contenido de proteínas plasmáticas de las ratas alimentadas con las diferentes dietas.
- Evaluar el contenido de proteínas en la mucosa intestinal de las ratas alimentadas con las diferentes dietas.
- Comparar los resultados obtenidos en los grupos de animales desnutridos con los resultados obtenidos en ratas alimentadas con una dieta suficiente en energía y nutrimentos (grupo testigo).

ANTECEDENTES:

En este capítulo se profundiza sobre la definición, causa y características bioquímicas que se presentan en la desnutrición en especial tipo kwashiorkor y tipo marasmo; además una esclarecimiento de los parámetros a medir para estudio.

2.1. Desnutrición

La desnutrición es un estado patológico, inespecífico, sistémico y potencialmente reversible, que se origina como resultado de la deficiente incorporación de los nutrientes a las células del organismo y se presenta con diversos grados de intensidad y variadas manifestaciones clínicas. La incorporación deficiente de nutrientes se debe a la falta de ingestión, a un aumento de los requerimientos, a un gasto excesivo o a la combinación de los tres factores. Esta situación provoca una pérdida de las reservas del organismo, incrementa la susceptibilidad a las infecciones e instala el ciclo desnutrición-infección-desnutrición. La desnutrición es consecuencia de las enfermedades infecciosas, principalmente, y de una ingestión alimentaria inadecuada. Además de los aspectos fisiológicos, la desnutrición se asocia con otros muchos factores interrelacionados entre sí, como son los de índole social, política, económica, ambiental, psicológica y cultural. La ignorancia acerca de los patrones adecuados de alimentación y la baja escolaridad de los padres, por sí mismos o asociados a la pobreza, conducen la introducción tardía de alimentos en el niño durante el primer año de vida, con malas condiciones higiénicas, baja en cantidad, de poca variación y depende de creencias erróneas o desconocimiento acerca del uso de ciertos alimentos. Por tanto, el niño no recibe suficiente cantidad de energía, proteínas, vitaminas y nutrientes inorgánicos para poder crecer, sus reservas se agotan y la susceptibilidad a presentar infecciones se incrementa, lo que se asocia con un aumento en la frecuencia de la desnutrición energético proteínica (DEP).¹

La desnutrición energético proteínica (DEP) ocurre cuando los requerimientos corporales de proteínas, sustratos de energía o ambos no pueden satisfacerse por medio de la dieta. Evoluciona en forma gradual a lo largo de semanas o meses, lo cual produce una serie de ajustes metabólicos y conductuales que resultan en una disminución de la demanda de nutrimentos y un equilibrio nutrimental compatible con la disponibilidad reducida de nutrimentos a nivel celular; por ejemplo, para mantener el metabolismo basal, el niño desnutrido utiliza 15 por ciento menos energía por kilogramo de peso, en comparación con el niño con un adecuado estado nutricional.^{1,2}

La DEP es una enfermedad de grandes proporciones en el mundo, aunque se concentra de manera principal en los países en desarrollo; la Encuesta Urbana de Alimentación y Nutrición en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México, realizada en 1995, informó que según el indicador peso para la estatura, la frecuencia de desnutrición en el estrato socioeconómico alto era de 10.7 por ciento, en contraste con la que presentó el estrato socioeconómico bajo que fue de 20.4 por ciento.¹

Conforme la clasificación de Gómez la DEP se puede catalogar en 4 grados que se basan en el porcentaje en peso con respecto a la edad en donde si esta en un rango de 91 a 110 es normal, de 90 a 76 es leve, 75 a 60 es moderada y menor a 60 es grave, con esto se puede determinar la intensidad o gravedad de la DEP que ayuda en el pronóstico o tratamiento de la misma. Esto es importante conocerlo ya que de manera crónica, en niños con dietas bajas en nutrimentos y requerimientos energéticos, así como dietas suficientes en aporte energético pero deficiente en proteínas de conversión eficiente tienden a presentar desnutrición grave conocida con los nombres marasmo y kwashiorkor respectivamente.

Las deficiencias dietéticas de energía y de proteínas suelen presentarse al mismo tiempo, pero a veces una predomina y, si tienen la suficiente gravedad, puede conducir al síndrome clínico del kwashiorkor (en donde predomina la deficiencia de proteínas) o de marasmo (con una deficiencia energética principalmente). El kwashiorkor marásmico resulta de la combinación de la deficiencia crónica de sustratos energéticos y la deficiencia crónica o aguda de proteínas².

La palabra kwashiorkor, fue introducida en la literatura médica por el Dr. Cicely Williams a principios de la década de 1930. Procede de la lengua Ga de Africa Occidental y significa “enfermedad que aparece cuando se reemplaza a un niño por otro en el pecho materno”. El kwashiorkor es una de las

formas graves de la DEP, se debe a una dieta muy baja en proteínas, pero un aporte energético suficiente en forma de carbohidratos principalmente. Los signos característicos del kwashiorkor, son: edema, que comienza en los miembros inferiores y cuando llega a afectar la cara del niño le da aspecto de "luna llena", además de lesiones en la piel, cambios de textura y coloración en el pelo, apatía, anorexia, hepatomegalia por infiltración de grasa (falta de síntesis de lipoproteínas), albúmina sérica disminuida, falta de crecimiento, cambio psicológico, y músculos débiles, atrofiados, con algo de grasa subcutánea.

Por otro lado la palabra marasmo, se deriva del idioma griego y significa "despilfarrar", se ha usado durante años como término médico para los niños gravemente debilitados y bajos de peso. El marasmo difiere del kwashiorkor en varios aspectos. Es la otra forma grave de DEP, pero se debe a una dieta bajo tanto en el contenido proteínico como energético. Los signos que se presentan más frecuentemente en el marasmo, son: una grave reducción de peso, el edema no es detectable y existe adelgazamiento del tejido muscular y subcutáneo ("la piel que retrata a los huesos"); es decir, emaciación, que se acompaña de hipotonía, extremidades flácidas y "bolsas" en los glúteos^{3,1}.

En el cuadro no. 1 se muestran las características más importantes que se presentan en el marasmo y el kwashiorkor⁴.

Cuadro no. 1

Desnutrición energética proteínica tipo marasmo y kwashiorkor

Características que se presentan en ambos casos

	Marasmo	kwashiorkor
Características generales		
Edad habitual	Lactante	Segundo y tercer año
Daño hepático	Ninguno	Ninguno
Edema	Ausente	Presente
Emaciación de grasas y músculos	Grave	Leves
Deficiencias vitamínicas	Poco comunes	Comunes
Hallazgos de laboratorio generales		
Agua corporal total	Alta	Alta
Agua extracelular	Cierto incremento	Mayor incremento
Potasio corporal	Cierta depleción	Excesiva depleción
Malabsorción	Alguna	Más
Infiltración de grasa hepática	Ausente	Grave
Suero		
Albúmina, transferrina, etc.	Ligeramente baja	Muy baja
Enzimas (en general)	Normales	Bajas
Cobre, cinc, sodio	Normal	Bajo
Triglicéridos	Normales	Normales
Colesterol	Normal	Bajo
Ácidos grasos no esterificados	Normales	Altos
B-lipoproteína	Alta	Baja
Hígado		
Enzimas del ciclo de urea	Bajas	Bajas
Enzimas que sintetizan aminoácidos.	Altas	Altas

Los hallazgos bioquímicos más comunes, para desnutrición tipo marasmo y para desnutrición tipo kwashiorkor son: reducción notoria de las concentraciones séricas de proteínas totales, en especial albúmina en las formas DEP edematosas (kwashiorkor) y niveles normales o un poco bajos en el marasmo, además de la infiltración grasa que produce un aumento en el tamaño del hígado en individuos con kwashiorkor².

2.1.1. Proteínas plasmáticas

El plasma es la porción líquida de la sangre circulante, los principales tipos de proteínas presentes en él son la albúmina, la globulina y el fibrinógeno. En la coagulación sanguínea se separa el fibrinógeno, que produce fibrina insoluble durante el proceso de la formación del coágulo, el fibrinógeno no es más que una fracción menor de las proteínas totales de plasma, con una fluctuación normal entre 0.2 y 0.4 g por 100 mililitros. Las demás proteínas plasmáticas permanecen en el suero, líquido claro que se separa de la sangre cuando ésta se coagula. En él se encuentran las dos fracciones fundamentales: albúminas y globulinas, la segunda es una mezcla compleja de proteínas simples y conjugadas, incluidas las glucoproteínas y las lipoproteínas. Los anticuerpos circulantes, denominados también inmunoglobulinas, aparecen en la fracción gammaglobulina^{5,6}.

Casi todas las proteínas plasmáticas, con la excepción de parte de las gammaglobulinas, se forman en las células hepáticas. Las gammaglobulinas restantes se forman principalmente en las células plasmáticas del tejido linfoide del cuerpo. Debido a que las proteínas celulares en el hígado (y, en mucho menor grado, en otros tejidos) se pueden sintetizar rápidamente a partir de aminoácidos plasmáticos y muchos de ellos a su vez pueden ser degradados y devueltos al plasma casi con la misma rapidez, existe un equilibrio constante entre los aminoácidos plasmáticos y las proteínas de otras células del organismo, especialmente de las hepáticas⁶.

En la desnutrición la vida media de varias proteínas se incrementa, la velocidad de síntesis de la albúmina disminuye al principio, pero después de unos días también se reduce la velocidad de degradación y su vida media aumenta. Los mecanismos de adaptación fallan cuando el agotamiento de proteínas se vuelve muy grave y la concentración de las mismas en el suero disminuye, en especial de albúmina. El nivel de albúmina en el plasma está muy expuesto a influjos nutricionales y a menudo sirve de índice para la nutrición proteínica, como se hace con el valor de las proteínas totales del plasma. Otras proteínas plasmáticas de transporte, entre ellas la transferrina, la proteína sintetizadora del retinol y la prealbúmina sintetizadora de tiroxina, también reaccionan a las alteraciones en el aporte energético-proteínico y pueden emplearse para evaluar el estado energético-proteínico en problemas clínicos^{2,5}.

La patogénesis del edema en la DEP grave es motivo de mucha discusión por su función primordial en el diagnóstico del kwashiorkor. El edema del kwashiorkor se vincula con la hipoalbuminemia a través de la reducción de la presión coloidosmótica del plasma, que permite la fuga de líquidos de los capilares hacia el espacio intersticial. Sin embargo, los niveles séricos de albúmina entre DEP edematosa y no edematosa en niños y en adultos se traslapan. Estudios experimentales realizados en perros con dietas con contenido bajo de proteínas mostraron que muchos animales con niveles plasmáticos de albúmina menores de 20g/L no tenían edema, pero que la mayor parte de los perros con edema tenía niveles de albúmina más bajos de este valor².

2.1.2. Hígado

Un órgano cuyas características pueden modificarse en estados de DEP es el hígado y que muchas de sus diversas funciones se interrelacionan entre sí. Esto se hace particularmente evidente en las alteraciones clínicas del hígado, porque se alteran simultáneamente muchas de sus funciones en diferentes combinaciones, dependiendo de la naturaleza de la enfermedad. El hígado desempeña una importante función en el mantenimiento de los niveles normales de glucosa en plasma. También regula la cantidad de lípidos en la sangre mediante la secreción de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Muchas de las proteínas circulantes son sintetizadas en el hígado, además de que este órgano está especialmente preparado para metabolizar fármacos y sustancias tóxicas que recoge de la circulación portal. También funciona como un órgano excretor de pigmentos biliares, colesterol y fármacos. Finalmente, también realiza importantes funciones endocrinas^{6,7}.

En el hígado, la escasa síntesis proteínica junto con una dieta suficiente en carbohidratos asegura la síntesis de lípidos que desemboca en acumulación de triglicéridos (hígado graso), esto se debe a que la lipólisis del tejido adiposo se inhibe por las elevadas concentraciones sanguíneas de glucosa e insulina y por tanto, los valores de ácidos grasos libres permanecen bajos. Por lo anterior cuando se presenta una ingestión abundante de alimentos ricos en almidones, la biosíntesis y la secreción de insulina se activan temporalmente, con lo cual cesa la movilización de grasa y la liberación de aminoácidos musculares por efectos del estrés, reduciéndose así la concentración de ellos en el plasma sanguíneo. En consecuencia disminuyen la síntesis hepática de proteínas y rápidamente ocurren

hipoalbuminemia e hipoapobetalipoproteinemia, que a su vez se manifiestan en edema y esteatosis (infiltración de grasa) del hígado, lo cual es una característica importante en el cuadro clásico del kwashiorkor^{8,9}.

El crecimiento del hígado es frecuente en la DEP. Mediante biopsias hepáticas se ha documentado que existe una disminución en el contenido de glucógeno además de infiltración de grasa en los hepatocitos. Esta última se ha observado en niños kwashiorkor, aunque no así en los casos de marasmo¹.

Los triacilglicéridos se acumulan en el hígado, produciendo hígado graso cuando son excesivos. El hígado graso puede presentarse por dos causas principales: primero, se relaciona con una elevación en la concentración plasmática de ácidos grasos libres (AGL) debido a la movilización de estos a partir del tejido adiposo. Se presenta en estado de inanición, dietas altas en grasas y en diabetes tipo II. El segundo tipo resulta del bloqueo metabólico en la producción de lipoproteínas plasmáticas. El hígado graso del kwashiorkor, es de esta naturaleza. En el marasmo el hígado se contrae ya que se pierde alrededor del 40% en peso, pero no es graso, en tanto que en el kwashiorkor la regla es una infiltración adiposa importante⁴.

2.1.3. Proteínas de la mucosa intestinal

La digestión es un proceso que realiza la fragmentación mecánica y química de los alimentos para que puedan ser absorbidos, pasando de su composición polimérica hasta llegar a sus elementos básicos: los nutrientes. Las dos fases de la digestión se relacionan íntimamente y se llevan a cabo de modo simultáneo; la primera incluye las contracciones musculares de las paredes del aparato gastrointestinal que impulsan el alimento en solución (quimo) permitiendo el contacto entre él y las enzimas digestivas; la segunda, es un fenómeno de hidrólisis por el que carbohidratos, grasas y proteínas se dividen en unidades más sencillas que se absorben por las paredes del intestino delgado. La digestión puede ser impedida por varias causas: falta de enzimas pancreáticas, ausencia de enzimas en el borde de cepillo, disminución de la secreción biliar o errores congénitos en la producción de enzimas o de los receptores específicos para nutrientes en las células de la mucosa^{1,5}.

El órgano más importante de la absorción es el intestino delgado y la zona en la que se lleva a cabo la absorción en mayor grado es la parte inferior del duodeno y la primera parte del yeyuno. La membrana es un factor importante en la digestión y absorción de nutrimentos; el revestimiento interno o mucosa del intestino delgado, esta dispuesta en forma de pliegues y cubierto por una masa de prolongaciones digitiformes (vellosidades) que aumentan extraordinariamente su área superficial útil para la absorción, Las células epiteliales de la mucosa intestinal tienen un recambio rápido, ya que se renuevan en menos de dos días. Los enterocitos de la mucosa que cubren las vellosidades, contienen enzimas digestivas que digieren sustancias alimenticias específicas. Estas enzimas son las siguientes: 1) varias peptidasas que separan los pequeños péptidos en aminoácidos; 2) cuatro enzimas que degradan los disacáridos en monosacáridos (sacarasa, maltasa, isomaltasa y lactasa); y 3) pequeñas cantidades de lipasa intestinal, que divide las grasas neutras en glicerol y ácidos grasos^{5,6}.

Las respuestas de adaptación a los cambios en la dieta influyen en los procesos digestivos y de absorción de la mucosa, los cuales tienen un efecto notable en la expresión de enzimas por ejemplo la inanición provoca una disminución de las proteínas del borde de cepillo y de la actividad de estas. En algunos casos la disminución de la actividad enzimática ocasiona malabsorción de hidratos de carbono y síntomas como diarrea, flatulencia y pérdida de peso. La consecuencia más importante de las diarreas en los lactantes y preescolares menores es la desnutrición. Cuando se establece un ayuno prolongado o se suspende el amamantamiento, con frecuencia se provoca un círculo vicioso: la diarrea se incrementa y acelera el estado de mala nutrición preexistente; a su vez, la desnutrición propicia una mayor susceptibilidad a los episodios diarreicos^{5,6}.

2.1.4. Problemática

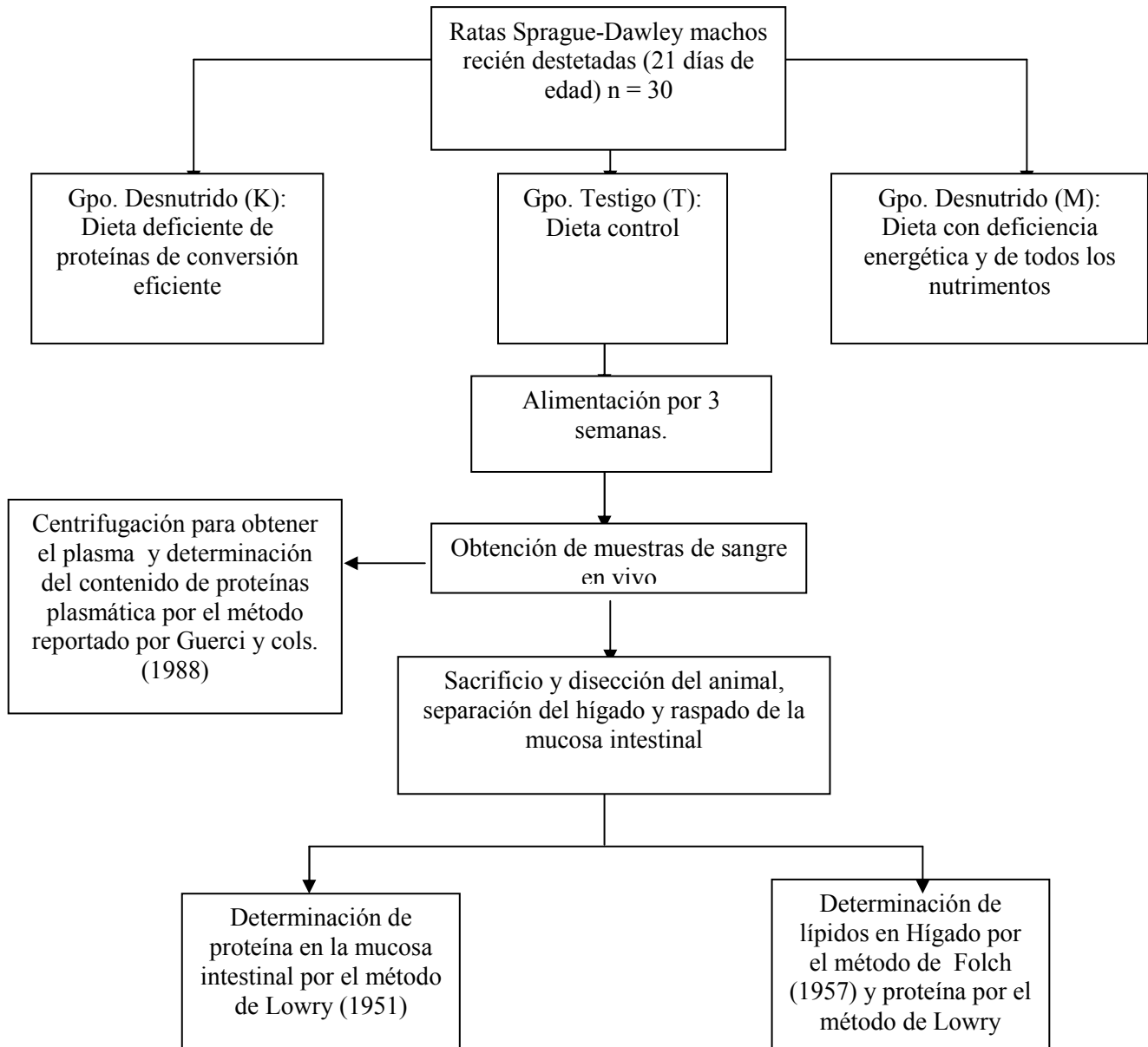
Se han realizado muchos estudios dirigidos a mostrar el comportamiento en animales adultos de experimentación puestos en ayuno corto o prolongado o con dietas bajas en proteínas^{10, 11, 12, 13, 14} sin embargo no se han estudiado en animales jóvenes los dos tipos de desnutrición que se presenta en niños, es decir DEP semejante al marasmo y kwashiorkor. En el presente trabajo se plantea conocer cuales serán las modificaciones en el contenido de proteínas plasmáticas, proteínas de la mucosa intestinal y grasa en hígado en animales con DEP producida de dos maneras diferentes: con una dieta de proteína de baja eficiencia de conversión y con una dieta de bajo contenido energético, lo cual seguramente modificará la cantidad de proteínas plasmática, proteínas de la mucosa intestinal y grasa en hígado con respecto a animales alimentados con una dieta suficiente en energía y nutrientes.

Los parámetros anteriores se usaron como referencia bioquímica para establecer si en las ratas jóvenes se puede establecer una desnutrición similar al marasmo y kwashiorkor presentada en niños ya que son características representativas de la DEP con esta intensidad.

METODOLOGÍA

A continuación se presenta el diagrama general de trabajo que se siguió en este estudio así como la explicación del procedimiento a seguir para el análisis de los parámetros seleccionados (determinación del contenido de proteínas plasmáticas, proteína de la mucosa intestinal y grasa en hígado).

3.1. Diagrama general de trabajo



n = número de ratas

3.2. Animales y dietas

Se utilizaron 30 ratas Sprague-Dawley machos recién destetadas de 21 días de nacidas. Se formaron 3 lotes de 10 animales cada uno. Los animales se colocaron en jaulas individuales y fueron alimentados durante 3 semanas con las dietas respectivas: testigo (grupo T), baja en energía y nutrimentos (grupo M) y alta en hidratos de carbono con deficiencia de proteínas de conversión eficiente (grupo K). Los grupos T, M y K se colocaron en jaulas individuales y recibieron durante 21 días las dietas correspondientes. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura y horas de luz / oscuridad.

Los grupos correspondientes a las dietas testigo (grupo T) y baja en proteínas de conversión eficiente (grupo K), tuvieron alimentación y agua *ad libitum*. El grupo M fue alimentado con la misma dieta que el grupo testigo, sin embargo se restringió la cantidad de alimento que consumían los animales en un 30% con respecto a los animales del grupo testigo, y con agua *ad libitum*, con el fin de lograr la desnutrición en estudio.

En el día 21 se mantuvo a los animales en ayuno por 12 horas y posteriormente se obtuvieron las muestras de sangre que se centrifugaron a 2000 rpm por 15 min. para la obtención de plasma y se almacenó a - 70 °C; después se sacrificó a los animales para obtener el hígado y mucosa intestinal que se almacenaron a - 4 °C.

- DIETAS

Componentes generales:

- Leche en polvo (Nido)
- Caseína 90% de proteína (Sigma)
- Gelatina (knox)
- Sacarosa (Great Value)
- Dextrosa (Química Barsa)
- Dextrina (Maicena)
- Manteca Vegetal (Inca)
- Aceite Vegetal de Maíz (Industrias la patrona)

- Minerales (Rogers Harper, Harlan)
- Vitaminas (MP Biomedicals, Inc.)
- Celulosa 99.5% (Sigma)

La proporción para hidratos de carbono y lípidos usada en la dietas se presenta en la tabla No. 1

Tabla 1

Proporción de hidratos de carbono y lípidos

Carbohidratos:	Lípidos:
Sacarosa 33.3%	Manteca vegetal 57.1%
Dextrosa 37.9%	Aceite Vegetal de maíz 42.9%
Dextrina 28.8%	

El contenido de la dietas específicas se resume en la tabla No. 2

Tabla 2

Contenido de dietas

Componente	Testigo (T)	Baja en energía y nutrientes (M)	Alta en hidratos de carbono y baja en proteínas de conversión eficiente (K)
Proteína	15%	15%	13%
Hidratos de carbono	59%	59%	59%
Lípidos	14%	14%	14%
Minerales	4%	4%	4%
Vitaminas	2%	2%	2%
Fibra	6%	6%	8%
*En los grupos T y M la fibra utilizada fue celulosa	*contenido energético de 422kcal/100g o 1799kJ/100g	*contenido energético de 422kcal/100g o 1799kJ/100g	*contenido energético de 414kcal/100g o 1765kJ/100g

3.3. Método analítico para la cuantificación de proteínas plasmáticas totales

Este método analítico fue el reportado por Guerci y cols^{15,16}.

3.3.1. Fundamento:

En este método se usa la reacción de Biuret la cual se basa en la formación de un complejo colorido entre enlaces peptídicos y el ión cúprico, bajo condiciones alcalinas produciéndose así un color púrpura con absorción máxima de 540-560 nm.

3.3.2. Material y equipo:

- Agitador Vortex (Mistral-mixer, Lab-line)
- Espectrofotómetro Beckman, celda de 1 cm (Squoia-Turner)
- Balanza analítica (Sartorius, analytic)
- Piseta
- Vidrio de rejol
- Vaso de precipitado de 10 mL
- Espátula
- Matraz volumétrico aforado de 5 y 1000 mL
- Probeta de 100 mL
- Tubos ependorff
- Pipetas pasteur
- Tubos de ensaye 16 x 150 mm
- Pipetas graduadas 2, 5 y 10 mL
- Matraz volumétrico de 5 y 10 mL
- Micropipetas 200-1000 μ L
- Propipeta
- Gradilla

3.3.3. Reactivos:

- Albúmina bovina (Sigma)
- Sulfato de cobre R.A. (J.B. Baker)
- Tartrato de sodio y potasio R.A. (Sigma)
- Cloruro de sodio R.A. (J.T. Baker)
- Yoduro de potasio R.A. (J.T. Baker)
- Hidróxido de sodio R.A. (Reproquifin)
- Acido clorhídrico R.A. (Reactivos químicos Meyer)
- Fenoftaleína

3.3.4. Preparación de soluciones:

- Solución patrón de proteína 7 mg/mL

Pesar 0.07 g de albúmina bovina y colocarla en un matraz volumétrico de 10 mL, agregar 5 mL de agua destilada hasta disolver y llevar al aforo.

- Reactivo de Biuret:

Sulfato de cobre 1.5 g

Tartrato de sodio y potasio 6.0 g

Yoduro de potasio 1.0 g

Hidróxido de sodio 2.5 N valorada

En un matraz volumétrico de 1000 mL colocar el sulfato de cobre y el tartrato de sodio y potasio, agregar 500 mL de agua destilada y agitar hasta disolver. Agregar, bajo agitación constante, 300 mL de hidróxido de sodio 2.5 N previamente valorado y mezclar. Agregar yoduro de potasio y agitar hasta disolución. Aforar y conservar en frasco ámbar.

- Solución salina al 0.85 %

Pesar 8.5 g de cloruro de sodio, colocar en un matraz de 1000 mL, agregar 500 mL agua destilada, disolver y llevar al aforo

3.3.5. Preparación de la curva patrón para cuantificar proteínas plasmáticas totales:

- Se resume en la tabla No. 2

Tabla 2

Preparación de la curva para la cuantificación de proteínas plasmáticas totales

Tubo No.	Sol. patrón (mL)	Sol. salina al 0.85% (mL)
1	0	2.0
2	0.3	1.7
3	0.5	1.5
4	0.8	1.2
5	1.0	1.0
6	1.3	0.7
7	1.5	0.5
8	2.0	0.0

Una vez preparada la curva, a cada tubo se le agregan 8 mL de reactivo de biuret y se mezclan en vortex por 30 s. Se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 min. Las muestras se leen en espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

3.3.6. Preparación de la muestras

- Se toman 0.25 mL de plasma, se coloca en un tubo de ensayo y se lleva a 5 mL con solución salina al 0.85%. De la solución anterior se toman 2 mL, se colocan en un tubo y se agregan 8 mL de reactivo de biuret, se agita en vortex 30 s. Se deja reposar 30 min. a temperatura ambiente. Las muestras se leen en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm y la absorbancia obtenida se interpola en la curva patrón.

3.3.7. Cálculos

La concentración de la proteína en las muestras se obtiene al interpolar sus absorbancias en la curva patrón para cuantificar proteínas plasmáticas totales, para después multiplicarlo por el factor de dilución y reportar la concentración de proteína en mg/mL de plasma

3.4. Metodología para la cuantificación de lípidos en hígado

Se determinó el contenido de lípidos en hígado por medio del método de Folch^{17, 18, 19}

3.4.1. Fundamento:

Este método se basa en la extracción de la grasa con una mezcla de disolventes. Dado que las muestras con las que se trabajó tienen un alto grado de humedad, se usó un disolvente polar y uno apolar, para poder extraer todos los lípidos.

3.4.2. Material y equipo:

- Vortex (Mistral-mixer, Lab-line)
- Estufa de vacío 64 °C (Lab-line Instruments, Inc.)
- Centrífuga 2000 rpm (IEC international clinical centrifuge)
- Balanza analítica (Sartorius, analytic)
- Probeta de 500 mL
- Pipetas graduadas de 2 y 10 mL
- Propipeta
- Tubos para centrifuga resistentes a disolventes
- Vasos de precipitados 600 mL
- Matraz volumétrico aforado de 1000 mL
- Viales de vidrio 32 mL

- Vidrio de reloj
- Piseta
- Parrilla electrica (Ceran Shott)
- Campana de extracción
- Papel filtro no. 4
- Espátula

3.4.3. Reactivos:

- Cloroformo Q.P.
- Metanol Q.P.
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ R.A. (Merck)
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ R.A. (Merck)
- Sulfato de sodio (Merck)
- Acido clorhídrico Q.P.

3.4.4. Preparación de soluciones:

- Reactivo de Folch, (Cloroformo – Metanol 3:1):

Mezclar 1500 mL de cloroformo con 500 mL de metanol en un frasco de vidrio y guardar en refrigeración hasta su uso.

- Buffer de fosfatos 0.02 M:

Pesar 0.16 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ y 2.76 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y colocarlos en un matraz aforado de 1 L, disolverlos con agua destilada, llevar al aforo con la misma. Guardarlos en refrigeración hasta su posterior uso.

3.4.5. Metodología:

- Preparación del homogeneizado de hígado

Se pesó el hígado y se mezcló con el buffer de fosfatos 0.02 M (tomando en cuenta que por cada gramo de hígado se usan 4 mL de buffer de fosfatos 0.02 M), luego se ajusta el pH a 6 con ácido clorhídrico diluido.

- Extracción de lípidos

La extracción de cada muestra se realizó por triplicado. Se tomó 2 mL del homogeneizado y se mezcló con 10 mL del reactivo de Folch en un tubo para centrífuga, se agitó por 1 min. en el vortex y se centrifugó por 10 min. (2000 rpm).

Con ayuda de una pipeta pasteur se tomó la fase apolar, se colocó en otro tubo de centrifuga y se evaporó el disolvente con ayuda de un baño maría a 60 °C en la campana de extracción.

- Para eliminar a los disolventes

Se agregó 7 mL de agua al tubo con la extracción de lípidos, se agitó en vortex por 1 min. y se centrifugó por 10 min, con ayuda de una pipeta pasteur se tomó la fase apolar y se filtró recolectando el filtrado en un vial puesto previamente a peso constante, a continuación se colocó el vial con el filtrado en un estufa de vacío para eliminar por completo el disolvente, después de esto se pesó el vial con los lípidos extraídos.

3.4.6. Cálculos

Por diferencia de peso de los viales previamente puestos a peso constante se obtiene el peso de todos los lípidos extraídos y se hace la relación para obtener el contenido de gramos de grasa por gramo de hígado.

3.5. Cuantificación de proteínas en hígado y proteínas de la mucosa intestinal por el método de Lowry^{20, 21}

3.5.1. Fundamento:

El complejo proteína-Cu²⁺ se hace reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu, dando un complejo de coloración azul, con un máximo de absorción de 745-750 nm. Esta coloración se atribuye a la reducción del ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico a azul de heteropolimolibdeno de composición no definida, por medio de la tirosina y el triptofano.

3.5.2. Material y equipo:

- Vortex (Mistral-mixer, Lab-line)
- Balanza analítica (Sartorius, analytic)
- Pipetas automáticas de 50-200 y 200-1000 µL
- Pipetas graduadas 1, 2, 5 y 10 mL
- Tubos de ensayo de 13 x 100 y 16 x 150 mm
- Homogenizador con pistilo de vidrio
- Tubos ependorff.
- Propipeta
- Cronómetro
- Gradilla
- Espátula
- Vidrio de reloj
- Piseta
- Matraz volumétrico aforado de 10, 100 y 1000 mL
- Vasos de precipitados 10, 50 y 100 mL
- Probeta de 100 mL

3.5.3. Reactivos:

- Cloruro de sodio Q. P.
- Albúmina Sérica Bovina (Sigma)
- Hidróxido de sodio R.A. (Reproquifin)
- Tartrato disódico dihidratado R.A
- Carbonato de sodio (J.T. Baker)
- Sulfato de cobre pentahidratado (J. T. Baker)
- Reactivo comercial de Folín-Ciocalteu (Sigma)

3.5.4. Preparación de las soluciones:

- Solución de cloruro de sodio 0.15 M

Pesar 8.78g de cloruro de sodio (85 % de pureza) y aforar a 1000 mL con agua destilada.

- Solución estándar de albúmina (1mg / mL)

Pesar 10.43 mg de albúmina sérica bovina y aforar a 10 mL con agua destilada.

- Solución de hidróxido de sodio 0.8 M

Pesar 32 g de hidróxido de sodio y aforar a 1000 mL con agua destilada.

- Reactivo A

Pesar 0.2 g de tartrato disódico dihidratado y 10 g de carbonato de sodio, disolverlos en 69 mL de NaOH 0.8 M y después aforar a 100 mL con agua destilada.

- Reactivo B

Pesar 2 g de tartrato disódico dihidratado y 1g de sulfato de cobre pentahidratado, disolverlos en 12.5 mL de NaOH 0.8 M y aforar a 100 mL con agua destilada. Conservar protegido de la luz.

- Reactivo Mezcla

Mezclar 25 volúmenes de solución de NaOH 0.8 M con 18 volúmenes de reactivo A y 2 volúmenes de reactivo B. Preparar antes de su uso.

- Reactivo C

Mezclar 1 volumen de reactivo comercial de Folín-Ciocalteu con 2 volúmenes de agua destilada.

Preparar antes de su uso.

3.5.5. Método:

3.5.5.1. Determinación de proteína en hígado

- Se diluyó el homogeneizado del hígado (utilizado en la determinación para la cuantificación de lípidos en hígado) 1:900 y se tomó 1.2 mL para colocarlo en un tubo de ensaye, se agregó 0.9 mL de reactivo mezcla y se agitó por 10 segundos en el vortex; en seguida se agregaron 0.6 mL de reactivo C y se agitó por 10 segundos en el vortex, nuevamente agregaron 0.6 mL de reactivo C y se agitó por 10 segundo en el vortex. Se guardó la muestra protegido de la luz por 45 minutos. Cada determinación se realizó por triplicado.

Se preparó un blanco de reactivos y se midió la absorbancia del blanco y las muestras a una longitud de onda de 750 nm.

3.5.5.2. Determinación de proteína en mucosa intestinal

Una vez separado el intestino delgado se lavó con solución fría de NaCl 0.15 M. A continuación se raspó la mucosa y se colocó en tubos de centrifuga previamente pesados, para posteriormente obtener el peso de la mucosa por diferencia y mezclar con 4 volúmenes de NaCl 0.15 M por gramo de mucosa (v/m)

Se homogeneizó en el homogenizador con pistilo de vidrio y en un baño de hielo por intervalos de un minuto (repetir 5 veces).

Se almacenó a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 hr, para después de este tiempo repetir la homogeneización, (repetir 2 veces) y almacenar a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ en tubos eppendorff hasta su uso.

- Se diluyó el homogeneizado de la mucosa 1:400 y se tomó 1.2 mL para colocarlo en un tubo de ensaye, se agregó 0.9 mL de reactivo mezcla y se agitó por 10 segundos en el vortex, en seguida se agregó 0.6 mL de reactivo C y se agitó por 10 segundo en el vortex, nuevamente se agregó 0.6 mL de reactivo C y se agitó por 10 segundo en el vortex. Se guardó la muestra protegido de la luz por 45 minutos. Cada determinación se realizó por triplicado.

Se realizó un blanco de reactivos y se midió la absorbancia de el blanco y las muestras a una longitud de onda de 750 nm.

3.5.6. Curva de calibración de albúmina

Se diluyó 1:10 la solución de albúmina sérica bovina 1mg/mL para obtener una solución con una concentración de 100 µg/mL.

Se resume en la tabla No. 2

Tabla 2

Preparación de curva patrón de albúmina

Tubo No.	Sol. albúmina sérica bovina (mL)	Agua destilada (mL)
1	0	4.0
2	0.4	3.6
3	0.8	3.2
4	1.6	2.4
5	2.4	1.6
6	3.2	0.8
7	4.0	0

Se tomaron de cada dilución 1.2 mL y colocaron en tubos de ensaye, se añadió 0.9 mL de reactivo mezcla y agitó por 10 segundos en vortex, posteriormente se agregó 0.6 mL de reactivo C y mezcló por 10 segundos en vortex y nuevamente se agregó 0.6 mL de reactivo C y mezcló por 10 segundos en vortex. Se guardó los tubos protegidos de la luz por 45 minutos. Se midió las absorbancias a una longitud de onda de 750 nm.

3.5.7. Cálculos:

Se trazó una gráfica de absorbancia en función de la concentración de albúmina (μg de proteína/mL).

Se obtuvo la concentración de proteína de las muestras interpolando en la curva de calibración; multiplicando el valor obtenido por el factor de dilución y se reportó la concentración de proteína en mg/mL de homogeneizado.

3.6. Análisis estadístico de los datos obtenidos en el bioensayo

El análisis se basó en la prueba del rango múltiple de Duncan con un $\alpha = 0.05$, donde se comparó los pares de medias de los grupos: M (deficiencia energética principalmente), K (deficiencia de proteínas de conversión eficiente) y T (testigo que sirve de control en el experimento) con el fin de determinar si existió o no diferencia significativa entre estos grupos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

4.1. Uso de ratas machos jóvenes (recién destetados) Sprague-Dawley

En este bioensayo se usaron animales jóvenes ya que anteriormente se habían hecho estudios relacionados con la desnutrición energético proteínica pero con animales adultos. En este estudio se usaron ratas recién destetadas ya que en este periodo su crecimiento es más acelerado y se observan mejor los cambios causados por cada uno de los dos tipos de desnutrición (marasmo y kwashiorkor).

4.2. Incremento acumulativo en peso

En este trabajo el objetivo fundamental fue establecer la desnutrición por deficiencia de proteínas de conversión eficiente (kwashiorkor) y deficiencia energética y de todos los nutrimentos en ratas jóvenes similares a las que presentan en niños por desnutrición tipo (marasmo), para su utilización posterior como modelo de estudios posteriores.

En la gráfica 1 se presenta la curva de crecimiento de los 3 grupos, en donde se observa que los grupos marasmo y kwashiorkor (M y K) presentan una diferencia en peso de mas del 50 % con respecto al grupo testigo (T), por lo que se puede decir que estos pudieron ser desnutridos con la dietas que se manejaron. En los grupos M y K al analizar el % en peso que tenían con respecto al esperado (grupo T) al finalizar el bioensayo, se observa que presentaron una desnutrición grave. En el grupo M se observó una diferencia significativa con respecto al grupo T ya que el aporte de alimento fue menor en un 30% ocasionando una reducción en el crecimiento posiblemente como una adaptación metabólica además de la utilización de reservas de grasa corporal y utilización de proteínas como fuente de energía lo cual produce un desgaste muscular causando una disminución de peso corporal con respecto al grupo T. En el grupo K se observó una diferencia significativa con respecto al grupo T ya que este grupo tuvo una dieta *ad libitum* pero de baja conversión con respecto a la proteína del grupo testigo por lo que no tuvo un aporte necesario de proteína de conversión eficiente para la formación estructural de tejidos (principalmente muscular) lo cual llevó a presentar una diferencia con respecto al grupo T. Entre los grupos M y K no se observo diferencia significativa en el peso ya que ambos presentaron una desnutrición grave.

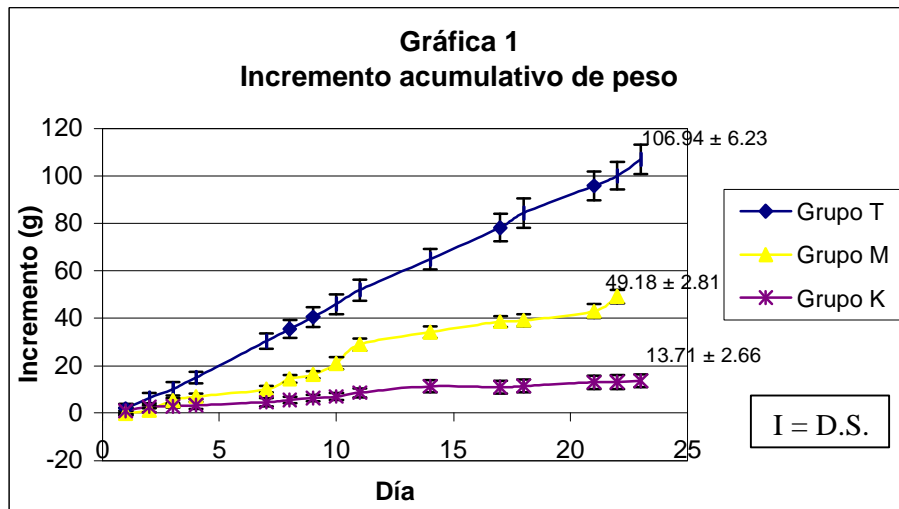
Cuadro 1

Peso final

Grupos	Incremento (g)
T	106.94 ± 6.23^c
M	49.18 ± 2.81^{ab}
K	13.71 ± 2.66^{ab}

CV menor a 20% en todas las determinaciones

Letras diferentes representa que existe diferencia significativa entre los grupos



4.3. Contenido de proteínas plasmáticas totales

Las proteínas plasmáticas y el resto de las proteínas del organismo establecen un equilibrio constante, por ende si algún tejido en particular necesita nuevas proteínas puede utilizar a las proteínas plasmáticas como fuente de aminoácidos, por lo que uno de los tratamientos más eficaces para el déficit proteínico agudo es la administración intravenosa de proteínas plasmáticas. Una de las características especiales de las proteínas plasmáticas es la de servir como indicador en la desnutrición

proteínica en especial la albúmina ya que esta es la que se encuentra en mayor concentración en el plasma^{2,5,6}.

El contenido de proteínas plasmáticas totales de este bioensayo se presenta en la gráfica No. 2, en donde se observa que hay diferencia significativa entre los 3 grupos lo cual muestra la forma de adaptación de cada grupo frente a los diferentes tipos de dieta: el contenido más alto se presento en el grupo T, seguido por el grupo M y por el grupo K; la diferencia que existe entre el grupo M y el grupo K radica en la adaptación metabólica del grupo M, el cual tuvo un restricción energética y de todos lo nutrimentos pero para este tipo de desnutrición se sabe que primero se incrementa la vida media de estas proteínas, disminuye su velocidad de degradación por lo que no hay un disminución muy grande en el contenido de estas proteínas. Para el grupo K no se esperaría esto, ya que los mecanismos de adaptación fallan cuando el agotamiento de proteínas de conversión eficiente se vuelve muy grave, lo cual se ve representado en el menor contenido de estas proteínas con respecto a los otros dos grupos ya que la dieta de este grupo fue pobre en proteínas de conversión eficiente. Ambos grupos (M y K) tuvieron una diferencia significativa con respecto al grupo T, mostrando un menor contenido de proteínas plasmática en los grupos donde existe una desnutrición y que ha sido demostrado en otros trabajos. Además se comprueba que en el caso de kwashiorkor es donde se ven más afectadas estas proteínas (cuadro y gráfica 2)^{2,4,5}.

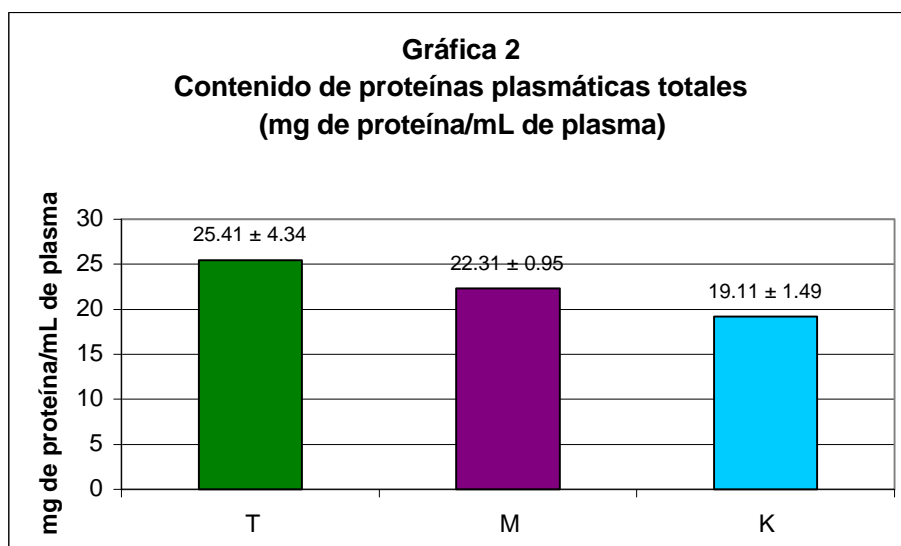
Cuadro 2

Contenido de proteínas plasmáticas totales (mg de proteína/mL de plasma)

Grupos	proteínas plasmáticas totales (mg de proteína/mL de plasma)
T	25.41 ± 4.34^c
M	22.31 ± 0.95^b
K	19.11 ± 1.49^a

CV menor a 20 % en todas las determinaciones

Letras diferentes representa que existe diferencia significativa entre los grupos



4.4. Contenido de grasa en hígado

El hígado tiene la función primaria de regular la concentración de metabolitos debido a que en el existen varias rutas metabólicas como la glucogenogénesis, glucogenólisis, gluconeogénesis, cetogénesis, lípogénesis y lipólisis. En la DEP (kwashiorkor) una característica bioquímica con respecto al hígado es que presenta infiltración de grasa, no siendo así para la DEP marasmática¹.

En la gráfica 3A se aprecia el contenido de grasa en hígado; mediante el análisis estadístico se encontró que existe diferencia significativa entre los 3 grupos: el grupo K fue el que presentó un mayor contenido de grasa en el hígado, lo cual se debe probablemente a una deficiencia en el metabolismo de lípidos en este órgano mediante una lipogénesis a partir de los carbohidratos de la dieta y a una reducción de VLDL para el transporte de lípidos (por falta de proteínas de conversión eficiente en la dieta), lo cual conduce a una infiltración de grasa en los hepatocitos^{8,9}. El grupo M tiene un contenido de grasa inferior con respecto a los otros dos grupos, lo cual indica que en este no existen las alteraciones en el hígado propuestas para el grupo K y la disminución de grasa apreciada, se puede deber a que al tener un aporte de energía menor, se logra una adaptación en el manejo del escaso

aporte de los nutrimentos tratando de no romper el equilibrio metabólico del organismo. Para el grupo T que también tuvo diferencia significativa con respecto a los otros dos grupos, pero con un contenido de grasa en hígado intermedio, demuestra que su función metabólica con respecto a los metabolitos ingresados al organismo por medio de la dieta es adecuado.

Lo anterior concuerda con las funciones metabólicas del hígado en especial con la característica bioquímica para DEP (kwashiokor y marasmo).

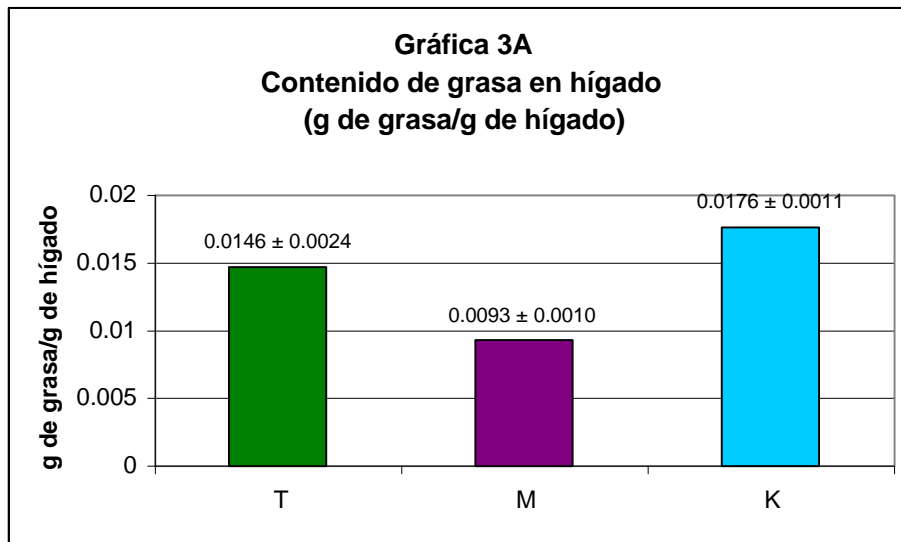
Cuadro 3A

Contenido de grasa en hígado (g de grasa/g de hígado)

Grupos	Contenido de grasa en hígado (g de grasa/g de hígado)
T	0.0146 ± 0.0024^b
M	0.0093 ± 0.0010^a
K	0.0176 ± 0.0011^c

CV menor a 20 % en todas las determinaciones

Letras diferentes representa que existe diferencia significativa entre los grupos



4.5. Contenido de proteína en hígado

El organismo usa casi por completo hidratos de carbono o grasa para obtener energía mientras disponga de ellos, sin embargo, tras un periodo de inanición prolongado cuando se empieza a agotar la grasa almacenada, los aminoácidos de la sangre empiezan a ser utilizados para obtener energía con una consiguiente utilización de las proteínas de los tejidos.

Los resultados anteriores muestran el contenido de grasa con respecto al peso del hígado. Sin embargo, es posible que también existan modificaciones en el contenido de proteína de este órgano, por lo que resulta importante conocer el contenido de grasa con respecto a la proteína presente en el hígado.

En la gráfica 3B se observa el contenido de proteínas presente en el hígado. Mediante un análisis estadístico no se encontró diferencia significativa entre los grupos M y K (grupos desnutridos), pero si existe diferencia significativa de estos con respecto al grupo T. Lo anterior indica que en los grupos M y K se vio afectada la concentración de proteína aunque pudiera ser también que el contenido de agua en hígado afecte esta concentración, aunque no se puede afirmar puesto que esta determinación no se realizó.

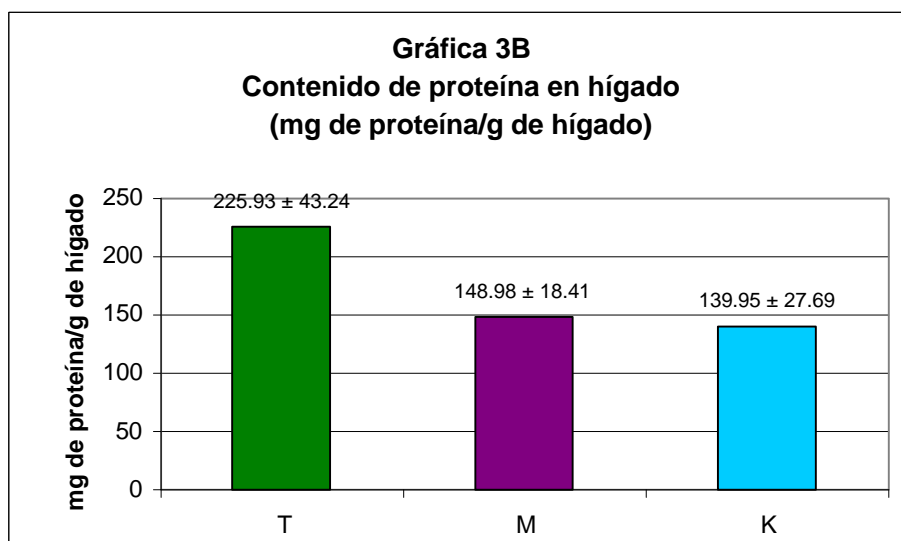
Cuadro 3B

Contenido de proteína en hígado (mg de proteína/g de hígado)

Grupos	Contenido de proteína en hígado (mg de proteína/g de hígado)
T	225.93 ± 43.24 ^c
M	148.98 ± 18.41 ^{ab}
K	139.95 ± 27.69 ^{ab}

CV menor a 20 % en todas las determinaciones

Letras diferentes representa que existe diferencia significativa entre los grupos



4.6. Contenido de grasa por proteína de hígado

En la gráfica 3C se aprecia el contenido de grasa con respecto al contenido de proteínas en hígado y mediante el análisis se encontró que no existe diferencia significativa entre los grupos M y T, pero si existe diferencia significativa de estos con respecto al grupo K; el grupo k contiene más grasa por miligramo de proteína con respecto a los grupos M y T, lo anterior se puede deber a que el grupo M tiene una adaptación metabólica frente a la desnutrición, mediante una disminución del gasto de energía utilizando las reservas de grasa corporal y llevando a cabo un catabolismo de proteínas musculares, lo cual conduce a una conservación de proteínas viscerales (en este caso el hígado) por un tiempo mayor; por otra parte en el grupo K, que tiene una deficiencia grave de proteínas de conversión eficiente en la dieta, hay disminución en la síntesis proteínica, y por lo tanto un agotamiento mas temprano de los aminoácidos del tejido visceral. Lo que indica que el grupo M tiene una mejor adaptación metabólicas con respecto al grupo K ya que en el contenido de grasa por miligramo de

proteína en hígado no hubo diferencia significativa con respecto al grupo T, lo cual muestra la similitud con respecto a los tipos de desnutrición grave: marasmo y kwashiorkor.

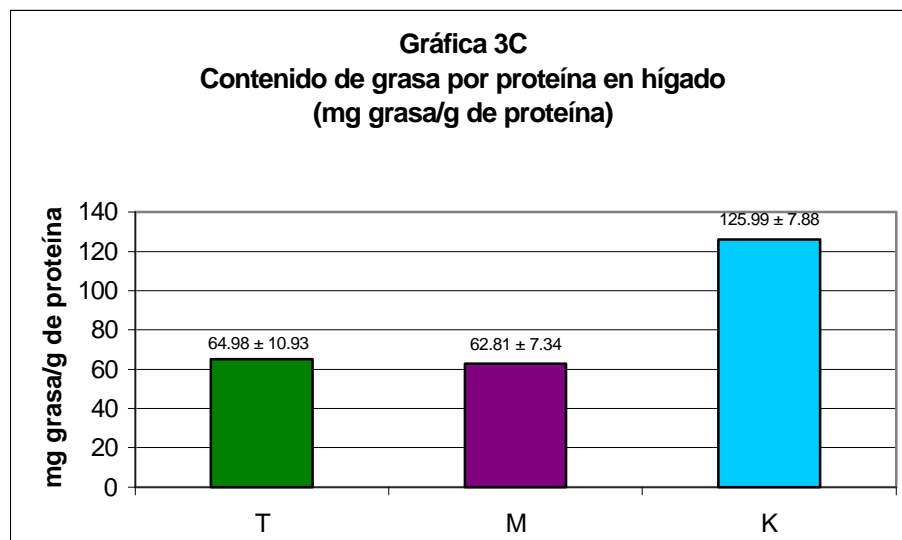
Cuadro 3C

Contenido de grasa por proteína de hígado (mg de grasa/g de proteína)

Grupos	Contenido de grasa por proteína de hígado (mg de grasa/g de proteína)
T	64.98 ± 10.93 ^{ab}
M	62.81 ± 7.34 ^{ab}
K	125.99 ± 7.88 ^c

CV menor a 20 % en todas las determinaciones

Letras diferentes representa que existe diferencia significativa entre los grupos



4.7. Contenido de proteína en la mucosa intestinal

La células epiteliales de la mucosa intestinal tienen un recambio rápido en un organismo sano no siendo así en presencia de una desnutrición en donde el recambio baja como forma de adaptación^{5,6}.

En la gráfica 4 se aprecia el contenido de proteína de la mucosa intestinal. La importancia de esta cuantificación radica en que en el intestino delgado se hace la digestión y absorción de los alimentos ingeridos lo cual indica que si este órgano se ve afectado, el aporte de nutrimentos a nuestro organismo será defectuoso. Mediante el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa entre los grupos K y M para ninguna de las porciones; no siendo así para el grupo T con respecto a los grupos K y M, en donde si se encontró diferencia significativa. Esto se debe a que en los grupos K y M la dieta proporcionada ocasionó una transformación de la mucosa y consecuentemente se afecta la producción de algunas enzimas que se sintetizan en el intestino además de afectarse la absorción de los nutrimentos^{5,6} por lo tanto en los grupos K con una dieta deficiente en proteínas de conversión eficiente y en el grupo M con una dieta baja en energía y nutrimentos empiezan a utilizar las proteínas como fuente de energía y no para recambio de proteínas en la mucosa intestinal, estableciendo un ciclo en el cual si hay menor contenido de proteínas en la mucosa intestinal habrá un menor aporte de nutrimentos al organismo, además de que a diferencia del intestino del grupo testigo, el caso del grupo K es donde se ve más afectado el intestino.

Cuadro 4A

Contenido de proteína en la porción proximal de la mucosa intestinal (mg de proteína/g de mucosa)

Grupos	Contenido de proteína en la porción proximal de la mucosa intestinal (mg de proteína/g de mucosa)
T	86.55 ± 9.47 ^c
M	70.11 ± 15.31 ^{ab}
K	68.85 ± 4.21 ^{ab}

CV menor a 20 % en todas las determinaciones

Letras diferentes representa que existe diferencia significativa entre los grupos

Cuadro 4B

Contenido de proteína en la porción media de la mucosa intestinal (mg de proteína/g de mucosa)

Grupos	Contenido de proteína en la porción proximal de la mucosa intestinal (mg de proteína/g de mucosa)
T	101.83 ± 13.19 ^c
M	77.57 ± 12.98 ^{ab}
K	72.64 ± 12.78 ^{ab}

CV menor a 20 % en todas las determinaciones

Letras diferentes representa que existe diferencia significativa entre los grupos

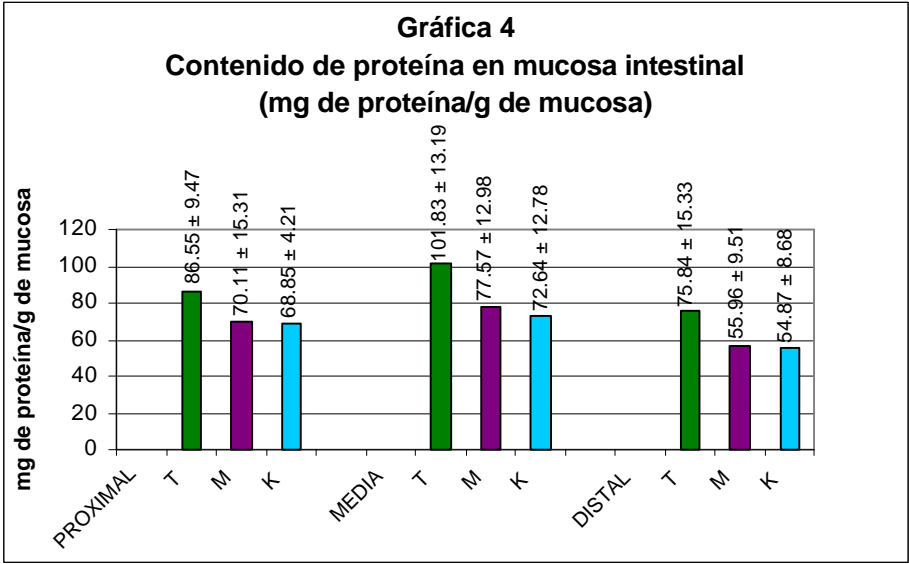
Cuadro 4C

Contenido de proteína en la porción distal de la mucosa intestinal (mg de proteína/g de mucosa)

Grupos	Contenido de proteína en la porción proximal de la mucosa intestinal (mg de proteína/g de mucosa)
T	75.84 ± 15.33 ^c
M	55.96 ± 9.51 ^{ab}
K	54.87 ± 8.68 ^{ab}

CV menor a 20 % en todas las determinaciones

Letras diferentes representa que existe diferencia significativa entre los grupos



CONCLUSIONES:

- El incremento de peso se vio afectado en los animales que sufrieron desnutrición tipo kwashiorkor.
- Se encontró diferencia significativa en el contenido de proteínas plasmáticas totales entre los grupos M, T y K.
- Las ratas jóvenes del grupo K presentan un mayor contenido de grasa en hígado con respecto a las ratas del grupo T y M. Las ratas jóvenes del grupo M, no presentan hígado graso.
- Existe diferencia significativa en el contenido de proteína en la mucosa intestinal del grupo T con respecto a los grupos K y M, pero no hay diferencia significativa entre estos dos grupos.
- Se pudo establecer en ratas jóvenes una desnutrición con deficiencia de proteínas de conversión eficiente y otra con deficiencia de energía y de todos los nutrientes con cambios bioquímicos semejantes a los encontrados en niños con desnutrición tipo marasmo y kwashiorkor.

RECOMENDACIONES:

Este trabajo puede ser utilizado como referencia para estudios posteriores ya que contiene resultados bioquímicos (contenido de proteínas plasmáticas, proteínas en mucosa intestinal y grasa en hígado de ratas jóvenes) que se presenta como efecto de una desnutrición causada por una dieta deficiente de proteínas de conversión eficiente (tipo kwashiorkor) y otra por una dieta con deficiencia de energía y de todos los nutrimentos (tipo marasmo). Además de que las dietas empleadas pueden ser utilizadas como base para lograr dichos tipos de desnutrición (semejante a la que se presentada en niño) para realizar estudios sobre estas como tratamiento y/o lucha contra este estado patológico que es causa de altas tasas de mortalidad infantil.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1 Casanueva, E.; Nutriología Médica; Ed. Médica Panamericana; México; 153-159, 168, 212-238, 278, 337-338; (1995).
- 2 Shils, M.; Nutrición en salud y enfermedad; Ed. Interamericana Mac Graw-Hill; México; Vol. II; pp. 1103, 1106, 1107, 1111, 1112, 1118; (2002).
- 3 Jelliffe; D.; Nutrición infantil en países en desarrollo; Ed. Limusa; México; pp. 101, 102, 109, 110; (1974).
- 4 McLaren, D.; La nutrición y sus trastornos; Ed. El manual moderno, S.A. de C.V.; México; 1993; pp. 68, 106-108.
- 5 COOPER; Nutrición y dieta de Cooper; Ed. Interamericana S.A. de C.V.; México D.F.; pp. 175-211; (1985).
- 6 Guyton, A.; Tratado de fisiología médica; Interamericana Mac Graw-Hill; México; pp. 208, 901, 903-908, 955-958, 961-964; (1998).
- 7 Rhoades, R., Tañer, G.; Fisiología Médica; Ed.- Masson-Little, Brown, S.A.; España; pp. 662; (1997).
- 8 Murray, R., Granner, D., Mayes, P., Rodwall, V.; Bioquímica de Harper; Ed. El Manual Moderno S.A. de C.V.; México D.F.; pp. 183-190, 198-201, 203, 223-228, 230, 247-249, 253, 255, 259, 262, 289, 291, 292, 299, 302, 316, 323-329, 911; (1994).

- 9 Frenk S. (1989). Aportaciones científicas mexicanas; Adaptación metabólica en la desnutrición; *Cuadernos de nutrición* 12 (5);32.
- 10 Ruiz-Jiménez, J.; Priego-Capote, F.; García-Olmo J.; Luque de Castro, M.D. (2004). Use of chemometrics and mid infrared spectroscopy for the selection of extraction alternatives to reference analytical methods for total fat isolation. *Analytica Chimica Acta*, Volume 525, Issue 2, pp 159-169.
- 11 Kyung, M., Gyoon, Y., Gull, M., Geon, S. (1999). Supression of Rat Hepatic Cytochrome P450s by Protein-Calorie Malnutrition: Complete or Partial Restoration by Cysteine or Meyhionine Supplementation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 372, 1:150-158.
- 12 Ahn, C., Kim, E., Kwon, J., Chung, S., Kim, S., Shim, C., Lee, M. (2003). Effects of cysteine on the pharmacokinetics of intravenous clarithromycin in rats with protein-calorie malnutrition. *Life Sciences*, 73:1783-1794.
- 13 Gyoon, Y., Kyung, M., Won, J., Geon, S., Hee, S., Gull, M. (2001). Effects of cysteine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous and oral azosemide in rats with protein-calorie malnutrition. *Life Sciences*, 68:2329-2345.
- 14 Hong, J., Pan, J., González, F., Gelboin, H., Yang, C. (1987). The induction of a specific form of cytochrome P-450 (P-450j) by fasting. *Biochemical and Biophysical. Research Communications*, 142, 3:1077-1083.
- 15 Medina-Reyes, L.; Aspectos Biofarmaceuticos del HEPP.; Facultad de Química, Tesis de Posgrado; 1997; pp. 35-38.

- 16 Guerci, A.; Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación. *El Ateneo*. 1988, pp. 222-225.
- 17 Ennouri, M., Fetoui, H., Hammami, M., Bourret, E., Attia, H. y Zeghal, N.; (2007). Effects of diet supplementation with cactus pear seeds and oil on serum and liver lipid parameters in rats. *Food Chemistry*, 101(1); 248-253.
- 18 Costa, S., Montenegro, M. y Arregui, T.; (2003). Characterization of fresh Beta vulgaris from Santiago del Estero (Argentina). Nutrient and carotenoid content of stem and leaves. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 23 (1); 33-37.
- 19 Peterson, G., Aguilar, D. y Espeche, M.; (2006). Ácidos grasos trans en alimentos consumidos habitualmente por los jóvenes en Argentina. *Rev. chil. pediatr.* 77(1); 92-101.
- 20 Sanchez-Chinchillas, A.; Efecto de la desnutrición Energético-Proteica en los niveles de lactasa en ratas; Facultad de Química; Tesis de Licenciatura; 2003; pp 26-30.
- 21 Lowry, O., Roseboug, N. y Rondall, R.; (1951). Protein Measurement with the Folin FhenolReagent; *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 193, 265-275.