



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

*Contenido de proteínas plasmáticas en ratas jóvenes desnutridas y recuperadas con dietas a dos niveles de inclusión de inulina.*

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**ROCIO ANGÉLICA SÁNCHEZ CERÓN**

**MÉXICO, D.F.**

**2011**





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:**

<b>PRESIDENTE:</b>	M. en C. Bernardo Lucas Florentino.
<b>VOCAL:</b>	M en C. Lucia Cornejo Barrera
<b>SECRETARIO:</b>	QFB. Juan Diego Ortiz Palma Pérez
<b>1er. SUPLENTE:</b>	Dra. Liliana Rocío González Osnaya
<b>2° SUPLENTE:</b>	M. en C. Argelia Sánchez Chinchillas.

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 111,  
EDIFICIO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

---

**ASESOR DEL TEMA: M. EN C. BERNARDO LUCAS FLORENTINO**

---

**SUPERVISOR TÉCNICO: M. EN C. ARGELIA SÁNCHEZ CHINCHILLAS**

---

**SUSTENTANTE: ROCIO ANGÉLICA SÁNCHEZ CERÓN**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al M. en C. Bernardo Lucas Florentino por su apoyo durante la realización de este proyecto de tesis.

A la M. en C. Argelia Sánchez Chinchillas por todo el apoyo brindado durante este proyecto, por sus consejos y guía.

A mi madre María de Jesús Cerón, porque sin su apoyo no hubiera alcanzado esta meta que es el inicio de muchas más.

A mis hermanas Bere, Adi, Ale y hermano Mario por apoyarme en los momentos más difíciles y demostrarme que juntos se puede lograr más.

A mis sobrinas Monse, Yadira y Noemí, que me hacen ver que hay un mañana por el que se tiene que luchar para obtener algo mejor.

A mi familia que siempre me brinda todo su apoyo.

A toda la banda de "*las piedras*", Chio Veléz, Nayeli, Naty, Octavio, George, Heysol, Maru, Mary, Tania, Liz, Ricardo, María Pradal, Fer, Tetzin, Eli, Kary, Luis, Cynthia, Rodrigo, porque me han demostrado que la amistad siempre nos mantendrá unidos.

A toda la banda de “QA's y un QFB”, Dianita, Jackie, Julio (la cosa), Hugo, Sandra, Dany y Elisa que me han apoyado en este largo trayecto y que con sus consejos he logrado ser una mejor humanita y una mejor profesionista.

A todos mis compañeros y amigos de carrera, con quienes pase tardes de estudio, todos aquellos con quienes trabajé y que trabajaron a mi lado para alcanzar esta meta.

*A todos ustedes que me mostraron el camino que debía tomar, dejándome a mí la decisión final,  
a todos ustedes que me acompañaron por el camino que elegí, luchando incansables a mi lado,  
a todos ustedes que me dieron su apoyo para convertir en escalones todas las rocas en mi camino,  
a todos ustedes que me enseñaron que no importa caer si al final logras levantarte,  
a todos ustedes que son ya parte de mi vida les doy las gracias.*

***“Nada se edifica en piedra sino en arena, pero nuestro deber es edificar en la arena como si fuera piedra”***

***Jorge Luis Borges.***

## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO. ....</b>	<b>5</b>
2.1.    Desnutrición. ....	5
2.1.1    Desnutrición Energético-Proteínica (DEP).....	6
2.1.1.1.    Kwashiorkor .....	9
2.1.1.2.    Ciclo Desnutrición-infección-Desnutrición.....	12
2.1.2    Desnutrición Energético-Proteínica en México.....	12
2.1.2.1    Tratamiento Integral en la Recuperación del niño con Desnutrición Energético-Proteínica. ....	15
2.1.2.2    Alimentos funcionales prebióticos y probióticos. ....	17
2.1.2.3    La inulina.....	19
2.2.    Parámetros clínicos para la determinación del estado nutricional.....	23
2.1.2    Las proteínas plasmáticas como indicadores bioquímicos. ....	24
2.3.    Proteínas plasmáticas.....	27
2.3.1.    Albúmina: Parámetro bioquímico en la Desnutrición Energético-Proteínica. 30	30
2.3.2.    Albúmina: Principios de análisis. ....	30
<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>32</b>
<b>OBJETIVOS PARTICULARES .....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....</b>	<b>33</b>
3.1    Diagrama general de trabajo.....	33
3.2    Ensayo biológico. ....	35
3.2.1    Dietas.....	35
3.2.2    Ensayo biológico. ....	37
3.2.3    Muestras biológicas.....	39
3.2.4    Cuantificación de proteína plasmática por el método de Lowry. ....	40
3.3    Análisis estadístico.....	45
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
4.1    Desarrollo del cuadro de desnutrición grave Kwashiorkor en el lote de estudio correspondiente. ....	46
4.2    Recuperación de los animales de estudio. ....	48
<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>56</b>
<b>CAPÍTULO VII. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>57</b>
<b>CAPÍTULO VIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>62</b>

## RESUMEN

La desnutrición energético-proteínica (DEP) se relaciona con los fenómenos socioculturales que caracterizan a una nación, a una colectividad y a una familia. El estado de nutrición está determinado por factores ambientales, genéticos, neuroendocrinos y por el momento biológico en el que se encuentra el individuo. En México la prevalencia de la DEP es más elevada en zonas rurales indígenas y urbanas marginales; es la principal consecuencia de las enfermedades infecciosas y de una ingestión alimentaria inadecuada. Su estado clínico puede comprender la deficiencia de energía y/o proteínas; éstas son de magnitud variable (leves, moderadas y graves). Las graves se manifiestan mediante cuadros clínicos muy característicos llamados *Marasmo* y *Kwashiorkor*. En el caso de Kwashiorkor, la tasa de degradación y de síntesis proteínica está disminuida como una respuesta de adaptación a la carencia de aminoácidos y de energía, esto provoca que parámetros bioquímicos se vean alterados, como la concentración de proteínas plasmáticas, entre ellas la albúmina que se ha propuesto como un indicador bioquímico de la DEP.

Cuando un niño presenta DEP es muy probable que se genere un cuadro de infección, ésta constituye uno de los factores que más contribuye a incrementar la morbilidad y mortalidad en los pacientes con dicho padecimiento, suelen ser frecuentes y merman el estado nutricional del niño. Los alimentos funcionales pueden ser importantes en la recuperación, principalmente en el periodo inicial de la misma. La adición de inulina, prebiótico, en dietas administradas a animales desnutridos y en recuperación ayuda en el reestablecimiento de la flora microbiana benéfica del organismo, lo que sugiere que la absorción de nutrientes y la recuperación del paciente con DEP se ven favorecidas. Dado que la concentración de proteína plasmática es un parámetro bioquímico clave en el diagnóstico de la DEP, éste se verá alterado al modificar el estado nutricional de los animales de estudio, una fluctuación en el comportamiento de dicho parámetro bioquímico mostrará si la recuperación de animales con DEP mejora con la inclusión de inulina en la dieta.

Se trabajó con ratas Sprague Dowley macho recién destetadas, durante la Fase I del experimento un grupo de éstas se alimentó con una dieta con bajo valor proteínico para propiciar la DEP, un segundo grupo se alimentó con una dieta con nutrimentos suficientes para su desarrollo, esto permitirá saber si se logró generar DEP en las ratas de estudio, al término de esta primera fase se tomaron muestras sanguíneas de ambos grupos y se determinó la concentración de proteínas plasmáticas. Durante la Fase II del experimento se alimentaron a ambos grupos con dietas que contienen dos diferentes niveles de inclusión de inulina (2% y 4%) y se tuvo un grupo control al que se le dio una dieta con los nutrimentos suficientes para su desarrollo. Al término de esta Fase del estudio se tomaron muestras sanguíneas para determinar la concentración de proteínas plasmáticas y albúmina plasmática, con ello se determinó si se producía una mejora en la concentración de estos parámetros utilizando dietas con inulina para la recuperación de la desnutrición tipo kwashiorkor.



## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La desnutrición energético-proteínica (DEP) se relaciona con los fenómenos socioculturales que caracterizan a una nación, a una colectividad y a una familia. El estado de nutrición está determinado por factores ambientales, genéticos, neuroendocrinos y por el momento biológico en el que se encuentra el individuo. Es un estado patológico inespecífico sistémico y potencialmente reversible, que se origina como resultado de la deficiente incorporación de los nutrimentos a las células del organismo. Se concentra de manera principal en los países en desarrollo, los niños que la padecen se enferman con frecuencia, suelen sufrir la pérdida de sus capacidades intelectuales y, si sobreviven, pueden llegar a la edad adulta con discapacidades mentales o físicas (Casanueva, 2001).

En México la prevalencia de la DEP es más elevada en zonas rurales indígenas y urbanas marginales; es la principal consecuencia de las enfermedades infecciosas y de una ingestión alimentaria inadecuada. Su estado clínico puede comprender la deficiencia de energía y/o proteínas; éstas son de magnitud variable (leves, moderadas y graves). Las graves se manifiestan mediante cuadros clínicos muy característicos llamados **Marasmo** y **Kwashiorkor**.

En la DEP existe una adecuada digestión de las proteínas de la dieta, pero su absorción se ve reducida de 10 a 30 por ciento. En el caso de Kwashiorkor, la tasa de degradación y de síntesis proteínica esta disminuida como una respuesta de adaptación a la carencia de aminoácidos y de energía, esto provoca que parámetros bioquímicos se vean alterados, como la concentración de proteínas plasmáticas, entre ellas la **albúmina** que se ha propuesto como un indicador bioquímico de la DEP.

Cuando un niño presenta DEP es muy probable que se presente un cuadro de infección, ésta constituye uno de los factores que más contribuye a incrementar la morbilidad y mortalidad en los pacientes con dicho padecimiento, estas suelen ser frecuentes y merman el estado nutricional del niño (Casanueva, 2001).

La DEP resulta en una cascada de cambios fisiológicos que no pueden ser resueltos únicamente con alimentos domésticos, requiere de una intervención terapéutica, se

requieren alimentos ricos en nutrimentos, rehidratación oral y en ocasiones antibióticos. Los alimentos funcionales pueden ser importantes en la recuperación, principalmente en el periodo inicial de recuperación (Blackburn, 2001).

La inulina es un fructano polidisperso que, debido a su estructura, no puede ser digerido como un hidrato de carbono típico y por lo tanto reduce su valor calórico y posee efectos prebióticos. La adición de ésta en dietas administradas a animales desnutridos y en recuperación ayudan en el reestablecimiento de la flora microbiana benéfica del organismo (Sánchez, 2009), lo que hace pensar que la absorción de nutrientes y la recuperación del paciente con DEP se ven favorecidas.

Si la concentración de proteína plasmática es un parámetro bioquímico clave en el diagnóstico de la DEP, este se verá alterado al modificar el estado nutricional de los animales de estudio, con ello se podrá determinar si las dietas con inulina que influyeron en la recuperación de la flora benéfica del organismo, influyen también en la recuperación de los individuos con DEP.

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.

### 2.1. Desnutrición.

La desnutrición es un estado de deficiencia en el consumo o biodisponibilidad de energía y/o nutrimentos que repercute negativamente en la salud de quien la padece. De acuerdo con esta definición se pueden encontrar muchas formas de desnutrición ya que la cantidad de nutrimentos requeridos por el cuerpo humano suman varias decenas. Cuando se trata de una deficiencia específica, ésta se denomina en función de las manifestaciones clínicas asociadas con la función metabólica del nutrimento (Zúñiga, 2005).

En cuanto a su origen, la deficiencia nutricional puede deberse a un consumo alimentario en cantidad insuficiente (*desnutrición primaria*), a problemas en la utilización de los nutrimentos por parte del organismo debido a problemas de absorción, metabólicos, o por una demanda exagerada, ya sea patológica o funcional (*desnutrición secundaria*); también puede haber formas mixtas de desnutrición.

En cuanto a la duración de la deficiencia de nutrimentos, la desnutrición se puede catalogar en aguda asociada con adelgazamiento, y crónica, cuando la persistencia prolongada de la desnutrición detiene el crecimiento o produce alteraciones orgánicas además de la pérdida de peso. Es posible reconocer también formas crónicas agudizadas de desnutrición.

Para la caracterización de la desnutrición también es importante considerar la intensidad de la deficiencia, para ello se utilizan tres grados: *leve*, si la deficiencia es incipiente y sin riesgo de secuelas importantes; *moderado*, si el daño no es suficiente para comprometer la vida en forma inminente pero el riesgo de secuelas permanentes es alto; y *grave*, si la deficiencia pone en peligro la vida.

El denominador común de la desnutrición materna e infantil es la incapacidad para satisfacer la demanda fisiológica para garantizar el crecimiento y desarrollo acelerado de la etapa prenatal y durante los primeros años de vida, lo que puede dar origen a daños irreversibles que limiten ostensiblemente el desarrollo de las capacidades futuras del infante (Zúñiga, 2005).

Es importante conceptualizar a la desnutrición infantil no sólo como un problema de carencia alimentaria ya que también es un problema social. La desnutrición puede catalogarse también por las causas que la originan, como la desnutrición energético-proteínica (DEP), que como su nombre lo indica es producida por la escasez en la ingestión de proteína y energía del individuo en cuestión.

### 2.1.1 Desnutrición Energético-Proteínica (DEP).

La DEP evoluciona en forma gradual a lo largo de semanas o meses. Esto permite que ocurra una serie de ajustes metabólicos y conductuales que resultan en una disminución de la demanda de nutrimentos y un equilibrio nutricional compatible con la disponibilidad reducida de nutrimentos a nivel celular. Las alteraciones del metabolismo pueden deberse a una deficiencia grave de nutrimentos, a complicaciones (como infecciones) o a un tratamiento inadecuado (como la administración súbita de cantidades grandes de calorías o proteínas en la dieta) (Casanueva, 2001).

En México la prevalencia de la DEP es más elevada en zonas rurales indígenas y urbanas marginales; es la principal consecuencia de las enfermedades infecciosas y de una ingestión alimentaria inadecuada. En la clasificación de la DEP siempre se deben de tomar en cuenta tres parámetros o factores:

1. El factor etiológico, en donde la DEP se clasifica de la siguiente manera: *primaria*, cuando se debe a una deficiente ingestión de alimento, por lo general debido a problemas socioeconómicos, como disponibilidad o ignorancia; *secundaria*, cuando los alimentos que se consumen no se aprovechan en forma adecuada a causa de situaciones fisiopatológicas existentes, como las infecciones, y *mixta*, cuando los factores anteriores se conjugan.
2. La magnitud o gravedad de la DEP, clasificada de acuerdo con el indicador de peso para la edad establecido por Gómez (Casanueva, 2001).
3. El tiempo de evolución de la DEP, establecida a partir de los indicadores de peso para la estatura y estatura para la edad indicados por Waterlow.

Su estado clínico puede comprender la deficiencia de energía y/o proteínas; éstas son de magnitud variable (leves, moderadas y graves). Las graves se manifiestan mediante cuadros clínicos muy característicos llamados **Marasmo y Kwashiorkor**.

A pesar de esta magnitud variable en su espectro, los signos y síntomas de la DEP pueden agruparse en tres categorías:

- a) Los *signos universales*, que son la dilución, la disfunción y la atrofia, que en la clínica se manifiestan como una disminución de los incrementos normales del crecimiento y el desarrollo, los cuales se encuentran siempre presentes en la desnutrición, sin importar su etiología, intensidad o variedad clínica.
- b) Los *signos circunstanciales*, que se desencadenan como una expresión exagerada de los signos universales; por ejemplo, el edema, la caída del cabello, las petequias, la hipotermia, la insuficiencia cardíaca, la hepatomegalia, etc.
- c) Los *signos agregados*, los cuales determinan en buena parte la terapia, así como la mortalidad del desnutrido; entre ellos están la diarrea, la esteatorrea, la anemia o la anorexia.

Entre los signos agregados se incluyen aquellos determinados por el ambiente social y cultural, así como los rasgos afectivos que prevalecen en el hábitat del individuo. Todos ellos son concomitantes a la DEP, pero no consecuencia directa de la misma. Estas manifestaciones forman parte importante de lo que ha sido llamado el *síndrome de privación social*.

En general, en la DEP de magnitud variable el niño se muestra llorón, descontento, con diarreas poco frecuentes, sin vómitos u otros accidentes de las vías digestivas. Se caracteriza principalmente porque el peso no muestra los incrementos esperados en las últimas cuatro a seis semanas. En la DEP moderada, los síntomas y signos anteriores se exacerbaban; el niño se torna irritable y duerme con los ojos entreabiertos, la pérdida de peso se acentúa, las diarreas y las infecciones son frecuentes (rinorrea, faringitis, otitis), los ojos se hundieron, la piel y el tejido subcutáneo pierden turgencia y elasticidad, se presenta hipotrofia muscular y a veces comienza a aparecer edema.

Las variedades clínicas graves de la DEP (Marasmo y Kwashiorkor) tienen factores etiológicos y manifestaciones al parecer diferentes. En general, el *Marasmo* predomina en los lactantes de 6 y 18 meses de edad y es el resultado de una ingestión deficiente y crónica de energía, proteínas, vitaminas y nutrimentos inorgánicos. Está caracterizado por una grave reducción de peso, el edema no es detectable y existe adelgazamiento del tejido muscular y subcutáneo. Cuando la privatización continúa, se presenta desmedro, es decir, alteración sobre el crecimiento lineal o retardo del crecimiento. El niño con marasmo presenta también cambios en la piel y, ocasionalmente, en el pelo, y se muestra muy irritable y apático al medio ambiente (Casanueva, 2001).

**Tabla 1. Características de la desnutrición**

	<b>MARASMO</b>	<b>KWASHIORKOR</b>
<b>Inicio</b>	Primer año	Segundo año
<b>Se asocia</b>	Destete temprano	Destete tardío
<b>Evolución</b>	Crónica	Aguda
<b>Enfermedades</b>	Frecuentes Respiratorias y gastrointestinales	Menos frecuentes Respiratorias y gastrointestinales
<b>Apariencia</b>	Emaciado	Edematoso
<b>Conducta</b>	Irritable, llora mucho	Apático, triste, irritable
<b>Tejido muscular</b>	Muy disminuido	Muy disminuido
<b>Tejido adiposo</b>	Muy disminuido	Presente pero escaso
<b>Hígado</b>	Normal	Esteatosis, hepatomegalia
<b>Edema</b>	Ausente	Presente
<b>Piel</b>	Seca, plegadiza, sin dermatosis	Lesiones húmedas, con dermatosis
<b>Cabello</b>	Alteraciones ocasionales	Alteraciones frecuentes
<b>Psicológicas</b>	Alteraciones ocasionales	Alteraciones frecuentes
<b>Hemoglobina</b>	Disminuida	Disminuida
<b>Proteínas</b>	Casi normales	Disminuidas
<b>Complicaciones</b>	Infecciones, electrolíticas Ácido-Base	Infecciones, electrolíticas Ácido-Base
<b>Recuperación</b>	Prolongada	Breve

Fuente: Casanueva, 2001.

El *Kwashiorkor* es consecuencia de una deficiencia de energía y micronutrientes, a la cual se suma una ingestión inadecuada aguda de proteínas. Se presenta con mayor frecuencia en la etapa posterior al destete, en lactantes mayores o preescolares. La característica clínica es el 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) y albúmina sérica disminuida (Casanueva, 2001).

#### 2.1.1.1. Kwashiorkor

Fue descrita por primera vez por Ciceli Williams en 1935, aplicando el término *kwashiorkor* a un síndrome pluricarenal que se presenta entre el año y los 5 o 6 años de vida, producido debido al destete brusco del infante, al nacer un segundo infante, en muchas sociedades el siguiente alimento que se les da es a base de grasa y almidones, que poseen un aporte proteínico mínimo y en algunos casos nulo, la mayoría de los casos el menor debe competir con el resto de la familia por una porción de comida quedando en desventaja por su corta edad y con pocas posibilidades de conseguir una ración de alimento adecuada para su desarrollo, en especial si el alimento escasea para toda la familia.

La causa subyacente del *kwashiorkor* es, por tanto, una ingesta inadecuada de alimentos como en el caso del marasmo. Sin embargo, frecuentemente es el resultado de la ignorancia sobre muchos alimentos de destete adecuados, más que sólo la falta de alimentos en sí.

Uno de sus síntomas más llamativos y para el cuál no se ha encontrado una explicación consistente es el edema; existen varias teorías que explican su aparición, algunas de las cuales se explicaran más adelante. Además de la emaciación de tejido muscular, pérdida de mucosa intestinal y respuestas inmunes disminuidas, que también se presentan en el

marasmo, los niños con kwashiorkor muestran varios signos característicos que distinguen a ésta enfermedad:

- ☞ Retención de fluido y por tanto edema grave, debido a la baja concentración de proteínas plasmáticas. La hinchazón de los miembros, debida al edema, enmascara la grave pérdida muscular en brazos y piernas;
- ☞ Aumento del hígado. Debido a la acumulación de cantidades anormalmente elevadas de grasa en el hígado, en un grado tal que en lugar de su color marrón-rojizo normal, el hígado es amarillo pálido cuando es examinado post-mortem, o durante la cirugía. La base metabólica de esta infiltración de grasa se desconoce. Es el aumento del hígado lo que causa la paradójica apariencia “panzuda” de los niños con kwashiorkor; junto con el edema, parecen rollizos a cierta distancia, aunque estén hambrientos;
- ☞ Cambios característicos de la textura y el color del pelo. Esto es más destacable en niños africanos; en vez de un pelo negro fuertemente rizado, los niños con kwashiorkor tienen escaso pelo, a mechones, que es menos rozado de lo normal, y pobremente pigmentado, a menudo es rojizo o incluso gris;
- ☞ Erupción cutánea como el hollín, semejante a una quemadura solar;
- ☞ La expresión característica de profunda aflicción (Bender, 1993).

Geográficamente tiende a confinarse en zonas de África rurales, islas del Caribe y del Pacífico, donde los alimentos básicos y los que se usan en el destete son deficientes de proteínas y excesivamente ricos en almidón. El aporte calórico total resulta alto, sin embargo desequilibrado a ello se suma la carencia de grasas y oligoelementos (vitaminas y minerales). La retención acuosa puede dar la impresión de pérdida de peso moderada pero la talla es deficiente. La patogenia de la retención hídrica es compleja: hay hipoproteinemia, a expensas de la albúmina que no desempeña un papel determinante, salvo en las formas graves. El músculo se deteriora y puede contribuir a mantener los niveles plasmáticos de proteínas, aunque de forma ineficiente. El potasio intra y extracelular, está disminuido observándose un aumento de la diuresis después de su administración. Paralelamente el sodio está aumentado en el compartimiento intracelular,



lo que contribuye a una mala regulación hídrica. De esta forma el déficit energético genera hipoproteinemia y el desequilibrio mineral añade otro factor causante de edema. Diversos estudios sugieren que el aumento del hierro libre plasmático interviene en la aparición del edema.

La ingestión proteínica reducida conduce a una disminución de la síntesis proteínica para los órganos internos. El deterioro de la síntesis de  $\alpha$ -lipoproteínas origina esteatosis hepática. La deficiencia proteínica origina cambios enzimáticos adaptativos, las aminoacidosintetas aumentan y la formación de urea disminuye, conservándose así el nitrógeno y reduciéndose su pérdida por orina. Los mecanismos homeostáticos actúan inicialmente para mantener los niveles plasmáticos de albúmina y proteínas transportadoras. Finalmente, estos niveles descienden, disminuye la presión oncótica y se genera edema. En la deficiencia proteínica grave están alterados el crecimiento, la respuesta inmunitaria (con infecciones repetidas), la reparación tisular y la producción de algunas enzimas y hormonas. Como efecto adaptativo, se producen incrementos de los niveles de la hormona antidiurética, la renina plasmática y el cortisol. La secreción de insulina resulta estimulada al principio, reduciéndose después en el curso de la enfermedad. Su respuesta a la sobrecarga de glucosa esta disminuida. Otros síntomas de desnutrición son alteraciones de la inmunidad que conducen a infecciones repetidas e hipoalbuminemia.

El edema del kwashiorkor se vincula con la hipoalbuminemia a través de la reducción de la presión coloidsmótica del plasma, que permite la fuga de líquidos de los capilares hacia el espacio intersticial.

La diarrea y las infecciones de vías respiratorias se presentan de una manera más común y más graves que en el caso de marasmo. Es posible que se presenten infecciones fatales, a menudo sin fiebre, taquicardia o dificultad respiratoria. Las causas más comunes de muerte incluyen edema pulmonar, septicemia, gastroenteritis y desequilibrio electrolíticos (Shils, 2002).

#### 2.1.1.2. Ciclo Desnutrición-infección-Desnutrición.

Se ha demostrado que el niño desnutrido es más susceptible a las infecciones. Éstas constituyen uno de los factores que más contribuye a incrementar la morbilidad y mortalidad cuando se asocian a la DEP. Tal es el caso de la diarrea, el sarampión y las enfermedades respiratorias. Por otro lado, la presencia de las infecciones promueve el desarrollo de la desnutrición lo que implica que por lo general ésta y las infecciones aparecen juntas y genera un círculo vicioso.

El ciclo desnutrición-infección-desnutrición se debe a la presencia e interacción de varios factores, entre los que destacan: el abandono temprano de la lactancia, ablactación prematura (antes del segundo mes) o tardía (después del sexto mes), el uso inadecuado de sucedáneos de la leche humana y la falta de higiene en su preparación, que provocan infecciones gastrointestinales frecuentes y merman el estado nutricional del niño (Casanueva, 2001).

Por sí mismas las infecciones desencadenan anorexia, disminución de la absorción de nutrientes –como en el caso de la diarrea o la parasitosis –, incremento de las pérdidas urinarias de nitrógeno y electrolitos, así como un aumento del gasto energético basal.

Si durante el episodio de infección no se aportan la energía y los nutrientes necesarios para crecer y compensar el gasto por la enfermedad, el niño utilizará sus propias reservas y dejará de crecer, sus mecanismos inmunitarios se verán comprometidos y se repetirán nuevamente las infecciones, lo que conducirá a las presentaciones graves de la DEP (Casanueva, 2001).

#### 2.1.2 Desnutrición Energético-Proteínica en México

Aunque una mala nutrición produce estragos entre la población en general, sus efectos resultan más nocivos cuando se padece en los primeros años de vida. Los niños en edades tempranas se encuentran en una etapa crítica de crecimiento y maduración que se puede ver gravemente alterada por el déficit nutricional. Una infancia desnutrida resulta más

adelante en la vida en múltiples desventajas tanto físicas como cognitivas (Bartlett, 1999) y aumenta la propensión a enfermedades crónicas e incapacidades (Smith y Haddad, 2000). Así, el desarrollo de las capacidades de las personas requiere de una condición nutricional adecuada desde la infancia temprana.

En las condiciones específicas de México ha quedado bien establecido que el principal problema de desnutrición, por lo demás consecuencia directa de las condiciones de marginación y pobreza, es la que acontece en los primeros años de la vida, es decir la desnutrición infantil o preescolar. Asociada estrechamente a la desnutrición preescolar se ubica la desnutrición materna. Otras formas de desnutrición tienen lugar en menor escala, muchas veces son consecuencia de la desnutrición en edad temprana o están asociados a estados patológicos.

La desnutrición infantil en México no es consecuencia de la escasa disponibilidad de alimentos en el hogar, ya que no es raro encontrar en una misma familia la coexistencia de preescolares desnutridos con adultos y escolares obesos; esta condición se observa cada vez con mayor frecuencia en familias de bajo ingreso (Zúñiga, 2005).

La Encuesta Nacional de Nutrición (ENN) de 1999 aporta los datos más recientes disponibles sobre nutrición en el país. Éstos indican la situación existente al final de la década pasada y permiten estudiar la vinculación de diversos factores con la desnutrición en años recientes. De acuerdo con esta información, al momento de realizarse la encuesta, 17.8% de los niños menores de cinco años en México experimentaban desnutrición, medida como baja talla para la edad (desmedro).

La incidencia de la desnutrición en México cedió terreno en los últimos años del Siglo XX. Entre 1988 y 1999, la proporción de niños desnutridos disminuyó en una quinta parte. Sin embargo, esta reducción es menos notable cuando se compara con la situación registrada en otras regiones: Sudamérica, en su conjunto, mostró durante el mismo periodo una disminución de más de 45% en la prevalencia de desmedro. Esta diferencia es aún más significativa cuando se considera que los cambios en la desnutrición en Sudamérica ocurren a partir de niveles sustancialmente inferiores a los que presentaba México a principios de la década de 1990.

En los reportes de prevalencia se suelen considerar tres grados de desnutrición: *leve*, *moderada* y *grave*; México ha adoptado desde 1993 la norma de referencia de peso y talla recomendada por la Organización Mundial de la Salud (NOM-008-SSA, actualizada en la NOM 031-SSA2-1999). La prevalencia porcentual del estado de nutrición reportado por la ENN 1988 a escala nacional, la Encuesta Nacional de Alimentación y Nutrición en el medio Rural Mexicano (ENAL) 1989 y 1996, así como la ENN 1999 a escala urbana y rural se presenta en la Tabla 2. Para mantener la comparabilidad se excluye la zona metropolitana de la ciudad de México en ambas ENN.

**Tabla 2. Estado de nutrición en medio urbano y rural de la población menor de 5 años, Estados Unidos Mexicanos. 1988-1999.**

Estado de nutrición	ENN 1988	ENAL 1989	ENAL 1996	ENN 1999	
				Rural	Urbano
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
No desnutridos	56.0	55.9	57.2	58.8	76.2
Desnutrición leve	27.6	27.8	25.9	28.9	18.4
Desnutrición moderada y grave	16.4	16.3	16.9	12.3	5.4

Fuente: Zúñiga, 2005.

Existe una congruencia en la serie cronológica de la prevalencia de la desnutrición con el medio rural reportada por la ENAL 1989, 1996 y la ENN 1999. Esta congruencia contrasta la prevalencia de desnutrición infantil y preescolar para el conjunto del país por la ENN 1988, la cual es prácticamente idéntica a la reportada en el medio rural en 1989; esto significa que no habría diferencia entre la prevalencia de desnutrición urbana y rural, lo cual contradice la evidencia epidemiológica. Esto supone una homogeneidad nacional en la disminución de la desnutrición moderada y grave. Sin embargo hay una gran asimetría no sólo en la prevalencia de desnutrición sino también en la magnitud del descenso al considerar la distribución espacial y la etnicidad de la población.

La distribución regional del estado de nutrición de la población menor de 5 años de acuerdo con las ENN 1988 y 1999 se muestra en la Tabla 3.

**Tabla 3. Distribución regional del estado nutricional de la población mexicana menor de 5 años de acuerdo con las ENN 1988 y 1999.**

REGIÓN	MENOR DE 5 AÑOS		NO DESNUTRIDOS		DESNUTRIDOS			
	1988	1999	1988	1999	Leve		Moderada y grave	
	1988	1999	1988	1999	1988	1999	1988	1999
Nacional	8906.4	10461.6	5237.0	7375.4	2386.9	2291.1	1282.5	795.1
Norte	1388.8	1953.3	937.6	1606.7	302.6	282.7	148.6	64.4
Centro	2816.2	3591.6	1659.0	2656.0	748.7	717.1	408.4	218.8
Sur	2938.8	3431.1	1408.0	2049.8	916.4	969.4	614.4	411.1
Cd. De México	1762.6	1485.6	1232.4	1062.9	419.3	321.9	111	100.8
Nacional (%)	100	100	58.8	70.5	26.8	21.9	14.4	7.6
Norte (%)	15.6	18.7	67.5	82.3	21.8	14.5	10.7	3.3
Centro (%)	31.6	34.3	58.9	74.0	26.6	20.0	14.5	6.1
Sur (%)	33	32.8	47.9	59.7	31.2	28.3	20.9	12.0
Cd. de México (%)	19.8	14.2	69.9	71.5	23.8	21.7	6.3	6.8

Fuente: Zúñiga, 2005.

De acuerdo con la Tabla 3 se puede observar que la mayor prevalencia de desnutrición se presenta en la Región Sur; su tasa de desnutrición de alto riesgo fue 1.9 veces mayor que la del conjunto de las otras tres regiones del país en 1988 y se incrementó a 2.2 veces en 1999 (Zúñiga, 2005).

#### 2.1.2.1 Tratamiento Integral en la Recuperación del niño con Desnutrición Energético-Proteínica.

Para garantizar la recuperación de niños con desnutrición grave se han recomendado diversos tratamientos entre los cuales se recomiendan diferentes directrices especiales que tengan en cuenta las profundas modificaciones fisiológicas y metabólicas que afectan a todas las células, órganos y sistemas. Los niños desnutridos sufren un proceso de “adaptación reductiva”, no responden al tratamiento médico como los niños bien alimentados y tienen muchas más probabilidades de morir, con o sin complicaciones. Con un tratamiento apropiado en un hospital y un seguimiento ulterior puede salvarse la vida de muchos niños.

Los niños con problemas de marasmo y kwashiorkor, poseen un tracto intestinal en estado muy lamentable. Esto significa que el paciente no puede tratarse en lo más mínimo de forma adecuada con una dieta rica en nutrimentos, o con gran variedad de alimentos. El tratamiento debe comenzar con una alimentación frecuente y escasa a base de líquidos, una vez que el paciente ha comenzado a regenerar una mucosa intestinal normal, pueden introducirse gradualmente alimentos sólidos.

Existen diferentes métodos para ayudar a los niños con DEP a reestablecerse, la OMS recomienda una serie de directrices para lograr la pronta recuperación de los niños, cabe mencionar que el seguimiento de éstas y el personal altamente calificado ayudan en la recuperación.

Hay diez pasos esenciales como parte de un tratamiento sistemático:

1. *Tratar/prevenir la hipoglucemia.*
2. *Tratar/prevenir la hipotermia.*
3. *Tratar/prevenir la deshidratación.*
4. *Corregir los desequilibrios electrolíticos.*
5. *Tratar/prevenir las infecciones.*
6. *Corregir las carencias de micronutrientes.*
7. *Empezar a alimentar prudentemente.*
8. *Lograr la recuperación del crecimiento.*
9. *Proporcionar estimulación sensorial y apoyo emocional.*
10. *Preparar el seguimiento tras la recuperación.*

Básicamente el tratamiento a seguir en la recuperación de la desnutrición inicialmente es a base de solución salina y/o glucosada, aumentando gradualmente la consistencia de los alimentos hasta llegar a alimentos sólidos. En algunos casos la adición de alimentos funcionales en las dietas de recuperación puede resultar fructífero para la recuperación del niño con DEP (Zúñiga, 2005).

### 2.1.2.2 Alimentos funcionales prebióticos y probióticos.

Se han utilizado muchas expresiones para describir los múltiples productos naturales con efectos sobre la salud que están surgiendo actualmente. Tal es el caso de los alimentos funcionales, suplementos alimenticios y alimentos médicos, entre otros. En Norteamérica, se han utilizado indistintamente las frases alimentos funcionales y producto nutracéutico, y con ello se han dado diversas definiciones que describen el amplio conjunto de productos que se incluyen en esta denominación. Sin embargo, al momento de establecer normativa surgen dificultades y es difícil diferenciar un “alimento” (en cuyo la dosis diaria se debe encontrar perfectamente regulada para evitar un consumo excesivo de el mismo) a un componente aislado que se vende en comprimidos u otra presentación, en cuyo caso el peligro de tomar una dosis excesiva es mucho mayor. El *Health Protection Branch* de *Health Canada*, organismo encargado de la protección de la salud canadiense considera que los alimentos funcionales y los productos nutracéuticos deben ser utilizados independientemente dando a conocer las siguientes definiciones:

- ☞ Un alimento funcional tiene una apariencia similar a la de un alimento convencional, se consume como parte de una dieta normal y, además de su función nutritiva básica, se ha demostrado que presenta propiedades fisiológicas beneficiosas o protege contra enfermedades crónicas.
- ☞ Un producto nutracéutico es un producto elaborado a partir de un alimento, pero que se vende en forma de píldoras, polvos y otras presentaciones farmacéuticas no asociadas generalmente con los alimentos y que ha demostrado tener propiedades fisiológicas beneficiosas o protege contra enfermedades crónicas.

Alrededor del mundo se han establecido diversas normativas acerca de este tipo de productos para regularlos (Mazza, 2000).

Si en un principio un alimento funcional era aquel que contenía de forma natural una sustancia activa con efectos beneficiosos para la salud, hoy en día estas sustancias son adicionadas a otros productos que no las contienen de forma natural, o las contienen a bajo nivel, pero a los que se desea incorporar dicho beneficio. En este sentido la adición de nutrientes tales como vitaminas y minerales a alimentos, que de forma natural las

contienen o no, es considerado por algunos como un fortificado o enriquecimiento, respectivamente, mientras que a otros comercialmente les interesa que tengan la consideración de alimentos funcionales.

La evolución de la dieta óptima puede implicar a los alimentos funcionales, pero éstos no son la solución a los malos hábitos alimentarios.

El grupo más conocido, amplio y tradicional de alimentos funcionales es aquel que incorpora probióticos y/o prebióticos.

- Probióticos. Se trata de alimentos funcionales caracterizados por la presencia de microorganismos vivos que siendo capaces de superar el tránsito intestinal y colonizar el intestino grueso ejercen diversos efectos beneficiosos: equilibrar la flora colónica, mejorar el tránsito intestinal, potenciar la inmunidad, mejorar la absorción de nutrientes, etc. Los alimentos más representativos que incorporan probióticos son el grupo de las leches fermentadas, aunque no todas las bacterias que incorporan tienen la misma capacidad para superar la barrera gástrica, colonizar el tracto digestivo o desarrollar todos los efectos beneficiosos citados.
- Prebióticos. Son aquellas sustancias que no se digieren por el organismo, pero que pueden ser utilizadas por las bacterias beneficiosas del colon favoreciendo así su crecimiento y manteniendo el equilibrio de la microbiota intestinal. El grupo más conocido de éstas sustancias corresponde al grupo de los hidratos de carbono tales como fibra, inulina y fructooligosacáridos (FOS) (Rodríguez, 2008).

Los productos probióticos contienen un gran número de bacterias benéficas, en particular *Bifidobacterias* y *Lactobacilos*, uno de los productos más comunes que contienen estos microorganismos son los yogures, sin embargo las bacterias son muy sensibles. Debido a su baja tolerancia a las condiciones del medio como el Oxígeno, calor y esfuerzos mecánicos, sólo algunas alcanzan a llegar al colon y brindan el efecto benéfico. Por lo tanto su efecto es transitorio y tiene una efectividad limitada.

Una alternativa para incrementar el número de bacterias benéficas en el intestino es a través de la adición de prebióticos en los alimentos. Los sustratos viables para dichas bacterias son formas solubles de fibra dietética, una de estas es la inulina.



La inulina es una fuente natural, se ha encontrado en 36,000 diferentes especies de plantas alrededor del mundo y después del almidón, es uno de los principales hidratos de carbono presentes en forma natural. Una de las ventajas sobre el uso de los prebióticos es que las condiciones de almacenamiento no son tan estrictas como en las bacterias probióticas, por lo tanto su vida de anaquel es mayor; más aún, los prebióticos pueden ser suplementos de una gran variedad de productos, finalmente los prebióticos son insensibles a las enzimas del tracto digestivo por lo que llegan intactos hasta el colon (Figura 1) (Solís, 2009).

**Figura 1. Metabolismo de la inulina a través del tracto digestivo.**



Fuente: Solís, 2009.

### 2.1.2.3 La inulina.

La inulina,  $\beta$ -D-fructopiranosil- $[\beta$ -D-fructofuranosil] $n$ -1- $\beta$ -D-fructofuranósido, es un fructano polidisperso, cuyas unidades de fructosa en la mezcla de polímeros lineales y oligómeros se encuentran unidos por enlaces  $\beta(2,1)$ . La longitud de las cadenas de estos fructanos se encuentra de 10 a 60 unidades, con un promedio de grado de polimerización (DP) de 10. Una molécula de glucosa reside en el extremo de cada cadena de fructosa unida por un enlace  $\alpha(1-2)$ , como ocurre en la sacarosa (Figura 2). El aspecto esencial de la inulina son sus enlaces  $\beta(2,1)$ , ya que estos son responsables de que no sea digerida

como un hidrato de carbono típico y por lo tanto se reduce su valor calórico y posee efectos prebióticos (Mussatto, 2007).

La inulina y los fructooligosacáridos (FOS) son los fructanos más estudiados desde el punto de vista nutricional y tecnológico. Ambos se diferencian por el grado de polimerización de las mezclas de polímeros que contienen, que es entre 2 y 60 para la inulina y entre 2 y 10 para los FOS.

Dentro de las plantas que se usan como alimentos, son muchas las familias botánicas que los contienen, entre las que destacan las: **Liliaceae** (ajo, cebolla, puerro, espárragos), **Asteraceae** (topinambur, yacón, achicoria), **Poaceae** (trigo) y **Musaceae** (plátano) (Tabla 4).

Figura 2. Estructura química de la inulina.

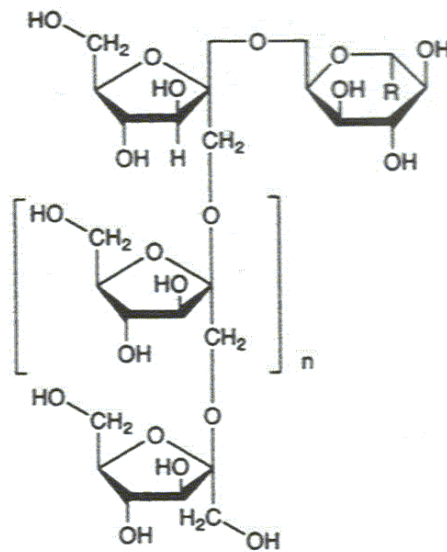


Tabla 4. Contenido de fructanos en algunas plantas comestibles.

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	UBICACIÓN	FRUCTANO	% EN MATERIA COMESTIBLE
Achicoria	<i>Cichorium intybus</i>	<i>Asteraceae</i>	Raíz	Inulina	16 – 20
Topinambur	<i>Heliantus tuberosus</i>	<i>Asteraceae</i>	Tubérculo	Inulina	15 – 20
Yacón	<i>Smallanthus sonchifolius</i>	<i>Asteraceae</i>	Raíz	FOS	9 – 19
Ajo	<i>Allium sativus</i>	<i>Liliaceae</i>	Bulbo	Inulina	9 – 11
Cebolla	<i>Allium cepa</i>	<i>Liliaceae</i>	Bulbo	Inulina	2 – 6
Espárrago	<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Liliaceae</i>	Turión	Inulina	2 – 3
Trigo	<i>Triticum durum</i>	<i>Poaceae</i>	Grano	Inulina	1 – 6
Plátano	<i>Musa spp</i>	<i>Musaceae</i>	Fruto	Inulina	0.3 – 0.7

Fuente: Valderrama & Manrique, 2003.

Industrialmente la inulina se extrae, en agua caliente, de la raíz de la achicoria (*Cichorium intybus*), en la actualidad se han buscado fuentes alternas de inulina, los FOS son extraídos por hidrólisis de la inulina mediante una endo-inulasa o por síntesis, partiendo de sacarosa por medio de la fructosiltransferasa de origen fúngico (Bornet, 2001).

La diferencia en el grado de polimerización se manifiesta en sus propiedades tanto físicas como químicas. La inulina prácticamente carece de sabor dulce pero por su capacidad para formar geles se usa como excelente reemplazante de grasas en una gran variedad de productos como yoghurts, helados, quesos, panes, bebidas, etc. (Franco, 2006).

Dado que nuestro organismo carece de las enzimas digestivas necesarias para la hidrólisis de los fructanos como la inulina y los FOS, estos polímeros entran en la definición de fibra dietética, la inulina es considerada fibra insoluble por no poseer la capacidad de solubilizarse en agua. Tanto los FOS como la inulina viajan a través del sistema digestivo sin sufrir prácticamente alteración alguna hasta llegar al intestino grueso, donde la microflora presente en el colon (principalmente bifidobacterias) las utiliza como sustrato

fermentativo, dando como resultado diversos beneficios. En su acción como fibra, la inulina y los FOS reducen la absorción de metabolitos tóxicos; disminuyen el estreñimiento por acelerar el tránsito intestinal, no alteran el índice glicémico ni las reservas de glucógeno; tienen efectos benéficos en el tratamiento de diabetes; disminuyen la presión arterial en personas hipertensas, reducen la concentración de lipoproteínas de baja densidad y disminuyen la concentración de colesterol y triglicéridos en sangre; mejoran la absorción de minerales como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , etc. y previene el cáncer de colon (Vargas, 2009).

La inulina posee propiedades conferidas por su estructura, las más representativas se enlistan a continuación:

- A. Valor calórico: Posee un bajo aporte calórico debido a sus enlaces  $\beta(2-1)$  que no son degradados por las enzimas digestivas, como se mencionó anteriormente, por tanto no son metabolizados. La energía deriva de su fermentación, produce ácidos grasos de cadena corta y lactatos que al ser metabolizados producen 1.5 cal/g. Se considera un edulcorante sinérgico al mezclarse con otros edulcorantes sintéticos (Sánchez, 2009).
- B. Estimulación de la microbiota benéfica: Al ser un polímero resistente al proceso digestivo se considera un oligosacárido no digerible. Las bacterias estimuladas por la inulina producen ácidos grasos de cadena corta que disminuyen el pH intestinal y generan sustancias antibacteriales, haciendo del intestino un lugar no apto para bacterias no deseadas (como *Clostridium ssp.* y *E. coli*) así como algunas enzimas que generan problemas de salud (Solís, 2009).
- C. Reducción de los niveles de colesterol: El papel de los ácidos grasos de cadena corta en la reducción del colesterol se ha demostrado recientemente. En este sentido la razón de acetato/propionato es de vital importancia. El acetato se conoce como un precursor del colesterol donde se ha encontrado que los propionatos son inhibidores de la síntesis de colesterol hepático. La razón de acetato/propionato resulta de la fermentación de inulina y favorece la disminución de colesterol.

- D. Absorción de minerales: Estudios en humanos y animales muestran un incremento significativo en la absorción de calcio y magnesio, la reducción de pH del colon generada por el incremento de la actividad en las bifidobacterias resulta en una mayor solubilidad del calcio y del magnesio.
- E. Producción de vitaminas del complejo B: Las bifidobacterias producen y excretan vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, ácido nicotínico y ácido fólico (Solís, 2009).

## 2.2. Parámetros clínicos para la determinación del estado nutricional.

El diagnóstico de la DEP debe derivarse de una historia y evaluación clínica completas, en donde se incluya la antropometría, la detección de los signos y síntomas propios de la DEP y de las deficiencias nutricias asociadas, la historia dietética, así como las características sociales, culturales y de comportamiento y actitud de los adultos responsables del niño (Casanueva, 2001).

La evaluación clínica básica de un paciente con DEP, sobre todo en los casos más graves, debe comprender además del examen físico, los siguientes indicadores: Temperatura corporal, frecuencia cardiaca y respiratoria, pulso, tensión arterial, radiografías de tórax, abdomen y huesos largos, biometría hemática completa con plaquetas, química sanguínea, proteínas totales, albúmina (Tabla 5), electrolitos séricos (sodio, potasio, calcio y magnesio), análisis general de orina, urocultivo, coproparasitoscópico, coprocultivo, patrón de evacuaciones (características y número) y diuresis.

**Tabla 5. Indicadores de laboratorio para evaluar la desnutrición.**

INDICADOR	NORMAL	DESNUTRICIÓN SEGÚN GÓMEZ		
		LEVE	MODERADA	GRAVE
<b>Proteínas plasmáticas</b>				
Albúmina (g/100mL)	3.8-5.0	2.8-3.5	2.1-2.7	<2.1
Transferrina (mg/100mL)	200-400	150-200	100-150	<100
Proteínas ligadas a retinol (mg/100mL)	3-7	-	-	-
Pre-albúmina (mg/100mL)	20-36	10-15	5-10	<5

INDICADOR	NORMAL	DESNUTRICIÓN SEGÚN GÓMEZ		
		LEVE	MODERADA	GRAVE
Linfocitos (mm <sup>3</sup> )	5000-7000	1200-2000	800-1200	<800

Fuente: Casanueva, 2001.

### 2.1.2 Las proteínas plasmáticas como indicadores bioquímicos.

La determinación del contenido de proteínas totales sirve como referencia para el diagnóstico de diferentes enfermedades debido a que son susceptibles a cambios. Aunque la determinación de dichas proteínas proporciona información acerca del estado general del paciente con relación a su nutrición en algunas enfermedades orgánicas graves (como en los estados de pérdida de proteínas), otras fracciones dan mayor información clínicamente útil. Los niveles séricos de dichas fracciones se ven afectados por las variaciones en la síntesis, la degradación y la distribución que se presentan en la desnutrición crónica (Patiño, 2006). Dentro de las fracciones mayormente estudiadas de estas proteínas se encuentran las siguientes:

- Albúmina: es la más abundante del plasma, representa el 50 % del total de proteínas plasmáticas. Transporta numerosas sustancias (aminoácidos, ácidos grasos, enzimas, drogas, hormonas tiroideas y productos tóxicos). También es responsable del control del equilibrio de líquidos entre los compartimentos intravascular y extravascular del organismo, manteniendo la presión coloidosmótica del plasma (la presión osmótica del plasma es la suma de 2 presiones: la oncótica y la hidrostática que es la presión del agua).
  - Aumento: en deshidratación
  - Disminución: enfermedad renal, enfermedad hepática, infección crónica, neoplasias, hemorragias, inanición, desnutrición.
- α-1-antitripsina: neutraliza las enzimas proteolíticas serínicas como la tripsina (derivadas de leucocitos, del pulmón, páncreas y otros órganos) y plasmina.
  - Aumento: en reacciones inflamatorias.

- Disminución: en enfermedades pulmonares (enfisema).
- ↻  $\alpha$ -1-glicoproteína: compuestos formados por proteínas y polisacáridos que se encuentran en tejidos y secreciones mucosas. Cumplen gran variedad de funciones.
- ↻  $\alpha$ -2-macroglobulina: inhibe proteasas, como la tripsina, plasmina y las calicreínas.
  - Aumento: síndrome nefrótico, enfisema, diabetes, síndrome de Down, embarazo.
  - Disminución: artritis reumatoidea, mieloma.
- ↻ Haptoglobina: proteína fijadora de hemoglobina. Los complejos haptoglobina-hemoglobina conservan los depósitos de hierro del organismo para su reutilización.
  - Aumento: inflamación, neoplasias, infarto de miocardio, enfermedad de Hodgkin.
  - Disminución: enfermedad hepática, anemia hemolítica y megaloblástica.
- ↻ Eritropoyetina: hormona esencial para la eritropoyesis normal.
  - Aumento: anemia, hipoxia.
  - Disminución: enfermedad renal y enfermedades autoinmunes.
- ↻ Transferrina: Es una glicoproteína transportadora de hierro, sintetizada y metabolizada principalmente en los hepatocitos. Existen modificaciones en la estructura molecular de la transferrina que le confieren su microheterogeneidad, presentando diversas isoformas. Estas isoformas, han sido diferenciadas como consecuencias de tres tipos de variaciones :
  - Secuencia de aminoácidos de la cadena polipeptídica correspondientes a su polimorfismo genético.
  - Composición de la cadena de hidratos de carbono.
  - Grado de saturación de hierro.

Puede producirse variaciones en su concentración debido a:

- Aumento: anemias ferropénicas.
- Disminución: enfermedad hepática, nefrosis, neoplasias.

- ↻ β-lipoproteínas: transporta colesterol, fosfolípidos y hormonas.
  - Aumento: en nefrosis, hiperlipidemias.
  - Disminución: inanición.
- ↻ C3 y C4: son componentes de la vía del complemento (sistema complejo formado por 9 proteínas séricas que actúan en las reacciones inflamatorias).
  - Disminución: etapas activas de enfermedades inmunes (Lupus, diabetes tipo 1, anemia hemolítica)
- ↻ Hemopexina: proteína sérica específica transportadora del hemo.
  - Aumento: inflamación, neoplasias, infarto de miocardio, enfermedad de Hodgkin.
  - Disminución: enfermedad hepática, anemia hemolítica y megaloblástica.
- ↻ Inmunoglobulinas: se conocen hasta el presente 5 clases (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE).
  - Aumento: hipergamaglobulinemia, enfermedades hepáticas, infecciones crónicas, Lupus sistémico, mieloma múltiple, linfoma.
  - Disminución: edad avanzada, leucemia linfocítica crónica, enfermedad de cadenas livianas, gammaglobulinemias, hipogammaglobulinemia.
- ↻ Transtiretina: transporta vitamina A, proteína ligada al retinol, T3 y T4. La proteína de transtiretina es producida en el hígado, y es una mutación de esta proteína la que causa la amiloidosis familiar. Hay otras proteínas con mutaciones que pueden causar amiloidosis familiar. Migra como prealbúmina en el proteinograma.
- ↻ Prealbúmina: glicoproteína sintetizada en el hígado, que ejerce poca influencia sobre el patrón normal de electroforesis debido a su baja concentración. Tiene una vida media corta (dos días) esto la hace un indicador sensible de algunos cambios que afectan su síntesis y catabolismo. Es la transportadora de aproximadamente un tercio de la hormona tiroidea activa. Su concentración normal es de 17 a 42 mg/dL. Disminuye: en los ingresos energéticos restringidos, enfermedades hepatobiliares, inflamación aguda.
  - La medición en suero de la prealbúmina es útil en las siguientes condiciones:



- Índice para evaluar la desnutrición energético-proteínica.
- Indicador de la respuesta a la terapia durante la alimentación parenteral.
- Marcador bioquímica de la adecuada nutrición en prematuros.
- Índice de función hepática.
- Indicador adicional de inflamación aguda (Garrido, 2006).

### 2.3. Proteínas plasmáticas.

La sangre es un tejido que circula dentro de un sistema virtualmente cerrado, el de los vasos sanguíneos. Se encuentra compuesta por elementos sólidos: eritrocitos, leucocitos y plaquetas, suspendidos en un medio líquido, el plasma, que puede definirse como el líquido claro y ligeramente amarillento que se obtiene después de sedimentar, mediante centrifugación, los elementos formes de la sangre no coagulada. El plasma contiene 10% de los solutos, de los cuales una gran parte son proteínas (7 g/dL), también contiene aproximadamente un 0.9% de sales inorgánicas, y el 2% restante lo constituyen diversos compuestos orgánicos no proteínicos (urea, aminoácidos, bilirrubina, creatinina, ácido úrico, hidratos de carbono, colesterol, fosfoglicéridos, etc.).

El intervalo de concentración de las proteínas plasmáticas en los seres humanos adultos está comprendido entre 5.7 y 8 g/dL. La separación electroforética de las proteínas plasmáticas genera cinco fracciones principales: *albúmina*, que constituye el 54-58% del total de las proteínas, las  $\alpha_1$ -globulinas que son del 6-7%, las  $\alpha_2$ -globulinas que corresponden del 8-9%, las  $\beta$ -globulinas son el 13-14%, y  $\gamma$ -globulinas incumben al 11-12% del total de proteínas. Cada una de las fracciones de globulinas están formadas por más de un tipo de proteína cuyas movilidades electroforéticas coinciden (Garrido, 2006).

En la actualidad se han aislado y caracterizado alrededor de 100 proteínas, sin embargo las funciones de una gran parte de ellas permanecen aún desconocidas.

Las proteínas purificadas difieren en su movilidad electroforética y peso molecular, también son muy diferentes por su composición química; algunas contienen lípidos

(lipoproteínas), otras metales (transferrina, ceruloplasmina). La mayoría son glicoproteínas, presentando en algunos casos variaciones genéticas.

Un gran número de las proteínas conocidas tiene microheterogeneidad, esto es debido en general a la cantidad variable de ácido siálico y en menor proporción a la sustitución de aminoácidos en la cadena polipeptídica (Brandan, 2008).

**Tabla 6. Clasificación de proteínas plasmáticas.**

<b>Grupos o sistemas de proteínas</b>	<b>Total</b>
Inmunoglobulinas	5
Sistema complemento	19
Sistema de coagulación y fibrinólisis	16
Inhibidores de las proteinasas	13
Sistema de lipoproteínas	
Apolipoproteínas	14
Proteínas involucradas en el metabolismo lipoprotéico	5
Proteínas de transporte	12
Proteínas de función desconocida	16
Enzimas y otras proteínas	>10

Fuente: Brandan, 2008.

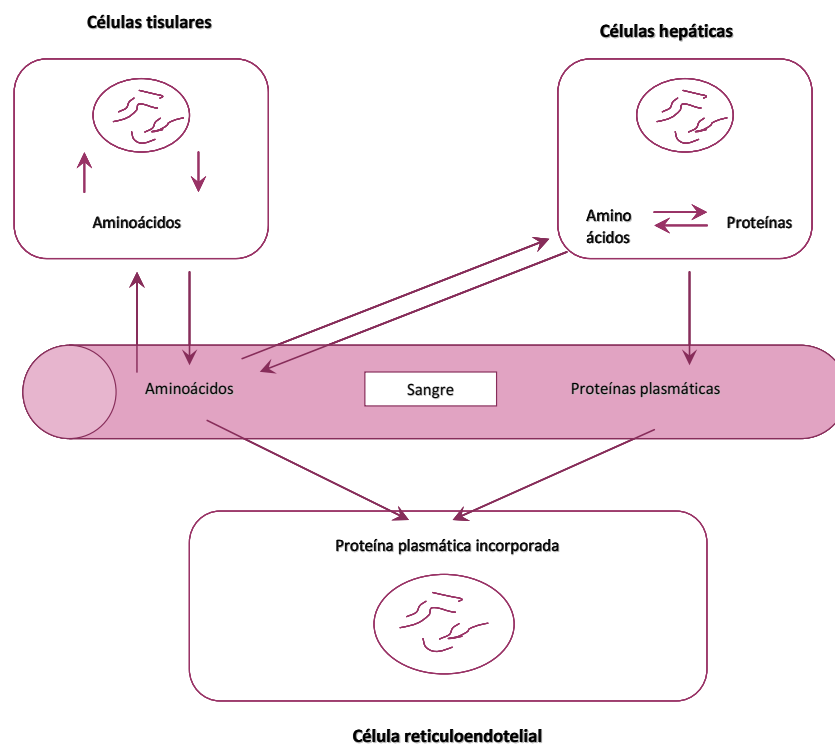
La mayoría de las proteínas plasmáticas son sintetizadas en el hígado, algunas otras se sintetizan en tejidos linfáticos (gammaglobulinas, constituyen los anticuerpos). La velocidad de síntesis hepática de proteínas plasmáticas puede alcanzar extremos de 30 g/día. Ciertos estados patológicos comportan una pérdida rápida de proteínas. La producción hepática rápida de proteínas plasmáticas puede evitar la muerte en ciertas circunstancias.

Cuando los tejidos quedan sin proteínas plasmáticas pueden actuar como fuente para una reposición rápida. De hecho, los macrófagos tisulares pueden captar proteínas plasmáticas enteras mediante pinocitosis; una vez dentro de la célula, se escinden en aminoácidos, que son transportados de nuevo a la sangre y utilizados por todo el organismo para construir proteínas celulares en donde se necesiten. De esta manera, las proteínas plasmáticas funcionan como medio lábil de almacenamiento de proteínas y representan una fuente rápida de aminoácidos para los tejidos que los necesiten.

Entre las proteínas plasmáticas, los aminoácidos del plasma y las proteínas tisulares existe un estado constante de equilibrio, como se muestra en la Figura 3. Se ha calculado que diariamente se sintetizan y descomponen unos 400 gramos de proteínas corporales como parte del flujo continuo de aminoácidos. Este hecho demuestra el principio general del intercambio reversible de aminoácidos entre las diferentes proteínas del cuerpo. Incluso durante la inanición o las enfermedades debilitantes graves, la relación entre todas las proteínas tisulares y plasmáticas permanece relativamente constante.

Debido a este equilibrio reversible entre las proteínas plasmáticas y el resto de proteínas del organismo, uno de los tratamientos más eficaces de la carencia proteínica aguda y grave es la transfusión intravenosa de proteínas plasmáticas. Al cabo de unos días, o incluso de horas, los aminoácidos de la proteína administrada se distribuyen por todas las células del organismo para formar nuevas proteínas en donde son necesarias (Guyton & Hall, 2006).

**Figura 3. Equilibrio reversible entre las proteínas tisulares, las proteínas plasmáticas y los aminoácidos plasmáticos.**



Fuente: Guyton & Hall, 2006.

### 2.3.1. Albúmina: Parámetro bioquímico en la Desnutrición Energético-Proteínica.

La proteína más abundante en el plasma normal es la albúmina, que habitualmente constituye hasta los dos tercios de las proteínas totales del plasma. Por esta razón, las depresiones del nivel de albúmina debidas a un deterioro de la síntesis o a pérdidas (por ejemplo, ascitis, nefropatía o enteropatía con pérdida de proteínas) da por resultado un grave desequilibrio de la presión oncótica intravascular. Ésta pérdida se manifiesta clínicamente por el desarrollo de edema periférico (Casanueva, 2001).

El hígado tiene la capacidad de sintetizar aproximadamente 120 mg/kg de albúmina por día. Cuando la albúmina sérica baja, ya sea debido a una pérdida o una dilución, la tasa de síntesis puede ser casi doblado. Las enfermedades inflamatorias crónicas, las enteropatías con pérdida de proteínas, la enfermedad renal con albuminuria y la desnutrición pueden ser causas superpuestas de hipoalbuminemia (Henry, 1993).

La albúmina se usa constantemente como una herramienta bioquímica, al ser una proteína de transporte es la principal responsable de la presión oncótica coloide del plasma. En la inanición crónica no complicada, las concentraciones de albúmina se mantienen casi normales debido a la disminución del espacio extravascular al intravascular. Sin embargo, en el estrés agudo los niveles de albúmina con frecuencia disminuyen dramáticamente como respuesta al aumento de la degradación, a disminución de la síntesis con uso preferencial de los aminoácidos para la producción de proteínas de fase aguda y al aumento de la permeabilidad vascular con redistribución de la albúmina a los espacios extravasculares.

### 2.3.2. Albúmina: Principios de análisis.

La albúmina es una proteína globular que posee las siguientes características:

- 1) La albúmina es la principal proteína del suero humano normal.
- 2) Es soluble en sulfato de amonio 2,03 M a 23 °C, a valores de pH mayores de 6 y cuando se dializa con agua destilada.

- 3) Está libre de hidratos de carbono.
- 4) Su migración en un campo electroforético es de - 6 unidades Tiselius de movilidad en buffer barbital (fuerza iónica 0,1, pH 8,6), donde una unidad de movilidad es de  $10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{seg}^{-1}$ .
- 5) El peso molecular es aproximadamente 66.000 daltons y sedimenta a una velocidad de 4,5 s (Peters, 1970).

Las primeras técnicas para el análisis de albúmina se basan en la precipitación ácida o salina de la proteína (Peters, 1970). A través de los años se han desarrollado diversas técnicas para la determinación de esta proteína, entre ellos se incluyen análisis electroforéticos, determinaciones espectrofotométricas, técnicas inmunológicas e incluso la precipitación de las proteínas.

La manera más frecuente de determinar la albúmina consiste en su capacidad de fijar colorantes, como el azul de bromofenol, después de haber sido separada de las globulinas por precipitación de estas últimas o por corriente eléctrica (electroforesis). El método de bromocresol fue recomendado por la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AACC) en 1972. En este procedimiento la absorbancia del verde de bromocresol fijado por la albúmina se mide a 628 nm en buffer succinato 0,075 M a pH 4,2. A las soluciones de buffer y de verde de bromocresol se les añade Brij-35, un detergente no iónico, a fin de reducir la absorbancia del blanco, prevenir la turbidez y proveer linealidad. En el método de estandarización publicado por la AACC se emplea seroalbúmina humana, fracción V de Cohn (HSA-V), pero también se ha utilizado seroalbúmina bovina, Fracción V de Cohn. Esta reacción coloreada se puede seguir como punto final o con blancos, como reacciones rápidas de 60 segundos. La técnica del verde de bromocresol es el ensayo de fijación más a menudo utilizado (98.4% de laboratorios participantes en una encuesta del CNP informaron el uso de verde de bromocresol para la medición de albúmina) (Kaplan, 1992).

## **OBJETIVO GENERAL**

- ∞ Determinar el contenido de proteínas plasmáticas en ratas jóvenes desnutridas y recuperadas con dietas a dos niveles de inclusión de inulina.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

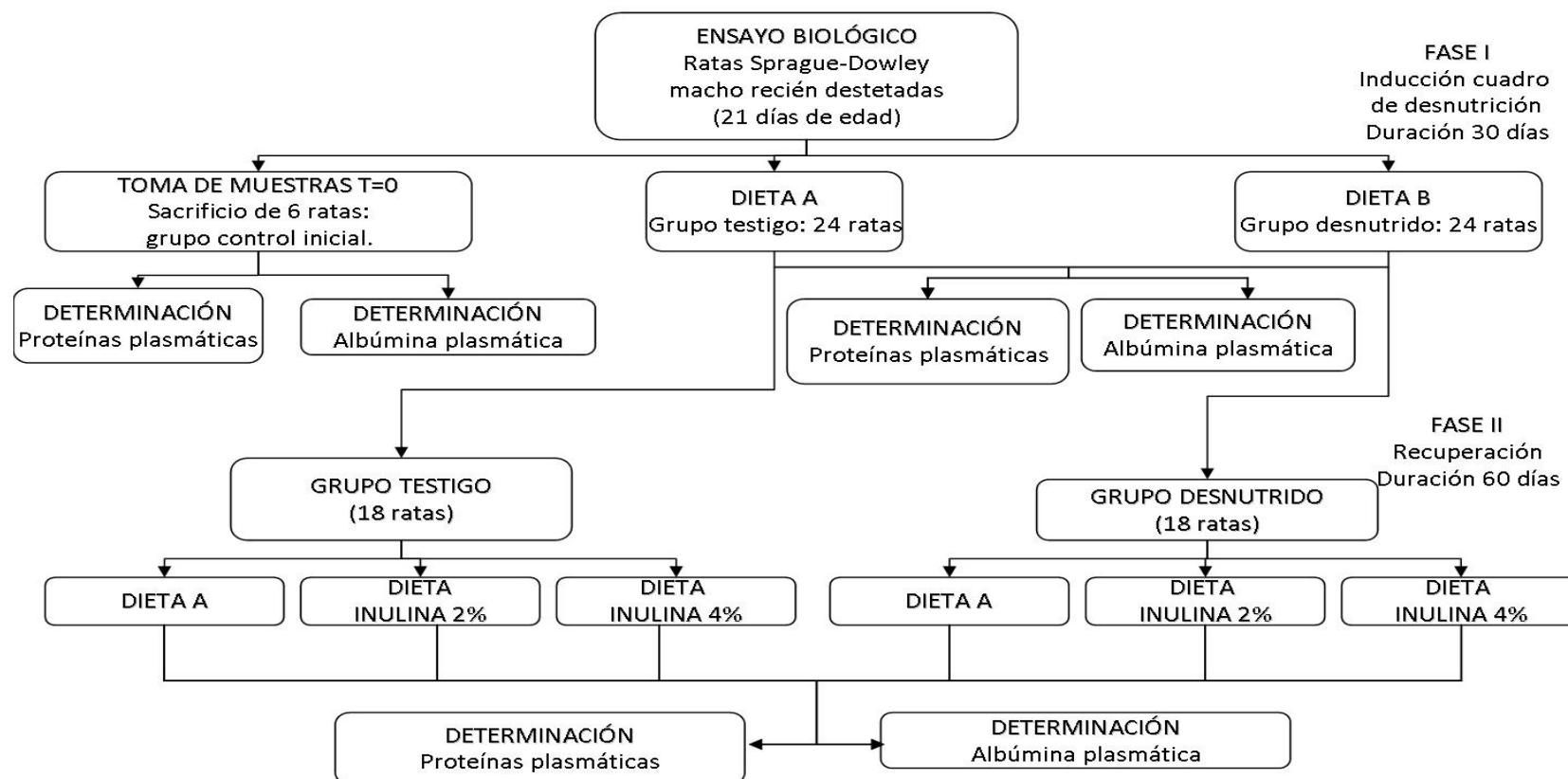
- ∞ Desarrollar un cuadro de desnutrición grave Kwashiorkor en ratas Sprague Dowley recién destetadas con una dieta de bajo valor proteínico.
- ∞ Medir la concentración de proteínas plasmáticas totales y albúmina plasmática como parámetro bioquímico de desnutrición.
- ∞ Evaluar la concentración de proteína plasmática después de 60 días de recuperación en animales desnutridos.
- ∞ Evaluar el efecto del contenido de inulina en las dietas de recuperación de animales desnutridos sobre la concentración de proteínas plasmáticas totales y de albúmina plasmática.

## **CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.**

### 3.1 Diagrama general de trabajo.

El estudio se llevo a cabo con dos grupos de animales (desnutrido y testigo) en dos fases. La Fase I corresponde al desarrollo del cuadro de desnutrición, cuyo periodo de duración es de 30 días. La fase II corresponde al periodo de recuperación de los animales desnutridos, en esta etapa se administraron en la dieta dos concentraciones de inulina: 2% y 4%; por un lapso de 60 días. La Figura 4 muestra el diagrama general de la parte experimental.

Figura 4. Diagrama general de trabajo.





### 3.2 Ensayo biológico.

Se utilizaron 60 ratas Sprague-Dowley macho, recién destetadas de 21 días de nacidas. Se sacrificó un lote de 6 animales al inicio del ensayo biológico y se obtuvo el plasma. Los animales restantes se dividieron en 2 lotes, fueron colocados en jaulas individuales y fueron alimentados por un periodo de 30 días con las dietas respectivas (Dieta A para el grupo testigo y Dieta B para el grupo desnutrido). Los animales se mantuvieron en condiciones adecuadas como fue: iluminación 12 horas de oscuridad con 12 horas de luz artificial; humedad relativa de 30 – 50 %, temperatura de  $23 \pm 2$  °C, libre de ruidos y olores desagradables con intercambio de aire y con alimento y agua *ad libitum*.

#### 3.2.1 Dietas.

Las dietas seleccionadas para el periodos de desnutrición de los animales fueron las propuestas por González-Hernández, *et al.* (2008). Para dicho estudio la dieta utilizada para el grupo de animales testigo fue una dieta con nutrimentos y energía suficientes, a base de caseína y leche en polvo 50:50 (con respecto a la proteína), mientras que el grupo de animales desnutridos se alimentó con una dieta cuya fuente de proteína fue una mezcla de harina de maíz: grenetina: leche en polvo en una proporción 47:43:10 en porcentaje respectivamente.

La composición proximal teórica e ingredientes de las dietas empleadas se presentan en la Tabla 7. La dieta A corresponde a la administrada al grupo testigo y la dieta B, la utilizada para lograr el cuadro de desnutrición kwashiorkor.

Durante la Fase II se utilizó la dieta A como base, excepto en el contenido de celulosa, el cual se modificó para incorporar el porcentaje de inulina a probar: 2 y 4%, las cuales equivalen a las dietas C y E respectivamente. La dieta A fungió como testigo y no se le adicionó inulina. De esta manera se mantuvieron las dietas isoenergéticas e isoproteínicas. La composición de las dietas utilizadas en el periodo de recuperación se muestra en la Tabla 8. Todas las dietas fueron almacenadas en refrigeración.

La selección de los niveles de inulina se realizó considerando que los cuadros de desnutrición grave están asociados con infecciones gastrointestinales y la baja absorción de nutrientes debido al daño en las vellosidades del borde de cepillo y aumento en la permeabilidad intestinal (Lagrutta, F., 1995; Kerac, *et al*, 2009). Se consideró que de acuerdo con Gibson *et al* en 1995, se relacionaron altos niveles de prebióticos con dolores abdominales agudos e inflamación abdominal. Dado lo anterior, se propuso manejar dos niveles bajos de inulina (2 y 4%).

**Tabla 7. Composición de las dietas empleadas en la Fase I del ensayo biológico (g/Kg).**

INGREDIENTE	DIETA A	DIETA B
Caseína (89.2% prot) <sup>1</sup>	84.3	-
Leche en polvo <sup>2</sup>	285.2	49.7
Harina de maíz <sup>3</sup>	-	641.8
Grenetina <sup>4</sup>	-	56.7
Sacarosa	159.6	35.8
Dextrosa	181.4	39.8
Dextrina <sup>5</sup>	137.8	30.9
Manteca vegetal <sup>6</sup>	36.4	57.7
Aceite de maíz <sup>7</sup>	27.3	42.8
Celulosa <sup>8</sup>	45.9	-
Mezcla de vitaminas <sup>9</sup>	20.0	20.0
Mezcla de minerales <sup>10</sup>	22.1	24.8
<b>ANÁLISIS COMPOSICIONAL</b>		
Proteína	150.0	130.0
Extracto etéreo	140.0	140.0
Cenizas	60.0	40.0
Fibra	60.0	80.0
Hidratos de carbono	590.0	590.0
Energía (MJ/Kg)	17.7	17.3

<sup>1</sup> ICN Pharmaceutical 901293. <sup>2</sup> Nido® <sup>3</sup> Maseca® <sup>4</sup> Knox® <sup>5</sup> Maizena® <sup>6</sup> Inca® <sup>7</sup> Mazola® <sup>8</sup> Sigma <sup>9</sup> ICN Pharmaceutical 904654. <sup>10</sup> Mezcla Roger-Harper, ICN 902842.

Tabla 8. Composición de las dietas empleadas en la Fase II del ensayo biológico (g/Kg).

INGREDIENTE	DIETA A	DIETA C	DIETA E
Inulina de achicoria <sup>1</sup>	-	20.0	40.0
Caseína (89.2% prot) <sup>2</sup>	84.3	84.3	84.3
Leche en polvo <sup>3</sup>	285.2	285.2	285.2
Harina de maíz <sup>4</sup>	-	-	-
Grenetina <sup>5</sup>	-	-	-
Sacarosa	159.6	159.6	159.6
Dextrosa	181.4	181.4	181.4
Dextrina <sup>6</sup>	137.8	137.8	137.8
Manteca vegetal <sup>7</sup>	36.4	36.4	36.4
Aceite de maíz <sup>8</sup>	27.3	27.3	27.3
Celulosa <sup>9</sup>	45.9	25.9	5.9
Mezcla de vitaminas <sup>10</sup>	20.0	20.0	20.0
Mezcla de minerales <sup>11</sup>	22.1	22.1	22.1
<b>ANÁLISIS COMPOSICIONAL</b>			
Proteína	150.0	150.0	150.0
Extracto etéreo	140.0	140.0	140.0
Cenizas	60.0	60.0	60.0
Fibra	60.0	60.0	60.0
Hidratos de carbono	590.0	590.0	590.0
Energía (MJ/Kg)	17.7	17.7	17.7

<sup>1</sup> América Alimentos <sup>2</sup> ICN Pharmaceutical 901293. <sup>3</sup> Nido® <sup>4</sup> Maseca® <sup>5</sup> Knox® <sup>6</sup> Maizena® <sup>7</sup> Inca® <sup>8</sup> Mazola® <sup>9</sup> Sigma <sup>10</sup> ICN Pharmaceutical 904654. <sup>11</sup> Mezcla Roger-Harper, ICN 902842.

### 3.2.2 Ensayo biológico.

Se trabajó con dos grupos de animales, testigo y desnutrido, durante la Fase I del experimento; se alimentó a cada grupo con la dieta correspondiente. Durante la Fase II estos dos grupos se subdividieron de manera aleatoria utilizando el método de culebra japonesa y distribuyendo a los diferentes grupos como se describe a continuación:

Tabla 9 Distribución de animales y dietas en la Fase I y II del experimento.

GRUPO	DIETA EN LA FASE I	DIETA EN LA FASE II
<b>GRUPO TESTIGO</b>		
<b>T (6 animales)</b>	Testigo	-
<b>TA (6 animales)</b>	Dieta A	Dieta A
<b>TC (6 animales)</b>	Dieta A	Dieta C Inulina al 2%
<b>TE (6 animales)</b>	Dieta A	Dieta E Inulina al 4%
<b>GRUPO DESNUTRIDO</b>		
<b>K (6 animales)</b>	Testigo	-
<b>KA (6 animales)</b>	Dieta B	Dieta A
<b>KC (6 animales)</b>	Dieta B	Dieta C Inulina al 2%
<b>KE (6 animales)</b>	Dieta B	Dieta E Inulina al 4%

DONDE T: Grupo Testigo; TA: Grupo testigo alimentado con la Dieta A durante la Fase II; TC: Grupo testigo alimentado con la Dieta C durante la Fase II; TE: Grupo testigo alimentado con la Dieta E durante la Fase II; K: Grupo desnutrido; KA: Grupo desnutrido alimentado con la Dieta A durante la Fase II; KC: Grupo desnutrido alimentado con la Dieta C durante la Fase II; KE: Grupo desnutrido alimentado con la Dieta E durante la Fase II.

La Fase I del experimento constó de 30 días en los que se pretendió alcanzar un estado de desnutrición grave kwashiorkor para utilizarla en la segunda fase. De esta manera siguió un periodo de recuperación que constó de 60 días para evaluar si se lograba la recuperación de los animales así como la modificación en la concentración de las proteínas plasmáticas en las mismas.

El manejo de los animales se realizó siguiendo el protocolo de Uso y Cuidado de Animales del Bioterio del Conjunto E de la Facultad de Química.

Al término de cada Fase se realizó la obtención de muestras, de esta manera al finalizar la Fase I (30 días) se sacrificaron los grupos T y K correspondientes a los testigos para determinar si se había logrado el estado de desnutrición. El resto de los animales se sacrifico al término del bioensayo (90 días).

### 3.2.3 Muestras biológicas.

#### **Material y equipo.**

- Equipo de disección
- Tubos de centrífuga cónico de 15 mL con tapa
- Tubos ependorff
- Matraz aforado de 50 mL
- Balanza analítica Sartorius Modelo A210P
- Centrífuga Eppendorf 5702
- Ultracongelador marca REVCO

#### **Reactivos.**

- Citrato de sodio dihidratado.
- Ácido cítrico anhidro
- Dextrosa

#### **Preparación de las disoluciones.**

- Disolución de citrato-ácido cítrico y dextrosa (CAD). Se disolvieron 2.2 g de citrato de sodio dihidratado, 2.45 g de dextrosa y 0.73 g de ácido cítrico anhidro en agua destilada, se colocaron en un matraz aforado de 100 mL y se llevó al aforo.

Los animales fueron anestesiados en cámara de CO<sub>2</sub> hasta alcanzar su inconsciencia por inhalación del gas la cual fue determinada en el momento en el que los animales presentaron desmayo y frecuencia cardiaca disminuida, posteriormente se realizó una incisión en la vena yugular para obtener la sangre, la cual se recibió en un tubo de centrífuga con disolución CAD como anticoagulante. El plasma se obtuvo después de centrifugar las muestras a 2000 rpm por un periodo de tiempo de 10 min., se almacenó a -50 °C para su análisis posterior.

### 3.2.4 Cuantificación de proteína plasmática por el método de Lowry.

**Fundamento:**

El complejo proteína-Cu<sup>2+</sup> se hace reaccionar con el reactivo de-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 fosofmolíbdico/fosfotúngstico a azul de heteropolibmolibdeno de composición no definida, por medio de la tirosina y el triptófano.

**Material y equipo:**

- Vórtex (Mistral Lab-line, Instruments Inc. Mod. 1192)
- Balanza analítica (Sartorius Analytic)
- Espectrofotómetro Genesys 10 UV Scanning.
- Pipetas automáticas de 50-200 µL, 200-1000 µL y 1-5 mL
- Pipetas graduadas 1,2,5,10 mL
- Tubos de ensaye de 13 x 100 y 16 x 150 mL
- Homogeneizador con pistilo de vidrio
- Tubos ependorff
- Propipeta
- Cronómetro
- Gradilla
- Espátula
- Piseta
- Matraz volumétrico aforado de 5, 10, 100 y 1000 mL
- Vasos de precipitados de 10, 50 y 100 mL
- Probeta de 10 y 100 mL

**Reactivos.**

- Albúmina Sérica Bovina (ASB) (Sigma A4503)
- Hidroxido de sodio R.A.
- Tartrato disódico dihidratado R.A.
- Carbonato de sodio
- Sulfato de cobre pentahidratado
- Reactivo comercial de Folín-Ciocalteu (Sigma F9252)

**Preparación de las disoluciones.**

- Disolución estándar de ASB (1mg/mL). Se pesaron 10.43 mg de ASB ya que se encontraba a una pureza de 95.9%; se llevó a un aforo de 10 mL con agua destilada evitando la formación de burbujas. Se almacenó en alícuotas de 1.05 mL a -52 °C.
- Disolución de NaOH 0.8M
- Reactivo A. Se disolvieron 0.2 g de tartrato disódico dihidratado y 1 g de sulfato de cobre pentahidratado en 12.5 mL de NaOH 0.8M, se llevó a un volumen final de 100 mL con agua destilada.
- Reactivo B. Se disolvieron 2 g de tartrato disódico dihidratado y 1 g de sulfato de cobre pentahidratado en 12.5 mL de NaOH 0.8M, se llevó a un volumen final de 100 mL con agua destilada. Se almacenó en un frasco ámbar a una temperatura de 4°C.
- Reactivo mezcla. Se mezclaron 25 volúmenes de la solución de NaOH 0.8M con 18 volúmenes del reactivo A y 2 volúmenes del reactivo B. Fue preparado aproximadamente 5 minutos antes de su uso.
- Reactivo C. Se diluyó un volumen del reactivo comercial de Folín-Ciocalteu con 2 volúmenes de agua destilada aproximadamente de 1.5 a 2.5 minutos antes de su uso.

*Preparación de la curva de calibración.* La solución de ASB (1mg/mL) se diluyó 1:10 en un matraz aforado para obtener una disolución de 100µL/mL. Posteriormente se tomaron alícuotas de 0.4, 0.8, 1.6, 2.4 y 3.2 mL y se llevaron a un volumen final de 4 mL con agua destilada para obtener concentraciones de 10, 20, 40, 60 y 80 µL/mL, respectivamente.

Se tomaron 1.2 mL de cada una de las diluciones preparadas incluyendo la 100µL/mL y se colocaron en tubos de ensaye, a éste se le adicionaron 0.9 mL del reactivo mezcla y se agitaron en vórtex por 10 segundos. Posteriormente se añadieron 0.6 mL del reactivo C, se agitó por 10 segundos en vórtex y se añadieron nuevamente 0.6 mL del reactivo C y se agito por 10 segundos. Se colocaron todos los tubos en incubación a temperatura ambiente en ausencia de luz. Transcurrido dicho tiempo se midieron las absorbancias a una longitud de onda de 750 nm calibrando el espectrofotómetro con el primer punto de la curva.

*Cuantificación del contenido de proteínas plasmáticas totales en la muestra.* Se homogenizo la muestra en un homogeneizador con pistilo de vidrio por cerca de 15 segundos, se tomó una alícuota de 0.25 mL y se aforo con agua destilada a 10 mL, de ésta dilución se tomo 0.5 mL y se llevaron a 10 mL con agua destilada para obtener una dilución final de la muestra de 1:800. Se añadieron 0.9 mL del reactivo mezcla y se agitaron en vórtex por 10 segundos. Posteriormente se adicionaron 0.6 mL del reactivo C, se agitó por 10 segundos en vórtex y se añadieron nuevamente 0.6 mL del reactivo C y se agito por 10 segundos. Se colocaron todos los tubos en incubación a temperatura ambiente en ausencia de luz. A la par se preparó un blanco de reactivos utilizando agua destilada en lugar de muestra, siguiendo el mismo procedimiento. Transcurrido dicho tiempo de midió la absorbancia de las muestras y del blanco a una longitud de onda de 750 nm. Cada muestra se determinó por triplicado.

#### **Cálculos.**

Para la determinación de la concentración de proteína se interpoló en la curva de calibración realizada con ASB. El valor obtenido se multiplicó por el factor de dilución (1:800) y se convirtió de microgramos a miligramos para reportar la concentración de proteína en mg/mL de plasma.



3.2.5 Cuantificación de albúmina plasmática por el método colorimétrico (Verde de Bromocresol VBC).

**Fundamento:**

La albúmina a pH ácido se fija al verde de bromocresol (VBC) produciéndose un cambio de color del indicador de amarillo verdoso a verde azulado, proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra ensayada (Doumas, 1997).

La reacción con VBC se lleva a cabo usualmente a pH 4.2-4.5 y se mide a una longitud de onda de 630 nm.

**Material y equipo.**

- Vórtex (Mistral Lab-line, Instruments Inc. Mod. 1192)
- Balanza analítica (Sartorius Analytic)
- Espectrofotómetro Genesys 10 UV Scanning.
- Pipetas automáticas de 10-100  $\mu$ L, 200-1000  $\mu$ L y 1-5 mL
- Pipeta graduada 1 mL
- Tubos de ensaye de 13 x 100 y 16 x 150 mL
- Tubos ependorff
- Propipeta
- Cronómetro
- Gradilla
- Espátula
- Piseta
- Matraz volumétrico aforado de 100 y 200 mL
- Vasos de precipitados de 10, 50 y 100 mL
- Probeta de 50 y 100 mL

**Reactivos.**

- Albúmina Sérica Bovina (ASB) (Sigma A4503)
- Ácido succínico
- ProClin 200 (antimicrobiano)
- Verde de bromocresol
- Tween 20
- Hidróxido de sodio 0.1 N
- Ácido clorhídrico 0.1 N
- Cloruro de sodio

**Preparación de las disoluciones.**

- Buffer succinato 50 mM, pH=4. Se disolvieron 1.18 g de ácido succínico en 150 mL de agua destilada, se adicionaron 80  $\mu$ L de ProClin 200 (antimicrobiano). Se llevó a un volumen de 200 mL con agua destilada. Finalmente se ajustó el pH=4 y se almacenó a una temperatura de 4 °C.
- Disolución Stock Verde Bromocresol (VBC) 0.3 mM. Se disolvieron 0.0419 g de VBC en 1 mL de NaOH 0.1 N. Se adicionó agua destilada hasta un volumen de 200 mL y se almacenó en frasco ámbar a 4 °C.
- Reactivo para albúmina. Se diluyó un volumen de la disolución stock VBC con tres volúmenes del buffer succinato 50 mM, se le adicionó Tween 20 a una concentración del 0.4%. Finalmente se ajustó el pH a 4.2 y se almacenó protegido de la luz en refrigeración a una temperatura de 4 °C  $\pm$  1 °C.
- Disolución Stock de Albúmina Sérica Bovina (ASB) 0.1 g/mL. Se disolvieron 1.043 g de ASB, debido a que el reactivo tenía 95.9 % de pureza, en 10 mL de agua destilada. Se almacenó en alícuotas de 1.05 mL a una temperatura de -52 °C.
- Disolución de cloruro de sodio 0.9 %. Se disolvieron 0.9 g de cloruro de sodio en 100 mL de agua y se almacenó a 4 °C.

*Preparación de la curva de calibración.* A partir de la disolución stock de ASB se tomaron alícuotas de 0, 100, 300, 500, 800 y 1000  $\mu\text{L}$  y se llevaron a un volumen final de 1000  $\mu\text{L}$  con agua destilada.

Se tomaron 10  $\mu\text{L}$  de cada dilución preparada y se colocaron en tubos de ensaye, se agregaron 4 mL de reactivo para albúmina, se agito en vórtex por 10 segundos y se incubo a temperatura ambiente por un lapso de 5-10 minutos. Transcurrido dicho tiempo se midieron las absorbancias a una longitud de onda de 630 nm ajustando el espectrofotómetro con el primer punto de la curva.

*Cuantificación del contenido de albúmina plasmática en la muestra.* Se homogenizo la muestra en vórtex durante un lapso de un minuto, se tomaron alícuotas directas del plasma de 10  $\mu\text{L}$  y se colocaron por triplicado en tubos de ensaye, se añadieron 4 mL del reactivo para albúmina, se dejaron en incubación por un periodo de tiempo de 5-10 minutos a temperatura ambiente. A la par se realizó un blanco utilizando 10  $\mu\text{L}$  de la muestra y 4 mL de la disolución de cloruro de sodio al 9 %, se realizaron por duplicado. Transcurrido dicho tiempo se midió la absorbancia de las muestras y de los blancos a una longitud de onda de 630 nm.

### **Cálculos.**

Para calcular la concentración de la muestra, se interpoló en la curva de calibración realizada con ASB en la región lineal de acuerdo a la regresión lineal adicional ( $r > 0.9$ ). Se multiplicó por el factor de dilución para reportar la concentración de albúmina en g/mL de plasma.

### 3.3 Análisis estadístico.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) desbalanceado seguido de una prueba de DMS. Se estableció  $p < 0.05$  como diferencia significativa. (Ver Anexo I).

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1 Desarrollo del cuadro de desnutrición grave Kwashiorkor en el lote de estudio correspondiente.

Se alimentaron a dos grupos de animales durante 30 días con dos tipos de dietas distintas, una de las cuales generó un cuadro de desnutrición en uno de los grupos de estudio, el grupo K que fue alimentado con una dieta con proteína de baja conversión y simula las dietas de los niños con Kwashiorkor. El grupo testigo (T) presentó un crecimiento gradual el cual fue seguido periódicamente. Por su parte el grupo desnutrido (K) mostró un desarrollo casi nulo, la relación entre el peso de ambos grupos se puede observar mejor en la Tabla 10.

**Tabla 10. Comparación del peso entre el grupo T y grupo K al final de la Fase I del estudio.**

	Peso inicial (g)	Peso final (g)	$\Delta P$	% de crecimiento con respecto al grupo testigo.
<b>Grupo T</b>	37.5 $\pm$ 1.86	175.80 $\pm$ 5.08	138.3	100
<b>Grupo K</b>	40.0 $\pm$ 1.53	52.18 $\pm$ 2.33	12.18	8.8

La diferencia de masa corporal entre los dos grupos era notoria al final del estudio, al hacer una comparación visual entre los animales de cada grupo se podía distinguir con facilidad cual correspondía a que grupo, los animales pertenecientes al grupo K eran muy pequeños en comparación con los del grupo T en los que se notaba el desarrollo normal.

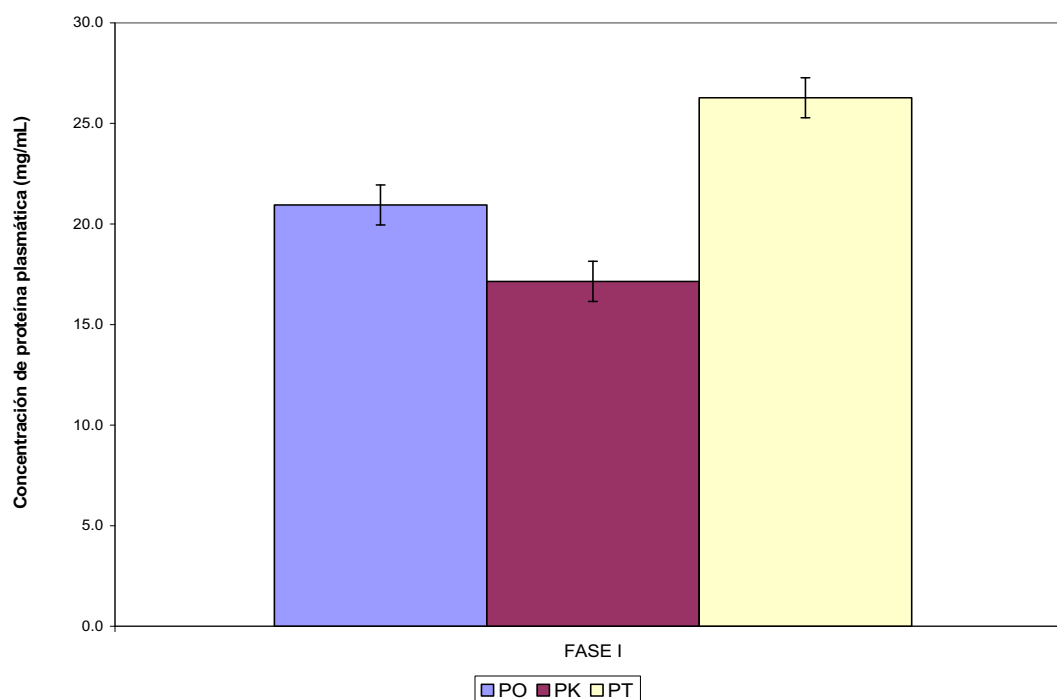
Para determinar que el cuadro de desnutrición se había logrado se realizó la determinación de proteínas plasmáticas totales y albúmina plasmática ya que se considera un parámetro bioquímico para diferenciar el kwashiorkor del marasmo.

El grupo testigo mostró una concentración de proteína plasmática total promedio de 26.28 mg/mL mientras que el grupo desnutrido una de 17.15 mg/mL. Al realizar una

comparación de la concentración de la proteína plasmática al final de la Fase I del estudio con la concentración inicial de proteína plasmática se pudo observar que el aumento de la concentración en el grupo testigo fue gradual manteniéndose dentro de los intervalos normales determinados en rata (Carpenter, 2006). En cambio el grupo desnutrido presentó una disminución significativa en la concentración de proteínas plasmáticas, lo que sugiere que la desnutrición tuvo un efecto sobre dicho parámetro. Es importante mencionar que la escasez de proteínas plasmáticas principalmente de albúmina, se debe a que al ser una proteína de transporte se puede prescindir de ella para generar los aminoácidos necesarios para la sobrevivencia del animal de estudio.

En el Gráfico 1 se puede observar la comparación entre el punto cero del estudio y el final de la Fase I: Desnutrición, en este se puede observar claramente que la concentración de proteínas plasmáticas del grupo testigo y el grupo desnutrido son diferentes, como se esperaba el grupo testigo tuvo una concentración mayor que se mantuvo dentro de los niveles esperados en rata mientras que el grupo desnutrido se encontró por debajo de los niveles establecidos.

**Gráfico 1. Comparación entre el tiempo cero y Fase I: Desnutrición del estudio.**



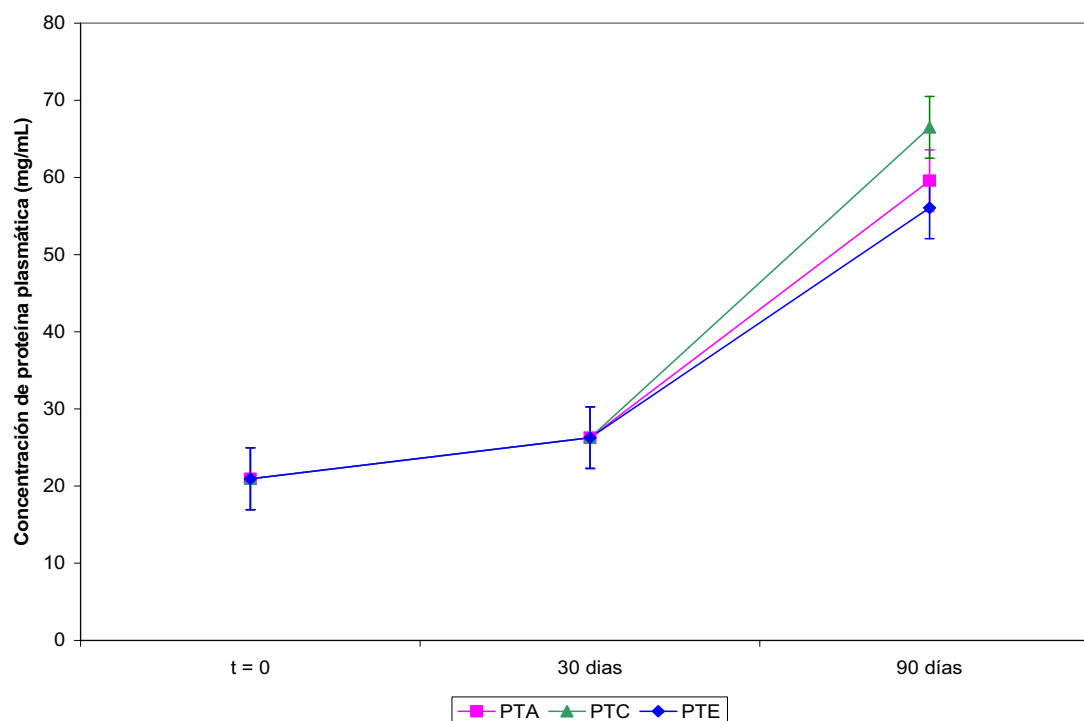
Donde: PO: Tiempo cero del estudio, PK: Grupo desnutrido, PT: Grupo testigo.

#### 4.2 Recuperación de los animales de estudio.

En la Fase II del estudio se observó la recuperación de los animales de estudio, para verificar este proceso se observó el desarrollo del grupo testigo y su comportamiento al suministrarle una dieta igual a la que se le dio al grupo desnutrido, la concentración de proteínas plasmáticas no se vio alterada significativamente, su aumento fue gradual y el esperado al inicio del estudio (Gráfico 2). La comparación entre los tres sub-grupos no muestra diferencia significativa, lo que indica que la inclusión de inulina en diferentes niveles no afecta directamente la concentración de proteína plasmática.

Al observar el comportamiento mostrado en cuanto a la concentración de albúmina plasmática se pudo ver que éste era similar al mostrado con las proteínas plasmáticas totales lo que era de esperarse ya que la albúmina corresponde a cerca del 50% de las proteínas plasmáticas (Gráfico 3).

**Gráfico 2. Concentración de proteínas plasmáticas totales durante el estudio del grupo testigo (PT).**

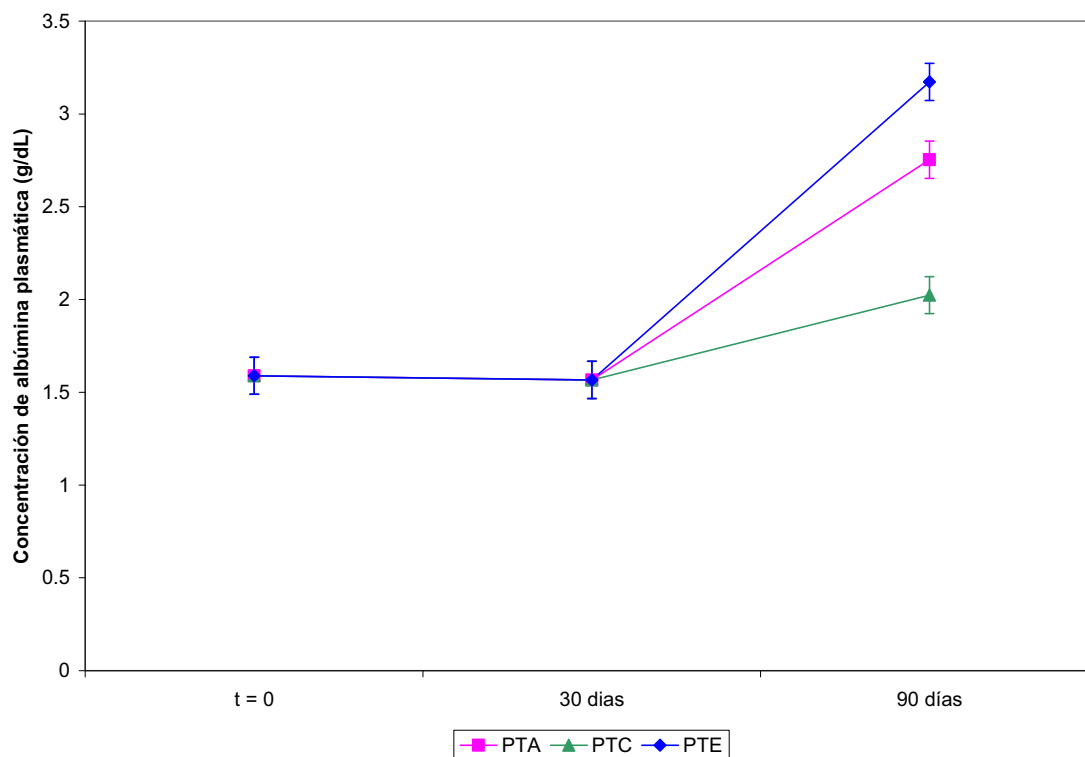


Donde PTA: Grupo con dieta suficiente en nutrientes, PTC: Grupo con dieta con 2% de inulina, PTE: Grupo con dieta con 4% de inulina.

La concentración de proteínas plasmáticas totales del grupo testigo guardan relación con los datos establecidos por Carpenter, 2006, se encuentran en rangos normales. Esto indica que las ratas correspondientes al grupo testigo se encuentran en un buen estado nutricional.

La concentración de albúmina plasmática por su parte se encuentra por debajo de los niveles establecidos por el autor antes mencionado, sin embargo esto no es un indicativo de que los animales de estudio se encuentren en un estado nutricio deficiente ya que estos datos se pueden ver alterados por variables intrínsecas como la edad, el sexo y la cepa del animal de estudio, y principalmente las diferencias entre ambas determinaciones se debe a la sensibilidad del método utilizado, de igual manera las variables extrínsecas como la vida media de las muestras es muy importante en estas determinaciones ya que puede afectar el resultado final del estudio obteniendo con esto datos erróneos en las determinaciones realizadas, aún cuando se tiene a una temperatura de  $-50^{\circ}\text{C}$ .

La baja concentración de albúmina encontrada en estas muestras puede ser causa del tiempo que se mantuvieron almacenadas ya que primero se realizó la determinación a las muestras del grupo desnutrido y posteriormente a las del grupo testigo lo que hace pensar que en este caso la vida media de las muestras alteró las determinaciones realizadas.

**Gráfico 3. Concentración de albúmina plasmática durante el estudio del grupo testigo (PT).**

Donde PTA: Grupo con dieta suficiente en nutrientes, PTC: Grupo con dieta con 2% de inulina, PTE: Grupo con dieta con 4% de inulina.

En el Gráfico 3 se puede observar una diferencia significativa entre los diferentes grupos esto indicó que la adición de inulina modifica la concentración de albúmina en plasma, lo cual sugiere una influencia de la inulina en la absorción de aminoácidos lo cual puede asociarse en un cambio en proteínas de transporte.

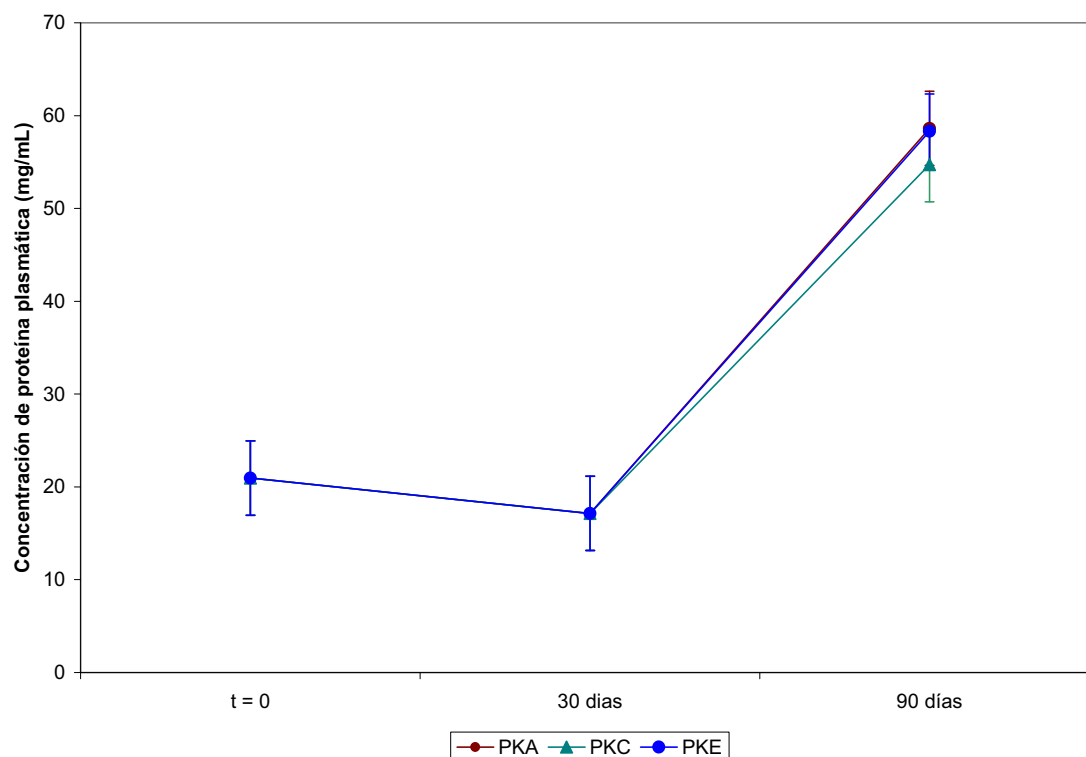
La determinación de la concentración de proteínas plasmáticas durante la Fase II ayudó a verificar el estado nutricional de los sub-grupos desnutridos comparándolos con sus similares del grupo testigo al finalizar el periodo de recuperación de 90 días (Gráfico 4).

La comparación de los diferentes sub-grupos en el grupo desnutrido muestra que no existe diferencia significativa entre ellos lo que sugiere que la adición de inulina en las dietas de recuperación no influye directamente en la concentración de proteínas plasmáticas de los animales de estudio. El sub-grupo PKA que fue alimentado con una dieta que poseía los nutrientes necesarios para su desarrollo muestra una elevación de



la concentración de proteínas plasmáticas a la par con los grupos a los que se les proporcionó una dieta que contenía inulina.

**Gráfico 4. Concentración de proteína plasmática del grupo desnutrido (PK) durante el periodo de estudio.**



Donde PKA: Grupo con dieta suficiente en nutrientes, PKC: Grupo con dieta con 2% de inulina, PKE: Grupo con dieta con 4% de inulina.

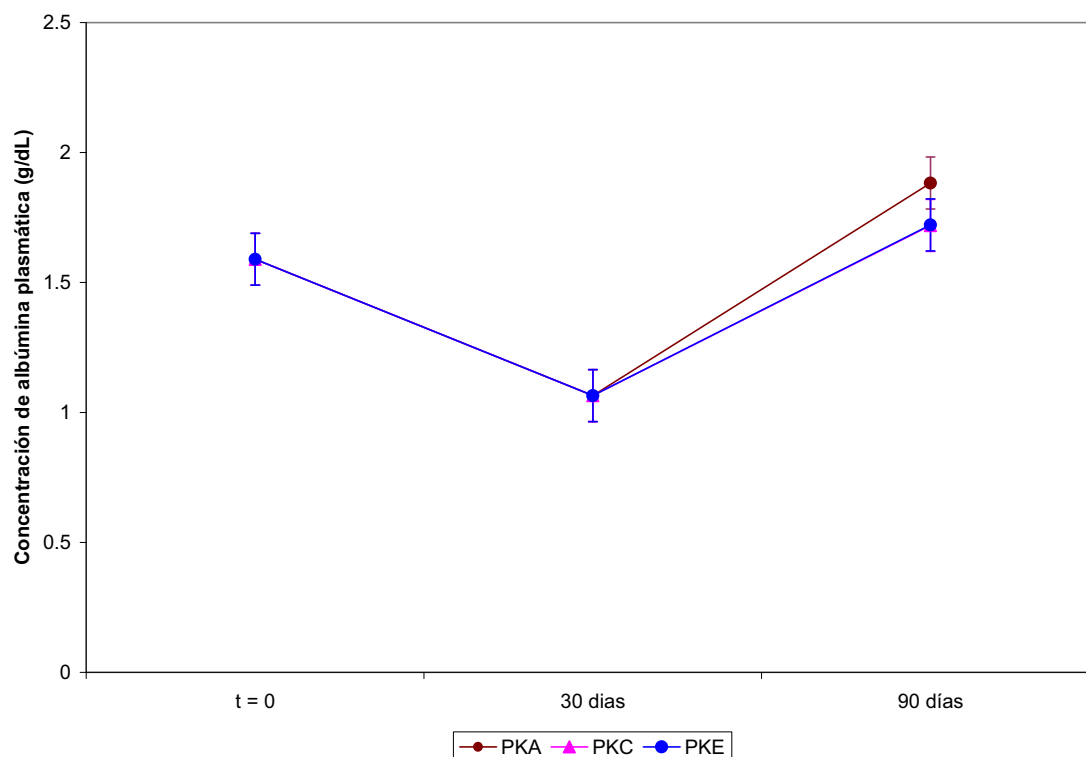
Se puede observar una pequeña disminución en la concentración de las proteínas plasmáticas totales al término de la Fase I (30 días) lo que indica que el proceso de desnutrición se llevó a cabo. Posteriormente durante la Fase II la concentración de proteínas plasmáticas totales aumentó gradualmente hasta alcanzar niveles normales establecidos en Carpenter, 2006. La disminución de la albúmina en el grupo desnutrido se asocia con hígado graso.

En el Gráfico 5 la disminución en la concentración de albúmina plasmática es más notoria, al ser la albúmina una proteína de transporte el organismo prescinde de ella para obtener los aminoácidos necesarios para sobrevivir, debido a esto, cuando un sujeto se encuentra en estado de desnutrición grave, la concentración de albúmina plasmática presente es

menor a lo esperado. Este es un punto clave para determinar que el estado de desnutrición se logró durante la Fase I del estudio.

Durante la Fase II del mismo se puede observar la recuperación de los diferentes subgrupos presentes, los cuales fueron alimentados con dietas a diferentes niveles de inclusión de inulina, la concentración de albúmina en este grupo se reestablece, lo que es un signo de que los animales de estudio se encontraban en recuperación cuando las muestras fueron tomadas, es posible que su recuperación a los 90 días del estudio no fuera completa y debido a esto no presentan los niveles establecidos como normales en la bibliografía.

**Gráfico 5. Concentración de albúmina plasmática del grupo desnutrido (PK) durante el periodo de estudio.**

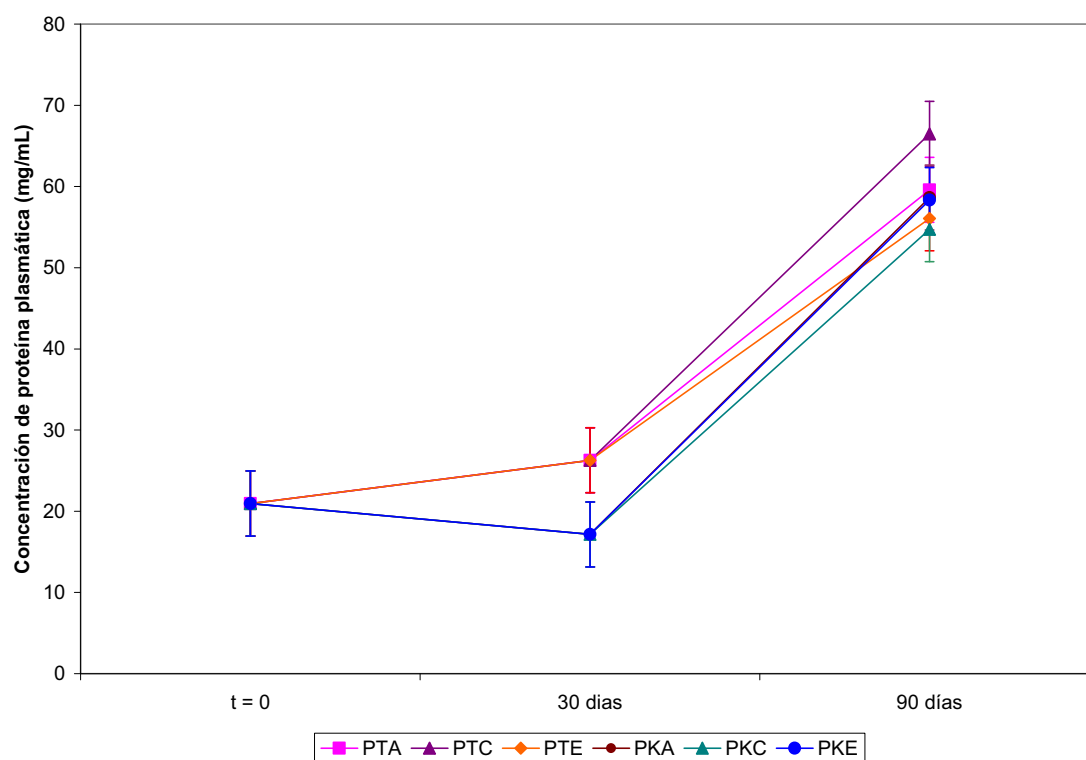


Donde PKA: Grupo con dieta suficiente en nutrimentos, PKC: Grupo con dieta con 2% de inulina, PKE: Grupo con dieta con 4% de inulina.

Al comparar el grupo testigo (PT) con el grupo desnutrido (PK) al final de la Fase I del estudio se puede observar diferencia entre ambos grupos (Gráfico 6), la concentración de

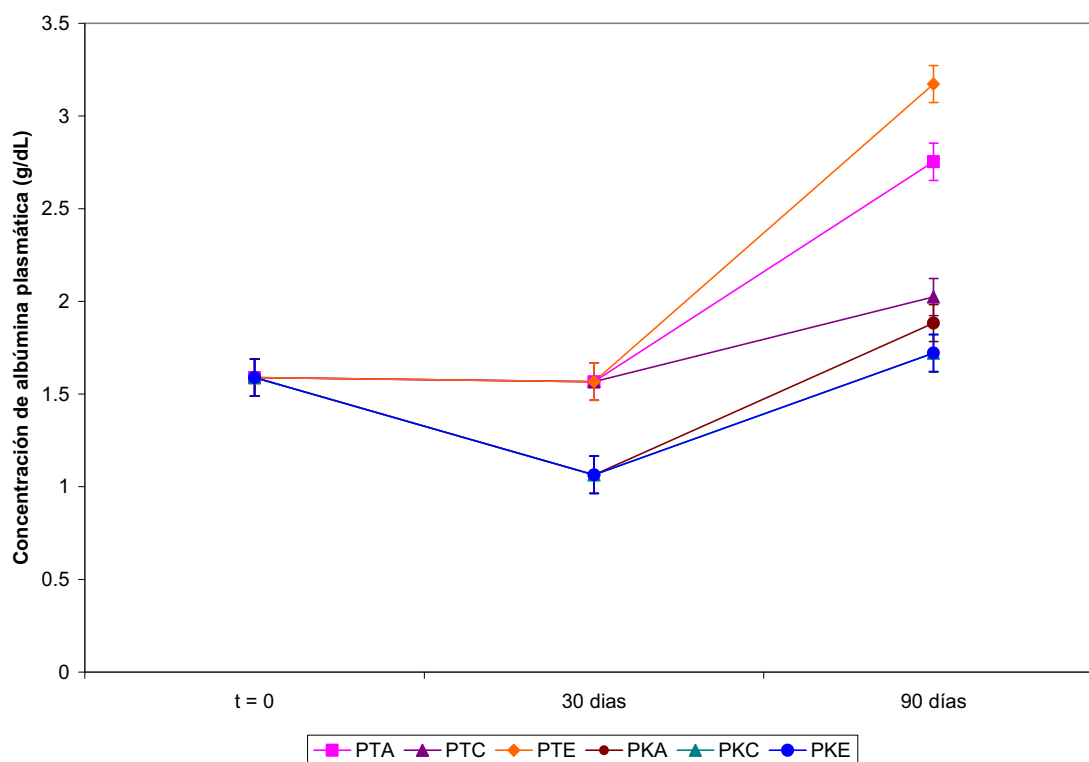
proteínas plasmáticas correspondiente al grupo PT fue superior y presentaba diferencia con el grupo PK, esto confirma que la desnutrición del grupo PK se llevo a cabo. La misma tendencia se observa en la concentración de albúmina plasmática (Gráfico 7) la cual presenta diferencia entre ambos grupos. Al realizar el análisis estadístico se determinó que existía diferencia significativa entre ambos grupos al término de la Fase I del estudio.

**Gráfico 6. Comparación de la concentración de proteínas plasmáticas totales entre el grupo testigo (PT) y el grupo desnutrido (PK) durante el periodo de estudio.**



Donde: PTA: Grupo testigo con dieta suficiente en nutrientes, PTC: Grupo testigo con dieta al 2% de inulina, PTE: Grupo testigo con dieta al 4% de inulina, PKA: Grupo desnutrido con dieta suficiente en nutrientes, PKC: Grupo desnutrido con dieta al 2% de inulina, PKE: Grupo desnutrido con dieta al 4% de inulina.

**Gráfico 7. Comparación de la concentración de albúmina plasmáticas totales entre el grupo testigo (PT) y el grupo desnutrido (PK) durante el periodo de estudio.**



Donde: PTA: Grupo testigo con dieta suficiente en nutrientes, PTC: Grupo testigo con dieta al 2% de inulina, PTE: Grupo testigo con dieta al 4% de inulina, PKA: Grupo desnutrido con dieta suficiente en nutrientes, PKC: Grupo desnutrido con dieta al 2% de inulina, PKE: Grupo desnutrido con dieta al 4% de inulina.

Al término de la Fase II del estudio se pudo observar que la concentración de proteínas plasmáticas presente en ambos grupos fue similar, esto muestra que el grupo PK se recuperó alcanzando una concentración similar de proteínas plasmáticas al grupo PT.

Por su parte la concentración de albúmina plasmática en los sub-grupos PT presentan algunas variaciones, los sub-grupos alimentados con una dieta al 0% y al 4% de inulina (sub-grupos PTA y PTE respectivamente) presentan una concentración más elevada de albúmina en plasma, mientras que el sub-grupo al que se le suministró una dieta que contenía 2% de inulina (PTC) se asemeja más a los sub-grupos PKA, PKC y PKE. La similitud entre estos grupos puede deberse a la recuperación que presentaron los animales de estudio del grupo PK en cualquiera de sus dietas de recuperación. El análisis estadístico de

los datos arroja que no existe diferencia significativa entre ellos lo que sugiere que la recuperación de los animales desnutridos durante la Fase I del estudio se llevo a cabo, hasta una similitud con el sub-grupo PTC.

Este estudio formó parte de un proyecto en donde se evaluaron otros efectos de la inulina entre los que destacan la recuperación de la flora microbiana de animales de estudio con una dieta que poseía 4% de inulina, sin embargo la adición de este prebiótico no altera visiblemente la concentración de proteínas plasmáticas o albúmina plasmática en un periodo de estudio de 90 días.

## **CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.**

Los animales sometidos a desnutrición presentaron una ganancia en peso del 10% con respecto al grupo control.

Se logró desarrollar el cuadro de desnutrición kwashiorkor durante la Fase I del estudio utilizando una dieta de harina de maíz: gernetina: leche en polvo en proporción 47:43:10 respectivamente en el grupo de estudio al que fue suministrada.

En la Fase II del estudio se observó recuperación tanto en ganancia de peso como en los indicadores bioquímicos de los grupos previamente desnutridos en la Fase I alimentados con una dieta caseína: leche en polvo 50:50 en un periodo de estudio de 60 días.

Los diferentes porcentajes de inclusión de inulina no presentan un efecto directo sobre la concentración de proteína plasmática o albúmina plasmática en un periodo de 60 días.

## **CAPÍTULO VII. PERSPECTIVAS.**

Se recomienda profundizar el estudio en otros aspectos tales como la cantidad de tejido adiposo presente en el hígado de los animales ya que esto complementaría la determinación del cuadro de desnutrición, al considerarse otro indicador clásico de la desnutrición kwashiorkor. A su vez, sería conveniente determinar si hay un efecto sobre dicho parámetro al adicionar diferentes niveles de inulina en las dietas de recuperación.

Además, realizar la determinación de glucosa en sangre de los animales en estudio para determinar si la inulina tiene un efecto sobre la concentración de dicho hidrato de carbono. Dado que uno de los efectos más estudiados de la inulina es sobre la concentración de glucosa en sangre, sería recomendable evaluar el efecto de las dietas propuestas en dicho parámetro bioquímico y de esta manera buscar una posible correlación con el contenido de proteínas plasmáticas.

**CAPÍTULO VIII. BIBLIOGRAFÍA.**

- Bartlett, S , R Hart , D Satterthwaite , X De La Barra and A Missair (1999), *Cities for Children*, Earthscan/UNICEF, London/New York.
- Bender, David. A. (1993) "Introducción a la nutrición y el metabolismo", 1ª Edición, Madrid, 187-195.
- Bernard Henry John, (1993) "Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio", Ediciones Científicas y técnicas, 9ª. Edición, Barcelona, 226-236, 242.
- Blackburn George L. (2001), *Pasteur's Quadrant and malnutrition*, Journal of food Science, Macmillan Magazine Ltd, EBSCO Publishing, Vol 409, 397-401.
- Bornet, F. R. J. (2001) *Fructo-oligosacaridos and other fructans: chemistry, structure and nutritional effects*. In *advanced Dietary Fibre Technology*, eds. B. V. McCleary & L. Prosky. Blackwell Science, US, pag. 480.
- Brandan Nora, Llanos Cristina, Barios Ma. Belén, Escalante Marassi Andrea, (2008) "*Proteínas plasmáticas*", Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Medicina, Buenos Aires.
- Carpenter James W., (2006) "Formulario de animals exóticos", 3ª Edición, editorial Intermédica, Buenos Aires, pág. 294.
- Casanueva Esther, Kaufer-Horwitz Martha, Pérez-Lizaur Ana Bertha, Arroyo Pedro, (2001), "*Nutriología médica*", Editorial Panamericana, 2ª Edición, México D. F. 212-238.
- Doumas Basil T. and Peter Theodore, (1997) "Serum and urine albumin: a progress report in their measurement and clinical significance", *Clinica Chimica Acta*, Vol 258, Issue 1.
- Doumas Basil T., Watson Ard and Biggs Homer, (1970) "Albumin standards an the measurement of serum albumin with bromocresol green", *Clinica Chimica Acta*, Vol. 258.
- Franco María Lajolo, Wenzel de Menezes Elizabete, (2006) "*Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos*", 1ª Edición, Sao Paulo, 203.



- Garrido Pertierra Armando, Teinon Rivera José María, Blanco Gaitán Dolores, Villaverde Gutiérrez Carmen, Mendoza Oltras Carlos, Ramírez Rodrigo Jesús, (2006) "*Fundamentos de bioquímica estructural*", 2ª Edición, Editorial Tébar S.L., Madrid, 163-169.
- Gibson, G, Probert, H., Van Loo, J., Rastall, A. and Roberfroid, M. (2004) "Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics", *Nutrition Research Reviews*, 17, 259-275.
- González, Carolina. (2006) "Efecto de la desnutrición energético-proteínica en el contenido de mucosa intestinal y de grasa en hígado en ratas jóvenes" (Tesis de licenciatura, Facultad de Química UNAM, México D.F. ).
- González-Hernández, I., Jung. H., Sotelo, A. (2008) "Effect of malnutrition on the pharmacokinetics of cefuroxime axetil in Young rats". *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 11, 9-21.
- Guyton & Hall. (2006), "*Tratado de fisiología medica*", 11ª Edición, Elsevier Saunders, Madrid, 855.
- Henry John Bernard, (1993), "Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio", Ediciones Científicas y técnicas, 9ª. Edición, , 226-236, 242.
- <http://med.unne.edu.ar/catedras/bioquimica/pdf/proteinas.pdf> (Consultada: 15-Julio-2010)
- <http://www.cepis.ops-oms.org/texcom/nutricion/sedesol.pdf> (Consultada: 13-Septiembre-2010)
- Kerac, M., Bunn, J., Seal, A., Thindwa, M., Tomkins, A., Sadler, K, Bahere, P. and Collins, S., (2009) "Probiotics and prebiotics for severe acute malnutrition (PRONUT study): a doubleblind efficacy randomized controlled trial in Malawi", *The Lancet*, 374:136-144.
- Lagrutta, F., (1995) "Tratamiento nutricio de la desnutrición", En: *Nutrición*, Arnarz, O., Gamboa, J., Escobar, E. y Aparicio, E., (Eds), Editorial Interamericana, México D.F., pág. 121-133.

- Mazza G., (2000) "Alimentos funcionales. Aspectos bioquímicos y de procesado", Editorial Acribia, 1ª Edición, Zaragoza, pag. 401-436.
- Mussatto, S., and Mancilla, I., (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. Carbohydrate Polymers. 68, 587-597.
- Patiño, Restrepo, (2006) "Metabolismo, Nutrición y Shock", Ed. Médica Panamericana, 4ª Edición, Bogotá, 163-171.
- Peters, T., Jr. (1970) The Plasma Proteins, Academic Press, Vol. 1. 2nd edition. New York, 133 .
- Rodríguez Víctor Manuel y Edurne Simón, (2008) "Bases de la alimentación humana", Netbiblo, 1ª Edición, La Coruña, 151-152.
- Sánchez Chinchillas Argelia, (2009) "Efecto de la inulina sobre la flora microbiana en el periodo de recuperación de ratas desnutridas" (Tesis de maestría, Facultad de Química UNAM, México D.F.).
- Shils Maurice E., Olson James A., Shike Moshe y Ross A. Catharine, (2002) "Nutrición en salud y enfermedad", McGraw Hill Interamericana, 9ª Edición, Vol. II, México D.F., 1103-1133.
- Slater, L., Carter, P. M., and Hobbs, J.R. (1975) "Measurement of albumin in the sera of patients", Association of Clinical Biochemist, Vol. 13, 12-33.
- Smith G., Wiedel SE, Fleck A. (1994), Albumin catabolic rate and protein energy depletion. Nutrition vol. 10, 335.
- Smith, L. and Haddad, L. (2000) "Explaining Child Malnutrition in Developing Countries: A Cross-Country Analysis", International Food Policy Research Institute, Washington, D.C.
- Solís Alberto, "Inulina: Un prebiótico natural", (revisión on-line 26-09-2010)  
[http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MA023\\_inulina.pdf](http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MA023_inulina.pdf)
- Valderrama, M. & Manrique, I. (2003) Seminario. "El yacón: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio". Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COLUDE), Lima, 60.

Vargas Vázquez Carla Gabriela, (2009) "Obtención de insumos de interés industrial a partir de las fructanas del agave mezcalero potosino (*Agave salmiana*)" (Tesis de maestría, IPN, México D.F.).

WHO/UNICEF (1990), Innocenti declaration on the protection, promotion and support of breastfeeding. World Health Organization and United Nations Children's Fund, Florence, Italy.

Zúñiga Herrera Elena, (2005), "México, ante los desafíos de desarrollo del milenio", México, Secretaria de gobernación y Consejo Nacional de Población.

**ANEXO I**

**Tabla 11. Resumen de ANOVA, determinación de proteína plasmática total.**

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	VARIANZA	F TEÓRICA	DIFERENCIA	F CALCULADA	CONCLUSIÓN
Entre tratamientos	15938.35	8	1992.29	55.66	>	2.99	Existe diferencia significativa
Dentro tratamientos	1395.91	39	35.79				
Total	17334.24	47	368.81				

**Tabla 12. Resumen DMS, proteína plasmática total.**

		2(SUMA DE CUADRADOS)	RAÍZ
SUMA DE TRATAMIENTOS	15938.35	31876.70	178.54
N	8	5	
T	1.86	2.015	

DMS	41.51	71.95
-----	-------	-------

Tabla 13. Resumen de ANOVA, determinación de albúmina plasmática.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	VARIANZA	F TEÓRICA	DIFERENCIA	F CALCULADA	CONCLUSIÓN
Entre tratamientos	13.86	8	1.73	8.13	>	2.99	Existe diferencia significativa
Dentro tratamientos	8.31	39	0.21				
Total	20.31	47	0.43				

Tabla 12. Resumen DMS, albúmina plasmática.

		2(SUMA DE CUADRADOS)	RAÍZ
SUMA DE TRATAMIENTOS	13.86	27.72	5.26
N	8	5	
T	1.86	2.01	
DMS	1.22	2.12	