

ABSORCION INTESTINAL DE GLUCOSA EN RATAS CON DIVERSOS GRADOS  
DE DESNUTRICION PROTEICA, UTILIZANDO ASAS EVERTIDAS DE YEYUNO

Tesis

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Ciencias Médicas  
de la Universidad de San Carlos de Guatemala

p o r

Angel Guillermo Pezzarossi S.  
en el acto de su investidura de

MEDICO Y CIRUJANO

Guatemala, Noviembre de 1966.

## PLAN DE TESIS

	<u>Pág.</u>
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	3
A.Generalidades	3
B.Teorías sobre los Mecanismos Involucrados en en Transporte Activo de Glucosa	7
C.Desarrollo de Metodología	10
1.Métodos in vivo:	12
a) Fístulas intestinales	12
b) Canulaciones vasculares	12
c) Métodos de Intubación	13
d) Método de balance	13
e) Aislamiento in situ de asas de intestino delgado en animales anestesiados	14
f) Método del doble marcaje	14
2.Métodos in vitro:	15
a)Métodos que emplean intestino no evertido	15
b) Métodos que emplean intestino evertido	16
c)Método de acumulación en anillos de intes- tino	18
III. OBJETIVOS	24
IV. MATERIAL Y METODOS	25
A. Animales de Experimentación	25
B. Composición y Administración de las Dietas Experimentales	25
C. Sistema de Perfusión del Asa Evertida	28
1. Sistema de regulación de temperatura	28
2. Sistema de oxigenación	29
3. Colocación del asa y funcionamiento del sistema	29

	<u>Pag.</u>
4. Verificación del funcionamiento del asa	35
a) Comprobación de la integridad de la pared	36
b) Comprobación de la existencia de transporte activo	36
c) Efecto de diversas concentraciones de glucosa	36
d) Estudios con volumen seroso reducido	37
e) Estudio con glucosa marcada con C <sup>14</sup>	37
D. Determinaciones Bioquímicas y Estudios Histológicos	38
V. DISEÑO EXPERIMENTAL	42
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	47
A. Características de los Animales Experimentales	47
1. Ingesta alimenticia	47
2. Peso	48
3. Proteínas séricas totales	49
4. Histología hepática	51
B. Cambios Intestinales	55
1. Peso	56
2. Contenido de Nitrógeno	56
3. Características histológicas	57
C. Perfusión del Asa Evertida	61
1. Comprobación del funcionamiento del asa	61
2. Estudios de Absorción intestinal	63
a) Estudios con volumen seroso reducido	64
b) Estudio con glucosa marcada con C <sup>14</sup>	65
c) Resultados generales	67
VII. CONCLUSIONES	73
VIII. RECONOCIMIENTOS	76
IX. BIBLIOGRAFIA	78

## INTRODUCCION

En los últimos tiempos bastante se ha insistido respecto al papel decisivo que en el desarrollo de los pueblos tiene la nutrición. Diversos factores, entre los que cabe mencionar la ignorancia y la miseria, hacen que desde las etapas más tempranas de la vida, el niño, tesoro y promesa del futuro de esos pueblos, sea víctima, en la mayoría de los casos, de un insuficiente aporte alimenticio que lo lleva a la mala nutrición. Como consecuencia de ello, temprana o tardíamente, el rendimiento del potencial humano disminuye al punto de constituir un lastre ignominioso al avance de las naciones acorde al concierto mundial. Esto se hace más evidente en pueblos como el nuestro, en los que las deficientes condiciones culturales, socio-económicas e higiénicas constituyen factores decisivos que favorecen el desarrollo de la Malnutrición proteico-calórica (MPC)

Esa misma mala nutrición produce como consecuencia mala absorción. A su vez con cierta frecuencia, procesos que ocasionan absorción deficiente producen mala nutrición y en todo caso ambos procesos se agregan para producir un cuadro final de alteración funcional integral del organismo. En humanos la

MPC produce alteraciones severas en el aparato gastrointestinal (6,11), siendo la función absorptiva, a la cual convergen todas las demás funciones de este sistema orgánico, probablemente la más afectada.

Nada sin embargo, hasta donde tenemos conocimiento, se ha escrito en la literatura mundial respecto a estudios experimentales en animales, efectuados con el fin de establecer una correlación entre el estado nutricional y el proceso de absorción.

Este trabajo trata de contribuir al esclarecimiento de algunas de las múltiples interrogantes existentes al respecto.

---

## ANTECEDENTES

### A. Generalidades

Trabajos previos efectuados en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) en niños con mala nutrición proteico-calórica, indican que existe una íntima relación entre el grado de desnutrición y el tipo de defecto en la absorción intestinal. (31). Este defecto de absorción radica principalmente a nivel del sitio de absorción : La mucosa del intestino delgado. Menos importante resulta ser aparentemente el defecto de secreción enzimática intraluminal.

La mala absorción alimenticia como consecuencia de la desnutrición se evidencia en forma similar para los diferentes elementos nutritivos (carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas, etc), habiéndose observado que los estudios de absorción de carbohidratos y particularmente de glucosa, guardan estrecha relación con el estado nutricional. Se ha visto así, que en niños con MPC, la absorción de D-glucosa es bastante lenta y que a medida que el estado nutricional mejora también mejora aquella, aunque en forma más lenta en relación no solo a la evolución clínica, sino aún a la absorción de otros azúca

res que no requieren consumo de energía como la D-xilosa (31).

En el presente trabajo se ha escogido la absorción de glucosa como representativa de una serie de sustancias muy variadas que atraviesan la mucosa intestinal por medio de un proceso de transporte activo. Influyó en la selección de la sustancia a estudiar, el hecho de que la absorción de azúcares es tal vez la mejor conocida de las funciones de absorción intestinal. De los azúcares comunes únicamente la galactosa y la glucosa se absorben por transporte activo (24, 28, 45, 100, 115), mientras que el resto de los monosacáridos se absorbe por algún otro tipo de transporte mediado o por difusión pasiva (20, 115). Hestrin-Lerner y Schapiro (41), han indicado que en estudios in vitro, una buena parte de la glucosa que desaparece de la luz intestinal, aparece en el lado seroso en forma de un metabolito no identificable, el cual según Wilson y Wiseman (114) podría ser ácido láctico. Kiyasu y Chaikoff sin embargo, han demostrado definitivamente que in vivo, la enorme mayoría de la glucosa aparece en el lado seroso inalterada encontrándose únicamente mínimas cantidades de ácido láctico (46). Lo mismo parece ocurrir en el caso de la galactosa no así con la fructosa, la cual aparece del lado seroso tanto en forma de fructosa como de glu

cosa y de ácido láctico (24,27,46,115). La porción intestinal que tiene la máxima capacidad de absorción de glucosa es el intestino delgado superior (47,69,85), habiendo descubierto Cori en 1925 (14) una alta especificidad del mecanismo de absorción para dicho azúcar. Dicha absorción por transporte activo implica : 1o.) que para que este fenómeno ocurra normalmente, se necesitan reacciones energéticas complejas de la célula las cuales pueden ser inhibidas por anaerobiosis, cianuro, dinitrofenol, malonato y fluoroacetato (24,26,77), sustancias éstas que constituyen venenos celulares por inhibir reacciones de liberación de energía en diversas etapas del metabolismo. 2o.) La glucosa se absorbe en contra de un gradiente osmolar, indicando que la absorción se lleva a cabo por un mecanismo activo de transporte del azúcar (8,15,18,21,100,116). 3o.) Este mecanismo presenta las características de ser saturado una vez se alcanza cierta concentración de glucosa en la luz intestinal, como ha sido demostrado por Cori (14), quien notó velocidades de absorción constantes colocando en la luz intestinal soluciones de glucosa en concentraciones desde el 50 hasta el 80 %. Crane y Wilson (21) han demostrado que la absorción de glucosa y de galactosa por el intestino aislado de ra

ta seguía bastante de cerca las condiciones quinéticas enunciadas por Michäelis - Menten para sistemas enzimáticos puros. 4o.) Crane ha demostrado igualmente que había un efecto inhibidor de la absorción cuando varios azúcares se encontraban en el mismo medio, dando una quinética de inhibición compatible con lo que se conoce como "inhibición competitiva" (16). 5o.) Otra evidencia de peso para la aceptación de que la glucosa se absorbe por transporte activo es que el paso de glucosa del lado seroso hacia el lado mucoso es prácticamente nulo, en contra de lo que ocurre con la pentosa D-xilosa la cual es absorbida por difusión; en este caso, ha sido demostrado (109) que el paso del lado mucoso al seroso y viceversa dependen de la concentración osmolar de D-xilosa en cualquiera de los lados del intestino, llegando al cabo de un tiempo a un equilibrio perfecto, lo que indica que el intestino delgado en estos casos actúa como una membrana semipermeable. 6o.) El hecho de que el transporte de glucosa sea afectado marcadamente por cambios leves de temperatura (115), indica que en el proceso de absorción de este glúcido están involucradas una serie de reacciones enzimáticas, lo que contrasta con los ha -

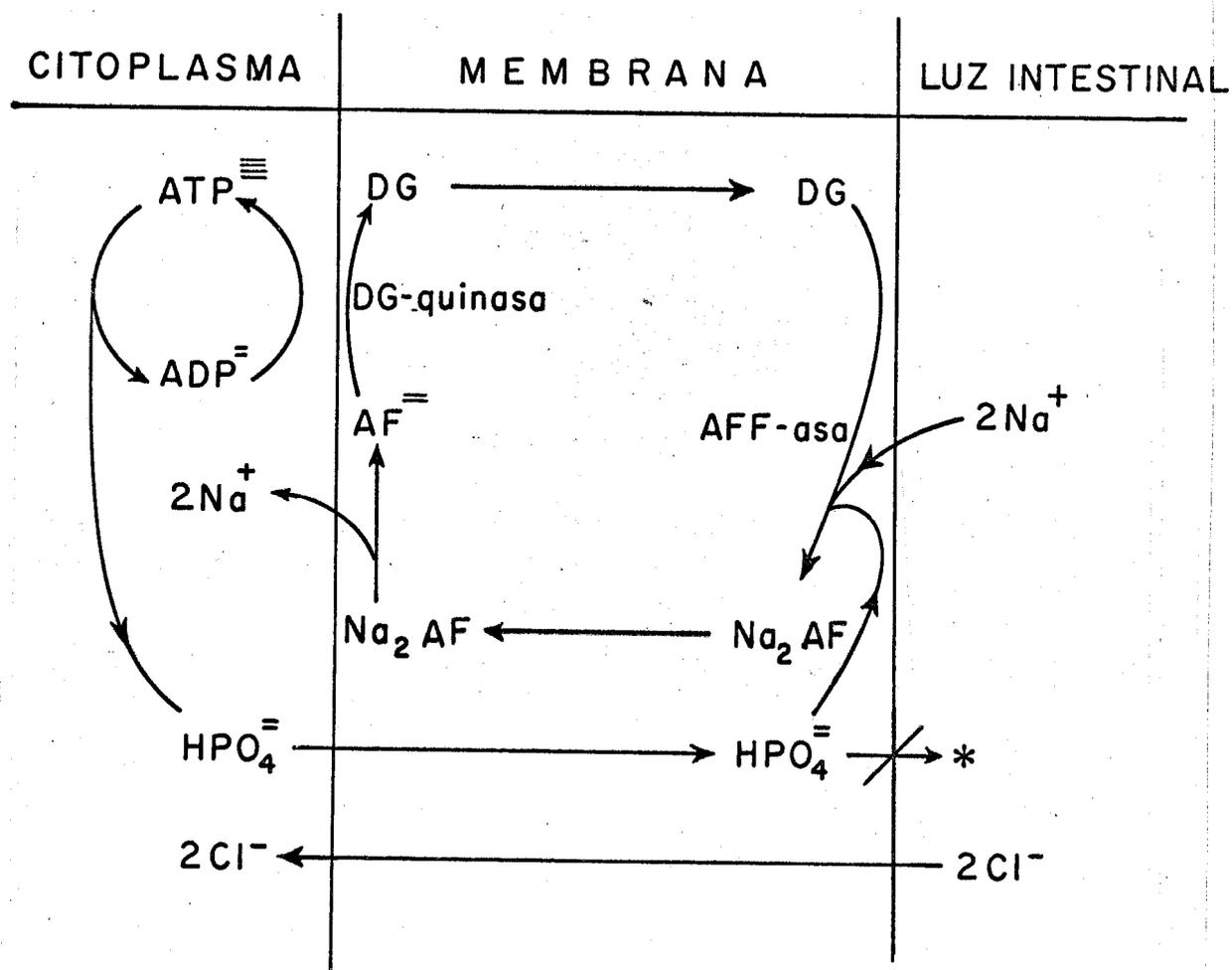
llazgos e investigaciones de la absorción de sustancias que pasan la luz intestinal por medio de difusión, las cuales son poco afectadas por cambios en la temperatura del medio de incubación (109).

#### B. Teorías sobre los Mecanismos Involucrados en el Transporte Activo de Glucosa.

Ha sido demostrado desde hace mucho tiempo que la velocidad de difusión de la mayoría de las sustancias hidrosolubles tales como los glúcidos, es bastante lenta. Por otro lado, la función especial y primordial del intestino delgado es la absorción eficiente y rápida de muchos nutrientes, de donde es imperativo pensar en que se han desarrollado sistemas especiales de transporte, de la luz intestinal hacia el lado seroso y la circulación portal, de sustancias hidrosolubles. En la actualidad los mecanismos de transporte activo se consideran integrados por tres fenómenos distintos (49, 109); el primero es el del vehículo de la membrana; el segundo es la reacción de atrape y el tercero es el de permeabilidad diferencial.

La hipótesis del vehículo de membrana se considera actualmente de gran importancia en la explicación de los mecanismos

de transporte activo. Esta hipótesis postula que una sustancia intracelular se acerca a la superficie luminal de la membrana de la célula intestinal y reacciona con un componente de la membrana propiamente dicha. Este complejo luego toma la sustancia a absorber y se mueve através de una barrera de permeabilidad soltando la sustancia ya del lado interno de la membrana. Hokin y Hokin (42) han mostrado con datos experimentales que la sustancia vehículo de membrana es el ácido fosfatídico, en la absorción activa de sodio. El esquema No.1 muestra una serie de reacciones cíclicas que resultan en la formación de ácido fosfatídico como consecuencia de la diglicérido-quinasa y ATP presentes en la membrana. Dicho ácido acepta dos iones de sodio para formar la sal disódica del ácido fosfatídico. Esta sal se mueve desde la parte exterior hacia la parte interna de la membrana en donde suelta el sodio y un ion fosfato para constituir de nuevo un diglicérido uniéndose a dos ácidos grasos en la fase lípida de la membrana. Este ácido fosfórico liberado, por medio de reacciones exergónicas, puede ser incorporado a una molécula de adenosina-difosfato (ADP) para formar adenosina-trifosfato (ATP) que sirve nuevamente de donador de energía para la conversión inicial de los diglicéridos a ácido fosfatídico por medio de la enzima



ESQUEMA No. 1. Un esquema para la participación del ácido fosfatídico como vehículo de transporte para el transporte activo de iones de sodio a través de la membrana de una célula absorbente de sal.

ATP, trifosfato de adenocina; DG, diglicérido; DG-quinasa, diglicérido-quinasa; AF, ácido fosfatídico; AFF-asa, fosforilasa del ácido fosfatídico; (modificado de Hokin y Hokin: (42))

diglicérido-quinasa. Aunque este mecanismo no ha sido demostrado para la absorción de azúcares, el hecho de que las características de absorción de electrolitos tales como el sodio y de no-electrolitos como la glucosa sean tan similares -salvo por el hecho que ésta es metabolizada en las células, no así los iones como el Na-, sugiere que este mecanismo o uno muy similar puede también actuar en el transporte activo de glucosa. Es interesante notar en este aspecto que Bosačková y Crane (8) y otros (17, 18, 54, 70) han descubierto que la presencia de sodio en el lado mucoso del intestino es necesaria para el transporte de glucosa.

El segundo de estos fenómenos o sea el de atrape (109), se basa en que la entrada de una substancia a través de una membrana se facilita cuando la concentración intracelular de la substancia a ser absorbida disminuye rápidamente. Esto puede lograrse por medio de una reacción la cual convierte a la substancia recientemente transportada a través de la membrana en un complejo no difusible, el cual ya no se opone a la entrada de la substancia libre hacia el interior de la célula, ya que en realidad la concentración osmolar de esta substancia se encuentra marcadamente disminuida por la formación de este nuevo complejo no difusible.

El tercer fenómeno, el de la permeabilidad diferencial (46, 114) consiste en que el lado luminal de la célula es más permeable para un compuesto que el lado seroso de dicha célula. Por otro lado, el lado seroso es más permeable que el lado mucoso para otro tipo de sustancias. Este proceso de permeabilidad diferencial puede ser utilizado para aumentar el transporte de una sustancia que es particularmente permeable al lado luminal de la célula al convertirla en otra que es - más permeable al lado seroso de dicha célula. Por ejemplo se ha propuesto en el caso de la absorción de glucosa, que este mecanismo puede funcionar gracias a la conversión de este azúcar en lactato y piruvato los cuales son preferencialmente permeables al lado seroso ( 46, 114 ).

La teoría antigua de que para la absorción de glucosa era necesaria la conversión de ésta en un compuesto fosforilado ha sido totalmente descartada (49, 50, 74, 109, 118 ,).

### C. Desarrollo de Metodología.

Muchos métodos han sido ideados hasta la fecha con el fin de efectuar estudios experimentales de absorción intestinal. Las primeras observaciones hechas al respecto se efectuaron en

los siglos XVII y XVIII (109) en forma bastante grosera, en las que se apreció el cambio de apariencia de los linfáticos como resultado de la absorción de grasas.

En la revisión histórica hecha por Wilson (109), refiere que en 1854 Jones aisló un segmento de intestino delgado de mapache poniéndolo en un medio que tenía una sal de oxalato del lado seroso y una sal de calcio del lado mucoso. Cuando a parecía un precipitado en la sal de oxalato indicaba que los iones de calcio habían cruzado la pared intestinal. Posteriormente Thiry en 1864 (93) describió por primera vez la preparación de una fístula intestinal en un animal anestesiado con el fin de hacer estudios sobre la fisiología de la absorción.

En 1925, Cori (14) describió en animales pequeños un método más fisiológico para el estudio de la absorción intestinal, como era el de introducir la sustancia a investigar por sonda al aparato digestivo, la cual era luego recuperada del mismo. -

El primer trabajo in vitro en el que se empleó un buen sistema de oxigenación del intestino fué efectuado por Fisher y Parsons en 1949 (30). Ha partir de entonces los métodos utilizados han sido esencialmente los mismos con modificaciones más o menos importantes dependiendo de las finalidades perseguidas por los diferentes autores.

## 1. Métodos in vivo

a) Fístulas intestinales. Se han preparado varios tipos de ellas. La fístula de Thiry (64, 93, 99) consiste en tomar un segmento de intestino unido a su pedículo vascular, al cual se le cierra uno de sus extremos en tanto que el otro se aboca a la piel de la pared abdominal del animal.

Una modificación de la anterior es la fístula de Vella - (109) en la cual ambos extremos del segmento intestinal aislado son abiertos a la pared abdominal. Otra modificación consiste en la fabricación de fístulas múltiples en diferentes regiones del intestino delgado con el fin de estudiar el quimo circulante a diferentes niveles. Poniendo una doble cánula por una de las fístulas y cerrando el intestino con un balón se pueden hacer experimentos de absorción. (56)

b) Canulaciones vasculares (56, 80, 109): empleando animales anestesiados se ha podido canular la vena Porta o el conducto torácico a fin de extraer muestras de sangre o linfa en las que se determina la presencia de sustancias absorbibles - puestas en la alimentación. Algunos incluso han logrado canular venas mesentéricas que drenan un segmento dado del intestino, el cual se ha aislado del resto por pequeñas ligaduras (66, 109).

En pacientes con hipertensión Porta (109) o sin ella (56), en los que hay un considerable desarrollo de vasos colaterales, se ha descrito igualmente el cateterismo de estos vasos, lo cual permite la extracción de sangre a intervalos repetidos durante el proceso de absorción.

c) Métodos de intubación. Cori (14,44), administraba a un animal en ayuno y no anestesiado, un volumen dado de solución dentro del estómago por intubación. Al final del período de experimentación sacrificaba el animal y todo el conjunto gastrointestinal era lavado analizando su contenido.

Estudios de intubación se han efectuado en humanos (13,109) empleando una sonda de triple lumen con un balón inflable en su punta mediante la cual es posible efectuar estudios de absorción de un segmento definido de intestino delgado.

d) Método de balance. (56,109): Se ha empleado especialmente para iones inorgánicos ya que con sustancias orgánicas se tiene el inconveniente de la degradación bacteriana. Se ha efectuado tanto en humanos como en animales y consiste en medir cuidadosamente la ingesta oral y la excreta fecal de determinada sustancia; la diferencia entre ambas medidas indica el grado de absorción indirectamente ya que en realidad lo que se está

midiendo es la excreción. Este método es también empleado como prueba de digestibilidad de nutrientes en animales.

e) Aislamiento in situ de asas de intestino delgado en animales anestesiados (23,79,80 ). Mediante ligaduras in situ se aísla un segmento determinado de intestino delgado en animales bajo anestesia, después de lo cual se inyecta una sustancia que puede permanecer estática o hacerse recircular para averiguar la parte residual no absorbida después de un tiempo determinado.

El método de Sols y Ponz ideado en 1947 (79,80,105) constituye una aplicación del anterior.

f) Método del doble marcaje con sustancias isotópicas (10,51): es un método bastante preciso y consiste en la administración por vía digestiva de la sustancia a estudiar marcada con un isótopo radioactivo inyectando al mismo tiempo por vía endovenosa la sustancia marcada con otro isótopo radioactivo. De esta manera se obtiene la cantidad exacta de la sustancia absorbida al calcular la proporción entre las cantidades de ambos isótopos que se encuentran dentro del organismo.

. 2. Métodos in vitro.

Han sido difundidos ampliamente, siendo el procedimiento más empleado por diversos autores (19, 21, 24, 41, 72, 86, 109, 111, 112, 115 ), algunos de los cuales incluso han efectuado estudios en intestino humano obtenido por operación en casos de gastrectomía (yeyuno) o de colitis ulcerativa (ileon terminal) (57). Básicamente consiste en separar un segmento intestinal que puesto en una solución tampón con la sustancia a estudiar, es incubado por un tiempo determinado.

Los primeros trabajos que se hicieron con intestino aislado se efectuaron sin evertir el intestino. Posteriormente, se introdujo esta modificación, tendiente a mejorar las condiciones de sobrevivencia del mismo.

a) Métodos que emplean intestino no evertido. Hestrin-Lerner y Schapiro (41), idearon un método muy sencillo que consiste en tomar un segmento de intestino, atarlo por un extremo y por el otro se le introduce una solución de la sustancia a estudiar, después de lo cual éste también se cierra; el intestino es puesto entonces en un vaso de precipitación conteniendo una solución idéntica a la que se pone dentro, siendo incubado a 37°C durante 15-30 minutos y en presencia de una mezcla de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (95% y 5% respectivamente).

Método de Fisher y Parsons (29,30): es el primero en el que se efectúa una buena oxigenación de la preparación del intestino, tanto del lado mucoso como del lado seroso. Este sistema fué usado por los autores para estudios de absorción de aminoácidos y azúcares. Darlington y Quastel (24), emplean el mismo principio que el sistema anterior aunque su construcción es más sencilla.

Wiseman (117) ideó un aparato en el que ponía a perfundir tres segmentos intestinales a la vez, oxigenando siempre ambos lados del intestino. Una modificación de éste es el aparato creado por Smyth y Taylor (77), con la diferencia que en este no ponen líquido del lado seroso, con lo que sus estudios los hacen solo con base en el cambio mucoso obtenido.

Recientemente Mansford (57), ha ideado un aparato aplicable a estudios con intestino de cerdo o intestino humano obtenido por operación. Tiene piezas cambiables que permiten adaptarlo a diferentes longitudes de intestino, pudiendo ponerse a funcionar a los tres minutos de removido.

b) Métodos que emplean intestino evertido. Han sido los más empleados últimamente para estudios en diversas especies de animales (7, 86, 87, 88, 89, 111, 115, 116).

Wilson y Wiseman (112), fueron de los primeros en usar intesti-

no evertido para estudios de absorción (1953). Su método es bastante sencillo y con resultados fáciles de reproducir, razón por la que en algunos lugares se le ha empleado en trabajos para la enseñanza de fisiología en escuelas de medicina (111). Básicamente consiste en tomar un segmento de intestino, previo lavado, e inmediatamente después de muerto el animal por golpe en la cabeza. Este segmento (de 3 a 4 cms.) se evierte mediante una cánula y se pone en una caja de Petri conteniendo solución salina a temperatura ambiente. Luego de secado, se ata uno de sus extremos y por el otro mediante una jeringa y aguja se le introduce un volumen determinado de solución tampón después de lo cual aquel también se ata. Esto constituye el volumen seroso inicial. El pequeño saco así formado es puesto entonces en frascos de Warburg o Erlenmeyer de 25 ml. conteniendo 3.0 de la misma solución puesta en el lado seroso. Esto es el volumen mucoso inicial. Es gaseado entonces con una mezcla de 95% de  $O_2$  y 5% de  $CO_2$  y puesto a incubar en baño de maría por una hora a  $37^{\circ} C$  con cerca de 100 oscilaciones por minuto. Este ha sido quizás el método más difundido (65, 86, 87, 88, 89, 113, 115, 116).

Crane y Wilson (21) en 1958 hicieron una modificación muy im-

portante al método anterior, mediante la cual podían obtenerse muestras seriadas de la solución en estudio, tanto del lado mucoso como del lado seroso. Para ello hicieron un aparato muy sencillo, consistente en un tubo de vidrio con un tapón de hule a través del cual pasa una cánula de vidrio y dos agujas. A la porción de la cánula que queda dentro del tubo de vidrio se le ata un extremo del segmento evertido de intestino cuyo extremo libre ha sido cerrado mediante una ligadura. Por una de las agujas se le pasa una corriente de 95% de  $O_2$  y 5% de  $CO_2$  en tanto que la otra sirve para extraer muestras periódicas del lado mucoso. Las muestras serosas son tomadas por el extremo exterior de la cánula, que es por donde se introduce también el volumen deseado de la solución en estudio.

Wilson (110) adoptó algunas de las características del aparato de Fisher y Parsons (30) y del aparato de Darlington y Ouastel (24) con la ventaja del empleo del intestino evertido, que le permitía una mejor oxigenación de su superficie mucosa.

Saltman y Helbock (72) , han hecho estudios de absorción de - hierro marcado in vitro mediante un aparato cuyo principio es el mismo que el de Wilson (110).

c) Método de acumulación en anillos de intestino: Agar, Hird

y Sidhu (1) en aminoácidos, Alvarado (2), Crane y Mandelstam (19) y Crane, Forstner y Eichholz (18) en carbohidratos, han empleado un método bastante sencillo basado en la acumulación tisular de la sustancia a estudiar. Consiste en tomar pequeños anillos de intestino de ratas o hámsters, de 2 a 4 mm de ancho, los cuales son puestos a incubar por el tiempo deseado en un Erlenmeyer conteniendo una solución de la sustancia en estudio y con una corriente de 95% de  $O_2$  y 5% de  $CO_2$ . Después de ello, los segmentos de intestino se extraen y se homogenizan determinando en el homogenizado los niveles de la sustancia estudiada.

Analizaremos someramente los principales métodos de cada grupo, presentados en conjunto: (ver tablas Nos. 1 y 2).

-----

TABLA NO. I

MÉTODOS IN VIVO EMPLEADOS PARA EL ESTUDIO DE FISIOLÓGIA DE LA ABSORCIÓN INTESTINAL

<u>MÉTODO</u>	<u>VENTAJAS</u>	<u>DESVENTAJAS</u>
<p>1. <u>Fistulas</u> (64, 93, 99, 109).</p>	<p>1. Buenas condiciones fisiológicas (80).</p> <p>2. Puede emplearse en estudios repetidos.</p>	<p>1. Pérdida de parte del material estudiado (fistulas abocadas a la piel) por lo que no se presta bien a estudios cuantitativos.</p> <p>2. Difícil preparar suficiente número de animales con fistulas adecuadas (80) ya que puede haber cambios degenerativos de la mucosa en el intervalo entre el momento de preparar la fistula y el momento en que ya puede ser usada (56, 64) además de otros problemas de orden técnico (estenosis, gangrena, etc.) (64).</p>
<p>2. <u>Sangre portal o quilo</u> (56, 66, 80, 109)</p>	<p>1. Medición directa de la sustancia al evitar cambios originados por metabolismo ulterior.</p>	<p>1. Dificultades quirúrgicas (109)</p> <p>2. Es necesario concentrar las sustancias por su dilución (80).</p> <p>3. No se presta bien a estudios cuantitativos (80).</p>
<p>3. <u>Método de intubación</u> (Cori). (14, 44).</p>	<p>1. Más fisiológico (80).</p> <p>2. No necesita anestesia. (14)</p>	<p>1. Los resultados se afectan por:</p> <p>a. Variaciones en la función motora del estómago e intestinos (80).</p> <p>b. Posibilidad de que estómago e intestinos no estén vacíos (80).</p> <p>c. Alteraciones en el estado de la mucosa (56, 101, 102, 104).</p>

TABLA No. 1 (continuación)

<u>METODO</u>	<u>VENTAJAS</u>	<u>DESVENTAJAS</u>
4. <u>Balance</u> (56,109)	1. Necesita muy poco equipo	1. Muy poco preciso y sujeto a muchas causas de error, ya que mide el producto final de los procesos digestivos.
5. <u>Aislamiento de asas in situ (Sols Ponz)</u> (23,79,80)	1. Lavado del asa (80 ) 2. Absorción referida a longitud y peso del asa (80 ). 3. Pueden hacerse estudios en asa abierta o cerrada (80 )	1. Necesita de anestesia (80 ) 2. Manipulación visceral (80.) 3. Mide desaparición mucosa y no absorción real.
6. <u>Doble marcaje</u> (10,51)	1. Exactitud en las determinaciones. 2. Corrige las variaciones producidas por el metabolismo de la substancia.	1. Material costoso. 2. Personal y equipo especializados

TABLA NO.2

MÉTODOS IN VITRO EMPLEADOS PARA EL ESTUDIO DE LA FISIOLÓGIA DE LA ABSORCIÓN INTESTINAL

A. Intestino sin evertir

<u>MÉTODOS</u>	<u>VENTAJAS</u>	<u>DESVENTAJAS</u>
1. <u>Hestrin-Lerner y Schapiro</u> (41)	1. Sencillez	1. Cambios del lado seroso muy difíciles de detectar por el volúmen empleado. 2. No pueden tomarse muestras seriadas.
2. <u>Fisher y Parsons</u> (30) y <u>Darlington y Quastel</u> (24).	1. Mejor oxigenación (30, 109), aunque no es la óptima. 2. Pueden tomarse muestras seriadas de ambos lados.	1. Construcción relativamente complicada.
3. <u>Wiseman</u> (117)	1. Estudios simultáneos en varios segmentos intestinales (77, 117).	1. Requiere el empleo de cantidades apreciables de líquido del lado seroso, en tanto que -en la modificación de Smyth y Taylor (77), no hay líquido del lado seroso con lo cual los estudios se hacen solo en base a cambio mucoso.
4. <u>Mansford</u> (57)	1. Puede hacerse estudios comparativos en humanos.	1. Material de estudio más costoso y difícil de obtener.

B. Intestino evertido

(En general todos tienen buena oxigenación mucosa)

<u>METODO</u>	<u>VENTAJAS</u>	<u>DESVENTAJAS</u>
5. <u>Wilson y Wiseman (112)</u> .	1. Sencillez (114) 2. Reproducibilidad (111)	1. No pueden tomarse muestras seriadas.
6. <u>Crane y Wilson (21)</u>	1. Pueden tomarse muestras seriadas.	1. Extremo inferior libre favorece la movilidad inducida por el gas y contracción muscular, lo que dificulta y hace irregular la absorción.
7. <u>Wilson (110)</u>	1. Buena oxigenación de ambos lados. 2. Circulación serosa permite muestras seriadas más homogéneas.	1. Diversas variables que pueden dificultar su funcionamiento.
8. <u>Saltman y Helbock (72)</u>	1. Sistema unitario hermético.	1. Aparato de fabricación difícil.
9. <u>Agar, Hird y Sidhu (1) y otros (2, 18, 19)</u>	1. Sencillez en funcionamiento.	1. Determinaciones bioquímicas más laboriosas ya que requieren homogenizado previo del segmento intestinal. 2. No pueden tomarse muestras seriadas. 3. No puede estudiarse el gradiente mucoso-seroso.

### OBJETIVOS

Estudiar en intestino de ratas in vitro si tanto en grados diversos de depauperación como de repletación proteica del animal, ocurren cambios en la absorción de glucosa y si estos se correlacionan con alteraciones morfológicas o con el contenido proteico del intestino.

-----

## MATERIAL Y METODOS

### A. Animales de Experimentación.

Se usaron dos lotes de ratas blancas machos de la raza - Sprague-Dowley nacidas para cada lote, en la misma fecha  $\pm$  1 día, las cuales después de 21 días de lactancia materna fueron destetadas y puestas en jaulas con una dieta balanceada (20% de caseína, descrita más adelante), y agua ad libitum durante una semana. A partir de entonces se dividieron en 3 grupos de igual número de ratas, cada uno de los - cuales tenían un promedio de peso similar. El lote 1 consistió de 18 ratas por grupo. El lote 2 de 12 ratas por grupo. (ver diseño experimental).

### B. Composición y administración de las dietas experimentales.

La composición por 5kg de dieta utilizada en los diversos grupos experimentales, es la siguiente:

#### No. 1 20% de caseína

Caseína (libre de vitaminas)*	1,000 gramos
Minerales (Hegsted)* (39)	200 gramos
Alfacel (Harina de celulosa)*	100 gramos

Dextrina (Almidón de maíz)*	3,150 gramos
Aceite de hígado de bacalao <sup>&amp;</sup>	50 ml.
Aceite de Algodón <sup>+</sup>	500 ml.
Solución de vitaminas	250 ml.

No. 2 5% de Caseína

Caseína (libre de vitaminas)*	250 gramos
Minerales (Hegsted)* (39)	200 gramos
Alfacel (Harina de celulosa)*	100 gramos
Dextrina (Almidón de maíz)*	3,900 gramos
Aceite de hígado de bacalao <sup>&amp;</sup>	50 ml.
Aceite de Algodón <sup>+</sup>	500 ml.
Solución de vitaminas	250 ml.

No.3 5% de Maíz

Maíz Amarillo	2,800 gramos
Minerales (Hegsted)* (39)	200 gramos
Dextrina (Almidón de Maíz)*	1,700 gramos
Aceite de hígado de bacalao <sup>&amp;</sup>	50 ml.
Aceite de Algodón <sup>+</sup>	250 ml.
Solución de vitaminas	250 ml.

---

\* Nutritional Biochemicals Corp., Cleveland, Ohio  
 & McKesson Laboratories, Bridgeport, Conn.  
 + Kōng Hermanos. Guatemala, Guatemala.

La solución de vitaminas contenía a su vez, para dos litros de solución, los siguientes elementos:

Clorhidrato de tiamina*	1.2 gramos
Riboflavina, U.S.P.+	1.2 gramos
Acido nicotínico *	2.0 gramos
Pantotenato de calcio D.L.*	4.0 gramos
Clorhidrato de piridoxina*	1.2 gramos
Biotina (cristalina)*	0.004 gramos
Acido Fólico*	0.008 gramos
B <sub>12</sub> (al 0.1%)*	1.2 gramos
Inositol*	16.0 gramos
Cloruro de Colina*	60.0 gramos
Acido para-amino benzoico, U.S.P.*	12.0 gramos
Menadiona*	0.4 gramos
Alcohol a 95°	1,684.0 ml.
Agua destilada, c.s.p.	2,000.0 ml.
Acido acético glacial	2.0 ml.

---

\* Nutritional Biochemicals Corp, Cleveland, Ohio.

+ California Foundation for Biochemical Research. Los Angeles, Calif.

Estas dietas experimentales se administraban a los animales en forma ad libitum, al igual que el agua; 20 a 24 horas antes del sacrificio, se retiró la dieta experimental de las jaulas de las ratas y el agua de bebida se sustituyó por Dextrosa en agua al 10%, la cual se administró también ad libitum. La razón de ello era favorecer la limpieza del intestino para el momento del sacrificio, a la vez de mantenerles una adecuada ingesta calórica con el fin de no producir cambios significativos en los niveles de absorción de D-glucosa como consecuencia de la inanición absoluta, tal como ha sido indicado por diversos autores (14) y comprobado por nosotros (106).

#### C. Sistema de Perfusión del Asa Evertida.

El método de perfusión utilizado fué el descrito por Wilson (110) con ciertas modificaciones como será descrito en detalle (ver figura No.1). El material empleado para este sistema de perfusión fué el siguiente:

1. Sistema de regulación de temperatura: Para esto se utilizaron dos frascos de vidrio, cortados, llenos de agua e intercomunicados por un sistema de bomba recirculante, la cual a su vez tiene un sistema de precisión de temperatura por me-

dio del cual se mantenía el sistema de perfusión a  $38 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Este aparato de bombeo y regulación de temperatura consistió en un aparato marca Precision-Porta-Temp (Precision Scientific Co., Chicago, Ill.).

## 2. Sistema de oxigenación

La oxigenación del asa evertida tanto del lado mucoso como del lado seroso se logró por medio de una bomba de perfusión constante marca Sigma Motor modelo TM-10 (Sigma Motor Inc. Middleport, New York). El gas empleado fué 95% de oxígeno - 5%  $\text{CO}_2$  el cual entraba en el lado mucoso a la velocidad de  $20 \text{ cm}^3$  por minuto y en el lado seroso a  $10 \text{ cm}^3$  por minuto. Con este flujo en el lado seroso y haciendo entrar el gas en el sentido vertical se conseguía también la circulación de la solución serosa.

## 3. Colocación del asa y funcionamiento del sistema.

Minutos antes del sacrificio, se les extraía a las ratas sangre de la cola para la determinación de proteínas séricas. Para esto la rata era envuelta en gasa dejándole fuera la cabeza y la cola únicamente. Esta última se introducía en un recipiente con agua a  $40^{\circ}\text{C}$  aproximadamente, durante 10 minutos -

más o menos con el fin de provocarle vasodilatación que favoreciera la toma de la muestra de sangre (22,71). Luego el animal de experimentación era descerebrado con un golpe en la cabeza, con el fin de mantenerlo vivo pero inconsciente e inmóvil para proceder a aislar y obtener el asa que sería perfundida. Específicamente se evitaba la muerte del animal con el objeto que durante este período de tiempo, tanto el intestino como el hígado mantuvieran una adecuada circulación y oxigenación que les permitiera conservarse hasta el momento de utilizarlos.

Acto seguido se le abría el abdomen en la línea media y se efectuaban los siguientes pasos:

- 1o.) Se tomaba un segmento delgado de hígado y se introducía rápidamente en formalina tampón (53).
- 2o.) Se identificaba el ángulo de Treitz y a 1 o 2 cms. del mismo se tomaba dos segmentos de yeyuno de 1 - 2 cms. de largo cada uno, uno de los cuales se introducía en un frasquito conteniendo solución tampón sin glucosa y el otro era abierto longitudinalmente y puesto sobre un pedazo de papel filtro grueso sobre su lado seroso, el cual se introducía prontamente en formalina tampón a fin de evitar cambios estructurales, visibles al microscopio de luz que sigan a los cambios ultramicroscópicos como los descritos por diversos autores (38,119).
- 3o.) A continuación se tomaba un segmento de yeyuno de apro -

ximadamente 12 cms. de largo (ver fotografía No.1), separándolo cuidadosamente de su mesenterio. En este momento se consideraba muerta la rata y se comenzaba a contar el tiempo que tomaba poner el asa en un medio que mantuviera adecuada integridad, oxigenación, humedad y temperatura. Este medio consistía en una solución tampón compuesta así (48,98):

1.NaCl	0.9%
2.KCl	1.15%
3.CaCl <sub>2</sub>	1.22%
4.KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.11%
5.MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	3.82%
6.NaHCO <sub>3</sub>	1.30% (corriente de gas con 5% de CO <sub>2</sub> por una - hora).

Estas soluciones individuales son entonces mezcladas en la siguiente proporción:

- 100 partes de la solución 1
- 4 partes de la solución 2
- 3 partes de la solución 3
- 1 parte de la solución 4
- 1 parte de la solución 5
- 21 partes de la solución 6

Una vez mezcladas en esta forma no fué necesario volverle a pasar gas como recomienda Umbreit, Burris y Stauffer (98) ya que tenía un pH de 7.4. A la solución así preparada se agregó D-glucosa para obtener una concentración de 0.1%.

Al extraerse el segmento intestinal, era puesto inmediatamente en un vaso de precipitar conteniendo dicha solución a 38-39°C de temperatura. Dicho segmento era lavado con esa misma solución a fin de extraer de su lado mucoso cualquier posible resto alimenticio.

40.) Después de ello, se introducía cuidadosamente a través de su lado mucoso un alambre delgado de acero inoxidable con una pequeña dilatación en su punta, a la cual se ataba el intestino en su porción distal con el fin de evertirlo. Una vez evertido, el extremo libre del intestino se introducía en la cánula superior del sistema (a), (ver figura No.1) la cual previamente se había introducido dentro del tubo de vidrio (b) que se llenaba posteriormente con lo que constituye el medio de perfusión mucoso. Este extremo del intestino era deslizado sobre dicha cánula con un excedente de aproximadamente 1-2 cms. atándolo luego al extremo dilatado de ésta, a fin de evitar que quedara

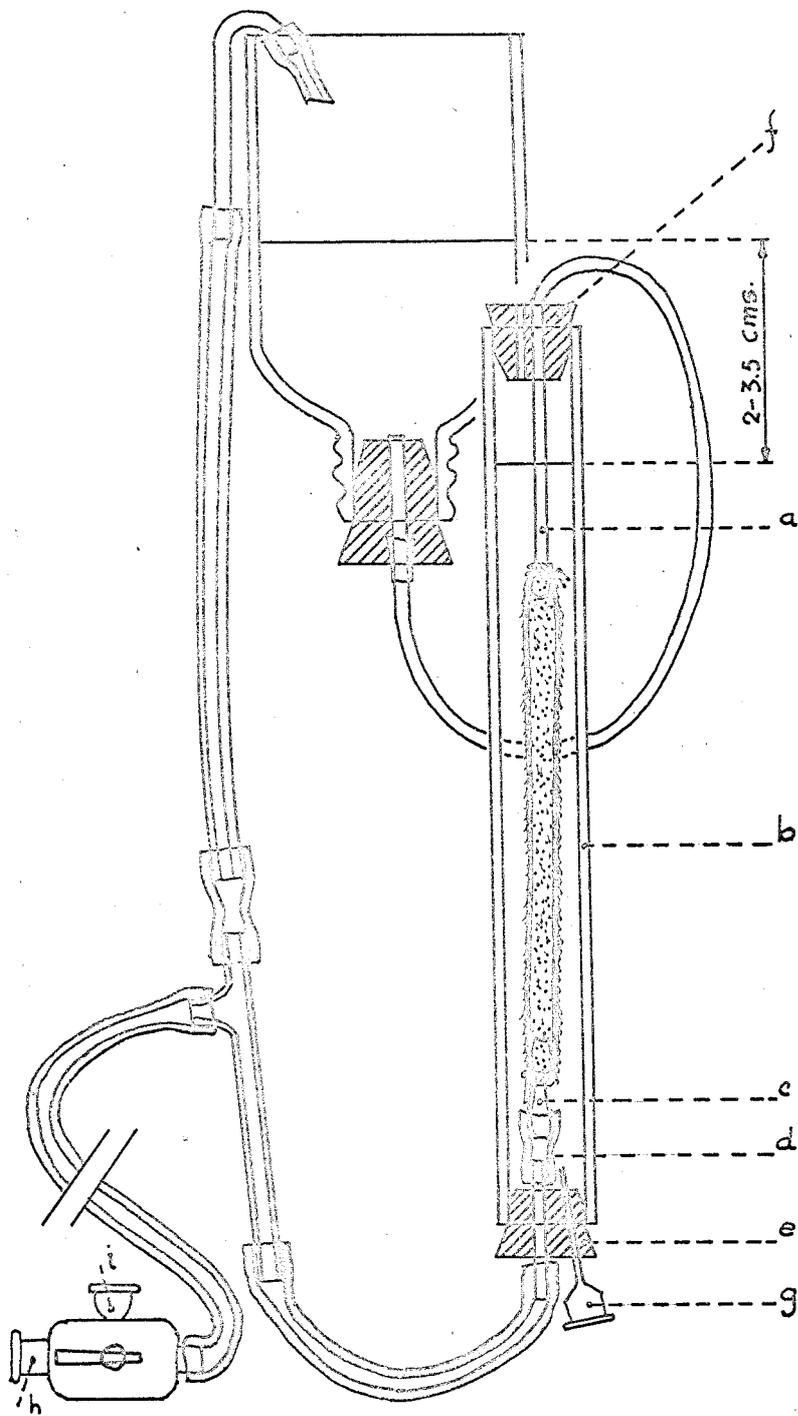


FIGURA N° 1  
 Ver descripción en el texto

como parte funcionante del asa un segmento de intestino que había sido manipulado.

5o.) El extremo del segmento intestinal que había quedado unido al alambre de acero era seccionado y por él se introducía una pequeña conexión de vidrio (c), delgada, de 1-2 cms. de largo con un pequeño estrechamiento en su parte media la cual se hacía avanzar con cuidado 2-3 cms. dentro del asa, sitio en el que ésta se ataba. Las porciones de intestino sobrantes en ambos extremos eran resecaadas. Durante todo este proceso se mantenía el intestino dentro del tampón para evitar que se secase.

6o.) Esta unión de vidrio se introducía entonces en la luz de un pequeño segmento de hule (d) que la conectaba con el sistema de perfusión seroso, que atraviesa un tapón de hule (e), que - dando así separados ambos lados de la pared intestinal.

7o.) La unidad que constituían el intestino con sus conexiones superior e inferior se hacía avanzar entonces dentro del tubo de vidrio (b), evitando que la mucosa rozara sobre sus paredes; luego se aseguraba el tapón (e) en el extremo inferior.

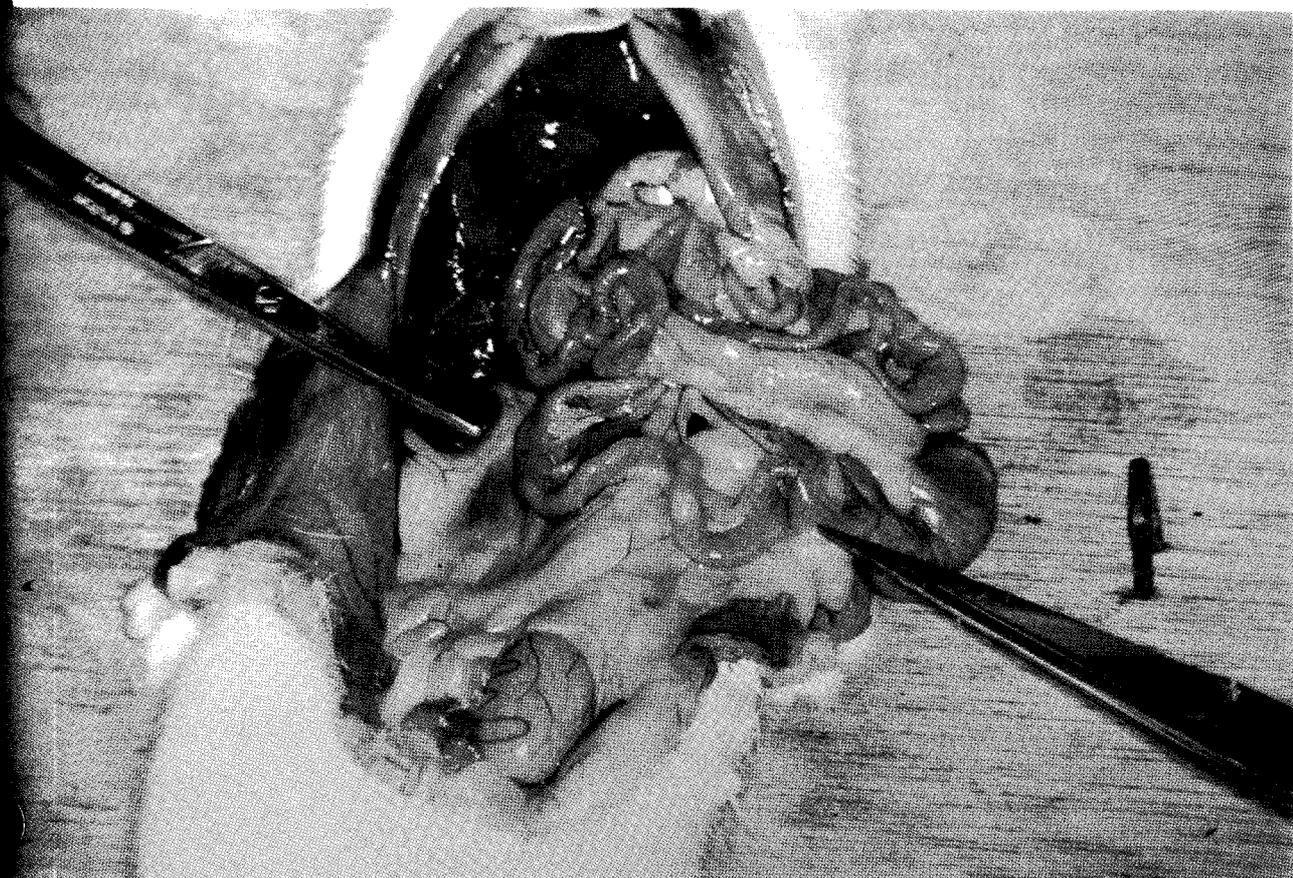
8o.) Traccionando suavemente la unión superior del asa intestinal, se lograba estirla convenientemente. Esta posición se mantenía mediante un pedazo de cinta adhesiva que fijaba la

cánula superior a otro tapón perforado (f) colocado en el extremo superior del tubo de vidrio. En esta forma quedaba completamente armado el sistema de incubación del intestino, el cual era sostenido por un pié de metal en posición vertical.

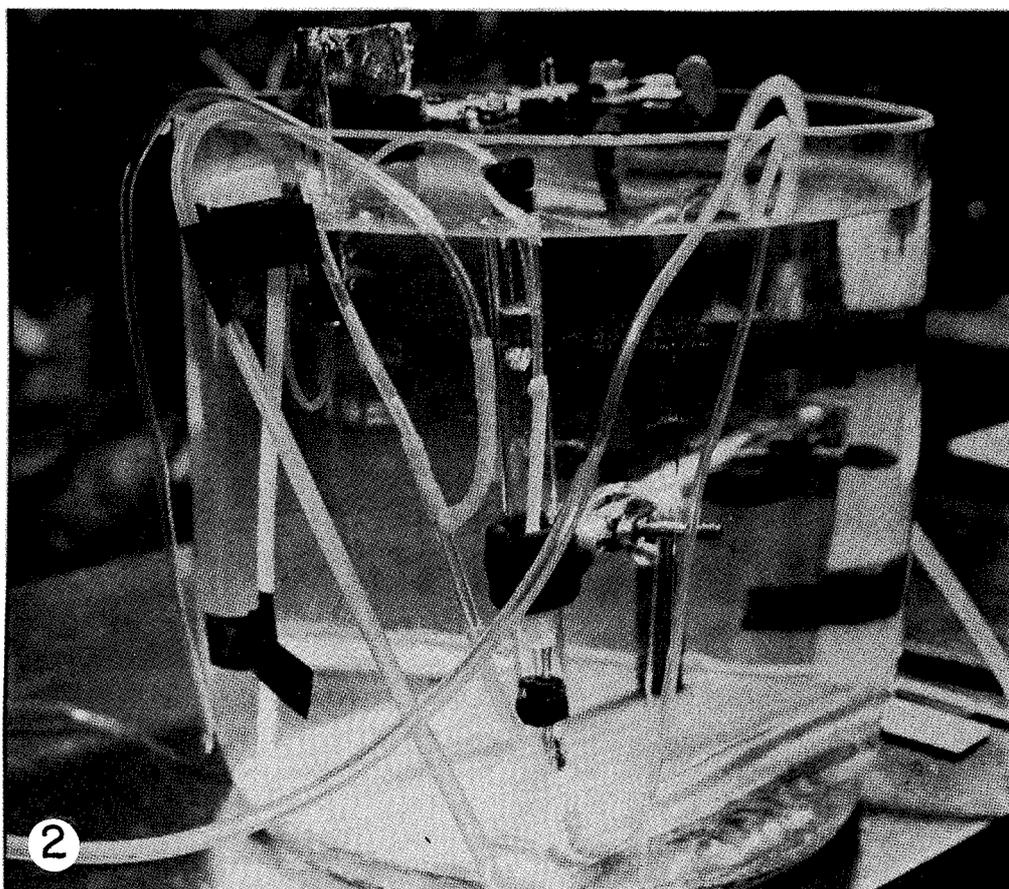
9o.) Se efectuaban las conexiones para el paso de gas (g,h) y se introducía dentro del recipiente empleado para el mantenimiento de la temperatura. (ver fotografía No.2).

10o). Se procedía entonces a la introducción del tampón con glucosa en ambos lados mediante jeringa, primero en el lado mucoso (16.0 ml) y luego en el seroso (15.0 ml), esto último a través de una de las entradas de la llave de tres vías (i). El nivel seroso siempre se estabilizó entre 2 y 3.5 cms. por arriba del nivel mucoso, para evitar exceso de presión hidrostática del lado seroso (110).

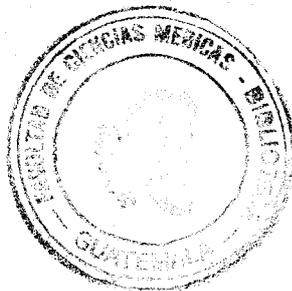
11o.) Se ponía a funcionar entonces la bomba de perfusión constante que regulaba el paso del gas, momento que se consideraba como el inicio del funcionamiento del experimento, el cual duraba una hora. El tiempo empleado desde que se separaba de la rata el segmento de intestino hasta que comenzaba a oxigenarse el sistema era de 10 a 11 minutos. A partir del momento en que comenzaba a funcionar el sistema se tomaban muestras de aproxi-



1 Exposición del asa intestinal empleada para perfusión



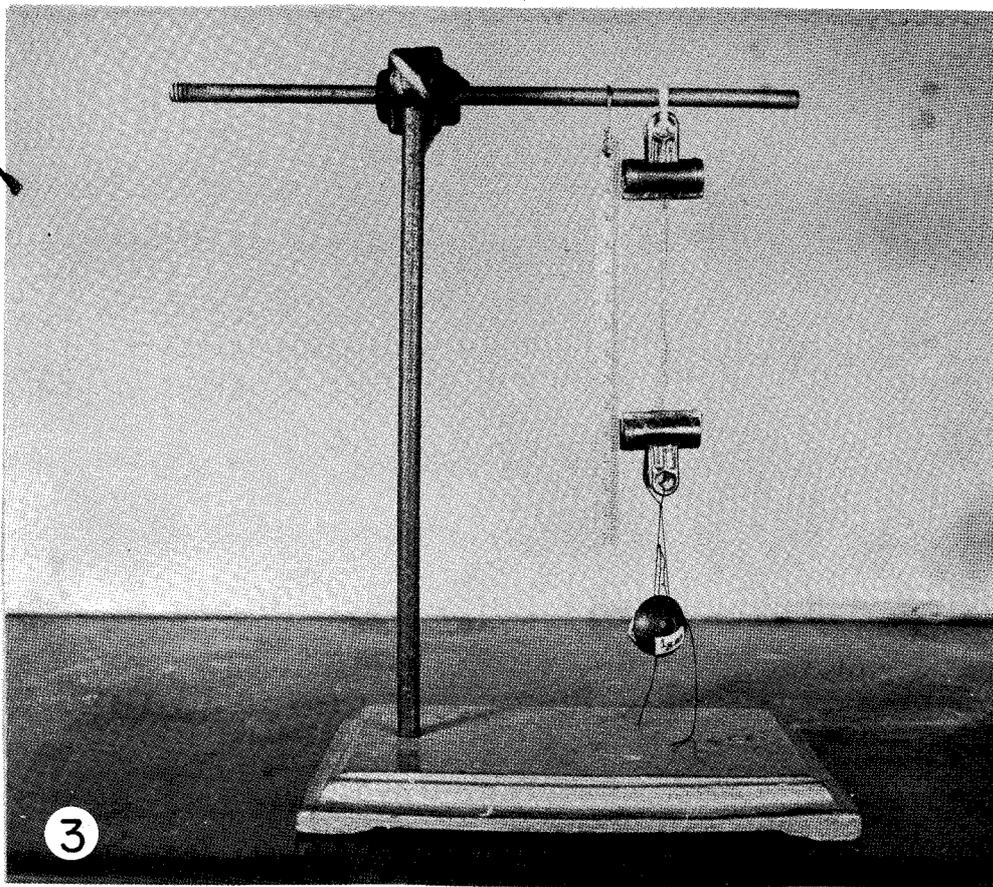
No.2 Sistema de perfusión, en pleno funcionamiento



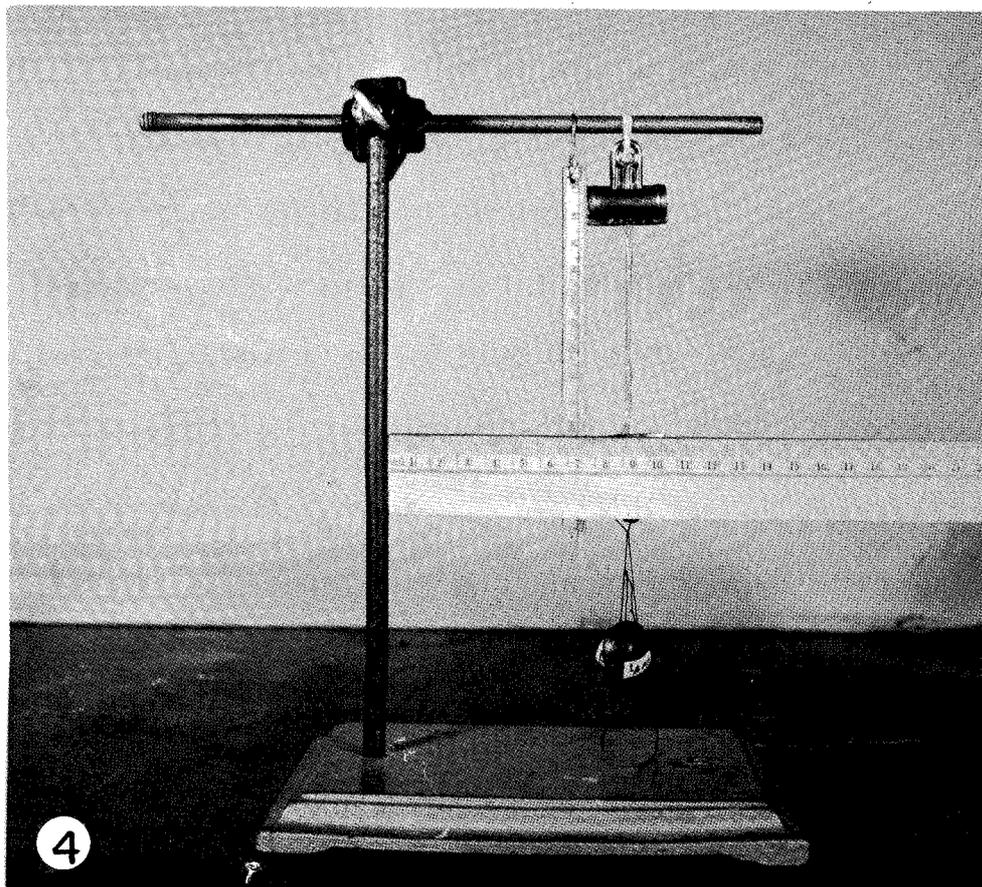
madamente 0.4 ml de la solución de cada lado a intervalos de 15 minutos. Cada 15 minutos también se tomaba la temperatura del líquido del lado seroso la que se mantenía dentro de los límites ya indicados. Al cabo de una hora de funcionamiento del sistema de perfusión se medía la velocidad del flujo seroso y los volúmenes finales de ambos lados, de los que se tomaba muestra también para la determinación de glucosa. El asa que había sido incubada se medía usando en su extremo inferior un lastre de 17.887 gramos de peso para evitar la contracción de su musculatura (103) (ver fotografías Nos.3 y 4) y a continuación se pesaba previo secado cuidadoso. Igualmente era pesado entonces el segmento de intestino que se había extraído inicialmente y que había permanecido hasta entonces en la solución tampón sin glucosa. Esto se efectuaba después de haberle quitado los remanentes de mesenterio y de sacarlo cuidadosamente haciéndolo rodar sobre papel filtro. Este segmento entonces era congelado para determinar en él nitrógeno total.

#### 4. Verificación de funcionamiento del asa.

Con el fin de verificar el funcionamiento adecuado del asa evertida y perfundida, se efectuaron los siguientes experi-



No.3 Estandarización de elongación muscular del asa profunda



No.4 Medición de longitud del asa intestinal profunda

mentos empleando para ello ratas consideradas como normales, - que hasta el momento del sacrificio habían permanecido en dieta balanceada (20% de caseína).

a.) Comprobación de la integridad de la pared. En varias oportunidades de corridas experimentales del sistema de perfusión, se colocó, ya sea del lado seroso o del lado mucoso, una concentración de azul de Evans al 1/5000 con el objeto de determinar si existía perforación microscópica del asa o alguna otra complicación que permitiese el paso libre de solución del lado mucoso al lado seroso o viceversa.

b). Determinación de la existencia de transporte activo en el asa perfundida. Con el fin de verificar que existía un proceso activo de absorción de glucosa y de tratar de cuantificar la contribución en la absorción de ésta por difusión, se hicieron cuatro experimentos con asas evertidas de yeyuno a las cuales se les puso únicamente de un lado (seroso o mucoso), solución tampón con glucosa a la concentración de 0.1% y solución tampón con NaCN al 0.01 M en ambos lados (24).

c.) Efectos de diferentes concentraciones de glucosa en el medio de incubación. Para llevar a cabo estos estudios se tomaron -

asas evertidas de intestino las cuales se incubaron con niveles distintos de glucosa en ambos lados de la pared intestinal (lado mucoso y lado seroso) o bien solo en el lado mucoso. Los niveles escogidos fueron desde 54 mg% hasta 250 mg%. El funcionamiento del sistema de perfusión fué tal y como se ha descrito.

d). Estudios de absorción intestinal empleando volúmen reducido de líquido del lado seroso. Para poder detectar con facilidad cualquier aumento de concentración de glucosa en el lado seroso, por pequeño que este fuera, se empleó en este lado un reducido volúmen de líquido (4.0 ml). El resto del proceso fué igual al ya descrito.

e). Estudios de dinámica de absorción intestinal utilizando glucosa marcada con carbono<sup>14</sup>. Se hizo un experimento en el cual, además del medio ya indicado conteniendo 100 mg de glucosa por 100 ml de solución tampón, se agregó 4 microcuries de glucosa uniformemente marcada obtenida de la casa Nuclear Chicago, en el líquido que bañaba el lado mucoso. En el lado seroso, se empleó un volúmen total de 4.0 ml de solución tampón con glucosa al 0.1% sin radioactividad. La actividad específica de la glucosa agregada era de 50 microcuries por mM de

glucosa. Las muestras obtenidas durante el período de incubación de una hora utilizado usualmente para la incubación de las asas, fueron además contadas en planchetas de aluminio, utilizando el sistema de delgadez infinita (muestras de menos de 2 mg de peso) con un contador de flujo gaseoso de la casa Nuclear Chicago. En este experimento, además de determinar la cantidad de glucosa de ambos lados de la pared intestinal y sus cuentas por minuto se homogenizó el asa después de haberla colocado en agua destilada y luego se hirvió por un período de 60 minutos. Con esto se precipitaron proteínas las cuales fueron centrifugadas y el sobrenadante se secó con calor y corriente de aire, habiéndose tomado el residuo en 2 ml de alcohol absoluto. De este líquido se tomaron muestras para ser contadas de manera idéntica a las muestras serosas y mucosas.

#### D. Determinaciones Bioquímicas y Estudios Histológicos.

1. Las determinaciones de glucosa se hicieron por el método de Glucosa-Oxidasa (58, 59, 81, 94 ), el cual es específico para este azúcar. Para ello, de las muestras extraídas de cada lado se tomó una alicuota de 105 lambdas, la cual fué puesta en tubos conteniendo 2.3 ml de agua destilada y 0.8 ml de so -

lución de  $Ba(OH)_2$ ; 5-10 minutos después se les agregó 0.8 ml - de solución de  $Zn(SO_4)$  de acuerdo al método de Somogyi - (82, 83). En esta forma quedaban las muestras en condiciones de ser corridas para la determinación de glucosa previa centrifugación para separar el precipitado proteico formado (4). El resto de las muestras extraídas era congelado en ese mismo momento.

Las proteínas séricas totales fueron determinadas el mismo día de extraída la muestra de sangre, mediante el empleo del refractómetro de lectura directa TS Meter, Model 10401 de la American Optical Co. (Instrument Division, Buffalo, New York.)

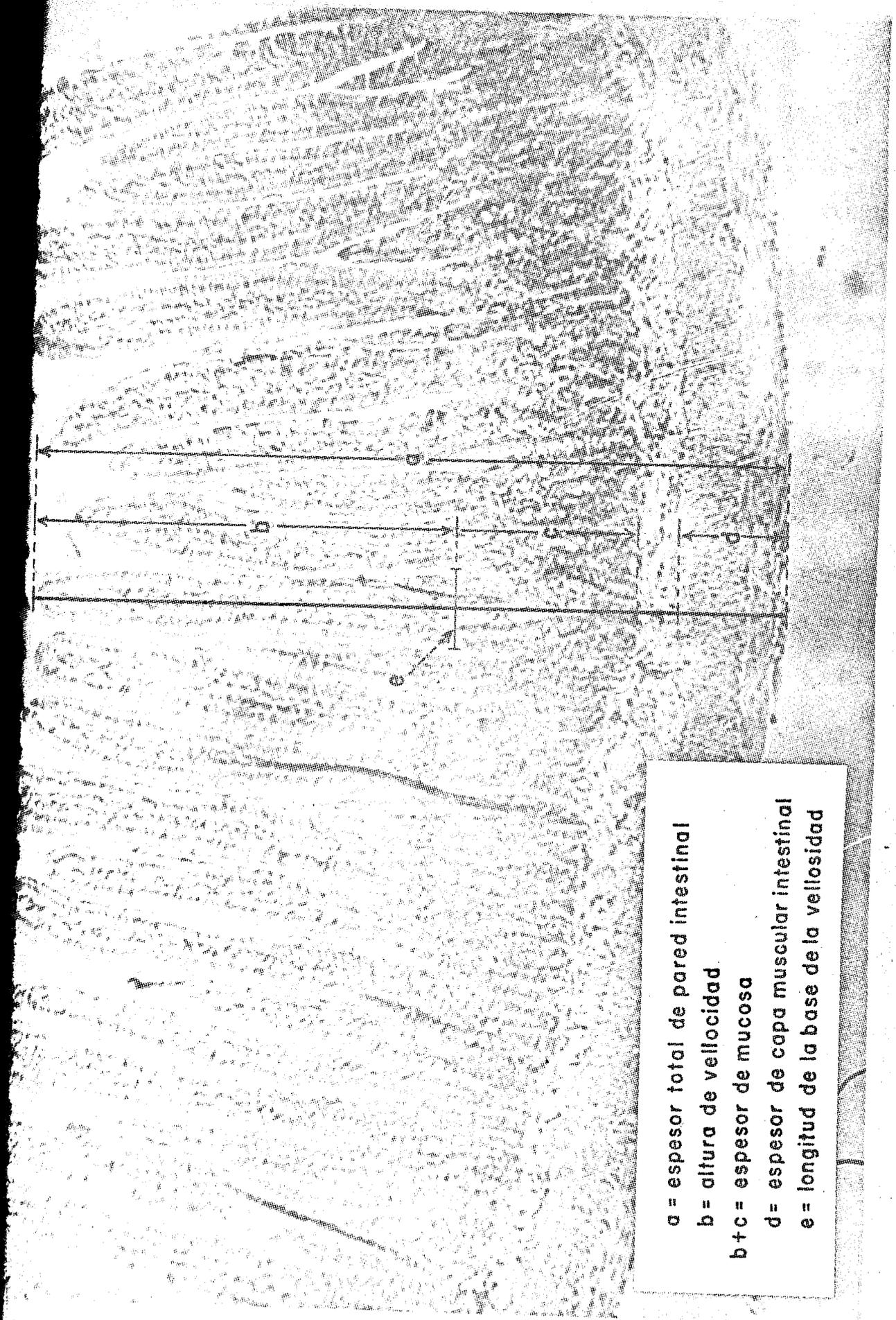
El nitrógeno total del intestino fué determinado por el micrométodo de Kjeldahl (3, 36).

2. Los segmentos de hígado e intestino fijados en formalina tampón a pH 7.0 para estudios histológicos, fueron coloreados con hematoxilina-eosina habiéndose tomado dos secciones de intestino para cada rata: uno circular para hacer mediciones de diámetro intestinal y otro longitudinal para estudiar la estructura del intestino y medir la superficie de absorción, altu-

a de vellosidades, espesor de mucosa, espesor de capa muscular y espesor total de pared. Para ello se tomaron fotografías representativas de cada uno de los segmentos a  $3.5 \times 10 \times 1/3$  aumentos. Las microfotografías fueron ampliadas 9.26 veces para efectuar las mediciones ya mencionadas (9), las que se hicieron en una zona del intestino representativa del resto de acuerdo con Shiner y Drury (76), Astaldi et al. (5) y otros (92).

Dichas mediciones se efectuaron en un promedio de 3 vellosidades para cada sección, por medio de un curvímeter (K+E, old 1741) para la superficie de absorción y mediante un calibrador (Helios) con sensibilidad al 0.001 de cm para las mediciones longitudinales (55), como se ilustra en la fotografía No.5. Ambos instrumentos de medida se calibraron a una escala objetiva de 1 mm de largo graduada en centésimos, a la cual se le tomó una microfotografía en las mismas condiciones que a las piezas histológicas, para luego ser igualmente ampliada.

Con base en las anteriores mediciones se calculó la superficie de absorción total del asa incubada, asumiendo que las vellosidades intestinales tienen forma de conos y que éstos son rectos y apuestos unos a otros en sus bases. Para ello se desarrolló la siguiente fórmula:



a = espesor total de pared intestinal  
b = altura de vellosidad  
b+c = espesor de mucosa  
d = espesor de capa muscular intestinal  
e = longitud de la base de la vellosidad

superficie de absorción total del asa incubada = superficie de absorción de la circunferencia intestinal x longitud del asa x 0.7854. donde la superficie de absorción de la circunferencia intestinal = promedio de la superficie de absorción de las vellosidades x circunferencia intestinal (medida sobre el lado seroso) ÷ promedio de la longitud de la base de dichas vellosidades.

El factor 0.7854 multiplicado por el área serosa equivale al área de implantación de las vellosidades; este factor se aplica ya que esta área no contribuye a la superficie de absorción. Dicho factor es obtenido de la comparación entre el área de uno, o la suma del área de varios círculos, con el área de una, o la suma de varias superficies cuadradas que encuadran a dichos círculos y equivale a  $\frac{\pi}{2^2}$ . donde si tenemos un círculo dentro de un cuadrado de lado "le" (L), el área del círculo dentro de dicho cuadrado será igual a: área del círculo =  $\pi r^2$ ; área del cuadrado =  $L^2$ . De donde,  $r = \frac{\text{lado del cuadrado}}{2}$ ;  $\pi r^2 = \pi \frac{\text{lado}^2}{2^2}$  y área del círculo =  $L^2 \times \frac{\pi}{2^2}$ .

El estudio de la histología hepática incluyó cambio grasiento y su distribución, vacuolización nuclear, número de células con núcleo grande (poliploides) y número de células multinucleadas así como una apreciación general de la celularidad y arquitectura hepáticas. La numeración de los núcleos se hizo en base al segmento de hígado observado con 128 aumentos.

DISEÑO EXPERIMENTAL

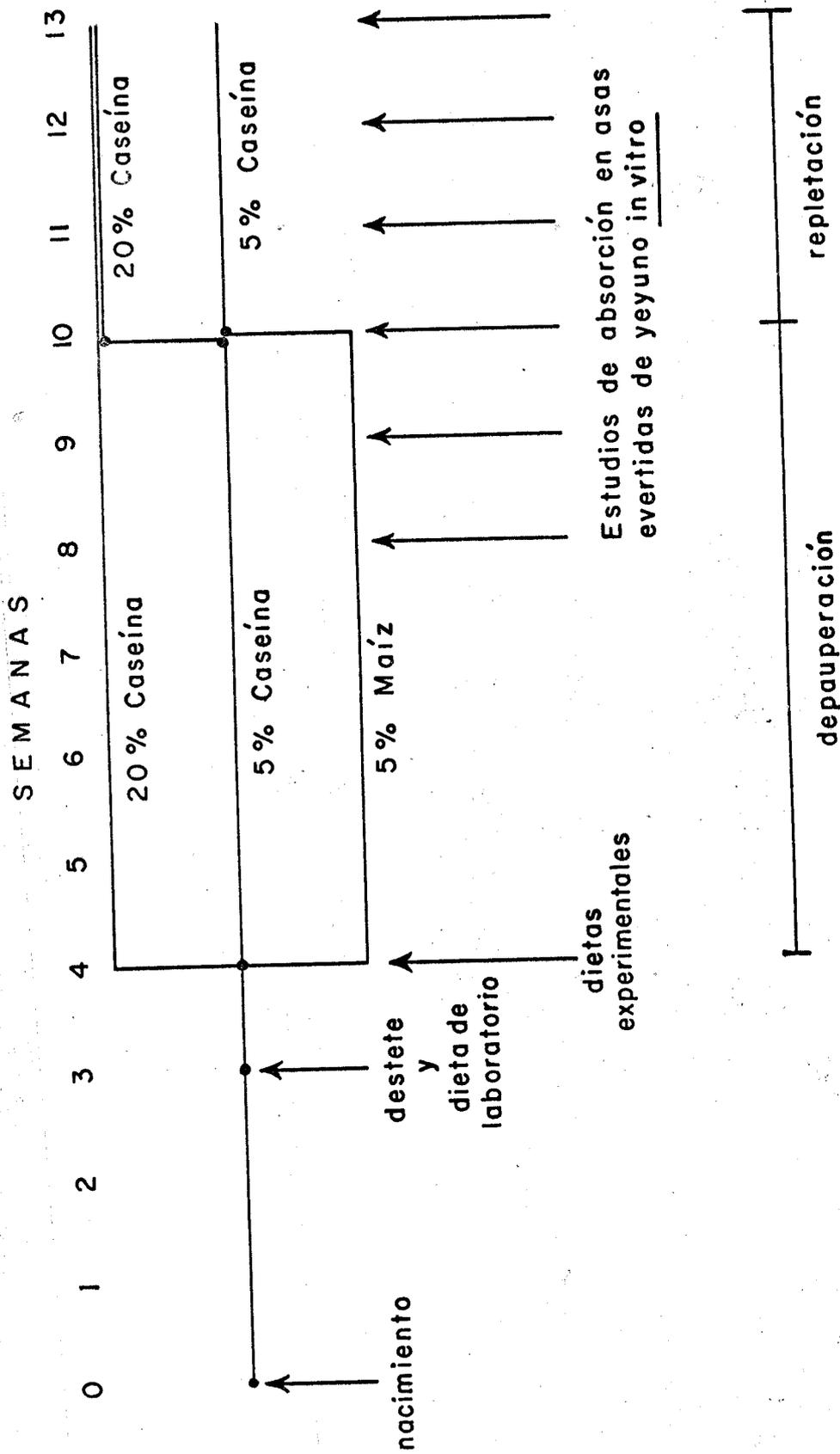
Como se indicara inicialmente, las ratas después de 21 días de lactancia materna fueron destetadas (32) y puestas en jau las con una dieta balanceada a 20% de caseína y agua ad li - bitum durante una semana. A partir de entonces se dividieron en tres grupos de 18 ratas, cada uno de los cuales tenía un promedio de peso similar. Las ratas del primer grupo o grupo control continuaron con dieta de 20% de caseína. Las ratas del segundo grupo fueron puestas en dieta de 5% de caseína y las del tercer grupo en dieta con proteína de maíz al 5%. A los tres grupos se les suministró agua ad libitum. En dicha dieta experimental permanecieron durante 4 semanas al término de las cuales comenzaron a ser sacrificadas en número de tres cada día (una de cada grupo), por tres días consecutivos al inicio de cada semana, por un período de tres semanas. A partir de entonces se inició la etapa de recuperación total o parcial consistente en cambiarles dieta a las ratas que estaban con 5% de caseína y 5% de maíz, pasándolas a dieta de 20% de caseína y 5% de caseína respectivamente. Las ratas que habían estado con dieta de 20% de caseína continuaron igual. Tanto la dieta como el agua continuaron siendo administradas ad libitum.

Cuando tenían 1, 2 y 3 semanas de haber sido puestas en dieta de recuperación, fueron sacrificadas las ratas restantes siguiendo un programa igual al anterior. (ver esquema No.2).

Las ratas de cada grupo se distribuyeron en tres subgrupos de seis cada uno, de acuerdo a la tendencia a ganar o perder peso observada durante los días previos a la fecha de inicio de los sacrificios y con base en el peso tomado dos días antes de dicha fecha. De esta manera se tomaba una rata de cada subgrupo para ser sacrificada cada semana a fin de tener en cada semana de sacrificio una muestra homogénea, representativa del grupo total.

Estos tres subgrupos estaban constituidos así:

1. Para las ratas con dieta de 20% de caseína:
  - a. ratas que pesaban menos de 252 gramos.
  - b. ratas que pesaban de 252 a 270 gramos.
  - c. ratas que pesaban más de 270 gramos.
  
2. Para las ratas con dieta de 5% de caseína:
  - a. ratas cuyo peso había permanecido estable o con aumento de hasta 10 gramos durante el período de dieta experimental.



ESQUEMA No. 2 Diseño Experimental

- b. ratas con aumento de 11 a 18 gramos de peso.
- c. ratas con aumento de 19 o más gramos de peso.

3. Para las ratas con dieta de 5% de maíz:

- a. ratas cuyo peso había permanecido estable o con tendencia a disminuir hasta 6 gramos durante el período de dieta experimental.
- b. ratas cuyo peso había aumentado entre 2 y 7 gramos.
- c. ratas cuyo peso había aumentado 8 o más gramos.

El orden de sacrificio de las ratas también se distribuyó de manera que no fuera a haber tendencia a comenzar sacrificando siempre las ratas de un determinado grupo y dejando por último las de algún otro de ellos; de esta manera se evitarían posibles cambios en los resultados.

Con este fin se hizo una distribución en forma de cuadrados latinos así:

<u>PRIMERA SEMANA</u>			<u>SEGUNDA SEMANA</u>		
<u>1er.día</u>	<u>2do.día</u>	<u>3er.día</u>	<u>1er.día</u>	<u>2do.día</u>	<u>3er.día</u>
1o. 20% Cas.	20% Cas.	5% Cas.	5% Cas.	5% Maíz	5% Maíz
2o. 5% Cas.	5% Maíz	5% Maíz	20% Cas.	20% Cas.	5% Cas.
3o. 5% Maíz	5% Cas.	20% Cas.	5% Maíz	5% Cas.	20% Cas.

Este mismo orden se repitió dos veces más en las cuatro semanas restantes del sacrificio. También se les hizo cálculos de ingesta alimenticia durante 24 horas cada semana.

Hubo necesidad de emplear un segundo lote de 36 ratas, debido a que con el primero se pudo observar que los pesos obtenidos tanto del asa incubada como del segmento intestinal a emplearse en la determinación de nitrógeno, no eran exactos ya que el asa incubada era pesada después de haber hecho funcionar el sistema durante una hora, más el tiempo requerido para hacer las otras determinaciones (volúmenes finales y longitud del asa); la muestra intestinal tomada para medir el nitrógeno total era pesada igualmente después de más de una hora de haber sido extraído el segmento de intestino, tiempo durante el cual había permanecido en la solución tampón sin glucosa. Esto hacía entonces que al momento de tomarse el peso, la mucosa estuviera ya bastante friable o autolizada, según el caso, con lo que al tratar de quitarle el exceso de líquido de su superficie y de su interior, por muy cuidadoso que se fuera quedaban en el papel filtro cantidades apreciables de ella. Este segundo lote de ratas consistente en 12 para cada tipo de dieta se trató de manera idéntica.

tica al primero, sacrificándolas únicamente al cumplir 4 y 6 semanas de dieta de depauperación y 1 y 3 semanas de dieta de recuperación. Las mediciones se efectuaron más rápidamente (3 a 5 minutos de muerte la rata) con el fin de evitar el problema anterior.

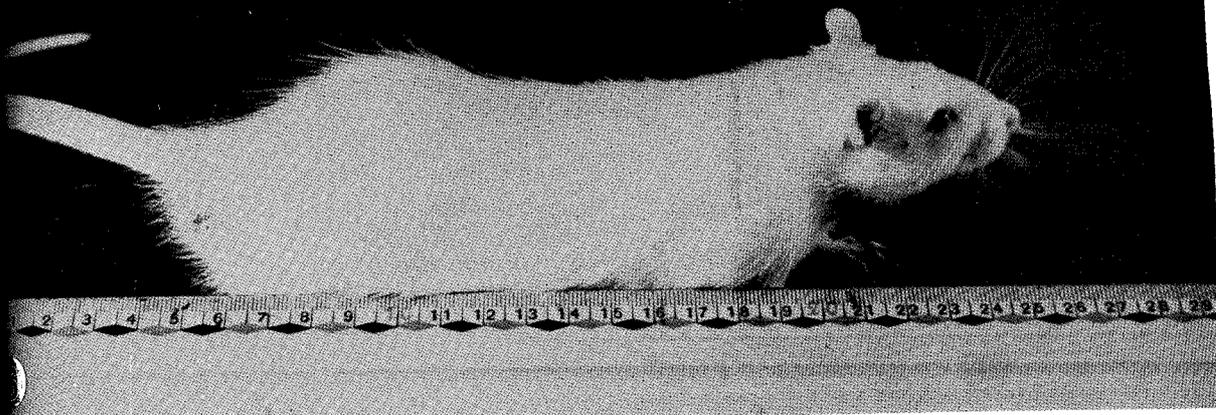
## RESULTADOS Y DISCUSION

Características de los animales experimentales.

Las fotografías Nos. 6, 7 y 8, corresponden a las ratas en 20% caseína, 5% caseína y 5% maíz respectivamente. Las ratas en las dietas de 5% de caseína y 5% de maíz se mantuvieron con un peso reducido, una longitud marcadamente inferior a la del grupo de 20% de caseína y presentaban alteraciones en la piel caracterizadas por escasez del pelo que en casos extremos llegaba hasta la pérdida de prácticamente un 50%. Las ratas depauperadas eran a la vez más irritables, menos fuertes, y en general presentaban un aspecto poco saludable.

### 1. Ingesta alimenticia.

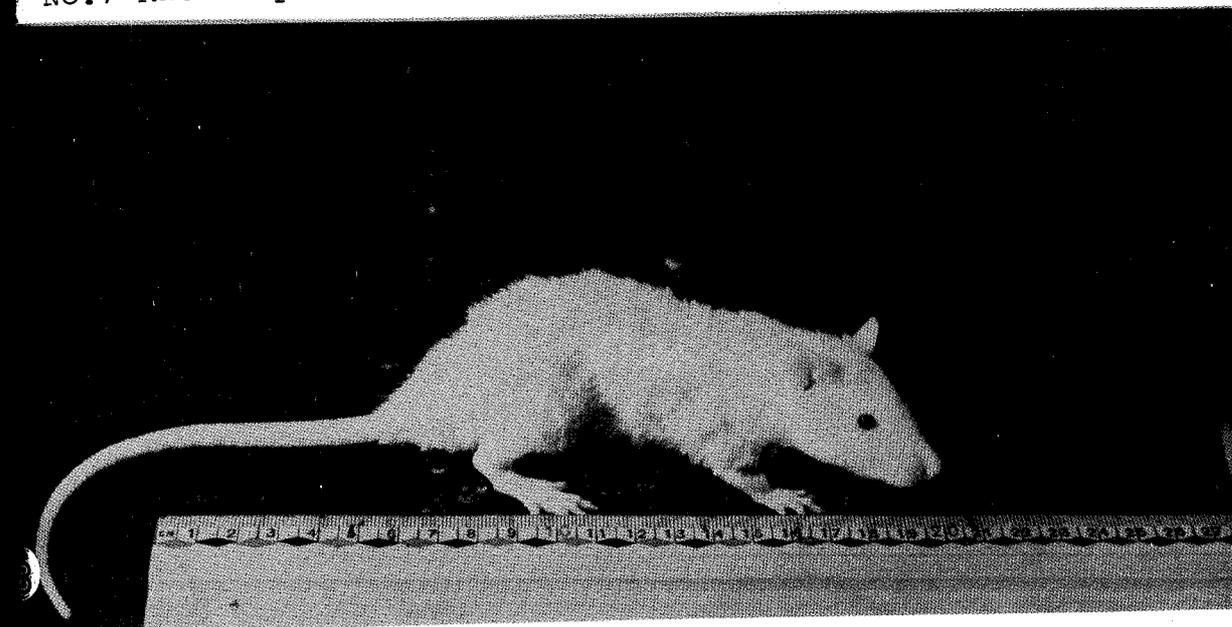
En la tabla No.3 se puede observar la ingesta alimenticia de las ratas experimentales del lote 1, expresada en miligramos de dieta ingerida por kilogramo por día. Es importante notar que las ratas en dieta de depauperación tanto de caseína como de maíz, regaban con frecuencia alimento alrededor del recipiente, el cual era medido y anotado como no ingerido. A pesar de esto, la ingesta es francamente mayor en estos grupos que en el grupo control de 20% de caseína, siendo mayor en el de 5% de maíz que



No. 6 Rata tipo después de 4 semanas en dieta de 20% de Caseína (control



No. 7 Rata tipo después de 4 semanas en dieta de 5% de Caseína



No. 8 Rata tipo después de 4 semanas en dieta de 5% de maíz

INGESTA ALIMENTICIA DE LAS RATAS EXPERIMENTALES (mg/kg/día)

L O T E 1

SEMANAS DE DIETA EXPERIMENTAL	1	2	4	5	6
20% CASEINA	$150 \pm 19^{\circ}$ (16)	$123 \pm 10$ (16)	$86 \pm 7$ (13)	$78 \pm 4$ (11)	$76 \pm 7$ ( 8)
5% CASEINA	$187 \pm 26$ (15)	$173 \pm 30$ (15)	$149 \pm 25$ (13)	$161 \pm 35$ (11)	$140 \pm 31^{\circ\circ}$ ( 8)
5% MAIZ	$211 \pm 31$ (14)	$142 \pm 28$ (14)	$159 \pm 27$ (10)	$182 \pm 41$ ( 9)	$175 \pm 23^{\circ\circ}$ ( 6)

•  $\bar{X} \pm D.E.$  (número de ratas)

•• 1a. semana de dietas de recuperación: 5% caseína pasó a 20% caseína.  
5% maíz pasó a 5% caseína.

en el de 5% de caseína. Durante la sexta semana de dieta experimental, cuando las ratas en 5% de caseína y 5% de maíz pasaron a 20% de caseína y 5% de caseína respectivamente, se nota un descenso en la ingesta alimenticia que acompaña a la mejoría relativa de la dieta. La medición periódica de la ingesta alimenticia de los animales del lote 2 arrojó valores esencialmente idénticos a la ya descrita del lote 1.

## 2. Peso.

El peso de las ratas experimentales para un total de 63 ratas, se muestra en la tabla No.4; es notable el aumento de peso del grupo control, aunque a una velocidad gradualmente decreciente (52), comparado al de los grupos en dietas de depauperación los cuales mostraron una franca estabilidad en el peso. Sin embargo las ratas en 5% de caseína alcanzan pesos ligeramente superiores a los de 5% de maíz. Al establecerse el cambio a dietas de recuperación, se observa un cambio dramático en el grupo de 5% de caseína que pasó a 20% de caseína. El grupo de 5% de maíz que siguió con 5% de caseína, muestra esencialmente el mismo patrón de crecimiento de la dieta previa. Estos resultados se expresan también en la gráfica No.1 en don-

LOTE 1

DIAS DE DIETA EXPERIMENTAL	0	7	14	21	26	29	36	42	49	56	63
20% CASEINA	74+16 <sup>o</sup> (16)	113+19 (16)	160+22 (16)	213+27 (16)	254+25 (16)	279+26 (14)	310+26 (11)	347+28 (9)	375+24 (6)	408+19 (4)	440 (1)
5% CASEINA	74+16 (15)	72+13 (15)	74+15 (15)	81+19 (15)	87+21 (15)	92+21 (14)	99+22 (11)	105+26 (9)	166+28 (6)	214+30 (4)	197 (1)
5% MAIZ	74+16 (14)	75+17 (14)	75+25 (14)	76+24 (14)	78+25 (14)	83+39 (11)	84+17 (9)	82+14 (7)	83+20 (5)	74+3 (3)	85 (1)

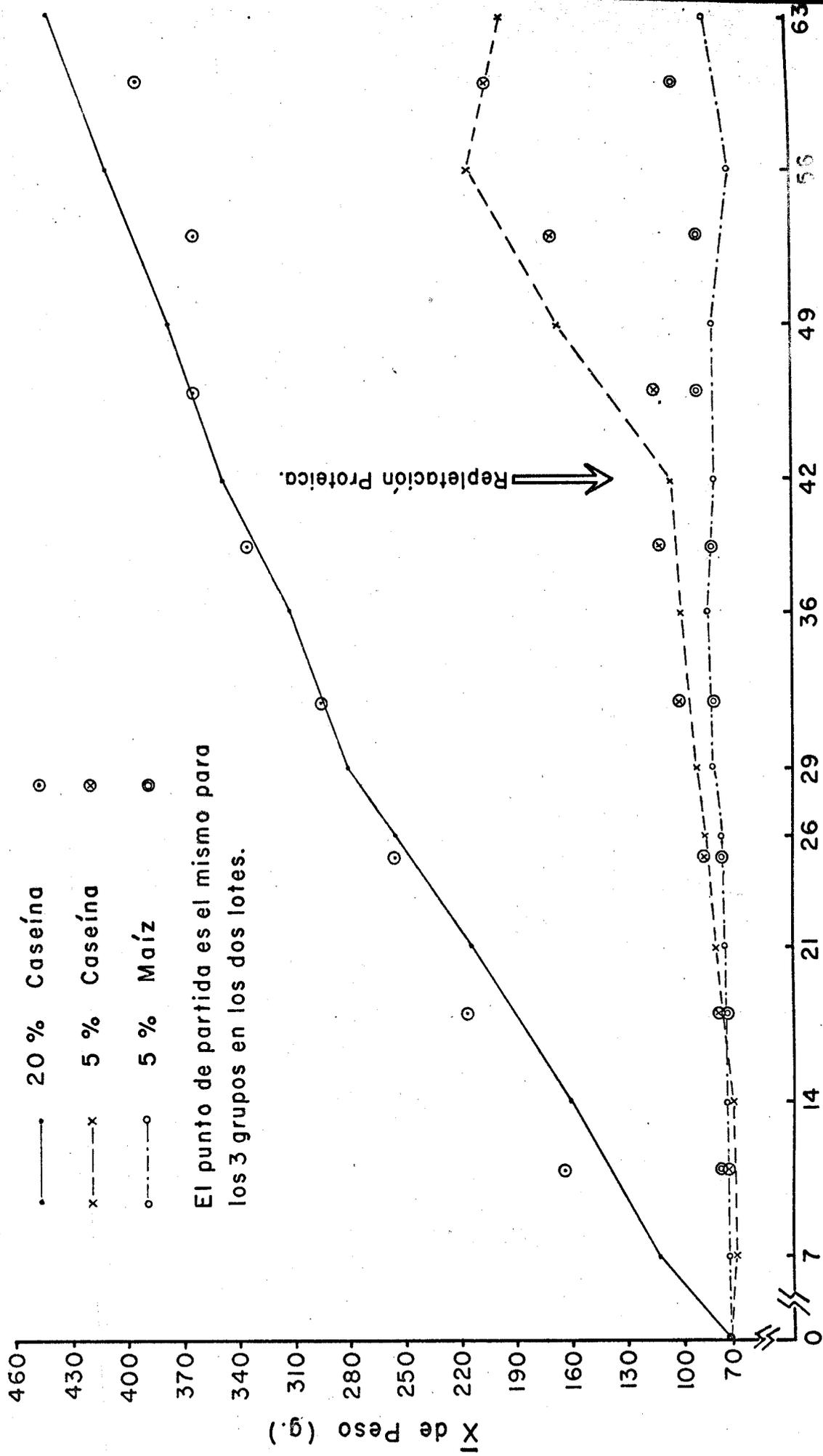
•  $\bar{X} \pm D.E.$  (número de ratas)

1a. semana de dietas de recuperación: 5% caseína pasó a 20% caseína y 5% Maíz pasó a 5% caseína.

LOTE 1                      LOTE 2

- 20 % Caseína      ⊙
- x---x 5 % Caseína      ⊗
- o---o 5 % Maíz            ⊙

El punto de partida es el mismo para los 3 grupos en los dos lotes.



Días de dieta experimental

de además se nota la respuesta prácticamente idéntica, tanto en el lote 1 como en el lote 2, a las dietas experimentales.

En la gráfica No.2 se muestra el peso de las ratas experimentales del lote 1 el día del sacrificio. En general se observa la misma tendencia mostrada en la tabla No.4 y gráfica No. 1. Los pesos de las ratas en el grupo control fueron desde 248 a 414 gramos de promedio, las de 5% de caseína de 50 a 99 gramos durante la ingesta de dieta pobre y de 148 a 239 gramos al colocárseles en dieta de 20% de caseína. Las ratas en la dieta de 5% de maíz muestran los promedios de 71 a 93 gramos durante la dieta de depauperación y de 76 a 104 gramos al colocárseles en la dieta de 5% de caseína.

### 3. Proteínas Séricas.

Los valores obtenidos de proteínas séricas totales de las ratas experimentales expresados en gramos/100 ml de suero, se muestran en la tabla No.5. Durante las semanas 4a., 5a. y 6a. se observa que el grupo control tiene valores de proteínas séricas totales significativamente mayores a los de los grupos de depauperación y comparables a los obtenidos por otros autores (35). Estos entre sí, no mostraron diferencias significativas. Sin embargo al colocarse a estos últimos grupos en sus respectivas die-

20 % Caseína

5 % Caseína

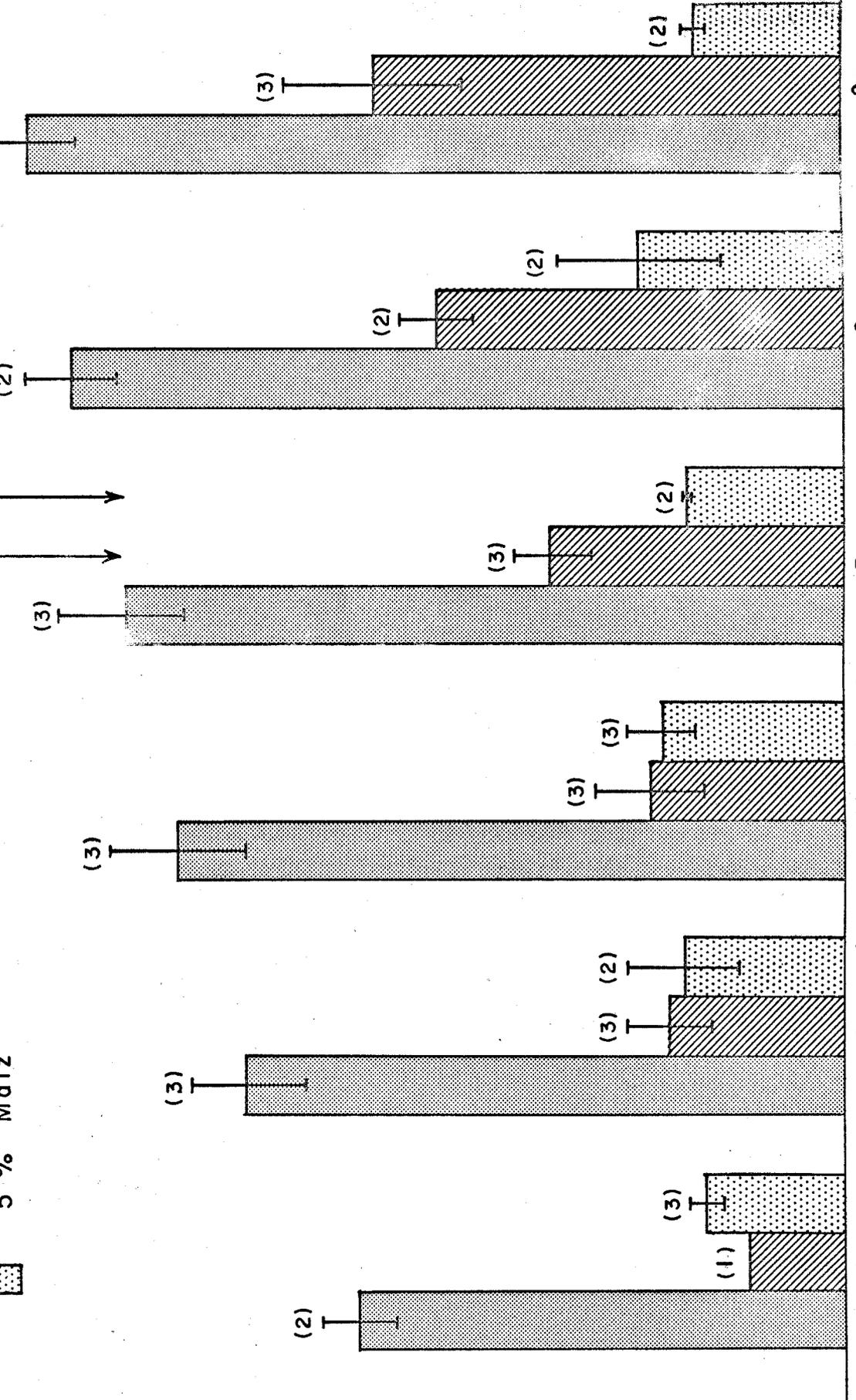
5 % Maíz

20 % Caseína

5 % Caseína

420  
390  
360  
330  
300  
270  
240  
210  
180  
150  
120  
90  
60  
30  
0

4<sup>a</sup> 5<sup>a</sup> 6<sup>a</sup> 7<sup>a</sup> 8<sup>a</sup> 9<sup>a</sup>  
Semanas de dieta Experimental



LO T E 1

SEMANAS DE DIETA  
EXPERIMENTAL

	4	5	6	7 <sup>oo</sup>	8	9
20% Caseína	6.1±0.42 <sup>oo</sup> (2)	6.7±0.12 <sup>**</sup> (3)	6.8±0.25 <sup>**</sup> (3)	6.4±0.07 <sup>**</sup> (3)	6.4±0.22 <sup>*</sup> (2)	7.3±0.55 (3)
5% Caseína	4.3±0.00 (1)	5.2±0.64 (3)	4.7±0.40 (3)	5.5±0.30 <sup>****</sup> (3)	6.1±0.00 (2)	6.9±0.25 <sup>***</sup> (3)
5% Maíz	4.7±0.52 (3)	4.6±0.50 (2)	4.3±0.46 (3)	5.2±0.10 (2)	5.6±1.56 (2)	5.0±0.85 <sup>**</sup> (2)

LO T E 2

20% Caseína	5.9±0.21 <sup>**</sup> (3)	—	6.5±0.36 <sup>**</sup> (3)	6.7±0.26 <sup>**</sup> (3)	—	7.0±0.40 <sup>**</sup> (3)
5% Caseína	4.7±0.52 (3)	—	4.8±0.31 (3)	5.4±0.50 <sup>****</sup> (3)	—	6.0±0.20 <sup>****</sup> (3)
5% Maíz	4.5±0.12 (3)	—	4.9±0.57 (2)	3.8±0.17 (3)	—	4.9±0.20 (3)

<sup>o</sup>  $\bar{X}$  + D.E. (número de ratas)

<sup>oo</sup> la. semana dietas de recuperación: 5% caseína pasó a 20% caseína y 5% maíz pasó a 5% caseína.

\* Significativamente diferentes respecto a las otras dietas,  $P < 0.05$

\*\* Significativamente diferentes respecto a las otras dietas,  $P < 0.01$

\*\*\* Significativamente diferente a 20% caseína,  $P < 0.05$

\*\*\*\* Significativamente diferente a 5% maíz,  $P < 0.05$

tas de repletación, aparecen diferencias significativas entre los tres grupos, particularmente debido a un aumento rápido de las proteínas séricas totales en el grupo de 5% de caseína que pasó a dieta de 20% de caseína. Estos resultados se aplican tanto al lote 1 como al lote 2 de ratas experimentales y demuestra de nuevo el efecto en proteinemia ocasionado por las diversas dietas, publicado ya por otros autores (95, 97).

En estos experimentos no se hizo separación electroforética de fracciones proteicas del suero ya que en experiencias anteriores obtenidas durante las fases preliminares de este trabajo, se había notado que los valores de albúmina siguen de manera paralela a los valores de proteínas séricas totales (106), tal como se ha descrito en casos de MPC en humanos (25, 40, 107, 108) y en deficiencias alimenticias de diversas especies animales (62, 63) siempre y cuando la deficiencia proteica sea importante (73).

Considerando este índice de nutrición proteica y el cambio de peso observado durante las dietas experimentales de depauperación y de repletación, se puede indicar con certeza que los grupos de ratas en dietas pobres en proteína mostraban un déficit proteico marcado el cual era rápidamente restituido en términos de

proteínas séricas al colocarse al grupo de 5% de caseína en una dieta adecuada en contenido proteico. Los valores del peso de este último grupo, aunque no llegan a los pesos obtenidos en el grupo control, sí indican un rápido aumento que significa repletación proteica, en base a una alta razón de eficiencia proteica de esta dieta (12).

#### 4. Histología Hepática.

Con miras a una mayor documentación respecto al estado de nutrición proteico de las ratas experimentales, se hicieron evaluaciones de cambio grasiento y de características de las células hepáticas en cortes histológicos obtenidos en la época del sacrificio de los diversos grupos experimentales.

El tamaño de las células hepáticas en los grupos depauperados era en general menor y por lo tanto el número de hepatocitos por campo era mayor, lo cual en cierta forma está en contra de lo reportado por otros autores en cuanto a hígado (43) y otros tejidos (52). La tabla No.6 expresa el promedio de cambio grasiento por rata de cada lote durante las épocas de depauperación y repletación, subdividido en cambios fino y grueso. Es ampliamente conocido que tanto en humanos como en animales (33, 37, 91, 107), el

HISTOLOGIA HEPATICA DE LAS RATAS EXPERIMENTALES

(Promedio de cambio grasiento por rata)

LOTE 1

SEMANAS	4	a	6	7	9
<u>DIETAS EXPERIMENTALES</u>	<u>20% CASEINA</u>	<u>5% CASEINA</u>	<u>5% MAIZ</u>	<u>20% CASEINA</u>	<u>5% MAIZ</u>
Número de ratas	8	( 7	Depauperación 8	8	( 8
Cambio grasiento*	1.25	22.86	20.00	5.00	18.33
Fino	1.25	7.14	17.50	5.00	10.00
Grueso	0	15.72	2.50	0	8.33

\* Clasificado de 0 a ++++ por rata; a cada cruz se le asignó el valor de 10.

cambio grasiento fino precede al cambio grasiento grueso. Es interesante notar que en las ratas consumiendo la dieta control de 10% de caseína, el cambio grasiento era muy leve, prácticamente inexistente, tanto en forma fina como en forma gruesa, lo cual se considera dentro de los límites normales. El cambio observado en las ratas consumiendo 5% de caseína durante la época de depauperación indica que existe un marcado aumento en la presencia de grasa hepática la cual es mayor en forma de depósitos gruesos que depósitos en gota fina. Sin embargo, al pasar estos animales a una dieta adecuada en proteínas, se observa un descenso marcado en la esteatosis hepática tanto fina como gruesa. En las ratas consumiendo 5% de maíz, también se observa un cambio grasiento (75) de - proporciones similares a las del de 5% de caseína aunque predomina el cambio grasiento fino sobre el grueso. Esto coincide con lo reportado por otros autores, tanto en humanos (60) como en animales (43), no llegando a observarse áreas francas de necrosis como ha descrito Goettsch (34). Al cambiárseles a dieta de 5% de caseína persiste el cambio grasiento, pero en este caso existe un descenso en el cambio grasiento fino con incremento en el cambio grasiento grueso, lo cual indica una tendencia a semejarse más al grupo de 5% de caseína durante el período de depauperación.

Es importante notar que los cambios obtenidos en los animales depauperados al cambiárseles de dieta, ocurren de manera progresiva desde la 7a. a la 9a. semana de dietas experimentales.

Con respecto a la evaluación de la presencia de vacuolas nucleares, de interpretación dudosa, se nota que el grupo control mantiene un número constante de núcleos vacuolados mientras que este número es menor en las ratas depauperadas tanto ingiriendo caseína como maíz (tabla No.7). Sin embargo, al colocarse estas ratas en dietas de repletación, se observa un franco aumento en ambos grupos el cual es particularmente notorio al compararlo con los valores obtenidos durante la época de depauperación. La presencia de núcleos poliploides y de células binucleadas refleja el grado de síntesis proteica celular en relación a la síntesis de ácido desoxiribonucleico (DNA) en el sentido de que en ausencia de síntesis proteica adecuada, la mitosis celular se interrumpe después de que ha habido duplicación de DNA (96). Si este es el caso, debería de observarse en los grupos depauperados un incremento tanto en núcleos poliploides como en el número de células binucleadas. Efectivamente tanto en el grupo de 5% de caseína como el de 5% de maíz, los cambios de núcleos poliploides y de células binucleadas sí indican un aumento relativo de DNA sobre síntesis proteica. Es intere -

HISTOLOGIA HEPATICA DE LAS RATAS EXPERIMENTALES

Características de los núcleos \*

LOTE I

SEMANAS	4	a	6	7	a	9
DIETAS EXPERIMENTALES	20% CASEINA	5% CASEINA	5% MAIZ	20% CASEINA	5% CASEINA	5% MAIZ
Número de ratas	8	( Depauperación )	8	8	( Repletación )	6
Vacuolización nuclear	1.90	1.29	0.88	2.00	3.62	3.33
Núcleos poliploides	5.62	2.29	1.75	4.00	5.75	2.00
Células binucleadas	9.50	21.29	38.75	6.00	13.88	39.17

\* Promedio del número contado en un corte histológico de cada rata

ante sin embargo notar, que este incremento total se observa sobre todo a expensas de células binucleadas y no de núcleos poliploides. Durante el período de repletación, se observa lo ya indicado con respecto al cambio grasiento hepático como es que el grupo de 5% de caseína que pasó a una dieta rica en proteína (20% caseína), se aproxima a los valores del grupo control como se manifiesta por un descenso del número total de núcleos poliploides mas células binucleadas a expensas del número de estas últimas con un ligero aumento del número de núcleos poliploides (90). Por otro lado, el grupo de 5% de maíz que se alimentó con 5% de caseína muestra una estabilización en los valores tanto de núcleos poliploides como de células binucleadas.

Como resumen de la caracterización de los animales experimentales, puede indicarse que se obtuvo una deficiencia proteica tanto en el grupo de 5% de caseína como en el de 5% de maíz durante el período de depauperación y que el grupo de 5% de caseína inició una repletación proteica rápida al pasársele a una dieta adecuada mientras que el grupo de 5% de maíz persistió con deficiencia proteica aún al colocársele en dieta de 5% de caseína. La razón de cambiar la dieta de 5% de maíz por la de 5% de proteína, se basó en que la dieta de 5% de maíz es más deficiente

de la de 5% de caseína con respecto a su valor proteico. Se esperaba que las ratas consumiendo maíz se adaptasen a un metabolismo proteico más deprimido que pudiera responder significativamente a la mejoría de dieta que acompañaba al cambio de 5% de maíz a 5% de caseína; de esta manera esperábamos obtener el contraste en el periodo de repletación entre una repletación óptima y una repletación subóptima. Sin embargo, en base a las características de los animales, a sus proteínas séricas y a la histología hepática, podemos afirmar que las ratas en 5% de maíz persistieron con un grado muy similar de desnutrición al colocárseles en una dieta de 5% de caseína.

#### Cambios Intestinales.

##### 1. Peso.

La tabla número 8 muestra los valores del peso de yeyuno proximal de las ratas experimentales tanto del lote 1 como del lote 2 en miligramos por centímetro de longitud. Es fácil notar un menor peso para el intestino de los animales del lote 1 que para los del lote 2. Esta disparidad se debió a que en el proceso de preparación del intestino para ser pesado se perdió mucosa intestinal en el lote 1 debido a cambios autolíticos, en contraste con

DIETAS EXPERIMENTALES	LOTE 1			LOTE 2		
	CASEINA 20%	CASEINA 5%	MAIZ 5%	CASEINA 20%	CASEINA 5%	MAIZ 5%
4	29.09 (2) <sup>oo</sup>	15.96 (1)	18.86 (3)	46.65 (3)	29.58 (3)	30.38 (3)
5	36.87 (3)	18.74 (3)	17.04 (2)	—	—	—
6	30.80 (3)	18.18 (3)	17.01 (3)	48.45 (3)	35.36 (3)	32.06 (3)
$\bar{X} \pm D.E.$	33.03 $\pm$ 3.61 (8)	18.55 $\pm$ 2.79 (7)	17.88 $\pm$ 3.58 (8)	47.67 $\pm$ 4.08 (6)	32.60 $\pm$ 4.35 (6)	31.38 $\pm$ 3.5 (6)
7 <sup>o</sup>	36.98 (3)	27.79 (3)	16.11 (2)	47.25 (3)	36.62 (3)	31.21 (3)
8	42.96 (2)	27.82 (2)	20.00 (2)	—	—	—
9	33.71 (3)	23.61 (3)	12.58 (2)	50.20 (3)	44.10 (3)	35.19 (3)
$\bar{X} \pm D.E.$	37.01 $\pm$ 7.22 (8)	26.21 $\pm$ 3.93 (8)	16.39 $\pm$ 4.70 (6)	48.40 $\pm$ 4.99 (6)	40.20 $\pm$ 4.91 (6)	33.36 $\pm$ 4.1 (6)

<sup>o</sup> la semana de dietas de recuperación: 5% caseína pasó a 20% caseína y 5% maíz pasó a 5% caseína.  
<sup>oo</sup> Número de ratas

\* Significativamente diferente a los grupos no recuperados,  $P < 0.05$

\*\* Significativamente diferente a los otros dos grupos,  $P < 0.01$

\*\*\* Significativamente diferente a los grupos de 5% y 20% caseína,  $P < 0.05$  y  $P < 0.01$  respectivamente

el lote 2 en donde la pesada se hizo inmediatamente después de sacrificado el animal evitando estos cambios y preservando de esta manera la integridad intestinal. Los pesos mostrados para el lote 2, son por lo tanto los pesos verídicos para los animales en ambos lotes. A este respecto es importante notar que los cambios observados con las diversas dietas muestran la misma tendencia en ambos lotes. Puede observarse que durante las semanas 4a. 5a. y 6a. de dietas experimentales, existe una diferencia - ampliamente significativa entre el peso por centímetro del intestino de los animales en el grupo de 20% de caseína con respecto a los grupos de depauperación. Durante las semanas 7a. a 9a. en que los grupos depauperados fueron cambiados de dieta se observa un aumento en el peso por centímetro de intestino de las ratas de 5% de caseína que estaban entonces recibiendo la dieta de 20% de caseína, lo que las hace significativamente diferentes a ambos grupos depauperados antes de la repletación proteica. El grupo de 5% de maíz mantuvo valores idénticos durante la ingesta de caseína al 5%.

## 2. Contenido de nitrógeno.

Con el objeto de analizar la razón de la diferencia en peso de intestino por centímetro de longitud, se hizo énfasis en la

determinación del contenido proteico del intestino, lo que se muestra en la tabla No.9. Aquí se aprecia de nuevo lo ya expresado en términos de peso por centímetro de yeyuno, como es que los intestinos del lote 1 perdieron mucosa propiamente dicha al ser preparados para la obtención del peso. Esto arroja valores de nitrógeno más altos para este lote que los del lote 2. Deben de nuevo considerarse como valores reales los mostrados para el lote 2, notándose que el contenido de nitrógeno por gramo de peso era prácticamente idéntico en todos los lotes experimentales estudiados. Asociando estos resultados a los ya descritos de peso por centímetro de intestino, sin embargo es fácil comprobar que el contenido de proteína por centímetro de intestino es mayor en los grupos control de 20% de caseína.

### 3. Características histológicas.

El estudio histológico de cortes longitudinales de la mucosa yeyunal de todas las ratas empleadas en este trabajo no mostró cambios evidentes comparando las ratas depauperadas con las ratas control. Los cambios histológicos a que nos referimos, fueron la evaluación de la forma de las vellosidades y la presencia de indentaciones en el revestimiento celular mucoso, de cé-

LOTE 1

LOTE 2

DIETAS EXPERIMENTALES

semanas de dieta experimental

	CASEINA 20%	CASEINA 5%	MAIZ 5%	CASEINA 20%	CASEINA 5%	MAIZ 5%
4	4.68 (2) <sup>oo</sup>	6.70 (1)	5.57 (3)	3.06 (3)	3.48 (3)	2.81 (3)
5	4.66 (3)	5.30 (3)	4.32 (2)	—	—	—
6	3.59* (3)	3.16* (2)	3.50* (3)	2.26 (3)	2.45 (3)	3.13 (3)
$\bar{X} \pm D.E.$	$4.30 \pm 1.15$ (8)	$4.82 \pm 1.69$ (6)	$4.48 \pm 1.48$ (8)	$2.66 \pm 0.60$ (6)	$2.97 \pm 0.46$ (6)	$2.97 \pm 0.20$ (6)
7 <sup>o</sup>	5.98 (3)	7.26 (3)	6.46 (2)	2.81 (3)	2.61 (3)	2.56 (3)
8	4.16 (2)	6.75 (2)	3.80 (2)	—	—	—
9	—	—	—	2.71 (3)	2.74 (3)	2.37 (3)
$\bar{X} \pm D.E.$	$5.26 \pm 2.01$ (5)	$7.05 \pm 2.02$ (5)	$5.13 \pm 2.36$ (4)	$2.76 \pm 0.20$ (6)	$2.68 \pm 0.12$ (6)	$2.46 \pm 0.27$ (6)

1<sup>a</sup> semana de dietas de recuperación: 5% caseína pasó a 20% caseína y 5% maíz pasó a 5% caseína  
 Número de ratas  
 Significativamente diferente a los resultados de 4a. y 5a. semanas, P 0.05

lulas mucosas y de infiltrado celular inflamatorio.

Con el objeto de disociar aún más las diferencias obtenidas en cuanto al contenido de nitrógeno del intestino, se consideró importante determinar si el menor contenido de éste en las ratas depauperadas ocurría primordialmente a nivel de la vellosidad, de la mucosa total o de la capa muscular intestinal, ya que como es sabido, en ratas, el músculo del intestino constituye alrededor de la mitad de la proteína intestinal (61,84). Con tal objeto se hicieron mediciones de estas tres partes constitutivas del intestino, lo que se muestra en la tabla No.10. Estas mediciones demuestran que el diferente contenido de nitrógeno intestinal se observa tanto a nivel de las vellosidades como de la mucosa total o del espesor muscular. Estos datos reflejan lo ya descrito en niños con diversos grados de MPC (6), aún cuando hay quienes no han encontrado cambios en la altura de las vellosidades en condiciones similares (11). Los datos encontrados se corroboran al comparar el espesor total de la pared en los grupos experimentales estudiados durante el período de depauperación. Durante el período de repletación proteica, las ratas de 5% de caseína que pasaron a 20% de caseína, de nuevo muestran una franca tendencia a aproximarse al grupo control, ya que ninguna me-



da es significativamente diferente en ambos grupos. Los cambios intestinales del grupo de 5% de maíz de nuevo muestran lo ya indicado en estado general del animal, proteínas séricas y cambios histológicos de hígado, como es que se mantienen sin mejoría a pesar del cambio a 5% de caseína.

Los cambios notados en las mediciones de la pared intestinal van acompañados de una disminución de la circunferencia total del intestino (68) como se demuestra en la misma tabla No.10. A pesar de la existencia de estos cambios significativos, al calcular la superficie total de absorción en  $\text{cm}^2/\text{cm}$  longitud intestinal, se observa que las diferencias entre dietas y grupos de depauperación o de repletación, pierden significación estadística con la excepción del grupo de 5% durante las semanas 7a. a 9a. que es diferente a los demás grupos. Sin embargo, sí se observa una disminución de la superficie de absorción por centímetro de longitud intestinal en los grupos de depauperación tanto durante la 4a. a 6a. semanas como de la 7a. a 9a. semanas.

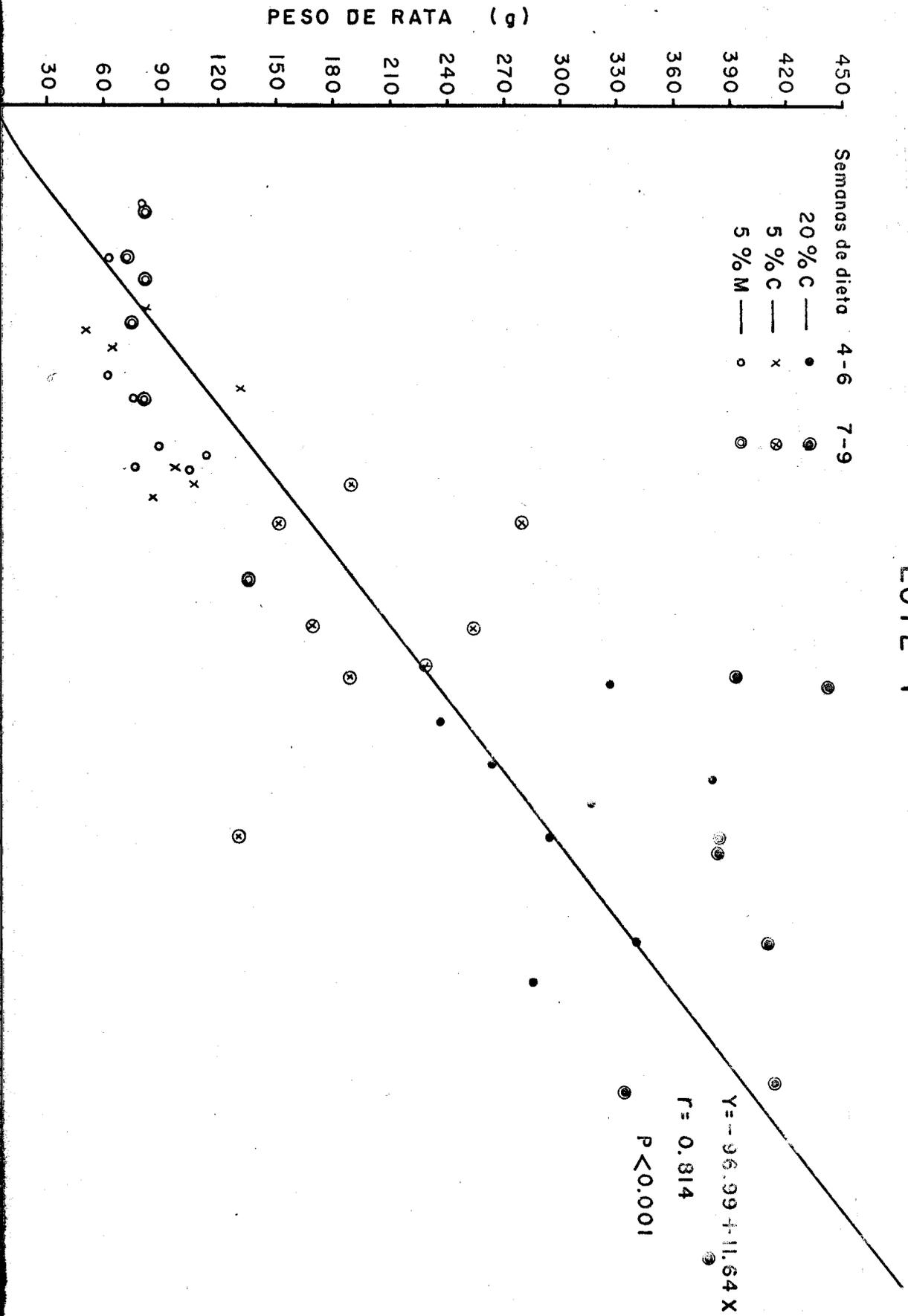
Con el objeto de determinar si el peso del intestino es particularmente afectado por la dieta pobre en proteínas, se han registrado gráficamente el peso del intestino en miligramos por

centímetro de longitud en la abscisa y el peso de las ratas en gramos, en la ordenada. El resultado expuesto en las gráficas Nos. 3 y 4 es que existe un aumento correlativo entre el peso de la rata y el peso del intestino en miligramos por centímetro, con una ecuación de regresión de  $Y = -97 + 11.64 X$  para el lote 1; y  $Y = -302 + 12.58 X$  para el lote 2, con coeficientes de correlación de 0.814 y 0.839 respectivamente, lo cual indica que el cambio en el peso de intestino en los diversos grupos de dieta está marcadamente influenciado por el cambio de peso de las ratas ( $P < 0.001$ ). Esto puede interpretarse como un índice de que en la rata desnutrida el cambio en el peso intestinal es consecutivo al cambio en el peso total de la rata; puede decirse que no existe un daño específico al intestino por las dietas pobres en proteína, sino que es un cambio general. En otras palabras, la constitución tisular de la rata pequeña por deficiencia proteica inducida por las dietas de 5% de caseína y 5% de maíz es igual a la de las ratas controles alimentadas con dieta de 20% de caseína. Esto ha sido ya sugerido en otras oportunidades por Méndez de la Vega y Tejada (60), y contrasta con lo observado en niños severamente desnutridos en donde la mucosa intestinal parece estar más afectada que la masa tisular total del organismo. Esto

GRAFICA No. 3

CORRELACION ENTRE PESO DE RATA Y PESO DE UN CENTIMETRO DE INTESTINO

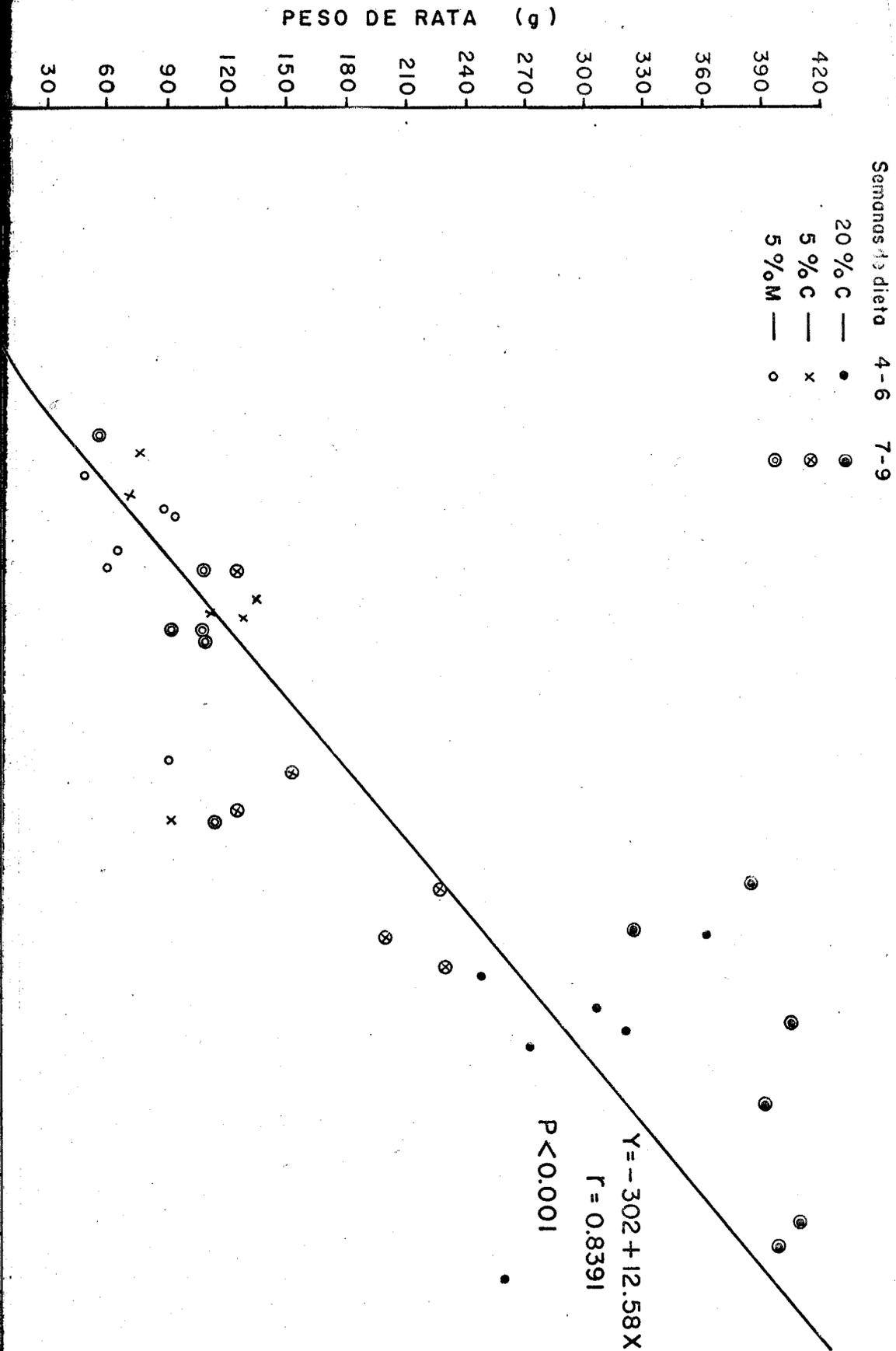
LOTE 1



GRAFICA No. 4

CORRELACION ENTRE PESO DE RATA Y PESO DE UN CENTIMETRO DE INTESTINO

LOTE 2



Se ha explicado en base a que la mucosa intestinal tiene un intercambio proteico más rápido. Se ha sugerido que de igual manera como la depauperación proteica ocurre más rápidamente en el intestino que en otros órganos, así la repletación proteica en el intestino toma precedencia a la repletación proteica tisular general. Este hecho es sugerido por el comportamiento del peso del intestino en las ratas de 5% de caseína al ser pasadas a 20% de caseína, ya que los pesos de intestino en miligramos por centímetro parecen recuperarse más rápidamente que el peso total de la rata, al compararlas a los otros grupos (gráfica No.5).

Perfusión del Asa Evertida.

Los resultados que se presentan en esta sección, se basan en un total de 45 animales experimentales del lote 1 en los cuales se logró un funcionamiento óptimo del sistema de perfusión intestinal.

En el sistema de incubación empleado, fueron colocados 16 ml de solución tampón conteniendo glucosa a la concentración de 100 mg/100 ml en el lado mucoso y 15 ml de la misma solución en el lado seroso.

#### 1. Comprobación del funcionamiento del asa.

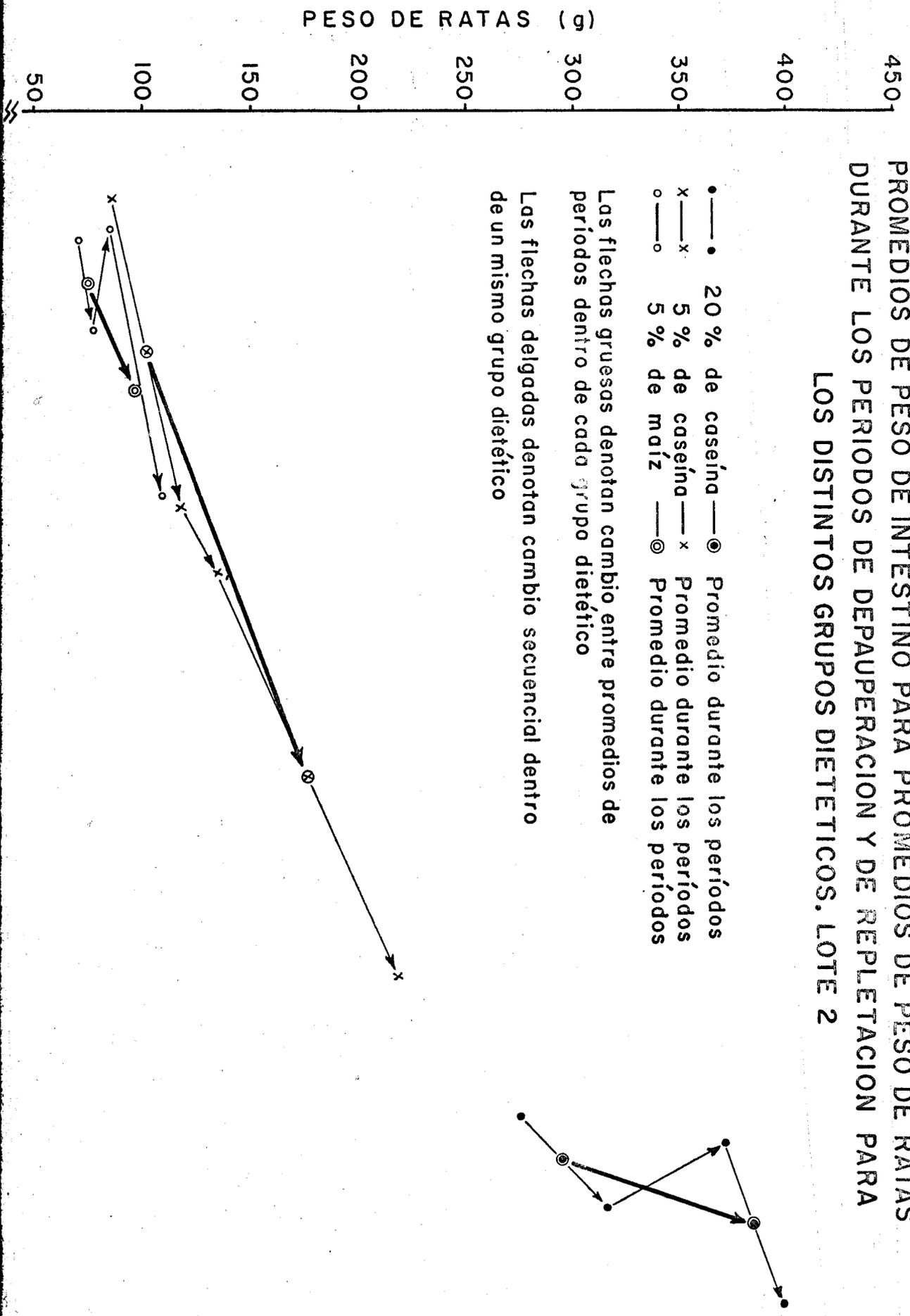
En todos los casos en que se efectuó la prueba del Azul

**GRAFICA No.5**  
**PROMEDIOS DE PESO DE INTESTINO PARA PROMEDIOS DE PESO DE RATAS**  
**DURANTE LOS PERIODOS DE DEPAUPERACION Y DE REPLETACION PARA**  
**LOS DISTINTOS GRUPOS DIETETICOS. LOTE 2**

- —● 20 % de caseína —● Promedio durante los períodos
- x —x 5 % de caseína —x Promedio durante los períodos
- —○ 5 % de maíz —○ Promedio durante los períodos

Las flechas gruesas denotan cambio entre promedios de períodos dentro de cada grupo dietético

Las flechas delgadas denotan cambio secuencial dentro de un mismo grupo dietético



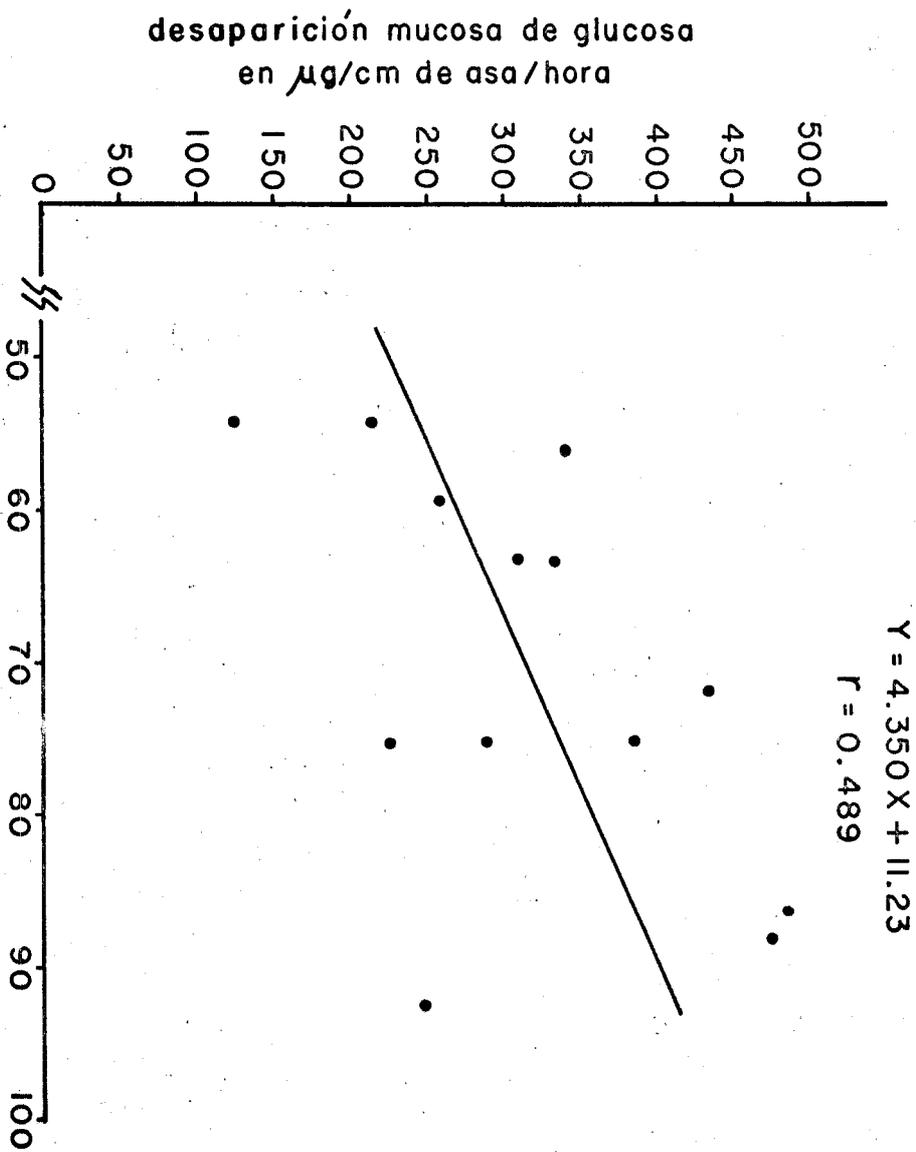
de Evans para comprobar la integridad de la pared intestinal, se encontró que éste no aparecía en el lado opuesto al que se había colocado, ya fuera del lado mucoso o del lado seroso.

En los experimentos efectuados intoxicando el asa con NaCN, se encontró que la desaparición de glucosa de uno u otro lado del intestino era mínima, indicando así que la contribución de la pared intestinal por sus características de semipermeabilidad al proceso de absorción de glucosa, es insignificante, al igual que el posible paso de glucosa del lado seroso al mucoso debido únicamente a un gradiente de concentración.

El estudio del proceso de desaparición de glucosa en el medio mucoso con diversas concentraciones de glucosa inicial - (Gráfica No.6), indica una tendencia hacia el ascenso de la desaparición en microgramos por centímetro de asa por hora conforme aumenta la concentración de glucosa inicial, hasta valores cercanos a 100 mg/100 ml. En otros experimentos efectuados con concentraciones de 250 mg/100 ml, se encontraron valores semejantes a los obtenidos con concentraciones de 100 mg/100 ml. El coeficiente de correlación ( $r=0.489$ ) sin embargo no es significativo. Este hecho se puede explicar en base a que las ratas que se sometieron a estos experimentos eran de diferente peso y como se indicará más adelante, el peso influye marcadamente en la

GRAFICA No. 6

EFFECTO DE DIVERSAS CONCENTRACIONES INICIALES SOBRE  
DESAPARICION DE GLUCOSA EN EL MEDIO MUCOSO



eficiencia del intestino en la absorción de glucosa.

## 2. Estudios de absorción intestinal.

La desaparición de glucosa del medio de perfusión mucoso, constituye la parte inicial y fundamental del proceso de absorción. La mucosa absorbe glucosa y ésta in vivo, es transportada al torrente sanguíneo, siendo utilizada únicamente una pequeña parte para el metabolismo intestinal. En situaciones in vitro, donde la irrigación sanguínea intestinal ha sido interrumpida, la mayor parte de la glucosa que penetra a la célula es metabolizada con el propósito de proveer la energía necesaria para la vida celular y únicamente una pequeña parte (10 -16% de lo absorbido) es transferida a la superficie serosa con el sistema empleado por Wilson (110) y utilizado en este estudio. Comparando los resultados obtenidos por dicho autor con los nuestros, encontramos una neta semejanza en igualdad de medidas:

	<u>Caída mucosa</u>	<u>Ganancia serosa</u>
Wilson (110)	14.5 $\mu$ M/hora/100 mg peso corporal.	2.4 $\mu$ M/hora/100 mg peso corporal.
Presente estudio	14.8 $\mu$ M/hora/100 mg peso corporal.	2.4 $\mu$ M/hora/100 mg peso corporal.

Ya que el primer fenómeno que debe ocurrir es el de la penetración de la glucosa a la mucosa intestinal, éste es el que asume mayor importancia en el sistema empleado en este trabajo y el que dá la medida más cierta del proceso de absorción intestinal. Debido a que la mayor parte de las incubaciones informadas en este trabajo fueron llevadas a cabo con un volumen de perfusión seroso de alrededor de 15 ml, con frecuencia la cantidad de glucosa transferida al lado seroso era difícilmente detectada ya que la pequeña cantidad de glucosa aparecida en este lado era diluída en un volumen apreciable, conteniendo 100 mg de glucosa /100 ml. De aquí que, aún en el caso de que fuesen transferidos hasta 5 mg totales de glucosa del lado mucoso al lado seroso, el incremento en concentración de glucosa en los 15 ml de perfusión serosa caía en su mayor parte dentro del error del método de determinación de este metabolito. De aquí que los resultados referentes a la absorción de glucosa se expresen en base a desaparición mucosa. En experimentos posteriores, se redujo el volumen de perfusión seroso de 15 ml a 4 ml, conteniendo la misma concentración de glucosa que el medio mucoso. En esos casos sí se aprecia un aumento en la concentración de glucosa en el medio de perfusión seroso. Comparando estos re-

GRAFICA No.7

VALORES DE GLUCOSA EN LOS MEDIOS DE INCUBACION UTILIZANDO

15 Y 4 ml. DE MEDIO SEROSO

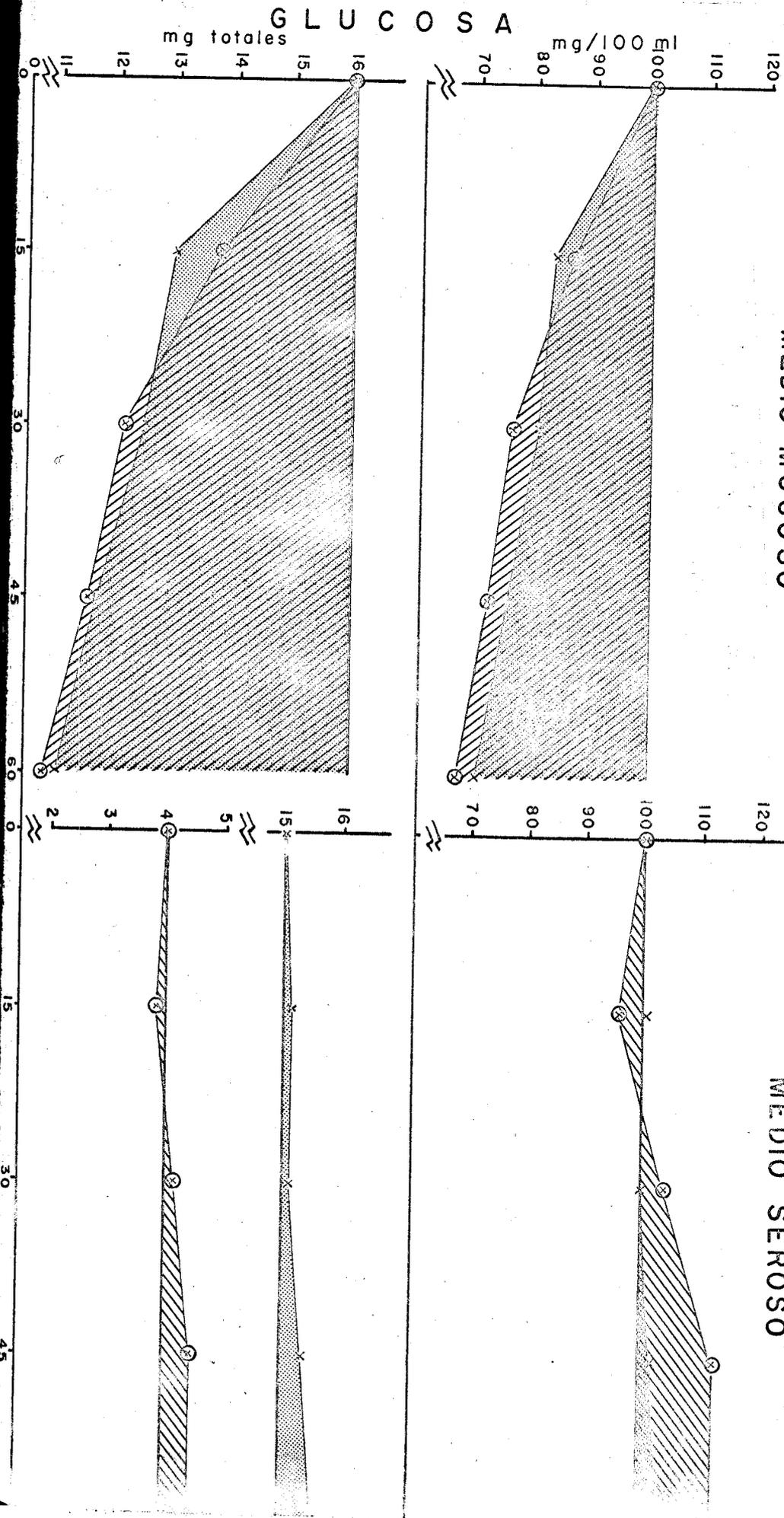
VOLUMENES DE INCUBACION

x — x MUCOSO 16 ml ; SEROSO 15 ml

⊗ — ⊗ MUCOSO 16 ml ; SEROSO 4 ml

MEDIO MUCOSO

MEDIO SEROSO



sultados con los obtenidos con el sistema que emplea mayor volumen de perfusión seroso, puede observarse (Gráfica No.7) que en términos de glucosa aparecida del lado seroso en mg totales por cm de longitud de asa, en presencia de una caída mucosa similar, este valor es semejante.

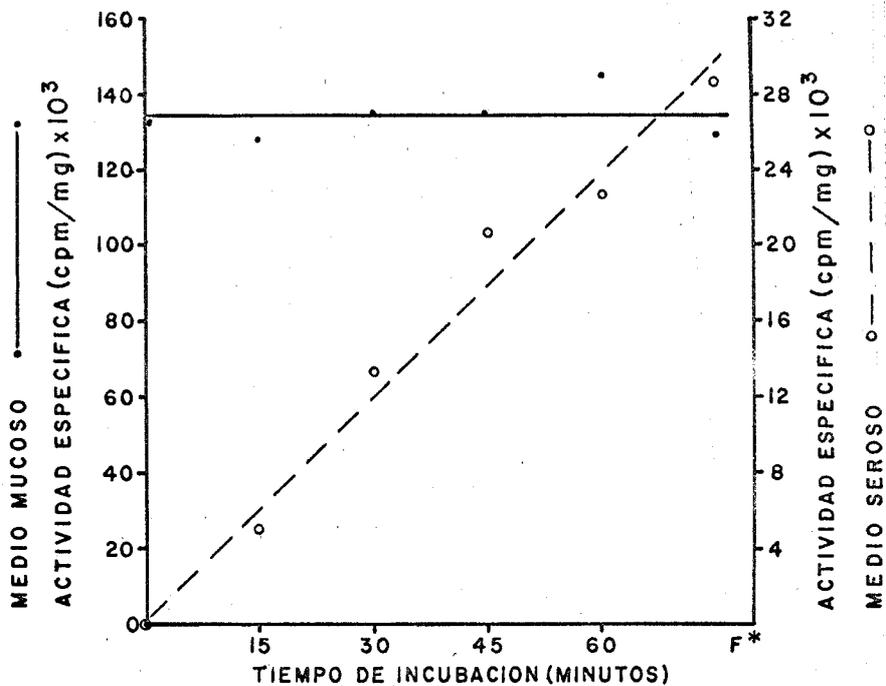
Para corroborar todavía más este punto, se corrió un experimento utilizando glucosa uniformemente marcada con carbono<sup>14</sup> en el medio de perfusión mucoso, manteniéndose la concentración de glucosa en ambos lados del intestino en 100 mg/100 ml. La medida simultánea de glucosa y de radioactividad mostró lo siguiente (Gráfica No.8) :

10. La desaparición de glucosa del medio de perfusión mucoso es paralela a la pérdida de radioactividad de este lado del intestino, indicando que la glucosa era transportada como tal a la pared intestinal.

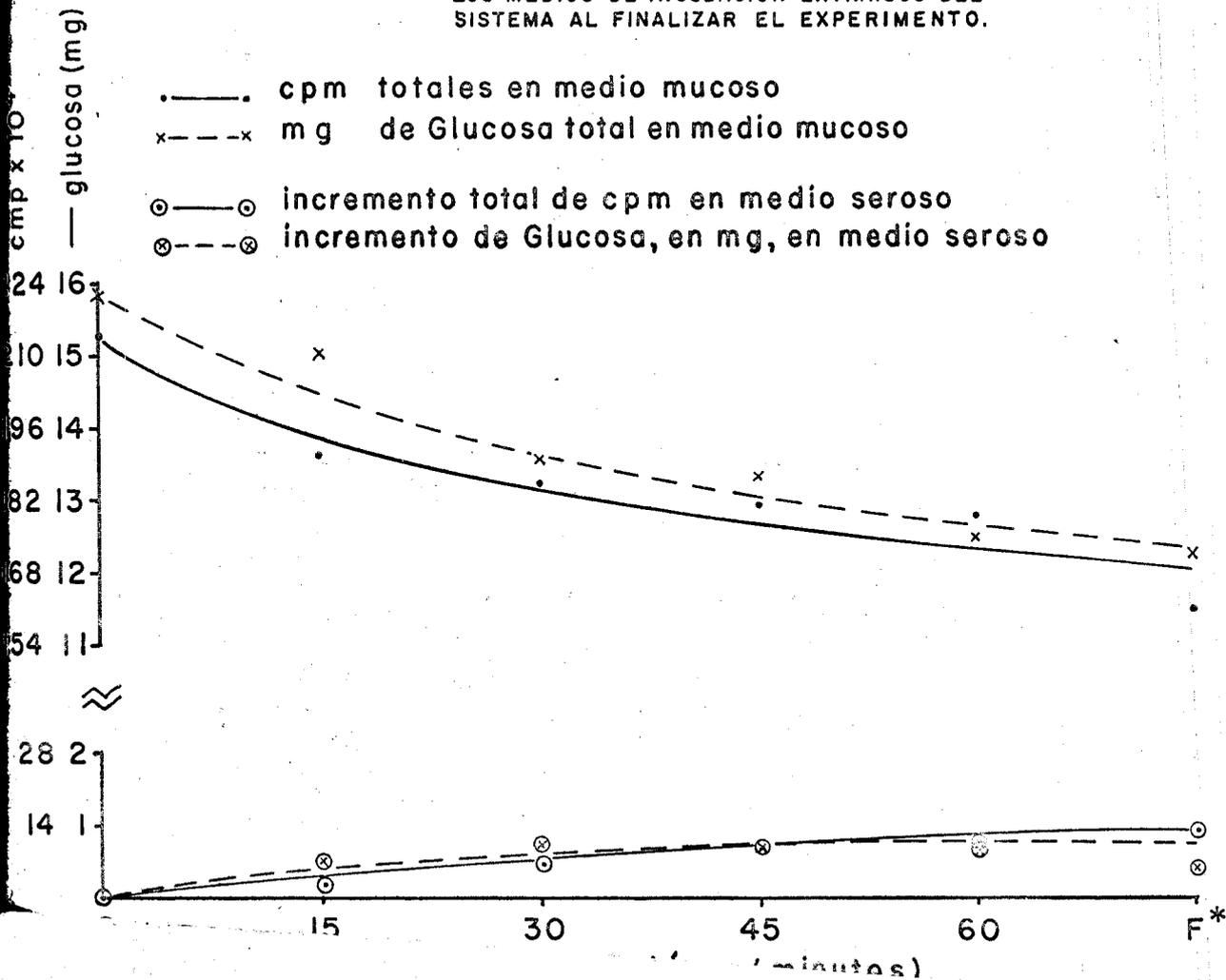
20. La glucosa que ya ha penetrado a la pared intestinal era primordialmente metabolizada. Del lado de perfusión seroso se detectó radioactividad tanto en forma de glucosa como de metabolitos que en este caso no fueron identificados (Gráfica No.9). Es importante notar que no existe reaparición de metabolitos producidos a nivel intestinal en el lado de perfusión mucoso. Esto se

GRAFICA No.8

EXPERIMENTO UTILIZANDO GLUCOSA- $C^{14}$

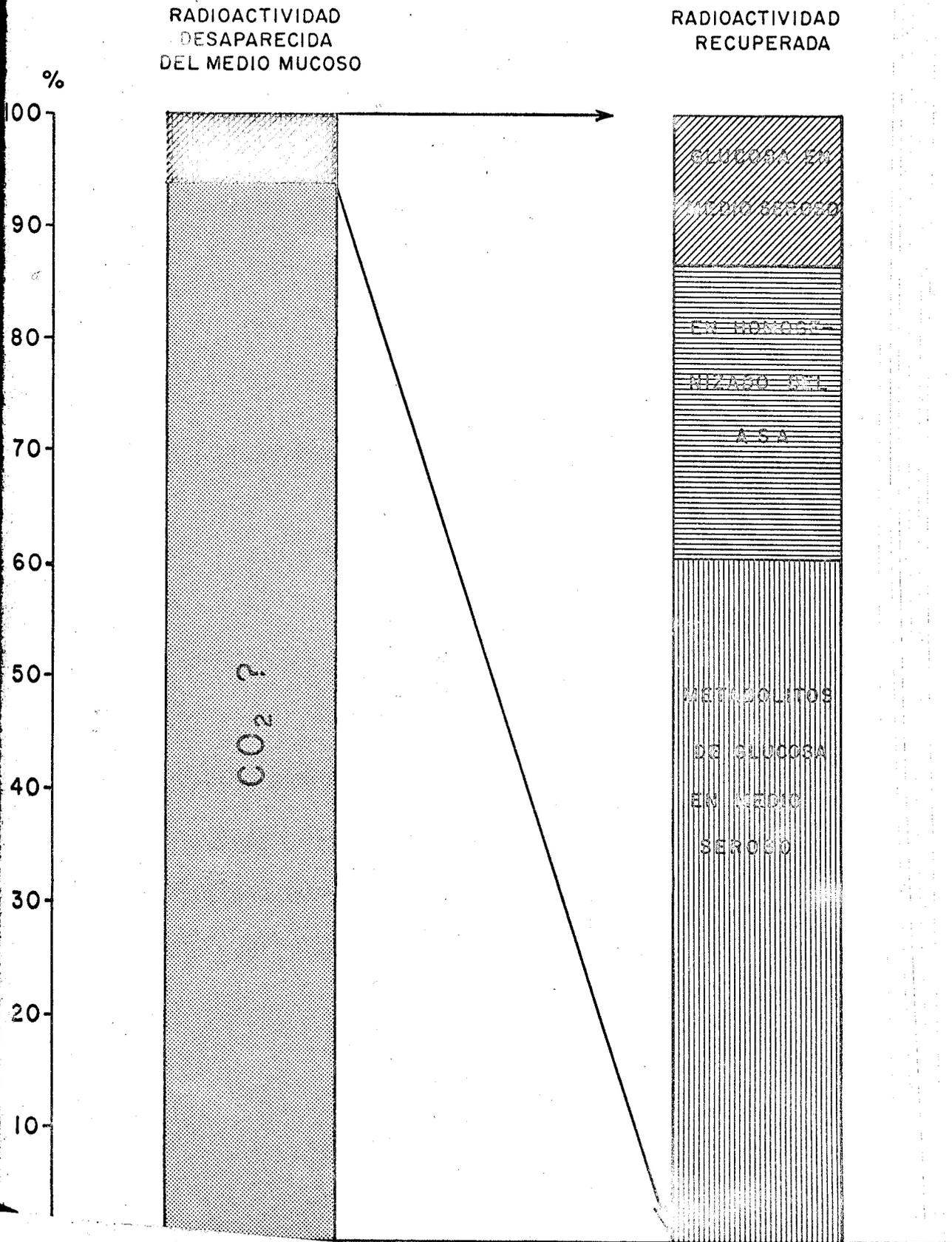


\* F = VALORES OBTENIDOS DEL VOLUMEN TOTAL DE LOS MEDIOS DE INCUBACION EXTRAIDOS DEL SISTEMA AL FINALIZAR EL EXPERIMENTO.



# GRAFICA No. 9

## DESTINO DE LA GLUCOSA ABSORBIDA EN EL EXPERIMENTO CON GLUCOSA — C<sup>14</sup>



puede concluir en base a lo ya indicado de que la caída de glucosa y de radioactividad son paralelas y de la misma magnitud en el lado mucoso.

30. Del total de radioactividad desaparecida del lado mucoso se pudo recuperar únicamente el 6.1%, existiendo un 93.9% que no se encontraba ni en el asa intestinal propiamente dicha, ni en el lado seroso del sistema de perfusión. Aunque no se colectó el gas proveniente del sistema, lo más probable, debido a la alta actividad de los procesos de glicólisis y de los ciclos de utilización de acetato en la mucosa intestinal, es que el 93.9% de la glucosa que penetró la pared intestinal se convirtió en  $\text{CO}_2$ . Esto sugiere fuertemente que la glucosa metabolizada a nivel intestinal prosigue su catabolismo a través de los ácidos tricarbónicos y no se detiene a nivel de ácido láctico, ya que de ser así, se produciría una gran cantidad de este metabolito que haría variar la concentración de hidrogeniones en el lado seroso con el consecuente cambio en pH. En las oportunidades en que se midió el pH de ambos lados del asa perfundida después de 60 minutos de incubación, se notó únicamente un cambio de 0.1 unidad de pH entre lado mucoso y lado seroso.

40. De la radioactividad aparecida en el lado seroso, 13.1% apareció en forma de glucosa y 60.6% en forma de metabolitos de glucosa

indicando que ésta había sido metabolizada a nivel intestinal y en esta forma transferida al lado seroso. Únicamente un 26.2% de la radioactividad recuperada se encontró en la pared intestinal.

Los resultados que se muestran en las tablas Nos. 11 y 12 indican la desaparición de glucosa del medio de incubación mucoso expresada tanto por longitud de asa como por peso de un centímetro de asa,  $\text{cms}^2$  de superficie de absorción total del asa incubada y % del valor inicial en contenido absoluto de glucosa. Puede observarse que en términos de microgramos por centímetro de asa por hora de incubación, no existe diferencia significativa dentro de ninguno de los grupos dietéticos tanto entre la 4a. y la 6a. semanas de dieta experimental (período de depauperación para los grupos de 5% de caseína y 5% de maíz) como entre la 7a. y 9a. semanas que constituyen el período de repletación. Puede observarse igualmente que la glucosa metabolizada y embebida en el asa en microgramos por centímetro de asa por hora (Tabla No.13), constituye la mayor proporción de la glucosa desaparecida del lado mucoso. Cabe mencionar que las diferencias entre los grupos tampoco son significativas al ser expresadas en  $\mu\text{g/cm}$  de asa/hora y que en una oportunidad parece que la glucosa metabolizada y embebida en el asa, es

ABSORCION DE GLUCOSA EN YEYUNO PROXIMAL DE RATAS EXPERIMENTALES

L O T E 1

DIETAS	20% CASEINA						5% CASEINA						5% MAIZ					
	4	5	6	2	3	3	4	5	6	1	3	3	4	5	6	3	2	3
SEMANAS	7	8	9	7	8	9	7	8	9	7	8	9	7	8	9	7	8	9
No. DE RATAS	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
Desaparición mucosa ( $\mu$ g/cm de asa/hora)	545	362	533	491	455	496	494 $\pm$ 225	484 $\pm$ 137	408 $\pm$ 140	478	474	273	109	77	139	144	127	172
Total $\bar{X} \pm$ D.E.	494 $\pm$ 225	484 $\pm$ 137	408 $\pm$ 140	478	474	273	109	77	139	144	127	172	206	184	177	206	184	177
Desaparición mucosa ( $\mu$ g/mg de peso de l cm de asa/hora)	111	128	117	281	187	224	181	241	242	181	241	242	112 $\pm$ 52	150 $\pm$ 42	189 $\pm$ 17**	150 $\pm$ 42	189 $\pm$ 17**	150 $\pm$ 42
Total $\bar{X} \pm$ D.E.	120 $\pm$ 15*	216 $\pm$ 88	219 $\pm$ 72	216 $\pm$ 88	219 $\pm$ 72	219 $\pm$ 72	173	127	187	220	164	169	333	181	171	333	181	171
Desaparición mucosa ( $\mu$ g/cm <sup>2</sup> de superficie de absorción/hora)	137	201	174	311	196	223	301	216	242	301	216	242	167 $\pm$ 76	187 $\pm$ 63	228 $\pm$ 103	167 $\pm$ 76	187 $\pm$ 63	228 $\pm$ 103
Total $\bar{X} \pm$ D.E.	175 $\pm$ 57	224 $\pm$ 119	257 $\pm$ 95	224 $\pm$ 119	257 $\pm$ 95	257 $\pm$ 95	167 $\pm$ 76	187 $\pm$ 63	228 $\pm$ 103	167 $\pm$ 76	187 $\pm$ 63	228 $\pm$ 103	167 $\pm$ 76	187 $\pm$ 63	228 $\pm$ 103	167 $\pm$ 76	187 $\pm$ 63	228 $\pm$ 103

\* Significativamente diferente a los otros dos grupos, P < 0.01

\*\* Significativamente diferente al grupo de 20%Caseína, P < 0.01

VALORES DE GLUCOSA EN EL LADO MUCOSO DESPUES DE UNA HORA DE INCUBACION

(% del valor inicial)

LOTE 1

DIETAS	20% CASEINA		5% CASEINA		5% MAIZ	
	4-6	7-9	4-6	7-9	4-6	7-9
SEMANAS						
No.de ratas	8	8	7	8	8	6
% del valor inicial	73.9 ± 3.5	74.3 ± 11.9	74.1 ± 7.0	74.0 ± 8.2	74.4 ± 2.6	78.7 ± 6.3
% del valor inicial de todas las observaciones.	74.8 ± 3.9					

ligeramente mayor que la desaparecida del lado mucoso. Este valor único se debe esencialmente al error del método.

La desaparición de glucosa del medio de incubación mucoso, así como la glucosa metabolizada y embebida en el asa, muestran sin embargo diferencias significativas entre los grupos al expresarse por miligramo de peso de un centímetro de asa. En el primer caso, durante las semanas 4a. a 6a. de dieta experimental, las ratas en 20% de caseína absorben menos glucosa por miligramo de peso por centímetro de intestino que los grupos depauperados. En el período de las 7a. a 9a. semanas, las ratas del grupo de 5% de maíz que estaban recibiendo 5% de caseína muestran una absorción significativamente mayor en términos de microgramos de glucosa por miligramo de peso por centímetro de asa. No existen diferencias entre las ratas recibiendo 20% de caseína y 5% de caseína las cuales durante este período estaban también recibiendo 20% de caseína. En cuanto a la glucosa metabolizada y embebida en el asa, las diferencias se aprecian entre el grupo de 20% de caseína y los otros dos grupos, tanto en las semanas 4a. a 6a. como en las 7a. a 9a., indicando igualmente una menor utilización de glucosa en el intestino, en base a peso por centímetro para las ratas con buena alimentación proteica.

DESAPARICION DE GLUCOSA EN YEYUNO PROXIMAL DE RÁTAS EXPERIMENTALES

LOTE 1

DIETAS	20% CASEINA			5% CASEINA			5% MAIZ		
	SEMANAS	No. DE RATAS	(µg/cm de asa/hora)	SEMANAS	No. DE RATAS	(µg/cm de asa/hora)	SEMANAS	No. DE RATAS	(µg/cm de asa/hora)
	4	5	6	4	5	6	4	5	6
	( Depauperación )			( Repletación )					
	2	3	3	1	3	3	3	2	3
Glucosa metabolizada y embebida en el asa (µg/cm de asa/hora)	488	503	519	602	467	306	518	552	458
Total $\bar{X} \pm$ D.E.	505 $\pm$ 55	417 $\pm$ 197	504 $\pm$ 123						
Glucosa metabolizada y embebida en el asa (µg/mg de peso de 1 cm de asa/hora)	121	112	120	249	181	149	179	257	191
Total $\bar{X} \pm$ D.E.	117 $\pm$ 10**	177 $\pm$ 95	203 $\pm$ 66						
	7	8	9	7	8	9	7	8	9
	546 194 436			460 --& 495			444 476 132		
	441 $\pm$ 246			478 $\pm$ 129			350 $\pm$ 200		
	109	66	111	137	--& 172	190	185	82	
	99 $\pm$ 50*	154 $\pm$ 41	152 $\pm$ 59						

\*Significativamente diferente a los otros dos grupos, P < .05

\*\*Significativamente diferente a los grupos de 5% de caseina y 5% de maíz, P < .05 y < .01 respectivamente.

& Muestras serosas perdidas durante el análisis.

Estos resultados sugieren que en las ratas depauperadas, la capacidad intestinal de absorber glucosa se mantiene a un nivel adecuado para satisfacer las necesidades de utilización alimenticia de una rata más pequeña que normalmente debería estar creciendo a una velocidad superior a la de la rata adulta. Este razonamiento se basa en el hecho de que el peso por centímetro de intestino se correlaciona con el peso total del animal con un coeficiente de correlación superior a 0.8. Por otro lado, la ingesta alimenticia en animales de diferente peso, expresada en gramos por kilogramo (Tabla No.3), es mayor en el animal más pequeño. Esto sugiere que la función intestinal del animal pequeño debe ser superior a la del animal adulto para que aún con peso menor de intestino pueda hacerse cargo de una mayor demanda de absorción impuesta por mayor ingesta por gramo de peso.

Si se analiza la desaparición de glucosa del medio de incubación mucoso expresada en microgramos por  $\text{cm}^2$  de superficie de absorción, se encuentra con que ninguno de los valores es significativamente diferente. Sin embargo existe una tendencia definitiva hacia cifras mayores de absorción en los grupos depauperados de 5% de caseína y 5% de maíz. En la Tabla No.10 se mostró que existe también una tendencia a que estos dos grupos tengan superficie de absorción

menor al grupo de 20% de caseína. Estos hechos, de nuevo sugieren que la eficiencia intestinal en absorción, es mayor en las ratas pequeñas que deben llenar requerimientos alimenticios superiores ~~por crecimiento~~, a las ratas adultas. Ello posiblemente se debe a una mejor adaptación en su capacidad enzimática, como ya ha sido señalado (67).

Durante las semanas 7a. a 9a., el grupo de 5% de maíz que se mantiene depauperado a pesar de una dieta de 5% de caseína, mantiene los mismos niveles de absorción en microgramos por  $\text{cm}^2$  de superficie de absorción por hora, a los de las ratas en dietas deficientes en proteína durante las semanas 4a. a 6a. Las ratas en 5% de caseína, que recibieron 20% de caseína durante el período de repletación y que mostraron rápido aumento de peso, disminuyeron en su capacidad absorptiva para semejarse a la de las ratas del grupo control. Estos cambios son evidentes esencialmente en todos los parámetros medidos en este trabajo, en donde se ha mostrado que las ratas depauperadas que pasan a 20% de caseína se asemejan rápidamente a las ratas del grupo control, mientras que las ratas en 5% de maíz que después consumen 5% de caseína, se mantienen depauperadas y se asemejan a las ratas que en las semanas 4a. a 6a. consumían 5% de caseína.

Los datos expresados en % del valor inicial de glucosa en el lado mucoso, después de una hora de incubación del asa intestinal, indican que la desaparición de glucosa en el medio intestinal fué muy similar en todos los grupos estudiados (Tabla No.12)

Con base en los resultados aquí expuestos, se puede concluir que, las dietas de 5% de caseína y 5% de maíz tienen un efecto primordial en detención de crecimiento tanto a nivel del cuerpo total, como a nivel intestinal. Sin embargo no existe un efecto específico que produzca una depauperación proteica mayor a nivel intestinal. Los resultados también sugieren que la capacidad absorptiva del intestino en las ratas depauperadas conserva las características propias de ratas bien nutridas, pero de tamaño menor y por lo tanto de menor edad. En otras palabras, las ratas depauperadas conservan una edad biológica reducida y mantienen la capacidad absorptiva característica de una rata bien nutrida de edad cronológica igual a la edad biológica de las ratas depauperadas.

Durante los períodos de repletación proteica, sin embargo sí parece existir una prioridad intestinal en la utilización de una dieta adecuada en proteínas, ya que el grupo de 5% de caseína

se pasó a 20% de caseína, aumenta más rápidamente el peso de su intestino por centímetro de longitud en relación al aumento de peso de la rata total. Existe igualmente un rápido cambio en las características de absorción, basadas en desaparición de glucosa del medio mucoso en microgramos por miligramo de peso de un centímetro de caseína, que las aproxima al grupo control que recibe 20% de caseína y las hace significativamente diferentes al grupo de 5% de maíz que persiste depauperado con una dieta de 5% de caseína.

### CONCLUSIONES

1o. El estudio de tres grupos experimentales de ratas de la raza Sprague-Dowley, sometidas a una dieta control de 20% de caseína y dos dietas de depauperación consistentes en 5% de caseína y 5% de maíz, sugiere que las ratas depauperadas, mantienen una edad biológica marcadamente reducida y sin embargo conservan las características intestinales de una rata adecuadamente nutrida de edad cronológica igual a la edad biológica de las ratas depauperadas.

2o. A pesar de que en términos de peso corporal, de proteínas séricas totales y de cambios histológicos en el hígado, las ratas depauperadas mostraban signos característicos de desnutrición proteica, los diversos parámetros estudiados en el intestino propiamente dicho, no muestran efectos específicos causados por la depauperación proteica. Ninguno de los cambios observados se reflejan en impedimento durante el proceso de absorción de glucosa.

3o. Las características de absorción intestinal de glucosa utilizando el sistema de perfusión in vitro de asa evertida de Wilson, hace evidente el hecho de que así como se conservan las características estructurales del intestino, se mantiene la capacidad absorptiva del mismo, con características que sugieren conservación de

función intestinal correspondiente a la edad biológica del animal experimental.

40. Estas características se resumen en mayor eficiencia de absorción intestinal a menor peso de intestino por centímetro y a menor peso total de rata, y por lo tanto, a menor edad biológica. Esto se explica en base a que la rata más joven debe de absorber eficientemente un mayor aporte alimenticio por gramo de peso, para llenar no sólo sus requerimientos de renovación tisular, sino también sus requerimientos marcadamente elevados de crecimiento.

50. Las ratas depauperadas proteicamente se repletan de una manera rápida al colocárseles en una dieta de 20% de caseína y asumen velocidad de crecimiento, ingesta proteica y características de proteinemia e histología hepática, de mediciones intestinales y de absorción intestinal, muy similares a las del grupo control. En este caso, sí parece existir una utilización selectiva de la proteína a nivel intestinal, que hace "madurar" al intestino más rápidamente que a la rata total. La administración de una dieta de 5% de caseína a ratas que consumían dieta de 5% de maíz, no logra modificar ni su nutrición proteica, ni sus características biológicas.

60. Los datos anteriormente anotados, contrastan con los obtenidos hasta hoy en niños con Malnutrición proteico-calórica.

o. El sistema de perfusión in vitro de asa evertida de **yeyuno**, es útil para conocer los procesos de absorción intestinal y debe aprovecharse para el estudio de los fenómenos de absorción de otros nutrientes no utilizados por la mucosa, ya que este hecho, en el caso de la absorción de glucosa, contribuye enormemente al fenómeno de absorción propiamente dicho.

RECONOCIMIENTOS

Deseo agradecer publicamente a todas aquellas personas que en una u otra forma, me brindaron su colaboración para el logro de este trabajo. Son ellas:

Sr. Jorge Emilio Meléndez  
Sr. Rubén Darío Mendoza  
Sr. Daniel Fernández  
Sra. Gloria de Orlandini  
Sr. Raúl Ovando  
Sr. Eduardo Arellano  
Sr. Ignacio Herrera  
Sr. Elio Cuéllar  
Sr. Fidelino Hernández  
Sr. Germán Sojo  
Srita. Annabelle Phefunchal  
Dr. Oswaldo Martins Reis  
Lic. infieri Guillermo Palma  
Lic. Constantino Albertazzi.

Así mismo, deseo patentizar mi reconocimiento y gratitud al Doctor Fernando E. Viteri, gracias a quien fué posible realizar

esta tesis.

La presente investigación se llevó a cabo bajo los auspicios conjuntos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (NIH) (5-RO1-AM00981-11)

BIBLIOGRAFIA

1. Agar, W.T.; F.J.R. Hird, and G.S.Sidhu. "The uptake of - aminoacids by the intestine". Biochim. Biophys. Acta. 14: 80-84, 1954.
2. Alvarado, F." D-xylose active transport in the hamster - small intestine". Biochem. Biophys. Acta 112 (2): 292-306, 1966.
3. Archibald, R.M., E.G.Frame and D.Senesky. "Nitrogen by the Kjeldahl method". In: Seligson, D., ed. Standard methods of clinical chemistry. New York, Academic Press Inc., 1958. v.2, pp.:91-99.
4. Armstrong, W.D., C.W.Carr. "Physiological Chemistry. Lab - oratory directions". 2nd. ed. Minneapolis, Minn. Burgess Publishing Company. 1957. p.83.
5. Astaldi, G. et al. "Misura e particolarità della mucosa di- giunale normale ottenuta con biopsia perorale". Minerva Gas- troent., 10 (3): 121-125, 1964.
6. Béhar, M. et al. "Desnutrición severa en la infancia". Rev. Col. Med. Guatemala, 7 (4):221-278, 1956.
7. Benson Jr., J.A., and A.J. Rampone. "Gastrointestinal Absorp- tion". Ann.Rev.Physiol., 28: 201-226, 1966.
8. Bosačková, J, and R.K.Crane. "Studies on the mechanism of intestinal absorption of sugars". VIII. Cation inhibition of active sugar transport and Na influx into hamster small intestine, in vitro". Biochim.Biophys. Acta. 102:423-435, 1965.
9. Boyne, R., B.F.Fell, and I.Robb. "The surface area of the intestinal mucosa in the lacting rat". J. Physiol. 183: 570-575, 1966.
10. Brise, H., and L. Hallberg. "A method for comparative studies on iron absorption in man using two radioiron isotopes" Acta Med.Scand., 171, suppl.376: 3-22, 1962.

11. Burman, D. "The jejunal mucosa in Kwashiorkor". Arch. - Diseases Childhood, 40:526-531. 1965.
12. Chapman, D.G., R. Castillo, and J.A.Campbell. "Evaluation of protein in foods. 1. A method for the determination of protein efficiency ratios". Can.J.Biochem.Physiol. 37: 679-686, 1959.
13. Cooper, H. et al. "A method for studying absorption of water and solute from the human small intestine". Gastroenterology. 50 (1): 1-7, 1966.
14. Cori, C.F. "The fate of sugar in the animal body. I.The rate of absorption of hexoses and pentoses from the intestinal tract". J.Biol.Chem. 66: 691-715, 1925.
15. Crane, R.K., "Intestinal absorption of sugars"., Physiol. Rev., 40: 789-825, 1960.
16. \_\_\_\_\_. "Studies on the mechanisms of intestinal absorption of sugars. III Mutual inhibition, in vitro, between some actively transported sugars". Biochim. Biophys. Acta. 45: 477-482, 1960.
17. \_\_\_\_\_, D. Miller, and I.Bihler. "The restrictions on possible mechanisms of intestinal active transport of - sugars. In: Kleinzeller, A. and A.Kotyck, eds. "Membrane transport and metabolism". London. Academic Press, 1961. pp.439-449.
18. \_\_\_\_\_, G.Forstner, and A. Eichholz."Studies on the - mechanism of the intestinal absorption of sugars. X. An effect of Na concentration on the apparent Michaelis constant for intestinal sugar transport, in vitro". Biochim.Biophys. Acta. 109 (2): 467-477, 1965.
19. \_\_\_\_\_, and P. Mandelstam. "The active transport of - sugars by various preparations of hamster intestine". Biochim. Biophys. Acta. 45: 460-476, 1960.
20. \_\_\_\_\_, S.M. Krane. "On mechanism of intestinal absorption of sugars". Biochim.Biophys. Acta. 20: 568-569, 1956.

21. \_\_\_\_\_, T.H.Wilson. "In vitro method for the study of the rate of intestinal absorption of sugars". J. Appl.Physiol. 12: 145 -146, 1958.
22. Creskoff, A.J., T.Fitz-Hugh Jr. and E.J. Farris. "Hematology of the rat-methods and standards". In: Farris, E.J. and J.O. Griffith Jr. eds., 2nd. ed. Philadelphia, J.B.Lippincott - Company, 1949. pp.406-420.
23. Curran, P.F. and A.K. Solomon. "Ion and water fluxes in the ileum of rats", J.Genet. Physiol. 41: 146-168, 1957.
24. Darlington, W.A., and J.H.Quastel. "Absorption of sugars from isolated surviving intestine". Arch. Biochem. Biophys. 43 : 194-207, 1953.
25. Escobar, C. y J. Méndez de la Vega. "Estudios microelectroforéticos de las proteínas séricas en grupos normales de la ciudad de Guatemala y en diversos casos patológicos". Bol. Ofic.Sanit.Panam. 35: 17-25, 1953.
26. Escribano, J. y F. Ponz. "Nuevos inhibidores enzimáticos que afectan a la absorción intestinal de glucosa". Rev.Esp.Fisiol. 11 (2): 153-180, 1955.
27. Etienne, M. "Physiologie de l'absorption intestinale des glucides et de leur élimination".Rev.Prat., 15 (14): 1839-1857, 1965.
28. Fehér, I., P.Kertai, and T.Gáti. "The role of the ATP- content of the intestinal mucosa in the absorption of glucose". Acta Physiol. Hung. 10: 19-32, 1956.
29. Fisher, R.B., and D.S.Parsons. "Glucose absorption from surviving rat small intestine".J.Physiol. 110:281-293,1950.
30. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. "A preparation of surviving rat small intestine for the study of absorption". J. Physiol. 110: 36-46, 1949.

31. Flores, M. "Malnutrición proteico-calórica. Investigación de algunos aspectos de la absorción intestinal". Tesis. Guatemala, Universidad de San Carlos, Fac. de Ciencias Médicas, 1964. 180 p.
32. Flynn, R.J., "Curso teórico-práctico de crianza de animales de laboratorio y prevención de sus enfermedades". Dictado en la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Autónoma de México, México, 1955?. 66 p.
33. Gillman, J. and C.Gilbert. "Aspects of nutritional liver - disease-human and experimental". In: Miner, R.W., ed. - "Nutritional factors and liver diseases". New York, Annals of the New York Academy of Sciences., 1954, v.57.Art.6, pp. 737-749.
34. Goettsch, M. "Dietary methods for induction of necrotic liver degeneration". In: Miner, R.W. ed. "Nutritional factors and liver diseases", New York, Annals of the New York Academy of Sciences, 1954, v.57. Art. 6. pp.839-842.
35. Halliday, R. and R.A.Kekwick. "Electrophoretic Analysis of the sera of young rats". Proc.ROY.Soc.B., 146 : 431-437, 1957
36. Hamilton, L.F., and S.G. Simpson. "Nitrogen method" In: Talbot's quantitative chemical analysis, 9th ed., New York, The MacMillan Co., 1947. pp.355 -359. Referido en: Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá. Métodos de Laboratorio. Análisis de Alimentos, Guatemala, Laboratorio de Análisis de Alimentos, 1964. v.1, pp.18-20.
37. Hartroft, W.S. "The sequence of pathologic events in the development of experimental fatty liver and cirrhosis". In: - Miner, R.W. ed. "Nutritional factors and liver diseases". New York, Annals of the New York Academy of Sciences., 1954, v. 57. (6), pp.633-645.
38. Haubrich, W.S. et al. "Electron Microscopy of the free border of the human intestinal epithelial cell". Henry Ford Hosp.Med. Bull., 7: 113-122, 1959.

39. Hegsted, B.M. et al. "Choline in the nutrition of chicks". *J.Biol.Chem.* 138: 459-466, 1941.
40. Herman, H. "La importancia de la electroforesis en papel en la investigación clínica". Tesis. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas, 1963. 180 p.
41. Hestrin-Lerner, S., and B. Schapiro. "Absorption of glucose from the intestine. I. In vitro studies". *Biochim. Biophys. Acta.*, 12: 533-541, 1953.
42. Hokin, L.E., and M.R.Hokin. "Studies on the enzymic mechanism of the sodium pump". In: Kleinzeller, A., and A.Kotyk. eds. "Membrane transport and metabolism". London, Academic Press, 1961. pp: 204-218.
43. Jiménez Díaz, C. et al. "El mecanismo de las cirrosis hepáticas experimentales dietéticas. (Estudio anatomopatológico)". *Rev.Clin.Española*, 24 (5): 325-342, 1947.
44. Jones, P.E.H. "The absorption of glucose and xylose by adult and newborn rats". *J.Physiol.*, 113: 276-282, 1951.
45. Kertai, P., I. Fèher, and T. Gáti. "The role of the ATP-content of the intestinal mucosa in the absorption of various substances". *Acta Physiol. Hung.*, 10: 33-41, 1956.
46. Kiyasu, J.Y., and I.L. Chaikoff. "On the manner of transport of absorbed fructose". *J.Biol.Chem.*, 224: 935-939, 1957. Citado en Wilson, T.H. (109).
47. Korelitz, B.I., and H.D.Janowitz. "The physiology of intestinal absorption". *J.Mount.Sinai.Hosp. N.Y.* 24 181-205, 1957.
48. Krebs, H.A., und K. Henseleit. "Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper". *Physiol.Chem.* 210: 33-66, 1932.
49. Lambert, R., et F.Martin. "Notions récentes sur la sécretion et l'absorption intestinales". *Presse Med.* 74 (9): 441-445, 1966.
50. Larralde y F.Ponz. "Acción de los fosfatos sobre la absorción intestinal de glucosa". *Rev.Esp.Fisiol.*, 6 (3) : 169-175, 1950.

51. Layrisse, M., et al. "Hookworm anemia": Iron Metabolism and Erythrokinetics". *Blood*, 18: 61-72, 1961.
52. Leblond, C.P., and B.E. Walker. "Renewal of cell populations". *Physiol. Rev.* 36 (2): 255-276, 1956.
53. Lillie, R.D. "Histopathologic technic and practical histo - chemistry". New York, Mc Graw-Hill Book Co. 1954. pp.29-35.
54. Lluch, M. and F.Ponz. "Ouabain- $\text{Na}^+$  relation in the inhibition of the active transport of sugars by the intestine in vivo". *Rev.Esp.Fisiol.* 20 (4): 185-191, 1964.
55. Madanagopalan, N., M.Shiner, and B.Rowe. "Measurements of small intestinal mucosa obtained by peroral biopsy". *Am. J. Med.* 38: 42-53. 1965.
56. Magee, H.E. "The role of the small intestine in nutrition" *Physiol. Rev.* 10: 473-505, 1930.
57. Mansford, K.R.L. "A preparation of surviving small intestine for the study of absorption in mammalian species". *J.Physiol.* 180: 722-734, 1965.
58. Marks, V. and K.Lloyd. "Preservation of blood samples for glucose analysis by glucose-oxidase". *Clin Chim.Acta.*, 8:326., 1963.
59. Mason, H.S., I. Onopryenko, and D.Buhler. "Hydroxylation: the activation of oxygen by peroxidase". *Biochim.Biophys.Ac-ta.*, 24: 225-226, 1957.
60. Méndez de la Vega, J. and C. Tejada. "Liver composition in Kwashiorkor and Marasmus". *Exp.Molec.Path.*, 1 (4): 344-352, 1962.
61. Messer, M., C.M. Anderson, and R.R.W. Townley. "Peptidase activity of biopsies of the duodenal mucosa of children with and without coeliac disease". *Clin.Chim.Acta.*, 6: 768' -775, 1961.

62. Moore, D.H. "Clinical and Physiological applications of electrophoresis". In: Bier, M., ed. "Electrophoresis. - Theory, Methods and Applications". New York, Academic Press Inc., 1959, pp 369-425.
63. \_\_\_\_\_ "Species differences in serum protein patterns". J.Biol.Chem. 161: 21-32, 1945.
64. Murray, M.J., J.P.Delaney, and N. Stein. "Use of isolated subcutaneous intestinal loops for direct study of intestinal absorption of radioisotopes in dogs". Am.J.Digest.Diseases., 9 (10): 684-689, 1964.
65. Newey, H., P.A.Sanford, and D.H.Smyth. "Location of function in the intestinal epithelial cell in relation to carbohydrate absorption". J.Physiol., 168: 423-434, 1963.
66. Parsons, D.S. and J.S. Prichard. "Hydrolysis of disaccharides during absorption by the perfused small intestine of amphibia". Nature. 208 (5015): 1097-1098, 1965.
67. Pineda, O., and T. de Dios. "Metabolic adaptation to stress. Liver enzymes". Fed.Proc., 25: 606, 1966.
68. Platt, B.S., C.R.C.Heard, and R.J.C. Stewart. "Experimental protein-calorie deficiency". In: Munro, H.N. and J.B. Allison, eds. "Mammalian protein metabolism". New York. Academic Press, 1964; v.2; pp:445-521.
69. Ponz, F. y J.Larralde. "La absorción de azúcares en función del pH intestinal". Rev.Esp.Fisiol., 6 (4): 255-269, 1950.
70. \_\_\_\_\_ and M.Lluch. "Influence of the Na<sup>+</sup> concentration on the in vivo intestinal absorption of sugars". Rev.Esp. Fisiol., 20 (4): 179-184, 1964.
71. Porter, G. "The Norway Rat". In: Worden, A.N. and W. Lane-Petter, eds. "The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals". 2nd. ed. London, England. Published by UFAW (The Universities Federation for Animals Welfare), 1959, pp. 344-377.

72. Saltman, P. and H. Helbock. "The regulation and control of intestinal iron transport". Department of Biochemistry, - University of Southern California. Los Angeles, California. (sin publicar).
73. Scrimshaw, N.S., M. Guzmán y J. Méndez de la Vega. "Interpretación de los valores proteicos del suero humano en la América Central y Panamá". Bol. Ofic. Sanit. Panamer. 30: 672-685, 1951.
74. Sheehy, T.W. and M.H. Floch. "The small intestine. Its - function and diseases". New York, Harper & Row Publishers, 1964. pp.3-60.
75. Shils, M.E. and W.B. Stewart. "Development of portal fatty liver in rats on corn diets; response to lipotropic agents". Proc.Soc.Exp. Biol.Med., 85: 298-303, 1954.
76. Shiner, M. and R.A.B. Drury. "Abnormalities of the small intestinal mucosa in Crohn's disease (Regional enteritis)". Am.J.Dig.Dis., 7:744-759, 1962.
77. Smyth, D.H. and C.B. Taylor. "Transfer of water and solutes by an in vitro intestinal preparation". J.Physiol., 136: 632-648, 1957.
78. Snedecor, G.W. "Statistical Methods". 5th ed. Iowa. The Iowa State College, 1957, pp: 1-84, 237-290.
79. Sols, A., and F. Ponz. "A new method for the study of intestinal absorption". Rev. Esp.Fisiol., 3 (3): 207-211, 1947.
80. \_\_\_\_\_."Nueva técnica para el estudio de la absorción intestinal y datos para la mejor interpretación del mecanismo de la absorción selectiva de glúcidos en relación con la fosfatasa de la secreción intestinal". Rev.Esp.Fisiol., 2 (3 y 4): 283-384, 1946.
81. \_\_\_\_\_ y G. De la Fuente. "Glucosa Oxidasa en análisis. Rev. Esp. Fisiol., 13 (4): 231-245, 1957.

82. Somogyi, M. "Determination of blood sugar". *J. Biol. Chem.* 160: 69-73, 1945.
83. \_\_\_\_\_ . "Notes on sugar determination". *J. Biol. Chem.*, 195: 19-23, 1952.
84. Spector, W.S., ed. "Handbook of Biological Data". Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1956. p.72.
85. Spencer R.P. "Sites of intestinal absorption". *Conn. Med.*, 28 (10): 740-742, 1964.
86. \_\_\_\_\_ , and A.H. Samiy. "Intestinal transport of l-tryptophan in vitro: inhibition by high concentrations". *Am. J. Physiol.*, 199 (6): 1033-1036, 1960.
87. \_\_\_\_\_ , and K.R. Brody. "Biotin transport by small intestine of rat, hamster and other species". *Am. J. Physiol.*, 206 (3): 653-657, 1964.
88. \_\_\_\_\_ , et al. "Studies of intestinal absorption of l-ascorbic acid-1-C<sup>14</sup>". *Gastroenterology*, 44 (6): 768-773, 1963.
89. \_\_\_\_\_ . "In vitro intestinal transport of imino acids". Reprinted from *THE PHYSIOLOGIST*, 5 (3), n.p. August 1962.
90. Stenram, U. "Nucleolar size in the liver of rats fed on high and nonprotein diets after starvation". *Acta Anat.*, 26: 350 - 359, 1956.
91. Stewart, W.B. "The development and prevention of fatty livers of portal type". *Bull. N.Y. Acad. Med.*, 32 (5): 394-395, 1956.
92. Swanson, V.L. and R.W. Thomassen. "Pathology of the jejunal mucosa in tropical sprue". *Am. J. Pathol.*, 46 (4): 511-551, 1965.
93. Thiry, L. "Über eine neue methode, den dünndarm zu isolieren". *Sitz. Akad. Wien, Math.-Natur. Kl. I.*, 50: 77-96, 1864, citado en Wilson, T.H. (109).

94. Thompson, R.H. "Colorimetric glucose oxidase method for - blood glucose". *Clin.Chim.Acta.*, 13: 133-135, 1966.
95. Umaña, R. "The effect of protein deficiency on the proteolytic activity of rat liver". *Fed.Proc.*, 25:606, 1966.
96. \_\_\_\_\_. "Effect of protein malnutrition on the DNA content of rat liver". *J.Nutr.*, 85 (2): 169-173, 1965.
97. \_\_\_\_\_ y C. Tejada. "Reproducción, en la rata blanca, de algunas características de las desnutrición proteico-calórica humana". *Arch.Venezolanos Nutr.*, 15: 33-51, 1965.
98. Umbreit, W.W., R.H. Burris, and J.F. Stauffer. "Manometric techniques". 4th Ed., Minneapolis. Burgess Publishing Co., 1964. pp.71-72, 132 - 133.
99. Varró, V. et al. "Effect of decreased local circulation on the absorptive capacity of a small-intestine loop in the dog". *Am. J.Digest. Diseases*, 10 (2): 170-177, 1965.
100. \_\_\_\_\_, "Glucose absorption in relation to ATP content of the small-intestinal mucosa in the dog". *Am.J.Digest.Diseases*, 10 (2): 178-182, 1965.
101. Vidal-Sivilla, S. "Absorción intestinal de soluciones hipertónicas de glucosa y su influencia sobre la capacidad de absorción". *Rev.Esp.Fisiol.*, 6 (3): 143-156, 1950.
102. \_\_\_\_\_. "Influencia de la concentración en la absorción intestinal de glucosa". *Rev.Esp.Fisiol.*, 6 (2): 131 -142, 1950.
103. \_\_\_\_\_. "La medida del asa y la variabilidad de los resultados en los métodos de absorción intestinal". *Rev.Esp.Fisiol.*, 8 (4): 269-278, 1952.
104. \_\_\_\_\_. "Sobre los resultados de absorción intestinal en los animales adrenalectomizados". *Rev.Esp.Fisiol.* 10(4): 203-223, 1954.

105. \_\_\_\_\_, A.Sols y F.Ponz. "Observaciones al método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz". Rev. Esp.Fisiol., 6 (3): 195-205, 1950.
106. Viteri, F. y A.G.Pezzarossi. (Sin publicar).
107. \_\_\_\_\_ et al. "Clinical aspects of Protein Malnutrition". In: Munro, H.N. and J.B. Allison, eds. "Mammalian Protein Metabolism"., New York, Academic Press, 1964, v.2, pp:523-568.
108. \_\_\_\_\_ and R. Galindo. "Protein-calorie malnutrition in adults". Fed.Proc. 23 (2): 399, 1964.
109. Wilson, T.H. "Intestinal Absorption". Philadelphia. W.B. - Saunders Company, 1962. 263.p.
110. \_\_\_\_\_. "A modified method for study of intestinal absorption in vitro". J.Appl.Physiol., 9:137-140, 1956.
111. \_\_\_\_\_ and A.De Carlo."A student laboratory exercise illustrating active transport across the small intestine". J.Appl.Physiol., 20 (5): 1102-1105, 1965.
112. \_\_\_\_\_ and G. Wiseman. "Metabolic activity of the small intestine of the rat and golden hamster (*Mesocricetus auratus*)". J.Physiol., 123: 126-130, 1954.
113. \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. "A method for studying intestinal metabolism and absorption". J.Physiol., 121: 45 p., 1953.
114. \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. "The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface". J.Physiol., 123: 116-125, 1954.
115. \_\_\_\_\_, and T.N.Vicent. "Absorption of sugars in vitro by the intestine of the golden hamster". J.Biol.Chem., 216: 851-866, 1955.
116. \_\_\_\_\_ et al. "Intestinal transport of sugars and amino acids".Fed.Proc. 19: 870-875, 1960.

117. Wiseman, G. "Absorption of amino-acids using an in vitro technique". J.Physiol. 120: 63-72, 1953. citado en: Wilson, T.H. (109).
118. \_\_\_\_\_."Absorption from the intestine". London. Academic Press, 1964. 564 p.
119. Zetterqvist, H. "The ultrastructural organization of the - columnar absorbing cells of the mouse jejunum. An electron microscopic study including some experiments regarding the problem of fixation and an investigation of vitamin A - deficiency". Stockholm. Department of Anatomy, Karolinska Institutet, 1956, 83 p.

---

Br. Angel G. Pezzarossi S.

Vo.Bo.

---

Dr. Fernando E. Viteri  
Asesor .

---

Dr. Fernando Molina B.  
Revisor

RESUMEN DE LA TESIS : "ABSORCION INTESTINAL DE GLUCOSA EN RATAS CON DIVERSOS GRADOS DE DESNUTRICION PROTEICA, UTILIZANDO ASAS EVERTIDAS DE YEYUNO. Presentada por el Bachiller Angel Guillermo Pezzarossi, previo a optar el título de Médico y Cirujano.

Estudios sobre absorción intestinal en niños desnutridos, llevados a cabo en la División Biomédica del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), indicaron que a mayor depauperación proteica, menos eficiente era la capacidad de absorción de glucosa. Esta función intestinal, se recuperaba conforme se alcanzaba una adecuada nutrición proteica, mostrando un alto coeficiente de correlación.

Con el objeto de estudiar posibles mecanismos a nivel intestinal propiamente dicho de estos fenómenos, se investigaron tres grupos de ratas de la raza Sprague-Dowley a quienes se les administró una dieta balanceada en todos sus aspectos, salvo en cuanto a cantidad y calidad de proteína. Para este efecto, a un grupo control de animales se les administró una dieta conteniendo 20% de caseína y a dos grupos de depauperación proteica, se les administró dietas conteniendo 5% de caseína o 5% de maíz. Después de un período de 6 semanas, los animales en dietas de depauperación,

se cambiaron de dieta con el objeto de producir repletación proteica: los animales en 5% de caseína recibieron una dieta de 20% de caseína y los animales en 5% de maíz, recibieron una dieta de 5% de caseína. En estas dietas permanecieron tres semanas más.

Los estudios efectuados con estos grupos experimentales consistieron en la medición de los siguientes parámetros:

- 1o. Características del animal: peso, ingesta alimenticia, proteínas séricas totales e histología hepática.
- 2o. Características intestinales, consistentes en : peso por cm de longitud, contenido de nitrógeno; apariencia histológica, circunferencia, espesor total de pared, altura de las vellosidades, espesor de mucosa propiamente dicha, espesor de capa muscular intestinal y superficie de absorción.
- 3o. Medición seriada del proceso de absorción de glucosa por medio de un sistema de perfusión in vitro de yeyuno evertido, en donde se determinó durante una hora, la glucosa desaparecida del medio de incubación mucoso, la glucosa aparecida en el medio de incubación seroso, y la glucosa metabolizada. Se comprobó el adecuado funcionamiento del sistema de perfusión in vitro, haciendo experimentos con Azul de Evans al 1/5000 puesto en el lado mucoso o el lado seroso del asa perfundida; utilizando asas intestinales intoxicadas

por cianuro de sodio al 0.01 molar; y ~~mid~~idiendo las diversas características del proceso de absorción de glucosa uniformemente marcada con Carbono<sup>14</sup>. Los resultados de esta investigación pueden resumirse en:

1o. Las ratas puestas en dietas de 5% de caseína y 5% de maíz, mantienen una edad biológica marcadamente reducida y sin embargo conservan las características intestinales de una rata adecuadamente nutrida de edad cronológica igual a la edad biológica de las ratas depauperadas.

2o. A pesar de que en términos de peso corporal, de proteínas séricas totales y de cambios histológicos en el hígado, las ratas depauperadas mostraban signos característicos de desnutrición proteica, los diversos parámetros estudiados en el intestino propiamente dicho, no muestran efectos específicos causados por la depauperación proteica. Ninguno de los cambios observados se reflejan en impedimento durante el proceso de absorción de glucosa.

3o. Las características de absorción intestinal de glucosa utilizando el sistema de perfusión in vitro de asa evertida de Wilson, hace evidente el hecho de que así como se conservan las características estructurales del intestino, se mantiene la capacidad absorptiva del mismo, con características que sugieren conservación

de función intestinal correspondiente a la edad biológica del animal experimental.

4o. Estas características se resumen en mayor eficiencia de absorción intestinal a menor peso de intestino por centímetro y a menor peso total de rata, y por lo tanto, a menor edad biológica. Esto se explica en base a que la rata más joven debe de absorber eficientemente un mayor aporte alimenticio por gramo de peso, para llenar no sólo sus requerimientos de renovación tisular, sino también sus requerimientos marcadamente elevados de crecimiento.

5o. Las ratas depauperadas proteicamente se repletan de una manera rápida al colocárseles en una dieta de 20% de caseína y asumen velocidad de crecimiento, ingesta proteica y características de proteinemia e histología hepática, de mediciones intestinales y de absorción intestinal, muy similares a las del grupo control. En este caso, sí parece existir una utilización selectiva de la proteína a nivel intestinal, que hace "madurar" al intestino más rápidamente que a la rata total. La administración de una dieta de 5% de caseína a ratas que consumían dieta de 5% de maíz, no logré modificar ni su nutrición proteica, ni sus características biológicas.

6o. Los datos anteriormente anotados, contrastan con los obtenidos hasta hoy en niños con Malnutrición proteico-calórica.

7o. El sistema de perfusión in vitro de asa evertida de yeyuno, es útil para conocer los procesos de absorción intestinal y debe aprovecharse para el estudio de los fenómenos de absorción de otros nutrientes no utilizados por la mucosa, ya que este hecho, en el caso de la absorción de glucosa, contribuye enormemente al fenómeno de absorción propiamente dicho.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. H. H.', written in a cursive style with a horizontal line underneath.