

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**EFFECTO DE LA DESNUTRICION FETAL SOBRE
LA ACTIVIDAD DE LAS DISACARIDASAS**

(MODELO EXPERIMENTAL) *

L. VEGA-FRANCO, ‡ E. JIMÉNEZ ‡ y Y. A. PINEDA ‡

Con objeto de investigar si paralelamente a los cambios somáticos que genera la desnutrición durante la etapa fetal, existen alteraciones detectables en los sistemas enzimáticos de la mucosa intestinal, en el presente estudio se informa acerca de la actividad de las disacaridasas en ratas recién nacidas afectadas por desnutrición durante su etapa fetal.

Para esto, se produjo desnutrición intrauterina en un grupo de ratas mediante la restricción de la ingesta de alimento durante el periodo gestacional, administrando 60 por ciento de la cantidad que se determinó como normal para dicho periodo. El grupo control lo constituyeron las camadas de ratas que tuvieron una ingesta ad libitum durante la gestación.

Los resultados de la investigación demostraron que la desnutrición fetal fue reproducida en el grupo experimen-

* Estudio financiado por el Fondo para el Estudio de la Desnutrición, del Hospital Infantil de México.

‡ Hospital Infantil de México.

tal. Tanto el peso de los productos como la cantidad de proteína del homogeneizado, mostraron diferencias significativas con respecto al grupo control.

La actividad de sacarasa y la de maltasa no acusaron una diferencia significativamente importante entre ambos grupos. Sin embargo, la lactosa mostró una capacidad de hidrólisis superior en el grupo de ratas sujetas a restricción calórico-proteica durante la etapa fetal.

Se comentan los hallazgos de acuerdo a las observaciones hechas por otros investigadores acerca de la actividad de las disacaridasas en la desnutrición postnatal de las ratas. Al mismo tiempo se hace hincapié en la similitud de estos hallazgos con los del presente estudio.

Como explicación al aumento en la actividad enzimática se plantea que sea debido a la forma en que ésta es expresada, por la técnica particular utilizada en la investigación.

Durante los últimos años, el efecto de la desnutrición proteico-calórica sobre algunos de los sistemas enzimáticos de la mucosa intestinal ha sido tema de constante interés científico. Bowie y col.¹⁻³ abrieron este campo de investigación al comunicar sus observaciones acerca de la absorción deficiente de disacáridos en niños desnutridos. Mediante la estimación seriada de los niveles de glucosa en sangre después de una carga de lactosa, estos autores obtuvieron la información que justificó la obtención de especímenes de mucosa intestinal, en los que fue posible corroborar la deficiencia en la actividad enzimática.

La trascendencia clínica de este hallazgo ha sido reafirmada por otros investigadores,⁴⁻⁶ lo cual ha permitido explicar razonablemente algunos episodios de diarrea de evolución crónica en la desnutrición grave.⁷

La restricción proteico-calórica durante la etapa intrauterina se manifiesta en el recién nacido por un peso inferior al es-

perado para su edad gestacional.⁸⁻¹⁰ Aun cuando podría suponerse que paralelamente a los cambios somatométricos subsisten alteraciones funcionales detectables en algunos sistemas enzimáticos, entre ellos los de la mucosa intestinal, se carece de información a este respecto.

Restricciones de naturaleza ética impiden comprobar esta hipótesis mediante el uso de la biopsia intestinal; por ello, se ha planteado, como estrategia alterna, el diseño de un estudio en un modelo animal. En la presente comunicación se describen los hallazgos acerca de la actividad de las disacaridasas de la mucosa intestinal de ratas expuestas a desnutrición proteico-calórica durante la etapa intrauterina.

Material y métodos

El diseño de la investigación se planteó en dos etapas. La primera de ellas tuvo como objeto conocer el consumo de alimento durante la gestación, y a partir de

esta información se estableció la estrategia a seguir durante la siguiente fase.

Primera etapa. En ella se investigó la ingestión media de alimento durante el periodo gestacional de ratas de la cepa Wistar, todas ellas entre 3 y 4 meses de edad y con peso que osciló entre 200 y 250 g. Con este objeto se aparearon 9 ratas hembras con 3 ratas macho, distribuyéndolas en jaulas que contenían tres ratas hembras y una rata macho cada una. Transcurridas 72 horas de iniciado el apareamiento, las hembras fueron colocadas en jaulas metabólicas, brindándoseles una suficiente cantidad de purina (Chow) previamente pesada. Cada día durante el transcurso de la gestación se determinó, por diferencia, la cantidad de alimento consumido. En el cuadro 1 se muestra el promedio y la mediana del consumo diario durante los 21 días que constituyen el lapso gestacional de las ratas. Como se observa, la media aritmética y la mediana de consumo fueron muy semejantes. Cabe señalar que hubo un discreto aumento en el consumo de alimento durante la última semana de la gestación.

En base a esta información se calculó el 60 por ciento de la ingestión media semanal, estableciendo así como dieta de

restricción 12, 13 y 13.5 g. diarios de purina, para la primera, segunda y tercera semanas del embarazo de las ratas que integraron el material de estudio en la segunda etapa.

Segunda etapa. Se seleccionaron nuevamente, de acuerdo a los mismos criterios de edad y peso, 9 ratas hembras y 3 ratas machos. Después de transcurridas 72 horas del apareamiento, las ratas hembras fueron colocadas en jaulas individuales. A seis de ellas se les ofreció la dieta restringida a un 60 por ciento de la ingesta diaria promedio y las tres restantes constituyeron el grupo control.

Durante el transcurso de la gestación, las ratas fueron pesadas cada tercer día, hasta cumplir los 21 días del embarazo. Al nacer las camadas se separaron de la madre por un lapso de 2 horas, como periodo de ayuno previo a su sacrificio. Todas ellas fueron decapitadas durante el transcurso de las primeras 24 horas de la vida, resecando luego el intestino en todo su trayecto hasta 5 cm. antes de la margen del ano.

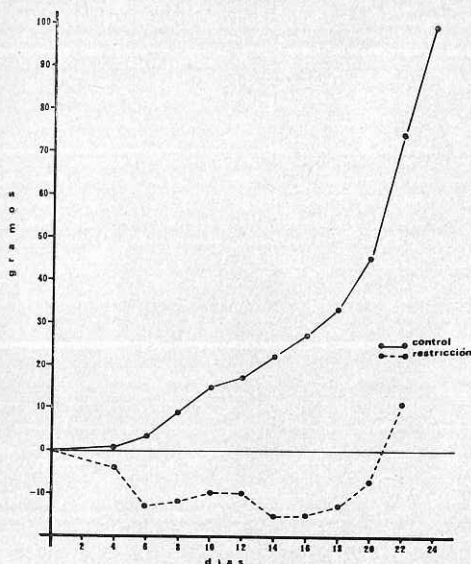
Los especímenes fueron homogeneizados a razón de 20 mg. de intestino por mililitro de agua bidestilada. Durante esta maniobra los intestinos fueron mantenidos en hielo, y después de obtenido el homogeneizado, se preservó éste en refrigeración a -20°C .

La estimación de las disacaridasas se hizo de acuerdo al método sugerido por Dahlqvist,¹¹ estimando la glucosa liberada de la hidrólisis de los disacáridos y polisacáridos, mediante el procedimiento de la glucosa oxidasa, según lo recomendado por Ruggett y Nixon.¹² La determinación de las proteínas del homogeneizado se hizo de acuerdo al método de Lowry y col.¹³

Cuadro 1 Promedio del consumo diario de alimento* en las tres semanas de gestación de 4 ratas de la cepa Wistar

Promedios	Consumo diario por semana (gramos)		
	Primera	Segunda	Tercera
Media aritmética	20.3	21.9	22.4
Mediana	19.4	20.5	21.3
60 por ciento de la media aritmética	12.2	13.1	13.4

* Purina, según fórmula de Chow.



1 Cambio de peso durante la gestación de dos grupos de ratas, según el registrado al apareamiento.

Resultados

La evolución del incremento del peso de las ratas durante la gestación se presenta en la figura 1. Como se puede ver, hubo una diferencia notoria entre ambos grupos; mientras que en el control hubo un incremento en el peso de 100 g. aproximadamente, en el grupo de ratas sujetas a restricción proteico-calórica hubo un decremento progresivo hasta el décimo quinto día, en que se inició una moderada recuperación del peso corporal; no obstante, el peso promedio de las madres al nacimiento de las camadas fue sólo discretamente mayor al registrado en el momento del apareamiento.

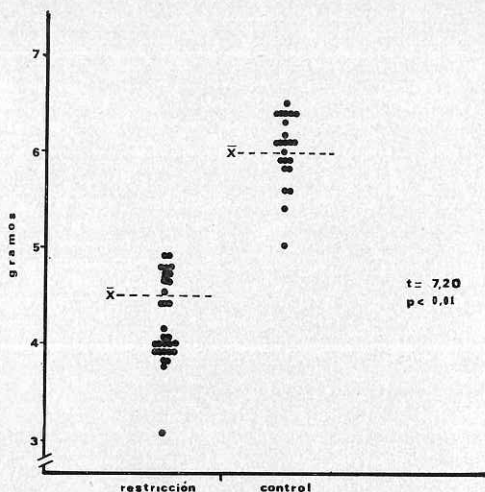
El número de ratas por camadas nacidas del grupo experimental fue de 34, de

las cuales 4 nacieron muertas; como contraste, en el grupo control hubo 24 ratas, de las cuales, únicamente hubo dos mortinatos.

Por lo que respecta al peso de las ratas recién nacidas, en la figura 2 se aprecia la dispersión de los valores en ambas series. Hubo diferencia estadísticamente significativa entre los pesos promedio de los dos grupos ($t = 7.20$, $p < 0.01$); la media aritmética del grupo experimental fue de 4.67 g., mientras que en el grupo que sirvió de control fue de 6.11 g. (cuadro 2).

La estimación de proteínas de la mucosa intestinal exhibió diferencia significativa entre los dos grupos ($t = 5.71$, $p < 0.01$); el promedio en el grupo experimental fue 1.26 mg./ml. de homo-

2 Peso de las camadas nacidas de ratas sujetas a restricción calórico-proteica y el de sus controles.



geneizado y en el control alcanzó 2.06 mg./ml. de homogeneizado (cuadro 3).

La actividad de las disacaridasas en la mucosa intestinal, expresada como micro-moles de sustrato hidrolizado por minuto y por gramo de proteína, no mostró diferencia importante para la sacarasa y la maltasa. Sin embargo, fue interesante reconocer que la actividad de la lactasa mostró una superior capacidad de hidró-

Cuadro 2 Peso de las camadas nacidas de ratas sujetas a dieta de restricción durante el embarazo y de un grupo control

Grupo	No. de ratas	Peso promedio (gramos)	"s"	Valor de "t"
Experimental	30	4.67	1.15	7.20 *
Control	23	6.11	0.36	

* $p < 0.01$.

Cuadro 3 Concentración media de proteínas * en la mucosa intestinal de camadas nacidas de ratas sujetas a dieta de restricción durante el embarazo y de un grupo control

Grupo	No. de ratas	Concentración media (mg./ml.)	"s"	Valor de "t"
Experimental	31	1.26	0.46	5.71 †
Control	23	2.06	0.86	

* Miligramos/mililitro de homogeneizado.

† $p < 0.01$.

lisis en el grupo de ratas con desnutrición fetal, lo cual sí constituyó diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control ("t" = 2.7, $p < 0.05$) (cuadro 4).

Cuadro 4 Actividad de disacaridasas en la mucosa intestinal de camadas de ratas sujetas a dieta de restricción durante el embarazo y de un grupo control *

Enzima	Grupo experimental (n = 30)			Grupo control (n = 22)			Valor de "t"
	Promedio	"s"	D. E.	Promedio	"s"	D. E.	
Lactasa	34.4	17.4	3.1	21.8	16.0	3.4	2.7 †
Sacarasa	1.5	1.1	0.2	1.8	1.4	0.3	0.7
Maltasa	19.8	17.5	3.2	26.2	17.0	3.5	1.3

* Actividad expresada como micromoles de sustrato hidrolizado por minuto y por gramo de proteína a 37°C.

† $p < 0.05$.

Comentarios

Los resultados del presente estudio no brindan un apoyo experimental a las observaciones hechas en humanos.

El peso de las camadas procedentes de las ratas sujetas a restricción fue diferente al del grupo control, lo que permite asegurar la reproducción experimental de la desnutrición intrauterina. En apoyo a lo anterior, se hizo evidente la diferencia de peso de las madres sujetas a restricción con respecto al obtenido por las que consumieron una alimentación a libre demanda. De manera semejante, Chow y Lee,¹⁴ restringiendo a 50 por ciento el consumo del mismo alimento utilizado en el presente estudio, obtuvieron diferencias importantes en el peso de ratas sujetas a la restricción, con respecto a las de un grupo de control. Estos autores encontraron también una disminución en el número de ratas por camada.

Es así como el peso de las camadas permite asegurar, fuera de toda duda razonable, que las ratas recién nacidas del grupo experimental presentaban signos de desnutrición.

La divergencia en el contenido de proteínas del homogeneizado procedente de los dos grupos estudiados confirma la existencia de un estado de nutrición di-

ferente entre ambas camadas. Así pues, aceptando este dato como un índice bioquímico de la disminución en el contenido proteico de las células —en este caso de la mucosa intestinal—, la depleción proteica fue muy significativa en las camadas procedentes de las ratas sujetas a restricción proteico-calórica.

Es interesante señalar que los intentos de reproducir en animales el efecto de la desnutrición sobre la actividad de las disacaridasas han dado lugar a hallazgos contradictorios con los comunicados en humanos. Solimano y col.¹⁵ no pudieron corroborar la disminución en la capacidad de hidrólisis de las disacaridasas, encontrando que la lactasa se mantuvo sin cambios significativos en ratas sujetas a dietas de restricción proteica, hasta por un periodo de 66 días. Sin embargo, cabe señalar que estos autores encontraron cierta elevación en la actividad de maltasa, palatinasa y sacarasa, en algunas de las ratas sacrificadas 14 y 22 días después de iniciada la dieta hipoproteica.

De manera semejante, Prosper y col.¹⁶ informan que la lactasa, la sacarasa y la maltasa preservaron un nivel de actividad comparable al de un grupo control, siendo todas ellas ratas recién destetadas.

Opuestamente a estas observaciones, Troglia y col.,¹⁷ estudiando el efecto de

la desnutrición crónica sobre la actividad de las disacaridasas en ratas adultas, encontraron un incremento de lactasa, sacarasa y maltasa. Este hallazgo persistió independientemente de expresar la actividad en función de la proteína del homogeneizado o bien como tejido húmedo.

Recientemente, Kumar y Chase¹⁸ coinciden en señalar un incremento en la actividad de lactasa en ratas desnutridas sacrificadas a las edades de 7, 8 y 115 días. En el mismo sentido, Sriratanaban y Thayel¹⁹ informan de un aumento en la capacidad hidrolítica de las disacaridasas de la mucosa intestinal de ratas sujetas a desnutrición proteica.

De esta manera, el incremento en la actividad de lactasa entre las camadas de las ratas sujetas a restricción proteico-calórica corrobora las observaciones hechas por algunos de los autores mencionados.¹⁷⁻¹⁹ Es pues interesante reconocer que las ratas sujetas a desnutrición durante la etapa fetal, presentan una expresión bioquímica semejante a la reconocida en otros estadios de su desarrollo y aun en su completa madurez.

Cabe señalar que desde el punto de vista histológico, mediante el microscopio de luz, se han podido reconocer en animales, sólo moderadas alteraciones en la mucosa intestinal^{16, 18} cuando se comparan éstas con las descritas en humanos.^{20, 21} Por otra parte, observaciones hechas con el microscopio electrónico han podido constatar la integridad de las microvellosidades y los organelos subcelulares en las células epiteliales de la mucosa intestinal de ratas desnutridas.¹⁶

Esta información adquiere importancia al analizar la diferencia en el contenido de proteínas del homogeneizado procedente de las camadas del grupo experi-

mental. Aceptando que la disminución en las proteínas del homogeneizado obedece fundamentalmente a una reducción de éstas en el citoplasma, al expresar la actividad de las enzimas por gramo de proteína se requerirá de un grupo de células inversamente proporcional a la disminución de la proteína citoplasmática. Es probable que al mantenerse preservada, al menos histológicamente, la integridad de las microvellosidades donde se localizan las enzimas, la expresión por gramo de proteína pueda dar lugar a la participación de un mayor número de células y, por consiguiente, a un nivel de actividad enzimática sólo aparentemente elevado.

Es por esto que la mayor actividad de las disacaridasas en los animales desnutridos puede obedecer a la forma de expresión de los resultados. Tal vez sería prudente considerar, en futuras investigaciones, la expresión de la actividad enzimática en función del ácido desoxirribonucleico del homogeneizado, lo cual permitiría mantener de manera más constante el número de células que intervienen al establecer la comparación en la actividad enzimática.

REFERENCIAS

1. Bowie, M. D.; Brinkman, G. L. y Hansen, J. D. L.: *Diarrhoea in protein calorie malnutrition*. Lancet 2:550, 1963.
2. Bowie, M. D.; Brinkman, G. L. y Hansen, J. D. L.: *Acquired disaccharide intolerance in malnutrition*. J. Pediatr. 66:1083, 1965.
3. Bowie, M. D.; Barbezat, G. O. y Hansen, J. D. L.: *Carbohydrate absorption in malnourished children*. Amer. J. Clin. Nutr. 20:89, 1967.
4. James, W. P. T.: *Intestinal absorption in protein calorie malnutrition*. Lancet 1:333, 1968.
5. Prinsloo, J. G.; Wittmann, W.; Pretorius, P. J.; Kruger, H. y Felligham, S. A.: *Effect of different sugars on diarrhoea of acute kwashiorkor*. Arch. Dis. Child. 44:593, 1969.

6. James, W. P. T.: *Jejunal disaccharidase activities in children with marasmus and kwashiorkor*. Arch. Dis. Child. 46:218, 1971.
7. Vega Franco, L.: *Diarrrea y desnutrición*. En: *Enfermedades diarreicas en el niño*. México, Hospital Infantil de México, 1973, p. 253.
8. Gruenwald, P.; Funakawa, H.; Nitani, S.; Nichimura, T. y Takewchi, S.: *Influence of environmental factors on foetal growth in man*. Lancet 1:1026, 1967.
9. Winick, N.: *Quantitative changes in DNA, RNA and protein during prenatal and postnatal growth in the rat*. Dev. Biol. 12:451, 1965.
10. Committee on Maternal Nutrition, Food and Nutrition Board, National Research Council: *Maternal nutrition and the course of pregnancy. Summary report*. Washington, National Academy of Sciences, 1970.
11. Dahlqvist, A.: *Method for assay of intestinal disaccharidases*. Anal. Biochem. 7:18, 1964.
12. Ruggett, A. y Nixon, D. A.: *Use of glucose oxidase, peroxidase, peroxidase and o-dianisidine in determination of blood and urinary glucose*. Lancet 2:368, 1967.
13. Lowry, O. H.; Rosenbrough, N. J.; Far, A. L. y Randall, R. J.: *Protein measurement with Folin's phenol reagent*. J. Biol. Chem. 193: 265, 1951.
14. Chow, B. F. y Lee, C. J.: *Effect of dietary restriction of pregnant rats on body weight gain of the offspring*. J. Nutr. 82:10, 1964.
15. Solimano, G.; Burges, E. A. y Levin, B.: *Protein-calorie malnutrition: Effect of deficient diets on enzyme levels of jejunal mucosa of rats*. Brit. J. Nutr. 21:55, 1967.
15. Prosper, J.; Murray, R. L. y Kern, F.: *Protein starvation and small intestine. Disaccharidase activities*. Gastroenterology 55:223, 1968.
17. Troglia, O. N.; Laughrey, E. G. y Henley, K.: *Effect of quantitative undernutrition on the activities of intestinal disaccharidase in the rat*. Gastroenterology 58:669, 1970.
18. Kumar, V. y Chase, H. P.: *Undernutrition and intestinal dipeptide hydrolase activity in the rat*. J. Nutr. 101:1509, 1971.
19. Sriratanaban, A. y Theyer, W. R.: *Small intestinal disaccharidase activities in experimental iron and protein deficiency*. Amer. J. Clin. Nutr. 24:411, 1971.
20. Brunser, O.; Reid, A.; Monckeberg, F.; Maccioni, A. y Contreras, I.: *Jejunal biopsies in infant malnutrition: With special reference to mitotic index*. Pediatrics 38:605, 1966.
21. Stanfield, J. R.; Hutt, N. S. R. y Tunncliffe, R.: *Intestinal biopsy in kwashiorkor*. Lancet 2:519, 1965.