

## DEPARTAMENTO DE FISILOGIA ANIMAL

### “IMPORTANCIA DE LA ALIMENTACION CONTROLADA A LA PAR (PAIR FED) EN ALGUNOS PARAMETROS DEL METABOLISMO PROTEICO Y NIVELES SERICOS DE TRIGLICERIDOS Y COLESTEROL”

A. Reche, M. <sup>a</sup> M. Barrionuevo, M.S. Campos, F. Lisbona y F.J. Mataix

#### RESUMEN

Se estudia en ratas la necesidad de utilizar una alimentación controlada a la par (pair fed) para eliminar el factor ingesta cuando se investigan otras variables.

Se determinan algunos parámetros del metabolismo protéico y niveles séricos de triglicéridos y colesterol.

La alimentación controlada a la par (pair fed), frente “ad libitum” implica una reducción en la absorción de nitrógeno, pero no afecta significativamente su retención. No aparecen diferencias en el contenido de nitrógeno en diferentes órganos.

En relación a los parámetros bioquímicos experimentados, tanto en suero como en orina, se ha encontrado un incremento de proteínas, triglicéridos y colesterol en suero y una mayor excreción urinaria de ácido úrico cuando la dieta es suministrada “ad libitum”.

#### SUMMARY

The necessity to use a feeding at par (pair fed) to eliminate the factor intake when others variables are investigated, like in the case of influence of drug, has been studied in rats.

Several parameters of the protein metabolism and serum levels of triglycerides and cholesterol, have been determined.

The feeding at par (pair fed), front to “ad libitum” implies a reduction in the nitrogen absorption, and unsignificantly effect on its retention. No differences appear in nitrogen content into different organs.

In relation the experimented biochemistry parameters, as serum as urine, its is found an increment of proteins, triglycerides and cholesterol in serum and a bigger urinary excretion of uric acid when the diet is sumministrated “ad libitum”.

## INTRODUCCION

Varios autores han encontrado que modificaciones cuantitativas en la proporción de alimento ingerido (ingesta) tienen repercusiones en el metabolismo de proteínas y lípidos (1, 2).

Un factor importante dentro de los efectos sobre la ingesta es la administración de drogas (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10). Trabajos previos llevados a cabo en ratas (11) muestran como la administración de una droga determinada (Nialamida) reduce en gran medida la cantidad de alimento ingerido y el aprovechamiento nutritivo de nutrientes; este último hecho puede ser atribuido tanto a la administración de la droga como a la reducción de la ingesta.

Dichas consideraciones llevan a este estudio, cuyo objeto es demostrar la influencia del factor ingesta, y la necesidad de una alimentación controlada a la par (pair fed), para eliminar las variables ingesta, y aislar el tratamiento al objeto de investigación.

## MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó según el siguiente diseño:

a) Lote de ratas alimentadas "ad libitum". b) Lote de ratas con alimentación a la par (pair fed).

Los animales utilizados en el experimento fueron ratas adultas de la raza Wistar de ambos sexos seleccionadas al azar entre aquellas de igual peso (170 gr.). La dieta empleada fue de igual composición para ambos experimentos:

	Sustancia fresca	Sustancia seca
Proteína (caseína + 5%DL metionina)	10.78	11.40
Grasa (aceite de oliva)	4.00	4.22
Fibra (celulosa)	8.00	8.45
Corrector mineral	4.5	4.75
Corrector vitamínico	2.00	2.11

Almidón y azúcar c.s. en partes iguales hasta 100 % de sustancia seca.

Los experimentos constan de un periodo de 5 días de adaptación a la dieta y condiciones experimentales y de un periodo principal de 10 días durante el cual se controla ingesta y diariamente se recogen por separado heces y orina. Asimismo se controla la diuresis según la técnica de Thompson.

Finalizado el periodo principal y después de un ayuno de 24 horas cada una de las ratas es anestesiada con eter etílico y se le extrae un volumen determinado de sangre por canulación de la aorta abdominal. Asimismo se le extirpa hígado, intestino delgado y músculos gastronemio y *longissimus dorsi* para controlar el peso de estos órganos y realizar análisis de proteínas.

Se determina el coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDA) y balance de nitrógeno según la técnica de Thomas Mitchell, y algunos parámetros bioquímicos del metabolismo protéico y lipídico.

Se realizaron los siguientes análisis:

Suero: proteínas totales, colesterol, triglicéridos, urea, ácido úrico y creatinina.

Orina: nitrógeno, urea, ácido úrico y creatinina.

Heces: nitrógeno y humedad.

Análisis de nitrógeno en hígado, intestino delgado y en músculos nemió y *longissimus dorsi*.

Las técnicas analíticas utilizadas fueron:

Proteínas totales: técnica de Biuret.

Urea: determinación enzimática basada en la reacción de Berthelot.

Acido úrico: método colorimétrico.

Creatinina: determinación colorimétrica basada en la reacción de Jaffé.

Triglicéridos: determinación enzimática.

Colesterol: método de CHOP-PAP.

Estas técnicas han sido realizadas según el test de Boehringer-Mannheim. Nitrógeno: por el método de Kjeldahl.

Humedad: en estufa a  $105 \pm 1$  °C hasta peso constante.

Se ha llevado a cabo un control de calidad de estas determinaciones en el que se ha incluido un análisis de un conjunto de estandar primario y muestras problema.

Los resultados obtenidos fueron contrastados estadísticamente por el test de la "t" de Student.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Coincidiendo con otros autores (1, 2), el menor aporte protéico, consecuencia de una menor ingesta en las ratas con alimentación controlada (PAIR FED) se refleja en menor absorción de nitrógeno ( $p < 0,05$  en hembras;  $p < 0,001$  en machos) (Tabla I). Sin embargo, esta menor absorción no repercute significativamente en la proporción de nitrógeno retenido (Tabla I); lo que pone de manifiesto que los animales al tener disminuida la absorción de este nutriente, aprovechan mejor a nivel metabólico la cantidad de nitrógeno absorbido. Estos resultados son posibles debido al hecho de que los animales aún están en fase de crecimiento.

Los niveles de proteínas plásmáticas no se afectan por influencia de la ingesta en las hembras, en cambio en los machos se observa un incremento en dichos niveles, cuando aumenta la ingesta proteica (ad libitum) ( $p < 0,05$ ) (Tabla II). Los mayores efectos observado en machos pueden deberse a sus especiales características de anabolismo proteico en este sexo. (12).

Con respecto a la influencia del nivel de ingesta en el contenido de nitrógeno en distintos órganos, los resultados obtenidos indican que, a nivel hepático, el contenido de nitrógeno es mayor cuando está incrementada la ingesta, aunque estas diferencias sólo llegaron a ser ligeramente significativas en el caso de los machos ( $p < 0,05$ ) (Tabla 1), y esto puede explicarse basándose en la

TABLA I.- Utilización digestiva y metabólica del Nitrogeno en ratas adultas con alimentación "ad libitum" y a la par (pair fed).

	"AD LIBITUM"		"PAIR FED"	
	MACHOS	HEMBRAS	MACHOS	HEMBRAS
N absorbido (mg/rata/día)	322,60 ± 5,72***	147,53 ± 13,05*	203,6 ± 1,42	115,8 ± 1,99
N retenido (mg/rata/día)	149,61 ± 2,24	55,10 ± 10,61	153,74 ± 1,23	64,84 ± 1,80
Hígado (mg N/100 g peso de rata)	101,76 ± 2,42*	98,84 ± 5,12	94,12 ± 1,70	89,76 ± 1,63
Intestino delgado (mg N/100 g peso de rata)	38,40 ± 1,75	42,70 ± 2,61	41,98 ± 2,58	48,44 ± 4,09
Músculo gastronemio (mg N/100 g peso de rata)	23,09 ± 1,35	25,72 ± 1,02	26,66 ± 1,58	26,34 ± 1,28
Músculo longissimus dorsi (mg N/100 g peso de rata)	52,72 ± 3,90	54,33 ± 6,63	62,53 ± 3,83	66,80 ± 6,49

Nivel de significación (\*) p 0,05; (\*\*\*) p 0,001.

En comparación con ratas alimentadas a la par (Pair fed).

Valores medios de 10 ratas ± EEM.

mayor aportación de aminoácidos en estas condiciones hacia el hígado, un órgano que como es sabido, requiere gran cantidad de estos para sus funciones biosintéticas (11). En cambio, el contenido de nitrógeno en intestino y músculo gastronemio no se modifica al variar los niveles de nitrógeno ingerido. Igualmente, en el caso del músculo *longissimus dorsi*, no se encuentran cambios significativos en ningún sexo (Tabla I), aunque se observa que el contenido de nitrógeno en este músculo es menor en aquellos animales alimentados "ad libitum" que en los que la ingesta es a la par (PAIR FED), seguramente debido a la menor retención de nitrógeno en ratas alimentadas "ad libitum" (Tabla I) cuya justificación ha sido comentada anteriormente. Se ha estudiado los efectos de la alimentación a la par en los niveles séricos y urinarios de urea, ácido úrico y creatinina, observándose cómo en ratas hembras la eliminación urinaria de ácido úrico es mayor cuando la ingesta es "ad libitum" ( $p < 0,001$ ) (Tabla II), mientras que los niveles séricos se mantienen dentro de los márgenes normales (Tabla II). La eliminación urinaria, y niveles séricos de urea, no se modifican por influencia de la ingesta a la par (Tabla II).

En relación a la creatinina, se observan que en los animales alimentados "ad libitum", los niveles séricos son significativamente menores en las hembras ( $p < 0,01$ ) (Tabla II), lo que se acompaña de una mayor eliminación urinaria de este compuesto respecto a las ratas alimentadas a la par.

En los machos, sin embargo, cuando tienen una alimentación "ad libitum" sólo se aprecia una ligera reducción en los niveles séricos de creatinina, y en consecuencia no se modifica su eliminación urinaria (Tabla II).

TABLA II.- Niveles séricos y urinarios de urea, creatinina y ácido úrico y niveles séricos de colesterol, triglicéridos y contenido de proteínas totales en ratas adultas con alimentación "ad libitum" y a la par (Pair fed).

	"AD LIBITUM"		"PAIR FED"	
	MACHOS	HEMBRAS	MACHOS	HEMBRAS
<b>UREA</b>				
Suero (mg/100ml.)	39,0 $\pm$ 5,97	35,4 $\pm$ 5,16	26,4 $\pm$ 2,46	34,25 $\pm$ 3,87
Orina (mg/24 horas)	161,8 $\pm$ 11,9	118,2 $\pm$ 20,6	230,4 $\pm$ 14,6	155,1 $\pm$ 14,8
<b>Creatinina</b>				
Suero (mg/100ml.)	0,44 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,02**	0,56 $\pm$ 0,07	0,64 $\pm$ 0,02
Orina (mg/24 horas)	0,14 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01
<b>Acido úrico</b>				
Suero (mg/100ml.)	2,82 $\pm$ 0,25	3,28 $\pm$ 0,26	2,46 $\pm$ 0,20	2,92 $\pm$ 0,12
Orina (mg/24 horas)	1,01 $\pm$ 0,06	1,42 $\pm$ 0,16***	197 $\pm$ 0,27	0,62 $\pm$ 0,04
<b>Colesterol</b>				
Suero (mg/100ml.)	97 $\pm$ 3,30**	97 $\pm$ 10,79	75 $\pm$ 3,87	89 $\pm$ 6,78
<b>Triglicéridos</b>				
Suero (mg/100ml.)	189,3 $\pm$ 12,22***	202,3 $\pm$ 23,54**	106,7 $\pm$ 6,85	103,3 $\pm$ 14,08
<b>Proteínas totales</b>				
Suero (mg/100ml.)	7,02 $\pm$ 0,30*	6,36 $\pm$ 0,15	6,02 $\pm$ 0,07	6,73 $\pm$ 0,09

Nivel de significación (\*) p 0,05; (\*\*\*) p 0,001.

En comparación con ratas alimentadas a la par (Pair fed).

Valores medios de 10 ratas  $\pm$  EEM.

Coincidiendo con resultados de otros autores (1,2), la ingesta de alimentos "ad libitum" lleva a un incremento significativo en los niveles séricos de triglicéridos (p < 0,01 para hembras, p < 0,001 para machos) (Tabla II). De igual manera, el colesterol sérico incrementa cuando la ingesta es "ad libitum", pero este incremento sólo llega a ser significativo en el caso de los machos (p < 0,01) (Tabla II).

#### BIBLIOGRAFIA

1. Kato, H y SAITO, M. Nutr. Rep. In., 21, 101-105, 1980.
2. Pearce, J. Proc. J. Nutr., 44, 81-87, 1980.
3. Antelman, S.M., Caggiuca, A.R. Black, C.A. y Edwards, S.M. Brain Res., 143, 580-585, 1978.
4. Blundell, J.E., Campbell, D.B., Leshen, M. and Tozer, R. J. Pharm. and Pharmacol., 27, 187-192, 1975.
5. Chandler, P.Y., Dannerburg, W.N., Polan, C.E. y Thompson, N.R. J. dairy Sci., 53, 1747-1756, 1970.
6. Dobraznski, S. y Dogget, N.S. J. Pharm. and Pharmacol., 28, 922-924, 1976.
7. Ellison, T. Poultry Sci., 44, 896-898, 1965.
8. Leshem, M.B. y Blundell, J.E. J. Pharm. and Pharmacol., 32, 558-560, 1980.
9. Pleece, S.A., Kirby, M.J. y Redfern, P.H. J. Pharm. and Pharmacol., 32, 558-560, 1980.
10. Shimamoto, K., Takaori, S. y Hattori, K. Acta Scholae Med. Univ. Kioto, 40, 25-37, 1967.
11. Reche, A., Barrionuevo, M. y Campos, M.S. Rev. clin. Esp., 167, 55-58, 1982.
12. Goodman, L.S. y Gilman, A. Bases farmacológicas de la terapéutica. 6.ª Ed. 1982. 1413-1427. Panamericana. Buenos Aires.