

DEPARTAMENTO DE FISILOGIA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

VALOR BIOLÓGICO EN RATAS EN CRECIMIENTO
DE UNA PROTEÍNA UTILIZADA
PARA LA ELABORACION DE DIETAS ENTERALES

M.J.M. Alférez, M.S. Campos, M. Barrionuevo e I. López-Aliaga

RESUMEN

Se estudia en ratas en crecimiento (50g) el valor biológico (VB) de la proteína (50% lactoalbúmina + 50% caseína) utilizada como base para la elaboración de dietas en Nutrición Enteral Clínica (NEC). La administración de esta proteína conduce a un valor biológico (VB) y utilización neta de la proteína (NPU) significativamente superiores en relación a la proteína control (caseína + 5% D-L metionina), poniendo de manifiesto el alto rendimiento biológico de la proteína utilizada (50% lactoalbúmina + 50% caseína) así como su idoneidad para la elaboración de dietas de uso en Nutrición Enteral Clínica.

SUMMARY

A study was made on growth rats (50g) the biologic value (BV) of the protein (50% lactalbumin + 50% casein) used for the elaboration of diets employed in Enteral Clinical Nutrition (ECN). The administration of this protein led to a significant increase in the biologic value (BV) and the net utilization of protein (NPU) in comparison to control protein (casein + 5% D-L methionine), in order to the protein studied (50% lactalbumin + 50% casein) have high biologic efficiency, and it's optimum for using in Enteral Clinical Nutrition (ECN).

INTRODUCCION.-

La malnutrición protéico-calórica (MPC) en pacientes hospitalizados es una realidad frecuente a pesar de que el tratamiento farmacológico o quirúrgico sea correctamente realizado (1). Es necesario en estos pacientes la administración de Nutrición Artificial (2, 3). En este sentido la Nutrición Enteral Clínica (NEC) presenta grandes ventajas respecto a la Nutrición Parenteral Clínica (NPC) (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). Dado que estos enfermos tienen unos elevados requerimientos protéicos es necesario que la proteína utilizada sea de un alto Valor Biológico (VB) (12, 13, 14).

Todas estas consideraciones nos han llevado a la realización del presente trabajo en que se estudia la calidad de la proteína utilizada (50% lactoalbúmina + 50% caseína) en la preparación de dietas comerciales para uso en Nutrición Enteral Clínica (NEC), determinando el Valor Biológico (VB) y la Utilización Neta de la Proteína (NPU) en ratas en crecimiento.

MATERIAL Y METODOS.

El estudio se realizó según el siguiente diseño: Experimento A (control): 10 ratas alimentadas "ad libitum" con fuente protéica constituida por caseína + 5% D-L metionina. Experimento B: 10 ratas alimentadas "ad libitum" con fuente protéica constituida por 50% lactoalbúmina + 50% caseína.

Los animales utilizados fueron ratas en crecimiento de la raza Wistar de ambos sexos seleccionadas al azar entre aquellas de igual peso (50g).

Las ratas se alojan en células individuales de metabolismo, que permiten un perfecto control y separación de comida, heces y orina. A su vez estas células están situadas en una cámara termorregulada y con fotoperiodo controlado de 12 horas.

En cada uno de los experimentos A y B hay que considerar dos periodos: a) Periodo de Nitrógeno Endógeno: este periodo tiene 6 días de duración 3 de adaptación a la dieta y otros 3 de recogida de heces y orina. La dieta suministrada tiene un aporte de proteína suficiente para evitar la depleción de los animales, con la siguiente composición:

Para el experimento A:

	<u>S.F. (%)</u>	<u>S.S. (%)</u>
Proteína (caseína + 5% D-L metionina)	4,12	4,28
Grasa (aceite de oliva)	4,04	4,20
Fibra (celulosa)	8,00	8,50
Corrector mineral	5,00	5,20
Corrector vitamínico	5,00	5,20

Almidón y azúcar en c.s. a partes iguales hasta 100% en sustancia seca. Vitaminas A y D 30 gotas por Kg de dieta.

Para el experimento B:

	<u>S.F. (%)</u>	<u>S.S. (%)</u>
Proteína (50% lactoalbúmina + 50% caseína)	3,92	4,08
Grasa (mezcla de grasa: mantequilla 43,02%, aceite de oliva 29,47% aceite de soja 14,74%, MCT 9,82% y lecitina 2,95%)	3,88	4,04
Fibra (celulosa)	8,00	8,50
Corrector mineral	5,00	5,20
Corrector vitamínico	5,00	5,20

Almidón y azúcar en c.s. a partes iguales hasta 100% en sustancia seca. Vitaminas A y D 30 gotas por Kg de dieta.

Al final se pesan las ratas, se recogen por separado heces y orina y se controla la cantidad de alimento ingerido.

b) Periodo Principal: al concluir el periodo endógeno se dejan los animales 24 h. en ayuno tras las cuales comienza el periodo principal que tiene una duración de 10 días, 3 de adaptación a la dieta y 7 de recogida de muestras. Las operaciones realizadas son las mismas que en periodo endógeno, es decir, se controla el peso de los animales, la cantidad de alimento ingerido y se recogen heces y orina para la posterior determinación de nitrógeno.

La composición de las dietas en este periodo es la siguiente:

Para el experimento A:

	<u>S.F. (%)</u>	<u>S.S. (%)</u>
Proteína (caseína + 5% D-L metionina)	9,51	9,94
Grasa (aceite de oliva)	4,04	4,20
Fibra (celulosa)	8,00	8,52
Corrector mineral	5,00	5,30
Corrector vitamínico	5,00	5,20

Almidón y azúcar en C.S. a partes iguales hasta 100% en sustancia seca. Vitaminas A y D 30 gotas por Kg de dieta.

Para el experimento B:

	<u>S.F. (%)</u>	<u>S.S. (%)</u>
Proteína (50% de lactoalbúmina + 50% caseína)	9,57	9,95
Grasa (mezcla de grasa: mantequilla 43,02%, aceite de oliva 29,47%, aceite de soja 14,74, MCT 9,82% y lecitina 2,95%)	3,95	4,12
Fibra (celulosa)	8,00	8,52
Corrector mineral	5,00	5,30
Corrector vitamínico	5,00	5,20

Almidón y azúcar en C.S. a partes iguales hasta 100% en sustancia seca. Vitaminas A y D 30 gotas por Kg de dieta.

En el periodo principal se determinan los siguientes índices y parámetros: ingesta (expresado en sustancia seca y nitrógeno ingerido), cambios ponderales, incremento de peso, coeficiente de eficacia en el crecimiento (CEC), pérdidas endógenas extrapolables, eliminación fecal y urinaria de nitrógeno, nitrógeno absorbido real, coeficiente de digestibilidad aparente y verdadero (CDA y CDV), valor biológico (VB) y utilización neta de la proteína (NPU).

Los análisis realizados son los siguientes: nitrógeno en orina, heces y dieta; humedad en heces y dieta; y aminoácidos libres en la dieta.

Las técnicas analíticas utilizadas fueron las siguientes:

- Nitrógeno: por el método Kjeldahl, utilizando el factor 6,25 para conversión en proteína.
- Aminoácidos libres en la dieta: por cromatografía líquido/líquido (HPLC).
- Humedad: por desecación a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta peso constante.

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

RESULTADOS Y DISCUSION.

Cuando se estudia la utilización nutritiva de una proteína (50% lactoalbúmina + 50% caseína) empleada como base para la preparación de dietas de uso en Nutrición Enteral Clínica (NEC) frente a una proteína control (caseína + 5% D-L metionina) en ratas en crecimiento, se observa que la ingesta de alimento es significativamente mayor en las ratas alimentadas con dieta control ($p < 0,001$) (TABLA I). Dada la mayor ingesta es lógico que los animales tengan mayores incrementos de peso ($p < 0,001$) (TABLA I), que se ve reflejado también en el mayor coeficiente de eficacia en el crecimiento (CEC) ($p < 0,001$) (TABLA I), lo que coincide con diferentes autores (15, 16, 17). Ya que los niveles proteicos son idénticos y la diferencia entre ambas dietas sólo estriba en la calidad de la proteína, así como de la grasa, la mayor ingesta solo puede explicarse en base a una preferencia gustátil por la dieta control.

La absorción de nitrógeno es significativamente mayor ($p < 0,001$) (TABLA I) para la dieta control, lo que se refleja en el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) ($p < 0,005$) (TABLA I). Esta menor absorción de la proteína con la dieta elaborada con una fuente proteica comercial a base de 50% lactoalbúmina + 50% caseína, puede explicarse por el hecho de que la mitad del aporte proteico son proteínas séricas obtenidas por ultrafiltración con un contenido elevado de inmunoglobulinas, las cuales de acuerdo con Hambræus (1984) (18) son de difícil absorción. Si bien estas inmunoglobulinas tienen un efecto beneficioso por salvar la flora ecológica intestinal, ya que impiden el crecimiento de gérmenes patógenos (19). El hecho de que el coeficiente de digestibilidad verdadero (CDV) sea prácticamente igual para los dos tipos de proteína empleados se debe a que a pesar de que la ingesta nitrogenada es casi idéntica en el periodo endógeno, cuando el nivel proteico es del 4%, la excreción fecal en estas condiciones experimentales es mayor para la dieta con-

TABLA I

Cambios ponderales y eficacia digestiva de la proteína en ratas en crecimiento.

	<u>Experimento A</u> (Control) (caseína + + 5% D-L metionina)	<u>Experimento B</u> (50% lactoalbúmina + + 50% caseína)
S.S. ingerida (g/rata/día)	11,06 ± 0,56	6,27 ± 0,22***
Nitrógeno ingerido (mg/rata/día)	175,84 ± 8,81	97,65 ± 3,26***
peso (g/rata/día)	4,70 ± 0,36	1,93 ± 0,11***
C.E.C. ^a	4,21 ± 0,13	3,10 ± 0,16***
Nitrógeno fecal total (mg/rata/día)	18,11 ± 1,31	13,07 ± 0,63**
Nitrógeno fecal endógeno (mg/rata/día)	12,02 ± 0,73	10,50 ± 0,56
Nitrógeno absorbido real (mg/rata/día)	169,75 ± 8,30	95,04 ± 3,95***
C.D.A. ^b (%)	89,76 ± 0,34	86,49 ± 0,90**
C.D.V. ^c	96,59 ± 0,41	97,18 ± 0,89

a Coeficiente de eficacia en el crecimiento.

b Coeficiente de digestibilidad aparente.

c Coeficiente de digestibilidad verdadero.

Nivel de significación en comparación con la dieta control:

* p<0,025 ** p<0,005 *** p<0,001

trol debido a unas mayores descamaciones de la mucosa intestinal, cuando las ratas ingieren caseína + 5% D-L metionina.

A nivel metabólico la excreción urinaria de nitrógeno es significativamente mayor para la dieta control (p<0,001) (TABLA II), debido a que al ser mayor

TABLA II

Utilización metabólica de la proteína en ratas en crecimiento

	<u>Experimento A</u> (Control) (caseína + + 5% D-L metionina)	<u>Experimento B</u> (50% lactoalbúmina + + 50% caseína)
Nitrógeno urinario total (mg/rata/día)	25,91 ± 1,11	15,16 ± 1,16***
Nitrógeno urinario endógeno (mg/rata/día)	12,84 ± 0,79	12,29 ± 0,73
Nitrógeno urinario procedente del alimento (mg/rata/día)	13,07 ± 1,26	2,87 ± 1,39***
V.B. ^a (%)	92,38 ± 0,89	97,15 ± 1,43*
N.P.U. ^b (%)	89,21 ± 0,78	94,39 ± 1,42**

a Valor biológico.

b Utilización neta de la proteína.

Nivel de significación en comparación con la dieta control:

* p<0,025 ** p<0,005 *** p<0,001

la ingesta necesita eliminar nitrógeno en mayor proporción para mantener la homeostasis, sin embargo, las pérdidas de nitrógeno urinario en el periodo endógeno son pequeñas y prácticamente iguales (TABLA II) ya que el porcentaje de proteína suministrado, 4%, es el necesario para evitar la depleción del animal y por tanto apenas se elimina; ello se traduce en que la eliminación de nitrógeno en la orina procedente del alimento presente unas diferencias altamente significativas ($p<0,001$) (TABLA II), conduciendo a que el valor biológico (VB) de la proteína problema sea significativamente mayor ($p<0,025$) (TABLA II), así como la utilización neta de la proteína (NPU) ($p<0,025$) (TABLA II). La mayor utilización metabólica de la proteína problema puede explicarse si se tiene en cuenta la composición en aminoácidos de los dos tipos de proteína empleados (TABLA III), pues al ser la relación entre aminoácidos esenciales y no esenciales prácticamente igual para ambas y sin embargo las

TABLA III

Composición en aminoácidos de las dos proteínas utilizadas

	g/100 g de proteína	
	Proteína del: <u>Experimento A</u>	<u>Experimento B</u>
Aspártico	6,35	9,14
Treonina	5,42	5,52
Serina	5,05	4,82
Glutamato y Glutamina	19,36	18,77
Prolina	6,35	5,58
Glicocola	1,80	2,02
Alanina	2,69	4,14
Cisteína	0,54	1,85
Valina	5,59	5,86
Metionina	7,99	2,76
Leucina	8,67	10,68
Isoleucina	4,56	5,28
Tirosina	4,93	4,19
Fenilalanina	4,63	4,11
Triptófano	2,17	1,66
Lisina	7,17	8,61
Histidina	3,44	2,58
Arginina	3,21	2,38
Total aromáticos	11,72	9,66
Total azufrados	8,72	4,61
Total ramificados	18,82	21,83

pérdidas nitrogenadas son mayores para la dieta control, la retención de nitrógeno es mayor en el caso de la dieta elaborada con proteína comercial (50% lactoalbúmina + 50% caseína) debido quizás al mayor porcentaje de aminoácidos ramificados. La proteína utilizada en la preparación de dietas comerciales para uso en Nutrición Enteral Clínica (50% lactoalbúmina + 50% caseína) tiene un alto rendimiento biológico.

AGRADECIMIENTOS.

Los autores agradecen a D.^a Rosa Jiménez su asistencia técnica y a D.^a Elisa Alcover su ayuda mecanográfica en este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Roubenoff, R., Roubenoff, R.A., Preto, J. and Balke, C.W. *Archives of Internal Medicine*, 147 (8), 1462-1465, (1987).
- (2) Ginies, J.L. and Ricour, C. *Archive Françaises de Pédiatric*, 39(2), 745-748, (1982).
- (3) Baston, M.D., Rawlings, J. and Allison, S.P. *British Medical Journal* 287, 1589-1592, (1983).
- (4) Buts, J.P., Morin, C.L. and Ling, V. *Clin. Inv. Med.* 2, 59-66 (1979).
- (5) Hackl, J.M., Gantner, M.L. and Kornberger, E. *Infusionstherapie und Klinische Ernährung-Forschung und Praxis*, 6(6), 380-382, (1979).
- (6) Melntyre, P.B., Wood, S.R., Powell-Tuch, J. and Lennard-Jones, J.E. *Gut*, 24, A 488, (1983).
- (7) Sitges-Serra, A. *Med. Clin. (Barc)* 83, 852-855, (1984).
- (8) Souba, W.W., Smith, R.J. and Wilmore, D.W. *Jpen*, 9, 608-617, (1985).
- (9) Winkler, H.R. *Journal of Canadian Dietetic Association*, 46(3), 195-198, (1985).
- (10) Pallarés, R.J. *Clin. Nutr. Gastroenterol.* 12, 204-208, (1986).
- (11) Sebastián-Ariño, A.; Lasanto-Juanto, J., Campo Planas, E. y Marcos Martínez, M. *Nutrición Clínica*, 2, 9-14, (1986).
- (12) Bourgesr, H. y López Castro, B.R. *Food and Nutrition Bulletin*, 5, 71-76, (1981).
- (13) Mochizuki, M.; Trocki, O.; Dominioni, L.; Brackett, K.A.; Joffe, S.N. and Alexander, J.W. *Ann. Surg.* 200, 297-310, (1984).
- (14) Rombeau, J.L. and Caldwell, M.D. *Clin. Nutr.* 1, (1984).
- (15) Bravo; B.F. *I Curso de Nutrición Parenteral y Enteral en el paciente quirúrgico*, 81-103, (1984).
- (16) Jahoor, F. and Wolfw, R.R. *Kidney Internacional*, 32 (22), 581-593, (1987).
- (17) Nair, R.S.; Halliday, D.; Matthews, D.E. and Welle, S.L. *American Journal of Physiol*, 253 (2,I), E 208-E 213, (1987).
- (18) Hambraeus, L. *Nutr. Abst. Rev.* 54, 219-236, (1984).
- (19) Goldman, A.S.; Garza, C.; Nichols, B.L. and Goldblum, R.M. *J. Pediat.* 100, 563-567, (1982).