

# ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

Tomo XXIII - Núm. 1

1982

*Director:*

Prof. Dr. D. Jesús Cabo Torres

*Director Ejecutivo:*

Prof. Dr. D. José Luis Valverde

*Secretarios de Redacción:*

Prof. Dr. D. José Jiménez  
Martín

Prof. Dr. D. Luis Bravo Díaz

*Redacción y Administración:*

Facultad de Farmacia.  
Granada - España.

Dep. Legal, GR: núm. 17-1960

ISSN 0004 - 2927

*Imprime:*

Gráficas del Sur, S. A  
Boquerón, 6  
Granada 1982

## Sumario

PAG.

- Memoria del Curso Académico  
1980-1981 ... .. 15

### TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

- Algunos efectos metabólicos de la  
sustitución de proteínas por grasa  
en la dieta para truchas, por M.  
García, P. Morata, S. Zamora y  
F. Sánchez de Medina ... .. 117
- Aportaciones documentales al es-  
tudio del Tribunal del Real Proto-  
medicato en México y Cuba... .. 127
- Crítica de Libros ... .. 135

# TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA ANIMAL \* Y BIOQUIMICA \*\*  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

## ALGUNOS EFECTOS METABOLICOS DE LA SUSTITUCION DE PROTEINAS POR GRASA EN LA DIETA PARA TRUCHAS

M. GARCIA \*, P. MORATA \*\*, S. ZAMORA \*, F. SANCHEZ DE MEDINA \*\*

### RESUMEN

Se han estudiado en truchas arco aris (*Salmo gairdneri*), los efectos que, sobre la gluconeogénesis hepática, tiene el cambio de los porcentajes proteico y lipidico de la dieta y la inserción de cortos periodos de ayuno.

La reducción del nivel proteico conlleva una disminución de la gluconeogénesis a partir de aminoácidos como lo muestran las actividades de PEPCK y FDP-asa determinadas.

La actividad transaminásica hepática durante los periodos de alimentación refleja la intensidad del anabolismo proteico, mientras que durante el ayuno dicha actividad está condicionada por el grado de catabolismo de los aminoácidos.

La gluconeogénesis a partir de lactato no parece ser importante en condiciones de reposo muscular, al menos.

### SUMMARY

The effects of diets with different protein and fat levels on gluconeogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) were studied. The insertion of short fasting periods was also considered.

Reduction of protein level of the diet was accomplished to a reduced rate of gluconeogenesis as the lower activities of PEPCK and FDP-ase have pointed out.

During feeding periods the activity of liver transaminases studied reflects the intensity of protein anabolism, whereas during fasting periods, these activities are determined by the aminoacids catabolism rate.

Gluconeogenesis from lactate seems to be a process of less importance, at least in muscular resting conditions.

## INTRODUCCION

Una de las líneas actuales en la investigación sobre la nutrición de los salmónidos busca sustituir parte del elevado contenido proteico, común en las dietas usadas en la explotación industrial de estos animales, por otro componente (lipídico o glucídico) de menor costo y que aporte las calorías que normalmente el animal obtiene de una parte considerable de la proteína ingerida (3, 6, 23, 24, 25).

En trabajos anteriores hemos podido poner de manifiesto que la sustitución parcial de proteína por grasa, no sólo no tiene efectos perniciosos sobre la fisiología del animal, sino que incrementa el crecimiento, siempre que el nivel proteico sea suficiente para suplir las necesidades mínimas de esta especie y, en definitiva, mejora la utilización nutritiva de la proteína remanente (12, 13, 14). Las repercusiones metabólicas que tales manipulaciones en la dieta puedan tener han sido abordadas por DE LA HIGUERA (12) y JÜRSS (15), si bien las conclusiones son, hasta el momento, sólo parciales.

La trucha, dada su condición de carnívoro, tiene una amplia dependencia, en su hábitat natural de la proteína como fuente de energía. Esto ha llevado a diversos investigadores a pensar que los procesos gluconeogénicos desempeñan un papel importante en el metabolismo de estos animales (8). Por ello nos ha parecido de interés centrar este estudio en los efectos que la alteración del nivel proteico y, por tanto, de la fuente de calorías más habitual en estos animales ejerce sobre la actividad de ciertos enzimas hepáticos, índices de la intensidad de los procesos gluconeogénicos.

Un factor adicional considerado ha sido el efecto que la intercalación de cortos períodos de ayuno durante las fases de alimentación con las dietas experimentales ejerce sobre estos parámetros. Dichos períodos de ayuno se han revelado como un procedimiento eficaz a la hora de evitar posibles acúmulos de grasa (14) en los animales alimentados con una dieta de alto nivel lipídico, acúmulos que podrían perjudicar la salud del animal y, en todo caso, afectar negativamente su aceptación para el consumo humano.

## MATERIAL Y METODOS

*Animales y mantenimiento:* Para la realización de este estudio hemos utilizado truchas arco iris (*Salmo gairdneri*) jóvenes, con un peso inicial comprendido entre 40 y 65 g, procedentes de una piscifactoría local. En el laboratorio los animales se han mantenido en las condiciones previamente descritas (13).

*Dietas experimentales:* Los animales se dividieron en dos lotes, compuesto cada uno inicialmente por unos 100 animales. Al lote que designamos "Pg" se le suministró una dieta en la que los porcentajes de proteína y grasa se aproximan a los normales en las dietas comerciales de piscifactorías para truchas de esta edad. El otro lote, llamado "pG" fue alimentado con una dieta en la que el nivel proteico fue rebajado sustituyendo una parte considerable de proteína por grasa.

Los ingredientes usados en la preparación de estas dietas, así como las composiciones finales resultantes, se muestran en la Tabla I.

TABLA I.—COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES UTILIZADAS

| COMPONENTES (g/kg de dieta) | DIETA |      |
|-----------------------------|-------|------|
|                             | Pg    | pG   |
| Harina de pescado blanco    | 690   | 460  |
| Caseína + DL-metionina      | 127   | 127  |
| Aceite de hígado de bacalao | —     | 120  |
| Complemento mineral (*)     | 30    | 30   |
| Complemento vitamínico (*)  | 28    | 28   |
| Celulosa micronizada (**)   | 125   | 135  |
| PROTEINA SECA (%)           | 92.4  | 94.0 |
| PROTEINA (% s/ss)           | 48.7  | 38.0 |
| GRASA ( " )                 | 6.7   | 17.2 |
| CENIZAS ( ) )               | 18.1  | 11.1 |
| M.E.L.N. ( " )              | 26.5  | 33.7 |

M.E.L.N. = Material extractivo libre de nitrógeno.

(\*) = Según COWEY et al., 1972 (10)

(\*\*) = Este componente ha sido utilizado con el fin de no aportar ninguna fuente calórica suplementaria y mantener los porcentajes proteicos y lipídicos deseados.

Los efectos que dietas de esta composición ejercen sobre el crecimiento, la composición corporal y la utilización nutritiva de la proteína han sido estudiadas previamente (13, 14).

*Diseño experimental:* Cada uno de los lotes antes citados fue sometido a cuatro periodos de alimentación de 21 días de duración cada uno, separados por tres periodos de ayuno de diez días, siendo la duración total del periodo experimental de 114 días. Este periodo experimental fue precedido de otro de adaptación, recibieron la dieta una vez al día "ad libitum".

En los días inicial y final de cada periodo se tomaron al azar 4 truchas de cada lote y tras sacrificio y extracción del hígado se determinaron en extractos del mismo las actividades de los siguientes enzimas: Lactato deshidrogenasa (LDH, E.C. 1.1.1.27), Fosofenolpiruvato carboxicinas (PEPCK, E.C. 4.1.1.32), Fructosa difosfatasa (FDP-asa, E.C. 3.1.3.11), Aspartato aminotransferasa (AAT, E.C. 2.6.1.1), y Alanino aminotransferasa (ALAT, E.C. 2.6.1.2).

*Análisis enzimático:* Las muestras de hígado fueron homogenizadas en un Potter mecánico vinilo-vidrio mantenido a 0°C.

La LDH se determinó según el método descrito por BERGMAYER et. al (5), la PEP CK según ANTONIO (2), la FDP-asa según MENDICINO et al. (18) y las aminotransferasas según BERGMAYER (4).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Aunque globalmente la actividad gluconeogénica de la trucha es inferior, cuantitativamente hablando, a la de mamíferos, rata por ejemplo (9), no deja de ser un proceso importante dada la dependencia que de los aminoácidos como fuente energética tiene este animal cuando consume una dieta natural o comercial con un elevado contenido en proteínas y bajo en hidratos de carbono y grasas.

La disminución de este nivel proteico provoca un descenso en la cantidad de sustrato disponible para tales procesos gluciformadores, siendo esta la razón que, según COWEY et al. (8, 9) explica el descenso de la actividad de dos enzimas claves (FDP-asa y PEPCK) cuando el nivel proteico de la dieta es deprimido

por la adición de hidratos de carbono, independientemente del efecto ejercido por la mayor cantidad de glucosa disponible que proporcionan estas dietas, ya que esta disponibilidad es más teórica que real, dada la escasa capacidad de utilización de este sustrato por la trucha (8, 21).

Los resultados que hemos obtenido con estos mismos enzimas (Tabla II) abundan en esta idea y así, los animales alimentados con una dieta que contiene un 37 por ciento de proteínas muestran, para estos enzimas, una actividad global y sensiblemente inferior a la correspondiente de los animales alimentados con un nivel proteico del 47 por ciento.

En nuestro caso, al ser de naturaleza lipídica la fuente energética alternativa empleada, y, establecido el buen uso que de este material hace la trucha, no podemos descartar la influencia que este parámetro haya podido ejercer sobre el montante de la actividad gluconeogénica, si bien DE LA HIGUERA (12) no detecta cambios en la PEPCK cuando el nivel graso se eleva de 6,6 a 15,3 por ciento manteniendo el nivel proteico.

La gluconeogénesis a partir de lactato, una vía común e importante en los mamíferos, quizá no tenga la misma importancia relativa en los peces. En estos animales, parece bien establecido que en condiciones de reposo o natación a velocidad sostenida, el esfuerzo recae sobre el músculo rojo aerobio y, sólo en condiciones de actividad intensa y brusca, entra en acción el músculo blanco de funcionamiento anaerobio y productor de lactato (17). Los datos obtenidos por nosotros que muestran la no existencia de una influencia clara de la composición de la dieta sobre la actividad de la Láctico deshidrogenasa (Tabla II), parecen abundar en esta idea, sin olvidar que esta enzima, al catalizar una reacción fisiológicamente reversible, no puede ser considerado propiamente gluconeogénico.

La duración de los periodos de ayuno ensayados se había revelado suficiente para movilizar los posibles acúmulos grasos en las truchas alimentadas con esta dieta hiperlipídica (pG) (3). La fácil movilización y utilización de los lípidos y la relativamente escasa cuantía de tales sobreacúmulos pudieron contribuir a ello. No obstante, al ser los peces unos animales que durante fases más o menos prolongadas de su ciclo biológico pasan por situaciones de ayuno notablemente más prolongadas (ca-

pacidad debida en parte a su reducida tasa metabólica de reposo), los cambios metabólicos más notables no aparecen sino tras periodos de ayuno más prolongados (19).

Ello no obstante, la acción conjunta de este factor y del tipo de dieta consumida previamente al ayuno, ha de ser tenida en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos en el caso de las transaminasas (Tabla II, Fig. 1).

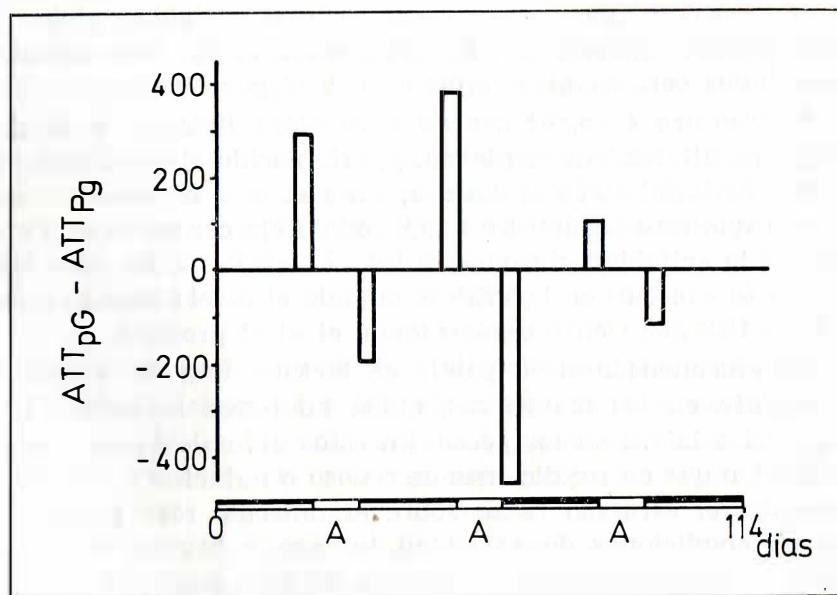


Fig. 1.—Efecto de las distintas dietas experimentales (pG y Pg) y de los periodos de ayuno (A) sobre la actividad transaminásica total (ATT). (Los datos de ordenadas expresan la diferencia entre los valores correspondientes a los lotes pG y Pg en nanomoles de sustrato transformado por mg de proteína y minuto).

Diversos autores y en distintas especies han encontrado una correlación directa entre el nivel proteico de la dieta y la actividad transaminásica hepática (1, 22), para otros, en cambio, tales cambios no aparecen cuando las proporciones de hidratos de carbono y proteínas varían recíprocamente (7, 20), finalmente, DE LA HIGUERA (12) y JÜRSS y NICOLAI (15) observan, al subir el nivel lipídico de la dieta, un descenso en la actividad de ALAT sin cambios correspondientes en la de AAT. El cuadro

TABLA II.—EFECTO DE LA COMPOSICION DE LA DIETA SOBRE LA ACTIVIDAD DE ALGUNOS ENZIMAS HEPATICOS

| Dieta           | 0  | 21         | 31         | 52         | 62         | 83         | 93         | 114        |            |
|-----------------|----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| FDP-asa. PEPCCK | Pg | 7.4 ± 0.4  | 8.3 ± 1.2  | 9.4 ± 1.2  | 7.3 ± 0.1  | 6.9 ± 4.0  | 5.4 ± 0.3  | 6.9 ± 0.7  | 9.6 ± 0.9  |
|                 | pG | 4.7 ± 0.6  | 3.5 ± 0.1  | 4.7 ± 1.2  | 4.6 ± 0.4  | 4.0 ± 1.0  | 7.1 ± 0.6  | 9.7 ± 0.9  | 6.2 ± 0.9  |
| LDH             | Pg | 48.2 ± 2.8 | 51.6 ± 3.2 | 57.2 ± 2.6 | 39.9 ± 4.1 | 38.3 ± 1.5 | 34.9 ± 1.8 | 48.4 ± 3.0 | 46.9 ± 2.9 |
|                 | pG | 44.9 ± 3.6 | 22.7 ± 3.9 | 41.0 ± 4.3 | 26.9 ± 2.6 | 25.3 ± 3.9 | 27.4 ± 4.8 | 34.8 ± 1.2 | 45.2 ± 9.2 |
| AAT             | Pg | 1337 ± 252 | 1950 ± 67  | 1061 ± 127 | 1165 ± 97  | 1465 ± 258 | 2285 ± 100 | 1765 ± 275 | 1379 ± 68  |
|                 | pG | 1500 ± 213 | 588 ± 63   | 1185 ± 109 | 2509 ± 122 | 1888 ± 205 | 2002 ± 67  | 1963 ± 61  | 1463 ± 320 |
| ALAT            | Pg | 108 ± 0.6  | 204 ± 20   | 405 ± 51   | 154 ± 27   | 400 *      | 263 ± 22   | 230 ± 34   | 170 ± 13   |
|                 | pG | 254 ± 14   | 210 ± 34   | 194 ± 28   | 454 ± 53   | 383 ± 52   | —          | 153 ± 24   | 130 ± 38   |
| ALAT            | Pg | 118 ± 4    | 200 ± 19   | 318 ± 41   | 194 ± 34   | 563 ± 21   | 231 ± 34   | 321 ± 35   | 385 ± 22   |
|                 | pG | 218 ± 20   | 481 ± 33   | 329 ± 14   | 276 ± 24   | 114 ± 16   | 591 ± 102  | 253 ± 41   | 404 ± 96   |

Nota.—Los datos expresados corresponden a la media ± error estandar (n = 4, salvo \* en que n = 1).

Todas las actividades enzimáticas están expresadas en nanomoles de sustrato transformados por minuto y por miligramo de proteína.



se complica más aún si se considera el papel relativo desempeñado por las aminotransferasas musculares, no consideradas en nuestro estudio, pero que sin duda influyen sobre la actividad de sus homónimas hepáticas.

De nuestro estudio, dado el carácter ambivalente de estas enzimas y puesto que cambios en su actividad pueden deberse tanto a modificaciones en la tasa de síntesis de aminoácidos como a variaciones en la de su degradación, es difícil obtener conclusiones claras.

La actividad transaminásica que llamamos total (AAT), obtenida de la suma de las correspondientes a ALAT y AAT es, al final de los periodos de alimentación, siempre inferior en los animales alimentados con la dieta hiperproteica (Pg) que en las alimentadas con dieta grasa (pG) (Fig. 1). Esta diferencia se explica, en nuestra opinión, sobre la base de que los animales que ingieren la dieta grasa y que utilizan los lípidos activamente como fuente de energía, tendrían un acúmulo de cetoácidos que serían transformados en aminoácidos mediante una actividad exacerbada de las transaminasas. El resultado sería un incremento en la síntesis de proteínas, lo que coincide con la menor excreción de  $\text{NH}_3$  y el mantenimiento del PPV (Valor productivo de la proteína) a pesar de la más baja ingesta proteica, obtenidos con las mismas dietas (13).

Al final de los periodos de ayuno la situación se invierte (Fig. 1) y la actividad transaminásica es mayor en los animales que previamente habían sido alimentados con la dieta proteica. Ello nos habla de un intenso catabolismo proteico durante el ayuno en estos animales, mientras que dicho catabolismo es mucho más reducido cuando la dieta previamente ingerida es rica en grasas y pobre en proteínas. Varios autores han encontrado un efecto similar, en el sentido de que la actividad transaminásica aumenta durante el ayuno en animales previamente alimentados con dietas ricas en proteínas (11, 16) si bien, casi siempre, estos efectos tardan más tiempo en manifestarse.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ABEL, H., PIEPER, A. y PFEFFER, E.: *Zeitschr. Tierphysiol. Tierern. Futterm.*, 41 325-334, 1979.
2. ANTONIO, P.: Tesina de Licenciatura. Universidad de Granada.

3. AUSTRENG, E., RISA, S., EDWARDS, D. J. y HVIDSTEN, H.: *Aquaculture*, *11*, 39-50, 1977.
4. BERGMAYER, H. y BERNT, E.: "En "Methods of enzymatic analysis". Academic Press. New York, London, 1965. p. 837 (AAT). p. 846 (ALAT).
5. BERGMAYER, H., BERNT, E. y HESS, B.: En "Methods of enzymatic analysis". Academic Press. New York, London, 1965. p. 736.
6. BERGOT, F.: *Aquaculture*, *18*, 157-167, 1979.
7. COWEY, C. B., BROWN, D. A., ADRON, J. W. y SHANKS, A. M.: *Mar. Biol.*, *28*, 207-213. 1974.
8. COWEY, C. B., DE LA HIGUERA, M., ADRON, J. W.: *Br. J. Nutr.*, *38*, 385-395, 1977.
9. COWEY, C. B., KNOX, D., WALTON, M. J. y ADRON, J. W.: *Br. J. Nutr.*, *38*, 463-470, 1977.
10. COWEY, C. B., POPE, J. A., ADRON, J. W. y BLAIR, A.: *Br. J. Nutr.*, *28*, 447-456, 1972.
11. CREACH, Y.: Thèse Doctor. Sc., Toulouse, 1972.
12. DE LA HIGUERA, M., MURILLO, A., VARELA, G., ZAMORA, S.: *Comp. Biochem. Physiol.*, *56*, 37-41, 1977.
13. GARCIA, M., ZAMORA, S. y LOPEZ, M. A.: *Comp. Biochem. Physiol.*, *68*, 457-460, 1981.
14. GARCIA, M., ZAMORA, S., LOPEZ, M. A.: *Ars Pharmaceutica*. XIII, 1981 (En prensa).
15. JÜRSS, K.: *Comp. Biochem. Physiol.*, *68*, 527-534, 1981.
16. JÜRSS, K. y NICOLAI, B.: *Zool. Jb. Physiol. Bd.*, *80*, 101-109, 1976.
17. KNOX, D., WALTON, M. J. y COWEY, C. B.: *Mar. Biol.*, *56*, 7-10, 1980.
18. MENDICINO, J., OLIVER, R. M. y KRATOWICH, N.: *J. Biol. Chem.*, *247*, 6643, 1972.
19. MORATA, P., VARGAS, A., SANCHEZ-MEDINA, F., GARCIA, M., CARDENETE, G. y ZAMORA, S.: *Comp. Biochem. Physiol.*, *71*, 65-70, 1982.
20. NAGAI, M. e IKEDA, S.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, *39*, 633-643, 1973.
21. NAGAYAMA, F. y OSHIMA, H.: *Bull. Jap. Sci. Fish.*, *40*, 285-290, 1974.
22. NOSE, T. y ARAI, S.: *Bull. Fresh. Fish. Lab. (Tokyo)*, *22*, 145-155, 1973.
23. PIEPER, A., PFEFFER, E.: En *Proc. World Symp. Finfish Nutr. Fishfeed Technol.*, Hamburg 1978. Ed. por HALVER, J. E. y TIEWS, K., vol. I, pgs. 209-219.
24. REINITZ, G. L., ORME, L. E., LEMM, C. A. y HITZEL, F. N.: *Trans. Am. Fish. Soc.*, *107*, 751-754, 1879.
25. STEFFENS, W.: En "Internat. Seminary on Fish Nutr. Diet Develop.". Edit. por OLOAH, J. y CSENGARI, I., pgs. 76-92, Publ. F. MILLER, Fish. Res. Inst., Szarvas (Hungria), 1978.