

Reproducción, en la rata blanca, de algunas características de la desnutrición proteico-calórica humana¹

ROBERTO UMAÑA² Y CARLOS TEJADA³
con la colaboración técnica de *Daniel Fernández*⁴
y de *Amparo T. de Arango*⁵
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, C. A.

Una de las enfermedades más comunes en los países en vía de desarrollo es la desnutrición proteico-calórica. Entre las características clínicas más importantes de esta entidad nosológica deben citarse el marcado retardo en el desarrollo pondero-estatural y, probablemente, cierto retraso en el desarrollo mental del individuo (1-5).

Sin embargo, tanto el retardo en el desarrollo físico como en el plano mental no son más que las manifestaciones externas de los complejos trastornos metabólicos que ocurren a nivel celular. En verdad, bien puede afirmarse que, para su desarrollo normal, ambas funciones dependen de la capacidad del organismo para sintetizar proteínas específicas y otros materiales que constituyen el fundamento de los distintos ciclos metabólicos.

-
1. Esta investigación se llevó a cabo con asistencia financiera de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos de América (NIH), con sede en Bethesda, Maryland (Subvenciones Nos. AM-04731 y AM-00931).
 2. Médico y Cirujano y Doctor en Bioquímica de la División de Química Fisiológica del INCAP.
 3. En la época en que se realizó el trabajo aquí descrito, el Dr. Tejada servía el cargo de Jefe de la División de Patología Clínica del Instituto. En la actualidad dicho profesional es, además, Director de Enseñanza de la misma Institución.
 4. Técnico de laboratorio de la División de Química Fisiológica del INCAP.
 5. Médico en entrenamiento en el Hospital Roosevelt de Guatemala.
Publicación INCAP E-350.

El estudio de estos ciclos exige generalmente el uso de homogeneizados o secciones de tejidos para llevar a cabo experimentos *in vitro*, el uso de materiales radioactivos, la disponibilidad de suficiente material para el aislamiento de enzimas, etc., todo lo cual hace prácticamente imposible que este tipo de estudios puedan llevarse a cabo en forma efectiva en humanos. Consecuentemente, es imprescindible atacar el problema valiéndose de diseños experimentales paralelos entre estudios en animales de experimentación y en material humano. En esta forma, el animal de laboratorio, sometido a condiciones dietéticas y ambientales que simulan aquellas causantes de la desnutrición proteico-calórica, permite el estudio minucioso y extenso de los cambios que se presenten en los ciclos metabólicos, los que luego pueden servir de base para la formulación de hipótesis de trabajo. En este caso, el material humano se utiliza únicamente en estudios de cierta limitación, diseñados especialmente para comprobar o desechar las hipótesis formuladas a partir de las investigaciones efectuadas en animales.

Con esta filosofía de trabajo en mente, el primer paso a seguir en el estudio del efecto de la desnutrición proteico-calórica en el desarrollo somático ha sido tratar de replicar, en la rata blanca, algunas de las características más sobresalientes de la deficiencia proteica en humanos. Los parámetros que por estos medios se ha intentado reproducir son el retardo en el desarrollo ponderal y la composición química total del hígado y del plasma.

MATERIAL Y METODOS

En el presente estudio se utilizaron 24 ratas de la cepa Sprague-Dawley, tomadas al destete (21 días), que se dividieron en dos grupos de 12 ratas cada uno. El primer grupo se subdividió a su vez en dos subgrupos, de los cuales el primero recibió una dieta que contenía caseína* como fuente proteica, en una concentración del 20%. El segundo subgrupo fue alimentado con una ración a base de maíz amarillo molido que contenía 5% de proteína de este cereal. A los animales de ambos subgrupos se les administró, por medio de intubación gástrica,

* Caseína libre de vitaminas que se obtuvo de la casa comercial Nutritional Biochemical Corporation, con sede en Cleveland, Ohio, EE.UU.

trica, 5 ml. de agua, dos veces al día, durante todo el período experimental.

El segundo grupo también fue subdividido en dos subgrupos, a los cuales se les dieron las mismas dietas que a los subgrupos del primer grupo, salvo que en este caso la suplementación con agua fue substituida por 5 ml. de una solución de glucosa al 50%. La composición exacta de la dieta utilizada en estos experimentos ya ha sido descrita en publicaciones previas (6).

Las condiciones citadas se mantuvieron por un término de tres semanas, durante las cuales todos los animales tuvieron libre acceso al agua y fueron pesados tres veces por semana. Además, en el curso de la última semana se llevó un registro de tres días de la ingesta de alimentos de cada rata.

Al final del período experimental los animales fueron sacrificados por decapitación, colectándose separadamente la sangre de cada uno. Luego se extrajeron y pesaron el hígado, el riñón derecho y las dos glándulas suprarrenales, y después de separar una pequeña porción de hígado para estudios histológicos, se hizo un homogeneizado al 10% en agua destilada, en el cual se determinaron los siguientes compuestos:

a) nitrógeno total, por el micrométodo de Kjeldahl (7); b) lípidos totales después de extracción con una mezcla de metanol éter (1:1 por volumen) a 50°C., por el método de oxidación de Bragdon (8) usando trioleína purificada como patrón; c) agua total por desecación a 105°C.; d) ácido desoxiribonucleico, para lo cual se siguió la técnica de Schneider y Dische (9, 10), y e) vitamina A, según el procedimiento de Bessey y colaboradores (11).

En el plasma se efectuaron, asimismo, las siguientes determinaciones: a) proteínas totales, de acuerdo con el método de Lowry y Hunter (12); b) urea total, por nesslerización, luego de haber incubado con ureasa y precipitado las proteínas con ácido túngstico; c) vitamina A y carotenos, por el procedimiento de Bessey y colaboradores (11), y d) separación cuantitativa de las proteínas plasmáticas por medio de electroforesis en papel usando un amortiguador de barbital-acetato a un pH de 8.6, con una fuerza iónica de 0.075 y a un voltaje de 110 voltios por 16 horas. La estimación colorimétrica se hizo

después de tinción con "amido-black" y elución con NaOH 0.01 N (13).

El carcas de cada animal (esto es, todo el cuerpo menos el hígado, el riñón derecho y las adrenales) se pesó y luego se secó a 75°C. durante 8 días con el fin de determinar su contenido total de agua.

Después de fijar el fragmento de hígado en formaldehído al 10% se hicieron cortes histológicos en la forma rutinaria, los cuales se colorearon con hematoxilina-eosina y se sometieron a los siguientes estudios: a) medición del diámetro del núcleo de los hepatocitos, y b) recuento de hepatocitos y de células de Kupffer por unidad de área. En el desarrollo del estudio histológico total se utilizó una cuadrícula estándar y un objetivo de inmersión en aceite x 970, usando siempre el mismo microscopio y ocular. El promedio del diámetro nuclear corresponde a 50 mediciones, y el de hepatocitos y células de Kupffer a recuentos efectuados en diez áreas distintas, en las que no se incuyeron los espacios porta. Con el fin de corregir los resultados con relación a posibles diferencias en el grosor de los cortes histológicos, se acordó expresar tales resultados como la razón entre el número de hepatocitos y el de células de Kupffer. El diámetro de los núcleos se expresó en micras.

Se investigó la significación estadística de las diferencias entre los promedios, aplicando la prueba de "t".

RESULTADOS

Ingesta de alimentos

En el Cuadro N° 1 se presenta el promedio diario de ingesta de las ratas que integraban los distintos grupos, siendo evidente que aquellas a las cuales se les administró la dieta a base de maíz consumieron una menor cantidad de alimento que los animales testigo. Asimismo, en los grupos que recibieron el suplemento de glucosa también se observó cierta tendencia a consumir menos alimento. Con relación a la ingesta proteica, las ratas sometidas a la dieta de maíz recibieron de un tercio a un cuarto de la cantidad total de proteína que se administró a las del grupo control. La cantidad de calorías ingeridas por gramo de proteína fue mucho mayor en los animales alimentados con la dieta deficiente en proteína,

y lo mismo sucedió en el caso de las ratas que recibieron el suplemento de glucosa.

Desarrollo ponderal

Según se aprecia en la Fig. 1, la curva de crecimiento de las ratas alimentadas con maíz, comparada con la curva correspondiente a las que consumieron la dieta con caseína, pone de manifiesto el efecto de la deficiencia proteica sobre la velocidad de crecimiento de la rata joven. En lo que al suplemento de glucosa concierne, éste no dio resultados significativamente diferentes de los que se presentan en esta gráfica.

Los cambios en cuanto al peso corporal y al peso del hígado y del riñón y de las glándulas suprarrenales, que tuvieron lugar durante el período experimental, se detallan en el Cuadro Nº 2. Puede notarse que la deficiencia proteica (dieta de maíz más agua) produjo una deficiencia corporal de 54% y aumentos significativos en el peso del hígado y del riñón. En cambio, cuando la ración a base de maíz se complementó con glucosa, el peso del hígado no sufrió alteración alguna. El peso de las glándulas suprarrenales permaneció inalterable en todos los grupos estudiados.

Composición plasmática

Según lo revela el examen del Cuadro Nº 3, tanto la dieta de maíz suplementada con agua, como la dieta a base de este mismo cereal, complementada con glucosa, produjeron una disminución altamente significativa de las proteínas totales del plasma y de las fracciones albúmina y globulinas tipo alfa. La dieta con el agregado de glucosa produjo, además, en contraste con la dieta suplementada con agua, un descenso estadísticamente significativo de los niveles de vitamina A plasmática.

Composición hepática

El exceso de glucosa, tanto en la dieta de maíz como en la dieta de caseína, produjo un franco incremento en el contenido de lípidos del hígado (Cuadro Nº 4). La disminución que hubo en la cantidad de proteínas hepáticas de las ratas que estuvieron sometidas a la dieta de maíz suplementada con glucosa (—11%) fue menor que la que se constató en las ra-

tas cuya alimentación fue complementada con agua (-17%). La ración a base de maíz, sin suplemento, produjo, además del descenso en proteínas, un alza del contenido de ADN y de vitamina A del hígado. Sin embargo, a causa del alto grado de variación encontrado, estos incrementos no alcanzaron significación estadística. La dieta de maíz que se suplementó con glucosa produjo un aumento de importancia en la concentración de ADN y de lípidos, pero el contenido de vitamina A no sufrió alteración alguna.

Contenido de agua del carcas

Ninguna de las condiciones experimentales bajo las cuales se desarrolló el presente estudio demostró tener influencia sobre el contenido de agua del carcas del animal que, en todos los casos, se mantuvo dentro de los límites considerados como normales.

Resultados de los estudios histológicos

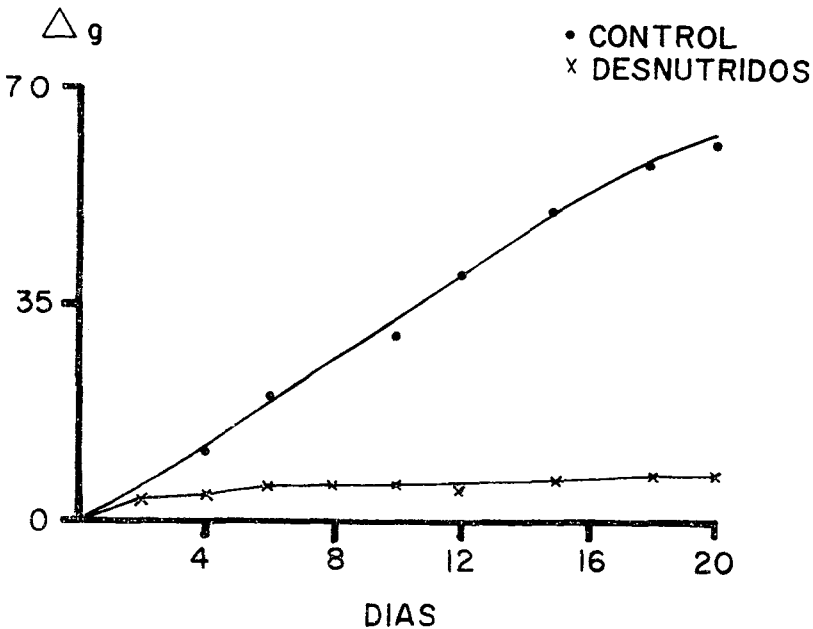
La medición de los diámetros de los hepatocitos reveló una disminución significativa del diámetro del núcleo del hepatocito, producida por la deficiencia proteica. Por otro lado, el recuento de hepatocitos y de células de Kupffer hizo manifiesto un ligero aumento del número de hepatocitos en los hígados deficientes en proteína. Únicamente el recuento efectuado en los hígados de los animales alimentados con la dieta a base de maíz y suplementada con glucosa alcanzó significación estadística (Cuadro N° 5).

DISCUSION

La dieta deficiente en proteínas que se utilizó en esta investigación presenta, en general, las características atribuidas a las dietas humanas que se cree producen el cuadro clínico de desnutrición proteico-calórica (1-3). Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que con el fin de obtener magnitudes de cambio suficientes para su medición exacta, las condiciones de exceso calórico, deficiencia de proteínas y desbalance de su contenido de aminoácidos se encuentran exageradas considerablemente en estas dietas.

La detención del crecimiento es uno de los efectos más notorios de la deficiencia crónica de proteínas en el niño. A juzgar por las curvas que se dan a conocer en la Fig. 1, es evidente que las condiciones dietéticas a que las ratas se sometieron en este estudio reproducen con bastante fidelidad dicha condición humana. Puede notarse que al final del período experimental las ratas alimentadas con la dieta a base de maíz presentaban una deficiencia ponderal de aproximadamente 40%, en contraste con el grupo testigo. Por otra parte, salvo algunos animales que presentaron alopecia leve, no se produjeron cambios dignos de mención ni en la textura del pelaje ni en su comportamiento habitual. Las ratas que recibieron el suplemento de glucosa tampoco acusaron ningún cambio ponderal atribuible específicamente a esta suplementación.

Hasta la fecha se han definido con bastante exactitud los cambios clínicos y químicos más notables que ocurren como



INCAP 65-400

Fig. 1.—Curvas de crecimiento del grupo de ratas testigo (dieta de caseína) y del grupo de animales desnutridos (dieta de maíz).

consecuencia de la desnutrición proteico-calórica (1-5). Con relación al cuadro clínico, además del retardo pondoestatural ya citado, es necesario señalar el aumento de tamaño del hígado, fenómeno éste que se observa en el 42% ó más de los casos. Además de la presencia de edema, trastornos digestivos y cambios en la coloración y textura de la piel y del cabello (1-3, 14), los análisis de laboratorio han demostrado que la deficiencia proteica aguda produce una marcada hipoprotei-nemia, usualmente a expensas de un descenso en la concentración de la fracción albúmina. Es notorio también el aumento de las globulinas tipo gamma. Todos estos cambios van generalmente acompañados de bajos niveles de vitamina A y carotenos (15).

Los estudios histopatológicos y químicos del hígado han revelado un alto contenido de lípidos que excede en un 29 a 273% a la concentración normal. Por otro lado, los análisis químicos han puesto de manifiesto un contenido normal o bajo de vitamina A (15), así como una disminución en los niveles proteicos que fluctúa entre 12 y 40% de los valores considerados como normales (14, 16, 17). El contenido de agua se ha encontrado normal o ligeramente aumentado. Recientemente, en los laboratorios del Instituto de Nutrición de Centro-América y Panamá (INCAP) se ha podido constatar un incremento significativo en la concentración de ADN en el hígado de niños que fallecieron a causa de desnutrición proteica (6, 18, 19).

Los resultados obtenidos en el trabajo que aquí se comenta demuestran que el tratamiento dietético (maíz) a que se sometieron las ratas incluidas en el experimento, logró reproducir con bastante fidelidad algunas de las características de la desnutrición humana, con excepción del edema y de las alteraciones de la piel y del cabello.

En lo que respecta al pronunciado incremento en el tamaño del hígado de las ratas que fueron alimentadas con maíz suplementado con agua, bien puede ser, como lo sugirieran Waterlow y colaboradores (14), que, dado que existe un aumento altamente significativo en la cantidad de grasa hepática, y en vista de que la desnutrición proteica produce un paro en la reproducción celular del hígado (6, 18, 19), el aumento de tamaño de dicho órgano se deba en gran medida

a la acumulación de lípidos en el mismo. Sin embargo, en las ratas que consumieron la dieta de maíz suplementada con glucosa no se observó ningún aumento en el tamaño del hígado, a pesar de que el contenido de grasa era mayor en los órganos de estos animales. Es probable que los valores de proteína hepática, que fueron más altos en las ratas alimentadas con la dieta de maíz más glucosa, puedan atribuirse al efecto de preservación de proteína por los carbohidratos, ya que la dieta a base de maíz suplementada con glucosa proporcionó alrededor de 20% más de calorías por 100 g. de peso corporal por día, que la no suplementada.

Un efecto notable de las raciones preparadas con este cereal fue un pronunciado incremento en el tamaño del riñón. Se desconoce la razón de este aumento, pero no sería remota la posibilidad de que tal fenómeno guarde relación directa con las perturbaciones básicas que en el metabolismo proteico produce la deficiencia de proteínas.

El peso de las glándulas suprarrenales no sufrió ninguna alteración. Ahora bien, el hecho de que bajo las condiciones experimentales usadas no se haya podido comprobar ningún cambio significativo en el peso de estas glándulas no niega la posible existencia de manifestaciones endocrinas, independientes del peso, que bien podrían desempeñar un papel de primordial importancia en el desarrollo del cuadro clínico característico de la fase aguda de la desnutrición proteico-calórica, como lo sugirieran Castellanos y Arroyave (20).

Como punto de interés vale la pena mencionar el hecho de que la relación vitamina A/proteína en el hígado de los animales desnutridos excede de lo normal. Esto podría tener alguna significación fisiológica, ya que los estudios de Weissmann (21) han demostrado que el exceso de esta vitamina produce un aumento en la permeabilidad de la membrana del lisosoma. De tal manera que si un exceso de vitamina A (incremento de la relación vitamina A/proteína) fuese capaz de producir el mismo efecto, bien cabría la suposición de que cuando hay deficiencia proteica exista una liberación de enzimas proteolíticas intralisosomales en la fase soluble de la célula. En este caso estas enzimas podrían ser parcialmente responsables de la degradación y pérdida de las proteínas hepáticas que acompaña a la deficiencia de proteínas. Reciente-

mente se han iniciado, en los laboratorios del INCAP, estudios encaminados a investigar esta posibilidad.

Al igual que en trabajos previos (6, 18, 19), en los experimentos de que aquí se da cuenta se observó también que la deficiencia proteica produjo un aumento significativo en el contenido de ADN del hígado de los animales desnutridos. Si este aumento se toma en consideración es, pues, posible explicar las diferencias que existen entre el contenido proteico del hígado, determinado por Méndez y Tejada (16) en niños con síndrome de pluricarenia infantil (kwashiorkor) (12% menor que el de niños testigo) y el establecido por Waterlow y colaboradores (14) en este mismo tipo de hígado (40% del considerado como normal), ya que este último autor utilizó como pauta de referencia el contenido de ADN del hígado, aumentando así considerablemente la magnitud real de la deficiencia, mientras que Méndez y Tejada (16) usaron como patrón de referencia el peso seco del órgano.

El estudio histológico a que se sometieron estos órganos en el presente trabajo reveló que el número de células de Kupffer por unidad de área no sufre ningún cambio, mientras que el número de hepatocitos tiende marcadamente a aumentar, hecho que se refleja fácilmente en el ascenso de la relación hepatocitos/células de Kupffer. Este ligero incremento en el número de hepatocitos debe interpretarse como una pérdida moderada de citoplasma, ya que la otra alternativa, esto es, un aumento real en el número de células no parece probable en vista de que estudios previos (6, 18, 19) sugieren que en los estados de deficiencia proteica ocurre un bloqueo en la reproducción celular.

Según se pudo determinar, los diámetros de los núcleos de los hepatocitos en los hígados de ratas desnutridas eran significativamente menores que los diámetros de los núcleos de los hepatocitos normales. Teóricamente, y en vista de los trabajos de Alfert y Bern (22) y de Fautrez y colaboradores (23), sería de esperar que, si la desnutrición proteica produce un aumento en las formas poliploides de los hepatocitos (6, 18), en el hígado del animal deficiente predominen núcleos con un diámetro mayor que el de la rata control. Sin embargo, teniendo en cuenta que durante el proceso de fijación de los cortes histológicos se extraen los lípidos nucleares, se podría su-

poner que ocurra una disminución marcada en el diámetro de los núcleos de los animales desnutridos, ya que éstos probablemente contienen un exceso de material lípido. Los resultados de los estudios electroforéticos del plasma guardan relación con los obtenidos en el plasma de niños desnutridos. Según se pudo establecer, los niveles de vitamina A plasmática se encontraban dentro de los límites normales, probablemente debido, primero, a que la dieta contenía cantidades adecuadas de esta vitamina y, segundo, porque la desnutrición no alcanzó grados extremos en estos animales. Los valores de urea plasmática son de difícil interpretación, ya que las ratas no se sometieron a ayuno antes de ser sacrificadas.

RESUMEN

Los resultados de los experimentos que se presentan en este trabajo indican que el uso de una dieta de bajo contenido en proteína de valor biológico deficiente (5% de proteína de maíz) y con un exceso de carbohidratos, producen en la rata joven un cuadro químico, en lo que a composición hepática y plasmática se refiere, muy similar al que se observa en los casos clínicos agudos de desnutrición proteico-calórica en niños.

Es evidente que, como los autores manifiestan anteriormente, la extrapolación de los resultados obtenidos en ratas tratadas en esta forma, al hombre, no puede hacerse en forma directa. Sin embargo, no cabe ninguna duda de que el desarrollo de estudios de este tipo sería una valiosa guía para el diseño de investigaciones similares en material humano.

SUMMARY

Experimental conditions have been described for reproduction, in the rat, of some of the clinical and chemical characteristics of kwashiorkor.

In the present study, carried out in weanling rats, the feeding of a 5% corn protein diet with an excess of carbohydrates (85%) during a three-week period, produced the following changes: an increase in the fat and vitamin A content of the liver, as well as a significant decrease in its total proteins. A reduced albumin concentration in the plasma, with an electrophoretic pattern similar to that found in kwashiorkor, was also observed.

These results are discussed in terms of the usefulness of these experimental conditions for research studies dealing with the basic alterations produced by protein deficiency in the intermediary metabolism, and its extrapolation to the same type of situation in humans.

CUADRO Nº 1

CONSUMO TOTAL DE ALIMENTOS

(Valores promedio durante un período de tres días)

GRUPO	Dieta g./día	Proteína g./100 g./día	Cal./g. proteína
Caseína más agua	17.7	1.3	18
Caseína más glucosa	13.6	1.0	26
Maíz más agua	12.4	0.30	88
Maíz más glucosa	10.5	0.25	127

CUADRO N° 2

EFFECTO DE LA DIETA Y DEL EXCESO DE GLUCOSA EN EL PESO CORPORAL Y EN EL PESO DEL HIGADO, DEL RIÑÓN Y DE LAS GLANDULAS SUPRARRENALES DE LA RATA JOVEN

(Los resultados se expresan en g./100 g. de peso corporal)

P E S O	D I E T A							
	Caseína más agua		Caseína más glucosa		Maíz más agua		Maíz más glucosa	
	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.
Corporal ¹	101	12.50	113	9.40	55**	6.80	49**	6.00
Hígado	4.40	0.46	4.20	0.39	5.04**	0.40	4.5	0.58
Riñón	0.46	0.01	0.46	0.02	0.58*	0.03	0.56*	0.05
Glándulas suprarrenales ²	0.012	0.004	0.012	0.002	0.011	0.001	0.012	0.001

\bar{X} = promedio; D. E. = desviación estándar.

1 — Peso expresado en gramos.

2 — Promedio de las dos glándulas.

* — $P=0.05$

** — $P<0.01$ en contraste con el grupo control.

CUADRO Nº 3

EFFECTO DE LA DIETA Y DEL EXCESO DE GLUCOSA EN LA COMPOSICION PLASMATICA DE LA RATA JOVEN

Composición plasmática	D I E T A							
	Caseína más agua		Caseína más glucosa		Maíz más agua		Maíz más glucosa	
	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.
Proteínas totales ¹	5.66	0.30	5.75	0.26	4.60**	0.37	4.34	0.22
Albúmina ¹	2.74	0.30	2.77	0.17	2.09**	0.22	1.72**	0.14
Globulinas alfa ¹	1.82	0.10	1.81	0.24	1.35**	0.20	1.44**	0.08
Globulinas beta ¹	0.77	0.13	0.79	0.04	0.73	0.17	0.71	0.07
Globulinas gamma ¹	0.32	0.06	0.37	0.08	0.43	0.05	0.48	0.10
Urea ²	22.00	4.54	19.17	3.10	22.86	5.80	25.66	8.10
Vitamina A ³	34.78	5.75	35.46	8.40	30.15	3.80	25.01*	2.40

\bar{X} = promedio; D. E. = desviación estándar.

1 — Expresadas en g./100 g.

2 — Expresada en mg. N/100 g.

3 — Expresada en μ g/100 g.

* — P=0.05

** — P<0.01 en contraste con el grupo que recibió caseína más agua.

CUADRO Nº 4

EFFECTO DE LA DIETA Y DEL EXCESO DE GLUCOSA EN LA COMPOSICION HEPATICA DE LA RATA JOVEN

(Los resultados se expresan en mg./g de tejido seco)

Composición hepática	D I E T A							
	Caseína más agua		Caseína más glucosa		Maíz más agua		Maíz más glucosa	
	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.
Proteínas totales ¹	526	55.0	563	25.0	437*	69.0	463	65.0
Lípidos totales	51	14.0	89**	11.5	187**	39.0	255**	50.0
ADN	8.6	1.0	8.7	1.0	11	3.5	13.3**	1.2
Vitamina A ²	82.6	18.1	77.1	11.8	100.6	14.5	87.1	21.0
Vitamina A/proteína	0.15		0.13		0.23		0.18	

\bar{X} = promedio; D. E. = desviación estándar.

1 — N×6.25

2 — Expresado en $\mu\text{g/g}$. de tejido seco.

* — P=0.05 en contraste con los animales sometidos a la dieta a base de caseína.

** — P<0.01

CUADRO N° 5

EFFECTO DE LA DIETA Y DEL EXCESO DE GLUCOSA EN LAS CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS DE LA CELULA HEPATICA

DIETA	Diámetro del núcleo (μ)		Hepatoitos por unidad de área		Células de Kupffer por unidad de área		Hepatocitos/células de Kupffer	
	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.	\bar{X}	D. E.
Caseína	8.51	0.55	47	8.2	21	2.8	2.21	0.17
Caseína más glucosa	8.58	0.79	43	4.2	21	0.1	2.11	0.33
Maíz	6.86**	0.72	52	7.5	21	2.4	2.50	0.13
Maíz más glucosa	6.54**	0.14	61**	6.2	24	1.8	2.55	0.47

\bar{X} = promedio; D. E. = desviación estándar.

** — $P < 0.01$ en contraste con el grupo control.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.—Desnutrición severa en la infancia. *Rev. Col. Méd. Guatemala* 7: 221, 1956.
- (2) Autret, M., y Béhar, M.—Síndrome policarencial infantil (kwashiorkor) y su prevención en la América Central. Washington, D. C., Oficina Sanitaria Panamericana, 1955. Publicaciones Científicas N° 17.
- (3) Waterlow, J. C.; Cravioto, J., y Stephen, J. M. L.—Protein malnutrition in man. *Advances Prot. Chem.* 15: 131, 1960.
- (4) León, E. W. de; Licardie, E. de, y Cravioto, J.—Operación Nimi-quipalg. — VI. Desarrollo psicomotor del niño en una población rural de Guatemala perteneciente al grupo Cakchiquel. *Guatemala Pediátrica* 4: 92, 1964.
- (5) Cravioto, J.—Application of newer knowledge of nutrition on physical and mental growth and development. *Am. J. Pub. Hlth* 53: 1.803, 1963.
- (6) Umaña, R.—Effect of protein malnutrition on the DNA content of the rat liver. *J. Nutrition* 85: 169, 1965.
- (7) Association of Official Agricultural Chemists.—“Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists”, 6th ed. Washington, D. C., 1945.
- (8) Bragdon, J. H.—Colorimetric determination of blood lipides. *J. Biol. Chem.* 190: 513, 1951.
- (9) Schneider, W. C.—Phosphorus compounds in animal tissues. 1. Extraction and estimation of desoxyribose nucleic acid and of pentose nucleic acid. *J. Biol. Chem.* 161: 293, 1945.
- (10) Dische, Z.—*Mikrochemie* 8: 4, 1930. (cf. Leslie, I. En: “The Nucleic Acids”, vol. II, ed. by E. Chargaff & J. N. Davidson. New York, Academic Press, Inc., 1955, p. 3.)
- (11) Bessey, O. A.; Lowry, O. H.; Brock, M. J., y López, J. A.—The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. *J. Biol. Chem.* 166: 177, 1946.
- (12) Lowry, O. H., y Hunter, T. H.—The determination of serum protein concentration with a gradient tube. *J. Biol. Chem.* 159: 465, 1945.
- (13) Block, R. J.; Durrum, E. L., y Zweig, G.—“A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis”. New York, Academic Press, 1955.
- (14) Waterlow, J. C.; Brass, G., y DePass, E.—Further observations on the liver, pancreas and kidney in malnourished infants and children. II. The gross composition of the liver. *J. Trop. Pediat.* 2: 189, 1957.

- (15) Arroyave, G.; Wilson, D.; Contreras, C., y Béhar, M.—Alterations in serum concentration of vitamin A associated with hypo-proteinemia of severe protein malnutrition. *J. Pediatrics* 62: 920, 1963.
- (16) Méndez, J., y Tejada, C.—Liver composition in kwashiorkor and marasmus. *Exper. & Molecular Path.* 1: 344, 1962.
- (17) Waterlow, J. C., y Weisz, T.—The fat, protein and nucleic acid content of the liver in malnourished human infants. *J. Clin. Invest.* 35: 346, 1956.
- (18) Umaña, R.—The effect of the method of nuclei isolation on the average DNA content of the nucleus. *Canad. J. Biochem.* 43: 125, 1965.
- (19) Umaña, R.—The effect of protein deficiency on the composition of the cell nucleus. (Enviado para publicación a *Canad. J. Biochem.*)
- (20) Castellanos, H., y Arroyave, G.—Role of the adrenal cortical system in the response of children to severe protein malnutrition. *Am. J. Clin. Nutrition* 9: 186, 1961.
- (21) Weissmann, G.—Labilization and stabilization of lysosomes. *Fed. Proc.* 23: 1.038, 1964.
- (22) Alfert, M., y Bern, H. A.—Hormonal influence on nuclear synthesis. I. Estrogene and uterine gland nuclei. *Proc. Nat'l. Acad. Sci.* 37: 202, 1951.
- (23) Fautrez, J.; Pisi, E., y Cavalli, G.—Deoxyribonucleic acid content of nucleus and nuclear volume. *Nature* 176: 311, 1955.