

# ASPECTOS BIOQUIMICOS Y NUTRICIONALES EN RATAS EN DESARROLLO QUE RECIBEN PROTEINAS DE DOS PATRONES DIETARIOS DE LOS ANDES DEL PERU<sup>1</sup>

*Roger Ramos-Aliaga*<sup>2</sup>

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

## RESUMEN

En un trabajo anterior, mostramos un descenso en el metabolismo *in vitro* de varias drogas en hígado de ratas que recibieron una dieta vegetal. Este hallazgo indujo a efectuar el presente estudio a fin de evaluar mejor la calidad de dos patrones dietarios vegetales típicos de los Andes del Perú. Las dietas en experimentación y preparadas en el laboratorio, contenían diferentes proporciones de harinas de maíz, trigo, cebada, papas y habas (*Vicia faba*) (PVF<sub>1</sub>; proteínas, 9<sup>o</sup>/o), o en lugar de habas, harina de quinua (*Chenopodium quinoa*) (PVF<sub>2</sub>; proteínas, 9<sup>o</sup>/o) y fueron administradas a ratas Wistar en desarrollo durante 10 días, usando como control un grupo de animales que recibieron caseína al 9<sup>o</sup>/o (CAS<sub>9</sub>). Otros grupos de ratas recibieron caseína al 20<sup>o</sup>/o (CAS<sub>20</sub>) y proteína de maíz al 5<sup>o</sup>/o

---

Manuscrito modificado, recibido: 19-10-78.

- 1 Este trabajo constituye parte de un Programa de Investigación sobre "Metabolismo de Drogas y Nutrición", el cual se realiza bajo los auspicios de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Apartado Postal No. 1546), y que fue parcialmente subvencionado por la Organización de Estados Americanos (OEA), Washington, D. C., E. U. A.
- 2 Profesor Asociado, a dedicación exclusiva, del Departamento de Bioquímica y Fisiología, Instituto de Bioquímica y Nutrición, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Apartado Postal No. 1546, Lima, Perú.

(M<sub>5</sub>). Como resultado, se obtuvo valores semejantes en lo referente a los índices de PER (10 días), NPU *operativo* y NDpCal<sup>o</sup>/<sub>o</sub> *determinado* en los grupos PVF<sub>1</sub>, PVF<sub>2</sub> y CAS<sub>9</sub>, aunque los valores del cómputo de aminoácidos y NDpCal<sup>o</sup>/<sub>o</sub> *calculado* fueron menores en las dietas polivegetales. El hígado acusó valores menores en su peso, contenido proteico, actividad de arginasa ( $P < 0.05$ ) e índice de utilización proteica (LPU), pero no en la concentración de proteínas plasmáticas en PVF<sub>1</sub> y PVF<sub>2</sub>. Otros tejidos, incluyendo mucosa intestinal y riñón, no fueron afectados en su peso y contenido proteico.

Se comenta también la participación, en estos resultados, de factores de complementación proteica, de provisión de patrones molares aminoácidos, y otros posibles cambios adaptativos derivados del consumo de dietas vegetales.

## INTRODUCCION

En un trabajo preliminar referente a metabolismo de drogas por N-demetilación en hígado de ratas previamente alimentadas con diferentes dietas, observamos que esta biotransformación en sistemas *in vitro*, era menor (14 - 34<sup>o</sup>/<sub>o</sub>) en animales alimentados con una dieta de proteínas vegetales que en aquéllos a los que se administró una dieta de caseína, a pesar de la semejanza en eficiencia proteica (PER) de ambas dietas (1). Por otro lado, ya Alvistur y Collazos (2) habían informado de la propiedad de dos fórmulas dietarias correspondientes a las dietas típicas de dos regiones andinas del país (Vicos y Chacán) de procurar un desarrollo adecuado en ratas previamente depletadas de proteínas. Estas referencias nos motivaron a efectuar este estudio con el objeto de conocer mejor la calidad de estas dietas usando una serie de parámetros teóricos y experimentales, en relación no sólo con la calidad de las dos fórmulas y sus ingredientes, sino también con la respuesta orgánica que su consumo provoca en organismos en desarrollo. De este modo, los patrones dietarios escogidos para el estudio corresponden a las comunidades rurales de Vicos (Sierra Central) y Chacán (Sierra Occidental) en la región andina del Perú y constituyen la única fuente de proteína para estas poblaciones. En ellos, el maíz ocupa un lugar preferente y es acompañado por la incorporación de otros alimentos como cebada, trigo, papas, habas y quinua.

En el estudio experimental aquí presentado, preparamos en el laboratorio las dos fórmulas polivegetales correspondientes a

los regímenes alimenticios en mención, calculando sus constantes químicas representativas de su calidad (PCal<sup>0/0</sup>, NDpCal<sup>0/0</sup> *calculado*, "score", relaciones molares de aminoácidos esenciales y no esenciales). Luego se determinó en ratas jóvenes - según el modelo de ingesta dietaria por tiempo corto (10 días) - el desarrollo corporal, así como de órganos y tejidos y otros índices nutricionales (eficiencia proteica en índices PER durante 10 días, NPU, NDpCal<sup>0/0</sup> *determinado*, LPU) y su correlación con la actividad metabólica para formar urea y proteínas plasmáticas.

### MATERIALES Y METODOS

#### *Animales*

Usamos ratas Wistar macho (Colonia D.B. y F., U.N.M.S.M.) de 3 semanas de edad (peso promedio  $\approx$  48 g). Estos animales provenían de una colonia de ratas alimentadas con una dieta balanceada (proteínas: 17.3 g <sup>0/0</sup>), y los animales para propósitos de experimentación fueron divididos en grupos según el tratamiento dietético.

#### *Dietas*

Las dietas usadas fueron: dieta polivegetal No. 1 ó PVF<sub>1</sub> (región de Vicos: proteínas,<sup>3</sup> 9<sup>0/0</sup>); dieta polivegetal No. 2 ó PVF<sub>2</sub> (región de Chacán: proteínas, 9<sup>0/0</sup>; dieta de caseína al 9<sup>0/0</sup> o CAS<sub>9</sub> (control). Otras fórmulas de caseína al 20<sup>0/0</sup> (CAS<sub>20</sub>) y de proteína de maíz al 5<sup>0/0</sup> (M<sub>5</sub>) también fueron utilizadas como referencia de condiciones de buena y mala nutrición, respectivamente.

La preparación de cada dieta se hizo reemplazando parte del almidón de una dieta libre de proteína (DLP) por cada una de las harinas vegetales<sup>4</sup> (Molinera "Los Andes S.A.", Lima) que constituyen las fórmulas PVF<sub>1</sub>, PVF<sub>2</sub> y M<sub>5</sub> o, por la caseína (caseína granulada, Eastman - Coleman Co., EUA), proteína, 83.6<sup>0/0</sup> en CAS<sub>9</sub> y CAS<sub>20</sub>.

---

3 Proteína (N x 6.25). Se usó idéntico factor en otras determinaciones.

4 En la preparación de cada harina por molienda de los granos o semillas, éstos se usaron secos y crudos. En el caso de las harinas de papas secas, habas y quinua, antes de someterlos a la molienda, cada alimento fue previamente cocido (papas), tostado (habas) y lavado (quinua).

La composición porcentual de la DLP fue: almidón de maíz 89.7 g, sales minerales (fórmula Hegsted, Nutritional Biochemicals Co., EUA), 4.0 g, aceite de oliva, 5.0 g, aceite de hígado de bacalao, 1.0 g y una mezcla de vitaminas según la fórmula de Manna y Hauge (3).

La composición porcentual de las dietas polivegetales se hizo de acuerdo a las fórmulas de Alvistur y Collazos (2), previa determinación del contenido parcial de proteínas en cada harina.<sup>5</sup> Las proporciones de harinas fueron: en la PVF<sub>1</sub>, maíz (9.90/o) 36.8 g, cebada (11.30/o), 14.5 g, trigo (14.00/o) 14.8 g, habas (21.10/o) 7.4 g, y papas secas (8.60/o) 6.7 g. En la PVF<sub>2</sub>,<sup>6</sup> maíz, 34.7 g, trigo, 5.7 g, quinua (13.50/o) 5.1 g, cebada 3.7 g, y papas secas, 29.2 g.

#### *Tratamiento Dietario*

Los animales fueron divididos en cinco grupos dietarios de número variable, usándose un grupo adicional que consumió la DLP para las pruebas del NPU *operativo* y LPU. Estos animales fueron alojados en jaulas individuales con fondo metálico levantado, ofreciéndoseles comida y agua *ad libitum* durante 10 días. El registro del peso y el consumo de alimento se hizo cada dos días.

#### *Muestras para Análisis*

Después de 3 horas de retiro del alimento los animales fueron sacrificados por decapitación. La sangre fue recogida y el suero obtenido congelado a -15°C para el análisis de proteínas totales y fraccionadas. El riñón, bazo, corazón, encéfalo y adrenales, se pesaron en una balanza de precisión; luego se sacó el hígado y después de un lavado con buffer de fosfato (K) 0.1 M, pH 7.4, fue secado y pesado. El intestino, seccionado a la altura del píloro y de la válvula íleocecal, fue lavado con agua destilada, secado en corriente de aire, medido y pesado. Posteriormente se dividió en secciones correspondientes al duodeno, yeyuno e íleon, se extrajo su mucosa y se pesó.

---

5 Las cifras entre paréntesis corresponden al contenido proteico de cada harina.

6 La calidad de sus ingredientes fue igual a la PVF<sub>1</sub>.

Para la determinación de proteínas totales en los órganos se prepararon homogenizados en agua destilada (1:10), y para la determinación de la actividad de arginasa en hígado se hizo idéntica homogenización (1:3), usando en ambos casos el homogenizador de Potter-Elvehjem.

La determinación de N retenido en el cuerpo de cada animal requirió desecación previa a 80°C. El residuo se trituró en un molino mecánico, se desgrasó con éter en un extractor Soxhlet y se homogenizó con acetona en un mortero.

#### *Determinaciones Químicas, Enzimáticas e Índices Nutricionales*

El N total de cada dieta, el de sus componentes y el correspondiente al residuo seco desgrasado de cada rata fueron determinados por el método de Kjeldahl (4).

Las proteínas totales en órganos, mucosa intestinal y suero se determinaron por el método de Lowry *et al.* (5). Las fracciones proteicas del suero fueron separadas por electroforesis en acetato de celulosa a 250 voltios por 30 min usando buffer de barbital 0.05 M, pH 8.6 y un aparato de electroforesis Arthur Thomas modelo 20 (Arthur Thomas, Phila., Pa., EUA). La coloración se hizo con rojo Ponceau y la evaluación de cada fracción en un densitómetro de microzona R-110 (Beckman Inst. Inc. EUA).

La actividad de la arginasa (E.C.: 3.5.3.1.; L-arginina ureohidrolasa) fue medida según la técnica de Rossi y Grazi (6) previa activación de la enzima por incubación del homogenizado de hígado (900 x g por 10 min) con solución de MnCl<sub>2</sub> 0.05 M por 4 horas a 37°C (0.5 ml de muestra + 4.5 ml de solución de MnCl<sub>2</sub> 0.05 M). Los resultados se expresaron en micromoles de ornitina/g de tejido o por 100 g de peso corporal y por 20 min. Se estableció una curva de calibración con ornitina (Sigma Chemical Co. EUA) según el método de Chinard (7) en un rango de 0.025 - 0.2 μmoles, obteniéndose un factor de 0.324.

Los índices nutricionales PER (eficiencia proteica), durante 10 días, NPU *operativo* (utilización neta de la proteína dietaria), y LPU (utilización proteica del hígado) fueron obtenidos según las fórmulas de Osborne, Mendel y Ferry (8), Miller y Bender (9) y Mokady, Viola y Zimmermann (10), respectivamente. El valor NDpCal *% determinado*, se obtuvo utilizando el valor de NPU *operativo* correspondiente (11).

### *Otros Índices Nutricionales*

El "score" (puntaje químico) de cada dieta, fue calculado usando el cómputo provisional de aminoácidos según FAO/OMS (12) y previa obtención de las cantidades de aminoácidos esenciales por g de N que aporta cada alimento. El valor de EM (energía metabolizable) se calculó usando la tabla de composición de alimentos del Instituto de Nutrición del Perú (13) y los factores de conversión de Atwater, modificando estas cifras en las dietas polivegetales según Southgate y Durnin (14), y para  $M_5$  según FAO/OMS (12).

El PCal % fue establecido según el contenido proteico por ciento y el valor de EM (15). El NDpCal % *calculado* (por ciento de calorías de la proteína dietaria neta) se halló en base a la fórmula de Miller y Payne (16) usando las cifras "score" y el NPU *estándar* (NPU bajo el nivel de la proteína de mantenimiento), así como Pm (proteína de mantenimiento) derivados de la misma.

## RESULTADOS

### *Valor de las Dietas y Consumo de Proteínas y Calorías*

Las dietas en experimentación tuvieron diferentes valores según las determinaciones del N total, del "score", PCal % y NDpCal % (Tabla 1). A pesar del menor valor cualitativo y cuantitativo de las dietas  $PVF_1$  y  $PVF_2$  en relación a  $CAS_9$ , su consumo fue superior (Tabla 2). Por esta razón los valores de la ingesta proteica y de calorías fueron semejantes entre estos grupos (Tabla 2).

En las dietas  $CAS_{20}$  y  $M_5$  estos valores concordaron con su calidad y contenido proteico.

### *Desarrollo Corporal y Condiciones del Hígado, Riñón y Mucosa Intestinal*

El desarrollo corporal en las ratas de los grupos  $PVF_1$  y  $PVF_2$  fue semejante al del grupo  $CAS_9$  (Tabla 2). En tejidos de rápido recambio proteico, como el hígado, riñón y mucosa intestinal, se observó algunas variaciones ponderales y químicas por efecto de las dietas polivegetales. El riñón no fue afectado en su peso (Tabla 3). El peso del hígado en los grupos  $PVF_1$  y  $PVF_2$  fue menor

TABLA 1

## VALORES PROTEICO Y CALORICO DE LAS DIETAS POLIVEGETALES. CASEINA Y MAIZ

Composición	CAS <sub>20</sub>	CAS <sub>9</sub>	PVF <sub>1</sub>	PVF <sub>2</sub>	M <sub>5</sub>
Nitrógeno total, g	3.11	1.56	1.40	1.37	0.82
Proteínas (N x 6.25), g	19.42	9.73	8.78	8.55	5.14
Energía metabolizable, kcal, (KJ) <sup>a</sup>	399(1,669)	413(1,728)	374(1,565)	365(1,527)	341(1,427)
"Score" <sup>b</sup>	91(SS)	91(SS)	69(Lis)	76(SS)	49(Lis)
P <sub>Cal</sub> %	19.5	9.4	8.5	8.6	4.1
P <sub>m</sub>	4.4	4.4	5.8	5.3	8.2
ND <sub>pCal</sub> % <i>calculado</i>	12.3	7.0	5.5	6.1	2.2
ND <sub>pCal</sub> % <i>determinado</i>	9.2	5.8	5.3	5.9	2.0
NPU <i>estándar</i>	67.0	69.0	66.0	74.0	—

<sup>a</sup>Factor de conversión kcal a kilojoules (KJ): 4.184.

<sup>b</sup>Las letras entre paréntesis representan el aminoácido limitante según recomendación de FAO/OMS, 1973.

SS = Aminoácidos azufrados totales. Otras abreviaturas de aminoácidos en el texto, según la Comisión IUPAC-IUB en Nomenclatura Bioquímica, 1968.

TABLA 2

VALORES COMPARATIVOS DEL PESO CORPORAL, EFICIENCIA PROTEICA Y CONSUMO DE ALIMENTOS EN RATAS QUE RECIBIERON DIETAS POLIVEGETALES, CASEINA Y MAIZ

Determinación	Grupo dietario <sup>a</sup>					
	CAS <sub>20</sub> (9)	CAS <sub>9</sub> (9)	PVF <sub>1</sub> (9)	PVF <sub>2</sub> (7)	M <sub>5</sub> (7)	DLP(5)
Peso inicial, g	47.1 <sup>b</sup> ± 6.6 <sup>c</sup>	48.2 <sup>b</sup> ± 8.0 <sup>c</sup>	46.6 <sup>b</sup> ± 6.6 <sup>c</sup>	48.5 <sup>b</sup> ± 9.7 <sup>c</sup>	48.3 <sup>b</sup> ± 6.9 <sup>c</sup>	48.8 <sup>b</sup> ± 11.2 <sup>c</sup>
Δ peso, g	45.8 ± 13.3	13.3 ± 6.8	12.4 ± 4.1	13.7 ± 5.6	3.1 ± 2.4	15.0 ± 5.1
Consumo de alimento/10 días/rata, g	89.1 ± 12.2	67.8 ± 18.9	77.8 ± 14.3	72.8 ± 20.8	51.4 ± 18.7	47.9 ± 6.6
Consumo de EM, kcal/día	35.6 ± 4.9	28.0 ± 7.8	29.1 ± 5.4	26.6 ± 7.6	17.5 ± 6.4	19.7 ± 2.7
Consumo de proteína cruda, g/día	1.56 ± 0.24	0.59 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.62 ± 0.03	0.26 ± 0.01	—
PER (10 días)	2.18	2.25	1.86	2.35	—	—

<sup>a</sup> Las cifras entre paréntesis corresponden al número de animales por grupo.

<sup>b</sup> Valores promedio ± <sup>c</sup> Desviación estándar.

EM = Energía metabolizable.

(10-15%) que el control, lo mismo que el contenido de sus proteínas/g de tejido (Tabla 3). Estos valores estuvieron en la misma relación cuando se expresaron por 100 g de peso corporal, aunque sin ser estadísticamente significativos (Figura 1-A).

El tamaño del intestino casi no fue afectado en los grupos PVF<sub>1</sub> y PVF<sub>2</sub> (2% menor). En cambio el peso total de la mucosa fue mayor (10-30%) que en el grupo CAS<sub>9</sub>, aunque este cambio no fue estadísticamente significativo (Tabla 4); sin embargo, su contenido de proteínas/g de tejido fue semejante. De las tres secciones del intestino, sólo el íleon mostró valores superiores en su contenido total de mucosa y por cm de intestino; en cambio sus valores de proteínas/g de tejido fueron semejantes (Tabla 4).

Los valores del desarrollo corporal, peso de tejidos y contenido de proteínas en los diferentes órganos, fueron dependientes del valor de la dieta en los grupos CAS<sub>20</sub>, M<sub>5</sub> y DLP.

#### *Encéfalo, Bazo, Corazón y Adrenales*

Los pesos del encéfalo fueron semejantes en los grupos PVF<sub>1</sub>, y PVF<sub>2</sub> y CAS<sub>9</sub>, pero hubo un ligero incremento en los pesos del bazo, corazón y adrenales de las ratas que recibieron dietas polivegetales. El contenido de proteínas/g de tejido en cada órgano, no varió en estos grupos.

Los valores ponderales y de proteínas en estos órganos fueron mayores en CAS<sub>20</sub> y menores en M<sub>5</sub>.

#### *Índices Nutricionales Experimentales*

En los grupos PVF<sub>1</sub>, PVF<sub>2</sub> y CAS<sub>9</sub>, los índices PER y del NPU *operativo*, fueron semejantes e incluso ligeramente mayores en PVF<sub>2</sub> (Tablas 2 y 5). Los valores en CAS<sub>20</sub> y M<sub>5</sub> fueron de acuerdo a sus niveles proteicos. Del análisis de los residuos secos desgrasados de cada grupo de animales, se obtuvo valores semejantes en los grupos PVF<sub>1</sub>, PVF<sub>2</sub> y CAS<sub>9</sub>, pero no en CAS<sub>20</sub> y M<sub>5</sub> (Tabla 5).

Los valores del NDpCal % *determinado*, fueron semejantes en PVF<sub>2</sub> y CAS<sub>9</sub> y menor en PVF<sub>1</sub>, aunque difirieron grandemente de los de CAS<sub>20</sub> y M<sub>5</sub> (Tabla 1). Sin embargo, en contraste con los resultados anteriores, los valores LPU fueron superiores en el grupo CAS<sub>9</sub> a los determinados en los grupos PVF<sub>1</sub> y PVF<sub>2</sub>, siendo más altos y bajos para los grupos CAS<sub>20</sub> y M<sub>5</sub> (Figura 1-B).

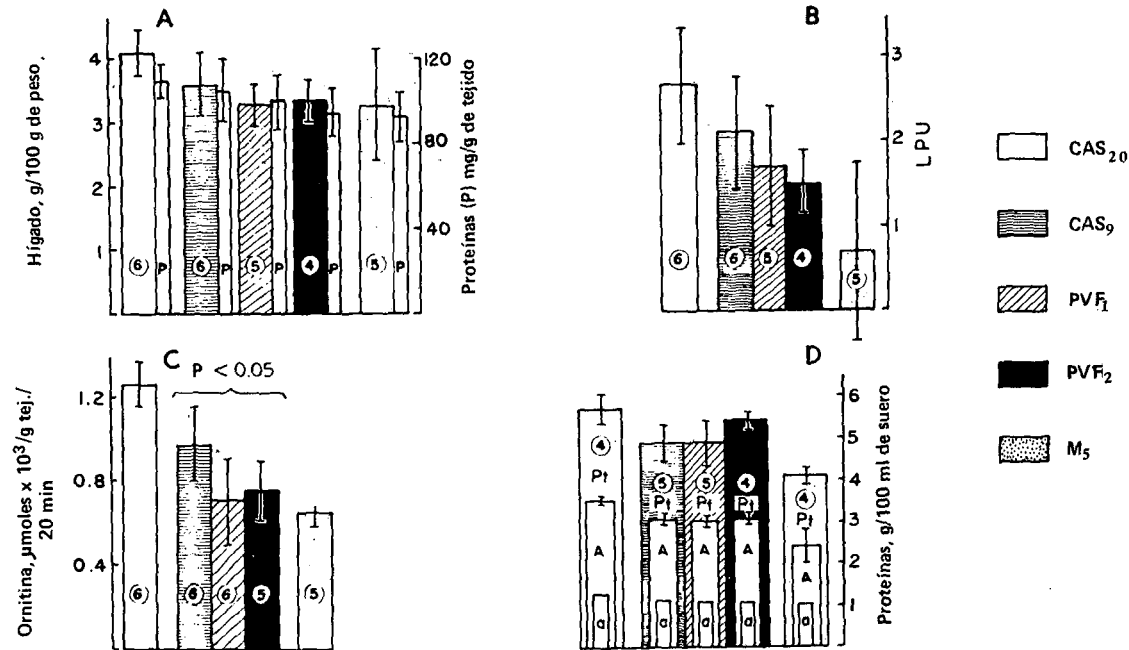


FIGURA 1

Efecto de las dietas polivegetales sobre el desarrollo del hígado expresado por 100 g de peso corporal, sobre su contenido proteico (P) (1-A), utilización proteica del hígado (LPU) (1-B), y actividad de arginasa (1-C), concentración de proteínas totales (Pt), albúmina (A) y alfa-globulina (a) por 100 ml de suero (1-D). (Las barras representan los valores promedio  $\pm$  las desviaciones estándar correspondientes. Las cifras entre círculos, el número de animales por grupo).

TABLA 3  
 PESO Y CONTENIDO PROTEICO DEL HIGADO (H), RIÑÓN (R),  
 ENCEFALO (E), CORAZON (C), BAZO (B) Y ADRENALES (A)  
 EN RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS POLIVEGETALES,  
 CASEINA Y MAIZ

Grupo dietario <sup>a</sup>	Peso g	Proteínas, mg/g de tejido
CAS <sub>20</sub> (9)		
H	5.68 <sup>b</sup> ±0.95 <sup>c</sup>	110.2 <sup>b</sup> ± 8.7 <sup>c</sup>
R	0.97 ± 0.17	109.1 ± 18.2
E	1.54 ± 0.13	70.5 ± 9.8
C	0.41 ± 0.10	95.5 ± 21.9
B	0.43 ± 0.09	97.1 ± 26.7
A	20.20	—
CAS <sub>9</sub> (9)		
H	3.39 ± 0.74	104.7 ± 16.0
R	0.63 ± 0.12	109.5 ± 28.6
E	1.41 ± 0.09	71.9 ± 7.1
C	0.25 ± 0.05	106.3 ± 16.3
B	0.22 ± 0.08	102.8 ± 30.8
A	12.70	—
PVF <sub>1</sub> (7)		
H	2.99*±0.56	100.7*±15.0
R	0.61 ± 0.13	101.8 ± 13.7
E	1.40 ± 0.11	70.6 ± 8.0
C	0.28 ± 0.06	98.7 ± 14.6
B	0.25 ± 0.07	89.0 ± 22.5
A	18.10	—
PVF <sub>2</sub> (7)		
H	3.03*±0.37	93.6*±11.9
R	0.67 ± 0.12	101.6 ± 20.3
E	1.41 ± 0.12	68.7 ± 7.8
C	0.29 ± 0.06	104.8 ± 16.3
B	0.30 ± 0.09	99.0 ± 20.2
A	11.00	—
M <sub>5</sub> (7)		
H	2.23 ± 0.35	93.9 ± 12.2
R	0.49 ± 0.08	95.4 ± 18.2
E	1.35 ± 0.09	73.1 ± 13.1
C	0.20 ± 0.04	112.9 ± 17.9
B	0.14 ± 0.06	96.0 ± 17.2
A	12.10	—

<sup>a</sup> Las cifras entre paréntesis corresponden al número de animales por grupo.

<sup>b</sup> Valores promedio + <sup>c</sup>Desviación estándar.

\*PVF<sub>1</sub> o PVF<sub>2</sub> vs CAS<sub>9</sub>, estadísticamente no significativos según la prueba "t".

TABLA 4

TAMAÑO Y PESO DEL INTESTINO, PESO DE LA MUCOSA EN DUODENO (D), YEYUNO (Y) E ILEON (I), Y SU CONTENIDO PROTEICO EN RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS POLIVEGETALES, CASEINA Y MAIZ

Condiciones del tejido	Grupo dietario <sup>a</sup>				
	CAS <sub>29</sub> (9)	CAS <sub>9</sub> (8)	PVF <sub>1</sub> (8)	PVF <sub>2</sub> (8)	M <sub>5</sub> (7)
<i>Intestino:</i>					
Longitud, cm	103.5 <sup>b</sup> ±5.6 <sup>c</sup>	85.4 <sup>b</sup> ±8.0 <sup>c</sup>	84.6 <sup>b</sup> ±9.2 <sup>c</sup>	83.2 <sup>b</sup> ±21.2 <sup>c</sup>	85.5 <sup>b</sup> ±3.9 <sup>c</sup>
Peso, g	5.94±1.3	4.50±1.2	4.71±1.1	4.54±0.9	3.20±1.0
<i>Mucosa:</i>					
D, peso, g	0.68 ± 0.29	0.53 ± 0.16	0.56 ± 0.15	0.52 ± 0.20	0.36 ± 0.10
Y, " "	0.89 ± 0.33	0.60 ± 0.20	0.67 ± 0.11	0.58 ± 0.16	0.43 ± 0.16
I, " "	1.86 ± 0.60	1.19 ± 0.49	1.58*±0.54	1.55*±0.31	1.04 ± 0.48
D, peso, mg/cm	32.8 <sup>b</sup>	26.7 <sup>b</sup>	31.6 <sup>b</sup>	27.3 <sup>b</sup>	18.6 <sup>b</sup>
Y, " "	42.5	30.0	35.5	30.6	20.8
I, " "	29.8	22.7	26.9	27.1	17.4
D, prot., mg/g	83.9	82.7	86.1	80.9	80.7
Y, " "	79.6	72.3	79.1	82.2	65.3
I, " "	75.4	67.1	66.1	62.9	67.6

<sup>a</sup> Las cifras entre paréntesis corresponden al número de animales por grupo.

<sup>b</sup> Valores promedio ± <sup>c</sup> Desviación estándar.

\* Valores estadísticamente no significativos según la prueba "t".

TABLA 5

VALORES COMPARATIVOS DEL PESO CORPORAL, INGESTA DE N Y N RETENIDO EN RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS POLIVEGETALES, CASEINA Y MAIZ

Valores x	Grupo dietario <sup>a</sup>					
	CAS <sub>20</sub> (3)	CAS <sub>9</sub> (3)	PVF <sub>1</sub> (6)	PVF <sub>2</sub> (6)	M <sub>5</sub> (5)	DLP(5)
Peso inicial, g	45.10	45.90	49.60	51.70	51.60	48.80
Peso final, g	73.70	58.30	63.60	64.50	49.20	33.80
△ de peso, g	28.60	12.40	14.00	12.80	2.40	15.00
Residuo seco/rata, g	21.50	18.30	17.90	16.60	14.60	7.50
Grasa residuo seco, g/100 g	24.30	28.10	33.10	30.00	27.20	4.50
Residuo seco desengrasado, g	16.30	11.70	12.00	11.60	10.60	7.20
N/rata, g	1.87	1.35	1.43	1.38	1.21	0.74
N ingerido/rata/10 días, g	2.44	1.05	1.18	0.99	0.55	0.08
NPU operativa	48	62	62	69	—	—

a Las cifras entre paréntesis corresponden al número de animales por grupo.

Las actividades de arginasa hepática por g de tejido o por 100 g de peso corporal fueron menores en los grupos que recibieron dietas polivegetales que en el grupo control (Figura 1-C) ( $P < 0.05$ ). La actividad por 100 g de peso corporal en  $\mu$ Moles de ornitina fue PVF<sub>1</sub>:  $3.45 \pm 0.10 \times 10^4$ ; PVF<sub>2</sub>:  $3.56 \pm 0.05 \times 10^4$  y CAS<sub>9</sub>:  $5.53 \pm 0.14 \times 10^4$ ; CAS<sub>20</sub>:  $7.15 \pm 0.11 \times 10^4$  y M<sub>5</sub>:  $3.02 \pm 0.19 \times 10^4$ . La concentración de proteínas totales y alfa globulinas fue semejante entre estos grupos, aunque se notó un incremento de las globulinas  $\beta$  y  $\gamma$  en las dietas polivegetales. Los grupos CAS<sub>20</sub> y M<sub>5</sub> mostraron los valores máximo y mínimo, respectivamente, en relación a CAS<sub>9</sub>.

#### DISCUSION

El presente estudio acerca de la evaluación de la calidad de los dos patrones dietarios de las comunidades andinas de Vicos y Chacán en la Sierra Central y Meridional del Perú por medición de sus constantes químicas, y de la respuesta que su consumo por tiempo corto (10 días) provoca en animales en desarrollo, demuestra que estas dietas poseen en general un valor nutricional importante; confirma también un hallazgo anterior (1) en el sentido de que si bien promueven un desarrollo corporal semejante al obtenido con caseína, el hígado en cambio podría ser afectado en algunos aspectos de su fisiología. La bondad de los resultados obtenidos con las dietas PVF<sub>1</sub>, y PVF<sub>2</sub>, a pesar de que sus fórmulas tenían un valor proteico menor, tanto en su aspecto cualitativo como cuantitativo (cifras menores en los índices "score", PCal<sup>0</sup>/o y NDpCal<sup>0</sup>/o) (Tabla 1), fue el hecho más notorio, si bien las excepciones fueron la respuesta en el hígado y parte del intestino (íleon).

Estas observaciones y el hecho de que la ingesta de proteínas y calorías fuera semejante entre estos grupos (Tabla 2) indicó que la eficiencia en la utilización de las proteínas vegetales era debida tanto a la calidad de los ingredientes de las fórmulas que las contienen, como a otros factores correspondientes a las normas de su evaluación y a las características orgánicas de los animales que consumen dietas vegetales. Como resultado de ello, se obtuvo valores semejantes en el NPU *operativo* y PER (10 días) entre estos grupos experimentales y su control de caseína, a la vez que las cifras de NDpCal<sup>0</sup>/o *determinado* en dichos grupos estuvieron más próximos a aquéllos del control que los valores NDpCal<sup>0</sup>/o

*calculado* respectivos (Tabla 1). En el caso de M<sub>5</sub> y CAS<sub>20</sub>, grupos que correspondieron a una ingesta proteica deficiente y adecuada, estos valores fueron muy inferiores y superiores, respectivamente.

La presencia de otros factores condicionantes de la calidad de las dietas PVF<sub>1</sub> y PVF<sub>2</sub> no se consideró en el cálculo de sus constantes nutricionales. Uno de ellos, la complementación proteica y la norma que le sirvió de referencia, fue importante en la obtención de sus valores en relación a los controles de caseína. Los altos índices del "score" de la mezcla de proteínas (69 en PVF<sub>1</sub> y 76 en PVF<sub>2</sub>) en relación a la calidad de la proteína de maíz ("score", 49), principal ingrediente en las mismas, reveló su eficiente complementación.

Asimismo, la estrecha relación entre estos valores y aquéllos del cálculo de su proteína utilizable (NDpCal<sup>o</sup>/o *calculado* 5.3 y 6.1 en PVF<sub>1</sub> y PVF<sub>2</sub>, respectivamente) con los valores experimentales de la misma (NDpCal<sup>o</sup>/o *determinado* y NPU *operativo*) (Tablas 1 y 5), mostró también la bondad en el balance de sus aminoácidos esenciales (AAE). También nos hizo suponer, con alguna razón, que las normas de referencia sobre cómputo químico del Comité Especial Mixto FAO/OMS de Expertos de 1973 (12) o de la FAO, 1955 (17), a pesar de discrepar en sus recomendaciones de aminoácidos azufrados y lisina, en los que las proteínas vegetales son deficientes, valoró adecuadamente estas proteínas (Tabla 6). En efecto, esta valoración no fue afectada con referencia a una u otra norma, y más bien guardó estrecha relación con los valores obtenidos en la práctica. En cambio esto no sucedió con la dieta CAS<sub>9</sub> cuya proteína fue sobrevalorada ("score" 91; NDpCal<sup>o</sup>/o *calculado* 7.0) por comparación con el patrón de referencia de FAO/OMS (12), el cual tiene un contenido de aminoácidos azufrados inferior a la norma de la FAO (17). Esta condición de sobrevaloración habría determinado la notable diferencia entre los valores teóricos y los valores experimentales de su proteína utilizable (NPU *operativo* 6.2 y NDpCal<sup>o</sup>/o *determinado* 5.8). Sin embargo, estos últimos estuvieron próximos a aquéllos informados por otros autores (18).

Otros factores relacionados al anterior fueron la diferente composición del N de las dietas polivegetales y CAS<sub>9</sub> y la provisión de aminoácidos necesarios para la síntesis y restitución tisular en estos casos.

La menor proporción de aminoácidos esenciales (AAE) y aminoácidos totales (AAT) por g de N en las dietas polivegetales

TABLA 6

COMPOSICION DE AMINOACIDOS ESENCIALES CALCULADOS EN LAS DIETAS DE EXPERIMENTACION<sup>a</sup>

Referencia y grupo dietario	Ileu.	Leu.	Lis.	Met.	Cis.	SS.	Fenal.	Tir.	Arom.	Treo.	Trip.	Val.
	mg/g de N											
FAO/OMS <sup>b</sup>	250	440	340	—	—	220	—	—	380	250	60	310
PVF <sub>1</sub> <sup>c</sup>	227	536	(235)	93	106	199	291	206	497	209	63	298
PVF <sub>2</sub> <sup>c</sup>	233	517	270	91	77	(168)	277	200	477	199	69	291
CAS <sup>c</sup>	345	607	518	178	23	(201)	334	371	705	297	103	430
M <sub>5</sub> <sup>c</sup>	230	783	(167)	120	97	217	305	239	544	225	38	303

<sup>a</sup> La composición de las dietas como se indica en "Materiales y Métodos".

<sup>b</sup> Cómputo de aminoácidos recomendado por FAO/OMS, 1973.

<sup>c</sup> Las cifras entre paréntesis corresponden al aminoácido limitante.

y su semejanza con las cifras derivadas de las recomendaciones de la FAO (AAE: PVF<sub>1</sub> 2.206 g; PVF<sub>2</sub> 2.239 g; CAS<sub>9</sub> 3.206 g; FAO 2.250 g; AAT: PVF<sub>1</sub> 5.858 g; PVF<sub>2</sub> 5.180 g; CAS<sub>9</sub> 6.927 g y M<sub>5</sub> 6.093 g) señalan que no obstante sus limitaciones, estos patrones polivegetales pudieron haber sido de gran utilidad fisiológica. Mejor aún, bien puede ser que estas limitaciones fueron eficientemente compensadas por una fuente extra-dietaria de N aminoacídico, posibilidad respecto a la cual existen algunas evidencias que nos hace pensar así. Por un lado, están los hallazgos acerca del balance de N y adecuado desarrollo corporal en organismos alimentados con dietas vegetales pobres en proteínas y su relación con la presencia de una flora bacteriana adaptativa al consumo de estas dietas, con intensa actividad metabólica de síntesis de AAE (19), y de utilización del N amídico vegetal (20). Por otro lado están nuestras observaciones de que la capacidad del cecum y el volumen de heces excretadas por los animales de los grupos PVF<sub>1</sub> y PVF<sub>2</sub>, fueron mayores que las del grupo CAS<sub>9</sub>.

Esto sugiere la existencia de fenómenos realmente adaptativos semejantes a los anotados anteriormente en los animales que recibieron las dietas polivegetales. Además, el contenido de mucosa en el fleon, próximo al cecum, fue mayor al resto del intestino. Estas condiciones fisiológicas proporcionarían los recursos necesarios para un adecuado desarrollo corporal, tal como ya ha sido propuesto por Willingale y Briggs (21). Sin embargo, en el grupo CAS<sub>9</sub> y en razón de que la calidad de su dieta contribuye a realzar aún más el valor de las fórmulas polivegetales, tenemos que señalar la alta provisión de AAE y AAT por g de N en la caseína. Ello posiblemente habría ocasionado algunos fenómenos de competencia en la utilización de algunos de sus aminoácidos y ocasionado, desde luego, una menor utilización de su proteína dietaria (22). Al respecto, existe evidencia de Holton (23) y de Gale y Crawford (24) de que esta condición es importante en el caso del consumo de dietas de bajo nivel proteico, como es este caso.

Otras evidencias en relación con las necesidades de contar con un patrón adecuado de aminoácidos por parte del músculo debe también comentarse. En este sentido, la síntesis de las estructuras proteicas del músculo requiere de un patrón molar de aminoácidos constante en el que los aminoácidos azufrados y el triptofano tienen un valor relativo (3.5 y 1.0<sup>o</sup>/o), respectivamente (25), a diferencia del valor que a estos aminoácidos se les asigna en la composición dietaria. De este modo, la fórmula PVF<sub>2</sub>, deficiente en aminoácidos azufrados, proveería un patrón molar adecuado para

la síntesis proteica en el músculo, a excepción del segundo aminoácido limitante (lisina). Un cálculo de los patrones molares aminoácidos en ambas dietas polivegetales mostró similitud en sus perfiles, lo que indica que las relaciones entre sus aminoácidos (AAE y AANE) eran correctas, con excepción de la lisina, aminoácido que acusó la segunda limitación en PVF<sub>2</sub> y la primera en PVF<sub>1</sub>. Sin embargo, en CAS<sub>9</sub> el perfil de AAE fue semejante, pero por completo diferente en AANE (Figuras 2-A y 2-B). La dieta M<sub>5</sub> ofreció los patrones más alejados del requerido por el músculo.

Por último, la provisión de micronutrientes (vitaminas y minerales) por las harinas integrales de las dietas polivegetales habría mejorado también esta utilización para fines anabólicos. Una prueba de esta capacidad de utilización de la proteína dietaria en los grupos en comparación, aunque indirecta, fue la actividad de la arginasa en el hígado. Esta fue mayor en el grupo CAS<sub>9</sub>, indicando así que parte de su N aminoacídico ingerido y sin capacidad de utilización, fue eliminada como urea.

Por la influencia de las características nutricionales de las dietas y los factores condicionantes anotados, tejidos de gran volumen corporal (músculo) y de rápido recambio celular y proteico (riñón, mucosa intestinal) habrían conseguido una adecuada oferta. Desde luego, esto se habría traducido en una utilización de aminoácidos en el caso de los animales alimentados con las dietas polivegetales (Tablas 4, 5 y 6), aunque el intestino mostrara una ligera disminución de su longitud en relación a CAS<sub>9</sub>, pero no en el contenido de mucosa total o en el contenido de mucosa/cm de intestino a nivel del duodeno y yeyuno (Tabla 4). En cambio, en los grupos CAS<sub>20</sub> y M<sub>5</sub> hubo valores diferentes acordes a su calidad y nivel proteico. Por razones no muy precisas por ahora, el hígado mostró una disminución en su peso ( $\approx 150/o$ ) por efecto del consumo de las dietas polivegetales, fenómeno que ya habíamos observado anteriormente (1). Si existe alguna modificación en la composición y estructura del hepatocito, especialmente en relación con la concentración de lípidos, no se obtuvo ninguna prueba de ello macroscópicamente. Sin embargo, la concentración de proteína/g de tejido disminuyó ( $\approx 100/o$ ), lo que sumado a la menor actividad *in vitro* del metabolismo de algunas drogas (1), confirmó la presencia de algún cambio importante en la estructura y función del tejido hepático. En esta relación, la concentración de proteínas plasmáticas (albúmina y alfa-globulinas) no se vio afectada, permaneciendo sus valores semejantes a los controles

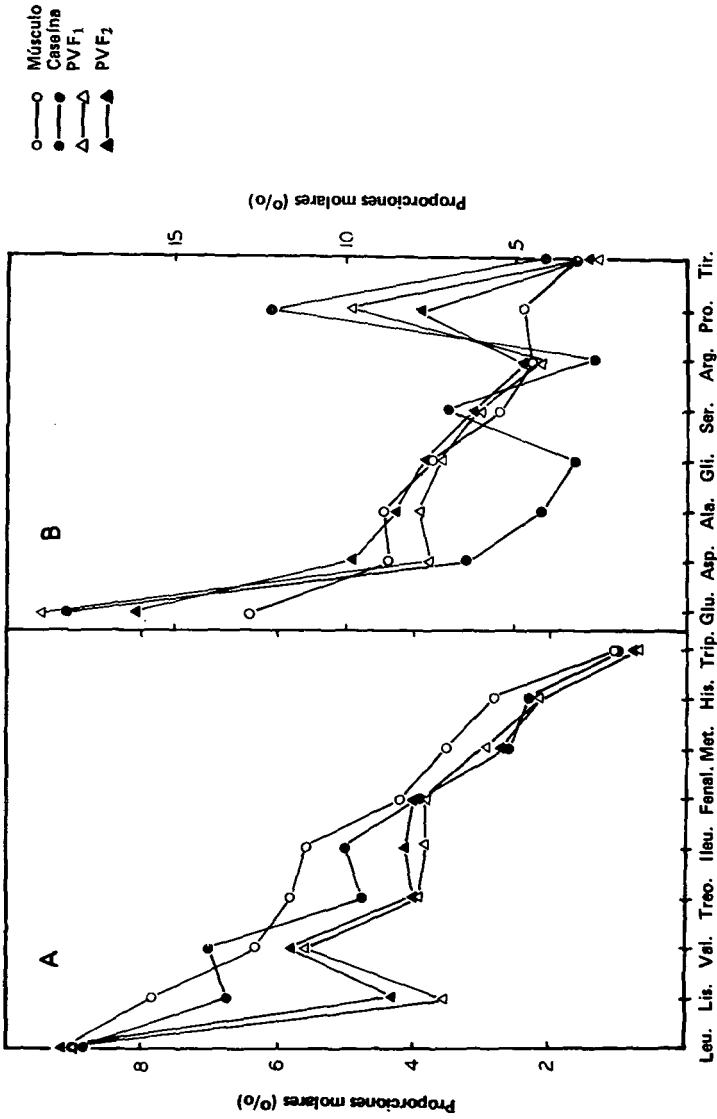


FIGURA 2

Perfiles de las proporciones molares (o/o) de los aminoácidos esenciales (2-A) y no esenciales (2-B) de las dietas polivegetales y caseína, comparadas con el perfil molar del músculo.

(Figura 1-D). Esto indica que muy posiblemente la clase de proteínas afectadas serían aquéllas de uso local en la célula hepática, como las que intervienen en el metabolismo de drogas y otras de tipo estructural, y no las de circulación. No obstante, sería deseable una posterior confirmación, así como de la condición de los otros tejidos a que nos hemos referido. Esto, por supuesto, requerirá un mayor tiempo de experimentación.

#### AGRADECIMIENTOS

El autor agradece la asistencia técnica parcial que en los experimentos tuvieron a bien prestar las Sritas. Br. Farm. y Bioq. Edith Vidal, Rosa M. Chini y Dra. Cristina Villarroel, así como las sugerencias de los Dres. Alberto Protzel, Ernesto Melgar, Beatriz Lizárraga y Alberto Guzmán Barrón, miembros del Instituto de Bioquímica y Nutrición del Perú, y al Dr. J. Edgar Braham, miembro del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) en Guatemala, Centro América.

#### SUMMARY

##### BIOCHEMICAL AND NUTRITIONAL ASPECTS IN GROWING RATS RECEIVING PROTEINS FROM TWO DIETARY PATTERNS OF THE PERUVIAN ANDES

Previous *in vitro* studies from this laboratory revealed that the liver of rats fed a vegetable diet metabolizes several drugs at a decreased rate. This finding prompted us to study the effect of two dietary patterns, typical of the Peruvian Andes, on various biochemical and nutritional parameters of growing male Wistar rats.

The two test diets used in these experiments were prepared in our laboratory and included several vegetable flours mixed in different proportions. The first diet (PVF<sub>1</sub>, 9% protein) included corn, wheat, barley, potatoes and broad bean (*Vicia faba*) flours. The second diet (PVF<sub>2</sub>, 9% protein) included the same ingredients, except that broad bean flour was replaced by quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour. Three different control diets were used: 9% casein (CAS<sub>9</sub>), 20% casein (CAS<sub>20</sub>) and a 5% corn protein diet (M<sub>5</sub>). All animals were kept for 10 days on the appropriate diet. The main results obtained were as follows:

1. The same PER values (10 days), NPU operative and NDpCal<sup>o</sup>/o determined were found in the PVF<sub>1</sub>, PVF<sub>2</sub> and CAS<sub>9</sub> groups. However, the score and NDpCal<sup>o</sup>/o calculated values were lower in PVF<sub>1</sub> and PVF<sub>2</sub> than in CAS<sub>9</sub>.
2. The liver in the PVF<sub>1</sub> and PVF<sub>2</sub> groups showed the lowest values in weight, protein content, arginase activity ( $P < 0.05$ ) and protein utilization (LPU), but not in plasma protein (albumin and alpha-globulins) concentration. The intestinal mucosa, kidney and other tissues were not affected by the vegetable diets.
3. The Cas<sub>20</sub> and M<sub>5</sub> groups presented different biochemical and nutritional values according to the quality and level of their dietary protein.

Some factors influencing our results are also discussed, such as protein complementation, amino acid patterns supplied by the diets, and some adaptive physiological changes resulting from the intake of the vegetable diets.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Ramos Aliaga, R. Metabolismo de drogas y nutrición. 1. N-demetilación de diversas drogas en ratas alimentadas con diferentes dietas. *Bol. Soc. Quím. Perú*, 40:299-307, 1974.
2. Alvistur, E. & C. Collazos Ch. Las dietas típicas de la Sierra del Perú. El valor biológico de sus proteínas. Presentado en: V Congreso Internacional de Nutrición, del 1o. al 7 de septiembre de 1960, Washington, D. C., EUA.
3. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B<sub>12</sub> to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, 202:91-96, 1953.
4. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970, p. 16-17.
5. Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr & R. J. Randall. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193:265-275, 1951.
6. Rossi, N. & E. Grazi. Characterization of a new type of arginase from chicken liver. *Eur. J. Biochem.*, 7:348-352, 1969.
7. Chinard, R. P. Photometric estimation of proline and ornithine. *J. Biol. Chem.*, 199:91-95, 1952.
8. Osborne, T. B., L. B. Mendel & E. L. Ferry. A new way of expressing

- numerically the growth promoting value of protein. *J. Biol. Chem.*, **37**: 223-229, 1919.
9. Miller, D. S. & A. E. Bender. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. *Brit. J. Nutr.*, **9**:382-388, 1955.
  10. Mokady, S., S. Viola & G. Zimmermann. A new biological method for estimating food protein nutritive value. *Brit. J. Nutr.*, **23**:491-495, 1969.
  11. Platt, E. S. & D. S. Miller. The net dietary-protein value (NDpV) of mixtures of foods - its definition, determination and application. *Proc. Nutr. Soc.*, **18**:vii-viii, 1959.
  12. Organización Mundial de la Salud. *Necesidades de Energía y de Proteínas*. Informe de un Comité Especial Mixto FAO/OMS de Expertos. Ginebra, 1973. (Serie de Informes Técnicos No. 522).
  13. Instituto de Nutrición del Perú. *La Composición de los Alimentos Peruanos*. 5a. ed. Lima, Perú, Institutos Nacionales de Salud, Ministerio de Salud, 1975.
  14. Southgate, D. A. T. & J. V. G. A. Durnin. Calorie conversion factors. An experimental reassessment of the factors used in the calculation of the energy value of human diets. *Brit. J. Nutr.*, **24**:517-535, 1970.
  15. Miller, D. S. & P. R. Payne. Problems in the prediction of protein values of diets. The use of food composition tables. *J. Nutrition*, **74**: 413-419, 1961.
  16. Miller, D. S. & P. R. Payne. Problems in the prediction of protein values of diets. *The influence of protein concentration*. *Brit. J. Nutr.*, **15**:11-19, 1961.
  17. Food and Agriculture Organization. *Protein Requirements*. Report of the FAO Committee, Rome, Italy, 24-31 October, 1955. Rome, FAO, 1957. (Nutritional Studies No. 16).
  18. Pellet, P. L. & H. Kaba. Carcass amino acids of the rat under conditions of determination of net protein utilization. *J. Nutrition*, **102**:61-68, 1972.
  19. Oomen, H. A. P. C. Interrelationship of the human intestinal flora and protein utilization. *Proc. Nutr. Soc.*, **29**:197-206, 1970.
  20. Bergersen, F. J. & E. H. Hipsley. The presence of N<sub>2</sub>-fixing bacteria in the intestine of man and animals. *J. Gen. Microbiol.*, **60**:61-65, 1970.
  21. Willingale, J. M. & C. A. E. Briggs. The normal intestinal flora of the pig. 2. Quantitative bacteriological studies. *J. Appl. Bacteriol.*, **18**: 284-293, 1955. (Original no consultado; compendiado en *Nutr. Abst. Revs.*, **26**:3486, 1956).
  22. Milne, M. D. Pharmacology of amino acids. *Clin. Pharm. Ther.*, **9**: 484-516, 1968.

23. Holton, J. B. The effect of histidine load on plasma levels and renal clearances of the other amino acids. *Clin. Chem. Acta*, 21:241-245, 1968. (Original no consultado; compendiado en *Chem. Abs.*, 69:4963, 1968).
24. Gale, M. M. & M. A. Crawford. The effect of African staple foodstuffs on guinea-pig growth curves. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 63: 821-825, 1969.
25. Crawford, M. A., M. M. Gale, K. Somers & I. L. Hansen. Studies on plasma amino acids in East African adults in relation to endomyocardial fibrosis. *Brit. J. Nutr.*, 24:393-403, 1970.