

METABOLISMO PROTEICO EN RATAS CON RESECCION
INTESTINAL. INFLUENCIA DE LOS TRIGLICERIDOS DE CADENA
MÉDIA Y DEL ACIDO URSODEOXICOLICO

López Aliaga, I. Barrionuevo, M. Campos, M.S. Lisbona, F. Coves, F.
y Alférez, M.J.M.

RESUMEN

Se estudia en ratas adultas controles "falsamente operadas" y con resección del 50% de intestino delgado distal, el efecto de dicha resección y de la administración de distintos tipos de dieta sobre la utilización nutritiva de la proteína, cuando han transcurrido un mes y tres meses después de la resección.

La resección intestinal conlleva a un deterioro de la utilización digestiva de la proteína, al mes de la intervención; este deterioro es paliado con el transcurso del tiempo. La modificación de la calidad lipídica por sustitución de 2/3 de aceite de oliva por triglicéridos de cadena media (MCT) a partes iguales, mejora la utilización digestiva de la proteína al mes de la intervención quirúrgica. Sin embargo, este efecto beneficioso se manifiesta a los tres meses de la resección cuando las ratas tienen como aporte lipídico sólo aceite de oliva o bien si la dieta modificada es adicionada de ácido ursodeoxicólico.

SUMMARY

The effects of different types of diet and resecting 50% of the distal small intestine on the digestive and metabolic utilization of protein were studied in resected rats and sham-operated controls, one month and three months after the operation. Intestinal resection led to a deterioration in digestive utilization of protein, which improved with time (3 months postsurgery). A qualitative change in the dietary fat source from 100% olive oil to equal parts of medium chain triglycerides, sunflower seed oil and olive oil favored digestive utilization of protein as recorded 1 month after surgery. However, the beneficial effects

were maintained at 3 months in resected rats given dietary fat in the form of 100% olive oil or if the modified diet is additivated with ursodeoxycholic acid.

INTRODUCCION.

Las resecciones de intestino delgado están asociadas con una variedad de cambios morfológicos y funcionales en el intestino residual (1,2). Estas respuestas dependen, en parte, de la cantidad de intestino eliminado, del lugar de la resección y del tiempo transcurrido desde la operación (3,4).

Las adaptaciones anatómicas y funcionales no siempre son sincrónicas. La adaptación ocurre como resultado de la estimulación del enterocito por los nutrientes lumenales, pero no por los nutrientes parenterales (5,6).

Aunque es conocido que la composición de la dieta influye en la adaptación del intestino (7,8), sin embargo, no hay un estudio dietético en profundidad de los componentes que más pueden incidir en este tipo de alteraciones.

La interrupción de la circulación enterohepática de sales biliares por pérdida de la absorción ileal terminal, conduce a un fallo en la solubilización de los triglicéridos de cadena larga (LCT) en el colon medio, de aquí que aparezca esteatorrea. Los triglicéridos de cadena media (MCT) pueden ser absorbidos sin una fase micelar previa (9).

En este trabajo se lleva a cabo el estudio de una dieta base que pueda paliar los fenómenos de malabsorción en periodos de tiempo más cortos que los que se consiguen cuando sólo tiene lugar la adaptación del intestino remanente. En este sentido, nos hemos centrado en el estudio del metabolismo proteico que se afecta mayoritariamente bajo el efecto de las resecciones intestinales, utilizando una dieta que palie en la medida de lo posible los efectos negativos de la exclusión de parte de intestino delgado.

La dieta utilizada se ha ajustado a los requerimientos exigidos sin variar su contenido proteico por considerar que la cantidad y calidad proteica está perfectamente establecida (10) para el animal de experimentación, la rata; solamente se ha modificado la calidad de la grasa que está constituida, en parte, por MCT que no requieren de las sales biliares para su absorción (11,12) y que conducirá a una mejor utilización digestiva de la grasa, disminuyendo la esteatorrea y en consecuencia podrían ser menores las pérdidas fecales de nitrógeno. La deficiencia de ácidos biliares puede ser corregida mediante una terapia a base de ácidos biliares exógenos (13, 14) que son absorbidos pasivamente en la parte proximal del intestino delgado aumentando la concentración de ácidos biliares en bilis. El ácido ursodeoxicólico (15), 7 β -epímero de que-nodeoxicólico, produce bilis no saturada en colesterol (16), no induce a la secreción colónica de agua (17) y experimenta absorción pasiva en la parte proximal del intestino delgado (18). Por otra parte, la administración de ácido ursodeoxicólico a sujetos después de la resección ileal altera la composición biliar de ácidos biliares y bilis no saturada en colesterol, sin agravar la diarrea.

MATERIAL Y METODOS.-

Se han llevado a cabo 7 experimentos:

Experimento I: ratas controles "falsamente operadas" alimentadas con dieta A durante 1 mes (grupo control). Experimento II: ratas con resección del 50% de intestino delgado distal alimentadas con dieta A durante 1 mes. Experimento III: ratas con resección del 50% de intestino delgado distal alimentadas con dieta B d

tino delgado distal alimentadas con dieta B adicionada de ácido ursodeoxicólico durante 1 mes. Experimento V: ratas con resección del 50% de intestino delgado distal alimentadas con dieta A durante 3 meses. Experimento VI: ratas con resección del 50% de intestino delgado distal alimentadas con dieta B durante 3 meses. Experimento VII: ratas con resección del 50% de intestino delgado distal alimentadas con dieta B adicionada de ácido ursodeoxicólico durante 3 meses.

La preparación quirúrgica fué realizada siguiendo la técnica descrita por Murillo y col. (19).

En los experimentos I, II, III y IV el período de adaptación es de 1 mes y en los experimentos V, VI y VII dicho periodo tiene una duración de 3 meses. Mientras que el periodo principal, tiene una duración de 7 días en todos los experimentos.

Al final del periodo experimental se sacrifican los animales, procediendo a la extirpación del fémur y a la extracción de sangre por canulación de la aorta abdominal para separar posteriormente el suero.

Se han utilizado lotes de 12 ratas de ambos sexos de la raza Wistar, de peso medio 243,3 g. Se instalan en células individuales de metabolismo que permiten un perfecto control de comida y separación de heces y orina; dichas jaulas están alojadas en una cámara termorregulada a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, convenientemente ventilada y con fotoperiodo controlado de 12 horas.

Las dietas empleadas han sido las siguientes:

DIETA A	S.F. (%)	S.S. (%)
Proteína (caseína + 5% D-L metionina)	12.4	13.1
Grasa (aceite de oliva)	4,2	4,5
Fibra (celulosa)	8,0	8,5
Corrector mineral	5,0	5,3
Corrector vitamínico	5,0	5,2
DIETA B	S.F. (%)	S.S. (%)
Proteína (caseína + 5% D—L metionina)	12.6	13.4
Grasa (1/3 MCT, 1/3 aceite de girasol y 1/3 aceite de oliva)	4,1	4,4
Fibra (celulosa)	8,0	8,5
Corrector mineral	5,0	5,2
Corrector vitamínico	5,0	5,0

En la dieta B la grasa suministrada es de más fácil absorción por contener 1/3 de MCT.

En los experimentos IV y VII se utiliza la anterior dieta B adicionada de ácido ursodeoxicólico a dosis de 80 mg/100 g. dieta. En ambas dietas (A y B), el almidón y azúcar se adicionan a partes iguales hasta el 100% en sustancia seca y los requerimientos de vitaminas liposolubles se suplen con la adición de 30 mg de vitamina A y 0,4 mg de vitamina D por Kg de dieta.

Se determinó el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de proteína, así como el balance según la técnica de Thomas Mitchell.

$$\text{C.D.A.} = \frac{I - F}{I} \times 100$$

$$\text{Nitrógeno retenido} = I - (F + U)$$

I = nitrógeno ingerido

F = nitrógeno fecal

U = nitrógeno urinario

Las distintas técnicas analíticas utilizadas son:

Humedad: en estufa a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta peso constante.

Proteína: determinación de nitrógeno por el método de Kjeldahl, con selenio como catalizador y empleando 6,25 como factor de conversión de nitrógeno en proteína.

Proteínas totales: mediante el método de Biuret (20).

Los resultados experimentalmente obtenidos se tratan estadísticamente, se ha calculado la media y el error de la media, usando el test de la "t" de Student.

RESULTADOS Y DISCUSION.-

A) Al mes de la intervención quirúrgica:

Con respecto a la ganancia de peso corporal, no existen diferencias entre ratas controles "falsamente operadas" (Exp. I) y ratas ressecadas alimentadas con dieta A (Exp. II), debido a que ambos lotes de animales tienen una ingesta similar, tanto cualitativa como cuantitativa.

Cuando a las ratas ressecadas se les suministra la dieta B cuyo aporte de grasa contiene 1/3 MCT, 1/3 aceite de girasol y 1/3 aceite de oliva (Exp. III), el incremento de peso de estos animales es mayor ($p < 0.02$) respecto a las ratas controles, ello se explica dada la mayor ingesta de alimento ($p < 0.05$). Si a la dieta B se le añade ácido ursodeoxicólico (Exp. IV), tanto la ganancia de peso como la ingesta de alimento son muy similares a las de las ratas controles.

En todos los experimentos realizados se observa el paralelismo entre la ingesta de alimento y la ganancia de peso.

TABLA 1

Ingesta y cambios ponderales en ratas controles "falsamente operadas" y ratas con resección del 50% de intestino delgado distal.

	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)	PESO MEDIO (g)	Δ PESO g/rata/día	S.S. INGERIDA g/rata/día
<u>Al mes de la inter-</u> <u>vencción quirúrgica</u>					
Experimento I	226,0 \pm 11,4	245,1 \pm 10,9	235,5 \pm 11,1	2,7 \pm 0,3	16,7 \pm 0,6
Experimento II	195,7 \pm 7,6	216,1 \pm 9,1	205,9 \pm 8,3	2,9 \pm 0,3	17,4 \pm 0,6
Experimento III	222,9 \pm 10,5	251,4 \pm 13,3	238,0 \pm 11,8	4,1 \pm 0,5 ^{1b}	18,3 \pm 0,3 ^{1a}
Experimento IV	201,7 \pm 5,3	216,4 \pm 5,6	209,1 \pm 5,4	2,1 \pm 0,2	16,2 \pm 0,6
<u>A los tres meses</u> <u>de la intervención</u> <u>quirúrgica.</u>					
Experimento V	268,7 \pm 16,8	266,3 \pm 17,6	267,5 \pm 17,1	-0,3 \pm 0,5 ^{2d}	14,3 \pm 1,1 ^{2a}
Experimento VI	283,7 \pm 12,8	273,3 \pm 11,6	278,6 \pm 12,2	-1,5 \pm 0,4 ^{3d}	15,0 \pm 0,4 ^{3d}
Experimento VII	273,1 \pm 12,3	276,6 \pm 14,2	274,8 \pm 13,3	1,3 \pm 0,6	15,3 \pm 0,9

1 = En comparación con ratas controles; **2** = En comparación con ratas resecadas alimentadas con dieta A durante 1 mes. **3** = En comparación con ratas resecadas alimentadas con dieta B durante 1 mes. **4** = En comparación con ratas resecadas alimentadas con dieta B adicionada de ácido ursodeoxicólico durante 1 mes.

a, $p < 0.05$; b, $p < 0.02$; c, $p < 0.01$; d, $p < 0.001$.

Cuando se estudia el aprovechamiento nutritivo de la proteína, en ratas resecadas alimentadas con dieta A durante 1 mes (Exp. II) desciende significativamente ($p < 0.001$) la utilización digestiva, juzgada por su C.D.A. coincidiendo con los resultados obtenidos por otros autores (21, 22, 23), lo que pone de manifiesto la importancia del íleon y parte del yeyuno en la absorción proteica (24); la retención de nitrógeno es notoriamente menor, si bien las diferencias no son significativas debido a la dispersión de los resultados (Tabla 2).

Cuando el aporte proteico es idéntico pero se modifica el suministro de grasa (dieta B: 1/3 MCT, 1/3 aceite de girasol y 1/3 aceite de oliva) (Exp. III) mejora ligeramente la utilización digestiva y metabólica de nitrógeno con respecto a las ratas resecadas alimentadas con dieta A, pero siguen siendo menores respecto a las ratas controles (C.D.A. $p < 0.05$) (Tabla 2).

La adición de ácido ursodeoxicólico a la dieta B (Exp. IV) no mejora la utilización nutritiva de la proteína que incluso llega a ser menor que la de las ratas resecadas alimentadas con dieta A ($p < 0.02$ en el caso de nitrógeno rete-

TABLA 2

Utilización nutritiva de la proteína en ratas controles "falsamente operadas" y ratas con resección del 50% de intestino delgado distal.

	N ingerido mg/rata/día	N fecal mg/rata/día	N absorbido mg/rata/día	C.D.A. (%)	N urinario mg/rata/día	N retenido mg/rata/día
<u>Al mes de la resección</u>						
Experimento I	337,7 ± 11,3	37,1 ± 1,8	300,6 ± 10,1	89,0 ± 0,4	118,4 ± 14,9	182,2 ± 14,9
Experimento II	354,0 ± 11,4	50,6 ± 2,5 ^{ld}	303,5 ± 10,4	85,7 ± 0,7 ^{ld}	148,5 ± 5,5	155,0 ± 10,3
Experimento III	384,9 ± 10,5 ^{lc}	52,0 ± 3,9 ^{lc}	333,0 ± 11,3 ^{la}	86,4 ± 1,1 ^{la}	171,4 ± 5,9	164,3 ± 14,3
Experimento IV	327,7 ± 12,8	54,4 ± 3,1 ^{ld}	273,4 ± 14,5	83,0 ± 1,4 ^{ld}	155,0 ± 9,1 ^{la}	118,4 ± 9,5 ^{lc} _b
<u>A los tres meses de la resección</u>						
Experimento V	276,4 ± 23,0 ^{2c}	32,8 ± 3,2 ^{2d}	255,9 ± 16,6 ^{2a}	87,9 ± 0,7 ^{2a}	162,8 ± 11,6	93,1 ± 14,7 ^{2c}
Experimento VI	300,5 ± 8,4 ^{3d}	42,0 ± 1,0 ^{3a}	258,9 ± 8,8 ^{3d}	85,9 ± 0,8	137,3 ± 15,7	121,2 ± 17,9
Experimento VII	303,9 ± 16,0	37,7 ± 3,0 ^{4d}	266,1 ± 15,2	87,4 ± 1,1 ^{4a}	139,8 ± 10,3	126,4 ± 14,2

nido) y lógicamente menor que la de las ratas controles (C.D.A. $p < 0.001$ y nitrógeno retenido $p < 0.01$) (Tabla 2).

B) A los tres meses de la intervención quirúrgica:

En los experimentos realizados a los tres meses de la intervención quirúrgica, las ratas ressecadas son alimentadas con la dieta correspondiente durante todo este período de tiempo.

A los tres meses de la resección, las ratas alimentadas con dieta A (Exp. V) tienen una ingesta de alimento menor que al mes ($p < 0.05$), asimismo, los incrementos de peso son netamente inferiores ($p < 0.001$) ya que mientras al mes los animales ganaban peso a los tres meses tienen ligeras pérdidas ponderales, ello puede deberse a que a los tres meses los animales, y en especial las hembras han alcanzado el "plateau" de crecimiento (25) (Tabla 1). A pesar de tener menor absorción absoluta de nitrógeno, hecho que se debe a la menor ingesta nitrogenada, la mayor utilización digestiva de la proteína coincide con los resultados obtenidos por Barrionuevo y col. (21) y ponen de manifiesto la hiperplasia e hipertrofia que tiene lugar en la mucosa del intestino remanente (26, 27). A nivel metabólico, la excreción urinaria de nitrógeno es mayor a los tres meses respecto al mes de la resección, esto junto con el hecho de que la absorción nitrogenada es menor a los tres meses, conduce a que la retención nitrogenada sea significativamente menor ($p < 0.01$) (Tabla 2). Estos resultados están en línea con los obtenidos por Barrionuevo y col. (28) que sólo observan

una recuperación total de las ratas resecaadas a nivel metabólico cuando han transcurrido seis meses.

Si a las ratas se les suministra la dieta B, cuya calidad lipídica es diferente (1/3 MCT, 1/3 aceite de girasol y 1/3 aceite de oliva) (Exp. VI) se observa que las ganancias de peso son menores a los tres meses ($p < 0.001$), hecho que corre paralelo a una menor ingesta ($p < 0.001$) (Tabla 1), por lo tanto la utilización digestiva y metabólica de la proteína es ligeramente menor a los tres meses de la resección a pesar del tiempo transcurrido (Tabla 2).

Cuando la dieta B se adiciona de ácido ursodeoxicólico (Exp. VII), ni la ingesta de alimento ni la ganancia de peso corporal sufren modificaciones significativas a los tres meses (Tabla 1) con respecto al mes. Sin embargo, mejora la eficacia digestiva de la proteína, lo que de nuevo pone de manifiesto que con el tiempo, dada la hiperplasia e hipertrofia del intestino remanente (26, 27) se mejora la capacidad de absorción de la proteína (21). Consecuencia del aumento de absorción tiene lugar un incremento en la retención de nitrógeno, ya que disminuye la eliminación urinaria del mismo (Tabla 2).

Es interesante resaltar el distinto comportamiento de las ratas resecaadas en la mejor utilización nutritiva de la proteína, a pesar de tener un aporte proteico idéntico cualitativa y cuantitativamente. Así cuando se suministra la dieta A (4% aceite de oliva) o bien la dieta B (4% grasa: 1/3 MCT, 1/3 aceite de girasol y 1/3 aceite de oliva) adicionada de ácido ursodeoxicólico la mejora en la utilización digestiva de la proteína tiene lugar a los tres meses de la resección.

TABLA 3

Concentraciones séricas de proteínas totales en ratas controles "falsamente operadas" y ratas con resección del 50% de intestino delgado distal.

PROTEINAS TOTALES (g/100 ml)

Al mes de la resección

Experimento I	6,1 ± 0,1
Experimento II	6,1 ± 0,1
Experimento III	5,9 ± 0,1
Experimento IV	5,7 ± 0,2

A los tres meses de la resección

Experimento V	5,9 ± 0,2
Experimento VI	5,4 ± 0,2
Experimento VII	5,8 ± 0,2

ción, mientras que si se suministra sólo la dieta B la mejora en la utilización digestiva y metabólica de la proteína tiene lugar al mes de la resección.

En nuestras condiciones experimentales estudiadas al mes y a los tres meses de excluir el 50% de intestino delgado distal (Exp. I, II, III, IV, V, VI y VII), los niveles séricos de proteínas totales están dentro de los márgenes normales y no se observan diferencias entre sí (Tabla 3).

BIBLIOGRAFIA

- (1) Gleeson, M.H.; Dowling, R.H. and Peters, T.J. *Clin. Sci.* 43, 743-757, (1972).
- (2) Weser, E. *Viewpoints on Digestive Disease*, 10, (1978).
- (3) Hanson, W.R.; Osborne, J.W. and Sharp, J.G. *Gastroenterology*, 72, 701-705, (1977).
- (4) Menge, H. and Robinson, J.W.L. *Res. Exp. Med.* 173, 41-53, (1978).
- (5) Buts, J.P. *Clin. Invest. Med.* 2(1), 59-66, (1979).
- (6) Dowling, R.H. *Scand. J. Gastroenterol.* 17 (Supl. 74), 53-74, (1982).
- (7) Grey, V.L.; Garofalo, C.; Greenberg, G.R. and Morin, C.L. *Am. J. Clin. Nutr.* 40 (6), 1235-1242, (1984).
- (8) Spector, M.H.; Levine, G.M. and Deren, J.J. *Gastroenterology*, 72, 706-710 (1977).
- (9) Ruppin, D.C. and Middleton, W.R.J. *Drugs (Australia)* 2033, 216-224, (1980).
- (10) Mitchell, H.H. *Physiol. Rev.* 4, 224-278, (1924).
- (11) Tandon, R.K.; Rodgers, J.B. and Balint, J.A. *Dig. Dis.* 17, 233-238, (1972).
- (12) Zurier, R.B.; Campbell, R.G. and Hashim, S.A. *N. Engl. J. Med.* 274, 490-493, (1966).
- (13) Hofmann, A.F. and Grundy, S.M. *Clin. Res.* 13, 254, (1965).
- (14) Hardison, W.G.W. and Rosenberg, I.H. *N. Engl. J. Med.* 277, 337-342, (1967).
- (15) Larusso, N.F. and Thistle, J.L. *Digestive Diseases and Sciences*, 26(8), 705-709, (1981).
- (16) Makino, I.; Shinozaki, K. and Yoshino, K. *Jpn. J. Gastroenterol.* 72, 690-702, (1975).
- (17) Chadwik, V.S.; Gaginella, T.S. and Carlson, G.L. *J. Lab. Clin. Med.* 94, 661-674, (1979).
- (18) Krag, E. and Phillips, S.F. *J. Clin. Invest.* 53, 1686-1694, (1974).
- (19) Murillo, M.L.; Campos, M.S.; Mataix, F.J. and Varela, G. *Rev. Esp. Fisiol.* 34, 365-370, (1978).
- (20) Weichselbaum, T.E. *Am. J. Clin. Path.* 16, 40, (1946).
- (21) Barrionuevo, M.; Campos, M. S.; Urbano, G. and Varela, G. *Rev. Esp. Fisiol.* 36, 119-122, (1980).
- (22) Kai-Mo-Chen, M.D. *Surgery*, 65(6), 931-938, (1969).
- (23) Schwartz, M.K.; Medwid, A.; Roberts, K.E.; Sleinberg, M. and Randall, H.T. *Surg. Forum.* 6, 385-390, (1955).
- (24) Mersheimer, W.L.; Winfield, J.M. and Fanhauser, R.L. *Arch. Surg.* 66(6), 752-768, (1953).
- (25) Grunt, J.A. *Endocrinology*, 75, 805-808, (1964).
- (26) Eastin, W.C.; Wilson, H.D. and Schedl, H.P. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 163, 553-557, (1980).
- (27) Wilson, H.D. and Schedl, H.P. *Digestion*, 26(4), 224-230, (1983).
- (28) Barrionuevo, M.; Campos, M.S.; Gómez-Travecedo, M.T. and Sanz Rus, A. *Ars Pharmaceutica*, Tomo XXVI, N.º 2, 273-280, (1985).