

INICIACION AL ESTUDIO DEL COMPONENTE NITROGENADO FECAL ENDOGENO EN RATA GESTANTE*

Por C. Verdú,
T. Calvo,
M. Ros y
J. Mataix

INTRODUCCION

El conocido hecho del recambio mucosal del tracto digestivo y especialmente intestinal, así como la fracción de enzimas digestivos principalmente pancreáticos y determinadas proteínas plasmáticas, representan las fuentes más importantes de las proteínas corporales que constituyen el llamado Componente Nitrogenado Intestinal.

La pérdida del componente citado es tan importante además de por obvias razones cualitativas, por cuantitativas, que si no hubiera una adecuada reutilización, se elevarían de forma acusada los requerimientos proteicos dietarios del animal. En este sentido y aunque una parte de la proteína endógena es utilizada por la flora intestinal, otra es absorbida, constituyéndose en nutriente endógeno de esencial necesidad. Así en el hombre, se estima alcanza un valor medio de 165 g/día⁵ y en la rata supone un aporte equivalente al de una dieta con una riqueza proteica del 10 %¹⁰.

En trabajos previos^{6,7,8,9}) hemos estudiado la proteína endógena no sólo en su aspecto cuantitativo sino también en su composición en aminoácidos tanto libres como en el total proteico, utilizando como animal de experimentación la rata. En este trabajo se inicia el estudio en una condición fisiológica muy especial como es la gestación, que lo es más, al considerar la proteína, puesto que el feto necesita para su rápido desarrollo y crecimiento, grandes

* Trabajo realizado en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid.

Director del Departamento: Prof. Dr. Mariano Illera.

An. Fac. Vet. León, 1979, 25, 55-61.

cantidades de proteína de todo tipo, en muy poco tiempo, y, además, en una gran parte del período gestante el citado feto no tiene aún capacidad para colaborar en la síntesis de sus propias proteínas corporales.

MATERIAL Y METODOS

Los animales de experimentación eran hembras adultas, raza Wistar de nuestro criadero, de pesos comprendidos entre 180 g y 250 g, aunque cada lote experimental o testigo, no presentó una variación de peso entre los animales, en ningún caso superior o inferior al 5 %.

Los animales se distribuyeron en lotes de 8 animales y procedían de dos camadas distintas, con el fin de obtener la mayor homogeneidad posible.

Previamente al período experimental, los animales tuvieron un período de adaptación de tres días en las jaulas de metabolismo y con una dieta preparada por nosotros (Tabla I), en que la única fuente proteica era caseína, que fue también la proteína utilizada en las dietas experimentales. La composición de la dieta es la utilizada en la técnica de Thomas-Mitchell para la determinación del Valor Biológico de proteínas³. Las dietas experimentales del 2 %, 4 % y 8 % de proteína, tenían esos niveles en forma de caseína-metionina y la diferencia respecto a la de adaptación, se completaba con almidón y azúcar a partes iguales.

TABLA I
Composición de la dieta de adaptación

Nutriente	%
Caseína-Metionina	12
Fibra	8
Aceite de Oliva	4
Complejo Vitamínico	5
Complejo Mineral	5
Almidón y Azúcar (partes iguales)	66

Riqueza proteica del 92 % S. S. suplementada con D-L metionina 0,2 %.

Los animales tanto durante el período de adaptación como experimental se alojaron en jaulas metabólicas que permitía la recogida por separado de orina y heces, así como un control adecuado de la ingesta. Las baterías de jaulas se mantuvieron en cámara termorregulada a 22°C, con un sistema adecuado de renovación de aire.

La alimentación y el agua se suministró «ad libitum». Las técnicas analíticas fueron las usuales en estos casos:

Humedad: En estufa, a 105°C ± 1°C, hasta peso constante.

Grasa: Mediante extracción con éter por el método de Soxhlet.

Sustancias minerales: Por incineración en estufa, a 500°C hasta peso constante.

Proteína: Según el método de Kjeldahl.

M.E.L.N.: Por diferencia hasta 100.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla II se expresan los valores de nitrógeno fecal endógeno en ratas gestantes. Como se puede observar en los dos primeros períodos experimentales, no hay diferencias significativas respecto al lote control, ni tampoco entre ellos; pero si tenemos en cuenta que en ese período gestacional ya hay

TABLA II
Nitrógeno fecal endógeno en ratas gestantes (mg) alimentadas con dieta libre de proteínas

Período experimental (días de gestación)	Animal no gestante	Animal gestante
10 a 12	32,9 ± 1,7	28,5 ± 1,2
13 a 15	31,0 ± 0,9	27,8 ± 1,1
16 a 18	31,4 ± 1,3	25,3 ± 0,6*
19 a 21	33,0 ± 1,2	22,0 ± 0,9**

* p < 0,05 respecto a gestantes de períodos previos, y p < 0,001 respecto a no gestantes.

** p < 0,001 respecto a gestantes de períodos previos y no gestantes.

hipertrofia mucosal¹, casi con toda seguridad también hay un mejor aprovechamiento de la propia proteína endógena. El efecto, sin embargo al final de la gestación, es muy patente, encontrando diferencias claras entre el grupo experimental y el testigo, y entre los animales de los dos períodos experimentales últimos y de estos con los previos. Estos hechos entran dentro de la más pura lógica fisiológica ya que el feto establece una fuerte demanda de proteínas.

En la Tabla III se expresan los resultados obtenidos al suministrar a los animales una dieta del 2 % de proteína. Los valores obtenidos no difieren

TABLA III
Nitrógeno fecal endógeno en ratas gestantes (mg) alimentadas con una dieta de un 2 % de riqueza proteica

Período experimental (días de gestación)	Animal no gestante	Animal gestante
10 a 12	33,2 ± 2,8	30,1 ± 1,6
13 a 15	31,0 ± 1,0	30,1 ± 1,5
16 a 18	30,7 ± 0,5	26,4 ± 0,8*
19 a 21	32,8 ± 1,9	22,5 ± 0,9*

* p < 0,01 respecto a gestantes previas y no gestantes.

prácticamente del modelo que mostraban los animales que no recibían proteína y así había un efecto de menor excreción endógena comparando con animales no gestantes, lo que parece apoyar una óptima reutilización.

Ambos grupos de experimentos presentaron dos tipos de problemas, el más grave de los cuales fue la mayor incidencia de mortalidad, lo que se solucionó utilizando mayor número de lotes, a costa de perder cierta homogeneidad entre ellos. Este hecho podría explicarse, por la escasa o nula aportación proteica precisamente en una situación fisiológica en donde la demanda de proteínas, alcanza características de primera y esencial necesidad. El segundo problema radica en la capacidad de lograr valores uniformes y a veces incluso de obtener resultado alguno, en los diez primeros días de la gestación. Este hecho parece sorprendente teniendo en cuenta que es entonces cuando la competición por el feto de los nutrientes es mínima. Sin embargo se ha determinado⁴ que durante las dos primeras semanas hay un importante depósito proteico en la madre, que representa la mitad de la proteína de feto y placenta a término, mientras que la última semana aquellas reservas proteicas desaparecen en favor de los productos de la concepción; de esta manera en nuestra situación experimental, se puede estar impidiendo ese acúmulo de proteína que parece tan fundamental para el desarrollo fetal de la segunda mitad de la gestación.

Los problemas expuestos no se tuvieron con los otros dos niveles proteicos ensayados (4 % y 8 %), aunque sí hubo una gran dispersión de valores, que achacamos en principio a la metodología empleada por lo que no se incluyen en esta primera publicación.

Los resultados obtenidos con la dieta del 4 % de proteína están expresados en la Tabla IV, debiendo hacerse notar que es precisamente esta concentración proteica la que se utiliza para cálculo del nitrógeno endógeno en la determinación de Valor Biológico en ratas al destete³. La base de partida de que con ese nivel de proteína en la dieta se compensan las pérdidas de endógeno, puede no ser extrapolable a la situación de gestación, lo cual por una parte no afecta al valor de los resultados, pero además, podría acercarse a

TABLA IV
Nitrógeno fecal endógeno en ratas gestantes (mg) alimentadas con una dieta de un 4 % de riqueza protéica

Período experimental (días de gestación)	Rata no gestante	Rata gestante
10 a 12	47,0 ± 3,2	43,2 ± 2,9
13 a 15	45,0 ± 2,8	44,7 ± 3,0
16 a 18	45,3 ± 1,1	40,2 ± 1,2*
19 a 21	46,9 ± 2,2	39,5 ± 2,2*

* p < 0,05 respecto a gestantes previas y no gestantes.

aquel planteamiento si tenemos en cuenta que el consumo del alimento se eleva normalmente durante la gestación¹, como ocurrió con los animales de nuestro lote testigo.

En el caso de la dieta del 4 % de proteína, los valores tanto del lote testigo como problema muestran cifras superiores a los de experimentos anteriores, que en principio se puede atribuir al mayor peso de los animales (240 g ± 16 g). Esto, sin embargo no coincide con resultados previos nuestros⁷ donde no se manifestaba esta influencia del peso, por lo que pudiera deberse a que en los citados ensayos los animales se alimentaban con una dieta de mayor riqueza proteica (12 %).

No obstante lo dicho, se vuelve a repetir el hecho de un mejor aprovechamiento endógeno más marcado al final del período gestacional, aunque en este experimento no hay diferencias en los valores de endógeno para los dos últimos grupos de valores.

En cuanto a los resultados correspondientes a la dieta del 8 % de proteína, estos se expresan en la Tabla V. Los valores obtenidos en el último período muestran una reducción en la excreción fecal de nitrógeno, lo que concuerda con lo observado en experimentos previos. Sin embargo no hay ya

TABLA V
Nitrógeno fecal endógeno en ratas gestantes (mg) alimentadas con una dieta de un 8 % de riqueza proteica

Período experimental (días de gestación)	Rata no gestante	Rata gestante
10 a 12	50,1 ± 3,8	51,2 ± 4,7
13 a 15	51,2 ± 2,5	52,2 ± 3,9
16 a 18	51,8 ± 1,9	50,4 ± 1,9
19 a 21	48,5 ± 2,9	45,0 ± 2,1*

* p < 0,05 respecto a gestantes previos y no gestantes.

diferencias en los otros períodos. Desconocemos lo que hubiera sucedido con un mayor nivel proteico, pero a la vista de este último experimento todo hace pensar que el animal, aún presentando un mejor aprovechamiento nutritivo, muestra en los valores de excreción nitrogenada endógena una tendencia a igualarse con el animal no gestante. Este hecho pudiera explicarse porque con estos niveles de proteínas puede haber una satisfacción de requerimientos con ligeros aumentos de ingesta, aparte de que en estas condiciones dietarias la actividad digestiva y de glándulas anexas especialmente pancreáticas, se acercarán a las condiciones normales y por tanto tendrán también una contribución normal al componente fecal. No hablamos ya de endógeno, porque es dudoso que la concentración proteica, sea la que compense las pérdidas endógenas y si posible las supere.

Por supuesto que la capacidad de adaptación del animal gestante, respecto a dietas de distinto contenido proteico es importante y no sólo va a llevarse a cabo a nivel digestivo. En este sentido hemos presentado recientemente² un trabajo en el que mostramos como a nivel metabólico hay importantes mecanismos de adaptación, los cuales junto a los digestivos tienden a asegurar el éxito de la gestación.

RESUMEN

En el presente trabajo se estudia el nitrógeno fecal endógeno. La gestación es un período de cambios fisiológicos continuos, que afecta a la digestión y absorción de la proteína, el metabolismo intermedio de los aminoácidos, la excreción de nitrógeno y la composición de los tejidos maternos. Se inicia con este trabajo el estudio de la eficacia digestiva en el aprovechamiento del nitrógeno endógeno, otro parámetro que puede tener importancia en la gestación.

Las dietas contenían concentraciones distintas de proteína (0,2 %, 4 %, y 8 %) y los resultados muestran que en los niveles inferiores de proteína y en la última parte de la gestación hay una eficacia aumentada en la absorción del nitrógeno de procedencia endógena.

INTRODUCTION TO THE STUDY OF THE ENDOGENOUS FECAL NITROGEN IN PREGNANT RATS

SUMMARY

The faecal nitrogen from endogenous origin is studied in pregnant rats. Pregnancy is a period of continuous physiological change, affecting the digestion and absorption of protein, the intermediary metabolism of amino acids, the excretion of nitrogen and the composition of the maternal tissues. In this study it is initiated the knowledge about the digestive efficiency of endogenous nitrogen utilization, another parameter that could be very important in pregnancy.

The experimental diets were prepared with different levels of protein (0,2 %, 4 % y 8 %) and the results show that in the lowest levels and the last part of the pregnancy there is an enhanced efficiency of the absorption of the endogenous nitrogen.

BIBLIOGRAFIA

- 1) HYTTEN, F. E. y LEITCH, I. (1971).-The Physiology of Human Pregnancy, 2.ª ed., Blackwell, Oxford.
- 2) MATAIX, F. J. (1979).-Metabolismo Proteico en Gestación, I Congreso Nacional de Nutrición, Isla de la Toja.
- 3) MITCHELL, H. H. (1923).-A method of determining the biological value of protein, *J. Biol. Chem.*, **58**: 873.
- 4) NAISMITH, D. J., y MORGAN, B. L. G. (1976).-The Biphasic Nature of Protein Metabolism during Pregnancy in the Rat, *Br. J. Nutr.*, **36**: 563.
- 5) NASSET, C. S. (1965).-Role of the Digestive System in Protein Metabolism, *Fed. Proc.*, **24**: 953.
- 6) OTERO, M. A. (1975).-Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia. Santiago de Compostela.
- 7) OTERO, M. A., MATAIX, F. J. y VARELA, G. (1975).-Sobre la Eliminación Intestinal de Nitrógeno Endógeno en la Rata, *Rev. Nutr. Animal.*, Vol. XIII, n.º 2, 99.
- 8) OTERO, M. A., MATAIX, F. J. y VARELA, G. (1976).-Sobre los Aminoácidos Libres de Procedencia Endógena en Intestino Perfundido de Rata, *Rev. Esp. Fisiol.*, **32**: 47.
- 9) OTERO, M. A., MATAIX, F. J. y VARELA, G. (1977).-Respecto de una Posible Homeostasis Intestinal de Aminoácidos Libres y Totales en la Rata, *Rev. Nutr. Animal.*, **XV**, n.º 3, 129.
- 10) TWOMBLY, J. y MEYER, J. H. (1961).-Endogenous Nitrogen Secretions into the Digestive Tract, *J. Nutr.*, **74**: 453.