

## ENANISMO POR DESNUTRICIÓN: CRONODINAMIA DE LOS PROCESOS METABOLICOS EN RATAS

SILVIA M. FRIEDMAN, PATRICIA N. RODRIGUEZ, MARIA I. OLIVERA, CLARISA BOZZINI, FLORENCIA NORESE, CARLOTA A. GAMBA, PATRICIA M. BOYER

*Cátedras de Bioquímica General y Bucal y de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires*

**Resumen** El enanismo por desnutrición es una enfermedad no orgánica, cuya causa es la reducción voluntaria o no intencional de la ingesta de alimentos, debida a hábitos alimentarios inapropiados, insatisfacción en el peso corporal o a inadecuadas dietas para adelgazar. Los pacientes con retardo en el crecimiento debido a una causa nutricional logran alcanzar un crecimiento que es el equilibrio entre el potencial genético para el crecimiento y la ingesta de nutrientes. Esta desaceleración en el crecimiento produce una adaptación metabólica que no se refleja en los parámetros bioquímicos tradicionales utilizados como marcados de malnutrición. El objetivo de nuestro trabajo fue comparar en un modelo experimental en ratas en crecimiento las posibles modificaciones en la utilización de sustrato endógeno (CC), el consumo de oxígeno ( $VO_2$ ) y la velocidad de crecimiento. Se emplearon 30 ratas macho de la cepa Wistar que al momento del destete se subdividieron en 3 grupos: control (C) y experimentales: E4 y E8. El grupo C recibió una dieta stock ad libitum. El E4 y E8 recibieron por cada 100 gr de peso corporal un 80% de la misma dieta durante 4 y 8 semanas, respectivamente. Durante el período de depleción nutricional se midieron los siguientes parámetros: 1) peso (P) y talla (T) corporales en función de la edad, 2) P/T Z Score, 3) Composición corporal (CC) por el EM-SCAN, TOBEC modelo SA 3000/3076, Springfield, USA, 4)  $VO_2$  por calorimetría indirecta (ECO-OXYMAX, Columbus Instruments). Se obtuvieron los siguientes resultados a las 4 y 8 semanas, respectivamente: 1) La categoría antropométrica (CA) de delgado (P/T Z Score:  $-0.70 \pm 0.43$ ) y de desnutrido (P/T Z Score:  $-1.44 \pm 0.32$ ), respectivamente. 2) La reserva lipídica fluctuó dentro del rango normal con una cronodinamia significativamente diferente respecto de la del C. 3) No hubo diferencia significativa del  $VO_2$  entre C, E4 y E8. Los resultados obtenidos sugieren que la ingesta crónica de una cantidad subóptima (80%) de una dieta balanceada afecta el crecimiento corporal sin alterar el desarrollo del individuo.

**Abstract** *Nutritional dwarfing: a longitudinal analysis of anthropometric and metabolic parameters in rats.*

Nutritional dwarfing (ND) is the result of nonorganic causes reflective of a voluntary or unintentional reduction in food intake, inappropriate eating behavior, dissatisfaction with body weight or unhealthy approaches toward weight control. Patients with ND have reached an equilibrium between their genetic growth potential and their nutritional intake. This study was undertaken to compare on a growing rat model the metabolic alterations in terms of substrate utilization (SU), oxygen consumption ( $VO_2$ ) and growth rate velocity. Twenty male weanling Wistar rats were randomized to 3 groups: control (C), experimental 4 (E4) and 8 (E8). C was fed "ad libitum" with a stock diet. E4 and E8 were underfed by 80% of the requirements during four or eight weeks, respectively. During the depletion phase the following measurements were performed: 1a) body weight (Wt), 1b) length, 1c) Weight for Length ratio z-score, 2) Body composition (BC) by EM-SCAN Tobec Model 3 000, Springfield, USA, 3)  $VO_2$  by indirect calorimetry, ECO-OXYMAX. *Results:* 1) wt for length was  $-0.70 \pm 0.43$  for E4 (t = 4 weeks) and  $1.44 \pm 0.32$  for E8 (t = 8 weeks), 2) % of fat mass was within the normal range, 3)  $VO_2$  was not significantly different between groups. Chronic suboptimal nutrition (80%) decreased growth velocity which was the sole manifestation of nutritional inadequacy.

**Key words:** nutritional dwarfing, body growth, body composition, energy metabolism

La desnutrición es la causa más importante de retardo en el crecimiento, asociada a la pobreza<sup>1</sup>. Sin embargo, no es la única causa de desaceleración en el crecimiento corporal, ya que puede estar asociado a 2 enfermedades orgánicas —enfermedad celíaca, enfermedad fibroquística del páncreas, enfermedades endocrinas, etc—, o bien tener

un origen no orgánico<sup>2,3</sup>. En efecto, la subóptima ingesta de alimento en forma crónica puede comprometer la ganancia de peso y el crecimiento longitudinal, dando lugar a una enfermedad no orgánica llamada "enanismo por desnutrición" (ND).

La obsesión de una sociedad que basa el éxito de un individuo en la imagen corporal, puede desencadenar en el ND, una enfermedad nutricional que no está asociada al hambre, pero es la manifestación clínica de una inadecuada nutrición<sup>4,5</sup> y que puede conducir a la anorexia nerviosa<sup>6,7</sup>.

Recibido: 16-I-1998

Aceptado: 5-V-1998

Dirección postal: Dra. Silvia María Friedman, Sucre 3042, 1428 Buenos Aires, Argentina.  
Fax: 54-1-784-1111

Niños o adolescentes con ND consumen dietas donde se restringen las calorías y/o las grasas, que los conduce inexorablemente a un inadecuado peso corporal, a una desaceleración del crecimiento longitudinal y a un retraso puberal<sup>8, 9</sup>.

Estos pacientes logran alcanzar un crecimiento que es el equilibrio entre el potencial genético para el crecimiento y la ingesta de nutrientes. Sin embargo, esta desaceleración en el crecimiento corporal produce una adaptación metabólica que no se refleja en alteraciones en los parámetros bioquímicos utilizados como marcadores de malnutrición<sup>10</sup>.

La prevalencia del ND no se conoce con exactitud, porque muchas veces sólo es detectada cuando se convierte en una malnutrición de tipo severa, que afecta significativamente la talla corporal y es la causa que lleva al paciente a la consulta<sup>2</sup>.

Estudios realizados por Lifshitz y col. demostraron que el ND de origen no orgánico representó el 73% de los pacientes que padecían una desaceleración en el crecimiento corporal<sup>8, 9</sup>.

A pesar de la diversidad en la etiología de la enfermedad, el ND presenta un único perfil clínico con una respuesta metabólica adaptativa a la subóptima ingesta de alimento en forma crónica. No se conoce con exactitud el nivel de restricción alimentaria de una dieta balanceada responsable de esta enfermedad.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar en un modelo experimental en ratas en crecimiento las modificaciones del tamaño corporal, del metabolismo energético y de la utilización de sustrato endógeno durante la restricción alimentaria leve (20%) y crónica de una dieta balanceada administrada desde el destete y durante todo el período de crecimiento activo como posible causa de la adaptación metabólica.

## Materiales y métodos

### 1. Población

Se emplearon 30 ratas macho de la cepa Wistar desde el destete, con un peso de  $47.8 \pm 4.5$  gramos. Los animales se mantuvieron en jaulas galvanizadas con piso de malla, con el propósito de mantener las condiciones de higiene y de evitar la coprofagia. La temperatura ambiental del bioterio fue de  $21 \pm 1$  C y la humedad, del 50-60%. Se respetaron los ciclos de luz-oscuridad para evitar alterar el ritmo de alimentación de los animales. Los animales de experimentación se subdividieron en 3 grupos: Control (C) y 2 grupos experimentales: E4 y E8, de 4 y 8 semanas de restricción, respectivamente.

### 2. Dieta

Los animales de experimentación se alimentaron con una dieta especial para roedores (Purina en pellets) cuya composición centesimal fue de: Proteína: 25.47, Grasa: 6.3, Cenizas: 7.6, Agua: 7.96, Glúcidos csp 100. El grupo C recibió la dieta en condiciones de libre demanda<sup>11,14</sup>. Se calculó diariamente

el consumo de la misma en gramos ingeridos por 100 gramos de rata control y por día. Los grupos experimentales E4 y E8 recibieron el 80% de la energía consumida por el grupo C, corregida por el peso corporal, durante 4 y 8 semanas, respectivamente.

### 3. Diseño Experimental

Durante el período experimental se realizó el seguimiento del peso y de la talla y se calculó el P/T Z-core<sup>15, 16</sup>. Durante el mismo período se determinaron el consumo de oxígeno y la composición corporal.

El consumo de dieta se registró diariamente.

### 4. Evaluación nutricional

a) *Antropometría*: Se midieron el peso (P) y la talla (T) corporales. Para la medida del peso se utilizó una balanza Mettler PC 4 000 con una precisión de  $\pm 1$  mg. La determinación se realizó con una frecuencia de medición de 4 días, guardando un ayuno mínimo de 2 horas y máximo de 4 horas, previo a la determinación. Los animales se anestesiaron ligeramente para la determinación de la talla. Se colocó el animal sobre una regla graduada en mm y se hizo coincidir el cero de la regla con el hocico. La longitud corporal quedó determinada por la medida que coincide con los últimos pelos de la base de la cola. Con los datos obtenidos se determinó la variable antropométrica Peso/Talla (P/T) y se establecieron las categorías antropométricas utilizando las curvas percentiladas de P/T y el "Z-score"<sup>17, 18</sup>.

b) *Ingesta dietética*: La ingesta de dieta se midió diariamente con una balanza Mettler con una precisión de  $\pm 1$  mg. La medida de consumo se determinó por la diferencia de peso del comedero de 2 días consecutivos. Este se expresó en gr/100 gr de rata/día.

### 5. Metabolismo energético

Este se determinó mediante el método de calorimetría indirecta por medio del OXYMAX (modelo O<sub>2</sub>-ECO, Columbus Instruments, Columbus, Ohio, USA), sistema que permite monitorear el consumo de oxígeno en animales de experimentación. El sistema de medición requiere de la remoción del vapor de agua, el cual interactúa con el sensor de oxígeno y del dióxido de carbono, para independizarse del coeficiente respiratorio, para lo cual se emplea una columna de vidrio rellena con SO<sub>2</sub>Ca anhidro (agente DrieRite, Hammond Corporation) y con NaOH-CaO. El volumen de oxígeno consumido (VO<sub>2</sub>) se calculó por medio de la siguiente ecuación:  $VO_2$  (ml/Kg/hora) =  $600 \cdot Vi$  (LPM)  $\cdot (\%Xi - \%Xo) / \text{Peso}(\text{Kg}) \cdot 100 - \%Xo$  donde Vi = flujo de aire que ingresa a la cámara en litros/minuto, %Xi = fracción de oxígeno que ingresa a la cámara, %Xo = fracción de oxígeno que egresa de la cámara.

### 6. Composición corporal

Esta se cuantificó por medio del EM-SCAN/TOBEC modelo SA 3 000/3 076, escaneador electromagnético que estima la composición corporal en animales pequeños a partir de la conductividad eléctrica corporal total. Es un método sencillo, no invasivo, rápido y de gran sensibilidad. Al colocar el sujeto experimental en condiciones estandarizadas dentro del sistema (animal quieto y en posición supina para lo cual se lo anestesia ligeramente) éste modifica el campo electromagnético, con un grado de perturbación que depende de la cantidad y de la distancia de los electrolitos presentes, los cuales residen exclusivamente en la masa magra. Las mediciones se realizaron por la mañana luego de 4 horas de ayuno de dieta sólida y lí-

quida. A partir de un valor de registro "E" (índice de conductividad) y por aplicación de las ecuaciones correspondientes se calcularon el contenido de agua corporal total, de grasa y de masa magra y sus valores porcentuales<sup>19-21</sup>.

7. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron estadísticamente aplicando las siguientes pruebas:

- a) Análisis de varianza<sup>22</sup>.
- b) Test a posteriori: Student-Neuman-Keuls<sup>22</sup>.

RESULTADOS

Se observa una disminución del crecimiento corporal en peso (Fig. 1) y una desaceleración del crecimiento longitudinal (Fig. 2) durante todo el período experimental.

Los animales experimentales alcanzaron las categorías antropométricas (CA) en forma escalonada deplecionándose en etapas. A las 4 semanas de

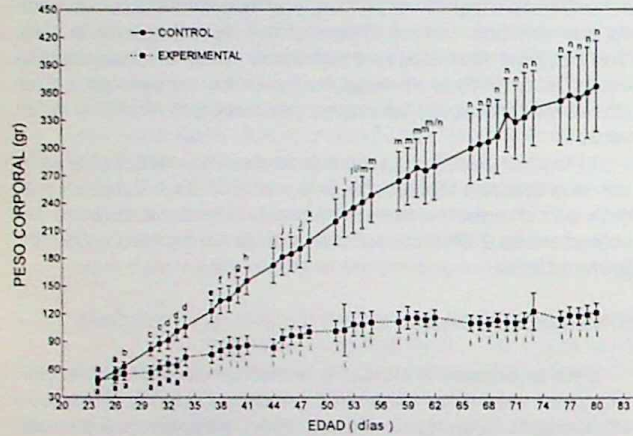


Fig. 1.- Peso corporal en función de la edad en ratas macho en crecimiento. Cada punto representa la media ± DS. Letras iguales indican no diferencia estadísticamente significativa.

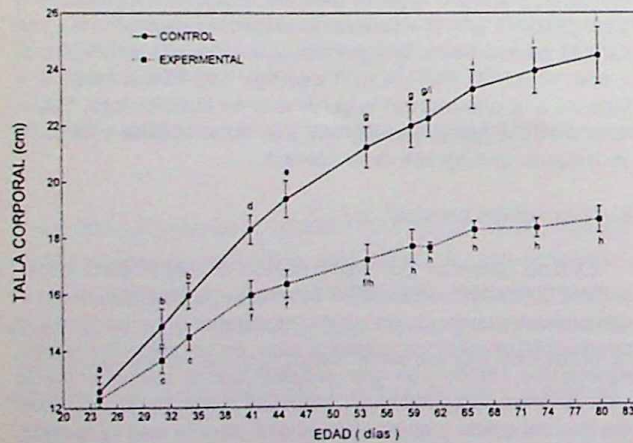


Fig. 2.- Talla corporal en función de la edad en ratas macho en crecimiento. Cada punto representa la media ± DS. Letras iguales indican no diferencia estadísticamente significativa.

TABLA 1.- Diseño experimental

T0	4 SEM	8 SEM
20% restricción		20% restricción
P/T Z-SCORE		
-0.35 ± 0.19	-0.70 ± 0.43	-1.44 ± 0.32
Adecuado*	Delgado	Desnutrido

T0 = tiempo cero; SEM = semanas; P/T Z-SCORE = puntaje Z para el peso para la talla; \* categorías antropométricas

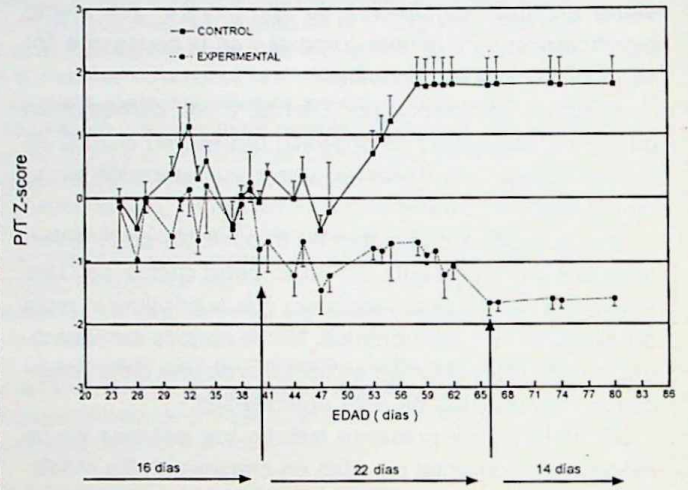


Fig. 3.- P/T Z-score en función de la edad en ratas macho en crecimiento. Cada punto representa la media ± DS.

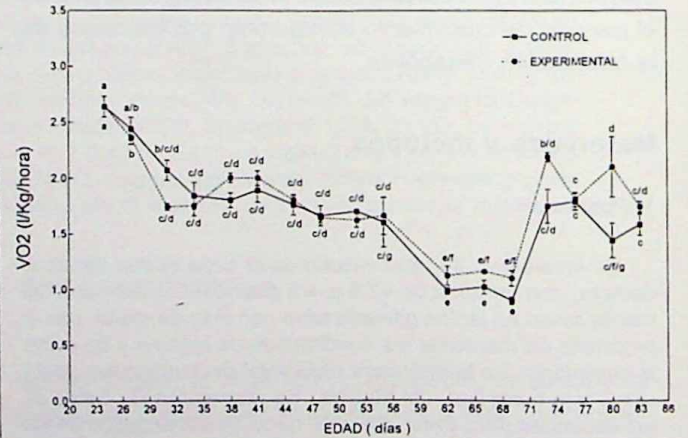


Fig. 4.- Consumo de oxígeno (L/Kg/hora) en función de la edad en ratas macho en crecimiento. Cada punto representa la media ± DS. Letras iguales indican no diferencia estadísticamente significativa.

depleción el P/T Z-score fue de -0.70 ± 0.43 (CA: delgado). A las 8 semanas, el P/T Z-score fue de -1.44 ± 0.32 (CA: desnutrido) (Fig. 3).

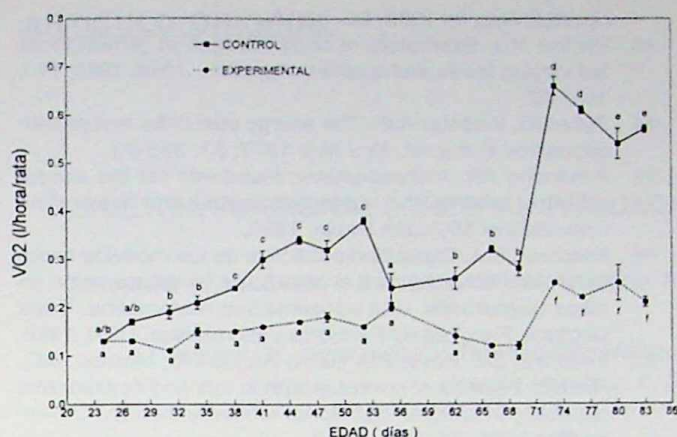


Fig. 5.— Consumo de oxígeno (L/hora/rata) en función de la edad en ratas macho en crecimiento. Cada punto representa la media ± DS. Letras iguales indican no diferencia estadísticamente significativa.

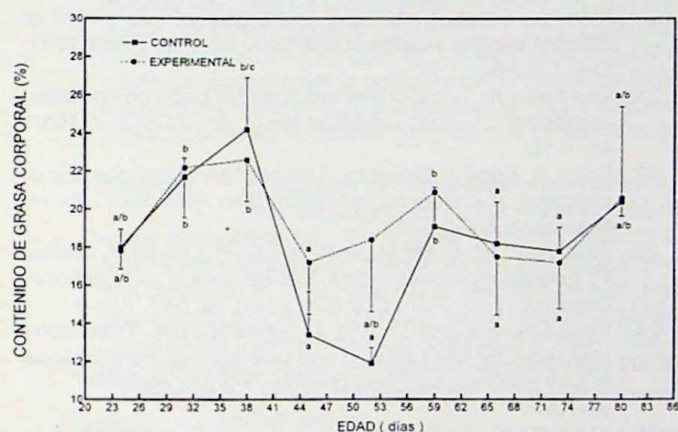


Fig. 6.— Contenido de grasa corporal en función de la edad en ratas macho en crecimiento. Cada punto representa la media ± DS. Letras iguales indican no diferencia estadísticamente significativa.

El perfil del metabolismo energético expresado en L/Kg/hora se superpone al de los controles (Fig. 4). Sin embargo, difieren en algunos puntos, los cuales corresponden a pequeños ajustes del metabolismo. Superados éstos, ambas curvas son similares.

Cuando el metabolismo energético se expresa por tamaño corporal, se observa al igual que en los niños con ND, que el consumo de oxígeno disminuye como consecuencia de la disminución del tamaño corporal (Fig. 5)<sup>23</sup>.

Al comparar el comportamiento de la reserva lipídica del grupo experimental respecto del control, se observa que la misma, pese a fluctuar dentro de una dispersión normal, presenta una cronodinamia diferente a la del control, particularmente en el período comprendido entre los 45 y 52 días de edad, como consecuencia de un

patrón hormonal diferente en ambos grupos durante la etapa de desarrollo puberal (Fig. 6)<sup>16</sup>.

## DISCUSION

El patrón temporal (leve y permanente) de una ingesta subóptima de una dieta balanceada produce una desaceleración en el crecimiento con un perfil de adaptación metabólica que no se refleja en los parámetros bioquímicos utilizados tradicionalmente como marcadores de malnutrición, a saber: proteínas totales, albúmina, prealbúmina, proteína transportadora de retinol, transferrina, ferremia, ferritina, zinc, cobre, magnesio<sup>10</sup>. Hasta el momento se conoce que las únicas alteraciones bioquímicas en los pacientes ND son la disminución de la actividad de la Na-K-ATPasa, quien representa un tercio de los requerimientos de energía basal, determinada en membrana del eritrocito<sup>10</sup>, en el patrón de secreción nocturna espontánea de la hormona de crecimiento (GH) y en su respuesta a la hormona hipofisotropa liberadora de GH, los cuales pueden ser mecanismos compensatorios a la restricción energética<sup>7</sup>. En efecto, nuestros hallazgos demuestran que un nivel de restricción total del 20% determinó un retraso en el crecimiento de origen no orgánico conocido como "enanismo por desnutrición".

La imposición de dicha dieta desde el destete hasta los 40 días de edad, no afectó el tamaño corporal. Sin embargo, al continuar con dicho nivel de ingesta, se produjo una disminución en el tamaño corporal que corresponde a la CA de delgado (período comprendido entre los 41 y los 65 días de edad). Más aún, se alcanzó en la etapa final del crecimiento la CA de desnutrido. A los 65 días de edad el grupo experimental alcanzó el plateau esperado de crecimiento longitudinal de acuerdo a la edad del animal. Sin embargo, dicho fenómeno se observó a partir de una talla significativamente menor comparada con la del grupo control.

Pese al deterioro progresivo del crecimiento corporal, nuestros resultados demuestran que la adaptación metabólica se visualizó a través del metabolismo energético, el cual siguió el mismo perfil que el individuo normal, y a través de la composición corporal, la cual resultó ser semejante a la del grupo control<sup>24-26</sup>.

Un mecanismo que podría contribuir al ahorro en las necesidades energéticas es el cambio en el metabolismo proteico<sup>27-30</sup>. Waterlow y colaboradores<sup>28</sup> demostraron que los niños desnutridos tienen velocidades de recambio proteico significativamente menores que aquellos recuperados. Esta modificación en las velocidades de síntesis y de degradación de las proteínas corporales no necesariamente se refleja en un deterioro en el tamaño corporal (40 días) ya que existen otros mecanismos tales como cambios en la conducta o actividad

física que responden a la adaptación por la insuficiente ingesta<sup>31</sup>.

La aparente respuesta adaptativa en ratas tiene grandes similitudes a lo hallado en niños<sup>30</sup>.

La grasa corporal presentó un comportamiento similar relativo a la edad cronológica —en ambos grupos—, salvo durante el período correspondiente al desarrollo puberal. El grupo experimental mostró un contenido lipídico superior respecto al grupo control, lo que explicaría el retraso puberal observado en individuos con ND<sup>8</sup>.

Se concluye que la subóptima ingesta crónica de una dieta balanceada con una deficiencia global del 20% durante todo el período de crecimiento activo, resulta en un individuo nutricionalmente enano, adaptado metabólicamente a la autoimposición o imposición no intencional. Sin embargo, aún sigue la controversia de si la disminución del tamaño corporal es una ventaja adaptativa al aporte limitado de alimento o si es una desventaja con fallas funcionales que resulta en un ND.

## BIBLIOGRAFIA

1. Torum B, Viteri FE. Protein energy malnutrition. In: Shils ME, Young VR (eds) *Modern Nutrition in Health and Disease*, 7th ed., Philadelphia: Lea and Febiger; 1988, 746-73.
2. Lifshitz F, Moses N, Cervantes C, Ginsberg L. Nutritional dwarfing in adolescents. *Semin Adolesc Med* 1987; 3: 255-66.
3. Ketels DG, Grand RJ. Nutritional basis of growth failure in children and adolescents with Crohn's disease. *Am J Clin Nutr* 1979; 76: 720-7.
4. World Health Organization, Development of indicators for monitoring progress towards health for all by year 2000, Geneva, "Health for All" Series (4), 1981.
5. FAO/UNICEF/WHO, Methodology of Nutritional Surveillance Report of a joint FAO/UNICEF/WHO Expert Committee, Geneva, Technical report Series (593), 1976.
6. Lifshitz F, Moses N. Growth, dieting and fear of obesity. *J Am Coll Nutr* 1988; 7: 367-76.
7. Abdenur JE, Pugliese MT, Cervantes C, Fort P, Lifshitz F. Alterations in spontaneous growth hormone (GH) secretion and response to GH-releasing hormone in children with nonorganic nutritional dwarfing. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 930-4.
8. Pugliese M, Lifshitz F, Grad G, Fort P, Ginsberg L. Fear of obesity: a cause of short stature and delay puberty. *N Engl J Med* 1983; 309: 513-8.
9. Lifshitz F, Moses N. Growth failure: a complication of dietary treatment of hipercholesterolemia. *Am J Dis Child* 1989; 143: 537-42.
10. Lifshitz FL, Friedman S, Smith MM, Cervantes C, Recker B, O'Connor M. Nutritional dwarfing: a growth abnormality associated with reduced erythrocyte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 997-1004.
11. Guide and use of laboratory animals. NIH 85-23, revised in 1985.
12. Mercer P, Bukhardt SS. The relationship between food intake, weight gain and dietary nutrient concentration in the rat. *Nutr Rep Int* 1982; 26: 121-9.
13. Phillips RD. Estimators of body nitrogen in growing rats fed varying levels and qualities of protein. *J Nutr* 1980; 110: 1441-52.
14. Pullar JD, Webster AJF. The energy cost of fat and protein deposition in the rat. *Br J Nutr* 1977; 37: 355-63.
15. Frisancho AR. *Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status*. Ann Arbor: The University of Michigan Press; 1990.
16. Friedman SM. Capacidad predictiva de los modelos experimentales en ratas para el estudio de la recuperación en niños desnutridos. Una aproximación matemática. Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, 1988.
17. Friedman SM, Boyer PM, Barrio Rendo ME, Morasso MC, Río ME. Patterns of normal growth in rats and its predictive capability in children nutritional recovery therapy. *J Dental Res* 1995; 74: 730. Abs 6.
18. Friedman SM, Boyer PM, Barrio Rendo ME, Morasso MC, Río ME. Comportamiento rata-niño durante la repleción nutricional. *Medicina (Buenos Aires)* 1994; 54: 513.
19. Glenn E. Walsberg. Evaluation of a nondestructive method for determining fat stores in small birds and mammals. *Physiology Zoology* 1988; 61: 153-9.
20. Thonney ML, Oberbauer AM, Duhaime DJ, Jenkins TC, Firth NL. Empty body component gain of rats grown at different rates to a range of final body weights. *J Nutr* 1984; 114: 1777-86.
21. Van Itallie B. TOBEC Methodology for body composition assessment: a cross validation study. *Am J Clin Nutr* 1987; 46: 9-12.
22. Sokal R, Rohlf J. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco: W. H. Freeman & Co. 1969.
23. Friedman SM, Smith M, Shih-Yu Lee P, Larsen P, Lifshitz F. Energy metabolism and fuel utilization in Nutritional Dwarfing child. *J Am Coll Nutr* 1991; 10: 543. Abs 61.
24. Fjeld CR, Freundt-Thurne J, Schoeller DA. Total body measured by 18-O dilution and bioelectrical impedance in well and malnourished children. *Pediatr Res* 1990; 27: 98-102.
25. Fjeld CR, Schoeller DA, Brown KH. Body composition of children recovering from severe protein-energy malnutrition at two rates of catch-up growth. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 1266-75.
26. Fjeld CR, Schoeller DA, Brown KH. A new model for predicting energy requirements of children during catch-up growth developed using doubly labeled water. *Ped Res* 1989; 25: 503-8.
27. Poehlman F, Melby CL, Badylak SF. Resting metabolic rate and post prandial thermogenesis in highly trained and untrained males. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 793-8.
28. Waterlow JC, Golden M, Pilou D. The measurement of rates of protein turnover, synthesis and breakdown in man and the effect of nutritional status and surgical injury. *Am J Clin Nutr* 1977; 30: 1333-9.
29. Waterlow JC. Metabolic adaptation to low intakes of energy and protein. *Ann Rev Nutr* 1986a; 6: 495-526.
30. Kennedy N, Badaloo AV, Jackson AA. Adaptation to a marginal intake of energy in young children. *Br J Nutr* 1990; 63: 145-54.
31. Viteri FE, Torum B. Nutrition, physical activity and growth. In: *The biology of normal growth*. Ritzler M, Apsia A, Hall K. (eds), New York: Raven Press, 1981; 269-73.