



➤ **Ciencia en la frontera** ◀

Revista de ciencia y tecnología de la UACJ

UACJ



Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

DIRECTORIO

Lic. Jorge Mario Quintana Silveira
Rector

M.C. David Ramírez Perea
Secretario General

Dra. Martha Patricia Barraza de Anda
Coordinadora General de Investigación y Postgrado

M.C. Hugo Salvador Staines Orozco
Director del ICB

Dr. Eduardo Pérez-Eguía
Coordinador de Investigación y Postgrado del ICB

Dr. Gilberto Reyes Leal
Jefe del Departamento de Ciencias Básicas, ICB

CONSEJO EDITORIAL

Emilio Álvarez Parrilla
Leonel Barraza Pacheco
Alejandro Donohue Cornejo
Esaúl Jaramillo
Alejandro Martínez
Francisco Molinar Holguín
Roberto de J. Mendoza de E.
Antonio de la Mora
Helvia Pelayo Benavides
Luis Fernando Plenge
Joaquín Rodrigo García
Laura de la Rosa
Hugo Staines Orozco
Gilberto Reyes Leal
Yolanda Loya

DIRECTOR

Dr. Luis Fernando Plenge Tellechea

CORRECCIÓN

Mayola Renova González
Mayram Zamora Franco

FORMATO

Raúl Betances Sáenz

CONSEJO EDITORIAL INTERNACIONAL

Álvaro Álvarez Parrilla

Fac. Ciencias Matemáticas UABC,
Ensenada, B.C.

Francisco Fernández Belda

Depto. De Bioquímica y Biología
Molecular (A), Universidad de
Murcia, España.

Alex Frago Sierra

Fac. de Química. Universidad de la
Habana, Cuba.

Jorge Gardea Torresdey

Chemistry, UTEP, El Paso, Texas.

Armando Gómez Puyou

Investigador Emérito. Instituto de
Fisiología Celular, Depto. Bioquímica,
UNAM. México, D.F.

Gustavo González

Tecnología de Alimentos de Origen
Vegetal, CIAD Hermosillo, Sonora,
México.

Louis Irwin

Biological Science, UTEP, El Paso,
Texas.

José Luis Ochoa

CIBNOR, La Paz, B.C.S.

Esther Orozco

CINVESTAV, México, D.F.
Biomedicina Molecular.

Maria Jesús Periago

Depto. De Bromatología e Inspección
de Alimentos, Universidad de Murcia,
Murcia, España.

Gaspar Ros Berruelo

Depto. De Bromatología e
Inspección de Alimentos
Universidad de Murcia, Murcia,
España.

Rocío Salceda Sacanelles

Instituto de Fisiología Celular,
Depto. Neurociencias, UNAM,
México, D.F.

Fernando Soler

Depto. De Bioquímica y Biología
Molecular (A), Universidad de
Murcia, Murcia, España.

Marieta Tuena de Gómez Puyou

Investigadora Emérita. Instituto de
Fisiología Celular, Depto.
Bioquímica, UNAM. México, D.F.

José Vázquez Tato

Fac. de Ciencias, Depto. De
Química Física. Universidad de
Santiago de Compostela, España.

Ricardo Tapia Ibarguengoytia

Neurociencias
IFC –UNAM

Herminia Pasantes

Neurociencias
IFC – UNAM

Thomas Kretzschmar Steinle

Area de Geofísica
CICESE en Ensenada Baja
California, México.

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ/ Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Coordinación de Investigación y Postgrado del ICB. Vol. IV, num. 1 (noviembre 2006). Ciudad Juárez, Chih.: UACJ, 2003.

v.;21 cm.

Seriada

1. Ciencias Puras – Publicaciones Periódicas
2. Ciencias Aplicadas – Publicaciones Periódicas
3. Ingeniería – Publicaciones Periódicas

Q4.R48 1999

505.R48 1999

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ es una publicación seriada del Instituto de Ciencias Biomédicas a través de la Coordinación de Investigación y Postgrado del ICB, vol. 4. num. 1, noviembre del 2006. Publicidad, anuncios y suscripciones, dirigirse a: Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, Heroico Colegio Militar 3775, 32310 Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Tel. (656) 688 18 85. Hecho en México / Printed in Mexico. Copyright © UACJ.

Los manuscritos propuestos para publicación en esta revista deberán ser inéditos no haber sido sometidos a consideración a otras revistas simultáneamente. Al enviar los manuscritos y ser aceptados para su publicación. Los autores quedan que todos los derechos se transfieren a Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, quien se reserva los de reproducción y distribución, ya sean fotográficos, en micropelícula, electrónicos o cualquier otro medio, y no podrán ser utilizados sin permiso por escrito de Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, véase además notas para autores.

Permisos para otros usos: el propietario de los derechos no permite utilizar copias para distribución en general, promociones, la creación de nuevos trabajos o reventa. Para estos propósitos, dirigirse a Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, correo electrónico fplenge@uacj.mx

CONTENIDO

| | |
|--|----|
| <i>Resúmenes / Abstracts</i> | 5 |
| Presentación | |
| Dr. Luis Fernando Plenge Tellechea..... | 9 |
| Efecto de la suplementación con alfalfa sobre la concentración de ácidos grasos volátiles y el pH en el rumen de novillos alimentados con una dieta basal de paja de trigo | |
| Héctor González García, Alberto Armendáriz Rodríguez, Juan Carlos Estrada Bejarano, Efraín García SanMiguel, Celia Holguín Licón y Cristina Vélez Sánchez-Verín..... | 11 |
| Efecto de la especie animal (bovinos y ovinos) sobre el consumo voluntario de paja y de materia seca total en una dieta basal de paja de trigo suplementada con alfalfa | |
| Héctor González García, Ezequiel Rubio Tabarez, Aracely Orozco Erives, Adolfo Pérez Márquez y Hugo Enrique Hernández Contreras..... | 20 |
| Variabilidad espacial aplicada a fenoles, DBO y DQO en agua residual a lo largo del Distrito de Riego 009 | |
| Miguel Palomo Rodríguez y Uriel Figueroa Viramontes..... | 26 |
| Variabilidad espacial aplicada a coliformes en agua residual a lo largo del Distrito de Riego 009 | |
| Miguel Palomo Rodríguez y Uriel Figueroa Viramontes..... | 32 |
| Efecto de la suplementación de la oveja durante la gestación sobre la ganancia diaria de peso de corderos del nacimiento al destete | |
| Ezequiel Rubio Tabarez, Andrés Quezada Casasola, J. Imelda Ramos Guevara, Majin Roberto Luján Duran y Esaul Jaramillo López..... | 38 |
| Aislamiento y determinación de <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gattii</i> a partir de muestras de eucaliptos en Ciudad Juárez | |
| Carolina Ramírez Félix..... | 42 |
| Recuperación metabólica en sujetos con alcoholismo crónico | |
| Laura Castañeda Rosas, Pablo Rangel Silva, Dolores García Suárez, Héctor Fernando Serrano, Rosa López Durán y José Luis Gómez Olivares..... | 45 |
| Papel del enlace glicofosfatidilinositol (GFI) en las membranas plasmáticas de las células eucariotes | |
| José Luis Gómez Olivares, Rosa María López Durán, María Dolores García Suárez, Enrique Mendieta Márquez Enrique, Héctor Fernando Serrano, Pablo Rangel Silva Pablo y Cecilio Vidal Moreno..... | 53 |
| Hipercolesterolemias monogénicas | |
| Yolanda Loya Méndez, Diana Reyes Sánchez, Héctor Reyes Leal y Gilberto Reyes Leal..... | 61 |
| Tratamiento nutricional y farmacológico de las hipercolesterolemias monogénicas | |
| Yolanda Loya Méndez, Diana Reyes Sánchez, Héctor Reyes Leal y Gilberto Reyes Leal..... | 74 |

CONTENTS

Presentaciones/*Abstracts*.....5

Presentación

Dr. Luis Fernando Plenge Tellechea.....9

Effect of alfalfa hay supplementation on ruminal pH and volatile fatty acids concentration in steers fed with basal wheat straw diet

Héctor González García, Alberto Armendáriz Rodríguez, Juan Carlos Estrada Bejarano, Efraín García SanMiguel , Celia Holguín Licón y Cristina Vélez Sánchez-Verín.....11

In order to evaluate ruminal liquid pH and volatile fatty acids (VFA) concentrations (acetic C₂, propionic C₃, butyric C₄ and isobutyric C₄-iso acids; total VFA and C₂:C₃ ratio), four crossbred steers (200 kg and 12 months old) fitted with permanent ruminal cannulas (6.5 cm) were fed with a basal wheat straw diet and supplemented with alfalfa hay to levels of 0, 8, 16, and 24% of dry matter intake. The data were analyzed by using a 4 x 4 latin square design. There were detected significant trends (P < 0.01) increase C₃ (20.17, 21.24, 23.68, and 22.02 %) and C₄-iso (1.81, 1.86, 2.09 and 1.73 %) acids proportional to an increase of supplement of alfalfa hay (0, 8, 16, and 24 %), respectively. A higher (P < 0.01) C₂ (69.91 vs 68.72, 67.15, and 68.1 %), C₄ (8.25 vs 8.23, 7.3, and 7.75 %) acids concentration and C₂:C₃ ratio (3.49 vs 3.26, 2.87, and 3.11 %) were found in the basal diet compared to supplemented diets, respectively.

Effect of animal species (cattle and sheep) on voluntary intake of straw and total dry matter with a basal wheat straw diet supplemented with alfalfa

Héctor González García, Ezequiel Rubio Tabarez, Aracely Orozco Erives, Adolfo Pérez Márquez y Hugo Enrique Hernández Contreras.....20

Digestion trials are useful because indigestibility accounts for the largest single loss in nutrient utilization by ruminants. Most digestibility studies of ruminant feedstuffs have been carried out using sheep, because they are easier to handle and the amounts of feed and excreta involved are lower. These trials assumes that cattle and sheep are equal in their digestive capacity, and that in both species, variations in intake and type of diet produce similar changes in digestibility of energy and other feed fractions. Many studies of the comparative digestibility of feeds in sheep and cattle are confounded by both species not being offered exactly the same feed or by the level of feeding. The different ways of expressing intake (kg / BW^{1.0}, kg / BW^{0.9} y kg / BW^{0.75}; BW = Body weight) have complicated interpretation of published data

Spatial variability applied to fenols, BOD and COD in sewage water along the Irrigation District 009

Miguel Palomo Rodríguez y Uriel Figueroa Viramontes.....26

Before the North and South sewage water treatment plants in Ciudad Juarez, Chihuahua started operations, a study was conducted in sewage water and mixed sewage water along the Irrigation District (ID-009); the objective was to analyze the spatial variability in the concentration of fenols, biochemical oxygen demand (BOD) and chemical oxygen demand (COD). The average concentration of fenols in raw sewage water was 0.056 mg L⁻¹ which is equivalent to 56 % of the maximum allowable limit (MAL) for textile industry. BOD showed higher concentrations from september to august and concentrations decreased during spring and summer seasons. Along the IR-009, it was observed a trend of decreasing concentration of fenols, BOD and COD. Semivariance values were highly significant (p < 0.01) for fenols and BOD, considering flowing distance along the IR-009, with a Gaussian model for fenols and linear with a sill for BOD. The best model for COD was lineal with a sill and it was significant (p < 0.05), when relating semivariance and distance. Spatial distribution of CDO is different to fenols and BOD, because the dilution pattern is altered in the town of Praxedis.

Keywords: Removal, dilution, geostatistics, sewage water

Spatial variability applied to coliforms in sewage water along the Irrigation District 009

Miguel Palomo Rodríguez y Uriel Figueroa Viramontes.....32

Spatial variability of fecal coliforms and total coliforms was determined in sewage water, due to the dilution effect when it is mixed with groundwater and Rio Bravo water (from the 1906 International treaty between México and the USA). The study was conducted before the North and South sewage water treatment plants in Ciudad Juárez, Chihuahua started operations. The mixing of waters progressively decreased the most probable number (MPN) of fecal and total coliforms along the Irrigation District 009 (ID-009). Dilution effect on sewage water and space variations are associated geostatistically with the semivariance values of distance; both variables were adjusted with a lineal-with-a-sill model. Mixing the sewage water allows to minimize health risks for people handling the irrigation water in crop lands, mainly at the end of the ID-009.

Key words: Removal, dilution, geostatistics, sewage water.

Effect of supplementation of the ewe during gestation on daily weight gain of lambs from birth to weaning

Ezequiel Rubio Tabarez, Andrés Quezada Casasola, J Imelda Ramos Guevara, Majin Roberto Luján Duran y Esaul Jaramillo López.....38

In order to evaluate the effect of feeding type of the ewe at the end of pregnancy on birth weight and average daily gain from birth to weaning of Rambouillet lambs, twenty animals were used in this study (eleven female and nine male), from ewes treated two ways: supplemented (A) and restricted (B). From birth to 60-d weaning, all lambs had rolled corn and hay available at all times as a feeding supplement. Initial weight and average daily gain were analyzed. For the statistical analysis, an independent sample mean comparison was used. Lambs from group A had higher birth and weaning weights than group B ($P < 0.01$). Among the same group, there were no statistical differences between both sexes ($P > 0.05$). Results of this study suggest that supplementation of the ewe at the end of pregnancy affects the growth rate of lambs from birth to weaning date.

Isolation and determination of cryptococcus neoformans var. gattii from samples of eucalyptus in Juárez City

Carolina Ramírez Félix.....42

A total of 135 trees of the species Eucalyptus, were selected. Samples were taken in duplicate from the ground containing vegetable debris, tree cortex, leaves and flowers. Isolation of the yeast was made on *Guizotia abyssinica media*. The identification was accomplished by biochemical and morphologic tests, and characterization of the variety was made by bromotimol canavanine-glycine-blue (CGB) and D-proline tests.

Isolation of 55 strains of *Cryptococcus* spp. was accomplished and 45 of them were identified as *C. neoformans var. gattii*.

Metabolic recovery on chronic alcoholism subjects

Laura Castañeda Rosas, Pablo Rangel Silva, Dolores García Suárez, Héctor Fernando Serrano, Rosa López Durán y José Luis Gómez Olivares45

Alcoholism is a disease characterized by an exacerbated need for alcohol-containing beverages ingestion taking no care about quality, time nor amount of alcohol get. It is a public health problem in Mexico affecting both men and women no matter their education, social status, religion or racial origin. By 2001, about 9.1% men and 11.9% women dye to alcohol-related complications being the third and sixth dead causing disease, respectively. When alcohol is taken excessively, several diseases can be developed mainly by the interference in nutritional status of the patient. Alcohol can interfere on the nutrient absorption and metabolism of several compounds. As a result, alcoholics very often have protein deficiencies accounting for the liver disease

and/or to alcohol biotransformation-related disorders. There are no clear evidences about the metabolic recovery of rehabilitated alcoholics during the early steps of the process. This work was focused to determine the possibility of a metabolic recovery in patients having chronic alcoholism after a total abstinence period by evaluating several blood plasma components related to the integral liver metabolism.

Role of the glycoposphatidylinositol (GPI) anchor in plasma membranes form eukaryotic cells

José Luis Gómez Olivares, Rosa María López Durán, María Dolores García Suárez,
 Enrique Mendieta Márquez Enrique, Héctor Fernando Serrano, Pablo Rangel Silva Pablo y
 Cecilio Vidal Moreno.....53

Monogenic hypercholesterolemia

Yolanda Loya Méndez, Diana Reyes Sánchez, Héctor Reyes Leal y Gilberto Reyes Leal.....61

The monogenic forms of severe hypercholesterolemia are diseases that have placed a critical role in the linkage of predisposing coronary artery disease and early and severe atherosclerosis. Premature cardiovascular disease is frequently found in this subjects and it is the main cause of shortening life expectancy. The clinical diagnosis is unspecific and not differential between the monogenic forms of hypercholesterolemia. The WHO establishes a diagnosis according to the MEDPED recommendations. The screen to the mutations using DNA techniques are the most certainty diagnostic. The main advantage of a DNA diagnostic test is its very high specificity in comparison to clinical criteria.

Nutritional and pharmacological treatment of monogenic hypercholesterolemia.

Yolanda Loya Méndez, Diana Reyes Sánchez, Héctor Reyes Leal y Gilberto Reyes Leal.....74

Monogenic Hypercholesterolemia is the principal genetic disease of lipids metabolism, changes in modifiable risk factors such as diet, sedentary, cessation of smoking, weight and blood pressure control and cholesterol reduction will have substantially more impact on the incidence and progression of atherosclerosis. At present day, early treatment with diet and drug therapy can reduce morbidity and mortality from coronary heart disease in these patients.

P r e s e n t a c i ó n

De nuevo tengo el privilegio de presentarle a usted el reciente volumen IV de nuestra revista *Ciencia en la Frontera, revista de ciencia y tecnología de la UACJ*. Misma que está representada por el Instituto de Ciencias Biomédicas. En este volumen incluimos temas de vanguardia en Biomedicina, Ciencias Ambientales y Bioquímica. En este volumen como en los anteriores cuidamos de no incluir sólo o temas de revisión sino de trabajos originales realizados en los laboratorios del ICB de la UACJ en Cd. Juárez y de diversas regiones del país como el Distrito Federal, Baja California, Baja California Sur y Coahuila.

Uno de nuestros objetivos es lograr ingresar a un catálogo Index la revista *Ciencia en la Frontera*, por ello nuestro compromiso sigue siendo un contenido de excelencia en los artículos que incluimos. Ello incluye a un variado número de instituciones y de los investigadores participantes en los artículos.

Los diversos temas que se incluyen están relacionados con los hábitos alimenticios y de la importancia de llevar un control adecuado en nuestra alimentación. Es por ello que se incluyen temas sobre hipercolesterolemias monogénicas. También incluimos temas relacionados con la nutrición animal, el estudio de fenoles y de coliformes en aguas residuales (variabilidad espacial) y temas bioquímicos como el metabolismo en sujetos alcohólicos y estudios sobre membranas plasmáticas.

Deseo expresar mi agradecimiento a los participantes de este volumen, que con su empeño y confianza nos permiten seguir adelante en este proyecto de divulgación de las ciencias en nuestro país y el extranjero.

Dr. Luis Fernando Plenge Tellechea
Editor y Coordinador del Vol. IV

Efecto de la suplementación con alfalfa sobre la concentración de ácidos grasos volátiles y el pH en el rumen de novillos alimentados con una dieta basal de paja de trigo

Héctor González García¹, Alberto Armendáriz Rodríguez¹, Juan Carlos Estrada Bejarano¹, Efraín García SanMiguel¹, Celia Holguín Licón² y Cristina Vélez Sánchez-Verín².

¹Departamento de Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo Pronaf y Estocolmo S/N.

²Universidad Autónoma de Chihuahua. Av. Escorza y Venustiano Carranza S/N.

RESUMEN

Con el propósito de evaluar la inclusión de heno de alfalfa (0, 8, 16 y 24 %) en una dieta basal de paja de trigo sobre las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV; ácidos acético C₂, propiónico C₃, butírico C₄ e isobutírico C₄-iso; AGV totales y la relación C₂:C₃) en el líquido ruminal, así como en el comportamiento del pH en el rumen de bovinos, se utilizaron cuatro novillos (200 Kg., y 12 meses de edad) con cánulas ruminales (6.5 cm.). Para el análisis de la información se utilizó un diseño experimental en cuadro latino 4 X 4 y la prueba de Tukey. En relación a los AGV, se observó que las dietas suplementadas (8, 16 y 24%) presentaron concentraciones mayores (P<0.01) de C₃ y C₄-iso (21.24, 23.68, 22.02 vs. 20.17 %; y 1.81, 1.86, 2.09 vs. 1.73 %) con respecto a la dieta testigo, respectivamente; mientras que ésta última presentó los valores mayores (P<0.01) de C₂ y C₄ (69.91 vs. 68.72, 67.15, 68.1 %; y 8.25 vs. 8.23, 7.3, 7.75 %) con relación a las dietas con adición de alfalfa, respectivamente.

INTRODUCCIÓN

El Estado de Chihuahua se ha distinguido, a nivel nacional, por la ganadería que se desarrolla en el mismo. Actualmente la superficie destinada a esta actividad es de casi 18 millones de hectáreas, (Gobierno de Chihuahua, 2004) razón por la cual es la segunda en importancia en el sector primario. En ésta actividad sobresale la producción extensiva de ganado bovino cuyo propósito primordial es el de producir becerros al destete para exportación. La rentabilidad de este sistema, denominado vaca-becerro, depende en gran medida de la cantidad y calidad del recurso forrajero (pastizal) que se encuentra en los agostaderos.

La intensa sequía que ha azotado al Estado por más de una década, ha ocasionado una reducción del 43 % en el número de cabezas en la entidad (periodo 1990-2001; Gobierno de Chihuahua, 2004); asimismo, ha repercutido en que la calidad de los pastizales disminuya y en que los forrajes disponibles para la suplementación y/o para el mantenimiento de los animales se eleven de precio. Por ello, los esquilmos agrícolas (pajas) han cobrado relevancia en el sistema de alimentación, aún y cuando se conoce que son forrajes con bajo contenido proteico, baja digestibilidad y altos en fibra, pueden ser utilizados eficientemente cuando son suplementados con niveles reducidos de forrajes de buena calidad.

a) Generalidades.

La fibra está conformada desde un punto de vista químico, por un complejo de celulosa, hemicelulosa y lignina, pero frecuentemente se le asocian minerales y otros componentes. Desde un sentido práctico, se define en términos de fibra cruda (FC), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA), y puede ser utilizada como un predictor de la calidad de los forrajes, del consumo de materia seca (MS), de la digestibilidad y del valor energético de los alimentos. Desde el punto de vista de la nutrición de rumiantes, la fibra (y particularmente los forrajes) constituye el componente fundamental de las dietas en la mayor parte de los sistemas productivos de rumiantes. Sin embargo, los niveles de incorporación de la fibra en las dietas pueden ser muy amplios, justificándose esta flexibilidad en parte, por la variabilidad en las necesidades energéticas del animal, siendo con frecuencia el reflejo de la falta de conocimiento sobre su efecto en los niveles de producción o en su digestión y metabolismo. El exceso de fibra en la dieta reduce la capacidad en el consumo de alimento, la digestibilidad de la misma, la síntesis de proteína microbiana, y el aporte de energía. La gran ventaja que los rumiantes poseen, es su habilidad para utilizar la fibra (pared celular; FDN) de las plantas en el rumen. En éste, se encuentran diversos microorganismos (bacterias, protozoarios, hongos, etc.) que viven en simbiosis con el animal, los cuales degradan el alimento a través de un proceso de fermentación (actividades físicas y microbiológicas) produciendo diversos

¹Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Col. Progresista, Ciudad Juárez, Chihuahua, México. C. P. 32300. hgonzale@uacj.mx

productos finales, como el caso de los AGV. Los rumiantes mantienen la población microbiana en el rumen al ingerir y masticar alimentos con regularidad, añadiendo amortiguadores (buffers) y eliminando los ácidos producidos, arrastrando los productos microbianos y los residuos alimenticios no digestibles, y manteniendo condiciones (pH, temperatura, humedad, etc.) apropiadas para el crecimiento microbiano (Owens y Goetsch, 1988).

Los factores principales que regulan la digestión de la fibra en el rumiante son: 1) la estructura y la composición de la planta, la cual regula el acceso bacteriano a los nutrientes; 2) la naturaleza de la densidad poblacional de los microorganismos predominantes que digieren la fibra; 3) los factores microbianos que controlan la adhesión y la hidrólisis por los complejos de enzimas hidrolíticas de la población microbiana adherentes; y 4) los factores del animal que aumentan la disponibilidad de los nutrientes a través de la masticación, la salivación y la cinética de la ingesta (Cheng *et al.*, 1991).

b) Degradación ruminal de la fibra.

La fibra se fermenta en el rumen lentamente por la acción de las bacterias fibrolíticas. La degradación de la fibra se inicia con la adhesión de las bacterias a la pared vegetal, proceso que se realiza a una velocidad inversamente proporcional al grado de lignificación de dicha pared. Una vez adheridas, la degradación de los componentes de la pared celular progresa por la acción de las celulasas y de las hemicelulasas, y varía en función de la composición, de las uniones químicas de los componentes y del grado de lignificación. La degradabilidad efectiva en el rumen de la fibra potencialmente degradable depende de la velocidad de tránsito ruminal y de su velocidad de degradación (Owens y Goetsch, 1988).

Las principales bacterias fibrolíticas incluyen al *Fibrobacter succinogenes*, al *Ruminococcus flavefaciens* y al *Ruminococcus albus* (Cheng *et al.*, 1991). El *Butyrivibrio fibrisolvens* también produce una celulasa, pero es probablemente la más importante en la hidrólisis de la hemicelulosa. Las bacterias fibrolíticas tienden a degradar las estructuras más fácilmente digestibles, tales como las células mesófilas, aunque *F. succinogenes* digiere el parénquima, la epidermis de la pared celular y el esclerenquima de la hoja (Akin, 1989). Los hongos representan aproximadamente un 8 % de la biomasa microbiana en el rumen (Orpin y Joblin, 1988). Éstos parecen tener un papel importante en la digestión de la fibra debido a que ellos pueden penetrar la cutícula y la pared celular de los tejidos lignificados (Akin, 1986). En general, los hongos pueden degradar los materiales más duros de la pared celular, incluyendo el esclerenquima y el tejido vascular (Akin, 1989), de hecho degradan del 37 al 50 % de paja de la cebada, mientras que las bacterias ruminales digieren solamente del 14 al 25 % (Joblin *et al.*, 1989). Por otra parte, los estudios *in vitro* han

sugerido que del 19 al 28 % de la actividad total de la celulasa puede ser atribuida a los protozoos (Gijzen *et al.*, 1988); sin embargo, la digestión parece estar limitada a tejidos muy susceptibles tales como las células mesófilas (Akin, 1989). Los estudios de defaunación (ausencia de protozoos) han demostrado que se reduce la digestión de la fibra (Bonhomme, 1990; Yang y Varga, 1993).

c) Adhesión microbiana e hidrólisis.

El proceso de digestión comienza con la asociación de los microorganismos con un alimento en particular. La unión al sustrato ocurre a través del proceso de adhesión del complejo proteico llamado adhesinas. Este proceso es seguido por una colonización microbiana sucesiva dentro de la población adherida hasta que un complejo digestivo activo es formado y los nutrientes son liberados de la digestión del sustrato (Cheng *et al.*, 1991). El grado de colonización y el modo de ataque son específicos para cada especie microbiana (Kudo *et al.*, 1990). Los microorganismos ruminales poseen una gran cantidad de enzimas hidrolíticas, incluyendo en las bacterias a las celulasas y las hemicelulasas, y en los hongos a las celulasas y las xilanasas. La *Neocallimastix frontalis* tiene la actividad celulolítica más alta que cualquier organismo reportado en la literatura. Los protozoos también poseen celulasas y xilanasas y una amplia gama de glicosidasas (Cheng *et al.*, 1991).

d) Factores del animal que afectan la digestión microbiana de la fibra.

El consumo de alimento, las interacciones en la dieta, las estrategias de alimentación y los aditivos alimenticios, de alguna manera influyen en el crecimiento microbiano y subsecuentemente en la digestión de la fibra. El grado de digestión de la fibra es el resultado de la competencia entre la tasa de digestión y la de pasaje y, como tal, no es un valor estático. El líquido ruminal y la tasa de movimiento de las partículas están positivamente correlacionadas con el consumo. Por lo tanto, a medida que el consumo aumenta, la ingesta que sale del rumen contendrá partículas de alimento en una fase más temprana de digestión, y esto dará lugar a una menor digestibilidad de la MS (Russell *et al.*, 1992). La energía disponible en el rumen normalmente limita el crecimiento de las bacterias y cualquier adición de materia orgánica fermentable en el rumen como resultado de un cambio en la proporción de forraje:concentrado, aumentará probablemente la síntesis de proteína microbiana al proveer más energía (Sniffen y Robinson, 1987). Aunque el procesamiento físico del forraje, tal como el molido y el peleteado, proporciona una mayor área superficial para el ataque enzimático, la utilización de carbohidratos estructurales no se incrementa, más bien mejora el comportamiento del animal debido principalmente a un incremento en el consumo de energía digestible (Bourquin *et al.*, 1990).

De hecho, la digestibilidad de la fibra se reduce en un 3.3 % como resultado de una disminución en el tiempo de permanencia en el rumen.

El uso reciente del término FDN efectiva (FDNe) reconoce la diferente funcionalidad de la fibra de la dieta. La grasa de leche, la tasa de masticación y el tamaño de partícula han sido utilizados como un índice de la fibra efectiva. Actualmente, el Sistema Cornell de Carbohidratos Netos y Proteína utiliza la FDNe para ajustar el pH ruminal y la tasa de pasaje (Sniffen *et al.*, 1992). Otros factores, aparte del tamaño de partícula que influyen en la FDNe, incluyen el grado de lignificación de la fibra, el grado de hidratación y la densidad de llenado. La importancia de la FDNe puede ser detectada al reducirse la tasa de crecimiento de los microorganismos que fermentan los carbohidratos estructurales y la reducción en el rendimiento microbiano total cuando el pH ruminal es menor de 6.2 (éste se presenta a niveles de 20 % de FDNe). Robinson (1989) indicó que la digestión de la fibra puede ser limitada por el orden y la frecuencia de la presentación del substrato en el rumen. La alimentación con dietas, especialmente las que son altamente fermentables proporcionadas más de dos veces al día, generalmente tienden a estabilizar el ambiente ruminal. La adición de amortiguadores (buffers; bicarbonato de sodio, óxido de magnesio, etc.) a la dieta de vacas lecheras lactando, puede mejorar la digestión de la fibra al reducir el período de tiempo durante el día en el cual el pH ruminal es menor de 6. Un amortiguador puede superar limitaciones de la digestión de la fibra en dietas que tienen una alta proporción de ensilajes con bajo pH, o alimentos fermentados con un contenido de humedad mayor al 50 %, o una FDA menor al 19 %, o heno ensilado finamente picado, o una proporción alta de concentrado en la dieta, o una alimentación irregular de niveles altos de concentrado, o bien concentrado finamente molido (Hutjens, 1992).

Los ionóforos (monensina, lasalocida, salinomycin, etc.) pueden mejorar la digestión de la celulosa en dietas altas en carbohidratos fácilmente disponibles, al inhibir el crecimiento de bacterias productoras de lactato, además de disminuir las concentraciones de lactato e incrementar el pH ruminal (Russell y Strobel, 1989). El llenado del rumen y la tasa de pasaje también se ven afectados (Wallace, 1994). El conocimiento de las condiciones que se presentan en el rumen de un animal alimentado con una determinada dieta se considera fundamental para el entendimiento de la respuesta productiva del mismo, sobre todo en lo referente al consumo de alimento. Por ello, el objetivo general de este estudio fue el de evaluar la inclusión de heno de alfalfa (0, 8, 16 y 24 %) en una dieta basal de paja de trigo sobre el ambiente ruminal de novillos.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Localización del área de estudio.

La prueba experimental se desarrolló en la Unidad de Digestión y Metabolismo del Departamento de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, en Juárez, Chihuahua, México. Ésta se encuentra a una altitud de 1,135 msnm, con una precipitación media anual de 230 mm., una temperatura media anual de 16.5 °C y una oscilación térmica de 14.5 °C (Municipio de Juárez, 2005).

b) Características de la población.

Se utilizaron cuatro novillos cruzados, con un peso promedio inicial de 200 Kg. y una edad de 12 meses, provistos con una cánula ruminal permanente de 6.5 cm. de diámetro.

c) Tratamientos

Los tratamientos (dietas) fueron: a) testigo, consistente en una dieta basal de paja de trigo (PT), b) PT suplementada con 8 % de heno de alfalfa (A), c) PT suplementada con 16 % de A, y d) PT suplementada con 24 % de A.

d) Manejo ó procedimientos generales.

Cada período experimental consistió de 10 días de adaptación y 12 días de muestreo, puesto que se evaluaron otros parámetros adicionales a los aquí descritos. Antes del inicio de la fase de adaptación del primer período de muestreo, los animales se dosificaron con vitaminas A, D y E y se desparasitaron interna y externamente. Los novillos se alojaron en corraletas metabólicas individuales con piso de concreto y una superficie de 6.2 m². La dieta basal de paja de trigo se ofreció diariamente *ad libitum*, a una tasa de un 20 % más del consumo del día previo. Los animales se suplementaron a las 0800 y 1700 horas (h). La PT y A se molieron en un molino de martillos¹ con una criba de 2.54 cm. A las dietas se les adicionó como fuente de energía fácilmente degradable, 1.0 Kg. d⁻¹ de maíz rolado. Todas las dietas se hicieron isoprotéicas mediante la inclusión de urea (46 % nitrógeno; N); asimismo, se adicionó sulfato de amonio para proporcionar una relación de N : azufre de 10 : 1. Los animales tuvieron libre acceso a un bloque mineral y el agua estuvo disponible a toda hora del día.

e) Concentración de ácidos grasos volátiles y del pH del líquido ruminal.

Para las determinaciones del pH y de los AGV (ácidos acético, propiónico, butírico e isobutírico: C₂, C₃, C₄ y C₄-iso), se tomaron muestras del líquido ruminal al inicio de cada uno de los períodos experimentales, tomándose éstas de cada animal a las 0, 1.5, 3, 6, 9, 12, 16, y 24 h postalimentación de la mañana (Galyean, 1997). Para el caso del pH en el líquido ruminal, éste se determinó en forma inmediata después de su extracción con una bomba

¹ Marca Azteca.

de vacío a través de la utilización de un potenciómetro tipo pluma². Posteriormente las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 min. para eliminar el sedimento. En lo que respecta a los AGV, su determinación se llevó a cabo en un cromatógrafo de gas, utilizando la técnica sugerida por Supelco Inc. (1975). El manejo de estas muestras consistió en tomar 5 ml del líquido ruminal al cual se le añadió 1 ml. de ácido metafosfórico al 25 %, mezclándose fuertemente con un vibrador Vortex, dejándose reposar durante 30 min. para luego centrifugarlas a 2000 rpm durante 10 min. El cromatógrafo se utilizó con una velocidad de flujo de N, hidrógeno y aire de 40, 30 y 9 ml min.⁻¹, respectivamente; a una temperatura en la columna de 130 °C, en el inyector de 170 °C y en el detector de 175 °C; mientras que la cantidad inyectada de muestra fue de 1.0 µL.

f) Parámetros estimados.

Las variables evaluadas fueron: el pH ruminal y la concentración de AGV (C₂, C₃, C₄ y C_{4-iso}) en el líquido ruminal de cada uno de los tratamientos.

g) Procedimientos estadísticos.

El análisis general de la información se llevó a cabo mediante un modelo para un diseño experimental de cuadro latino 4 X 4, consistente de cuatro tratamientos, cuatro períodos y cuatro animales por tratamiento:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + T_j + \beta_k + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Observación experimental.

μ = Media general,

α_i = Efecto del i-ésimo período (i= 1,..4),

T_j = Efecto del j-ésimo tratamiento (j= 1,..4),

β_k = Efecto de la k-ésimo animal (k=1,..4), y

E_{ijk} = Error experimental.

Para las comparaciones entre medias se utilizó la prueba de Tukey (Montgomery, 1991). El análisis de toda la información se llevó a cabo con el paquete SAS (1985), a través del procedimiento de modelos lineales generales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) pH en el líquido ruminal.

El comportamiento del pH ruminal por tratamiento se plasma en el Cuadro 1, en el cual no se aprecian diferencias entre los tratamientos (P>0.05), observándose un valor general promedio de 6.86; mientras que al llevar a cabo la comparación entre las horas de muestreo, se detectaron diferencias (P<0.05) en las horas 0, 1.5, 3 y 9 postalimentación (Figura 1). Después de ofrecer el

alimento se presentó una tendencia considerada como normal, al disminuirse el pH (08:00 y 17:00 h; Owens y Goetsch, 1988), encontrando que los dos niveles máximos de suplementación presentaron los valores más bajos de pH en las horas 1.5 y 3, en tanto que en las horas 0 y 9, en las cuales se suministró el alimento, los valores presentaron un comportamiento inverso en las dietas suplementadas con respecto al tratamiento testigo.

CUADRO 1. Comportamiento del ambiente ruminal de novillos por tratamiento.

| Concepto | Tratamientos | | | |
|--------------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | PT ¹ | PT+A (8%) | PT+A (16%) | PT+A (24%) |
| pH | 6.86±0.03 | 6.88±0.03 | 6.87±0.03 | 6.82±0.03 |
| C ₂ (%) | 69.91±0.3 ^a | 68.72±0.5 ^{ab} | 67.15±0.4 ^c | 68.1±0.4 ^{bc} |
| C ₃ (%) | 20.17±0.2 ^c | 21.24±0.3 ^{bc} | 23.68±0.4 ^a | 22.02±0.3 ^b |
| C _{4-iso} (%) | 1.73±0.05 ^b | 1.81±0.09 ^{ab} | 1.86±0.09 ^{ab} | 2.09±0.11 ^a |
| C ₄ (%) | 8.25±0.2 ^a | 8.23±0.3 ^a | 7.3±0.2 ^b | 7.75±0.2 ^{ab} |
| AGV Total (mM) | 93.6±2.92 | 101.65±4.9 | 96.1±3.09 | 96.3±2.72 |
| C ₂ /C ₃ | 3.49±0.07 ^a | 3.26±0.06 ^{ab} | 2.87±0.06 ^c | 3.11±0.05 ^{bc} |

PT= Paja de trigo; A= Alfalfa.

1/ Media ± Error estándar.

abc/ Las medias de las hileras con diferente literal, difieren significativamente (P<0.01).

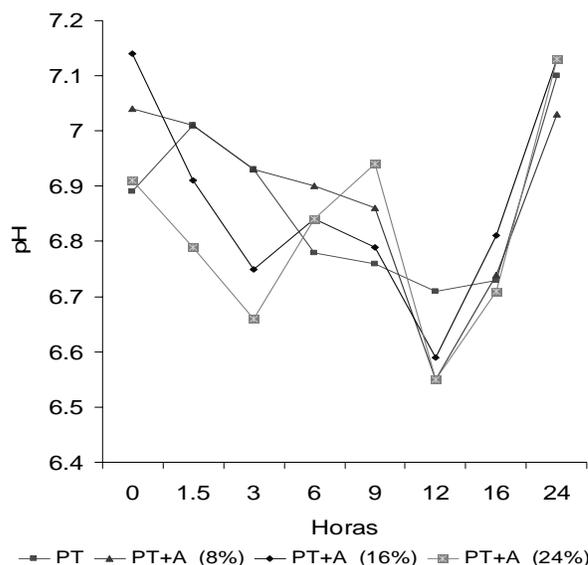


FIGURA 1. Comportamiento del pH en el líquido ruminal de novillos por tratamiento y por hora de muestreo.

Los valores obtenidos en todas las horas de muestreo se mantuvieron en rangos adecuados para lograr un máximo aprovechamiento de la celulosa (Silva y Ørskov, 1988b; Preston y Leng, 1989). En lo general, los datos encontrados están de acuerdo con valores reportados por Ndlovu y Buchanan-Smith (1985), (1987); Zorrilla-Rios *et al.* (1985), (1989); Dixon y Egan (1988); Silva y Ørskov (1988a); Manyuchi *et al.* (1992); Fondevila *et al.*

²Beckman 11 pH Meter.

(1993) y Hernández (1993) en dietas con forrajes de baja calidad.

b) Ácidos grasos volátiles.

En el Cuadro 1 se aprecia el comportamiento de los AGV por tratamiento; mientras que en las Figuras 2, 3, 4 y 5, se pueden observar las tendencias a través de las horas de muestreo durante el día, del contenido en porcentaje Molar de C₂, C₃, C₄~iso, y C₄, respectivamente. Mientras que en las Figuras 6 y 7 se presentan los valores de la concentración de AGV totales en mM, así como la relación de C₂ : C₃, respectivamente.

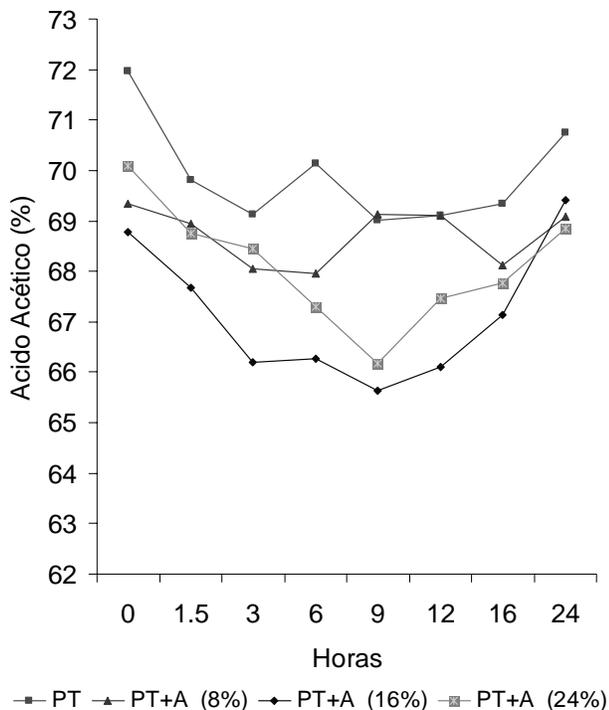


FIGURA 2. Comportamiento del contenido de ácido acético en el líquido ruminal de novillos por tratamiento y por hora de muestreo.

En cuanto al contenido del C₂ en el líquido ruminal, se encontraron diferencias (P<0.01) entre la dieta testigo y las dietas suplementadas con heno de alfalfa (69.91 vs. 68.72, 67.15, 68.1 %, respectivamente), presentándose una tendencia de observar valores menores de C₂ conforme el nivel de suplementación aumentó. Lo anterior se manifestó al detectar entre los tratamientos un comportamiento antagónico entre el contenido de C₃ con respecto al C₂ (Cuadro 1; P<0.01), observándose que las dietas suplementadas con alfalfa presentaron los valores mayores, mientras que la dieta testigo presentó el menor contenido de C₃ (21.2, 23.7, 22 vs. 20.2 %, respectivamente). Además, se encontraron diferencias entre tratamientos en la hora 12 de muestreo postalimentación (P<0.05; Figura 3).

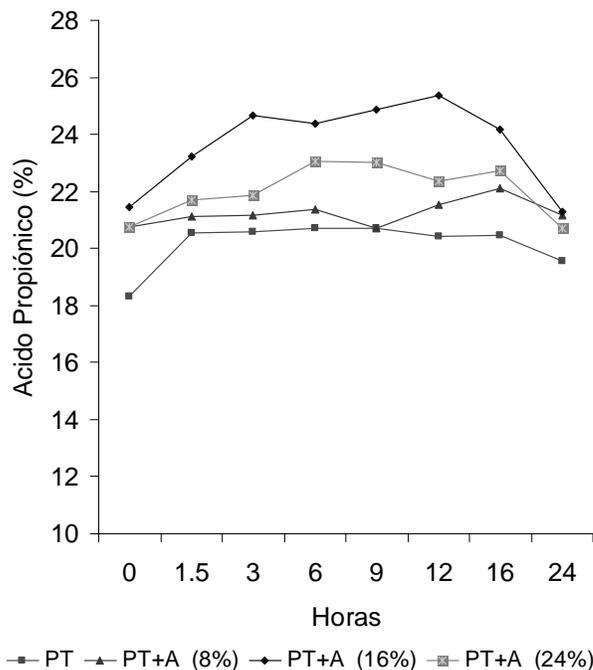


FIGURA 3. Comportamiento del contenido de ácido propiónico en el líquido ruminal de novillos por tratamiento y por hora de muestreo.

La suplementación con alfalfa tuvo influencia directa en el contenido de C₄~iso, registrándose contenidos mayores (P<0.01) con respecto a la dieta sin alfalfa (testigo; Cuadro 1), además se encontró una diferencia entre tratamientos (P<0.05) en la hora 0 de muestreo, con tendencias similares a las descritas (Figura 4).

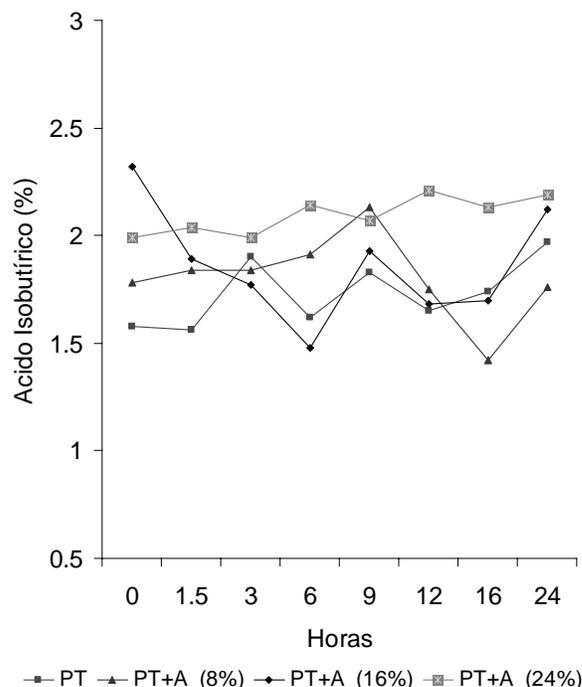


FIGURA 4. Comportamiento del contenido de ácido isobutírico en el líquido ruminal de novillos por tratamiento y por hora de muestreo.

Dicha influencia puede deberse al hecho de que el N verdadero que contiene la alfalfa, al fermentarse produce AGV de tipo ramificado, tal y como el C₄-iso y el ácido isovalérico (C₅-iso). Por otra parte, el contenido de C₄ en el líquido ruminal presentó diferencias entre tratamientos (P<0.01; Cuadro 1), encontrándose los valores mayores en la dieta testigo con respecto a las dietas suplementadas (8.25 vs. 8.23, 7.3 y 7.75 %, respectivamente); observándose también diferencias (P<0.05; Figura 5) muy consistentes en las horas de muestreo 9, 12 y 16, con una tendencia similar a la referida.

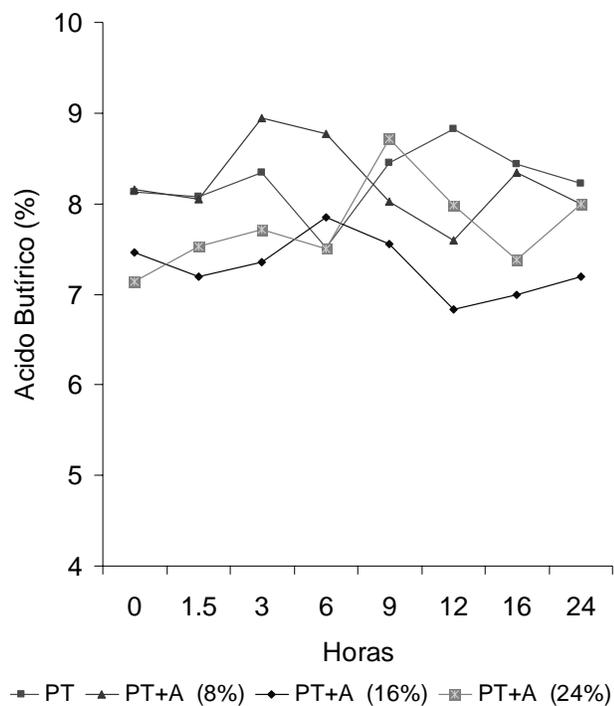


FIGURA 5. Comportamiento del contenido de ácido butírico en el líquido ruminal de novillos por tratamiento y por hora de muestreo.

En cuanto a la concentración de AGV totales (mM) en el líquido ruminal, no se detectaron diferencias (P>0.05) entre tratamientos ni en las horas de muestreo (Cuadro 1; Figura 6); en tanto que en la relación de C₂ : C₃ se encontraron valores mayores (P<0.01; Cuadro 1) para la dieta basal con respecto a las dietas suplementadas (3.49 vs. 3.26, 2.87 y 3.11, respectivamente), observándose diferencias (P<0.05) únicamente en la hora 12 de muestreo (Figura 7).

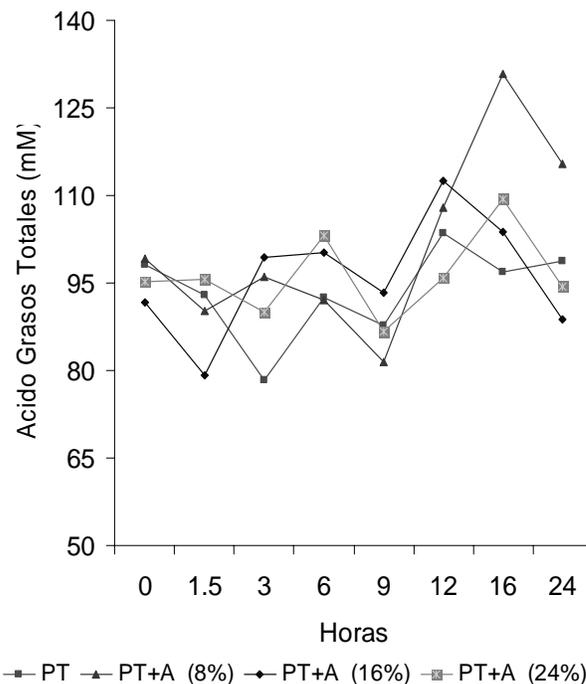


FIGURA 6. Comportamiento del contenido de ácidos grasos volátiles totales (mM) en el líquido ruminal de novillos por tratamiento y por hora de muestreo.

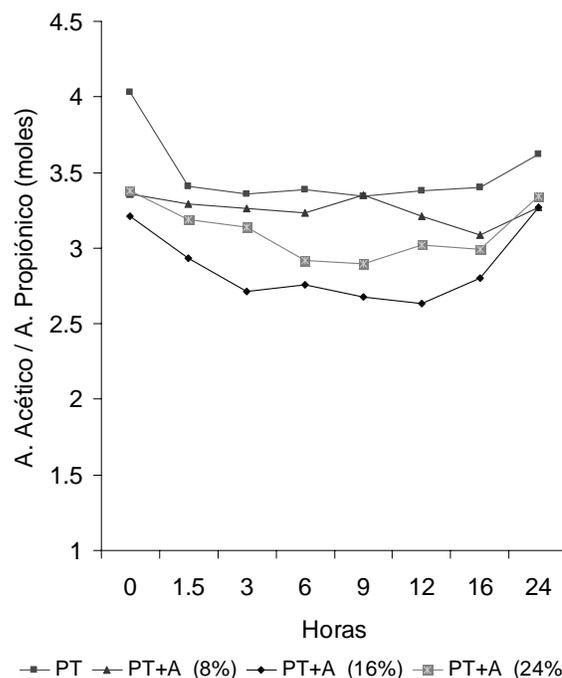


FIGURA 7. Relación de moles de ácido acético por cada mol de ácido propiónico en el líquido ruminal de novillos por tratamiento y por hora de muestreo.

En el Cuadro 2 se presenta un balance fermentativo estimado de acuerdo a la producción de AGV por tratamiento.

CUADRO 2. Balance fermentativo ruminal por tratamiento

| Concepto | Tratamientos | | | |
|---|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | PT | PT+A (8%) | PT+A (16%) | PT+A (24%) |
| Proporción Molar de AGV: | | | | |
| Acetato, moles/100 moles. | 69.91 | 68.71 | 67.15 | 68.10 |
| Propionato, moles/100 moles. | 20.2 | 21.24 | 23.68 | 22.02 |
| Butirato, moles/100 moles. | 8.3 | 8.23 | 7.30 | 7.74 |
| Valores Calculados: | | | | |
| Glucosa Utilizada, moles. | 53.3 | 53.21 | 52.72 | 52.81 |
| Producción de Gas (CO ₂ + CH ₄). | 86.41 | 85.18 | 81.76 | 83.59 |
| CH ₄ , moles. | 34.04 | 33.16 | 31.30 | 32.42 |
| CO ₂ , moles. | 52.37 | 52.02 | 50.45 | 51.17 |
| Rendimiento ATP, moles. | 259.11 | 259.03 | 258.56 | 257.93 |
| Energía: | | | | |
| Entradas | | | | |
| Glucosa, Mcal. | 35.86 | 35.81 | 35.48 | 35.54 |
| Salidas | | | | |
| AGV, Mcal. | 26.37 | 26.50 | 26.58 | 26.40 |
| CH ₄ , Mcal. | 7.17 | 6.99 | 6.59 | 6.83 |
| ATP, Mcal (7 Kcal/mol) | 1.81 | 1.81 | 1.81 | 1.80 |
| Calor, Mcal. | 0.50 | 0.50 | 0.48 | 0.49 |
| Rendimiento Microbiano | | | | |
| Potencial: | | | | |
| g Células secas (Y _{ATP} = 10). | 2591.17 | 2590.32 | 2585.69 | 2579.36 |
| g Proteína (60 % de MS). | 1554.70 | 1554.19 | 1551.41 | 1547.62 |
| g Proteína/100 g almidón fermentados. | 18.08 | 18.08 | 18.08 | 18.08 |
| ATP/mol Glucosa. | 4.84 | 4.85 | 4.90 | 4.89 |
| Energía Perdida con la Fermentación: | | | | |
| CH ₄ , % de la Energía inicial. | 20.01 | 19.52 | 18.60 | 19.23 |
| ATP, % de la Energía inicial. | 5.05 | 5.06 | 5.10 | 5.08 |
| Calor, % de la Energía inicial. | 1.40 | 1.40 | 1.36 | 1.38 |
| CH ₄ + ATP + Calor. | 26.47 | 25.99 | 25.06 | 25.69 |
| Cociente C ₂ :C ₃ . | 3.49 | 3.25 | 2.87 | 3.11 |
| Cociente no glucogénico. | 4.31 | 4.03 | 3.50 | 3.81 |

McMeniman *et al.* (1988) encontraron una mayor concentración de AGV totales en borregos alimentados con paja de arroz suplementada con paja de leguminosas (30 %) con respecto a la dieta testigo, lo cual tal vez se debió al mayor consumo de materia orgánica digestible de los animales suplementados. Asimismo, se detectó con respecto a la concentración proporcional, que la dieta suplementada con paja de alfalfa presentaba diferencias en C₂ y C₄~iso con respecto a la dieta testigo (65.0 vs. 72.8 % y 2.8 vs. 1.4 %, respectivamente), reflejándose la relación inversa con el C₃ (27.4 vs. 21.2 %). Lo anterior, pudo deberse al mayor consumo de proteína y a la naturaleza de la misma. Cuando toros Cebú fueron alimentados tanto con paja de arroz como con paja de arroz suplementada con 30 % de leucaena (Moran *et al.*, 1983), no se encontró diferencia en la concentración total de AGV (80.1 vs. 80.5 mM); sin embargo, en la concentración individual se detectó una mayor producción de C₂ (65.7 vs. 74.5 %), y menores de C₃ (21.3 vs. 15.7 %) y de C₄ (8.3 vs. 5.8 %) en las dietas suplementadas. Por otra parte, Zorrilla-Rios *et al.* (1991) al ofrecer paja de trigo con y sin tratamiento con amoníaco y suplementada con grano de maíz (32 g / Kg.

PM) no encontraron diferencias en la concentración total de AGV (67.1 mM), pero en relación a la concentración de cada ácido en particular se encontró un mayor contenido de C₂ (68.0 vs. 71.8 %) y menor de C₃ (19.3 vs. 17.3 %) para la paja tratada; sin embargo, cuando la cantidad de grano de maíz se redujo a 16 g / Kg. PM y se adicionó además una fuente de proteína sobrepasante como el gluten de maíz (6 g / Kg. PM), se detectaron diferencias favorables en la concentración total de AGV (81.1 vs. 101.6 mM) y en la proporción de C₂ (68.1 vs. 74.8 %) para la dieta con material tratado con amoníaco.

En lo general, un comportamiento similar en cuanto a las concentración individual de los AGV ha sido reportados por Ndlovu y Buchanan-Smith (1985 y 1987), Manyuchi *et al.* (1992), Fondevila *et al.* (1993), Hernández (1993) y Oosting y Waanders (1993) para dietas basales de paja.

CONCLUSIONES

Los resultados encontrados sugieren que la adición de heno de alfalfa a una dieta basal de paja de trigo mejoran las condiciones ruminales, notándose que la mayor concentración de C₄~iso favorece un mejor crecimiento de los microorganismos del rumen, lo cual debe de incidir en una mayor digestión de la fibra.

REFERENCIAS

- Akin, D. E. (1986). "Chemical and biological structure in plants as related to microbial degradation of forage cell walls ". En: Milligan, L. P. (ed.), *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Grovum, W. L. y Dobson, A. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. 139-157.
- Akin, D. E. (1989). "Histological and physical factors affecting digestibility of forages". *Agric. J.*, 81, 17-25.
- Bonhomme, A. (1990). "Rumen ciliates: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 30, 203-266.
- Bourquin, L. D., K. A. Garleb, N. R. Merchen, y G. C. Fahey Jr. 1990. "Effects of intake and forage level on site and extent of digestion of plant cell wall monomeric components by sheep". *J. Anim. Sci.*, 68, 2479-2495.
- Cheng, K. J., C. W. Forsberg, H. Minato, y J. W. Costerton. (1991). "Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen". En: Tsuda, T., Sasaki, Y. y Kawashima, R. (ed.) Academic Press, Toronto, ON. 595-624.
- Dixon, R. M. y A. R. Egan. (1988). "Strategies for optimizing use of fibrous crop residues as animal

- feeds". En: Dixon R.M (ed.) *Ruminant Feeding Systems Utilizing Fibrous Agricultural Residues*. 11-26.
- Doyle, P. T. (1989). "Supplementation of rice straw with dry Leucaena". *Austr. J. Agric. (ed.). Sci., Camb.*, 111, 381-394.
- Fondevila, M., C. Castrillo, J. Gasa y J. A. Guada. (1993). "Effect of ammonia treatment of barley straw on the dynamics of its degradation in the rumen". *Anim. Prod.*, 57, 407-413.
- Galyean, M. (1997). "Techniques and Procedures in Animal Nutrition Research". Texas Tech University.
- Gijzen, H. J., H. J. Lubberding, M. J. T. Gerdardus, y G. D. Vogels. (1988). "Contribution of rumen protozoa to fiber degradation and cellulase activity *in vitro*". *FEMS Microbiol. Lett.*, 55, 3039-3045.
- Gobierno de Chihuahua. (2004). "Campo – Sector Pecuario". Accesado Diciembre 1, 2004. Disponible en: <http://www.chihuahua.gob.mx>
- Hernández, C. H. E. (1993). "Efectos fisiológicos de la suplementación de heno de alfalfa a novillos en una dieta basal de paja de avena". *Disertación Doctoral*. Facultad de Zootecnia, UACH. Chihuahua, México.
- Hutjens, M. F. (1992). "Selecting feed additives". En: *Large Dairy Herd Management*. (ed.) Van Horn, H. H. y Wilcox, C. J. *Am. Dairy Sci. Assoc.* Savoy, IL. 309-317.
- Kudo, H., K. D. Jakober, R. C. Phillippe, y K. J. Cheng. (1990). "Isolation and characterization of cellulolytic anaerobic fungi and associated mycoplasmas from the rumen of a steer fed a roughage diet". *Can. J. Microbiol.*, 36, 513-517.
- Manyuchi, B., E. R. Ørskov y R. N. Kay. (1992). "Effect of feeding small amounts of ammonia treated straw on degradation rate and intake of untreated straw". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 38, 293.
- McMeniman, N. P., R. Elliot y A. J. Ash. (1988). "Supplementation of rice straw with crop-by products. I. Legume straw supplementation". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 19, 43.
- Montgomery, D. C. (1991). "Diseño y Análisis de Experimentos". Grupo Editorial Iberoamericana. (ed.) México, D. F.
- Moran, J., K. B. Satoto y J. E. Dawson. (1983). "The utilization of rice straw fed to Zebu cattle and swamp buffalo as influenced by alkali treatment and leucaena supplementation". *Aust. J. Agric. Res.*, 34, 73-84.
- Municipio de Juárez. 2005. "Mi ciudad – Características fisiográficas". Accesado Abril 1, 2005. Disponible En: <http://www.juarez.gob.mx>
- Ndlovu, L. R. y J. G. Buchanan-Smith. (1985). "Utilization of poor quality roughages by sheep: Effects of alfalfa supplementation on ruminal parameters, fiber digestion and rate of passage from the rumen". *Can. J. Anim. Sci.*, 65, 693-703.
- Ndlovu, L. R. y J. G. Buchanan-Smith. (1987). "Alfalfa supplementation of corn cob diets for sheep: Comparison with higher volatile fatty acids, soybean protein and alfalfa fiber on intake, environment and digestion in the rumen and digesta passage". *Can. J. Anim. Sci.*, 67, 1083-1091.
- Oosting, S. J. y A. Waanders. (1993). "The effect of rumen ammonia nitrogen concentration on intake and digestion of wheat straw by goats". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 43- 31.
- Orpin, C. G. y K. N. Joblin. (1988). "The rumen anaerobic fungi". En: *The Rumen Microbial Ecosystem*. (ed.) Hobson, P. N. Elsevier Applied Science Publishers, London, U.K. 129-150.
- Owens, F. N. y A. L. Goetsch. (1988). "Ruminal fermentation". En: *The Ruminant Animal. Digestive Physiology and Nutrition*. (ed.) Church, D. C. Prentice Hall, Englewood Cliff, N. J. 145-171.
- Preston, T. R. y Leng R. A. (1989). "Ajustando los Sistemas de Producción Pecuaria a los Recursos Disponibles: Aspectos Básicos y Aplicados del Nuevo Enfoque sobre la Nutrición de Rumiantes en los Trópicos". Circulo Impresoras Ltda. CONDRIT. Cali, Colombia.
- Robinson, P. H. (1989). "Dynamic aspects of feeding management for dairy cows". *J. Dairy Sci.*, 72, 1197-1209.
- Russell, J. B., J. D. O'Connor, D. J. Fox, P. J. Van Soest, y C. J. Sniffen. (1992). "A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation". *J. Anim. Sci.*, 70, 3551-3561.
- Russell, J. B., y J. H. Strobel. 1989. "Effect of ionophores on ruminal fermentation". *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1-6.
- SAS. (Statistical Analysis System). (1985). En: *Statistical Analysis System Institute* (ed.). Version 5.0. Cary, North Carolina. U. S. A.
- Silva, A. T. y E. R. Ørskov. (1988).a "Fibre degradation in the rumen of animals receiving hay, untreated or

- ammonia-treated straw". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 19, 277.
- Silva, A. T. y E. R. Ørskov. (1988)b. "The effect of five different supplements on the degradation of straw in sheep given untreated barley straw". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 19, 289.
- Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, P. J. Van Soest, D. G. Fox, y J. B. Russell. (1992). "A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability". *J. Anim. Sci.*, 70, 3562-3577.
- Sniffen, C. J., y P. H. Robinson. (1987). "Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations". *J. Dairy Sci.*, 70, 425-441.
- Supelco, Inc. (1975). "GC separation of VFA C₂-C₅". En: Bukk (ed.). Bellefonte, PA. Pp. 749.
- Wallace, R. J. (1994). "Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems". *J. Anim. Sci.*, 72, 2992-3003.
- Yang, C. J. M., y G. A. Varga. (1993). "The effects of continuous ruminal dosing with dioctyl sodium sulphosuccinate on ruminal and metabolic characteristics of lactating cows". *Br. J. Nutr.*, 69, 397-408.
- Zorrilla-Ríos, J., F. M. Owens, G. W. Horn y R. W. McNew. (1985). "Effect of ammoniation of wheat straw on performance and digestion kinetics in cattle". *J. Anim. Sci.*, 60, 814-821.
- Zorrilla-Ríos, J., G. W. Horn y R. W. McNew. (1989). "Effect of ammoniation and energy supplementation on the utilization of wheat straw by sheep". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 22, 305.
- Zorrilla-Ríos, J., G. W. Horn y R. W. McNew. (1991). "Nutritive value of ammoniated wheat straw fed to cattle". *J. Anim. Sci.*, 69, 283-294.

Efecto de la especie animal (bovinos y ovinos) sobre el consumo voluntario de paja y de materia seca en una dieta basal de paja de trigo suplementada con alfalfa

Héctor González García¹, Ezequiel Rubio Tabarez¹, Aracely Orozco Erives¹, Adolfo Pérez Marquez² y Hugo Enrique Hernández Contreras³.

¹ Departamento de Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Pronaf y Estocolmo s/n,

² Universidad Autónoma de Baja California.

³ Universidad Autónoma de Baja California Sur.

RESUMEN

Los experimentos que incluyen la digestión de los alimentos son muy útiles debido a la cantidad considerable de material indigestible que no es aprovechado en la utilización de nutrientes por los rumiantes. La mayoría de los estudios de digestibilidad llevados a cabo para los alimentos utilizados en la alimentación de rumiantes han sido evaluados con ovinos, debido a que éstos son más fáciles de manejar y las cantidades de alimento y excreta involucradas en las pruebas son más pequeñas con respecto a los bovinos. Dichos trabajos asumen que los bovinos y los ovinos son iguales en su capacidad digestiva, y que en ambas especies las variaciones en el consumo y en el tipo de dieta producen cambios similares en la digestibilidad de la energía y en la de otras fracciones alimenticias. Diversos estudios llevados a cabo para comparar la digestibilidad de alimentos en ovinos y bovinos están confusos, debido a que no se les ofrece el mismo tipo de dieta o el mismo nivel de alimentación para ambas especies. Las diferentes formas de expresión del consumo ($\text{kg} / \text{PV}^{1.0}$, $\text{kg} / \text{PV}^{0.9}$ y $\text{kg} / \text{PV}^{0.75}$; PV = Peso vivo) han complicado la interpretación de los datos publicados.

INTRODUCCIÓN

La medición de la digestibilidad se ha usado ampliamente como un índice básico para la estimación del valor nutricional de los alimentos (Mertens y Ely, 1982). Por razones económicas, la colección de datos utilizando borregos ha sido la base de tales procedimientos de evaluación en muchos experimentos. El uso de borregos como un modelo experimental para rumiantes asume que las variaciones en el consumo y en el tipo de la dieta producen cambios similares en la cinética digestiva de bovinos y ovinos. La suposición de que estas especies no difieren desde un punto de vista nutricional se ha basado en trabajos desarrollados con animales alimentados con dietas altas en forrajes (Südekum *et al.*, 1995). Con respecto a dichos estudios comparativos, Colucci *et al.* (1989) desarrollaron una revisión crítica de los datos disponibles de estos estudios, mostrando que pocos experimentos fueron llevados a cabo bajo condiciones similares (dieta, unidades de expresión del consumo, y medio ambiente) para ambas especies, haciendo un cuestionamiento general de los mismos. De éste se desprende el hecho de que varios autores están de acuerdo con la igualdad en la capacidad

digestiva de borregos y bovinos, pero en algunos de estos experimentos se detectaron algunas anomalías: entre ellas, el hecho que los animales no recibieron exactamente la misma dieta (Moir, 1972), mientras que en otros experimentos el nivel de consumo no fue el mismo para ambas especies (Arman y Hopcraft, 1975), o utilizaron animales en pastoreo (Forbes y Garrigus, 1950), o bien determinaron promedios de digestión de alimentos evaluados en diferentes instituciones (Playne, 1978). Otros autores (Vander Noot *et al.*, 1965; Arman y Hopcraft, 1975) trabajaron con diferentes tipos de alimentos y compararon la capacidad digestiva con el promedio de todos los alimentos. La magnitud y la dirección de las diferencias entre las especies han sido asociadas con las características de los alimentos y de los nutrientes involucrados (Schneider y Flatt, 1975).

Otro aspecto que ha causado confusión, es el hecho de que la interpretación de los resultados publicados sobre la capacidad digestiva al comparar las dos especies, es complicada por las diferentes maneras de expresar el consumo. Las unidades para expresar el consumo como peso metabólico (PM; $\text{PM} = \text{Peso Vivo} [\text{PV}]^{0.75}$) se utiliza desde 1965 (Kleiber, 1965); no obstante, Graham (1972) y posteriormente Poppi *et al.* (1981) demostraron que el PM expresado como $\text{kg} / \text{PV}^{1.0}$ y $\text{kg} / \text{PV}^{0.75}$ no son unidades válidas del tamaño del PM en las comparaciones entre bovinos y ovinos, recomendando

¹ Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Col. Progresista, Ciudad Juárez, Chihuahua, México. C. P. 32300. hgonzale@uacj.mx

por ello el uso de la unidad de $\text{kg} / \text{PV}^{0.9}$. Por otra parte, propusieron como una unidad estándar para ganado en general, que entre especies animales se debe evaluar el consumo en base a $\text{PV}^{0.9}$, sin embargo, Clemens y Maloiy (1983) manifestaron que debido a que la capacidad digestiva es una función de $\text{PV}^{1.0}$, el uso de una expresión directa ($\text{PV}^{1.0}$) es más lógico cuando se comparan los consumos entre especies de rumiantes.

Los resultados de un análisis estadístico detallado de varios experimentos que involucraron 27 especies forrajeras predominantemente de clima templado, (Cipolloni *et al.*, 1951) indicaron que los bovinos tuvieron una tendencia a digerir estos forrajes aproximadamente un 3 % más efectivamente que los ovinos, pero estos últimos tendieron a digerir mejor los concentrados en comparación a los bovinos. En tanto que Mertens y Ely (1982) demostraron que los ovinos presentaron un mayor coeficiente de digestión que los bovinos cuando la digestibilidad aparente de la materia seca (MS) fue mayor de 66%, sucediendo lo contrario cuando la digestibilidad fue menor a dicho valor. La mejor digestión que presentan los bovinos es probablemente debida parcialmente a un mayor tiempo de retención de los alimentos de baja calidad en el rumen, comparadas con los borregos (Poppi *et al.*, 1981), o por un mejor reciclamiento de minerales por vía de la saliva, resultando en una actividad microbial más eficiente (Playne, 1978). Si el tiempo de retención de la ingesta es el responsable de las diferencias en la digestibilidad de la MS (DMS) entre bovinos y ovinos, se puede esperar, basado en los datos de Prigge *et al.* (1984), que el nivel de consumo y la calidad del forraje podría también influir en el grado de las diferencias en la DMS entre especies.

La cantidad de alimento consumido es probablemente la variable más importante asociada con el tiempo de retención de la ingesta en el tubo gastrointestinal (TGI) de los rumiantes. Los cambios en el tiempo de retención con variación en el consumo se han demostrado en casi todos los experimentos en los cuales se han estudiado estos dos parámetros (Warner, 1981). Esta asociación es de esperarse, debido a que en los rumiantes un aumento en la cantidad de alimento que entra al TGI está asociado con una expansión del órgano o con una mayor tasa de desaparición (a través de la digestión o del pasaje); ambos fenómenos tal vez operan al mismo tiempo. La magnitud de la respuesta de estos dos mecanismos depende comúnmente de la composición física y química de la dieta (densidad, tamaño de partícula, pared celular, almidón y concentración de proteína). Colucci *et al.* (1982) detectaron que las variaciones en el consumo causan mayores cambios en el tiempo de retención en una dieta alta en concentrado que en una alta en forraje. Un aumento en el nivel de consumo ocasiona un incremento en la tasa de pasaje del marcador de las partículas sólidas a través del TGI de bovinos (Colucci *et al.*, 1982; Colucci *et al.*, 1990) y de ovinos (Grovmum y Williams, 1977; Colucci *et al.*, 1990).

Debido a lo expresado anteriormente, el objetivo del presente trabajo fue el de evaluar el efecto de la especie animal sobre la unidad de expresión del consumo de la MS de la paja de trigo y de la MS de la dieta total en bovinos y ovinos alimentados con una dieta basal de paja de trigo suplementada con heno de alfalfa en varios niveles (0, 8, 16 y 24 %).

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Localización del área de estudio

La prueba experimental se desarrolló en la Unidad de Digestión y Metabolismo del Departamento de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, en Juárez, Chihuahua, México. Ésta se encuentra a una altitud de 1,135msnm, con una precipitación media anual de 230mm, una temperatura media anual de 16.5 °C y una oscilación térmica de 14.5 °C (Municipio de Juárez, 2005).

b) Características de la población

Se utilizaron cuatro novillos cruzados, con un peso promedio inicial de 200kg y una edad de 12 meses, provistos con una cánula ruminal permanente de 6.5cm de diámetro. Asimismo, se utilizaron cuatro borregos cruzados con un peso promedio inicial de 40kg y una edad de 18 meses, con cánulas ruminales similares a las descritas.

c) Tratamientos

Los tratamientos (dietas) fueron: a) testigo, consistente en una dieta basal de paja de trigo (PT), b) PT suplementada con 8% de heno de alfalfa (A), c) PT suplementada con 16% de A, y d) PT suplementada con 24% de A.

d) Manejo ó procedimientos generales

Cada período experimental consistió de 10 días de adaptación y 12 días de muestreo. Antes del inicio de la fase de adaptación del primer período de muestreo, los animales se dosificaron con vitaminas A, D y E y se desparasitaron interna y externamente. Los novillos se alojaron en corraletas metabólicas individuales con piso de concreto y una superficie de 6.2m²; en tanto que los borregos se alojaron en corraletas metabólicas individuales con piso de concreto y una superficie de 1.8m². La dieta basal de paja de trigo se ofreció diariamente *ad libitum*, a una tasa de un 20% más del consumo del día previo. Los animales se suplementaron a las 08:00 y 1700 horas. La PT y la A se molieron en un molino de martillos ¹ con una criba de 2.54cm. A las dietas se les adicionó como fuente de energía fácilmente degradable maíz rolo, proporcionando una cantidad de 1.0 y 0.12kg d⁻¹ para novillos y borregos, respectivamente. Todas las dietas se

¹ Marca Azteca.

hicieron isoprotéicas mediante la inclusión de urea (46% N); asimismo, se adicionó sulfato de amonio para proporcionar una relación de nitrógeno: azufre de 10 : 1. Los animales tuvieron libre acceso a un bloque mineral, y el agua estuvo disponible a toda hora del día.

e) Consumo voluntario

El consumo se obtuvo en base a la diferencia entre el peso de la MS del alimento ofrecido menos el peso de la MS del alimento rechazado (Galyean, 1997). La determinación de la MS de estos se llevó a cabo mediante la técnica descrita por el AOAC (1990).

f) Pesaje de los animales

En todos los períodos se registró el peso de los animales al inicio y al final de cada tiempo para poder determinar el peso metabólico. El pesaje se llevó a cabo con animales dietados. Los novillos se pesaron en una báscula con capacidad de 1,000kg y una media mínima de 1kg, en tanto que los borregos se pesaron en una báscula con capacidad de 180kg y una media mínima de 225g.

g) Parámetros estimados

Las variables por evaluar en ambas especies fueron: el consumo de la MS de la paja y el consumo de la MS de la dieta total, los cambios en peso vivo para expresar las unidades de consumo, así como la MS de los alimentos.

h) Procedimientos estadísticos

El análisis de la información se llevó a cabo con un modelo para un diseño experimental de cuadro latino 4 X 4 repetido (Montgomery, 1991), desglosándose en cuatro tratamientos, cuatro períodos, una repetición para bovinos y una repetición para borregos:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + P_j + A_k(i) + T_l + (R*T)_{il} + E_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijk} = Observación experimental

μ = Media general

R_i = Efecto de la i-ésima repetición (i = 1, 2)

P_j = Efecto del j-ésimo período (j = 1,..4)

$A_k(i)$ = Efecto del k-ésimo animal anidado en repetición (k = 1,..8)

T_l = Efecto del l-ésimo tratamiento (l = 1,..4)

$(R*T)_{il}$ = Efecto de la interacción repetición por tratamiento

E_{ijkl} = Error experimental

La comparación entre medias de tratamientos se hizo mediante la prueba de Tukey (Montgomery, 1991). Para efectuar la mayoría de los análisis estadísticos se utilizó el programa SAS (1985), a través del procedimiento de modelos lineales generales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los Cuadros 1 y 2 se presentan los promedios del consumo voluntario de la dieta basal (PT) por especie animal y por tratamiento, respectivamente, expresados en diversas unidades. En lo que respecta a la especie animal, se puede observar que cuando el consumo de la paja está expresado como g/kg de PV^{1.0} o en g/kg de PV^{0.9}, los borregos presentaron un mayor consumo (P<0.05) con respecto a los novillos; sin embargo, cuando esta variable se expresó como g/kg de PV^{0.75}, el mayor consumo (P<0.05) fue para los novillos.

CUADRO 1. Promedios del consumo de materia seca de la paja de trigo por especie animal.

| Concepto | Especie ¹ | | | eem ² |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------|--|------------------|
| | Novillos | Borregos | | |
| Consumo de paja: | | | | |
| En g/kg PV ^{1.0} | 12.92 ± 0.16 ^a | 17.08 ± 0.23 ^b | | 0.17 |
| En g/kg PV ^{0.75} | 48.77 ± 0.6 ^a | 42.6 ± 0.54 ^b | | 0.43 |
| En g/kg PV ^{0.9} | 21.98 ± 0.27 ^a | 24.61 ± 0.32 ^b | | 0.22 |

¹/ Media ± Error estándar.

²/ Error estándar de la diferencia de medias.

ab/ Las medias dentro de las hileras con diferente literal, son diferentes (P < 0.05).

En lo referente al consumo por tratamiento, no se detectaron diferencias (P>0.05) en el consumo de la MS de la PT; no obstante, se aprecia una tendencia a mejorar dicho consumo en los dos primeros niveles de suplementación.

CUADRO 2. Promedios del consumo de la materia seca de la paja de trigo por tratamiento.

| Concepto | Tratamientos ¹ | | | | eem ² |
|----------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------|
| | PT ¹ | PT+A (8%) | PT+A(16%) | PT+A(24%) | |
| Consumo de paja: | | | | | |
| En g/kg PV ^{1.0} | 14.66±0.4 ^a | 15.15±0.3 ^a | 15.48±0.3 ^a | 14.82±0.3 ^a | 0.17 |
| En g/kg PV ^{0.75} | 44.97±1.2 ^a | 46.12±0.8 ^a | 46.77±0.7 ^a | 44.69±0.7 ^a | 0.43 |
| En g/kg PV ^{0.9} | 22.84±0.5 ^a | 23.52±0.4 ^a | 23.98±0.4 ^a | 22.93±0.4 ^a | 0.26 |

PT = Paja de trigo; A = Alfalfa.

¹/ Media ± Error estándar.

²/ Error estándar de la diferencia de medias.

ab/ Las medias dentro de las hileras con diferente literal, son diferentes (P < .05).

El consumo de la MS de la dieta total por especie y por tratamiento se plasma en los Cuadros 3 y 4, respectivamente. Cuando el consumo de la MS de la paja estuvo expresado como g/kg de PV^{1.0} o en g/kg de PV^{0.9}, los borregos presentaron un mayor (P<0.05) consumo con respecto a los novillos, pero cuando esta variable se expresó en g/kg de PV^{0.75}, el mayor consumo (P<0.05) fue para los novillos.

CUADRO 3. Promedios del consumo de la materia seca total por especie animal.

| Concepto | Especie ¹ | | | eem ² |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------|--|------------------|
| | Novillos | Borregos | | |
| Consumo de la MS total: | | | | |
| En g/kg PV ^{1.0} | 19.14±0.19 ^a | 24.41±0.29 ^b | | 0.22 |
| En g/kg PV ^{0.75} | 72.22±0.68 ^a | 60.84±0.66 ^b | | 0.55 |
| En g/kg PV ^{0.9} | 32.55±0.31 ^a | 35.17±0.4 ^b | | 0.26 |

¹/ Media ± Error estándar.

²/ Error estándar de la diferencia de medias.

ab/ Las medias dentro de las hileras con diferente literal, son diferentes (P < 0.05).

Con respecto al consumo de la MS de la dieta total por tratamiento, se encontró una tendencia lineal (P<0.05) de aumentar el consumo conforme el nivel de alfalfa se elevó. Las unidades en que se expresa el consumo generan confusión cuando se llevan a cabo comparaciones entre especies.

CUADRO 4. Promedios del consumo de la materia seca total de la paja de trigo por tratamiento.

| Concepto | Tratamientos ¹ | | | | eem ² |
|----------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------|
| | PT ¹ | PT+A (8%) | PT+A(16%) | PT+A(24%) | |
| Consumo de paja: | | | | | |
| En g/kg PV ^{1.0} | 19.43±0.4 ^a | 21.23±0.4 ^b | 23.02±0.4 ^c | 23.61±0.5 ^c | 0.22 |
| En g/kg PV ^{0.75} | 59.65±1.2 ^a | 64.85±0.9 ^b | 69.84±0.9 ^c | 71.52±0.9 ^c | 0.55 |
| En g/kg PV ^{0.9} | 30.3±0.5 ^a | 33±0.4 ^b | 35.69±0.4 ^c | 36.6±0.5 ^c | 0.26 |

PT = Paja de trigo; A = Alfalfa.

¹/ Media ± Error estándar.

²/ Error estándar de la diferencia de medias.

abc/ Las medias dentro de las hileras con diferente literal, son diferentes (P < 0.05).

En novillos alimentados con dietas básicas de pajas suplementadas con forrajes o cuando las pajas han sido

amonificadas (NH₃), se han obtenido resultados más altos que los encontrados en este trabajo en cuanto al consumo de la dieta basal, tales como los reportados por Hernández (1993) en novillos de 17 meses (230kg) consumiendo paja de avena y paja suplementada con 20 % de heno de alfalfa (57.35 y 62.26 g/kg PM), y por Moran *et al.* (1983) en toros Cebú (225kg) alimentados con paja de arroz suplementada con 30 % de leucaena (65.5 g/kg PM), mientras que Mira *et al.* (1983) reportan consumos más similares en novillos de 325kg (58.1 y 48.4 g/kg PM) alimentados con paja de cebada tratada con NH₃ y con urea, respectivamente.

En el caso de ovinos, Mosi y Butterworth (1985a) alimentaron borregos adultos (25kg) con paja de avena y con paja suplementada con 24% de heno de trébol, encontrando consumos de la dieta basal de 59.7 y de 51 g/kg PM, respectivamente, mientras que cuando se cambió el material basal por rastrojo de maíz, el consumo de éste fue mucho menor (44.2 y de 31.9 g/kg PM), reportando resultados similares al utilizar paja de trigo. Asimismo, el consumo es comparable a los resultados de Ndlovu y Buchanan-Smith (1987b), quienes alimentaron borregos de 6 meses de edad (30kg) con una dieta basal de olote de maíz (más 3% de urea) y con una dieta basal suplementada con 30% de alfalfa, obteniendo un consumo del olote de 48.3 vs 39.8 g/kg PM, respectivamente. No obstante, algunos autores han reportado en borregos consumos menores de la dieta basal a los encontrados en este experimento, tales como McMeniman *et al.* (1988) en paja de arroz, Bird *et al.* (1994) en paja de trigo y Manyuchi *et al.* (1992) con paja de cebada. Con respecto al consumo de la MS de la dieta total, han sido encontrados resultados similares por Mosi y Butterworth (1985a, b), Ndlovu y Buchanan-Smith (1985, 1987a), Manyuchi *et al.* (1992), Mgheni (1993) y Bird *et al.* (1994). No obstante, Doyle *et al.* (1989) señalaron que los suplementos a base de forrajes pueden o no incrementar el consumo de la MS total, y esto puede depender del nivel de suplementación, de las características de la paja base y del suplemento.

CONCLUSIONES

La base de PM para expresión de consumo, en la que aparentemente siempre consumen más los bovinos, debe de ser utilizada para comparaciones dentro de la misma especie. Cuando el consumo es expresado en PV^{0.9}, parece ser que se disminuyen las diferencias entre bovinos y ovinos. Los resultados obtenidos en otro experimento por los autores al evaluar la cinética de sólidos en las dietas y especies descritas, demostraron un pasaje más lento de la ingesta en los novillos, lo cual esta acorde con un mayor consumo de la MS total encontrada en los borregos cuando el consumo se expresó en proporción de PV^{0.9} y de PV^{1.0}. La suplementación con alfalfa favorece un mayor consumo de MS de la dieta total, y sostiene un consumo constante de la dieta basal (paja) en ambas especies.

REFERENCIAS

- AOAC. (1990). "Official Methods of Analysis". 15 th. Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA.
- Arman, P. y D. Hopcraft. (1975). "Digestibilities of dry matter, crude fiber and crude protein in antelope, cattle and sheep". I. Brit. J. Nutr (ed.). *Nutritional studies on East African herbivores*, 33, 255.
- Bird, S. H., B. Romulo y R. A. Leng. (1994). "Effects of lucerne supplementation and defaunation on feed intake, digestibility, N retention and productivity of sheep fed straw based diets". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 45, 119.
- Cipolloni, M. A., B. H. Schneider, H. L. Lucas y H. M. Pavlech. (1951). "Significance of the differences in digestibility of feeds by cattle and sheep". *J. Anim. Sci.*, 10, 337.
- Clemens, E. T. y G. M. O. Maloiy. (1983). "Digestive physiology of East African wild ruminants". *Comp. Biochem. Physiol.*, 76A, 319.
- Colucci, P. E., G. K. MacLeod, W. L. Grovum, I. McMillan y D. J. Barney. (1990). "Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes". *J. Dairy Sci.*, 73, 2143.
- Colucci, P. E., G. K. MacLeod, W. L. Grovum, L. W. Cahill y I. McMillan. (1989). "Comparative digestion in sheep and cattle fed different forage to concentrate ratios at high and low intakes". *J. Dairy Sci.*, 72, 1774.
- Colucci, P. E., L. E. Chase y P. J. Van Soest. (1982). "Feed intake, apparent diet digestibility, and rate of particulate passage in dairy cattle". *J. Dairy Sci.*, 65, 1445.
- Doyle, P. T. (1989). "Supplementation of rice straw with dry Leucaena". *Austr. J. Agric. Sci., Camb.*, 111,503.
- Forbes, R. M. y W. P. Garrigus. (1950). "Some effects of forage composition on its nutritive value when cut and fed green to steers and wethers, as determined conventionally and by the lignin ratio". *J. Anim. Sci.*, 9, 531.
- Galyean, M. (1997). "Techniques and Procedures in Animal Nutrition Research". Texas Tech University.
- Graham, N. McC. (1972). "Units of metabolic body size for comparisons amongst adult sheep and cattle". *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 9, 352.
- Grovum, W. L. y V. J. Williams. (1977). Rate of passage of digesta in sheep. 6. "The effect of level of food intake on mathematical predictions of the kinetics of digesta in the reticulorumen and intestines". *Brit. J. Nutr.*, 38, 425.
- Hernández, C. H. E. (1993). "Efectos fisiológicos de la suplementación de heno de alfalfa a novillos en una dieta basal de paja de avena". *Disertación Doctoral*. Facultad de Zootecnia, UACH, Chihuahua, México.
- Kleiber, M. (1965). "Metabolic body size". En: *Energy Metabolism*. (ed.) K. L. Blaxter. Europ. Assoc. *Anim. Prod. Publ.* No. II. Academic Press, New York. Pp. 427-435.
- Manyuchi, B., E. R. Ørskov y R. N. Kay. (1992). "Effect of feeding small amounts of ammonia treated straw on degradation rate and intake of untreated straw". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 38, 293.
- McMeniman, N. P., R. Elliot y A. J. Ash. (1988). "Supplementation of rice straw with crop-by products. I. Legume straw supplementation". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 19, 43.
- Mertens, D. R., y L. O. Ely. (1982). "Relationship of rate and extent of digestión to forage utilization – dynamic model evaluation". *J. Anim. Sci.*, 54, 895.
- Mgheni, D. M., A. E. Kimambo, F. Sundstøl y J. Madsen. (1993). "Influence of urea treatment or supplementation on degradation, intake and growth performance of goats fed rice straw diets". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 44, 209.
- Minson, D. J. y P. C. Whiteman. (1989). "A standard livestock unit (SLU) for defining stocking rate in grazing studies". *Int. Grassl. Cong. Proc.* XVI, Nice, France. Pp. 1117.
- Mira, J. J. F., M. Kay y E. A. Hunter. (1983). "Treatment of barley straw with urea or anhydrous ammonia for growing cattle". *Anim. Prod.*, 36, 271.
- Moir, K. W. (1972). "An assessment of the quality of forage from its cell-wall content and amount of cell wall digested". *J. Agric. Sci., Camb.*, 78, 355.
- Montgomery, D. C. (1991). "Diseño y Análisis de Experimentos". Grupo Editorial Iberoamericana. México, D. F.
- Moran, J., K. B. Satoto y J. E. Dawson. (1983). "The utilization of rice straw fed to Zebu cattle and swamp buffalo as influenced by alkali treatment and Leucaena supplementation". *Aust. J. Agric. Res.*, 34,73.

- Mosi, A. K. y M. H. Butterworth. (1985)a. "The voluntary intake and digestibility of diets containing different proportions of Tef (*Eragrostis tef*) straw and *Trifolium tembense* hay when fed to sheep". *Trop. Anim. Prod.*, 10, 19.
- Mosi, A. K., y M. H. Butterworth. (1985)b. "The voluntary intake and digestibility of combinations of cereal crop residues and legume hay for sheep". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 12, 241.
- Municipio de Juárez. (2005). "Mi ciudad – Características fisiográficas". Accesado Abril 1, 2005. Disponible en: <http://www.juarez.gob.mx>
- Ndlovu, L. R. y J. G. Buchanan-Smith. (1985). "Utilization of poor quality roughages by sheep: Effects of alfalfa supplementation on ruminal parameters, fiber digestion and rate of passage from the rumen". *Can. J. Anim. Sci.*, 65, 693.
- Ndlovu, L. R. y J. G. Buchanan-Smith. (1987)a. "Alfalfa supplementation of corn cob diets for sheep: Effect of ruminal or postruminal supply of protein on intake, digestibility, digesta passage and liveweight changes". *Can. J. Anim. Sci.* 67, 1075.
- Ndlovu, L. R. y J. G. Buchanan-Smith. (1987)b. "Alfalfa supplementation of corn cob diets for sheep: Comparison with higher volatile fatty acids, soybean protein and alfalfa fiber on intake, environment and digestion in the rumen and digesta passage". *Can. J. Anim. Sci.*, 67, 1083.
- Playne, M. J. (1978). "Differences between cattle and sheep in their digestion and relative intake of a mature tropical grass hay". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 3, 41.
- Poppi, D. P., D. J. Minson y J. H. Ternouth. (1981). "Studies of cattle and sheep eating leaf and stem fractions of grasses. III. The retention time in the rumen of large feed particles". *Aust. J. Agric. Res.*, 32, 123.
- Prigge, E. C., M. J. Baker y G. A. Varga. (1984). "Comparative digestion, rumen fermentation and kinetics of forage diets by steers and wethers". *J. Anim. Sci.*, 59, 237.
- Reid, R. L., G. A. Jung, J. M. Cox-Gasner, B. F. Rybeck y E. C. Townsend. (1990). "Comparative utilization of warm- and cool-season forages by cattle, sheep and goats". *J. Anim. Sci.*, 68, 2986.
- SAS. (Statistical Analysis System). (1985). *Statistical Analysis System Institute*. Version 5.0. Cary, North Carolina. U. S. A.
- Schneider, B. H. y W. P. Flatt. (1975). "The evaluation of feeds through digestibility experiments". The University of Georgia Press, Athens, U. S. A. Pp. 423.
- Südekum, K. H., H. Röh, M. Brandt, G. Rave, y M. Stangassinger. (1995). "Comparative digestión in cattle and sheep fed wheat silage diets at low and high intakes". *J. Dairy Sci.*, 78, 1498-1511.
- Vander Noot, G. W., R. H. Cordts y R. Hunt. (1965). "Comparative nutrient digestibility of silages by cattle and sheep". *J. Anim. Sci.*, 24, 47.
- Warner, A. C. I. (1981). "Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds". *Ser. B. Nutr. Abstr. Rev.*, 51, 789.

Variabilidad espacial aplicada a fenoles, DBO y DQO en agua residual a lo largo del Distrito de Riego 009

Miguel Palomo Rodríguez¹ y Uriel Figueroa Viramontes¹

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Blvd. José Santos Valdez 1200 Pte., Matamoros, Coahuila Méx., 27440.

RESUMEN

Previo al funcionamiento de las plantas de tratamiento de agua residual Norte y Sur de Ciudad Juárez Chihuahua, fue realizado un estudio en agua residual y residual-mezclada a lo largo del Distrito de Riego 009 (DR-009); el objetivo fue analizar la variabilidad espacial que presenta el comportamiento de fenoles, DBO y DQO. La concentración promedio de fenoles en agua residual cruda fue de 0.056 mg L⁻¹ que equivale al 56 % del LMP para la industria textil. La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO) registran las mayores concentraciones durante septiembre a marzo y decrece su concentración durante primavera y verano. A lo largo del DR-009 se presenta una remoción decreciente en la concentración de fenoles, DBO y DQO. Los valores de semivarianza que corresponden para fenoles y DBO mostraron una relación altamente significativa ($p < 0.01$) con distancia de recorrido que registra el agua residual mezclada a lo largo del DR-009, con un modelo de mejor ajuste del tipo Gaussiano para fenoles y lineal segmentado para DBO. En tanto para DQO el modelo de mejor ajuste fue del tipo lineal segmentado y estadísticamente fue significativo ($p < 0.05$) al asociar los valores de semivarianza con distancia. La distribución espacial de DQO es diferente a fenoles y DBO, por alterar la estructura de dilución en la localidad de Praxedis.

INTRODUCCIÓN

En el Valle de Juárez, Chih. se ha utilizado por varias décadas el mezclado de agua residual cruda con agua de bombeo y agua del Río Bravo, éste último mediante un Tratado Internacional celebrado en 1906 entre México y Estados Unidos de América. El mezclado permite amortiguar o disminuir la carga contaminante de parámetros de diversa naturaleza en el Distrito de Riego 009 (DR 009). El componente de dilución ha sido una estrategia que ha garantizado el saneamiento parcial del agua residual cruda por varias décadas y el éxito de remoción para los diversos contaminantes, radica en la proporción de mezclado y en el volumen de contaminantes incorporados a los sistemas de alcantarillado. Para interpretar el fenómeno de dilución de las variables aleatorias regionalizadas del agua residual, se ha justificado el uso de la geoestadística como herramienta de trabajo, desde el momento en que se presenta una continuidad decreciente en la concentración de diversos parámetros contaminantes hacia el final del DR 009, tal como lo exponen Palomo y Figueroa (2004 y 2005). Al aplicar los conceptos geoestadísticos de Krajewski y Gibbs (1993) a las circunstancias del agua residual-mezclada, se tiene que los parámetros del semivariograma, están conformados por tres elementos importantes; a) la discontinuidad en el

origen o existencia del efecto pepita, b) el valor máximo de variabilidad, o meseta del modelo y c) el área de influencia de la correlación o alcance en distancia dentro del DR-009.

Principio geoestadístico

Los métodos geoestadísticos han registrado una diversa aplicabilidad en el campo minero y más recientemente recibe exitoso uso en las ciencias ambientales, como se describe en los trabajos de Assadian *et al.*, (2003, 1998), Palomo y Figueroa (2004, 2005), además ha recibido aplicación en las ciencias forestales y análisis de fenómenos atmosféricos (Bacchi y Kottegoda, 1995).

El estimador Krigeaje, tiene como objetivo encontrar la mejor estimación posible a partir de la información disponible y en efecto, el valor estimado obtenido $Z^*(x)$ de un valor real y desconocido $Z(x)$, consiste en una combinación lineal de pesos asociados a cada localización donde es muestreado un valor $Z(x_i)$ ($i = 1, \dots, n$) del fenómeno estudiado y donde se observan dos condiciones fundamentales: a) Que el estimador sea insesgado $E[Z^* - Z] = 0$, y b) Que la varianza $\text{Var}[Z^* - Z]$ sea mínima, consiguiéndose de este modo minimizar la varianza del error de la estimación. Un valor medido en cada punto x_i es considerado como una realización $z(x_i)$ de una VA $Z(x_i)$ cuya media es $m(x_i)$. En los puntos x donde no existen valores medidos es desconocida la

¹Campo Experimental La Laguna. palomo.miguel@inifap.gob.mx

propiedad que se estudia, pero están bien definidos y pueden asimismo considerarse variables aleatorias $Z(x)$.

Como el ajuste de los modelos teóricos al semivariograma experimental, se realiza de forma visual o interactiva, variando los valores C_0 (efecto de pepita), $C + C_0$ (meseta) y a (alcance), hasta coincidir con los parámetros que mejor se ajustan, es conveniente validar el modelo seleccionado y los parámetros meseta y alcance escogidos. Al respecto se discute la validación cruzada en Journel y Huijbregts (1978), Bacchi y Kottegoda (1995), Xie y Myers (1995), Kiyono y Suzuki (1996), Host *et al.*, (1995), Carr (1994) y Quintín-Cuador (2005). Se conoce que el semivariograma describe las características de continuidad espacial de la variable regionalizada en una dirección, pero este comportamiento pueden variar según la dirección que se analice, como se discute en Zimmerman (1993), por lo que se exige un análisis del comportamiento de la continuidad en distintas direcciones.

Residuos fenólicos

Un grupo de sustancias químicas de alta toxicidad y que son ampliamente utilizados en la manufactura de productos textiles, pesticidas, fármacos, plásticos, surfactantes y explosivos, son los fenoles, según lo expresado por Rodríguez *et al.*, (1999) y Bertram (1987); la presencia de estas sustancias en aguas de desecho llevan el riesgo de ocasionar intoxicaciones corrosivas por la ingestión de compuestos tales como el ácido carbólico, el creosol, el guayacol y el naftol.

Los fenoles se producen principalmente por la actividad industrial y aparecen en el agua residual resultante, en consecuencia la prueba de fenoles se emplea para definir si un efluente tiene residuos industriales (Jiménez, 2001). Lo indicado por Rodríguez *et al.*, (1999) muestra que la concentración de fenol permitida por la normatividad ambiental mexicana en aguas residuales provenientes de la industria textil es de 0.1-0.2 mg L⁻¹. Este tipo de intoxicación se caracteriza por quemaduras en las membranas mucosas, debilidad, palidez, edema pulmonar, convulsiones e insuficiencia respiratoria, circulatoria y renal y, en raras ocasiones, estenosis esofágica como complicación de las lesiones titulares, según lo expresado por Bertram (1987). Los compuestos fenólicos se caracterizan por la existencia de un anillo bencénico y presentan una amplia variedad de sustituciones químicas; algunos son resistentes a la degradación biológica y son tóxicos en altas concentraciones. Los fenoles son compuestos orgánicos derivados del benceno (C₆H₆) en que uno, dos o tres hidrógenos del núcleo bencénico están sustituidos por radicales -OH. El tipo de intoxicación que ocasionan se caracteriza por quemaduras en las membranas mucosas, debilidad, palidez, edema pulmonar, convulsiones e insuficiencia respiratoria, circulatoria y renal y en raras ocasiones, estenosis esofágica como complicación de las lesiones titulares (Bertram, 1987).

DBO y DQ

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) mide el carbón orgánico (compuestos orgánicos) presente en la muestra, susceptible de biodegradarse. La prueba consiste en poner en contacto la muestra de agua y un inocuo (semilla bacteriana) y medir la cantidad de oxígeno consumido por los microorganismos al oxidar la materia orgánica. La reacción se lleva a cabo en un sistema de lote, cerrado, (botella de DBO) y se supone una cinética de degradación del substrato o materia orgánica de primer orden. Para comprender que es lo que sucede en una botella de DBO, se mide la variación que sufre la concentración del contaminante a degradar (C), a través de contabilizar el oxígeno consumido. Por otro lado la demanda química de oxígeno (DQO), esta basada en una oxidación química en condiciones severas en donde el oxidante utilizado (ión dicromato $\text{C}_2\text{O}_7^{2-}$), para oxidar la materia orgánica. El concepto de remoción de la materia orgánica y señalada por Márquez *et al.*, (1997), es medida como Kg. de DQO m³/d. Esta prueba es capaz de oxidar la mayoría de sustancias orgánicas hasta un nivel entre 95% y 100%, aunque algunas resisten a este tipo de oxidación como son el benceno, el tolueno, y la piridina. En principio el resultado de ambas pruebas deberá ser comparable, puesto que ambas se basan en la cantidad de oxígeno consumido por la oxidación. Sin embargo dada la diferente biodegradación de las sustancias orgánicas, la demanda bioquímica de oxígeno ejercida en la prueba estándar de 5 días, no representa sino una fracción de la cantidad total de materia orgánica presente. De hecho la comparación de estas dos mediciones da una idea de la biodegradación de la materia orgánica en la muestra. Con esta información, se puede afirmar que ambas mediciones son complementarias y no susceptibles una de la otra. Para las aguas residuales industriales biodegradables de mediana y alta concentración en materia orgánica (mayor a 5 g/l DQO), el tratamiento anaerobio ofrece claras ventajas económicas. La superioridad de la tecnología anaerobia en este tipo de aguas residuales se debe a que las cargas orgánicas que pueden tratar los reactores anaerobios fluctúan entre 10 y 20kg DQO/m³ d, mientras que en los aerobios son alrededor de 10 veces menores (Pérez *et al.*, 1997).

El objetivo del estudio fue analizar la variabilidad espacial que presenta el comportamiento de fenoles, DBO y DQO en el agua residual a lo largo del Distrito de Riego del Valle de Juárez, por efecto de dilución.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló previo a la operación de las plantas de tratamiento de agua residual Norte y Sur de Ciudad Juárez. El área de estudio se ubica entre los meridianos 105° 30' y 106° 30' de longitud oeste y los paralelos 30° 56' y 31° 45' de latitud norte; la zona indicada, constituye la porción de margen derecha de la planicie fluvial de inundación formada por el Río

Bravo y se localiza dentro de una fracción de la cuenca media del río, en la unidad fisiográfica de la República Mexicana denominada Altiplanicie Septentrional.

En el estudio fueron colectadas muestras de agua residual cruda en forma mensual y por espacio de un año, en el dren general de Loma Blanca (Km. 17); el agua residual-mezclada fue colectada en el período abril-septiembre que es cuando se lleva a cabo el mezclado de agua residual cruda con agua del Tratado Internacional y agua de bombeo; los sitios de colecta se realizaron en San Isidro (Km. 26), Tres Jacales (Km. 39), Guadalupe (Km. 48), Praxedis (Km. 60) y San José de Paredes (Km. 74). Los procedimientos de colecta, preservación y análisis que corresponden a fenoles, DBO y DQO se llevaron a cabo conforme lo indicado por APHA-AWWA-WPCF (1992).

Variabilidad espacial

Cada fuente de riego y parámetro evaluado, fue analizado mediante estadística descriptiva y por geoestadística se determinó la existencia de una correlación, entre la semivarianza con la distancia de recorrido en los canales de conducción del agua de riego. El método geoestadístico de estimación, tuvo por objeto estudiar y modelar la estructura de un fenómeno aleatorio regionalizado en agua residual mezclada, es decir cuando los datos se encuentran correlacionados en el espacio, tal como lo indican Miyamoto y Cruz (1987), Cámara y Cluis (1991), así como Assadian *et al.*, (1998, 2003). La información fue evaluada mediante kurtosis e índice de asimetría y cuando los coeficientes de kwness excedieron 1.0 fuera del límite de la desviación estándar de la media, los datos fueron transformados a logaritmos naturales para estabilizar la varianza. Esta metodología se basa en calcular la semivarianza, de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2n(h)} \sum_{i=1}^{n(h)} [z(x_i) - z(x_i + h)]^2$$

Donde:

γ : es la semivarianza de n pares de datos (h, z)

h : es la distancia de separación

z : es el valor de la variable estudiada, en los puntos de muestreo x_i

La semivarianza en un modelo geoestadístico tiene dos componentes, que son:

C_0 = componente aleatorio

C = máximo finito, es el punto donde la línea se hace horizontal o asintótica; a = distancia de separación para que la variable alcance $C+C_0$

Los análisis de distribución espacial fueron realizados con el software GSPLUS (GS+) versión 2.11 y desarrollado por Clark (1982).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Agua residual cruda

La concentración promedio de fenoles en agua residual cruda fue de 0.056 mg L^{-1} que equivale al 56 % del LMP, como lo indica Rodríguez (1999). Destacan los meses febrero a mayo, donde se registra la mayor concentración de fenoles, sin rebasar al LMP establecido por la Norma Ambiental Mexicana, comparado con los meses junio a noviembre donde se tienen las menores concentraciones del año (Figura 1). La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO) registran igualmente las mayores concentraciones durante septiembre a marzo y decrece su concentración durante primavera y verano, donde se presenta la menor cantidad de oxígeno necesario para la oxidación de la materia orgánica y que bien pueden estar asociados al mayor uso de agua que se registra en dicha temporada. Esta característica señala el grado de contaminación del agua por la presencia de sustancias orgánicas mensurando la cantidad de oxígeno necesario para su oxidación.

Dilución del agua residual-mezclada

Las variaciones que registran fenoles, DBO y DQO a lo largo del DR-009 son indicadas en el Cuadro 1 donde se indica la concentración promedio y desviación estándar de cada parámetro evaluado; por otro lado el Cuadro 2 permite establecer los porcentajes de remoción que se presentan a lo largo del DR-009, donde destaca un 6% para el km 20 y finaliza en promedio un 83% para San José de Paredes que es la última estación de muestreos y el pronóstico que se tiene para el km 91 es del 95 % que es la distancia límite de aplicabilidad que guardan los modelos. El mezclado de agua residual permite que año con año, se asegure una decreciente concentración de diversos parámetros fisicoquímicos y que se presenta en forma adicional a la remoción ejercida en las plantas de tratamiento que operan hoy día en Ciudad Juárez.

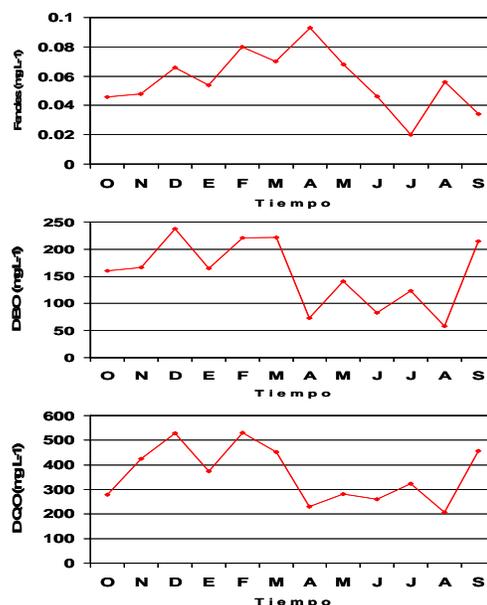


FIGURA 1. Comportamiento de fenoles DBO y DQO en agua residual cruda para Valle de Juárez, Chihuahua a lo largo de un año de estudio

CUADRO 1. Variaciones que registra la concentración promedio y desviación estándar de fenoles, DBO y DQO a lo largo del DR-009 del Valle de Juárez, Chihuahua.

| Localidad | Km. | mg L ⁻¹ | | |
|---------------------|-----|--------------------|---------------|---------------|
| | | Fenoles | DBO | DQO |
| Loma Blanca | 17 | 0.083 ± 0.008 | 155.92 ± 37.6 | 354.86 ± 48.3 |
| San Isidro | 26 | 0.074 ± 0.008 | 98.75 ± 32.6 | 250.50 ± 57.8 |
| Tres Jacales | 39 | 0.062 ± 0.006 | 98.37 ± 34.0 | 276.25 ± 65.5 |
| Guadalupe | 48 | 0.072 ± 0.009 | 80.25 ± 12.6 | 215.00 ± 43.0 |
| Praxedis | 60 | 0.020 ± 0.003 | 27.75 ± 8.8 | 72.55 ± 21.6 |
| San José de Paredes | 74 | 0.020 ± 0.005 | 34.25 ± 0.8 | 115.50 ± 5.1 |

CUADRO 2. Modelos de regresión lineal y modelos de mejor ajuste que corresponden a la concentración de contaminantes del agua residual-mezclada con respecto a distancia.

| Parámetro | % de remoción a lo largo del Distrito de Riego | | | | |
|----------------------------|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | Km 20 | Km 40 | Km 60 | Km 80 | Km 91 † |
| Fenoles | 0.47 | 28.14 | 56.76 | 85.38 | 99.76 |
| DBO | 18.19 | 43.90 | 69.61 | 95.33 | 99.19 |
| DQO | 4.69 | 20.46 | 45.85 | 71.24 | 83.94 |
| <i>% Remoción promedio</i> | <i>7.78</i> | <i>30.83</i> | <i>57.40</i> | <i>83.98</i> | <i>94.29</i> |

Analisis geoestadístico del agua residual mezclada

Las propiedades que presenta cada parámetro evaluado y que ofrecen una variabilidad espacial a lo largo del Valle de Juárez, son indicadas en el Cuadro 3, donde se indican los modelos de mejor ajuste que describen a cada semivariograma. Los valores de semivarianza que corresponden para fenoles y DBO mostraron una relación altamente significativa ($p < 0.01$) con distancia de recorrido que registra el agua residual mezclada a lo largo del DR-009, con un modelo de mejor ajuste del tipo Gaussiano para fenoles y lineal segmentado para DBO. En tanto para DQO el modelo de mejor ajuste fue del tipo lineal segmentado y estadísticamente fue significativo ($p < 0.05$) al asociar los valores de semivarianza con distancia. Esto indica una variabilidad o continuidad decreciente en la concentración de cada variable distribuida en el espacio y que a su vez tienen una estructura particular; la estructura tiene su origen en el efecto de dilución del agua residual. Geoestadística-

mente el modelo Gaussiano ofrece la mejor distancia de aplicabilidad ya que para el caso de fenoles el modelo es vigente hasta un rango (A_0) de 98 km, que cubre la totalidad del DR-009. Las tres variables modeladas presentaron un efecto de pepita (C_0) mayor que cero, lo que indica que la semivarianza y distancia no pueden partir del origen del modelo, debido a la carga fenólica y orgánica incorporada en los sistemas de alcantarillado que parten de Ciudad Juárez (Km. cero).

La distribución espacial de DQO es diferente a fenoles y DBO, por alterar la estructura de dilución en la localidad de Praxedis Gilberto Guerrero, debido tal vez a incorporaciones de agua residual cruda en dicha localidad, aunque pueden formar parte del error aleatorio (C_0). Los variogramas normalizados (Figuras 2), poseen un nivel plano demasiado variable entre los parámetros evaluados, que son alcanzados de rápida a muy lentamente lo que puede estar influenciado por: a) la concentración original del agua residual cruda, b) el volumen de dilución incorporado, c) la remoción resultante y d) la varianza global de muestreo.

CUADRO 3. Modelos ajustados a los semivariogramas de algunas propiedades químicas del agua residual y mezclada.

| Parámetro | Índice de asimetría | Kurtosis | Modelo | C_0 | $C_0 + C$ | A_0 | R^2 |
|-----------|---------------------|----------|-------------------|-------|----------------------|-------|----------|
| Fenoles | 0.103 | 1.831 | Gaussiano | 1.00 | 2111.0 | 98.0 | 0.989 ** |
| DBO | -0.543 | 1.623 | Lineal-segmentado | 1.00 | 2113.0 | 42.40 | 0.940 ** |
| DQO | -0.610 | 1.676 | Lineal-segmentado | 10.00 | 1.24 E ⁻⁴ | 40.00 | 0.645 * |

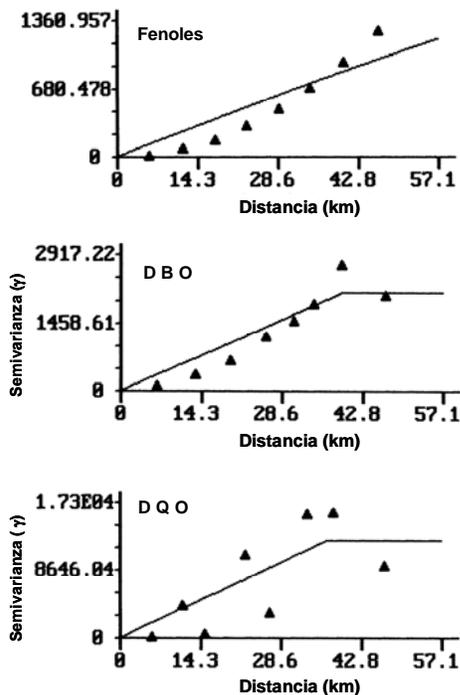


FIGURA 2. Variogramas que corresponden para fenoles, DBO y DQO y que asocian el efecto de dilución del agua residual mezclada a lo largo del Distrito de Riego 009.

CONCLUSIONES

El mezclado de agua residual con agua del Tratado Internacional y agua de bombeo, reduce progresivamente y de manera muy importante la concentración de fenoles, DBO y DQO a lo largo del Valle de Juárez. El efecto de dilución del agua residual y las variaciones en el espacio se asocian geostatísticamente a la distancia que presentan los valores de semivarianza. Los modelos de mejor ajuste corresponden a Gaussiano para fenoles y lineal segmentado para DBO y DQO. Para el caso de fenoles se registra el modelo de mayor alcance de aplicación (A_0) dentro del DR-009.

REFERENCIAS

- APHA-AWWA-WPCF. (1992). *Standard methods for the examination of water and wastewater. 17 Edition*. American Public Health Association, American Water Works Association. Water Pollution Control Federation. USA. 986.
- Assadian, N.W., Ch. Vogel., Z. Sheng, U. Figueroa V. y M. Palomo-Rodríguez. (2003). "Heavy metal distribution in open canals and drains in the upper Rio Grande Basin. Soil and Sediment Contamination.", 12(3), 305-323.
- Assadian, N.W., L.C. Esparza, L. B. Fenn, A.S. Ali, S. Miyamoto, U. Figueroa V., y A.W. Warrick. (1998). "Spatial variability of heavy metals in irrigated alfalfa fields in the upper Rio Grande River basin." *Agricultural Water Management*. 36 . Pp. 141-156.
- Bacchi, B. y N. T. Kottegoda. (1995). *Identification and calibration of spatial correlation patterns of rainfall. Journal of Hydrology* 165, Elsevier Science B.V. Pp. 311-348.
- Bertram, G.K. (1987). *Farmacología básica clínica. 3a edición*. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. México. D. F. 921.
- Camara, D. O. y D. Cluis. (1991). *Spatial variability of some physico-chemical properties in an experimental plot affected by salinity in north-western Mexico*. International Seminar on Efficient Water Use. México. Pp. 312-319.
- Carr, J.R. (1994). "Order relation correction experiments for probability kriging". *Mathematical Geology*. 26(5), 605-621.
- Clark, I. (1982). "Practical geostatistics". Department of mineral resources engineering. Royal school of mines, Imperial College of Science and technology, London UK. En: Applied Science publishers LTD (ed.). London.Pp. 228
- Host, G., H. Omre, y P. Switzer. (1995). "Spatial interpolation error for monitoring data". *Journal of the American Statistical Association*, 90(431), 853-861.
- Jiménez, C. B. E. (2001). "La contaminación ambiental en México". En: Editorial Limusa (ed.) *Causas, efectos y tecnología apropiada*. México., Pp. 132 y 137
- Journel, A. G. y C. J. Huijbregts. (1978). "Mining Geostatistics", Academic Press, New York, 600 p.

- Kiyono, J. y M. Suzuki. (1996). *Conditional simulation of stochastic waves by using kalman filter and kriging techniques*. Eleventh World Conference on Earthquake Engineering, Acapulco, México, June., 8, 23-28.
- Krajewski, S. A. y B. L. Gibbs.. (1993). "A variogram primer." Gibbs Associates Press, USA. Pp.93.
- Márquez, M. J., R. Bautista, G., J. Morgan, S. y A. Loyola R. (1997). "Puesta en marcha de una planta de tratamiento *in situ* de aguas residuales para casas habitación." *Memorias del XI Congreso Nacional FEMISCA*. Zacatecas, México.
- Miyamoto, S. y I. Cruz. (1987). "Spatial variability of soil salinity in furrow irrigated torrifluvents". *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51,1019-1025
- Palomo R. M. y U. Figueroa V. (2004). "Remoción de nutrientes del agua residual cruda por efecto de dilución en el Valle de Juárez, Chih". *Memorias XVI Semana Internacional de Agronomía*. UJED-Durango, México.
- Palomo, R. M., y U. Figueroa V. (2005). "Removal of bacterial and physical/chemical contamination from waste water by dilution". *Proceedings International Conference on Environmental & Human Health*. El Paso, Texas USA.
- Pérez, G. E., J. Rodríguez P. y A. Loyola R. (1997). "Control automático de un reactor anaerobio basado en la relación de alcalinidades." *Memorias XI Congreso Nacional FEMISCA*, Zacatecas, México.
- Quintín-Cuador, G. (2005). "Elementos de geoestadística". Departamento de informática. Universidad del Pinar del Río.Cuba.
- Rodríguez, M.J., G. Sosa S. y G. Garza Y. (1999). "Tratamiento de aguas contaminadas con residuos fenolicos mediante celulas de *C. Freundii* con actividad tirosinfenoliasa". *Memorias XI Congreso Nacional FEMISCA*. Zacatecas, México.
- Xie, T. y D. E. Myers. (1995). "Fitting matrix-valued variogram models by simultaneous diagonalization" (Part II:Application). *Mathematical Geology.*, 27(7),877-888.
- Zimmerman, D.L. (1993). "Another look at anisotropy in geostatistics". *Mathematical Geology.*, 25 (4),453-470.

Variabilidad espacial aplicada a coliformes en agua residual a lo largo del Distrito de Riego 009

Miguel Palomo Rodríguez¹ y Uriel Figueroa Viramontes¹

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental La Laguna, Blvd. José Santos Valdez 1200 Pte., Matamoros Coahuila, 27440 (México).

RESUMEN

Fue determinada la variabilidad espacial de coliformes fecales y coliformes totales en agua residual-mezclada debido al efecto de dilución que guarda el agua residual cruda al mezclarse con agua de bombeo y agua del Tratado Internacional de 1906 entre México y Estados Unidos. El estudio se realizó previo a la operación de las plantas de tratamiento de agua residual Norte y Sur de Ciudad Juárez, Chihuahua. El mezclado del agua residual reduce progresivamente y de manera importante el número más probable (NMP) de coliformes fecales y coliformes totales a lo largo del Distrito de Riego 009 (DR 009). El efecto de dilución del agua residual y las variaciones en el espacio se asocian geoestadísticamente a la distancia, de acuerdo con los valores de semivarianza, con un modelo de ajuste tipo lineal segmentado para ambos parámetros. El mezclado de agua residual permite disminuir los riesgos sanitarios para los operadores del riego en las parcelas de cultivo, sobre todo hacia el final del Distrito de Riego 009.

INTRODUCCIÓN

El uso de aguas residuales en agricultura, es una herramienta valiosa que tienen los países en vías de desarrollo, para hacer frente al reto de incrementar la producción agrícola, a pesar de la escasez del recurso hídrico (Sinton *et al.*, 1999). En el Valle de Juárez, Chih. se ha utilizado por varias décadas el mezclado de agua residual cruda con agua de bombeo y agua del Río Bravo, éste último mediante un Tratado Internacional celebrado en 1906 entre México y Estados Unidos de América (Palomo, 2005). La dilución del agua residual es una estrategia de saneamiento donde la proporción de mezclado es estratégica para amortiguar o disminuir la carga contaminante. Este fenómeno puede ser interpretado mediante diversos mecanismos estadísticos, como la modelación basada en regresión o herramientas como la geoestadística. Para aplicar los conceptos de variabilidad espacial en el agua residual del Valle de Juárez, se justifica el uso de las variables aleatorias regionalizadas, desde el momento en que se presenta una continuidad decreciente en la concentración de los parámetros contaminantes del agua residual-mezclada hacia el final del DR 009 (Palomo y Figueroa, 2004).

El principio de remoción obedece en términos de saneamiento, a propiciar un menor riesgo de contaminación a los recursos del suelo y agua, además de proveer un menor riesgo de contraer enfermedades gastrointestinales a los operadores del riego dentro de las parcelas de cultivo. La aplicación de la teoría de los

procesos estocásticos a las ciencias ambientales, en este caso se aplica al comportamiento de parámetros contaminantes del agua residual y toma importancia cuando el análisis de datos se encuentra distribuido espacial y temporalmente (Quintín-Cuador, 2005), (Christakos y Raghu, 1996). Se puede entonces sugerir la idea de interpretar este fenómeno en términos de función aleatoria (FA), es decir a cada punto x del espacio se le asocia una variable aleatoria (VA) $Z(x)$; para dos puntos diferentes (x e y) se tendrán dos VAs $Z(x)$ y $Z(y)$ diferentes pero no independientes. Es precisamente su grado de correlación el encargado de reflejar la continuidad en el decremento de concentraciones contaminantes, de modo que el éxito de esta técnica es la determinación de la función de correlación espacial de los datos (Zhang *et al.*, 1992).

Principio geoestadístico

Los métodos geoestadísticos han registrado una diversa aplicabilidad en el campo minero y más recientemente recibe exitoso uso en las ciencias ambientales, como es indicado por Assadian *et al.*, (2003, 1998); Palomo y Figueroa (2004, 2005), así también recibe uso en estudios sobre variación espacial de salinidad en el suelo (Miyamoto y Cruz, 1987), eventos biológicos asociados a la concentración de nutrientes en el agua (Dent y Grima, 1999) y fenómenos atmosféricos (Bachi y Kottegoda, 1995). La aplicabilidad de la geoestadística inicia en el momento que existe continuidad en la información regionalizada que se desea analizar, entendiendo continuidad en este caso a que la variable que se quiere caracterizar existe en todo el área

¹palomo.miguel@inifap.gob.mx.

Palabras clave: remoción, dilución, geoestadística, agua residual.

o volumen de estudio. Se reconoce como una rama de la estadística tradicional, que parte de la observación, la variabilidad o continuidad de las variables distribuidas en el espacio y que a su vez tienen una estructura particular (Curran y Atkinson, 1998). Posteriormente fueron desarrolladas herramientas matemáticas para el estudio de estas variables dependientes entre sí, llamadas según Matheron variables regionalizadas, lo que permitió elaborar la teoría como se presenta en Journel y Huijbregts (1978), Quintín-Cuador (2005).

Al conjunto de todas las mediciones $z(x)$ en el área de estudio de la variable regionalizada puede considerarse como una realización particular del conjunto de VAs ($Z(x)$, $x \in$ área de estudio). A este conjunto de VAs se llama Función Aleatoria y se describe como $Z(x)$, según Journel y Huijbregts (1978). De modo que al extender el concepto de función aleatoria al espacio de una o más dimensiones, aparece la noción aleatoria y estructural de una variable regionalizada: primero $Z(x)$ como VA y segundo que las VAs $Z(x)$ y $Z(x+h)$ no son en general independientes, si no que están relacionadas por la estructura espacial de la variable regionalizada original $Z(x)$.

Carga coliforme

Las aguas residuales son un recurso muy preciado pero a su vez pueden constituir un problema sanitario (Hurst, 1997), ya que numerosos microorganismos patógenos, causantes de diversas enfermedades, pueden estar presentes en ellas (Moe, 1997). Debido a que no todos los patógenos pueden ser investigados rutinariamente en el agua, entre otras causas, porque son muy numerosos y cada uno requiere de métodos específicos para su detección (IDRC, 1997), se ha venido empleando desde hace muchos años a las bacterias coliformes como organismos indicadores de su presencia (US-EPA, 1986). Sin embargo como lo resalta Botero *et al.*, (2002) se han presentado pruebas fehacientes de que los coliformes no reflejan la presencia de bacterias patógenas (Gantzar *et al.*, 1998), (Griffin *et al.*, 1999), por lo que sugieren evaluar otros microorganismos indicadores adicionales entre los que se encuentran los estreptococos fecales (EF), enterococos (EC), colifagos y hongos (Sinton *et al.*, 1999) (Botero *et al.*, 2002). La remoción de los patógenos que son endémicos en los países en vías de desarrollo, es el objetivo prioritario del tratamiento de las aguas residuales que van a ser empleadas para el riego, en tanto la carga orgánica y nutrimental pasa a otro plano. El objetivo del presente estudio fue: valorar la naturaleza coliforme del agua residual y residual-mezclada del Distrito de Riego 009 y aplicar los conceptos de variabilidad espacial al efecto de dilución.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Valle de Juárez, Chih. localizado al norte del Estado de Chihuahua y ubicado entre los meridianos $105^{\circ} 30'$ y $106^{\circ} 30'$ de

longitud oeste y los paralelos $30^{\circ} 56'$ y $31^{\circ} 45'$ de latitud norte; la zona indicada, constituye la porción de margen derecha de la planicie fluvial de inundación formada por el Río Bravo y se localiza dentro de una fracción de la cuenca media del Río, en la unidad fisiográfica de la República Mexicana denominada Altiplanicie Septentrional. La zona indicada ocupa parte de los municipios de Juárez, Guadalupe y Praxedis, G. Guerrero. Este Valle forma la porción y extremo sur del gran Bolsón Hueco. El estudio fue realizado en agua residual cruda y agua residual-mezclada, previo al inicio operativo de las plantas de tratamiento Norte y Sur de Ciudad Juárez, Chihuahua. En la localidad de Loma Blanca (Km. 17) fueron colectadas durante un año, muestras de agua residual cruda en forma mensual. A lo largo del DR-009 del Valle de Juárez, fueron colectadas muestras de agua residual-mezclada en las localidades San Isidro (Km. 26), Tres Jacales (Km. 39), Guadalupe (Km. 48), Praxedis (Km. 60) y San José de Paredes (Km. 74). El periodo de muestreo para agua residual-mezclada se llevo a cabo durante los meses abril a septiembre, periodo en el que se lleva a cabo el mezclado de agua residual con agua del Tratado Internacional y agua de bombeo. Los procedimientos de colecta, preservación y análisis de muestras se llevaron a cabo conforme lo indicado por APHA-AWWA-WPCF (1992). Los parámetros evaluados fueron coliformes fecales y coliformes totales.

Variabilidad espacial

Dentro del análisis geoestadístico, los variogramas fueron expresados como la media aritmética de todos los cuadrados de las diferencias entre pares de valores experimentales separados una distancia h , tal como lo sugiere Journel y Huijbregts (1978), o lo que es lo mismo, la varianza de los incrementos de la variable regionalizada en las localizaciones separadas por una distancia h .

$$\text{Var} \{ Z(x+h) - Z(x) \} = 2\gamma(h)$$

La función $\gamma(h)$ denominada semivarianza, fue obtenida por la expresión:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N_p(h)} \sum_{i=1}^{N_p(h)} [Z(x_i) - Z(x_i + h)]^2$$

Donde:

$\gamma(h)$: representa la semivarianza de cada parámetro contaminante del agua residual cruda y agua residual-mezclada a lo largo del Distrito de Riego 009, donde se registra una continuidad decreciente en la concentración de cada parámetro (Palomo y Figueroa, 2004 y 2005), de acuerdo al planteamiento establecido por Weerts y Bierkens (1993) y Chica-Olmo (1987), indicados además por Quintín-Cuador (2005).

El modelo estuvo conformado por:

- $Np(h)$ = Número de pares a la distancia h
- h = Incremento
- $Z(x_i)$ = Valores experimentales
- x_i = Localizaciones donde son medidos los valores $z(x_i)$

Cuando la semivarianza se incrementa con la distancia, se puede ajustar a varios modelos, como el Gausiano, Lineal, esférico, exponencial (Figura 1). El Nivel Plano o Meseta ($C_0 + C$) se observa cuando la semivarianza se incrementa hasta cierta distancia, que es el Rango o Alcance (A_0), y a partir de ahí tiene un comportamiento aleatorio; a este comportamiento aplican los modelos Esférico y Lineal Segmentado. El intercepto en el eje y del semivariograma teóricamente es igual a cero; cuando éste es mayor de cero, el valor del intercepto se denomina "Efecto Pepita" (C_0) y representa Error aleatorio o variabilidad en un rango menor al valor de h .

Para establecer el comportamiento de los parámetros evaluados, se utilizó estadística descriptiva y regresión lineal para obtener los porcentajes de remoción de coliformes fecales y totales a lo largo del DR-009, mediante el paquete estadístico SAS. La información geoestadística generada, fue auxiliada mediante GSPLUS (GS+) versión 2.11 (Clark, 1982).

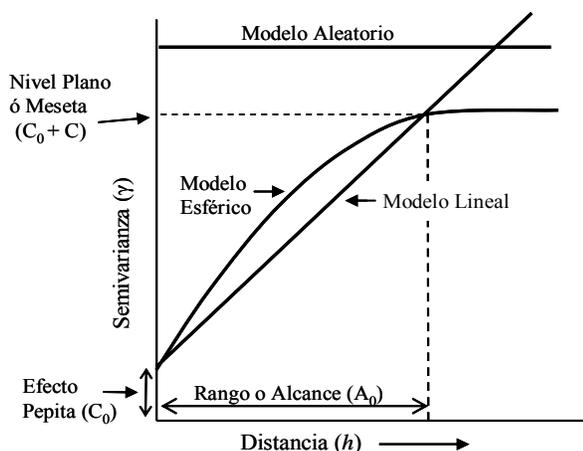


FIGURA 1. Componentes de un semivariograma.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento que guardan los parámetros evaluados a lo largo del Distrito de Riego 009 del Valle de Juárez, se indica en el número más probable (NMP) de coliformes fecales y totales por cada 100 mL, Cuadro 1; destaca un decreciente NMP de ambos grupos de coliformes, por la proporción de mezclado que corresponde a agua del Río Bravo y agua de bombeo que es de naturaleza salina. El mezclado de agua residual con otras fuentes de suministro, permite disminuir los riesgos sanitarios que presenta el agua para los operadores del riego en las parcelas de cultivo, sobre todo hacia el final del Distrito de Riego 009.

La principal restricción para la siembra de hortalizas en la planicie baja del Valle de Juárez, obedece a la presencia de coliformes hacia el final del Distrito, aun cuando el agua utilizada desde Colonia Esperanza hasta Porvenir, corresponde a bombeo.

Las lomas altas del Valle si pueden ser cultivadas con hortalizas, toda vez que se utiliza solamente agua de bombeo, aunque es necesario destacar que la presencia de sales solubles del agua de riego, puede ser un factor limitante para las diferentes especies de hortalizas, ya que pueden limitar la expresión de desarrollo y producción de las mismas.

Análisis geoestadístico en agua residual-mezclada

Las propiedades que presentan coliformes fecales y totales y que ofrecen una variabilidad espacial a lo largo del Valle de Juárez, son indicadas en el Cuadro 1, donde se indican los modelos de mejor ajuste que describen a cada semivariograma. Los valores de semivarianza con respecto a distancia fue significativa ($p < 0.05$) para coliformes fecales y totales. Lo anterior indica una variabilidad o continuidad decreciente en la concentración de cada variable distribuida en el espacio y que a su vez tienen una estructura particular; la estructura tiene su origen en el efecto de dilución del agua residual. Geoestadísticamente el modelo lineal-segmentado ofrece la mejor distancia de aplicabilidad, con un rango (A_0) de 36 a 40km y que cubren hasta el poblado de Juárez y Reforma.

La distribución espacial de coliformes fecales y coliformes totales, tienden a mostrar un comportamiento irregular en la localidad de San José de Paredes, ya que se altera la estructura de dilución debido tal vez a incorporaciones de agua residual cruda en dicha localidad, aunque pueden formar parte del error aleatorio (C_0).

CUADRO 1. Comportamiento del valor promedio y desviación estándar de coliformes fecales y coliformes totales a lo largo del Distrito de Riego 009 del Valle de Juárez.

| Localidad | Km. | Tipo de agua | Coliformes Fecales | Coliformes totales |
|-------------------------------|-----|-------------------|--------------------------|--------------------|
| | | | NMP 100 ml ⁻¹ | |
| Loma Blanca | 17 | Residual cruda | 43.42 ± 47.13 | 221.75 ± 223.51 |
| San Isidro | 26 | Residual mezclada | 34.57 ± 31.37 | 196.25 ± 209.52 |
| Tres Jacales | 39 | Residual mezclada | 26.71 ± 32.94 | 178.75 ± 226.59 |
| Guadalupe, D. B. | 48 | Residual mezclada | 13.42 ± 11.37 | 63.37 ± 41.48 |
| Praxedis, G. Gro. | 60 | Residual mezclada | 7.42 ± 10.03 | 23.87 ± 27.95 |
| San José Paredes ^a | 74 | Mezclada | 15.50 ± 13.56 | 38.00 ± 39.59 |

^a Predomina el agua de bombeo

CUADRO 2. Modelos ajustados a los semivariogramas de algunas propiedades químicas del agua residual y residual-mezclada.

| Parámetro | Índice de asimetría | Kurtosis | Modelo | C ₀ | C ₀ + C | A ₀ | r ² |
|--------------------|---------------------|----------|-------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|
| Coliformes fecales | 0.298 | 1.674 | Lineal-segmentado | 0.10 | 290.2 | 36.0 | 0.793 * |
| Coliformes totales | 0.013 | 1.171 | Lineal-segmentado | 10.00 | 1.34 E ⁻⁴ | 40.90 | 0.851* |

* Relación significativa con valor de $\alpha=0.05$

Los variogramas normalizados (Figuras 2), poseen un nivel plano demasiado variable entre los dos parámetros evaluados, que son alcanzados de rápida a muy lentamente, lo que puede estar influenciado por: a) la concentración original del agua residual cruda, b) el volumen de dilución incorporado, c) la remoción resultante y d) la varianza global de muestreo. Todas las variables modeladas presentaron un efecto de pepita (C₀) mayor que cero, lo que indica que la semivarianza y distancia no parten necesariamente del origen x-y.

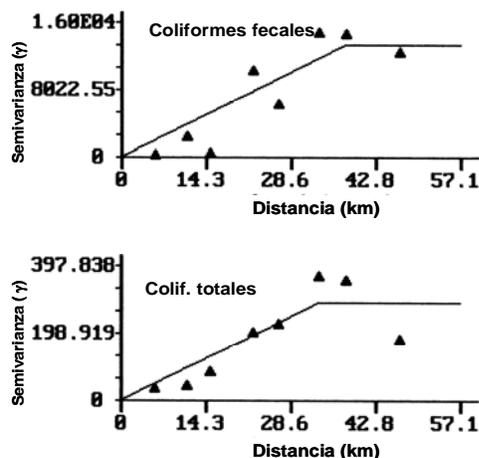


FIGURA 2. Variogramas para coliformes fecales y coliformes totales, que asocian el efecto de dilución del agua residual mezclada a lo largo del Distrito de Riego 009.

Remoción de coliformes

La Figura 3 permite establecer los porcentajes de remoción que se presentan para coliformes fecales y coliformes totales a lo largo del DR-009; destaca para

ambos parámetros un 10% de remoción promedio a la altura del Km 20 del Distrito de Riego, esto se registra a la altura comprendida entre Loma Blanca-San Isidro. Un 34 % de remoción se presenta en el Km 40 a la altura de Tres Jacales-El Millón y la remoción de coliformes aumenta al 58% para la localidad de Praxedis Gilberto Guerrero en el Km. 60. A partir de Colonia Esperanza el agua de riego corresponde mayormente a bombeo, misma que es de naturaleza altamente salina y sódica, de ahí que en el Km 80 se registra un 82% de remoción, para la localidad Porvenir.

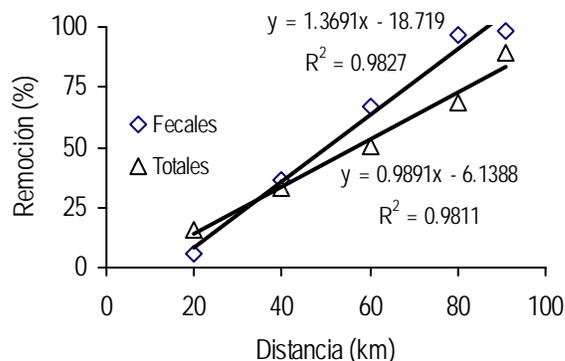


FIGURA 3. Porcentaje de remoción de coliformes en función de la distancia de recorrido del agua residual.

CONCLUSIONES

El mezclado de agua residual con agua del Tratado Internacional y agua de bombeo, reduce progresivamente y de manera muy importante la concentración de coliformes fecales y coliformes totales a lo largo del Distrito de Riego 009. El efecto de dilución del agua residual que se registra de manera progresiva a

lo largo del distrito y las variaciones en espacio para coliformes fecales y coliformes totales se asocian geoestadísticamente a la distancia que presentan los valores de semivarianza con un modelo de ajuste lineal segmentado. El mezclado de agua residual con otras fuentes de suministro, permite disminuir los riesgos sanitarios que presenta para los operadores del riego en las parcelas de cultivo, sobre todo hacia el final del Distrito de Riego 009.

REFERENCIAS

- APHA-AWWA-WPCF. (1992). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 17 Edition. American (ed.). Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. USA.
- Assadian, N. W., Ch. Vogel, Z. Sheng, U. Figueroa V. y M. Palomo-Rodríguez. (2003). "Heavy metal distribution in open canals and drains in the upper Rio Grande Basin". *Soil and Sediment Contamination.*, Pp. 12(3), 305-323.
- Assadian, N. W., L. C. Esparza, L. B. Fenn, A. S. Ali, S. Miyamoto, U. Figueroa V, y A. W. Warrick. (1998). "Spatial variability of heavy metals in irrigated alfalfa fields in the upper Rio Grande River basin". *Agricultural Water Management.*, Pp. 36, 141-156.
- Bacchi, B. y N. T. Kottegoda. (1995). "Identification and Calibration of Spatial Correlation Patterns of Rainfall, Journal of Hydrology" 165, *Elsevier Science B.V.*, Pp. 311-348.
- Botero, L., Zambrano L. J., Oliveros C, León D., Sarcos M. y Martínez, M. (2002). "Calidad microbiológica del agua de un sistema de lagunas de estabilización a ser empleadas en irrigación". *Rev. Fac. Agron. (LUZ).*, Pp. 19, 312-323.
- Christakos, G., y V. R. Raghu. (1996). *Dynamic Stochastic Estimation of Physical Variables*. *Mathematical Geology.*, Pp. 28 (3), 34-365.
- Chica-Olmo, M. (1987). *Análisis Geoestadístico en el Estudio de la Explotación de Recursos Minerales*, Tesis Doctoral, Universidad de Granada, España., Pp. 387.
- Clark, I. (1982). "Practical geostatistics". Department of mineral resources engineering. Royal school of mines. *Imperial College of Science and technology*. London UK. Applied Science publishers LTD, London., Pp. 228.
- Curran, P. J. y P. M. Atkinson. (1998). "Geostatistics and Remote Sensing". *Progress in Physical Geography*, 22, 1., Pp. 61-78.
- Dent, C. L. y N. B. Grimm. (1999). "Spatial heterogeneity of stream water nutrient concentrations over successional time". *Ecology.*, Pp. 80 (7), 2283-2298.
- Gantzar, C., A. Maul, J. M. Audic y L. Schwartzbrod. (1998). "Detection of infectious enteroviruses, enterovirus genomes, somatic coliphages, and *Bacteroides fragilis* phages in treated wastewater". *Appl. Environ Microbiol.*, Pp. 64, 4307-4312.
- Griffin, D. W., C. J. Gibson, E. K. Lipp, K. Riley, J. H. Paul y J. B. Rose. (1999). "Detection of viral pathogens by reverse transcriptase PCR of microbial indicators by standard methods in the canals of the Florida keys". *Appl. Environ. Microbiol.*, Pp. 65, 4148-4125.
- Hurst, C. J. (1997). "Overview of water microbiology as it relates to public health"., Pp. 133-135. En: Hurst, C. J., R. G. Knudsen, M. J. McInerney, L. D. Stetzenbach y M.V. Walter (ed.). *Manual of environmental microbiology*. ASM Press, Washington, D. C.
- IDRC-"International Development Research Center". (1997). *Testing the waters*. Coliphage Field Kit. Chapter 1. URL: <http://www.idrc.org>
- Journel, A. G. y C. J. Huijbregts. (1978). *Mining Geostatistics*, Academic Press, New York., Pp. 600.
- Miyamoto, S. and I. Cruz. (1987). "Spatial variability of soil salinity in furrow irrigated torrifluents". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, Pp. 51, 1019-1025.
- Moe, C. L. (1997). "Waterborne transmission of infectious agents"., Pp. 136-152. En: Hurst, C. J., R. G. Knudsen, M. J. McInerney, L. D. Stetzenbach y M.V. Walter (ed.). *Manual of environmental microbiology*. ASM Press, Washington, D. C.
- Palomo R. M. (2005). Descripción hidro-agrológica del Valle de Juárez. *Memorias del Simposio Binacional "Asociaciones de colaboración para la conservación del agua en la región Paso del Norte"* Ciudad Juárez (México)., Pp. 28-35.
- Palomo R. M. y U. Figueroa V. (2004). "Remoción de nutrientes del agua residual cruda por efecto de dilución en el Valle de Juárez, Chih". *Memorias XVI Semana Internacional de Agronomía*. UJED-Durango, México.

- Palomo, R. M., y U. Figueroa V. (2005). "Removal of bacterial and physical/chemical contamination from waste water by dilution". *Proceedings International Conference on Environmental & Human Health*. El Paso, Texas USA.
- Quintín-Cuador, G. (2005). *Elementos de geoestadística*. Departamento de informática. Universidad del Pinar del Río. Cuba.
- Sinton, L., R. Finlay y P. Lynch. (1999). "Sunlight inactivation fecal bacteriophages and bacteria in sewage polluted seawater". *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 3605-3613.
- US-EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (1986). "Ambient water quality criteria for bacteria". EPA 440/5-84-002, U.S. EPA, Washington, D. C. <http://www.epa.gov>
- Weerts, H. J. T., y M. F. P. Bierkens. (1993). "Geostatistical Analysis of Over Bank Deposits of Anatomising and Meandering Fluvial Systems"; Rhine-Meuse Delta. *The Netherlands Sedimentary Geology* 85. Elsevier Sciences Publishers B.V., Pp. 221-232.
- Zhang, R., D. E. Myers, y A. W. Warrick. (1992). "Estimation of the Spatial Distribution of Soil Chemical Using Pseudo Cross-Variograms". *Soil Science Society of America Journal*, Vol. 56, No. 5, Pp.1444-1452.

Efecto de la suplementación de la oveja durante la gestación sobre la ganancia diaria de peso de corderos del nacimiento al destete

Ezequiel Rubio Tabarez¹, Andrés Quezada Casasola¹, J. Imelda Ramos Guevara¹, Majin Roberto Luján Duran¹, y Esaul Jaramillo López¹.

¹ Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Pronaf y Estocolmo S/N.

RESUMEN

Para evaluar el efecto del tipo de alimentación de la oveja al final de la gestación, sobre el peso al nacimiento y la ganancia diaria de peso (GDP) hasta el destete en corderos de la raza Rambouillet, se utilizaron veinte animales (once hembras y nueve machos), provenientes de hembras sometidas a dos tratamientos: ovejas suplementadas (A) y ovejas restringidas (B). A partir del nacimiento todos los corderos dispusieron de un suplemento consistente en maíz rolado y forraje hasta el destete efectuado a los 60 días. Se evaluó el peso inicial y la GDP al destete. Para el análisis se utilizó una prueba de medias para muestras independientes. Los corderos del grupo A superaron a los del grupo B en el peso al nacimiento y destete ($P < 0.01$). Dentro de grupo no hubo diferencia en la GDP al destete entre sexos ($P > 0.05$). Los resultados de este estudio sugieren que la suplementación de las ovejas al final de la gestación afecta el crecimiento del cordero hasta el destete.

INTRODUCCIÓN

Los ovinos son parte importante en el aporte de la proteína que se consume en el mundo, entre otros su utilidad se basa en la transformación de forrajes de baja calidad en proteína de alta calidad en corto tiempo con un impacto positivo en la conservación del medio ambiente (Aich y Waterhouse, 1999). México cuenta con un inventario de 6.4 millones de ovinos (SAGARPA, 2003), los cuales son criados en muy diversos sistemas de producción que varían desde los meramente pastoriles, a combinados con silvicultura u otras especies domesticas, hasta los sistemas en confinamiento total (de Lucas y Arbiza, 2000). Chihuahua es un estado tradicionalmente ganadero, basado predominantemente en explotaciones extensivas (sistema vaca-becerro). Sin embargo la ultima década, la cría de ovinos se ha incrementado en forma importante (Martínez *et al.*, 2001).

Un problema que los ovinocultores enfrentan en sus sistemas de producción en la región del Valle de Juárez son las pérdidas de animales en el periparto ocasionadas por una deficiente alimentación de la oveja provocando bajos pesos de corderos al nacimiento y altos porcentajes de mortalidad hasta el destete, además hay evidencias de que los corderos requieren de ocho a diez meses para alcanzar el peso de mercado. Lo anterior obedece en parte a la práctica de alimentación basada casi exclusivamente en el consumo de forraje, por lo que los corderos durante la lactancia consumen el

alimento ofrecido a sus madres con una consecuente prolongación de la lactancia y bajos pesos al destete. Desaprovechándose el potencial de crecimiento que se manifiesta cuando los corderos reciben alimento suplementario durante la lactancia y su posterior integración al corral de engorda (Sánchez *et al.*, 1998).

El estado físico del ganado se basa en una apreciación subjetiva para definir el estado general del rebaño, a esto se le define como condición corporal y se maneja en una escala del uno al cinco (Corah *et al.*, 1991). Esta misma escala es empleada para la evaluación de la condición corporal en los ovinos. El conocimiento del estado físico y fisiológico define los tiempos y niveles de suplemento requerido por los animales en momentos específicos, disminuyendo los costos de producción (Martínez, 1998; Jaramillo *et al.*, 1999). Duarte y Pelcastre. (2000) reportan que cuando las ovejas no reciben suplemento alimenticio una disminución en la producción de leche coincide con el crecimiento más acelerado de los corderos hasta los primeros 41 días de edad, situación que podría repercutir negativamente si no se proporciona alimento complementario al cordero para que exprese su máximo potencial de crecimiento (sobre todo en animales de parto múltiple). Altos pesos al nacimiento y una mayor GDP al destete son reportados por Godfrey y Dodson. (2003) en corderos procedentes de ovejas suplementadas al ser comparados con corderos procedentes de ovejas alimentadas con solo pasto. Esto sugiere que pudiera ser una dieta adecuada para el mantenimiento más no

¹ Departamento de Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencias Biomédicas. ezequiel_rubio@hotmail.com.

Palabras clave: ovejas, suplementación, corderos, ganancia de peso.

para la lactación de la oveja, ocasionando una pérdida de peso del animal y menor producción de leche. Con esto se concluye que el suplemento alimenticio de las ovejas al final de la gestación y corderos durante la lactancia es una práctica adecuada para incrementar los pesos al nacimiento y destete.

En el caso del crecimiento de los corderos, se sabe que existen diferencias raciales y la influencia de factores ambientales como: Estado nutricional al final de la gestación y durante la lactancia, tipo de parto y estado sanitario, entre otros. Esto hace necesario caracterizar y evaluar las diferentes razas existentes en el país (de Lucas *et al.*, 2003).

La suplementación a corderos a partir de la segunda semana de vida podría ser una práctica rentable si se considera que durante los primeros días de vida los animales son más eficientes. Proporcionar un suplemento energético y proteico puede permitir que se exprese mejor su potencial genético (Duarte y Pelcastre, 2000).

Las actuales características del mercado ovino, han hecho atractivo la intensificación y la inversión en nuevas formas de producción, que incluyen a la cría, engorda y finalización de los corderos en confinamiento con dietas concentradas (de Lucas, 2003).

La exigencia del mercado de cordero gordo justifica que si las hembras no son destinadas para la reposición del rebaño. Deben ser integradas al corral de engorda junto con los machos desde el nacimiento, hasta alcanzar el peso del mercado (Sánchez, 2003).

El beneficio de la suplementación de los corderos durante la lactancia ha sido documentado por distintos autores, encontrándose que le permite al animal manifestar su potencial productivo, incrementando los pesos al destete, y disminuyendo su estancia en el corral de engorda al mejorar su eficiencia biológica, repercutiendo en una mejora del costo-beneficio de la actividad económica del ganadero (Spedding, 1968; Sánchez, 1998; Greenwood, 2002; Rook, 2004).

De Lucas (2003) señala que la promoción del cabal aprovechamiento y la multiplicación de unidades de producción intensiva, han contado con muy escaso soporte de investigación confiable, generada en las distintas condiciones del país y que ofrezcan parámetros de referencia. Esta información sería útil para la planeación y operación sustentable de estas empresas. El componente animal de un sistema de producción tiene especial importancia, porque en sus características se fincan en buena medida los objetivos de la explotación, de ahí que las razas o sus cruzamientos deban ser las adecuadas. El objetivo del presente trabajo es validar tecnología que pueda resolver estas interrogantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el "Rancho Velasco" ubicado en el ejido San Isidro Km 19 de la carretera Juárez Porvenir, a 31° 35' 35" LN, 106° 17' 39" LO y una altitud de 1130 msnm, con una precipitación media anual de 230 mm y

temperatura media anual de 16.5° C con una oscilación térmica de 14.5° C (Álvarez, 1980).

Se utilizaron 20 corderos (11 hembras y nueve machos) de la raza Rambouillet producto de dos tratamientos al que fueron sometidas sus madres. Grupo uno (A) Las ovejas se alimentaron con una dieta basal de heno de alfalfa y fueron suplementadas al final de la gestación (últimos 30 días) así como primeros 30 días de lactación con aproximadamente 0.2 kg/cabeza/día de maíz rolado para mantener una condición corporal adecuada. Grupo dos (B) Las ovejas se alimentaron con una dieta basal de heno de alfalfa. Para realizar el estudio se conformaron los siguientes grupos:

Grupo uno (A) seis corderas (H) y cuatro corderos enteros (M) de ovejas suplementadas y grupo dos (B) cinco corderas (H) y cinco corderos enteros (M) de ovejas restringidas.

Los partos se dieron a finales del invierno (del primero al 13 de marzo). Al nacimiento las crías de cada tratamiento fueron identificadas y pesadas, ambos grupos dispusieron de un área de exclusión, en la que se ofreció a los corderos el mismo suplemento a libre acceso, compuesto por maíz rolado que contenía 10% PC y 3.3 Mcal, heno de alfalfa (18% PC y 2.10 Mcal), un suplemento mineral y agua los cuales se ofrecieron hasta los 60 días de edad.

Para el análisis de la información se utilizó el sistema de análisis estadístico SPSS (Steel y Torrie, 1984) realizando pruebas de medias para muestras independientes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a la evaluación subjetiva de la condición corporal de las ovejas en los dos tratamientos se observó que las ovejas que recibieron suplemento presentaron mejor condición corporal que las ovejas con alimentación restringida, $3.75 \pm .25$ contra $2.75 \pm .25$ respectivamente ($P < 0.05$). Esta mejor condición es posible que como lo mencionan Godfrey y Dodson. (2003) influya en una mayor producción de leche (1,200 g/d contra 900 g/d) y por ende en mayores pesos de los corderos procedentes de ovejas suplementadas que los de aquellos que no lo son al final de la gestación.

El cuadro 1 muestra los pesos de los corderos de los dos tratamientos del nacimiento al destete. Observándose que aquellos corderos de madres suplementadas fueron significativamente más pesados que los provenientes de las ovejas sin suplementación alimenticia del nacimiento al destete ($P < 0.01$). La diferencia de mayor peso se mantuvo a los 60 días de edad. Además en el cuadro se puede apreciar que dentro de tratamientos no se encontraron diferencias en la GDP entre los sexos hasta el destete.

CUADRO 1. Pesos de corderos al nacimiento y destete.

| Tratamiento | Sexo | P nacimiento | P destete |
|-------------|------|--------------|--------------|
| A | H | 4.45±0.31 a | 20.05±0.86 a |
| A | M | 4.37±0.29 a | 20.60±2.05 a |
| Promedio | | 4.41 a | 20.32 a |
| B | H | 3.51±0.32 b | 14.3±0.86 b |
| B | M | 3.5±0.31 b | 14.4±1.11 b |
| Promedio | | 3.50 b | 14.35 b |

ab literales distintas en columnas son diferentes P<0.05

Entre grupos el comportamiento de corderos machos y hembras resulto similar mostrando que; el sexo de la cría no afecta la GDP del nacimiento al destete en corderos de la raza Rambouillet. Los corderos del grupo A la GDP del nacimiento al destete fueron de .267 para H y .278 Kg. para M. Mientras que en el grupo B la GDP resulto de .180 Kg. y .181 Kg. para H y M respectivamente, no siendo diferentes entre si (P>0.05).

El crecimiento de los corderos del grupo A predestete resulta similar a la reportada por de Lucas *et al.* (2003) en corderos de la raza Columbia en sistemas intensivos de producción. Mientras que el comportamiento de los corderos del grupo B resultó menor, pero coinciden con los resultados reportados por Bores *et al.* (2002) en corderos F1 (Pelibuey cruzados con las razas Suffolk, Dorset y Hampshire), en los pesos al nacimiento y destete de corderos machos y hembras.

CONCLUSIONES

La intensificación de los sistemas de producción de los ovinos se plantea como una necesidad en la ovinocultura nacional, de ahí que los modelos productivos que se recomiendan se dirigen a un cambio hacia sistemas más intensivos de manejo donde toma relevancia, el mantener el rebaño con el total de requerimientos nutricionales a través de su ciclo productivo. Esto ocasiona un incremento en los costos de producción, por lo que los ovinos manejados en estos esquemas tendrán que demostrar su rentabilidad manteniendo un balance económico positivo.

En este estudio se muestra que los corderos nacidos de ovejas suplementadas siempre fueron mas pesados que los corderos de ovejas con alimentación restringida, desde el nacimiento al destete, guardando una relación entre el peso al nacimiento y el peso al destete, por ello; la suplementación de las ovejas al final de la gestación y de los corderos durante la lactancia se sugiere como una alternativa para reducir los tiempos de estancia en corral de engorda.

REFERENCIAS

- Aich, A. y Waterhouse, A. (1999). "Small ruminants in environmental conservation. Small" *Ruminant Research.*, Pp. 34, 271-287.
- Álvarez, G. A., (1980). *Boletín metereológico del estado de Chihuahua.* En: Dirección de Geografía y Meteorología, S. A. R. H. (ed.). Gobierno del Estado. U. G. R. CH., Pp. 301.
- Bores, QR., Velásquez, MA., Heredia AM. (2002). "Evaluación de razas terminales en esquemas de crza comercial con ovejas de pelo" *F1. Tec Pecu Méx.*, Pp. 40 (1), 71-79.
- Cooper, M. M. y Thomas, R. J., (1978). *Producción del Cordero.* Editorial Aedos.
- Corah, L. R., Houghton, P. L., Lemenager, R. P., Blasi, D. A. (1991). *Feeding Your Cows by Body Condition.* Cooperative Extension Service, (ed.). Manhattan, Kansas.
- De Lucas, T. J., González, P. E., Martínez, R. L., (1997). "Estacionalidad reproductiva en ovejas de cinco razas en el altiplano central Mexicano" *a. Téc. Pecu. Méx.* Vol. 35. No. 1
- De Lucas, T. J. y Arbiza, A. S. I. (2000). *Producción ovina en el mundo y México.* Editores Mexicanos unidos, S. A. (ed.).
- De Lucas, T. J., Zarco, Q. L. A., González, P. E., Tórtora, P. J., Villa-Godoy, A. y Vásquez, P. C. (2003). *Crecimiento predestete de corderos producto de sistemas intensivos de manejo reproductivo y pastoreo en el altiplano central de México.* 3 Congreso de la Asociación Latinoamericana de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos.
- Duarte, V. F. y Pelcastre, O. A. (2000). Efecto de la suplementacion predestete a corderos en condiciones tropicales Instituto Nacional de Investigaciones forestales y Agropecuarias. *Región Península de Yucatán. Mérida Yucatán México.* inifap@tizimin.com.mx
- Godfrey, R. W., and Dodson, R. E. (2003). "Effect of supplemental nutrition around lambing on hair sheep ewes and lambs during the dray and wet seasons in the U.S. Virgin Islands". *J. Anim. Sci.* 2003., Pp. 81, 587-593.
- Greenwood, P. L., Hunt, A. S., Slepatis, R. M., Finney, K. D., C. Alston, C., Beermann, D. H. and A. W. Bell, A. W. (2002). "Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep:

- III". Regulation energy metabolism. *J. Anim. Sci.*, Pp. 80, 2850-2861.
- Jaramillo, L. E. y Hernández, G. J. A. (1999). *Efecto de la suplementación antes del empadre sobre la prolificidad en ovejas*. X Congreso Nacional de producción ovina.
- Martínez, D. E., Núñez, F. A. G., García, A. M., Blanca, A. T. (2001). "Caracterización de canales de borregos alimentados con desechos de papel". *Rev. Bras. De Agrociencia*, v.7 n.1., Pp. 50-53, jan-abr.
- Martínez, H. P. A. (1998). "Manejo alimenticio de la oveja de cría". *Bases de la cría ovina IV*.
- Rook, J. S. (2004). *Feedlot Lamb Nutrition*. MSU Extension & Ag Experiment Station. College of Veterinary Medicine.
- Sánchez, del R. C. (1998). "Esquemas de alimentación en la engorda intensiva de corderos". *Bases de la cría ovina IV. IX Congreso Nacional de Producción Ovina*.
- Sánchez, del R. C. (2003). "Planeación estratégica de ovinos en corral". AMTEO. *Memorias del congreso de alimentación ovina*. Tulancingo Hidalgo. 24 y 25 de abril.
- SAGARPA. (2003) Spedding, C. R. W. (1968). *Producción Ovina*. Editorial Academia León (España)
- Steel, R. G. D., Torrie, S. H. (1984). *Principles and procedures of statistics*. Mcgraw-Hill Kogakusha LTD. Tokyo Japan.

Aislamiento y determinación de *cryptococcus neoformans* var. *gattii* a partir de muestras de eucaliptos en Ciudad Juárez

Carolina Ramírez Félix ¹

¹ Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo Pronaf y Estocolmo S/N.

RESUMEN

Se seleccionaron un total de 135 árboles del género *Eucalyptus* ubicados en la zona norte de Ciudad Juárez de ellos se tomaron muestras por duplicado de suelo con restos vegetales, corteza, hojas y flores. Para el aislamiento se utilizó el medio de *Guizotia abyssinica* para la identificación se realizaron pruebas morfológicas y fisiológicas y finalmente para la determinación de variedad las pruebas de canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB) y D-prolina. Se aislaron 55 cepas con características de *Cryptococcus spp.*, de ellas 45 correspondieron a *C. neoformans* var. *gattii*.

INTRODUCCIÓN

El hongo del género *Cryptococcus* (*C*) es una levadura esférica, ovoide y encapsulada que crece en medio sólido formando colonias mucoides, constituidas por células, cuyo diámetro varía de 5 a 10 μm , presentando yemas reproductivas. La cápsula rígida de polisacárida, es típica del género *Cryptococcus*, y es observada al microscopio con tinta china como un halo que rodea a la célula donde se han excluido las partículas de la tinta. (Caicedo, 1996). Este género incluye alrededor de 37 especies, entre las cuales las más importantes son: *neoformans*, *laurentii*, *albidus*, *terreus*, y *gastricus*. De todas ellas solo *C. neoformans* se considera patógeno humano, aunque existen referencias en la literatura de que especies como la *laurentii* y la *albidus* han producido enfermedad en humanos, especialmente en los pacientes inmunodeprimidos (Caicedo, 1996).

C. neoformans produce levaduras redondas u ovals (3,5 - 8 μm), que se reproducen por gemación única, con un cuello estrecho entre la célula madre y la hija. Excepcionalmente, se observa gemación múltiple de formas alargadas y pseudohifas. El signo distintivo de las levaduras de *C. neoformans* es la cápsula, que puede medir el doble del diámetro de la célula (Colom, *et al.*, 1997). Esta cápsula de naturaleza polisacárida le confiere virulencia al hongo protegiéndolo de la fagocitosis. (Canelo, 1995). El hongo *C. neoformans* existe en la naturaleza como tres variedades: *gattii*, *grubii*, y *neoformans*. La especie *C. neoformans* presenta cuatro serotipos: *C. neoformans* var *grubii* (serotipo A), *C. neoformans* var *gattii* (serotipos B y C) y *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipo D). (Caicedo, 1996).

La variedad *C. neoformans* var. *grubii* se caracteriza por crecer en excretas de palomas, árboles de eucaliptos, así como muestras de jugo de frutos como duraznos, verduras podridas y productos lácteos (Colom, *et al.*, 1997; Granados, 1998). Esta variedad se ha encontrado principalmente en áreas tropicales (Colom, *et al.*, 1997).

La mayor prevalencia de *C. neoformans* var. *gattii* se ha encontrado en Australia, Africa Central, Zaire, Brasil, México, Venezuela, Sudeste de Asia (Colom, *et al.*, 1997; Granados, 1998). El hábitat natural de esta variedad permaneció incierto hasta hace poco años en que se aislaron numerosas cepas a partir de árboles de *Eucalyptus*: *camaldulensis*, *blakely*, *gomphcephala*, *rudis* y *tereticornis* (Ellis, 1990). A pesar de que la literatura sobre el hábitat del hongo en eucaliptos, es muy escasa, se conoce que esta variedad tiende a producir levaduras atípicas con formas alargadas, además de las típicas células redondeadas, a temperatura de 25 °C, sobre todo si se observan en el aislamiento primario. Su temperatura óptima de crecimiento es de 32 °C, aunque tolera temperatura de 37 °C. Estas formas alargadas suelen desaparecer en los cultivos sobre medios habituales como agar Sabouraud y son reemplazadas por las formas redondeadas.

C. neoformans var. *neoformans* produce colonias lisas, de textura mucoide y coloración blanco cremosa. El estudio de la distribución geográfica de las variedades y serotipos de *C. neoformans*, indica una incidencia muy elevada de *C. neoformans* var. *neoformans* tanto en Europa como en el norte de América (Colom, *et al.*, 1997; Granados, 1998). La sobrevivencia del hongo en el ambiente aumenta con el incremento relativo de la humedad. Sin embargo, la exposición directa a la luz solar, sobre todo durante los meses de verano, pronto esteriliza los hábitats de *Cryptococcus*, mientras que se mantiene vivo durante el invierno. En el medio ambiente los microorganismos casi no están encapsulados

¹Estudiante de Programa de Química, Departamento de Ciencias Biomédicas, Instituto de Ciencias Biomédicas.

(Rodríguez, *et al.*, 1996), no obstante, esas cepas se convierten en virulentas después de la adquisición de la cápsula polisacárida en los hospederos humanos.

La variedad *C. neoformans* var. *neoformans* se encuentra normalmente en la naturaleza en lugares donde se acumulan las excretas de aves (Myrulk, *et al.*, 1989), fundamentalmente de palomas urbanas (*Columba livia*); en donde el ambiente rico en nitrógeno y sales, constituye un buen sustrato para el hongo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio y toma de muestra

Las muestras de hojas y flores, se recolectaron manualmente utilizando tijeras para podar. Las muestras de corteza, se recolectaron a 1.5 m de distancia del suelo con ayuda de un cuchillo. Las muestras de suelo con restos vegetales se obtuvieron de la capa superior y por debajo de la copa de los árboles utilizando una cuchara. Todas las muestras se tomaron por duplicado, y se colocaron en bolsas de polietileno debidamente marcadas y se transportaron al laboratorio en cajas de cartón. De 135 árboles de eucalipto del lado norte de Cd. Juárez, se recolectaron 1000 g de muestras de eucalipto (250 g de hojas, 250 g de corteza, 250 g de suelo con restos vegetales y 250 g de flores) en campo. Cada muestra de 250 g se subdividió en muestras de 5 g (50 de hojas, 50 de corteza, 50 de suelo con restos vegetales y 50 de flores).

Procesamiento de las muestras

Las muestras se trataron individualmente, (200 muestras), se lavaron con agua destilada estéril, con excepción de las del suelo con restos vegetales. Cada muestra de 5 g se fragmentó, trituró y maceró en 20 mL de agua destilada estéril y se dejaron reposar de 10 a 15 min. Posteriormente se tomaron 0.5 mL de la suspensión resultante y se sembraron en medio simplificado de *G. abyssinica*, incubándolas a 26 °C por siete días y paralelamente se sembró una cepa testigo de *C. neoformans* en el mismo medio. Los cultivos se examinaron diariamente para la búsqueda de colonias mucosas de color café oscuro tipo levaduriforme. De las colonias sospechosas se hicieron preparaciones con tinta china, para observar la morfología microscópica y la presencia de cápsula. Posteriormente se resembraron por estría cruzada en placa con medio de cultivo agar glucosado de Sabouraud (SDA) hasta obtener colonias típicas y puras de levadura.

A partir de la colonia aislada se resembraron en tubos con medios inclinados de SDA y se identificaron hasta especie por morfología microscópica mediante el crecimiento a 37 °C, y las pruebas bioquímicas de hidrólisis de urea, producción de pigmento café en agar Sabouraud, asimilación de azúcares e inositol, formación de tubo germinal y película, formación de

clamidoesporas, hifas y pseudohifas y fenoloxidas a 28 °C. Con el fin de lograr la determinación de la variedad se empleó el método de agar L- canavanina azul de canavanina azul de bromotimol y azimilación de D-prolina y D-triptófano.

RESULTADOS

De 135 árboles del género *Eucalyptus*, de estos árboles se colectaron un total de 200 muestras de las que fueron aisladas y caracterizadas un total de 55 cepas de *Cryptococcus* spp., de las que sólo 45 correspondieron a *C. neoformans* var. *gattii*, de éstos 19 aislamientos en muestras de hojas, 21 de Corteza, 10 de suelo con restos vegetales y 5 de flores. (Tabla 1)

TABLA 1. Localización geográfica y origen biológico de las muestras para aislamiento de *cryptococcus neoformans* var. *gattii*.

| Sustrato | Número de muestras | Número de cepas |
|----------------------------|--------------------|-----------------|
| Hojas | 50 | 19 |
| Corteza | 50 | 21 |
| Suelo con restos vegetales | 50 | 10 |
| Flores | 50 | 5 |
| Total | 200 | 45 |

DISCUSIÓN

El área seleccionada para este estudio es un lugar con alto grado de contaminación de una reciente introducción de árboles de eucaliptos, los cuales albergan al hongo en su superficie. La lectura e interpretación de las placas se realizó después de 5 días de incubación a 37 °C, considerándose como positiva (*var. gattii*) cuando se obtuvo crecimiento abundante alrededor del disco impregnado con D-prolina y D-triptófano, y como negativa (*var. neoformans*) cuando no se obtuvo crecimiento. (Martínez, *et al.*, 2004). Los resultados de pruebas bioquímicas del género y especie indican que existen una mayor prevalencia del hongo *C. neoformans* en muestras de aislamientos de corteza de eucaliptos, Una de las razones obedece al hecho de que el árbol es caduco, es decir que se renueva el tejido en cada temporada, lo que ocasiona que se pierda el hábitat del hongo como hojas, flores y suelo con restos vegetales. Por otra parte debido a que la corteza está presente todo el año, ésta va acumulando nitrógeno que es el sustrato necesario para que se desarrolle en óptimas condiciones el hongo.

Al llevarse a cabo las pruebas de variedad en el medio CGB, se comprobó que las cepas de *C. neoformans* var. *neoformans* fueron incapaces de crecer y modificar el color inicial (amarillo) del agar CGB. Igualmente se comprobó que la cepa creció e hizo virar levemente el color (1+) del medio en el segundo día de incubación, en el tercer día cambió el medio hacia un color azul verdoso

(2+), y en el cuarto día el agar se tornó azul cobalto con un fondo azul verdoso (3+), y que se mantuvo sin ninguna variación hasta por lo menos 2 semanas de incubación a 28 °C comprobándose que esta cepa fue *C. neoformans* var. *gattii*.

El valor del pH = $5,8 \pm 0,1$ del medio es crítico, por lo que se debe ser preciso en su determinación. Un pH menor que lo indicado puede darnos resultados indeterminados (2+) para la variedad *gattii*. El tamaño del inóculo y la edad del cultivo no fueron factores críticos en la determinación de la variedad. Cuando se realizó la prueba en medio CGB todas las cepas ocasionado el viraje del medio de amarillo dorado a un azul intenso, propiedad de la variedad *gattii*. (Martínez, et al., 2004).

Los resultados presentados en éste trabajo referentes a las muestras obtenidas a partir de árboles de eucaliptos apoyan la hipótesis de Ellis y Pfeiffer sobre la posible exportación de Australia de la var *gattii* a través de semillas y plantas de eucaliptos a diversos países del mundo entre ellos México, ya que los eucaliptos son de origen australiano asociándose la variedad con los eucaliptos en general y no con la especie de este, por lo que probablemente otras fuentes naturales también los alberguen. (Kwong-Chung, 1989; Ordóñez y Castañeda, 1992). Respecto a los tipos de muestras y la metodología utilizada, el suelo con restos vegetales presentó un alto grado de contaminación con hongos filamentosos y levaduras lo cual dificultó el aislamiento de la levadura de interés en este estudio, en cambio en las muestras de hojas, corteza y flores evidenciaron una menor contaminación probablemente debido a lavado previo con agua destilada estéril, al corto tiempo de la exposición de las flores al medio ambiente o la presencia de sustancias selectivas como taninos y lignina en la corteza de los árboles. En resumen 55 aislados de *C. neoformans* de eucaliptos, 45 correspondieron a *C. neoformans* var. *gattii*.

REFERENCIAS

- Caicedo (1996). *C. neoformans* en excretas de palomas del perímetro de Calí. Colombia Médica., Pp. 2, 106-109.
- Canelo-Navarro, A., Guevara, M., Zurita, S. y Casquero, J. (1999) "Determinación de la variedad de cepas de *C. neoformans* aisladas de pacientes con Sida". *Rev. Medica Experimental.*, Pp. 15, 44-48.
- Alberdi, M., Meseguer, T. y Rodríguez, J. (1997). "Aislamiento de *C. neoformans* en muestras de medio ambiente de Alicante". *Rev. Iberoamericana de micología.*, Pp. 14, 63-64.
- Ellis, D. H. y Pfeiffer, T. J. (1990). "Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var *gattii*". *J. Clin. Microb.*, Pp. 28, 1642-1644.
- Granados (1998). "Efecto de diferentes poblaciones de células monoclonares sobre el crecimiento de *C. neoformans* e inducción de la producción de IFN por su polisacárido capsular". *Rev. Iberoamericana de Micología.*, Pp. 13, 20-24.
- Kwong-Chung. K. J. y Bennett, J. E. (1984). "Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*". *Am. J. K. Epidemiol.*, Pp. 120, 123-130.
- Martínez, G., De la Rosa, B., Valdés, I., Fernández, A. y Lancha, M. (2004). "Utilidad de la D- prolina en la diferenciación de las variedades de *Cryptococcus neoformans*". *Rev. Cubana Med. Trop.*, Pp. 56, 77-79.
- Ordóñez, C. y Castañeda, E. (1994). "Serotificación de los aislamientos clínicos y del medio ambiente de *Cryptococcus neoformans*" en Colombia. *Biomed.*, Pp. 14, 131-139.

Recuperación metabólica en sujetos con alcoholismo crónico

Castañeda Rosas Laura¹, Rangel Silva Pablo², García Suárez Dolores³, Serrano Héctor Fernando⁴, López Durán Rosa⁵ y Gómez Olivares José Luis⁶ (7)

² Universidad Nacional Autónoma de México.

^{1,4,6} Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

RESUMEN

El alcoholismo se considera una enfermedad, en la que una persona tiene una necesidad incontrolable por ingerir bebidas conteniendo alcohol, no teniendo en cuenta el tipo de alcohol, el tiempo que se ha consumido o la cantidad exacta ingerida. En México, el alcoholismo representa un problema de Salud Pública, que aqueja a hombres y mujeres por igual, sin importar su educación, raza, nivel socioeconómico o creencias religiosas. En el año 2001, la tasa de mortalidad por cirrosis o enfermedades crónicas del hígado en hombres fue de 9.1% y en mujeres de 11.9%. Igualmente, el alcoholismo es un factor importante como causa de muerte, ya que en hombres representó el tercer lugar y en las mujeres, el sexto lugar. Cuando una persona consume alcohol en exceso se puede ocasionar enfermedades al interferir con el estado nutricional del bebedor. El alcohol puede alterar la ingesta, absorción en el cuerpo y utilización de varios nutrientes. Como resultado, los alcohólicos con frecuencia presentan deficiencias en proteínas que pueden contribuir a la enfermedad hepática y/o a desórdenes relacionados la biotransformación del alcohol. No existen evidencias claras acerca de que en sujetos alcohólicos que han pasado por un período de abstinencia se presente un reestablecimiento del metabolismo. Este trabajo tuvo como propósito determinar la existencia de una recuperación metabólica en aquellos sujetos que sufrieron alcoholismo crónico y han pasado por una abstinencia total en el consumo de alcohol, evaluando los contenidos de diversos componentes plasmáticos que dependen del metabolismo del individuo.

INTRODUCCIÓN

Para la mayoría de las personas, el alcohol es un compañero placentero en las actividades sociales. Las bebidas alcohólicas consisten de agua, alcohol y cantidades variables de azúcares. Por ejemplo, el whisky y cognac, no contienen azúcares, mientras que los vinos tinto y blanco contienen entre 2-10 gramos por litro (g/L) y la cerveza llega a contener 30 g/L. Igualmente, el contenido de alcohol varía entre las bebidas. La medida normal de un trago es una botella de 350 g de cerveza, o un vaso de 140 g con vino o 42.5 g de licor de 80 °GL contienen entre 12 a 14 gramos de alcohol (Lieber, 1991a). El uso moderado del alcohol se considera hasta dos tragos por día para los hombres y hasta un trago por día para las mujeres y personas mayores. Bajo ciertas condiciones, las calorías derivadas del alcohol cuando son consumidas en cierta cantidad tienen menor valor biológico que los carbohidratos. Pirola y Lieber (1972)

compararon los pesos corporales de dos grupos de sujetos que recibieron dietas balanceadas conteniendo el mismo número de calorías. En uno de los grupos, el 50% de las calorías derivaba de los carbohidratos, en tanto que, en el otro las calorías procedían del alcohol no excediendo la cantidad consumida rutinariamente. Los resultados mostraron que los sujetos que consumían alcohol mostraron una mayor disminución en el peso corporal. Esto sugirió que la energía contenida en el alcohol se perdió, ya que no estuvo disponible para que el cuerpo produjera o mantuviera la masa corporal.

Diversos mecanismos se han propuesto acerca de la pérdida de la energía derivada del alcohol. Se considera que una proporción de energía puede ser gastada durante el rompimiento del alcohol por la vía del sistema microsomal oxidativo del etanol (MEOS, *microsomal ethanol-oxidizing system*) (Lieber 1991a). Algunos detalles acerca de este sistema se describen líneas abajo.

La biotransformación enzimática del alcohol

Cuando una persona bebe alcohol, la mayor parte de éste es metabolizado en el hígado por la intervención de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH), que a través de un proceso de oxidación transforma el alcohol en acetaldehído, que al cuerpo humano es extremadamente tóxico. Normalmente, la enzima acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) convierte el acetaldehído en acetato, que puede desplazarse por todo el cuerpo e

¹ Aspirante a Maestra en Biología Experimental.

² Doctor en Bioquímica. Instituto de Fisiología Celular. Av. Coyoacán 3000. México, Distrito Federal.

³ Maestra en Biología.

⁴ Doctor en Biología, especialidad en Biología Molecular.

⁵ Maestra en Ciencias, especialidad en Toxicología.

⁶ Doctor en Biología, especialidad en Bioquímica y Biología Celular. gool@xanum.uam.mx.

⁷ (1,4,6) Departamento de Ciencias de la Salud y Biología. Av. San Rafael Atlxco 186. C.P. 09340.

incorporarse en otros ciclos metabólicos (Lieber, 1994). Cabe señalar, que las deshidrogenasas del alcohol y del aldehído participan en el metabolismo de la vitamina A. Durante el consumo crónico de alcohol, el hígado emplea de manera principal el sistema enzimático localizado en los microsomas, MEOS que contiene el citocromo p450 2E1 (CYP450-2E1) que oxida al alcohol en acetaldehído.

El CYP450-2E1 se ha investigado intensamente, porque es una enzima polimórfica cuya actividad aumenta después del consumo del alcohol por períodos largos de tiempo, y que de manera normal participa en la biotransformación de xenobióticos (Lieber 1997). A este respecto, en el análisis de los niveles de CYP2E1 usando biopsias de personas que habían ingerido alcohol muy recientemente se encontró que los niveles eran cuatro veces más altos que en sujetos que no habían consumido alcohol, mientras, que los niveles hepáticos de la ADH no cambiaban después del consumo de alcohol (Tsutsumi y col., 1989). Además de las posibles repercusiones que el alcohol produce *per se* en la fisiología del individuo, se ha observado que la activación del MEOS por la exposición al alcohol, se puede alterar la biotransformación de ciertos medicamentos y pueden contribuir a interacciones dañinas con el alcohol.

Daños hepáticos producidos por el consumo del alcohol

Los estudios epidemiológicos han sugerido que el alcohol debe ser consumido a ciertos niveles de dosis para que comiencen a presentarse lesiones serias en distintos órganos, principalmente el hígado (Mezey y col., 1988; Maher, 1997). Varios de los daños directos sobre la célula que ocurren durante la enfermedad hepática alcohólica se considera se relacionan con la generación de radicales libres que contienen oxígeno y que se conoce son altamente reactivos (Wu y Cederbaum, 2003). Cabe señalar que los radicales libres, también se generan en niveles basales en varios procesos metabólicos y pueden ser eliminados por moléculas protectoras que se denominan antioxidantes. Cuando los radicales libres son producidos en exceso o cuando las defensas antioxidantes están dañadas o alteradas, entonces los radicales libres pueden interaccionar con constituyentes vitales de la célula, alterar su función y causar la muerte de la célula (Maher, 1997; Medina y col., 2005). A pesar de que se pudiera dar por hecho, no todos los alcohólicos desarrollan enfermedades hepáticas severas, a pesar de que hayan consumido grandes cantidades de alcohol. En personas susceptibles, el elevado consumo de alcohol por largos períodos puede causar la enfermedad hepática alcohólica. No obstante, el hecho de que sólo una parte de bebedores comunes desarrollen esta enfermedad o en caso extremo la cirrosis, señala que son importantes los rasgos genéticos, género, dieta, nutrición e infecciones (Maher, 1997; Ely y col., 1999).

En el organismo, las consecuencias que producen el consumo de alcohol durante largos períodos de tiempo son serias en muchos casos, que incluso de amenaza o

ponen en la vida del paciente. Los individuos que son bebedores frecuentes pueden aumentar el riesgo de desarrollar cáncer de hígado, esófago, garganta y laringe (Marsano y col., 2003). A pesar de que el alcoholismo es una enfermedad tratable, todavía no existe una cura única. Los individuos que consumen alcohol de manera continua, pueden dejar de consumirlo de manera repentina.

Tratamiento para la recuperación del alcoholismo

El proceso de adaptación involucra diversos mecanismos para aumentar la excitabilidad de las neuronas para responder a señales de otras neuronas. Durante la abstinencia el alcohol es eliminado del cuerpo, y ocurre una activación compensatoria en el CNS que provocan en una excitabilidad excesiva que se mantiene por varios días. La hiperexcitabilidad se manifiesta como un síndrome de abstinencia (SA) con síntomas que van desde ansiedad, agitación, temblores corporales moderados, insomnio, irritabilidad, náuseas o vómito, hasta alucinaciones auditivas o visuales. La severidad de los síntomas de abstinencia puede variar entre los alcohólicos y entre los episodios de abstinencia. Se considera que existe una relación positiva con la cantidad de alcohol consumido y la duración de la intoxicación (Becker, 1998; Saitz, 1998; Trevisan col., 1998). La incidencia del alcoholismo en el mundo es elevada, hecho que ha permitido el desarrollo de asociaciones que promueven que no se consuma alcohol. Las personas que dejan de consumir alcohol sin seguimiento profesional experimentan una abstinencia alcohólica.

En el mundo y nuestro país, existe el grupo alcohólicos anónimos (AA) terapia intensiva quien cumple este propósito. En el programa AA, los individuos deben mantenerse recluidos durante 90 días para conseguir su recuperación. El método de trabajo sólo se basa en la transmisión de experiencias personales (Alcoholic Anonymous World Service, 1989). No existe un tratamiento específico y extensivo para dejar de beber. Se considera que un tratamiento adecuado debe tener en cuenta la gravedad del problema de la persona y que los recursos estén disponibles en su comunidad. El tratamiento puede incluir la eliminación del alcohol del cuerpo, la administración de disulfiram o la naltrexona para impedir la biotransformación del etanol, y la ingestión de medicamentos como las benzodiazepinas para regular los síntomas de la abstinencia y prevenir los frecuentes episodios de recaída (Saitz, 1998). Otro factor de suma importancia en el tratamiento, es la consejería que proporciona ayuda a los sujetos alcohólicos para desarrollar otras estrategias que les permitan enfrentarse a situaciones y sentimientos en los que no se involucre la ingesta de alcohol. Este tipo de consejerías involucra la participación familiar que también se considera importante en el proceso de recuperación. Además de lo anterior, todos los programas de tratamiento incluyen reuniones del programa de Alcohólicos Anónimos. Por

otro lado, se ha considerado que la abstinencia alcohólica puede ser causada por deficiencias nutricionales. En los pacientes alcohólicos la tolerancia tiene un alto precio y durante ella, se pueden desarrollar daños severos en distintos tejidos derivadas de alteraciones metabólicas y nutricionales (Saitz, 1998). Estas lesiones se desarrollan en forma lenta, en las etapas tempranas pueden desaparecer después de una abstinencia total (Derr y col., 1990).

Teniendo en cuenta el marco teórico descrito antes, este estudio tuvo como propósito determinar la existencia de una recuperación metabólica en aquellos sujetos que sufrieron alcoholismo crónico y han pasado por una abstinencia total en el consumo de alcohol, evaluando los contenidos de diversos componentes plasmáticos que dependen del metabolismo del individuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Obtención de muestra

Los donadores fueron 120 personas, cuya edad osciló entre 18 y 35 años. El tiempo que habían dejado de ingerir bebidas alcohólicas varió desde 1 hasta más de 75 días. De cada sujetos se obtuvieron 10 ml de sangre periférica por punción venosa empleando tubos al vacío conteniendo heparina (Vacutainer, Becton-Dickinson, EUA). El plasma se obtuvo al centrifugar la sangre a 400 g durante 15 min., y se guardó en tubos eppendorf que se almacenaron a -70°C hasta el momento de cada análisis.

b) Cuantificación de proteínas

El contenido de proteínas en el plasma, se realizó mediante el método de Rojkin y col., 1974a. En tubos de ensayo se colocaron 50 μl de plasma o estándar o agua, y se adicionaron 3.5 mL de reactivo conteniendo ácido etilendiaminotetra- acético (EDTA, 13 mM) en hidróxido de sodio (875 mM) y 0.5% de lauryl sulfato de sodio. Los tubos se agitaron y se incubaron durante 10 min El producto colorido se leyó a una absorbancia de 540 Nm de longitud de onda.

c) Determinación del contenido de albúmina

Se realizó por el método propuesto por Rokjín y col., 1974b. En tubos de ensayo se colocaron 10 μl de plasma o estándar y se añadieron 3.5 mL de reactivo bromocresolsulfon-ftaleína (en polioxietileno-lauril-éter), se agitó la mezcla y se incubó a 28°C durante 10 min. Después, se leyó la absorbancia a 625 Nm.

d) Cuantificación del contenido de lípidos totales

En tubos limpios se colocaron 50 μl de plasma o estándar y se adicionó 1 mL de ácido sulfúrico (97%, JT Baker, México), la mezcla se incubó en baño maría hirviendo durante 10 minutos. Una vez que la disolución se enfrió, se tomaron 0.1 mL y se transfirieron a otros

tubos limpios donde se añadieron 2.5 mL de mezcla reveladora que contenía ácido fosfórico (11.9 mM/L), vainillina (8 mM/L) y la absorbancia se leyó a 530 nm (Folch y col., 1957).

e) Estimación colorimétrica del contenido plasmático de colesterol

Al volumen de 20 μl de plasma o estándar se adicionó 1 ml de solución de anhídrido acético (6.33 M/l) (J.T. Barker, México) en ácido acético (99%, Merck., México), la mezcla se incubó durante 10 minutos a 25°C . Luego, se añadieron 0.2 ml de ácido sulfúrico (97%, J.T. Baker, México), la mezcla resultante se incubó a 20°C en baño María durante 20 min, al final se leyó la absorbancia a 610 nm (Dittmer y Wells, 1969).

f) Determinación de la actividad enzimática

Todas las estimaciones de la actividad de las enzimas aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa se realizaron a 25°C .

Actividad de la aspartato aminotransferasa (ASAT)

La actividad de la ASAT se realizó usando como base el procedimiento propuesto por Reitman y Frankel (1957), se emplearon los sustratos; L-aspartato (240 mM/L), Nicotimina adenina dinucleótido reducido (NADH), malato deshidrogenasa (240 U/L), lactato deshidrogenasa (600 U/l), 2-alfa cetoglutarato (12 mM/L) en amortiguador Tris-HCl (80 mM/, pH 7.8). En una celda espectrofotométrica se pusieron 3 mL del reactivo de medida y se añadieron 300 μl de plasma, la mezcla se agitó y la absorbancia se midió a 340 Nm de longitud de onda, a tiempos de 30 segundos, 1, 2 y 3 minutos.

Actividad de la alanina aminotransferasa (ALAT)

Se empleo el mismo sistema enzimático acoplado semejante que para ASAT, excepto que el sustrato fue alanina y las proporciones en algunas enzimas fue distinta. Se empleo como reactivo de medida una mezcla que contenía; L-alanina (500 mM/L), NADH (0.18 mM/L), lactato deshidrogenasa (1,200 U/l), 2-alfa cetoglutarato (15 mM/L) en amortiguador Tris-HCl (100 mM/L, pH 7.5). En una celda espectrofotométrica se colocaron 3 mL del reactivo de medida y se añadieron 300 μl de plasma, la mezcla se agitó y la absorbancia se midió a 340 Nm de longitud de onda, a los tiempos de 30 segundos, 1, 2 y 3 minutos.

g) Análisis estadístico

Se emplearon los métodos descriptivos como el promedio, la desviación estándar y las gráficas de barra para definir el comportamiento de las variables analizadas y para plantear posibles causas-efecto

observadas se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney (Sigma Stat, versión 2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En una persona con adicción a ingerir alcohol ocurre una interacción compleja entre el estado nutricional y el consumo de alcohol. Muchas personas que consumen uno o dos vasos de bebida alcohólica por día, se considera forman parte de su dieta normal, debido a que se adquiere un cierto número de calorías de ellas (Lieber, 1991b). No obstante, cuando el etanol se consume en exceso, puede interferir con el estado nutricional y causar enfermedades interfiriendo con la ingestión, absorción y utilización de diversos nutrientes. En relación a esto, se considera que muchos alcohólicos sufren algún nivel de desnutrición primaria o secundaria. La desnutrición primaria ocurre cuando el alcohol en la dieta reemplaza a otros nutrientes provocando una reducción en la ingesta. La desnutrición secundaria se presenta cuando la persona consume los nutrientes adecuados pero el etanol interfiere con la absorción de los nutrientes por el intestino y no están disponibles al cuerpo. El tracto gastrointestinal se encuentra entre los órganos que participan en los efectos del alcohol sobre el cuerpo y la salud. Debido a que es el primer sitio de absorción del alcohol hacia la sangre, y en menor medida en la eliminación. El contacto directo de las bebidas alcohólicas con la mucosa puede inducir cambios metabólicos y funcionales, que alteran la digestión de otros nutrientes, así como su asimilación por el cuerpo. Estos desórdenes contribuyen a la desnutrición y pérdida de peso, características frecuentemente observadas en los sujetos alcohólicos (Figura 1) (Liber, 1988, 1989; Bode y Bode, 1997).

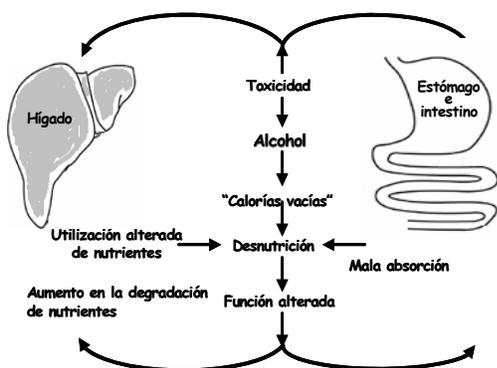


FIGURA 1. Los efectos tóxicos del etanol sobre el estado nutricional. El etanol ingerido puede reemplazar a los carbohidratos o a las proteínas e influir de manera negativa en la absorción de nutrientes conduciendo a una etapa de desnutrición. Además, las calorías proporcionadas por el etanol pueden no ser usadas por el cuerpo se consideran "calorías vacías". Por otro lado, el alcohol tiene efectos directos sobre el hígado y tracto gastrointestinal provocando una ingestión alterada y reduciendo la absorción de nutrientes y la utilización o aumento en la eliminación de nutrientes. Estos efectos son conocidos como desnutrición secundaria y pueden contribuir al avance del daño hepático (Lieber, 1991b).

El consumo de alcohol a niveles altos, no sólo influye en la dieta de la persona, sino también altera el metabolismo de los nutrientes que son ingeridos. Si el bebedor ingiere suficientes proteínas, grasas, vitaminas y minerales, las deficiencias se pueden desarrollar en aquellos nutrientes que no son absorbidos desde el tracto gastrointestinal, o no son metabolizados apropiadamente y/o no son usados por las células del cuerpo. Esto ocurre en el caso de las proteínas y las vitaminas (Bode y Bode, 1997; Beck y Rosenthal, 2002). Cuando se presenta una desnutrición más severa, es acompañada por una disminución significativa en la masa muscular. Esta variedad de desnutrición se encuentra en aquellos sujetos hospitalizados por complicaciones fisiológicas relacionadas al alcoholismo (Liber, 1988, 1989). Si estos pacientes continúan consumiendo alcohol, seguirán perdiendo peso, lo contrario ocurrirá si se abstienen (Liber, 1991b). No obstante, se considera que hay poca correlación entre las mediciones antropométricas y la composición corporal (Beck y Rosenthal, 2002). En la figura 2, se muestran las variaciones en contenido total de proteínas en el plasma sanguíneo de sujetos que sufrieron alcoholismo crónico después de un período de abstinencia. Se puede observar que a partir de la segunda quincena hubo un aumento significativo en el contenido de proteínas totales. Los resultados de estudios *in vivo* e *in vitro* han sugerido que el alcohol produce una disminución cuantitativa y cualitativa en la síntesis de proteínas después de un corto período de exposición, éste parece es evidente cuando se atiende a los individuos con los niveles más bajos de proteínas (5.44 ± 0.55 g/dL).

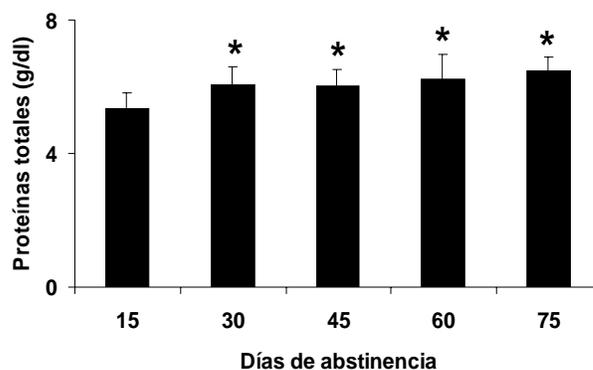


FIGURA 2. Variaciones en el contenido de proteínas totales en el suero de sujetos alcohólicos después de un período de abstinencia alcohólica. El asterisco representa que existió diferencia significativa ($p < 0.05$) cuando se comparó con el primer período de abstinencia (15 días).

Esta observación concuerda con lo que se ha determinado en pacientes con fallas hepáticas crónica, que en muchos casos son alcohólicos, donde se encontraron alteraciones en el metabolismo de diversas proteínas como albúmina y factores de coagulación. En el hígado, se ha reportado también la disminución en la síntesis de urea y disminución en el metabolismo de aminoácidos aromáticos (Lang y col., 2000). Lo anterior, también se asocia con el hecho de que se ha establecido

que el alcohol puede interferir en la ingesta de los aminoácidos esenciales. En animales de experimentación expuestos al etanol, se ha encontrado que absorbieron menos aminoácidos en el intestino después de que les fue administrado alcohol (Bernai y col., 1993).

En el hígado se ha establecido que el mecanismo por el que el alcohol influye en la síntesis de proteínas es a través de cambios en el inicio y la elongación del ARN mensajero induciendo una disminución en el inicio de la síntesis de proteínas. No obstante, se considera que en el hígado, los cambios en el metabolismo de proteínas observado durante el alcoholismo crónico puede ser reversible (Lang y col., 2000; Vary y col., 2005). Por otro lado, nuestros resultados mostraron que a partir de la segunda quincena el proceso de abstinencia parece inducir a una recuperación importante en los niveles de proteínas, reflejando un reestablecimiento de la capacidad de síntesis de las células del organismo (Figura 2). En cuanto a lo anterior, se ha observado entre 10 y 20 por ciento de las personas con un consumo alto desarrollan cirrosis por alcohol o daño al hígado. Pero, si se dejan de consumir alcohol, una vez diagnosticada con cirrosis y, a pesar de que se trata de una enfermedad no reversible, las posibilidades de supervivencia aumentan considerablemente. Las personas con cirrosis a menudo se sienten mejor y el funcionamiento del hígado puede mejorar cuando dejan de tomar alcohol (Trevisan y col., 1998). La consecuencia más evidente del efecto por la alteración la síntesis de proteínas es la disminución en la producción de la albúmina, que conlleva a niveles menores de esta proteína en la sangre (Lieber, 1997). Este efecto sobre la albúmina pueden causar o exacerbar la acumulación de líquido en el abdomen (v.gr., ascitis) (Beck y Rosenthal, 2002).

El análisis del contenido de albúmina en el plasma de sujetos en los diferentes períodos de abstinencia, mostró que los valores promedio al inicio del período fueron bajos (3.23 ± 0.29 g/dL), y que fueron aumentando a partir de la tercera quincena (3.78 ± 0.46 g/dL) (Figura 3), siendo éste el período en que se estabiliza el contenido de esta proteína. Nuestros resultados, parecen señalar que se requiere mayor tiempo para que el hígado recupere su capacidad de síntesis de albúmina. Otra alteración metabólica importante que ocurre con el abuso en el consumo de alcohol es la acumulación de grandes cantidades de lípidos en el parénquima hepático y la hiperlipemia (Achord, 1995). Teniendo en cuenta lo anterior, se realizó la cuantificación de lípidos totales en el plasma de individuos alcohólicos crónicos en período de abstinencia. En la figura 4, se observa que durante el primer mes de abstinencia, el contenido de lípidos totales fue significativamente alto (835 ± 401.25 mg/dL), esto parece relacionarse al hecho de que la biotransformación del etanol mediante la acción de la enzima alcohol deshidrogenada, puede influir en el metabolismo intermediario.

El rompimiento del alcohol genera átomos de hidrógeno y acetaldehído. Los átomos de hidrógeno interactúan con la nicotinamida dinucleótido adenosina

(NAD) reduciéndola a NADH. Esta molécula participa en varias reacciones bioquímicas esenciales en la célula, y en el proceso transfiere su hidrógeno a otras moléculas. El funcionamiento óptimo de la célula depende de las relaciones NAD/NADH que son finamente controladas y la biotransformación del alcohol genera exceso de NADH, la célula no puede mantener la relación adecuada de NAD/NADH y puede generar varios desordenes metabólicos (Figura 1) (Lieber, 1991b).

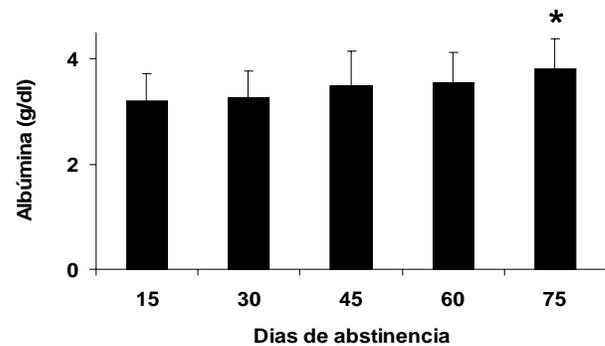


FIGURA 3. El contenido de albúmina se recupera lentamente en el suero de sujetos alcohólicos después de un período de abstinencia. El asterisco representa que existió diferencia significativa ($p < 0.05$) cuando se comparó con el primer período de abstinencia (15 días).

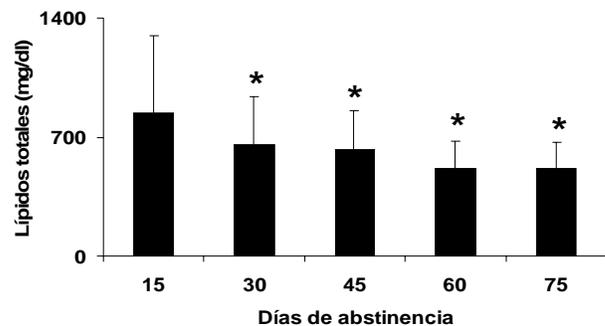


FIGURA 4. El contenido de lípidos totales en el suero de sujetos alcohólicos va disminuyendo conforme avanza el período de abstinencia. El asterisco representa que existió diferencia significativa ($p < 0.05$) cuando se comparó con el primer período de abstinencia (15 días).

Los niveles altos de NADH promueven la generación de ácidos grasos, disminuyen el rompimiento de las grasas en el hígado induciendo su acumulación en este órgano (Lieber y Schmid, 1961), que se ha asociado con una reducción en la excreción de lipoproteínas desde el hígado, la liberación de grasas desde otros tejidos, que son transportados al hígado, y la intensificación en la captura de grasas por parte del hígado. Todos estos eventos conducen a la formación del hígado graso. También, se inhibe la síntesis de glucosa contribuyendo a un fenómeno de hipoglucemia, sobretodo en el estado avanzado de alcoholismo (Brindley, 1987). Después de un período de abstinencia se observó que los niveles de lípidos totales disminuyeron significativamente a partir de la tercera quincena (120.18 ± 3789.20 mg/dL). Esta diferencia podría relacionarse a una estabilización metabólica en la que los lípidos acumulados pudieron ser

empleados para obtener energía, o bien, que ya ocurrió un ajuste en el exceso de NADH y se comienzan a emplear otras fuentes energéticas. Un efecto contrario se observó a la quinta quincena donde se observó un aumento en el contenido de lípidos totales que podría ser una consecuencia el tipo de dieta a la que estuvieron sujetos los individuos durante el período de rehabilitación alcohólica. En cuanto al efecto de la exposición al etanol sobre el contenido de colesterol, se ha observado que la administración crónica de alcohol produce, el reemplazo hepático de carbohidratos como fuente de energía y la acumulación de colesterol esterificado que se correlaciona con un aumento de alcohol etílico en la sangre (Lefevre y col., 1972).

La estimación del contenido de colesterol después de un período de abstinencia alcohólica mostró que en las dos primeras quincenas, los niveles de éste lípido estuvieron elevados (260.68 ± 98.36 mg/dL), pero a partir de la tercera quincena el contenido disminuyó significativamente. Este comportamiento podría deberse al catabolismo del colesterol y/o aumento para convertir a éste en ácidos biliares. Otro factor, podría ser el tipo de dieta. Crouse y Grundy, 1984 observaron que la alimentación simultánea de colesterol y alcohol resulta en un aumento de 20 veces el contenido de colesterol esterificado y plasmático.

Finalmente, se ha mostrado que el contenido de colesterol disminuye de manera marcada con la disminución en la actividad de enzimas en un mes de abstinencia. El diagnóstico clínico del alcoholismo se hace mediante la determinación de la actividad de tres enzimas hepáticas, la gamma-glutamyltransferasa (GGT), la aspartato aminotransferasa (ASAT), y alanina aminotransferasa (ALAT). La enfermedad hepática se relaciona a un aumento al doble en actividad de la ASAT en comparación a los valores de la ALAT, esta relación se ha encontrado en más del 80% de los pacientes con enfermedad alcohólica del hígado. De las tres enzimas la GGT es el mejor indicador del consumo excesivo de alcohol, pero la GGT está presente en muchos órganos y sus niveles aumentan por otras drogas, por lo que, altos niveles en la GGT no necesariamente se asocian a un paciente con abuso de alcohol (Marsano y col., 2003).

El análisis de la actividad de enzimas séricas en pacientes juega un papel importante en la práctica clínica, la determinación de la actividad de una sola enzima indicadora no es suficiente para el diagnóstico exacto entre el daño producido por la ingesta crónica del alcohol, por lo que es necesario una combinación de pruebas para obtener mayor información.

Las aminotrasferasas del aspartato y la alanina plasmáticas se han considerado como marcadoras del alcoholismo y proporcionan información importante acerca del estado de salud (Allen col., 2001), teniendo en cuenta que en el hígado, la ASAT transfiere el exceso de nitrógeno metabólico en forma de aspartato para aplicarlo en el ciclo de la urea (Nalpas y col., 1991).

Por sus características fisicoquímicas, el alcohol puede penetrar rápidamente la bicapa lipídica alterando las

propiedades de la membrana (Schroeder y col., 1988). Los productos metabólicos del etanol provocan alteraciones estructurales de la membrana que provocan la alteración de la permeabilidad haciendo posible que elementos citosólicos puedan incorporarse al plasma.

En relación a esto, al determinar la actividad de la enzima aspartato aminotransferasa (ASAT) en plasma de individuos que habían sufrido alcoholismo crónico y estaban en período de abstinencia, se observó que durante las dos primeras quincenas fue elevada (Figura 5), en la cual se observa que la estabilización en la actividad de la ASAT indicadora de daño hepático ocurrió a partir de la tercera quincena del período de abstinencia, donde se observó una disminución significativa en la actividad promedio (51.81 ± 40.22 U/L), llegando a tener valores de referencia (19 U/L) para sujetos normales, lo cual indica que el daño en la membrana no progresa de manera indefinida. El mismo comportamiento se observó en la actividad ALAT que se localiza en hígado y corazón. La alteración en la permeabilidad de ambos órganos por el consumo de alcohol provocó un aumento en la actividad plasmática de ALAT en el plasma en la primera quincena de abstinencia (Figura 6), y a partir de las quincenas siguientes hubo una disminución significativa hasta observar en algunos casos valores similares a los valores de referencia (18 U/L).

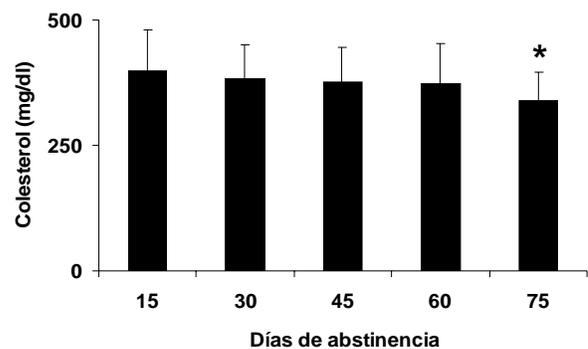


FIGURA 5. El contenido de colesterol en el suero de sujetos alcohólicos disminuye en el último de período de abstinencia. El asterisco representa que existió diferencia significativa ($p < 0.05$) cuando se comparó con el primer período de abstinencia (15 días).

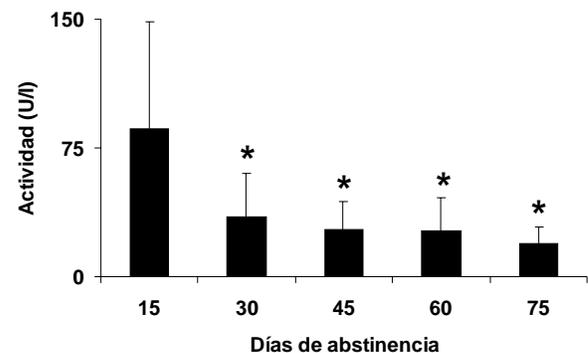


FIGURA 6. Cambios en la actividad de la aspartato aminotransferasa en suero de sujetos alcohólicos después de un período de abstinencia. El asterisco representa que existió diferencia significativa ($p < 0.05$) cuando se comparó con el primer período de abstinencia (15 días).

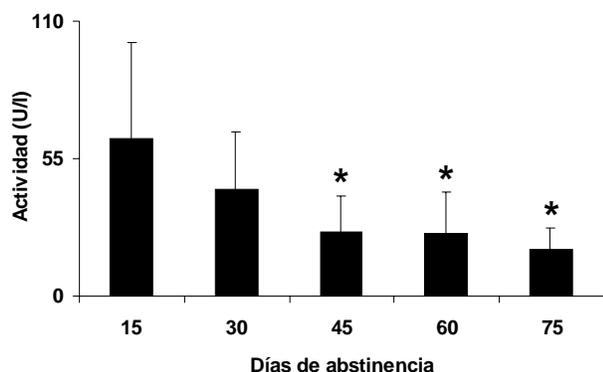


FIGURA 7. Cambios en la actividad de la alanina aminotransferasa en suero de sujetos alcohólicos después de un período de abstinencia. Se colectó la sangre de sujetos alcohólicos que han dejado de ingerir bebidas alcohólicas, se obtuvo el suero y se determinó la actividad. El asterisco representa que existió diferencia significativa ($p < 0.05$) cuando se comparó con el primer período de abstinencia (15 días).

Se puede considerar que la liberación de enzimas citosólicas al plasma parece estar relacionado con un efecto fluidizante del alcohol y por el ataque de los radicales libres a los ácidos grasos en los fosfolípidos constituyentes de la membrana plasmática (Gutiérrez-Ruiz y col., 1995).

CONCLUSIONES

En este trabajo solo se determinó la actividad en plasma de proteínas citosólicas que se localizan normalmente dentro de la célula hepática. A pesar de no haber determinado enzimas membranales como la fosfatasa alcalina o gamma glutamiltranspeptidasa, se observó que las enzimas citosólicas fue un buen parámetro para conocer si ocurría o no una recuperación metabólica después de la ausencia del alcohol. En este estudio todos los individuos analizados fueron del sexo masculino, y ninguna mujer. Aunque, se ha observado que la mujer desarrolla cirrosis a menores dosis acumulativas de alcohol en comparación al hombre (Mezey y col., 1988), las evidencias biológicas sugieren que las mujeres son más sensibles a los efectos fisiológicos que el hombre. Se ha reconocido que en mujeres, una dosis dada de etanol resulta en un nivel mayor de alcohol en sangre que en hombres, y por esta razón la mujer sufre mas daño físico al beber la misma cantidad de alcohol que un hombre (Mumenthaler y col., 1999). Los resultados obtenidos reflejan que la abstinencia alcohólica tiene un efecto favorable en el metabolismo de proteínas y lípidos. Aunque, la recuperación metabólica no es inmediata.

REFERENCIAS

- Achord, J.L. (1995). "Alcohol and the liver". *Sci. Med.*, 2, 16-25.
- Alcoholics Anonymous World Service (1989). Alcoholics Anonymous. New York.181.
- Allen, J.P, Litten, R.Z, Strid, N. y Sillanaukee, P. (2001). "The role of biomarkers in alcoholism medication trials". *Alcohol Clin Exp Res.* 25, 1119-1125.
- Beck, F.K. y Rosenthal T.C. (2002). Prealbumin: "A Marker for Nutritional Evaluation". *Am. Fam. Physician.*, 65, 1575-1578.
- Becker, H.C. (1998). "Kindling in alcohol withdrawal". *Alcohol Health Res. World.*, 22, 26-33.
- Bernai, C. A., Vazquez, J. A. y Adibi, S. A. (1993). "Leucine metabolism during chronic ethanol consumption". *Metabolism.*, 42, 1084-1086.
- Bode, C. y Bode J.C. (1997). "Alcohol's role in gastrointestinal tract disorders". *Alcohol Health Res. World.*, 21, 76-86.
- Brindley, D.N. (1987). "What factors control hepatics triacylglycerol accumulation in alcohol abuse". *Biochem. Soc. Trans.* 16, 251-253.
- Crouse, J.J y Grundy, S. (1984). "Effects of alcohol on plasma lipoprotein and cholesterol and triglyceride metabolism in man". *J. Lipid Res.*, Pp. 25, 486-496.
- Derr, R.F., Porta, E.A., Larkin, E.C. y Rao, G.A. (1990). "Is alcohol per se hepatotoxic?". *J. Hepatol.*, 10, 381-385.
- Dittmer, J.C. y Wells, M.A. (1969). "Quantitative and qualitative analysis of lipids and lipid components". *Meth. Enzymol.*, 14, 486-487.
- Ely, M., Hardy R., Longford NT, Wadsworth, MEJ. (1999). "Gender differences in the relationship between alcohol consumption and drink problems are largely accounted for by body water". *Alcohol & Alcoholism.*, 34, 894-902.
- Folch, J., Lees, M. y Stanley, S. (1957). "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues". *J Biol Chem.* 226, 497-509.
- Gutierrez-Ruiz MC, Gomez JL, Souza V, Bucio L. (1995). "Chronic and acute ethanol treatment modifies fluidity and composition in plasma membranes of a human hepatic cell line" (WRL-68). *Cell Biol Toxicol.*, 11, 69-78.

- Lang, C.H., Frost, R.A., Kumar, V., Wu, D. y Vary, T.C. (2000). "Impaired protein synthesis induced by acute alcohol intoxication is associated with changes in eIF4E in muscle and eIF2B in liver". *Alcohol Clin. Exp. Res.* 24, 322-331.
- Lefevre, A.F., DeCarli, L.M., Lieber, C.S. (1972). "Effect of ethanol on cholesterol and bile acid metabolism". *J. Lipid Res.* 13, 48-55.
- Lieber, C.S. (1988). "The influence of alcohol on nutritional status". *Nutrition Reviews.*, 46, 241-254.
- Lieber, C.S. (1989). "Alcohol and nutrition: An overview". *Alcohol Health Res. World.*, 13, 197-205).
- Lieber, C.S. (1991a). "Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol": 1991 update. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 15, 573-592.
- Lieber, C.S. (1991b). "Alcohol, liver, and nutrition". *J. Am. Coll. Nutr.* 10, 602-632.
- Lieber, C.S. (1993). "Biochemical factors in alcoholic liver disease". *Semin. Liver. Dis.* 13, 136-153.
- Lieber, C.S. (1994). "Alcohol and the liver": 1994 update. *Gastroenterology.*, 106, 1085-1105.
- Lieber, C.S. (1997). "Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism". *Clin. Chim. Acta.*, 257, 59-84.
- Lieber, C.S. y Schmid, 1961. "The effect of ethanol on fatty acid metabolism; stimulation of hepatic fatty acid synthesis in vitro". *J. Clin. Invest.*, 40, 394-399.
- Marsano, L.S., Mendez, C., Hill, D., Barve, S. y McClain, C.J. (2003). "Diagnosis and treatment of alcoholic liver disease and its complications". *Alcohol Res. Health.*, 27, 247-253.
- Maher, J.J. (1997). "Exploring alcohol's effects on liver function". *Alcohol Health Res. World.*, 21, 5-12.
- Medina, J. y Moreno-Otero R. (2005). "Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease". *Drugs.*, 65, 2445-2461.
- Mezey, E., Kolman, C.J., Diehl, A.M., Mitchell, M.C. y Herlong, H. F. (1988). "Alcohol and dietary intake in the development of chronic pancreatitis and liver disease in alcoholism". *Am. J. Clin. Nutr.* 48, 148-151.
- Mumenthaler, M.S., Taylor, J. L., O'Hara, R. y Yesavage, J.A. (1999). "Gender Differences in moderate drinking effects". *Alcohol Res. Health.*, 23, 55-64.
- Nalpas, B.; Vassault, A.; Poupon, R.E.; Pol, S.; and Berthelot, P. "An overview of serum mitochondrial aspartate aminotransferase (mAST) activity as a marker of chronic alcohol abus". *Alcohol Alcohol Suppl.*, 1, 455-457, 1991.
- Pirola, R.C. y Lieber, C.S. (1972). "The energy cost of the metabolism of drugs, including ethanol". *Pharmacology.*, 7, 185-196.
- Reitman, S. y Frankel, S. (1957). "A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases". *Am. J. Clin Pathol.*, 28, 56-59.
- Rojkín, M.L., Olgúin, M.C., Drappo, J.A. y Sosa, C.F. (1974a). "Proteínas totales del suero. Causas más frecuentes de error en la reacción de Biuret". Nuevo reactivo cupro alcalino estable. *Bioq. Atlántica.*, 6, 1931-1934.
- Rojkín, M.L., Olgúin, M.C., Drappo, J.A. y Sosa, C.F. (1974b). "Fraccionamiento proteico con determinación directa de albúmina". *Bioq. Clin.* 8, 241-245.
- Saitz, R. (1998). "Introduction to alcohol withdrawal". *Alcohol Health Res. World.*, 22, 5 -12.
- Schroeder, F., Morrison, W.J., Gorka, .C. y Wood, W.G. (1988). "Transbilayer effects of ethanol on fluidity of brain membrane leaflet". *Biochim Biophys Acta.* 1988 Dec. 8, 946(1):85-94.
- Trevisan, L. A. Trevisan, Boutros, N, Petrakis, I. Krystal, J.H. (1998). "Complications of alcohol withdrawal". *Alcohol Health Res. World.*, 22, 62-66.
- Tsutsumi, M., Takada, A., Takase, S., Shimanaka, K. y Enyama K. (1989). "Effects of ethanol and its metabolites on collagen synthesis by cultured rat liver cells". *J Gastroenterol Hepatol.* 1989 May-Jun., 4(3), 229-40.
- Vary, T.C., Deiter, G. y Goodman, S.A. (2005). "Acute alcohol intoxication enhances myocardial eIF4G phosphorylation despite reducing mTOR signaling". *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 288, H121-128.
- Wu, D. y Cederbaum, A.I. (2003). "Alcohol, oxidative stress, and free radical damage". *Alcohol Res. Health.*, 27, 277-284.

Papel del enlace glicofosfatidilinositol (GFI) en las membranas plasmáticas de las células eucariotes

José Luis Gómez Olivares¹, Rosa María López Durán¹, Héctor Fernando Serrano¹, Enriquez Mendieta Marquez¹, María Dolores García Suárez², Pablo Rángel Silva³ y Cecilio Vidal Moreno⁴.

^{1,2} Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa..Av. Rafael Atlixco 186. CP. 09340. Distrito Federal. México.

³ Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Coyoacan 3000. Distrito Federal., México.

⁴ Universidad Murcia. Campus Espinardo. España. C.P. 30100. Murcia España.

RESUMEN

Las proteínas de membrana parecen mantenerse unidas a la bicapa lipídica por interacciones estables entre los fosfolípidos y los residuos de aminoácidos hidrofóbicos del polipéptido. En ocasiones, las proteínas quedan inmovilizadas por asociaciones proteína-proteína. Las acetilcolinesterasas son un buen ejemplo debido a que muestran un polimorfismo de estructuras cuaternarias con actividad catalítica semejante pero difieren en sus parámetros hidrodinámicos e interacciones iónicas o hidrofóbicas. Las subunidades catalíticas pueden variar en su glicosilación pueden oligomerizar en dímeros o tetrameros, que originan a las formas globulares (G), G₁, G₂ y G₄. Éstas pueden dividirse dependiendo de su anfifilicidad debido a la posibilidad de anclaje a la membrana celular por la estructura del glicofosfatidilinositol (GFI) o por la subunidad P. En los mamíferos, las subunidades H son únicas de células hematopoyéticas, que sintetizan dímeros G₂^A tipo I y cada una de las subunidades en sus residuos C-terminal presenta el anclaje GFI hacia la membrana. Las formas G₂^A de AChE de ratón, no se parecen a las mismas formas en otras especies, ya que no es liberada por una fosfolipasa C bacteriana específica de fosfatidilinositol (FLC-FI). Esta resistencia es debida a la existencia de un grupo pamitoil en un hidroxilo del inositol. La desacilación de la AChE de eritrocito de ratón por tratamiento con hidroxilamina facilita la acción de la FLC-FI. En proteínas de membrana, la incorporación del anclaje de GFI proporciona una mayor movilidad lateral debido a que su interacción es sólo en la cara externa de la bicapa de lípidos.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas de membrana permanecen unidas a la bicapa lipídica por las interacciones que se establecen entre los fosfolípidos y determinados aminoácidos hidrofóbicos del polipéptido. En ocasiones, las proteínas quedan inmovilizadas por asociaciones proteína-proteína o por la inclusión en la bicapa de ciertos restos hidrofóbicos ligados covalente a los aminoácidos. Este es el caso de las proteínas que poseen un ácido graso, algún derivado poliisoprenico o un glicofosfolípido (Low, 1988).

Descubrimiento de la fosfolipasa específica de fosfoinosítidos

Los Drs. Izekawa y Low demostraron que la exposición de células eucariotes o membranas a una fosfolipasa bacteriana, ésta última era capaz de hidrolizar específicamente el fosfatidilinositol liberando proteínas al medio. Por la especificidad a la enzima se la denominó fosfolipasa C dependiente de fosfoinosítidos (FLC-FI). Los productos del corte fueron varias proteínas de membrana, como la fosfatasa alcalina (FA), 5'-nucleotidasa (5'-NT) y acetilcolinesterasa (AChE). Igualmente, establecieron que la FA, una vez liberada por la FLC-FI no podía unirse nuevamente a la membrana. Estos resultados permitieron proponer que la FA estaba unida a las membranas a través del fosfatidilinositol y que el fosfolípido formaba parte de la proteína, a la que estaba unido por enlace covalente (Low, 1980). Williams y colaboradores (1977) observaron que el antígeno Thy-1 de linfocitos de rata contenía cantidades estequiométricas de etanolamina y ácidos grasos en los fragmentos lípidos del extremo C-terminal. En los trabajos sobre la glicoproteína variable de la superficie (VSG) de *Trypanosoma brucei*, Holder y Cross (1981), demostraron que la etanolamina servía de puente entre el aminoácido C-terminal, al que se unía por enlace amida y un oligoglucano. En cambio, la forma

¹Jose Luis Gómez Olivares (Mexicana, autor). Doctor en Biología, especialidad en Bioquímica y Biología Molecular. gool@xanum.uam.mx

¹Rosa María López Duran (Mexicana, coautora). Maestra en Ciencias, especialidad en Toxicología. asorairam10@hotmail.com

¹Enrique Mendieta Márquez (Mexicana, coautor). Maestro en Biología Experimental.

¹Hector Fernando Serrano (Mexicano, coautor). Doctor en Biología, especialidad en Biología Molecular.

^{1,2} Departamento de Ciencias de la Salud y Biología.

² María Dolores García Suárez (Mexicana, coautora). Maestra en Biología.

³ Pablo Rángel Silva (Mexicana, coautor). Doctor en Bioquímica.

³ Instituto de Fisiología Celular.

⁴ Cecilio Vidal Moreno (Española, coautor). Doctor en Bioquímica.

soluble de VSG carecía de ese dominio hidrofóbico de inserción en la membrana. Cardoso de Almeida y Turner (1983) descubrieron que los *Trypanosomas* poseen una enzima capaz de convertir las formas anfifílicas de VSG en hidrofílicas. Estos resultados y los de Holder y Cross (1981) llevaron a la conclusión de que la proteína VGS posee un dominio lipídico esencial para el anclaje a la membrana. Los análisis químicos posteriores confirmaron la importancia de los restos de glicosilfosfatidilinositol (GFI) para ligar las proteínas a las membranas (Ferguson y col., 1985).

Estudios con la acetilcolinesterasa (AChE) en vertebrados

Los análisis en las enzimas procedentes de *Torpedo californica* y eritrocito de mamífero demostraron que la liberación de la AChE con fosfolipasa C se debía a la degradación del FI ligado a la proteína (Futerman y col., 1985). En la Figura 1, se observa como la FLC-FI actúa sobre la AChE de eritrocito de ratón produciendo la aparición de un nuevo pico con coeficiente de densidad mayor, representando una forma dimérica con carácter hidrofílico (datos no publicados).

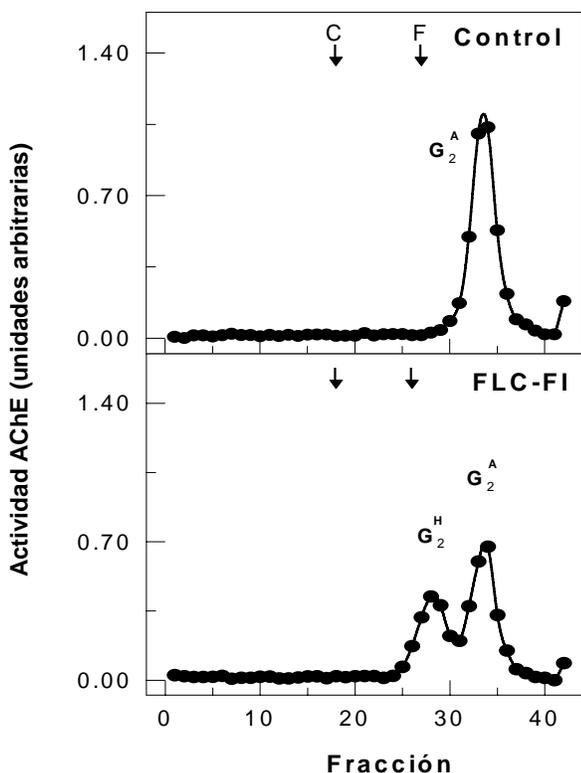


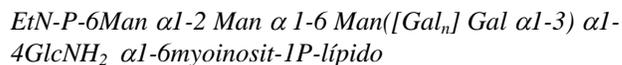
FIGURA 1. Eliminación de los dominios glicosilfosfatidilinositol (GFI) de los dímeros de la AChE de eritrocito de ratón por la actuación de la fosfolipasa C específica para fosfatidilinositol (FLC-FI). La AChE se extrajo de eritrocitos con Hepes-salino y Triton X-100 (1% p/v). Un mL de extracto se incubó con 3 U de FLC-FI, a 37 °C, 2h. Otra muestra se incubó sin fosfolipasa (Control). El cambio en la migración de la AChE G_2^A nativa (3.8S) y G_2^H tratada (6.1S), y la caída del pico atribuido a los dímeros nativos comprobaron la pérdida de los restos

GFI. Los gradientes de densidad de sacarosa contenían Brij-96, se usaron catalasa (11.4S) y fosfatasa alcalina (6.1S) como proteínas marcadoras de sedimentación.

Estudios posteriores revelaron que el dominio hidrofóbico de inserción de las proteínas en la membrana contiene un oligoglucano adicional al FI. Esta estructura básica se ha identificado en numerosas proteínas de eucariotas, pero no de bacterias. Las primeras proteínas en las que se detectó GFI fueron enzimas hidrolíticas de mamíferos. No obstante, más tarde se descubrió en otras proteínas no enzimáticas, como algunas de la cubierta protectora, ciertas proteínas de adhesión celular y algunos componentes del sistema de complemento. Las proteínas ancladas por GFI se localizan mayoritariamente en la superficie celular. La localización de proteínas con GFI en la superficie luminal de otros orgánulos (lisosomas, endosomas y gránulos de secreción, entre otros) se podría explicar por la relación temporal y topológica que ocurriría durante la generación del GFI en el retículo endoplásmico rugoso y el transporte posterior de las proteínas hacia su destino funcional.

La estructura del anclaje GFI

La composición de la unidad GFI varía entre las distintas proteínas analizadas, pero siempre mantiene los elementos principales, reflejando su conservación evolutiva. La estructura GFI que con mayor detalle se ha estudiado es la de la proteína VSG (Ferguson y col., 1988). El carboxilo- α del último aminoácido forma una amida con la etanolamina que además está unida por enlace fosfodiéster a la manosa de un oligoglucano. La comparación de las estructuras de GFI en mamíferos y *T. brucei* ha permitido establecer que todas presentan una composición parecida (Figura 2):



La glucosamina queda ligada al hidroxilo-6 del anillo del inositol del dimiristil-fosfatidilinositol. La cadena lateral de galactosa es muy heterogénea y puede contener hasta ocho restos. Parece que el núcleo estructural que conecta el lípido a la proteína se ha conservado evolutivamente. En cambio, la composición de los elementos de la ramificación no esenciales para el anclaje varía considerablemente (Figura 2). Esta variabilidad se puede comprobar en el receptor Thy-1, donde la proteína de cerebro de rata contiene N-AcGal y manosa, cosa que no sucede en la proteína de timocitos del mismo animal (Homans y col., 1988).

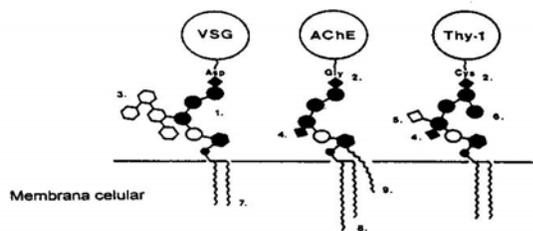


FIGURA 2. Analogías y diferencias en la unidad de glicosfosfatidilinositol en las proteínas-GFI. Las tres proteínas contienen fosfatidilinositol para ligarse a la membrana. Además poseen un glicano base con estructura conservada (1). Las regiones variables van desde los residuos de aminoácidos en el extremo C-terminal que sirven de enlace (2), la cadena de oligosacáridos asociada a la principal en VSG (3) y la fosforilación de etanolamina en el monómero de AChE y Thy-1 (4). Esta última proteína contiene además NacGluc (5) y manosa (6). La estructura del FI en la proteína VSG contiene dos restos de ácido mirístico unidos por enlaces éster (7). La AChE presenta un grupo alquilo unido al hidroxilo 1 del inositol (8), y un ácido graso insaturado en el hidroxilo 2 del FI (9) (Tomado de Low, 1989).

Los análisis de la estructura GFI en los eucariotas inferiores parecen señalar que no emplean el grupo etanolamina-P en la producción de las proteínas-GFI, un elemento muy frecuente en las estructuras de los eucariotas superiores. Por otro lado, los componentes lipídicos son variables, van desde la ceramida de algunas levaduras y mohos (Stadler y col., 1989) a lípidos del tipo sn-1-alquil-2-acilglicérido (Roberts y col., 1988), sn-1,2-diacilglicérido (Butikofer y col., 1990) y sn-1-acil-2-lisoglicérido (Field y col., 1991). Una característica común es la presencia de un ácido graso generalmente ácido palmítico, ligado al anillo del inositol. Esta esterificación confiere a la proteína resistencia a las fosfolipasas bacterianas (Roberts y col., 1988).

Esta última característica está reflejada en la Figura 1 en que se observan dos dímeros de AChE, unos sensibles y otros resistentes a la FLC-FI. Esta particularidad se ha observado en las isoformas enzimáticas de eritrocito humano, conejo, ratón. Como se mencionó en el párrafo anterior, se debe a la presencia de una cadena acilo en el anillo inositol que hace que un alto porcentaje de las moléculas sean resistentes al corte por la fosfolipasa C (Futerman y col., 1985a, Roberts y col., 1988a, Gómez y col., 2003). En cambio, todos los dímeros de AChE de eritrocito bovino pierden los restos glicosfosfatidilinositol con FLC-FI (Richier y col., 1992).

En la figura 3, se observa en ocasiones posible separar el resto de ácido graso al inositol tratando a las proteínas-GFI con hidroxilamina (hidroxilaminosis), a pH alcalino, convirtiendo así la AChE resistente a sensible a la fosfolipasa C. A pesar que el tratamiento produce una fuerte inactivación de la AChE, también, favoreció la conversión de dímeros anfifílicos en hidrofílicos, ya que más de la mitad de las formas moleculares activas manifestaron propiedades hidrofílicas después de la incubación con FLC-FI.

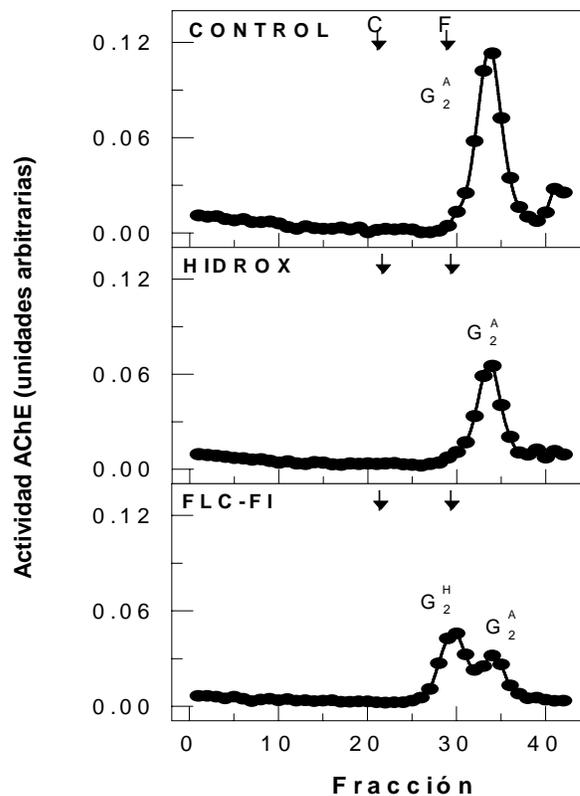


FIGURA 3. Eliminación del ácido graso de los dímeros anfifílicos (G_2^A) de la AChE de eritrocito de ratón para convertirlos en hidrofílicos (G_2^H) después del tratamiento con hidroxilamina alcalina y fosfolipasa C específica para fosfatidilinositol (FLC-FI). La muestra rica de AChE (CONTROL), se incubó con cloruro de edrofonio (0.72 M) y clorhidrato de hidroxilamina (0.9 M) en agitación durante 2 horas a 20 °C (HIDROX), los reactivos se eliminaron por microfiltración. Finalmente, tras otro desalado, la muestra se incubó con FLC-FI (3U/ml), 2 horas a 37 °C. Una alícuota de cada etapa se separó en gradientes de densidad de sacarosa con Brij 96. Se usaron la catalasa (11.4S) y la fosfatasa alcalina (6.1S) como proteínas marcadoras de sedimentación.

Función del anclaje GFI en los eucariotas superiores

La incorporación de la unidad GFI confiere nuevas propiedades fisicoquímicas a las proteínas, puesto que su interacción con la bicapa lipídica queda restringida a la cara externa de la membrana. Esta característica es responsable de la elevada movilidad lateral de las proteínas-GFI y puede tener algún significado funcional (Ferguson y Williams, 1988). Se ha calculado que el coeficiente de difusión lateral de algunas proteínas-GFI es diez veces mayor que el de las proteínas transmembranales (Ferguson, 1991).

La liberación de una proteína desde la superficie celular debido al corte del anclaje a la membrana puede afectar sus propiedades fisicoquímicas y funcionales. Muchas de las proteínas-GFI interactúan con otras proteínas de células vecinas o del medio extracelular. Este es el caso de las proteínas con GFI de las células presentadoras de antígenos, que se unen a una proteína integral de los linfocitos T (Springer, 1990). Los

contactos celulares, a través de proteínas-GFI, pueden favorecer la proliferación celular (Millrain y col., 1992).

Un aspecto importante en la regulación de la expresión de proteínas con GFI es la respuesta del glicolípido a fosfolipasas C, lo que por otro lado permite identificar las proteínas unidas a las membranas por el glicolípido. Las fosfolipasas C bacterianas separan el 1, 2 diacilglicerol del glicolípido y liberan proteínas-GFI. Sin embargo, el significado funcional de esta acción se desconoce. Las bacterias secretan FLC-FI pero aún no se sabe si contienen proteínas ancladas por GFI.

La secreción bacteriana de fosfolipasas C llevó a pensar que tal vez las células eucariotas también podían secretarlas para, en ciertas circunstancias, separar proteínas-GFI de las membranas celulares. Se han identificado dos enzimas capaces de liberar proteínas-GFI: la fosfolipasa C de hígado de rata y *Trypanosoma brucei*, y la fosfolipasa D (FLD-GFI) de plasma de mamífero (Low y col., 1988; Ferguson y Williams, 1988).

Una característica interesante de estas fosfolipasas es su elevada especificidad por los sustratos GFI y sus análogos estructurales. Por su localización extracelular, se cree que la FLD puede jugar un papel importante en la liberación de proteínas de la superficie celular. Es posible que ésta y otras fosfolipasas participen en la degradación continua y relativamente lenta de las unidades GFI en vesículas endocíticas, como parte del proceso de reciclado.

El hallazgo de variantes solubles de las proteínas inmovilizadas con GFI en sangre, fluidos corporales y medios de cultivo, parece demostrar que en ciertas circunstancias, las fosfolipasas pueden liberar proteínas. Al estudiar el metabolismo de la cubierta de *T. brucei*, se detectó actividad FLC-FI en la membrana plasmática (Ferguson y Williams, 1988; Carrington y col., 1989), lo que supone que en algunos organismos la actividad fosfolipasa C está inmovilizada mientras que en otros, se vierte al medio extracelular.

La degradación de la unidad GFI, se considera constituye una etapa esencial en la regulación de la actividad de proteínas unidas a la superficie celular. Una célula puede expresar muchas proteínas diferentes ancladas por GFI, pero es poco probable que la liberación simultánea de todas represente alguna ventaja para la célula (Low, 1988).

Se han propuesto varios mecanismos de control del proceso de liberación. Uno es el caso de la AChE de eritrocito humano, donde la incorporación de palmitato en el inositol del GFI impide la degradación por FLC-FI, pero no por FLD-GFI (Roberts y col., 1988). Algo parecido ocurre en la proteína DAF ("decay accelerating factor") de eritrocito humano cuya liberación acelera la remoción de las células. En cambio, la AChE de eritrocito bovino pierde el dominio GFI cuando se incuban con fosfolipasas.

Los datos disponibles indican que las modificaciones en la estructura básica del anclaje GFI son específicas en cada tipo celular y determinan no sólo que una proteína

se libere, sino también la respuesta a las fosfolipasas. En algunas líneas celulares de linfocitos, los antígenos-GFI se liberan con la PLC-FI de una especie bacteriana, pero no con la de otra (Low y col., 1988).

Señalización membranar

La liberación de proteínas ancladas por GFI con fosfolipasas genera lípidos con actividad biológica como son el 1, 2-diacilglicerol (por acción de la FLC-FI) y el ácido fosfatídico (vía la FLD-GFI), que pueden pasar a la monocapa interna de la membrana plasmática y afectar al metabolismo celular (Low, 1988). La señal transmembranar mejor conocida en la que interviene el GFI es la respuesta mitógena de los linfocitos a ésteres de forbol o a anticuerpos contra las proteínas responsables de su activación celular. El proceso transcurre vía la movilización del Ca^{2+} de los depósitos intracelulares y producción de interleucina-2; ambos efectos inducen la mitosis. En la respuesta participan varias proteínas unidas a la membrana superficial por GFI, como Thy-1, LFA-3, 5'-NT, RT-6 y la proteína DAF (Thompson y col., 1988; Ritter y col., 1988). Con la ayuda de estas proteínas contra alguna de esas proteínas se ha avanzado en el conocimiento de la respuesta celular y de la sucesión de señales que derivan en la proliferación celular. En algunos casos, los anticuerpos específicos producen por sí mismos la respuesta. La preincubación de los linfocitos con FLC-FI atenúa la respuesta, mientras que las líneas celulares mutantes, incapaces de producir el antígeno Ly-6, no responden a la activación, vía receptor de los linfocitos T. Ambas observaciones confirman la implicación de las proteínas-GFI en la proliferación de los linfocitos.

Continúan las investigaciones para aclarar el mecanismo molecular y el significado fisiológico de este tipo de señalización. Se ha propuesto que los restos GFI de las proteínas formen un agrupamiento multivalente alrededor de un receptor de baja afinidad que reconozca alguna característica del GFI. El receptor transmembranar podría transmitir una señal al interior celular cuando todos los sitios de unión del GFI estuvieran ocupados.

Destino membranar y recambio de receptores

En células epiteliales de riñón de perro (MDCK), las proteínas-GFI se concentran en la membrana apical. Otras proteínas como la 5'-nucleotidasa y fosfatasa alcalina, se localizan en la membrana apical de los hepatocitos (Ali y Evas, 1991). En neuronas de hipocampo, se ha visto que la proteína Thy-1 con GFI se dirige de modo selectivo hacia las membranas axonales (Dotti y col., 1991). Aunque, otros estudios indican que las proteínas con GFI se hallan tanto en las membranas axonales como en las dendríticas. Parece que en sí mismo el resto GFI no es el factor determinante de la localización axonal y que otros dominios extracelulares

de las proteínas son los que deciden su fijación en los axones (Kollins y col., 1999).

Algunos investigadores han sugerido que la N-glicosilación es la señal para que las proteínas marchen a la membrana apical (Figura 4), ya que, en general, las proteínas de secreción de células no polarizadas carecen de N-glicosilación (Scheiffele y col., 1995).

Todo parece indicar que las proteínas con GFI contribuyen al mantenimiento de la polaridad celular. Los estudios sobre la cinética del transporte a las membranas apical o basolateral empleando la proteína quimérica gD1-GFI (versión de una glicoproteína del virus del herpes simplex), revelaron que la proteína se sitúa en la membrana apical, con una velocidad de transcitosis (desplazamiento desde la membrana basolateral a la apical) casi nula, y con una velocidad de endocitosis muy baja (Figura 4) (Lisanti y col., 1990).

Se ha logrado producir una proteína quimérica con GFI en un ratón transgénico, y los estudios sobre su localización celular constituyen la primera evidencia *in vivo* del destino apical de éste tipo de proteínas (Ali y col., 1996). Otros investigadores han sugerido que la unidad GFI prolonga la permanencia en la superficie celular de aquéllas proteínas cuya función no exija su reingreso en la célula (Lemansky y col., 1990).

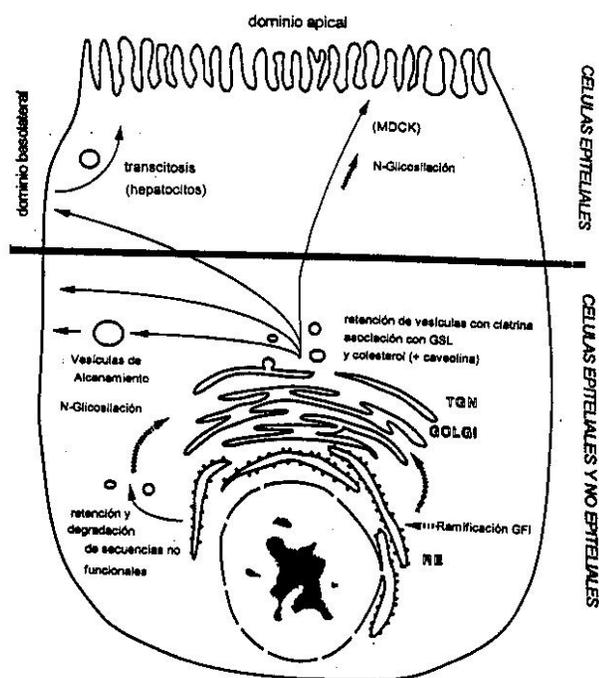


FIGURA 4. Transporte de las proteínas con GFI hacia su destino en la membrana. Las etapas iniciales son semejantes en todos los tipos celulares, pero las últimas, por ejemplo, su paso por la red trans-Golgi (TGN) puede diferir entre tipos celulares epiteliales y no epiteliales

Agrupamiento y oligomerización de las proteínas con GFI

Por microscopia de epifluorescencia se ha observado que la mayoría de las proteínas con GFI se concentran en zonas discretas de la monocapa externa de la membrana.

La composición proteica y lipídica de esas zonas es muy particular, ya que son ricas en caveolina y proteínas relacionadas, así como en esfingolípidos y colesterol (Ostrom y Insel, 1999). Las proteínas con GFI, junto a esos lípidos, generan microdominios en las membranas distales del Golgi (Simons y Wandinger-Ness, 1990). De allí, los parches ricos en esas proteínas particulares se dirigen hacia el lado apical de las células epiteliales (Koval y Pagano, 1991).

Algunas proteínas que presentan estructura GFI, como la fosfatasa alcalina, el receptor de folato y el marcador Thy-1, se concentran en regiones especializadas de la superficie celular denominadas caveolas (Rothberg y col., 1990). La integridad de estas estructuras se debe a la caveolina, una proteína que genera polímeros de elevada masa molecular para recubrir la región citoplásmica de la caveola (Song y col., 1997; Masserini y col., 1999). Aunque se desconoce cómo se incorpora la proteína a la caveola, se ha propuesto que en el proceso participan dominios transmembranal de las proteínas (Dietzen y col., 1995).

Estudios de inmunolocalización donde se usa oro coloidal indican que las proteínas-GFI se sitúan próximas a la entrada de la hendidura y no en el interior de la caveola (Schmitzer y col., 1995). Los glicosfingolípidos situados en la zona de fusión de la caveola con la membrana plasmática podrían favorecer la concentración de las proteínas con GFI y facilitar la curvatura local de la membrana plasmática (Nosjean y col., 1997) (Figura 3).

Las proteínas se mantienen en las caveolas por un tiempo, antes de pasar al interior celular o al medio externo. En este sentido, se ha comprobado que la fosfatasa alcalina se libera al suero en casos de cirrosis hepática. El aumento de proteínas-GFI en el suero puede deberse a un defecto en la vía de degradación ocasionado por la propia patología o por otros procesos secundarios.

Se ha propuesto que cuando un ligando se fija a la correspondiente proteína-GFI, la caveola se cierra parcialmente y su interior se acidifica por las bombas de protones. La acidez provoca la liberación del ligando, que ya libre pasa por potocitosis al citoplasma por transportadores específicos y la hendidura vuelve a abrirse para que la proteína-GFI puede unirse a más ligando (Anderson, 1993). Aunque, se ha considerado que se requieren más experimentos para demostrar el mecanismo propuesto, los resultados actuales sugieren que algunos receptores-GFI sufren endocitosis y reciclado por una vía independiente de la clatrina (Deckert y col., 1996) (Figura 5).

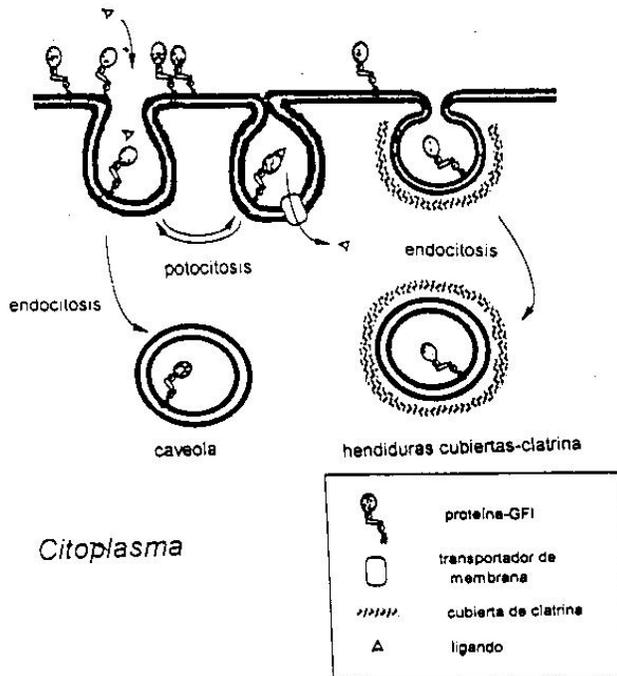


FIGURA 5. La endocitosis de las proteínas GFI ocurre vía hendiduras cubiertas de clatrina o a través de caveolas. En ocasiones, la caveola puede entrar en un ciclo de potocitosis, que supone la concentración intra-caveolar de un ligando después de su unión a un receptor anclado por GFI. Luego, la caveola se cierra, y el ligando marcha al citoplasma por un transportador membranal.

En el estudio de los componentes de las caveolas se ha observado que están asociados a una gran variedad de proteínas implicadas en procesos de transducción membranal empleadas por distintos tipos celulares en respuesta a estímulos extracelulares. En particular, la caveolina interacciona con la subunidad α de la proteína G, Ras, Src, sintasa de óxido nítrico, receptor del factor de crecimiento epidérmico y distintas isoformas de proteína quinasa-C (PKC) (Rybin y col., 1999), esta interacción se da a través de un dominio existente en el N-terminal donde reconoce motivos conformacionales (Ostrom y Insel, 1999).

Con todo esto, se ha propuesto que las caveolas organizan a las moléculas, integran señales múltiples, facilitando la optimización, eficacia y fidelidad de la información en las vías de señalización al nivel de membrana (Ostrom y Insel, 1999). Por último, teniendo en cuenta que algunos componentes de la red citoesquelética subsarcolemal como la distrofina y proteínas asociadas (DAPs) son capaces de unirse a las moléculas como la aciculina, sintasa del óxido nítrico, Grb-2 y caveolina-3, se sugiere que pueden estar relacionados al proceso de señalización membranal (Ozawa y col., 1999). La mutación del gen de la caveolina-3 tipo muscular es la responsable de la distrofia muscular de cintura (Mineti y col., 1998). Las proteínas ancladas por GFI y su importancia en algunas enfermedades.

Teniendo en cuenta que las proteínas-GFI se concentran en la superficie celular para ejercer diversas

funciones, parece probable que ciertas patologías afecten a su localización en los tejidos. Aunque, en general, es difícil conocer la etiología, en ocasiones se puede seguir la evolución de una enfermedad por los cambios en el contenido o propiedades de las proteínas-GFI. En ciertas enfermedades, se puede observar una correlación entre las anomalías en las proteínas GFI y el estado patológico.

La fosfatasa alcalina se utiliza como indicador de varias patologías hepáticas y óseas, aunque se desconoce el mecanismo molecular alterado. En muestras de cáncer de mama, la actividad de la enzima disminuye ligeramente, al tiempo que aumenta la actividad del receptor de estrógenos. Se ha sugerido que la capacidad de unión de los estrógenos al receptor está regulada por la pérdida de restos fosfato, una acción en la que posiblemente interviene la fosfatasa alcalina (Messeri y col., 1990).

REFERENCIAS

- Ali, N. y Evans, W.H. (1990). "Targeting of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins to the bile-canalicular (apical) plasma membrane of hepatocytes. Involvement of 'late' endosomes". *Biochem. J.* 271, 193-199.
- Ali, S., Hall, J., Hazlewood, G.P., Hirst, B.H. y Gilbert, H.J. (1996). "A protein targeting signal that functions in polarized epithelial cell *in vitro*". *Biochem. J.* 315, 857-862.
- Anderson, R.G. (1993). "Plasmalemmal caveolae and GPI-anchored membrane proteins". *Curr. Opin. Cell Biol.* 5, 647-652.
- Bütikofer, P., Kuypers, F.A., Shackleton, C., Brodbeck, U. y Stieger, S. (1990). "Molecular species analysis of the glycosylphosphatidylinositol anchor of *Torpedo marmorata* acetylcholinesterase". *J. Biol. Chem.* 265, 18983-18987.
- Cardoso de Almeida, M.L. y Turner, M.J. (1983). "The membrane form of variant surface glycoproteins of *Trypanosoma brucei*". *Nature (London)*, 302, 349-352.
- Carrigton, M., Bulow, R., Reinke, H. Y Overath, P. (1989). "Sequence and expression of the glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase C of *Trypanosoma brucei*". *Mol. Biochem. Parasitol.*, 33, 289-296.
- Deckert, M., Ticchioni, M. y Bernand, A. (1996). "Endocytosis of GPI-anchored protein in human lymphocytes: Role of glycolipid-based domain, actin cytoskeleton, and protein kinases". *J. Cell Biol.* 133, 791-799.

- Dietzen, D.J., Hasting, W.R. y Lubin, D.M. (1995). "Caveolin is palmitoylated on multiple cysteine residues. Palmitoylation is not necessary for localization of caveolin to caveolae". *J. Biol. Chem.* 270, 6838-6842.
- Dotti, C.G., Parton, R.G. y Simons, K. (1991). "Polarized sorting of glypiated proteins in hippocampal neurons". *Nature.*, 349, 158-161.
- Ferguson, M.A.J. (1991). "Lipid anchors of membrane proteins". *Curr. Opin. Struc. Biol.* 1, 522-529.
- Ferguson, M.A.J. y Williams, A.F. (1988). "Cell-surface anchoring of proteins via glycosyl-phosphatidylinositol structures". *Annu. Rev. Biochem.*, 57, 285-320.
- Ferguson, M.A.J., Haldar, K. y Cross, G.A.M. (1985). "Trypanosoma brucei variant surface glycoprotein has a sn-1, 2-dimyristylglycerol membrane anchor at its COOH-terminus". *J. Biol. Chem.*, 260, 4963-4968.
- Ferguson, M.A.J., Homans, S.W., Dwek, R.A. y Rademacher, T.W. (1988). "Glycosylphosphatidylinositol moiety that anchors Trypanosoma brucei variant surface glycoprotein to the glycolipid anchors to acetylcholinesterase". *Science.*, 239, 753-759.
- Field, M.C. Menon, A.K. y Cross, G.A.M. (1991). "A glycosylphosphatidylinositol protein anchor from procyclic stage Trypanosoma brucei: Lipid structure and biosynthesis". *EMBO J.*, Pp. 10, 2731-2739.
- Futerman, A.H., Low, M.G., Michaelson, M.M. y Silman, I. (1985). "Solubilization of membrane-bound acetylcholinesterase by a phosphatidylinositol-specific phospholipase C". *J. Neurochem.*, Pp. 45, 1487-1494.
- Gómez, J. L., Nieto-Cerón, S., Campoy, F. J., Muñoz-Delgado, E., Vidal, C. J. (2003). "Purification and properties of hydrophilic dimers of acetylcholinesterase from mouse erythrocytes". *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, Pp. 35, 1109-1118.
- Holder, A.A. y Cross, G.A.M. (1981). "Glycopeptides from variant surface glycoproteins of Trypanosoma brucei. C-terminal location of antigenically cross-reacting carbohydrate moieties". *Mol. Biochem. Parasitol.*, Pp. 2, 135-150.
- Homans, S.W., Ferguson, M.A.J. Dwek, R.A., Rademacher, T.W., Amand, R. y Williams, A.F. (1988). "Complete structure of the glycosylphosphatidylinositol anchor of brain Thy-1 glycoprotein". *Nature.*, Pp. 333, 269-272.
- Koval, M. y Pagano, R.E. (1991). "Intracellular transport and metabolism of sphingomyelin". *Biochim. Biophys. Acta.*, Pp. 1082, 113-125.
- Lemansky, P., Fatemi, S.H., Gorican, B., Meyale, S., Rossero, R y Tartakoff, A.M. (1990). "Dynamics and longevity of the glycolipid-anchored membrane protein". *J. Cell Biol.*, Pp. 110, 1525-1531.
- Lisanti, M.P., Caras, I.W., Gilbert, T., Hanzel, D. y Rodríguez-Boulán, E. (1990). "Vectorial apical delivery and slow endocytosis of a glycolipid-anchored fusion protein in transfected MDCK cells". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, Pp. 87, 7419-7423.
- Low, M.G. (1989). "The glycosyl-phosphatidylinositol anchor of membrane proteins". *Biochim. Biophys. Acta.*, Pp. 988, 427-454.
- Messeri, G., Tozzi, P., Quercioli, M., Cataliotti, L. y Cardona, G. (1990). "Alkaline phosphatases and steroid receptors in human breast cancer". *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, Pp. 37, 269-271.
- Millrain, M.M., Hederer, R., Griffiths, S., Fryer, P., Tomonari, K. y Robinson, P.J. (1992). "Novel cell junctions induced by activating Thy-1-specific antibodies". *Int. Immunol.*, Pp. 4, 1137-1143.
- Minetti, C., Bado, M., Morreale, G., Pedemonte, M. y Cordone, G. (1996). "Disruption of muscle basal lamina in congenital muscular dystrophy with merosin deficiency". *Neurology.*, Pp. 46, 1354-1358.
- Nosjean, O., Briolay, A. Y Roux, B. (1997). "Mammalian GPI proteins: sorting, membrane residence and function". *Biochim. Biophys. Acta.*, Pp. 1331, 153-186.
- Ostrom, R.S. y Insel, P.A. (1999). "Caveolar microdomains of the sarcolemma: compartmentation of signaling molecules come of age". *Circ. Res.*, Pp. 84, 1110-1112.
- Ozawa, E., Hagiwara, Y. y Yoshida, M. (1999). "Creatine kinase, cell membrane and Duchenne muscular dystrophy". *Mol. Cell. Biochem.*, Pp. 190, 143.151.
- Richier, P., Arpagaus, M. y Toutant, J.P. (1992). "Glycolipid-anchored acetylcholinesterase from rabbit lymphocytes and erythrocytes differ in their sensitivity to phosphatidylinositol-specific phospholipase" *C. Biochim. Biophys. Acta.* Pp. 1112, 83-88.
- Ritter, A.R., Davis, L.S., Patel, S.S. Atkinson, J.P. y Lipsky, P.E. (1988). "An antiserum to decay-accelerating factor (DAF) activates human T cells". *FASEB J.*, Pp. 2, A871.

- Roberts, W.L., Myher, J.J., Kuksis, A., Low, M.G. y Rosenberry, T.L. (1988). "Lipid analysis of the glycoinositol phospholipid membrane anchor of human erythrocyte acetylcholinesterase: palmitoylation of inositol results in resistance to phosphatidylinositol-specific phospholipase" *C. J. Biol. Chem.*, Pp. 263, 18766-18775.
- Rothberg, K.G., Ying, Y.S., Kamen, B.A. y Anderson, R.G.W. (1990). "Cholesterol controls the clustering of the glycopospholipid-anchored membrane receptor for 5methyltetrahydrofolate". *J. Cell Biol.*, Pp. 111, 2931-2938.
- Rybin VO, Xu X, Steinberg SF. (1999). "Activated protein kinase C isoforms target to cardiomyocyte caveolae: stimulation of local protein phosphorylation". *Circ Res.*, Pp. 14, 980-988.
- Scheiffele, P., Peranen, J. y Simons, K. (1995). "N-glycans as apical sorting signals in epithelial cells". *Nature.*, Pp. 378, 96-98.
- Schnitzer. J.E., McIntosh, D.P., Dvorak, A.M., Liu, J. y Oh, P. (1995). "Separation of caveolae from associated microdomains of GPI-anchored proteins". *Science.*, Pp. 269, 1435-1439.
- Simons, K. y A. Wandinger-Ness. (1990). "Polarized sorting in epithelia". *Cell.*, Pp. 62, 207-210.
- Song, K.S., Tang, Z., Li, S. y Lisanti, M.P. (1997). "Mutational analysis of the properties of caveolin-1. A novel role for the C-terminal domain in mediating homo-typic caveolin-caveolin interactions". *J. Biol. Chem.*, Pp. 272, 4398-4403.
- Springer, T.A. (1990). "Adhesion receptors of the immune system". *Nature.*, Pp. 346, 425-434.
- Thompson, L.F., Ruedi, J.M. y Low. M.G. (1988). "Activation of human peripheral blood T cells by antibodies to ecto-5'-nucleotidase". *FASEB J.*, Pp. 2, A1653.
- Williams, A.F., Barclay, A.N., Letarte-Muirhead, M. y Morris, R.J. (1977). "Rat thy-1 antigens from thymus and brain: their tissue distribution, purification, and chemical composition". *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*, Pp. 41(Pt 1), 51-61

Hipercolesterolemias monogénicas

Yolanda Loya Mendez¹, Diana Reyes Sanchez², Héctor Reyes Leal¹, Gilberto Reyes Leal¹.

^{1,2}Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo Pronaf y Estocolmo S/N.

RESUMEN

Las hipercolesterolemias monogénicas son enfermedades extraordinariamente importantes por su elevada frecuencia y el riesgo que confieren a los pacientes de desarrollar enfermedades cardiovasculares. Esto exige al sistema de salud un diagnóstico precoz y seguro. El diagnóstico realizado exclusivamente por criterios clínicos es inespecífico y no permite distinguir las diferentes formas de hipercolesterolemias monogénicas. En la actualidad la Organización Mundial de la Salud ha promovido a través de su programa MEDPED (Make Early Diagnosis to Prevent Early Death, “un diagnóstico precoz evita una muerte prematura”) el diagnóstico de estas enfermedades desde el punto de vista bioquímico, clínico y genético. La identificación de las mutaciones por técnicas de biología molecular representa el diagnóstico de certeza.

INTRODUCCIÓN

Las dislipemias son consideradas uno de los principales factores de riesgo cardiovascular, en particular las alteraciones en las concentraciones de colesterol de las diferentes partículas lipoprotéicas. Los niveles de colesterol sérico en lipoproteínas de baja densidad (cLDL) están directamente relacionados con la incidencia de eventos coronarios y muerte cardiovascular. Existe una gran variabilidad en las concentraciones de cLDL y aproximadamente el 50% de ella es atribuible a factores genéticos. Estas diferencias están determinadas en su mayoría de forma poligénica, por el efecto acumulado de múltiples secuencias variantes en un mismo individuo. Sin embargo un porcentaje de los pacientes con altos niveles de cLDL presentan formas monogénicas de hipercolesterolemia asociadas con depósitos tisulares de colesterol que dan origen a xantomas y aterosclerosis.

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los países desarrollados y en vías de desarrollo. En la mayoría de los casos la causa subyacente es la aterosclerosis (Levine y col., 1995). Representan la primera causa de muerte en los países industrializados y probablemente continúe siendo así hasta el año 2020 (Murray y López, 1997a). Los países en vías de desarrollo no han escapado a este alarmante incremento en la mortalidad por enfermedades cardiovasculares. En México, en el año 2000 según el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica aproximadamente el 16% de las muertes tuvieron su origen en ECV. Esto se ha

atribuido principalmente a la rápida occidentalización del estilo de vida, el alto consumo de grasas, el abuso del tabaco y el sedentarismo (Murray y López, 1997b).

La aterosclerosis, aparentemente desconocida en la antigüedad, se convirtió en una especie de epidemia conforme las poblaciones lograron sobrevivir a las enfermedades infecciosas y adoptaron hábitos de vida que la promueven. Hace 150 años, Rudolf Virchow definió la aterosclerosis como un proceso inflamatorio y proliferativo. En 1892 Sir Williams Osler, pionero de la medicina interna describió el ateroma como un proceso degenerativo inevitable que afecta a las arterias. A principios del siglo XX, Anitchkow y Chalataw, por medio de intervenciones dietéticas, indujeron lesiones grasas en las arterias de conejos e identificaron al colesterol como precursor de la aterosclerosis. Una de las principales causas de aterosclerosis en edades tempranas es la hipercolesterolemia. Muller fue el primero en asociar la hipercolesterolemia familiar (HF) con la enfermedad coronaria prematura (ECP).

Las hipercolesterolemias primarias se caracterizan por un incremento del colesterol en las lipoproteínas de baja densidad (LDL). La hipercolesterolemia familiar por defectos en el receptor de las LDL (rLDL) y la apo B100 defectuosa familiar, producida por una mutación en el gen de la apo B, principal apolipoproteína que forma parte de las LDL, representan las hipercolesterolemias puras por excelencia. Recientemente se han descrito mutaciones en el gen ARH y PCSK9 asociadas con hipercolesterolemias autosómica recesiva y dominante respectivamente.

¹Departamento de Ciencias Básicas del Instituto de Ciencias Biomédicas.

²Medico Interno de Pregrado.

Hipercolesterolemia Familiar (HF)

En la década de los cuarentas, Wilkinson realizó estudios familiares justificando una base genética para la hipercolesterolemia familiar (HF), pero no fue hasta 1963 cuando Kachadurian, basándose también en estudios familiares propuso que la HF era una enfermedad de herencia autosómica codominante e identificó las diferencias entre sujetos homocigotos y heterocigotos. El 1967 Fredrickson y colaboradores definieron la HF como un desorden que compromete el metabolismo del colesterol transportado por las partículas LDL y establecieron la clasificación fenotípica de las hiperlipidemias. En 1977 Goldstein y Brown caracterizaron el defecto molecular responsable de la HF, lo que les valió el premio Nobel de medicina en 1985 (Goldstein y col., 2001).

La HF es un desorden hereditario de transmisión autosómica dominante producido por defectos en el gen que codifica para el rLDL encargado de internalizar las partículas LDL de la sangre a las células hepáticas y extrahepáticas. Se caracteriza por altos niveles plasmáticos de cLDL, xantomas tendinosos (depósitos de colesterol localizados en tendón de Aquiles y extensores de la mano), arco corneal, tendinitis, poliartritis y aterosclerosis grave prematura en grandes y medianas arterias que da origen a diferentes patologías cardiovasculares como cardiopatía isquémica y accidente cerebrovascular (Stamler y col., 2000) (figura 1).

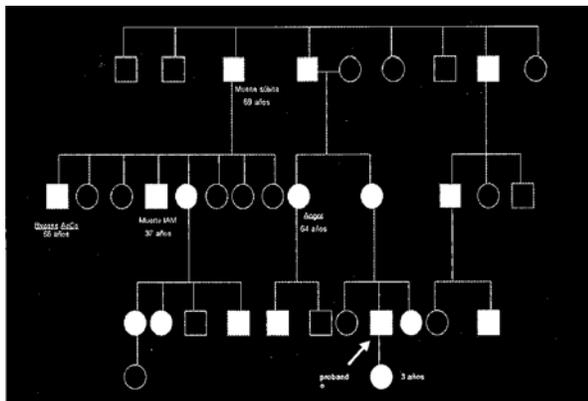


FIGURA 1. Heredabilidad en hipercolesterolemia familiar heterocigota (Unidad de lípidos: Fundación Jiménez Díaz, Madrid).

La HF se presenta en dos formas, la heterocigota (un sólo alelo afectado) cuya incidencia es de 1:500, se caracteriza por niveles plasmáticos de cLDL dos a tres veces superiores a los valores normales. Es común encontrar valores de 350 a 450 mg/dL. En población española con HF heterocigota el valor promedio de CT fue de 407 mg/dL (Alonso y col., 2002). Las concentraciones de cLDL son menores y más dependientes de otros factores genéticos y ambientales que en la HF homocigota, sin embargo la naturaleza del

defecto molecular es el mayor determinante del impacto sobre la severidad de la hipercolesterolemia (Goldstein y col., 2001). El pronóstico de estos pacientes depende no sólo de los niveles de colesterol sino también de la presencia de otros factores de riesgo cardiovascular (Hill y col., 1991). Los xantomas producidos por el depósito de ésteres de colesterol en el interior celular y espacio intersticial de tejidos blandos, así como el depósito de grasa en párpados (xantelasma) y en el margen externo del iris (arco corneal), no suelen presentarse en la forma heterocigota hasta la tercera o cuarta década de la vida. Los xantomas son patognomónicos de la enfermedad y confirman el diagnóstico de HF, mientras que el xantelasma y el arco corneal son indicativos sólo si se presentan antes de los 45 años. Esta forma de hipercolesterolemia suele presentar tendinitis aquilea leve recidivante. Se estima que pueden existir alrededor de 10 millones de afectados en la población mundial, constituyendo por lo tanto una de las enfermedades monogénicas más frecuentes (Goldstein y col., 2001) (figura 2,3).



FIGURA 2. Depósitos de grasa en tendones extensores de la mano (xantomas).

La forma homocigota (ambos alelos afectados) con una incidencia de 1:1 000 000 se caracteriza por niveles plasmáticos de cLDL seis veces superiores a los valores normales, alcanzando concentraciones de 700 a 1 200 mg/dL (Hobbs y col., 1992). Suele presentar xantomas palmares interdigitales, en rodillas, codos y glúteos y enfermedad coronaria desde la niñez. Es frecuente la poliartritis migratoria de grandes articulaciones con importante componente inflamatorio que no deja secuelas (Civeira y col., 1977). Los pacientes con HF homocigota se dividen, según la actividad del receptor, en dos grupos, aquellos que presentan una actividad menor al 2% (receptor negativo) y los que presentan del 2 al 25% de la actividad normal (receptor defectuoso). Los niveles de colesterol son inversamente proporcionales a la actividad del receptor (Goldstein y col., 2001). Los pacientes con receptor negativo raras veces sobreviven la segunda década de la vida, mejor pronóstico tienen

los portadores de receptor defectuoso (Goldstein y col., 2001). Cabe señalar que en ciertas poblaciones endogámicas, aisladas por motivos geográficos, religiosos, culturales o formadas por emigrantes de grupos aislados relacionados entre sí, la prevalencia puede ser mayor, debido a un efecto fundador, tal es el caso de los judíos ashkenazi, cuya incidencia es de 1/67 (Meiner y col., 1991), los sudafricanos “afrikaners” de 1/100 (Kotze y col., 1991) y los franco-canadienses de la Provincia de Québec 1/270 (Leitersdorf y col., 1990).



FIGURA 3. Depósito de grasa en párpados (xantelasma).

La principal consecuencia de la HF es el desarrollo de aterosclerosis, provocada por los depósitos de grasa en las arterias. Esta se manifiesta en forma heterogénea con el tiempo, presenta un largo periodo de incubación con signos y síntomas que se manifiestan entre la segunda y tercera década de la vida en el varón y más tarde en la mujer (McGill y col., 2000). El prolongado tiempo de inactividad en la expresión clínica de la enfermedad enmascara complicaciones del ateroma tales como el infarto agudo de miocardio, angina de pecho e ictus que suelen presentarse de forma súbita (Stamler y col., 2000). Las lesiones ateroscleróticas muestran un modelo de distribución característico dentro de la vasculatura arterial. Los vasos con mayor riesgo para la formación del ateroma se encuentran en la bifurcación carotídea y las arterias coronarias, el segmento abdominal de la aorta y los vasos de las extremidades inferiores. Los puntos de ramificación y áreas de curvatura vascular son zonas de flujo turbulento susceptibles al desarrollo de lesiones ateroscleróticas promovidas por un aumento en la permeabilidad del endotelio a macromoléculas, tales como las LDL (Gimbrone MA Jr., 1999; Davies y col., 2000).

La aterosclerosis presente en los pacientes con HF promueve el desarrollo de enfermedad coronaria prematura (Scientific Steering Committee Simon Broome Register Group 1991 y 1999), en la forma heterocigota se presenta aproximadamente a los 45 años en los varones y 55 en las mujeres. Una tercera parte de las mujeres y dos terceras partes de los varones con HF heterocigota manifiestan EC antes de los 60 años (Mata

y col., 2002). En la forma homocigota la presentación de aterosclerosis en la raíz aórtica con estenosis supra-avalvular da lugar a EC grave y prematura, el infarto agudo de miocardio ocurre entre la primera y segunda década de la vida y la esperanza de vida raramente sobrepasa la tercera década (figura 4).

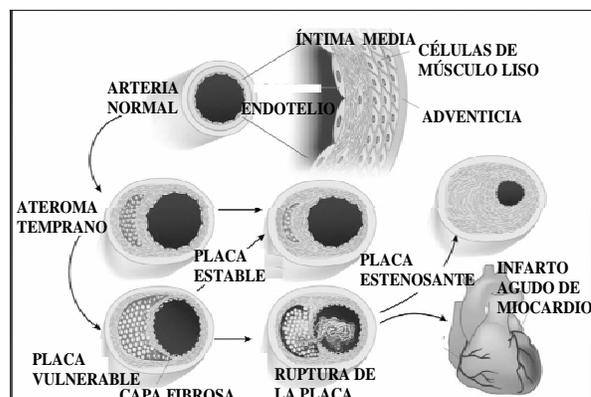


FIGURA 4. Evolución del ateroma: Depósito y oxidación de colesterol en la íntima arterial. Formación del núcleo lipídico que constituye el ateroma temprano. Evolución a placa estable con cubierta fibrosa íntegra. Reactivación inflamatoria (placa vulnerable) con ruptura de la cubierta fibrosa y formación de coágulos que obstruye la luz arterial generando infarto agudo de miocardio o cicatrización que agrava la estenosis.

Apolipoproteína B-100 defectuosa familiar (BDF)

Es un trastorno que se transmite con carácter autosómico dominante. Los sujetos afectados presentan características clínicas muy similares a las de la HF, incluyendo la presencia de xantomas tendinosos, arco corneal, xantelasma e incremento en el riesgo de padecer enfermedad coronaria prematura (Myant NB, 1993; Innerarity y col., 1990). El aclaramiento deficiente de colesterol plasmático se debe a un defecto en la apo B-100, proteína ligando a través de la cual las LDL reconocen y se unen a su receptor para ser internalizadas. Las apo B-100 defectuosas no se unen al rLDL, generando una elevación en las concentraciones de lipoproteínas de baja densidad (LDL). Las concentraciones de colesterol de los pacientes con BDF homocigota son similares a las de pacientes con HF heterocigota. En la BDF homocigota, las LDL se unen al rLDL con una afinidad del 10% aproximadamente y son removidas de la circulación en una tercera o cuarta parte del promedio normal. Como consecuencia del deficiente aclaramiento, existe en circulación una mayor proporción de partículas que contienen apoB mutante que normal. Las concentraciones menores de cLDL en BDF que en HF resultan de una menor producción de partículas LDL. Los pacientes con BDF aclaran precursores de LDL a través de la captación de remanentes mediada por apoE más que por apoB-100.

Hipercolesterolemia asociada a mutaciones en PCSK9

Recientemente se ha caracterizado en el cromosoma 1 un nuevo gen que se asocia a hipercolesterolemia familiar autosómica dominante. Su expresión fenotípica es clínicamente indistinguible de la HF heterocigota y de la FDB, sin embargo esta enfermedad no segrega con el gen del rLDL o de apoB-100. El defecto molecular está localizado en el gen PCSK9 que codifica una proteína de la subfamilia de la subtilasa denominada NARC-1 (Neural Apoptosis-Regulated Convertasa 1) (Seidah y col., 2003). Esta proteína se relaciona estructuralmente con la proteína S1P (Specific 1 Protein) la cual interviene en el procesamiento de las proteínas de unión al elemento regulado por esteroides (SRBPs) (Abifadel y col., 2003)

Hipercolesterolemia autosómica recesiva

Desde 1973 se han descrito pacientes con características clínicas de HF homocigota, incluyendo hipercolesterolemia severa y xantomas tendinosos (Khachadurian y Uthman, 1973). Los pacientes con este fenotipo presentaron un bajo aclaramiento de c-LDL, similar al de la HF, sin embargo la enfermedad no segregó con el gen del r-LDL ni de apoB-100. Este nuevo trastorno se denominó Hipercolesterolemia Autosómica Recesiva (ARH) (Zuliani y col., 1995). La ARH es causada por mutaciones en el gen ARH que codifica una proteína adaptadora citoplásmica (García y col., 2001). Se conocen 10 mutaciones en este gen y todas ellas interrumpen la pauta de lectura dando lugar a una proteína incompleta. La función de esta proteína parece estar relacionada con la incorporación del receptor en las vesículas recubiertas de clatrina durante el proceso de endocitosis. Se ha sugerido que el mecanismo por el cual esto sucede está relacionado con el dominio de 130 residuos de fosfotirosina contenidos en la proteína ARH, este dominio se une a una secuencia (NPXY) de la cola citoplásmica de una gran variedad de receptores celulares de superficie, entre ellos el rLDL (Forman-Kay y Pawson, 1999). Brown, Goldstein y colaboradores demostraron que la integridad de esta secuencia es necesaria para la internalización del rLDL (Davis y col., 1987b). El papel que juega la proteína ARH en la función del rLDL no se conoce exactamente. Puede ser que esta proteína sea necesaria como chaperón de los rLDL o simplemente para anclar el receptor en las vesículas recubiertas durante el proceso de endocitosis (He y col., 2002).

Caracterización molecular de las hipercolesterolemias familiares

Como se mencionó anteriormente, el defecto molecular de la HF es la alteración en el rLDL por diferentes mutaciones.

Este receptor, descrito por Goldstein y Brown (Brown y Goldstein, 1976a), tiene una gran afinidad por las lipoproteínas que contienen apoproteínas B y E. Es una glucoproteína de membrana de 839 aminoácidos y peso molecular de 120 kilodalton (kD) que contiene dos cadenas de oligosacáridos complejos unidos a asparagina y 18 cadenas de oligosacáridos unidos a residuos de serina o treonina (Brown y Goldstein, 1976b) y se une a dos proteínas, la apo B-100, glucoproteína de 514 kD, único componente proteico de las LDL y a la apoE, proteína de 34 kD que se encuentra en las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), de muy baja densidad (VLDL) y una subclase de las de alta densidad (HDL). La afinidad de la apoE por el rLDL es superior a la de la apoB. Los fibroblastos humanos producen un máximo de 20,000 a 50,000 receptores de LDL por célula, el número varía de acuerdo a los requerimientos celulares de colesterol (Goldstein y col., 1976).

El rLDL es miembro de una gran familia de receptores de superficie celular que reconocen ligandos extracelulares y los internalizan para su degradación por los lisosomas. Es el prototipo de esta familia a la que pertenece también el receptor de las VLDL (rVLDL), el receptor 2 de apolipoproteína E (ER2), la proteína relacionada con el receptor de las LDL (LRP1) y la mesalina (LRP2). Esta familia participa en varios procesos fisiológicos importantes del metabolismo celular. El rLDL participa en la homeostasis del colesterol, el rVLDL de expresión extrahepática participa en el aclaramiento plasmático de lipoproteínas ricas en triglicéridos que contienen apoE (Yamamoto y col., 1993; Jingami y Yamamoto, 1995), el LRP participa en el reconocimiento de varias moléculas, entre ellas las partículas remanentes ricas en apoE, parece tener además un sitio de reconocimiento para la lipoprotein-lipasa (Nykjaer y col., 1993), el ER2 se expresa principalmente en cerebro y placenta, presenta una gran afinidad por apoE y su principal ligando son las partículas de HDL (Kim y col., 1996). La mesalina es de gran importancia en la absorción intestinal de algunas moléculas como el calcio, sodio, vitaminas A y D3 (Christensen y col., 1998; Hilpert y col., 2002; Newcomer y col., 1998), en la reabsorción renal y en el transporte a través de la barrera hematoencefálica.

Todos los miembros de esta gran familia presentan los mismos dominios estructurales. Los módulos estructurales del dominio extracelular son muy similares entre sí y han sido altamente conservados a través de la evolución (Gliemann J, 1998). El dominio citoplásmico presenta muy poca similitud, a excepción de un motivo (repetición de secuencias cortas de aminoácidos) caracterizado por una secuencia consenso NPXY (Asn-Pro-cualquier aminoácido-Tyr) (Chen y col., 1990). Este motivo es el que dirige al rLDL hacia las invaginaciones recubiertas de clatrina en la membrana plasmática. Miembros de esta familia

también se han identificado en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* (Yochem y Greenwald, 1993).

El rLDL maduro es una glicoproteína de membrana altamente conservada constituido por 839 aminoácidos, integrado por cinco dominios; dominio de unión de ligando, dominio homólogo al precursor del factor de crecimiento epidérmico (EGF), dominio de unión de azúcares, dominio transmembrana y dominio citoplásmico (Goldstein y col., 2001).

El dominio de unión de ligando es el mediador de la interacción entre el receptor y la lipoproteína que contiene apo B-100 y/o apoE. Partiendo del extremo amino terminal consta de 292 aminoácidos, está compuesto por siete repeticiones de cuarenta aminoácidos con tres puentes disulfuro cada uno. El alto contenido de residuos de cisteína permite el plegamiento del dominio en una estructura rígida que facilita la interacción de un grupo de aminoácidos cargados negativamente DXSDE (Asp- X- Ser- Asp- Glu) en la superficie con las lipoproteínas que contienen apoB-100 y/o apoE. La quinta repetición se necesita para la unión con apoE, mientras que las repeticiones del dos al siete reconocen de manera cooperativa apoB-100 (Russell y col., 1989).

El dominio homólogo al EGF consta de 400 aminoácidos con un 33% de homología al precursor del EGF, existen tres repeticiones de 40 aminoácidos ricos en cisteína, las dos primeras A y B son contiguas en la región amino terminal y están separadas de la tercera repetición C por una secuencia de 280 aminoácidos que contienen cinco copias de un motivo conservado YWTD (Tyr-Trp-Thr-Asp) y repetido una vez cada 40 o 60 aminoácidos. Este dominio es necesario para la disociación ácido dependiente del ligando del receptor que ocurre en el endosoma durante el reciclaje. La repetición A tiene una función de soporte en el enlace de apoB-100 al dominio de unión (Esser y col., 1988). El dominio con cadenas de azúcares es una región de 48 aminoácidos rico en residuos de serina y treonina, en 18 de ellos los hidroxilos laterales están unidos a cadenas hidrocarbonadas adquiridas durante el procesamiento en el aparato de Golgi. Se desconoce la función de estos azúcares, es probable que esta región de soporte para que sobresalga el dominio de unión del ligando hacia el espacio extracelular y de esta manera facilitar el acceso a las grandes partículas de lipoproteínas.

El dominio transmembrana está formado por 22 residuos de aminoácidos hidrofóbicos y permite anclar la proteína en la membrana. Esta secuencia es la menos conservada de todos los dominios del receptor y su delección genera la secreción de receptores truncados.

El dominio citoplasmático del rLDL está formado por 50 residuos de aminoácidos en el extremo carboxilo terminal. Estudios de mutagénesis dirigida han identificado una señal de internalización en este dominio. El tetrapéptido NPXY dirige al rLDL hacia

las invaginaciones cubiertas de clatrina en la membrana plasmática. Recientemente se ha encontrado que este dominio puede estar involucrado en transducción de señales (Willnow y col., 1999; Strickland y col., 2002). El rLDL se sintetiza en el retículo endoplásmico y se transfiere vía aparato de Golgi a lugares de anclaje en la membrana celular (figura 5). Estos sitios son pequeñas invaginaciones recubiertas de clatrina, donde se produce la unión de las partículas LDL con los receptores a través de interacciones iónicas, las invaginaciones progresan para formar vesículas endosómicas recubiertas de clatrina que internalizan el complejo LDL-rLDL, posteriormente la clatrina se separa de las vesículas dando lugar a la fusión de varias de ellas para formar un endosoma que contiene el complejo. Un cambio en el pH del interior del endosoma que disminuye por debajo de 6.5, da lugar a la disociación de las LDL del receptor. Este último es reciclado hacia la membrana plasmática a nuevos sitios de anclaje para comenzar otro ciclo de endocitosis mientras que las partículas LDL separadas del receptor son transferidas a un lisosoma, donde son degradadas por enzimas ácidas hidrolíticas. La apoB-100 de las LDL es hidrolizada por proteasas a aminoácidos, los ésteres de colesterol, por una lipasa ácida lisosomal (Goldstein y col., 1975) a colesterol libre y ácidos grasos, los fosfolípidos a glicerol, fosfato, bases nitrogenadas y ácidos grasos, los triglicéridos a glicerol y ácidos grasos. El colesterol libre resultante atraviesa la membrana lisosomal y entra en el compartimento celular aumentando el contenido de colesterol intracelular. Un sistema de retroalimentación regula de forma precisa las concentraciones de colesterol plasmático. El colesterol intracelular inhibe la enzima hidroximetil – glutaril – CoA - reductasa (HMGCoA-reductasa) (Brown y col., 1974), reguladora del paso limitante de la biosíntesis endógena de colesterol. Niveles altos de colesterol procedentes de la degradación de las LDL disminuyen la actividad de esta enzima, mientras que niveles bajos la aumentan. Este efecto permite a la célula economizar acetyl-CoA y evita una sobrecarga de colesterol que podría lesionar las membranas.

La síntesis de receptores LDL también está regulada por las concentraciones de colesterol. Cuando el contenido de colesterol intracelular es bajo se activa la síntesis de receptores de LDL y cuando es alto disminuye (Brown y Goldstein, 1975). El colesterol intracelular regula además la actividad de la enzima acil-CoA colesterol acil transferasa (ACAT) que se encarga de transformar el colesterol libre en colesterol esterificado. Las altas concentraciones de colesterol intracelular aumentan la actividad de esta enzima mientras que las bajas la disminuyen. Estos mecanismos permiten que los niveles de colesterol intracelular se mantengan constantes mientras que el contenido en las lipoproteínas puede presentar grandes

fluctuaciones. Los rLDL presentan dos funciones primordiales, abastecer de colesterol a las células y remover del flujo sanguíneo las partículas lipoprotéicas ricas en colesterol para prevenir su acumulación en la circulación. En situaciones fisiológicas normales, dos terceras partes del total de las LDL circulantes entran en las células a través del rLDL. El hígado es el órgano encargado de procesar el colesterol de las LDL, la mayor parte de él se utiliza para la síntesis de sales biliares o se secreta como colesterol formando parte de la bilis. El resto es re-exportado a la circulación en las VLDL. Algunos tipos celulares poseen una vía de acceso mediada por un receptor de membrana distinto no sometida a los mecanismos de regulación citados, este se denomina receptor basurero “scavenger” (Brown y Goldstein, 1990). Las LDL pueden también ser captadas en las células por simple endocitosis, sin intervención de receptores.

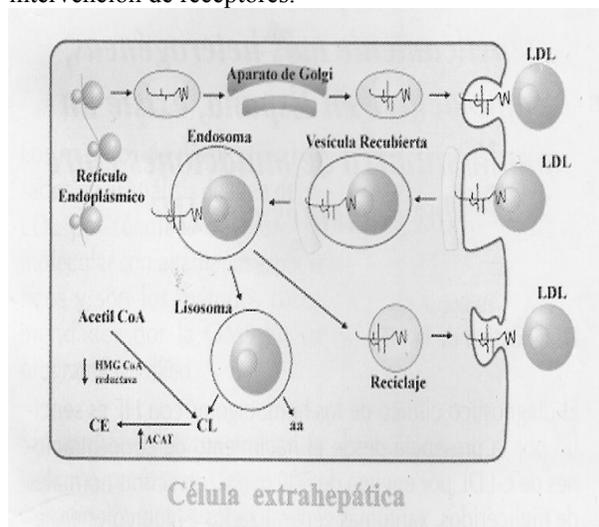


FIGURA 5. Ciclo celular del r-LDL en el catabolismo de las LDL: Síntesis del r-LDL en el ribosoma, maduración en el aparato de Golgi, anclaje en la membrana celular y unión con las LDL. Internalización por endocitosis del complejo r-LDL-LDL. Las LDL se degradan aminoácidos y colesterol libre. El receptor se recicla a la superficie celular de nuevo por varios ciclos. El colesterol procedente de las LDL regula la actividad de dos enzimas clave en la regulación del contenido intracelular de colesterol libre. La acil-colesterol acil transferasa (ACAT) encargada de la esterificación de colesterol y la Hidroxi-metil-glutaril-CoA (HMGCoA) reductasa, que regula el paso limitante de la biosíntesis endógena de colesterol.

Gen del rLDL

El gen del rLDL tiene aproximadamente 45 kb, está localizado en la zona distal del brazo corto del cromosoma 19 (región p13.1-p13.3) (Sudhof y col., 1985) y consta de 18 exones y 17 intrones. Existe una gran correlación entre la organización de los exones en el gen y los dominios funcionales de las glucoproteínas de membrana (figura 6).

El exón 1 codifica para una región corta no traducida en 5' y un péptido señal de 21 aminoácidos

hidrofóbicos. Este péptido se hidroliza en el retículo endoplásmico durante el proceso de translocación para dar lugar a la proteína madura de 839 aminoácidos. Los exones 2 al 6 codifican para el dominio de unión al ligando. La proteína codificada está constituida por siete repeticiones ricas en cisteína y codificada por los exones 2 (repetición 1), 3 (repetición 2), 4 (repeticiones 3, 4 y 5), 5 (repetición 6) y 6 (repetición 7). Los exones del 7 al 14 codifican para el dominio de homología al precursor EGF. El exón 15 codifica para el dominio rico en residuos de treonina y serina que sirve de unión con azúcares. El exón 16 y la primera porción del exón 17 codifican para el dominio transmembrana. El resto del exón 17 y la zona 5 del exón 18 codifican para el dominio citoplásmico, esencial para la ubicación del receptor en las invaginaciones recubiertas de clatrina. El exón 18 presenta cerca de 2.5 kb de RNAm sin traducir, incluyendo tres elementos Alu. En general el gen del rLDL humano contiene cerca de 30 repeticiones Alu, el doble de la frecuencia esperada para un gen de esta magnitud. El gen del rLDL comparte una gran cantidad de secuencias codificantes, existen varias moléculas que contienen todos o algunos de sus elementos (Schneider y col., 1999).

En la actualidad se conoce la secuencia de aminoácidos del gen del rLDL de seis especies, humano, conejo, hámster, vaca, rata y el sapo *Xenopus laevis* cuya proteína está altamente conservada. La región más conservada es el dominio citoplásmico con un 86% de identidad entre las seis especies, le sigue el dominio homólogo al precursor del EGF (70-86%) y el dominio transmembrana con un 45- 62% de identidad. Las dos regiones con secuencia de mínima conservación entre las seis especies son la secuencia señal y el dominio con cadenas de azúcares. En éste último, el orden de aminoácidos difiere ampliamente entre las especies, pero en todas ellas la secuencia está enriquecida con residuos de serina y treonina (Goldstein y col., 2001).

Clasificación de las mutaciones en el gen del rLDL

Actualmente se conocen más de 840 mutaciones diferentes a lo largo del gen del rLDL en individuos con HF de diversas poblaciones (<http://www.umd.necker.fr>, Villeger, y col., 2002). Aproximadamente el 13.5% de las mutaciones corresponden a grandes deleciones o inserciones (>25 pb en tamaño), el 86.5% restante son pequeñas mutaciones, de las cuales el 58.9% son mutaciones en punto, el 21.1 % son pequeñas deleciones o inserciones (< 25 pb en tamaño) y el 6.5% restante son mutaciones de ajuste (Heath y col., 2001). Las mutaciones en el gen del rLDL que dan origen a un receptor no funcional se dividen en cinco clases de acuerdo con su comportamiento fenotípico (Tolleshaug y col., 1983) (figura 7).

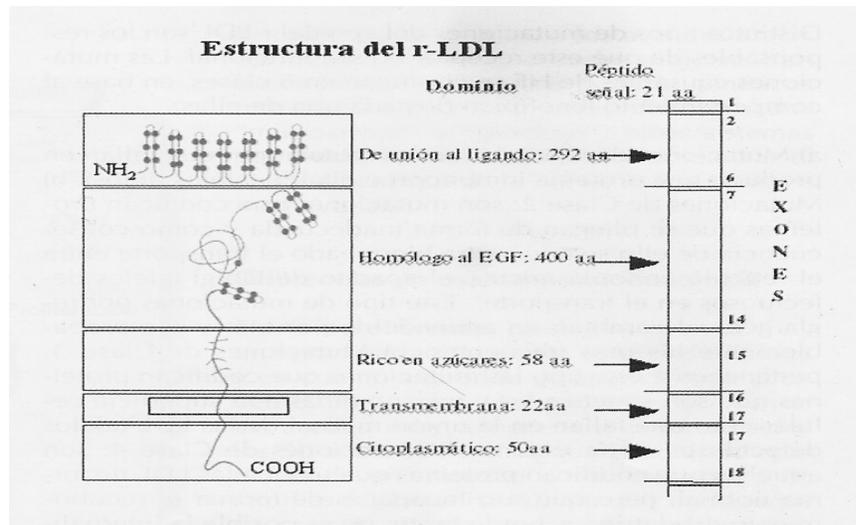


FIGURA 6. El receptor de las LDL está constituido por 5 dominios. El de unión con las LDL en el extremo amino terminal, cargado negativamente interacciona con los aminoácidos cargados positivamente (arginina y lisina) de las apo B-100 de la superficie de las LDL. El dominio homólogo al precursor del factor de crecimiento epidérmico (EGF), necesario para la disociación ácido-dependiente del ligando del receptor en el endosoma y para posicionar el dominio de unión al ligando para unirse a las LDL. Dominio con cadenas de azúcares. Dominio transmembrana necesario para anclar la proteína a la membrana celular. Dominio citoplasmático que dirige al r-LDL a invaginaciones recubiertas de clatrina en membrana plasmática.

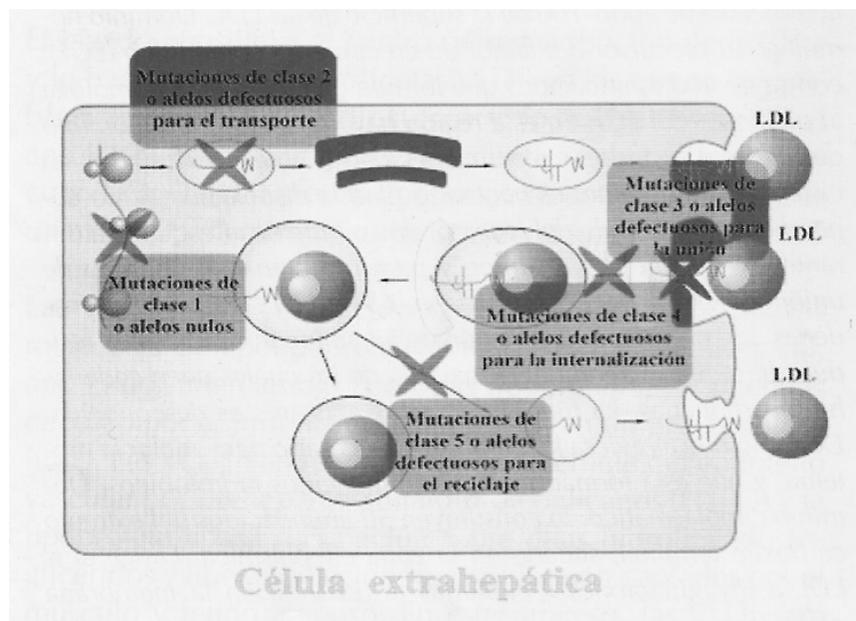


FIGURA 7. Clases de mutaciones del r-LDL en función de su comportamiento fenotípico.

Mutaciones de clase 1 o alelos nulos en las que no se produce ninguna proteína inmunoprecipitable con anticuerpos anti-receptor policlonales o monoclonales. Se pueden producir alelos nulos por deleciones que eliminan el promotor del rLDL, de modo que no se produce RNAm, por mutaciones que afectan al ajuste o por grandes deleciones que producen un RNAm de tamaño anormal. Algunas mutaciones que dan origen a un codón de parada o un cambio en la pauta de lectura producen un RNAm de tamaño normal pero en concentración reducida. La causa de esto puede ser un

rápido catabolismo del RNAm o una degradación acelerada de la proteína (Hobbs y col., 1988).

Las mutaciones de clase 2 o alelos defectuosos para el transporte dan lugar a una proteína que no adopta su estructura tridimensional adecuada, por lo que es bloqueada completa o parcialmente (2A y 2B respectivamente) en el proceso de transporte entre el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi. Estos alelos presentan mutaciones con cambio de aminoácido o pequeñas deleciones que mantienen la pauta de lectura e impiden parcial o totalmente el plegamiento del receptor.

Aproximadamente las dos terceras partes de las mutaciones de clase 2 se localizan en exones que codifican el dominio de unión al ligando y la mayoría de las restantes están en el dominio homólogo al precursor del EGF. Estas mutaciones suelen afectar a aminoácidos que están altamente conservados entre múltiples especies animales (Yamamoto y col., 1986). La repetición 5 (codificada por el exón 4) contiene tres veces más mutaciones que cualquier otra repetición, lo cual sugiere que ocupa una posición estructural crucial, de tal forma que cualquier alteración en su secuencia interfiere con el plegamiento de la proteína. Estudios de mutagénesis *in vitro* han demostrado que la repetición cinco es la única donde las mutaciones de cambio de aminoácido reducen la unión de las lipoproteínas apoE y/o apoB-100 (Russell y col., 1989). Los receptores con mutaciones de cambio de aminoácido de la clase 2B en la repetición 5 que alcanzan la superficie celular interfieren con el aclaramiento de las IDL y LDL del plasma y producen un fenotipo más grave que aquellas mutaciones en otras repeticiones.

En las mutaciones de clase 3 o alelos defectuosos para la unión, la proteína es sintetizada y transportada en forma normal hacia la superficie celular pero es incapaz de unirse a las partículas de LDL. En este grupo de mutaciones se presenta una gran variabilidad ya que la actividad de unión de LDL puede fluctuar del 2 a 30 % de la normal. La mayoría de las mutaciones de esta clase consisten en reordenamientos que mantienen la pauta de lectura en las repeticiones ricas en cisteína del dominio de unión al ligando. También la delección en las repeticiones del dominio homólogo al precursor del EGF da lugar a esta clase de alelos (Lehrman y col., 1987). Cuando se deleciona la repetición B del dominio homólogo al precursor del EGF, no se produce ningún efecto sobre la unión del ligando. Si se deleciona el dominio entero, no es posible la unión con LDL, pero no se pierde la capacidad de unión con las VLDL. Si este receptor truncado es desnaturado en dodecil sulfato de sodio (SDS), sujeto a electroforesis en condiciones no reductoras y transferido a nitrocelulosa, recupera su capacidad de unión, esto sugiere que el dominio homólogo al precursor del EGF permite a las LDL el acceso al dominio de unión del ligando sobre la superficie celular. Este dominio está involucrado también en el reciclaje del receptor (Davis y col., 1987a).

En las mutaciones de clase 4 o alelos defectuosos para la internalización, la proteína se sintetiza, se transporta y se une a las LDL de forma normal, pero no es capaz de situarse en vesículas recubiertas de clatrina por lo que no es posible la internalización del complejo rLDL-LDL. Todos los alelos de esta clase tienen mutaciones que alteran el dominio citoplásmico y se dividen en 4A, si la mutación afecta sólo al dominio citoplásmico o 4B, si afecta al dominio citoplásmico y al dominio transmembrana adyacente (Davies y col., 1986). Son mutaciones muy raras que permitieron conocer la importancia de las invaginaciones revestidas de clatrina en el proceso de endocitosis celular.

Las mutaciones de clase 5 o alelos defectuosos para el reciclado codifican receptores que unen e internalizan las partículas LDL en vesículas recubiertas de clatrina pero no las liberan dentro del endosoma, por lo que el receptor no es reciclado hacia la superficie celular. Los defectos moleculares que dan origen a esta clase de alelos suelen ser mutaciones de sentido erróneo en el dominio homólogo al precursor del EGF. Este dominio participa en el proceso de disociación ácido-dependiente del receptor con la partícula de LDL.

Las mutaciones en el gen del rLDL producen defectos muy dispares en la proteína. Determinadas mutaciones que afectan al promotor del gen o a los nexos de unión intrón-exón donde se lleva a cabo el ajuste, pueden originar cambios importantes en la cantidad de rRNA y producir cantidades variables de proteína defectuosa que modificará el fenotipo de la hipercolesterolemia (Schuster y Humphries, 1994).

En orden de gravedad, las mutaciones de alelo nulo son las más graves, seguidas por mutaciones en la repetición 5 del dominio de unión al ligando, mutaciones en otras repeticiones o en el dominio homólogo al EGF, mutaciones en el promotor y por último, mutaciones tipo ajuste con cantidad variable de proteína mutante (Graadt y col., 1995).

Promotor del rLDL

Es la región reguladora del gen del rLDL y se encuentra localizada dentro de las 177 pb anteriores al codón iniciador metionina. Presenta una secuencia TATA y tres repeticiones imperfectas de 16 pb cada una. Las repeticiones 1 y 3 contienen los sitios de unión para la interacción con el factor de transcripción Sp1 que promueve y contribuye a la expresión basal del gen. Un alto nivel de expresión requiere de la repetición dos que contiene la secuencia de 10 pb para el elemento regulador de esteroides (SER-1). En ausencia de esteroides, este elemento sinergiza con los dos sitios Sp1 para promover la transcripción del gen del rLDL. En presencia de esteroides el sitio SER-1 pierde actividad y las células reducen la cantidad de rRNA con lo cual disminuyen los receptores en la superficie celular (Sanchez y col., 1995). Se han reportado cuatro mutaciones en la repetición tres dentro del sitio de unión del factor de transcripción Sp1, que resultan en disminución moderada de la actividad del rLDL por la incapacidad para unir el factor de transcripción Sp1 (Hobbs y col., 1992; Mozas y col., 2002).

Caracterización molecular de la Apo B-100 defectuosa familiar.

El defecto molecular presente en la BDF son mutaciones en y alrededor del codón 3500 del gen de la apolipoproteína B, localizado en el cromosoma 2(p23-p24). Este gen tiene 43 kb de longitud y posee 29 exones y 28 intrones. Codifica la apoB-100.

Estudios poblacionales han mostrado que la mutación R3500Q en el dominio de unión de la apo B100 con el rLDL tiene una prevalencia de 1:500 a 1:700 en varias poblaciones de Europa y el norte de América, mientras que en Israel y Finlandia no se ha encontrado (Kalina y col., 2001). En España esta mutación es causa frecuente de hipercolesterolemia en la comunidad de Galicia (Hamalainen y col., 1990; Friedlander y col., 1993; Castillo y col., 2002).

Diagnóstico de las hipercolesterolemias familiares

El diagnóstico de las hipercolesterolemias debe incluir parámetros bioquímicos, clínicos y genéticos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su programa MedPed (Make Early Diagnosis-Prevent Early Deaths in MEDical PEDigrees) recomienda el uso de técnicas de biología molecular altamente específicas para el diagnóstico de estas patologías. Estos métodos se basan en el análisis del ADN de los genes involucrados en la patogénesis de las hipercolesterolemias monogénicas. (WHO Consultation, 1999; Myant, 1993; Defesche y Kastelein, 1998; Defesche, 2000). Para el diagnóstico de HF se ha establecido un esquema a través del cual se identifica a los pacientes mediante rastreo de familiares de los denominados “casos índice”. Un caso índice es una persona a quien se le ha diagnosticado HF por criterios clínicos y es portador de una mutación ya identificada en el gen del rLDL.

Los criterios clínicos para el diagnóstico de HF se rigen por puntuaciones asignadas a la historia personal, familiar, examen físico y análisis bioquímicos y genéticos. Si la puntuación es superior a 8, el diagnóstico es seguro.

Para la búsqueda de mutaciones en el gen del rLDL se recomienda seguir las siguientes pautas:

1. Aislar el ADN a partir de 5-10 mL de sangre periférica por un método de “salado”
2. Determinar las concentraciones de ADN por espectroscopía midiendo la absorción de la muestra a 260 Nm y calculando la pureza por la relación A260/A280.
3. Amplificar el ADN por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para cada muestra se amplifica el promotor y los 18 exones del gen del rLDL, utilizando oligonucleótidos específicos, localizados entre 40-60 pares de bases antes y después del inicio y final de cada exón (de esta manera se incluyen en el análisis las secuencias que participan en el proceso de ajuste o splicing).
4. Realizar análisis por la técnica de polimorfismos de conformación de cadena sencilla (SSCP). Esta técnica permite detectar cambios pequeños en la secuencia del ADN de hasta una base y resulta muy útil cuando no se conoce la mutación. Se fundamenta en el hecho de que el

cambio de una base en una secuencia origina cambios conformacionales en una cadena sencilla de ADN que pueden manifestarse con diferentes patrones de migración con respecto al control en un gel de poliacrilamida. Cada uno de los exones amplificados por PCR se analiza por la técnica de SSCP.

5. Secuenciar el ADN. Este proceso permite identificar el cambio concreto de nucleótido que da lugar a la mutación. Aquellas muestras que presentan un patrón de SSCP anormal deben ser secuenciadas para la caracterización definitiva de la mutación.

6. Efectuar análisis de restricción. Mediante este análisis se comprueba la mutación identificada en la secuenciación.

En caso de que la mutación no segregue con el gen del rLDL, puede ser que la hipercolesterolemia sea consecuencia de un defecto genético en el gen de la apoB, ligando de las LDL que reconoce el receptor. Para el diagnóstico de esta hipercolesterolemia se realiza análisis de restricción tras la amplificación por PCR de la zona del exón 26 del gen de apoB en la que se encuentran localizadas las mutaciones causales. Para la búsqueda de otras mutaciones puntuales se puede amplificar por PCR la zona del exón 26 (zona que codifica la región de unión al rLDL). Analizar los fragmentos por SSCP y se secuenciar los patrones anómalos. Posteriormente comprobar el cambio por medio de un análisis de restricción (Choong y col., 1997).

CONCLUSIONES

Una de las más graves consecuencias de las hipercolesterolemias familiares es el elevado riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares que representan una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. Esta peligrosa asociación exige del sistema sanitario un diagnóstico precoz y seguro que permita poner en marcha las medidas preventivas farmacológicas o nutricionales necesarias para disminuir este riesgo. Las hipercolesterolemias familiares se pueden diagnosticar por criterios clínicos, bioquímicos y más recientemente genéticos. El análisis genético aporta un diagnóstico de certeza y ayuda a conocer el efecto de las mutaciones en la expresión fenotípica de la enfermedad. Aunque la caracterización genética es lenta y laboriosa y sólo se realiza en centros especializados de investigación, identificar las mutaciones responsables de estas patologías en los diferentes grupos de población nos acerca a la posibilidad de acceder a técnicas modernas de diagnóstico genético. En la actualidad se están utilizando técnicas de miniaturización aplicadas en los biochips que permiten la identificación a gran escala de las mutaciones en el gen del rLDL. Estas técnicas permiten un diagnóstico genético rápido y seguro (Tejedor y col., 2005).

REFERENCIAS

- Abifadel, M., Varret, M., Rabes, J. P., Allard, D., Ouguerram, K., Devillers, M., Cruaud, C., Benjannet, S., Wickham, L., Erlich, D., Derre, A., Villegier, L., Farnier, M., Beucler, I., Bruckert, E., Chambaz, J., Chanu, B., Lecerf, J. M., Luc, G., Moulin, P., Weissenbach, J., Prat, A., Krempf, M., Junien, C., Seidah, N. G. y Boileau, C. (2003). "Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hipercolesterolemia". *Nat. Genet.*, 34(2),154-156.
- Alonso, R., Castillo, S., Civeira, F., Puzo, J., de la Cruz, J. J., Pocovi, M. y Mata, P. (2002). "Hipercolesterolemia familiar heterocigota en España. Estudio descriptivo de 819 casos no relacionados". *Med. Clin. (Barc.)*, 118, 487-492.
- Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1975). "Regulation of the activity of the low density lipoprotein receptor in human fibroblasts". *Cell*, 6, 307-316.
- Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1976b). "Analysis of a mutant strain of human fibroblasts with a defect in the internalization of receptor bound low density lipoprotein". *Cell.*, 9, 663-675.
- Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1976a). "Receptor-mediated control of cholesterol metabolism". *Science.*, 181, 150-154.
- Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1990). "Atherosclerosis: Scavenging for receptors". *Nature.*, 343, 508-509.
- Brown, M. S., Dana, S. E. y Goldstein, J. L. (1974). "Regulation of 3-hydroxy-3-methyl glutaryl-coenzyme A reductase activity in cultured human fibroblasts. Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia". *J. Biol. Chem.*, 249, 789-796.
- Castillo, S., Tejedor, D., Mozas, P., Reyes, G., Civeira, F., Alonso, R., Ross, E., Pocovi, M. y Mata, P. (2002). "The apolipoprotein B R3500Q gene mutation in Spanish subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia". *Atherosclerosis.*, 165, 127-135.
- Chen, W. J., Goldstein, J. L. y Brown, M. S. (1990). "NPXY, a sequence often found in cytoplasmic tails, is required for coated pit-mediated internalization of the low density lipoprotein receptor". *J. Biol. Chem.*, 265, 3116-3123.
- Choong, M. L., Koay, E. S., Khoo, K. L., Khaw, M. C. y Sethi, S. K. (1997). "Denaturing gradient-gel electrophoresis screening of familial defective apolipoprotein B-100 in a mixed Asian cohort: two cases of arginine 3500-> tryptophan mutation associated with a unique haplotype". *Clin. Chem.*, 43, 916-923.
- Christensen, E. I., Birn, H., Verroust, P. y Moestrup, S. K. (1998). "Membrane receptors for endocytosis in the renal proximal tubule". *Int. Rev. Cytol.*, 180, 237-284.
- Civeira, F. y Cénarro, A. (1997). "Relación entre fenotipo y genotipo en la hipercolesterolemia familiar monogénica". *Clin. Invest. Arteriosclerosis.*, 9, 23-34.
- Davies, C. G., Goldstein, J. L., Sudhof, T. C., Anderson, R. G., Russell, D. W. y Brown, M. S. (1987a). "Acid-dependent ligand dissociation and recycling of LDL receptor mediated by growth factor homology region". *Nature.*, 326, 760-765.
- Davies, C. G., van Driel, I. R., Russell, D. W., Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1987b). "The low density lipoprotein receptor. Identification of amino acids in cytoplasmic domain required for rapid endocytosis". *J. Biol. Chem.*, 262, 4075-4082.
- Davies, C. G., Lehrman, M. A., Russell, D. W., Anderson, R. G., Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1986). "The J.D: mutation in familial hypercholesterolemia: amino acid substitution in cytoplasmic domain impedes internalization of LDL receptors". *Cell.*, 45, 15-24.
- Davies, P. F., Shi, C., DePaola, N., Helmke, B. P. y Polacek, D. C. (2000). "Hemodynamics and the focal origin of atherosclerosis". *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 947, 7-17.
- Defesche, J. (2000). *Familial Hypercholesterolemia*. In: *Betteridge J.*, editor. *Lipids and Vascular Disease. Current Issues*. London: Martin Dunitz., Pp. 65-76.
- Defesche, J. y Kastelein, J. J. (1998). "Molecular epidemiology of familial hypercholesterolemia". *Lancet.*, 352, 1643-1644.
- Esser, V., Limbird, L. E., Brown, M. S., Goldstein, J. L. y Russell, D. W. (1988). "Mutational analysis of the ligand binding domain of the low density lipoprotein receptor". *J. Biol. Chem.*, 263: 13282-13290.
- Forman-Kay, J. D. y Pawson, T. (1999). "Diversity in protein recognition by PTB domains". *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 9, 690-695.
- Friedlander, Y., Dann, E. J. y Leitersdorf, E. (1993). "Absence of familial defective apolipoprotein B-100 in Israeli patients with dominantly inherited hypercholesterolemia and in offspring with parental

- history of myocardial infarction". *Hum. Genet.*, 91, 299-300.
- Garcia, C. K., Wilund, K., Arca, M., Zuliani, G., Fellin, R., Maioli, M., Calandra, S., Bertolini, S., Cossu, F., Grishin, N., Barnes, R., Cohen, J. C. y Hobbs, H. H. (2001). "Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein". *Science.*, 292, 1394-1398.
- Gimbrone, M. A. Jr. (1999). "Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherogenesis". *Am. J. Pathol.*, 155, 1-5.
- Gliemann, J. (1998). "Receptors of the low density lipoprotein receptor family in man. Multiple functions of the large family members via interaction with complex ligands". *Biol. Chem.*, 379, 951-964.
- Goldstein, J. L., Anderson, R. G. W. y Brown, M. S. (1979). "Coated pits, coated vesicles, and receptor-mediated endocytosis". *Nature.*, 279, 679-685.
- Goldstein, J. L., Basu, S. K., Brunschede, G. Y. y Brown, M. S. (1976). "Release of low density lipoprotein from its cell surface receptor by sulfated glycosaminoglycans". *Cell.*, 7, 85-91.
- Goldstein, J. L., Dana, S. E. y Faust, J. R., Beaudet, A. L. y Brown, M. S. (1975). "Role of lysosomal acid lipase in the metabolism of plasma low density lipoprotein. Observations in cultured fibroblasts from patient with cholesteryl ester storage disease". *J. Biol. Chem.*, 250, 8487-8495.
- Goldstein, J. L., Hobbs, H. H. y Brown M. S. (2001). "Familial Hypercholesterolemia. In Scriver", C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S. y Valle, D. eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th edn. New York, McGraw-Hill., 2863-2913.
- Graadt Van Roggen, J. F., Ven Der Westhuyzen, D. R., Cohetes, G. A., Marais, A. D., Steyn, K., Langenhoven, E. y Kotze, M. J. (1995). "FH Afrikaner-3 LDL receptor mutation results in defective LDL receptors and causes a mild form of familial hypercholesterolemia". *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 15, 765-772.
- Hamalainen, T., Palotie, A., Aalto-Setälä, K., Kontula, K. y Tikkanen, M. J. (1990). "Absence of familial defective apolipoprotein B-100 in Finnish patients with elevated serum cholesterol". *Atherosclerosis.*, 82, 177-183.
- He, G., Gupta, S., Michaely, P., Hobbs, H. H. y Cohen, J. C. (2002). "ARH is a modular adaptor protein that interacts with the LDL receptor, clathrin and AP-2". *J. Biol. Chem.*, 277, 44044-44049.
- Heath, K. H., Gahan, M., Whittall, R. A. y Humphries, S. E. (2001). "Low-density lipoprotein receptor gene (LDLR) world-wide website in familial hypercholesterolemia: update, new features and mutation analysis". *Atherosclerosis.*, 154, 243-246.
- Hill, J. S., Hayden, M. R., Frohlich, J. y Pritchard, P. H. (1991). "Genetic and environmental factors affecting the incidence of coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia". *Arterioscler. Thromb.*, 11, 290-297.
- Hilpert, J., Wogensen, L., Thykjaer, T., Wellner, M., Schlichting, U., Orntoft, T. F., Bachmann, S., Nykjaer, A. y Willnow, T. E. (2002). "Expression profiling confirms the role of endocytic receptor megalin in renal vitamin D₃ metabolism". *Kidney Int.* 62, 1672-1681.
- Hobbs, H. H., Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1992). "Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia". *Hum. Mutat.*, 1, 445-466.
- Hobbs, H. H., Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1992). "Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia". *Hum. Mutat.*, 1, 445-466.
- Hobbs, H. H., Leitersdorf, E., Goldstein, J. L., Brown, M. S. y Russell, D. W. (1988). "Multiple mutations in familial hypercholesterolemia: evidence for 13 alleles, including four deletions". *J. Clin. Invest.*, 81, 909-917.
- Innerarity, T. L., Mahley, R. W., Weisgraber, K. H., Bersot, T. P., Krauss, R. M. y Vega, G. L. (1990). "Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia". *J. Lipid Res.* 31, 1337-1349.
- Jingami, H. y Yamamoto, Y. (1995). "The VLDL receptor: wayward brother of the LDL receptor". *Curr. Opin. Lipidol.*, 6, 104-108.
- Kalina, A., Csaszar, A., Czeizel, A. E., Romics, L., Szaboki, F., Szalai, C., Reiber, I., Nemeth, A., Stephenson, S. y Williams, R. R. (2001). "Frequency of the R3500Q mutation of the apolipoprotein B-100 gene in a sample screened clinically for familial hypercholesterolemia in Hungary". *Atherosclerosis.*, 154, 247-251.
- Khachadurian, A. K. y Uthman, S. M. (1973). "Experiences with the homozygous cases of familial

- hypercholesterolemia. A report of 52 patients". *Nutr. Metab.* 15, 132-140.
- Kim, D. H., Iijima, H., Goto, K., Sakai, J., Ishii, H., Kim, H. J., Suzuki, H., Kondo, H., Saeki, S. y Yamamoto, Y. (1996). "Human apolipoprotein E receptor 2-a novel lipoprotein receptor of the low density lipoprotein receptor family predominantly expressed in brain". *J. Biol. Chem.*, 271, 8373-8380.
- Kotze, M. J., Langenhoven, E., Warnich, L., Du Plessis, L. y Retief, A. E. (1991). "The molecular basis and diagnosis of familial hypercholesterolaemia in South African Afrikaners". *Am. Hum. Genet.*, 55, 115-121.
- Lehrman, M. A., Goldstein, J. L., Russell, D. W. y Brown, M. S. (1987). "Duplication of seven exons in LDL receptor gene caused by Alu-Alu recombination in a subject with familial hypercholesterolemia". *Cell.*, 48, 827-835.
- Leitersdorf, E., Tobin, E. J., Davignon, J. y Hobbs, H. H. (1990). "Common low-density lipoprotein receptor mutations in the French Canadian population". *J. Clin. Invest.*, Pp. 85, 1014-1023.
- Levine, G.N., Keaney, J.F. Jr, Vita, J. A. (1995). "Cholesterol reduction in cardiovascular disease. Clinical benefits and possible mechanisms". *N. Engl. J. Med.* 332, 512-521.
- Mata, P., Alonso, R., Castillo, S. y Pocovi, M. (2002). "MEDPED and the Spanish familial hypercholesterolemia foundation". *Atherosclerosis.*, 2, 9-11.
- McGill, H. C., McMahan, C. A., Zieske, A. W., Tracy R. E., Malcom, G. T., Herderick, E. E. y Strong, J. P. (2000). "Association of coronary heart disease risk factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in Youth". *Circulation.*, 102, 374-379.
- Meiner, V., Landsberger, D., Berkman, N., Reshef, A., Segal, P., Seftel, H. C., Van der Westhuyzen, D. R., Jeenah, M. S., Coetzee, G. A. y Leitersdorf, E. (1991). "A common Lithuanian mutation causing familial hypercholesterolemia in Ashkenazi Jews". *Am. J. Hum. Genet.*, 49, 443-449.
- Mozas, P., Galetto, R., Albajar, M., Ross, E., Pocovi, M. y Rodríguez-Rey, J. C. (2002). "A mutation (-49C>T) in the promoter of the low density receptor gene associated with familial hypercholesterolemia". *J. Lipid Res.* 43, 13-18.
- Murray C. J. y Lopez A. D. (1997a). "Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study". *Lancet.*, 349, 1498-1504.
- Murray C. J. y Lopez A. D. (1997b). "Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study". *Lancet.*, 349, 1436-1442.
- Myant, N. B. (1993). "Familial defective apolipoprotein B-100: including some comparisons with familial hypercholesterolemia". *Atherosclerosis.*, 104, 1-18.
- Newcomer, M. E. m Jamison, R. S. y Ong, D. E. (1998). "Structure and function of retinoid-binding proteins". *Subcell Biochem.* 30, 53-80.
- Nykjaer, A., Bengtsson-Olvercrona, G., Lookene, A., Moestrup, S. K., Petersen, C. M., Weber, W., Beisiegel, U. y Gliemann, J. (1993). "The α_2 -macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein binds lipoprotein lipase and β -migrating very low density lipoprotein associated with the lipase". *J. Biol. Chem.*, 268, 15048-15055.
- Report of a second WHO Consultation. World Health Organization. *Human Genetics Program*. "Familial Hypercholesterolemia a global perspective". Geneva, 1999.
- Russell, D. W., Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1989). "Different combinations of cysteine-rich repeats mediate binding of low density lipoprotein receptor to two different proteins". *J. Biol. Chem.*, Pp. 264, 21682-21688.
- Sanchez, H. B., Yieh, L. y Osborne, T. F. (1995). "Cooperation by sterol regulatory element-binding protein and Sp1 in sterol regulation of low density lipoprotein receptor gene". *J. Biol. Chem.*, 270, 1161-1169.
- Schneider, W. J., Nimf, J., Brandes, C. y Drexler, M. (1999). "The low density lipoprotein receptor family: genetics, function and evolution". *Curr. Atheroscler. Rep.* 1, 115-122.
- Schuster, H. y Humphries, S. (1994). "European Workshop on LDL receptor defects. European Working Group on Familial Hypercholesterolaemia". *Clin. Investig.*, 72, 898-907.
- Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. (1999). "Mortality in treated heterozygous familial hypercholesterolemia: implications for clinical management". *Atherosclerosis.*, 142, 105-115.

- Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. (1991). "Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia". *Br. Med. J.* 303, 893-896.
- Seidah, N. G., Benjannet, S., Wickham, L., Marcinkiewicz, J., Jasmin, S. B., Stifani, S., Basak, A., Prat, A. y Chretien, M. (2003). "The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 928-933.
- Stamper, J., Daviglius, M. L., Garside, D. B., Dyer, A. R., Greenland, P. y Neaton, J. D. (2000). "Relationship of baseline serum cholesterol levels in 3 large cohorts of younger men to long-term coronary, cardiovascular, and all-cause mortality and to longevity". *JAMA.* 284, 311-318.
- Strickland, D. K., Gonias, S. L. y Argraves, W. S. (2002). "Diverse roles for the LDL receptor family". *Trends Endocrinol. Metab.*, 13, 66-74.
- Sudhof, T. C., Goldstein, J. L., Brown, M. S. y Russell, D. W. (1985). "The LDL receptor gene: a mosaic of exons shared with different proteins". *Science.*, 228, 815-822.
- Tejedor, D., Castillo, S., Mozas, P., Jiménez, E., López, M., Tejedor, M. T., Artieda, M., Alonso, R., Mata, P., Simón, L., Martínez, A. y Pocovi, M. (2005). "Reliable low-density DNA array base don allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia". *Clin. Chem.*, 51(7), 1137-1144.
- Tolleshaug, H., Hobgood, K. K., Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1983). "The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: multiple mutations disrupt transport and processing of a membrane receptor". *Cel.* 32, 941-951.
- Willnow, T. E., Nykjaer, A. y Herz, J. (1999). "Lipoprotein receptors; new roles for ancient proteins". *Nat. Cell Biol.*, 1, E157-E162.
- Yamamoto, T., Bishop, R. W., Brown, M. S., Goldstein, J. L. y Russell, D. W. (1986). "Deletion in cysteine-rich region of LDL receptor impedes transport to cell surface in WHHL rabbit". *Science.*, 232, 1230-1237.
- Yamamoto, T., Takahashi, S., Sakai, J. y Kawarabayasi, Y. (1993). "The very low density lipoprotein receptor: a second lipoprotein receptor that may mediate uptake of fatty acids into muscle and fat cells". *Trends Cardiovasc. Med.* 3, 144-148.
- Yochem, J. y Greenwald, I. (1993). "A gene for a low density lipoprotein receptor-related protein in the nematode *Caenorhabditis elegans*". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90, 4572-4576.
- Zuliani, G., Vigna, G. B., Corsini, A., Maioli, M., Romagnoni, F. y Fellin, R. (1995). "Severe hypercholesterolaemia: unusual inheritance in an Italian pedigree". *Eur. J. Clin. Invest.* 25, 322-331.

Tratamiento nutricional y farmacológico de las hipercolesterolemias monogénicas

Héctor González García¹, Alberto Armendáriz Rodríguez¹, Juan Carlos Estrada Bejarano¹, Efraín García SanMiguel¹, Celia Holguín Licón² y Cristina Vélez Sánchez-Verín².

¹Departamento de Ciencias Básicas .Instituto de Ciencias Biomédicas. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo Pronaf y Estocolmo S/N. gireyes@uacj.com.mx

²Medico Interno de Pregrado. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo Pronaf y Estocolmo S/N.

RESUMEN

Aunque el principal determinante de las hipercolesterolemias monogénicas es el factor genético, cambios en los factores de riesgo modificables tales como la dieta, sedentarismo, tabaquismo y peso corporal junto con la reducción del colesterol por medios farmacológicos tienen un gran impacto sobre la incidencia y progresión de la aterosclerosis. En la actualidad se sabe que el establecimiento de medidas higiénico-dietéticas y el uso de fármacos hipolipemiantes pueden disminuir la morbimortalidad por enfermedad cardiovascular (ECV) en estos pacientes.

INTRODUCCIÓN

El riesgo de desarrollar ECV está determinado por una compleja interacción de factores genéticos y ambientales, entre estos últimos destacan los nutricionales, la actividad física y el consumo de tabaco. Existen ciertas situaciones en las que los factores genéticos son los principales determinantes del desarrollo de ECV, tal es el caso de las hipercolesterolemias familiares que requieren un diagnóstico precoz y el establecimiento de medidas de control específicas para reducir la alta morbimortalidad por ECV. Estudios realizados en pacientes con estos trastornos hereditarios han evidenciado regresión de la aterosclerosis y mayor supervivencia en pacientes tratados con dieta y fármacos hipolipemiantes (Smilde, 2001). Aunque la mayoría de los pacientes con hipercolesterolemias familiares requerirán de tratamiento farmacológico, las medidas nutricionales contribuyen en forma importante al tratamiento de estas enfermedades.



FIGURA 1. Pirámide de los Alimentos.

El principal objetivo del tratamiento es la disminución del colesterol en las partículas LDL (cLDL) para lo que son de gran importancia las medidas higiénico-dietéticas y las farmacológicas. La dieta está constituida por tres macronutrientes, carbohidratos, proteínas y grasas (Figura 1). En la actualidad sabemos que los factores de la dieta que mayor influencia tienen sobre las concentraciones de cLDL son el tipo de grasa y la cantidad de colesterol. El efecto que sobre las concentraciones de cLDL plasmáticos ejercen las modificaciones en estos dos componentes se debe a un aumento en la expresión de receptores de LDL hepáticos (rLDL) y a una disminución en la síntesis de colesterol en el hígado. En la mayoría de las hiperlipemias de base genética, el tratamiento farmacológico debe iniciarse junto con las medidas higiénico-dietéticas. La elección del fármaco dependerá del trastorno lipídico predominante, del riesgo cardiovascular global, de su espectro de acción, de sus características farmacológicas y de sus efectos adversos. El uso de fármacos es permanente y solo debe suspenderse en caso de efectos adversos o intolerancia.

Efecto de la dieta sobre el perfil lipídico

Colesterol

La homeostasis del colesterol está exquisitamente regulado por sistemas enzimáticos dependientes de las concentraciones de colesterol libre intracelular, el incremento en este colesterol estimula la actividad de la acil colesterol acil transferasa (ACAT) encargada de su esterificación a la vez que inhibe la actividad de la Hidroxil Metil Glutaril CoA reductasa (HMGCoA-Reductasa) que regula el paso limitante en la síntesis

endógena de colesterol. La disminución en el contenido de colesterol libre promueve la expresión de receptores LDL a través de una señal transmitida por una proteína de membrana de unión de elementos relacionados con los esteroides (PUERE), lo que incrementa el aclaramiento de colesterol, manteniendo las concentraciones plasmáticas normales.

La rápida occidentalización de la dieta ha promovido un consumo cada vez mayor de colesterol. El consumo habitual puede ascender hasta 400 a 500 mg/día, mientras que los requerimientos recomendados son menores de 300 mg/día. Independientemente de la cantidad ingerida, en el intestino se absorbe únicamente el 40-50% del colesterol proporcionado. Este colesterol llega al hígado en los quilomicrones ya sea para almacén o para su excreción en la bilis como ácido biliar o colesterol. Aunque la absorción intestinal tiene efectos reguladores sobre la homeostasis general del colesterol en el organismo, existe una gran variabilidad inter e intraindividual que determina diferentes respuestas en el colesterol sérico a las modificaciones en la dieta. Esta variabilidad depende de factores fisiológicos, dietéticos y genéticos. Entre los factores dietéticos destaca la presencia de otros alimentos en la luz intestinal, así, los triglicéridos incrementan la absorción mientras que los esteroides vegetales la disminuyen por competencia. Entre los factores genéticos, destacan los polimorfismos de la apolipoproteína E, asociados con la variabilidad interindividual en las concentraciones de colesterol. Esta apolipoproteína presenta tres isoformas, E2, E3 y E4. Los sujetos que poseen la isoforma E2 suelen presentar valores más bajos de colesterol plasmático probablemente debido a la menor afinidad de esta isoforma por el receptor. Esta afinidad reducida da lugar a una lenta captación de colesterol por la célula que induce una mayor expresión y actividad de los receptores LDL promovida por las bajas concentraciones de colesterol intracelular. La presencia de la isoforma E4 se asocia con valores superiores de colesterol sérico. Esto se debe a que los portadores del alelo E4 absorben más colesterol y tienen una menor síntesis hepática de ácidos biliares en comparación con los portadores del alelo E3 (Hagberg, 2000). Por tanto la respuesta en la reducción de cLDL a la restricción de grasa saturada y colesterol de la dieta será mayor en los portadores del alelo E4 (Ordovás y col., 1995). Recientemente se han descrito los genes ABCG5 y ABCG8 como limitantes en la absorción intestinal de esteroides vegetales y colesterol de la dieta. Estos genes presentan variaciones importantes entre los individuos y hacen que unos absorban más colesterol de la dieta y eliminen menos por la bilis (Repa y col., 2000; Berge y col., 2000). En el caso de las hipercolesterolemias monogénicas debidas a defectos en el receptor de LDL o en la apo B-100 es esencial el empleo de las dietas recomendadas por la NECP con un consumo de colesterol menor de 300 mg/día que condicionan una menor absorción intestinal y facilitan el aclaramiento del colesterol plasmático. La disminución en la ingesta de colesterol de 500 a 200 mg/día puede disminuir en un 10% las concentraciones plasmáticas de

colesterol (Control de la colesterolemia en España, 2000).

Grasas

Con el advenimiento de padecimientos asociados a un balance energético positivo el macronutriente que más connotaciones negativas ha recibido a través de los últimos años es la grasa, sin embargo es un nutriente esencial que contribuye a satisfacer las demandas energéticas, de ácidos grasos esenciales, de vitaminas liposolubles e intervienen en la síntesis de hormonas esteroideas y de ácidos biliares.

Dentro del perfil calórico recomendado se considera adecuado un consumo de hasta el 30% de la ingesta diaria, con predominio en el consumo de monoinsaturados (Executive Summary Third Report of NCEP, 2001). Habitualmente el 90% de la grasa que consumimos se encuentra en forma de triglicéridos, constituidos por tres moléculas de ácidos grasos y una de glicerol. Los triglicéridos son muy heterogéneos ya que su composición depende del tipo de ácidos grasos que se ingiere. Los ácidos grasos pueden ser saturados (AGS) que carecen de dobles enlaces, monoinsaturados (AGM) con un solo doble enlace y poliinsaturados (AGP) con dos o más dobles enlaces. El grado de insaturación junto con la longitud de cadena determinan las propiedades fisicoquímicas de los ácidos grasos. La grasa proporcionada por la dieta se hidroliza y absorbe en intestino por la vía de los monoacilgliceroles. En el enterocito se forman los quilomicrones que serán los encargados de transportar la grasa exógena a los tejidos a través de la circulación. Los principales tejidos aceptores de ácidos grasos liberados por la hidrólisis de los triglicéridos contenidos en los quilomicrones son el músculo, que lo utiliza como energético y el tejido adiposo que los reesterifica en triglicéridos para su almacén, constituyendo ésta la mayor reserva energética del organismo. Una vez que los quilomicrones distribuyen parte de su contenido se convierten en quilomicrones remanentes que serán captados por el hígado. Las grasas captadas más las sintetizadas por este órgano se reexportan a la circulación en partículas lipoprotéicas de muy baja densidad (VLDL) las cuales son sometidas a una cascada lipolítica que da lugar a otras lipoproteínas de diferente densidad como son las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y las de baja densidad (LDL). Existen otras lipoproteínas denominadas de alta densidad (HDL) que se sintetizan en hígado, intestino y plasma cuya importante función se asocia con la disminución en el riesgo cardiovascular por su participación en el transporte reverso del colesterol. La cantidad y sobre todo el tipo de grasa en la dieta tienen un efecto claro sobre el perfil lipídico, constituido por las fracciones lipoprotéicas anteriormente mencionadas. La cantidad de grasa es determinante en la formación de quilomicrones por la mucosa intestinal a la vez que influye sobre la producción hepática de VLDL, estas dos condiciones impactan principalmente sobre las concentraciones de triglicéridos plasmáticos. El efecto

más importante de la grasa de la dieta sobre las concentraciones de colesterol está relacionado con el tipo de grasa. Se consideran elevadores del colesterol, los ácidos grasos saturados (AGS) y los ácidos grasos trans (AGT).

Ácidos grasos saturados

Están contenidos en gran proporción en grasa de origen animal, lácteos y productos cárnicos, pueden ser de cadena larga cuando poseen 14 o más átomos de carbono o de cadena media con 8 a 10 átomos de carbono. Los de cadena larga son integrados en los triglicéridos de los quilomicrones para su absorción y transporte mientras que los de cadena media pasan directamente a circulación como ácidos grasos libres. El efecto de los ácidos grasos saturados sobre el colesterol ha sido bien establecido desde hace casi 30 años con los estudios pioneros realizados por Keys y col., 1965. Los AGS promueven el incremento de colesterol total y cLDL, con menores efectos sobre el colesterol en lipoproteínas de alta densidad (cHDL) y en lipoproteínas de muy baja densidad (cVLDL) (Keys y col., 1965; Grundy y Denke, 1990). Interfieren con la esterificación del colesterol intracelular manteniendo elevadas las concentraciones de colesterol libre en la célula. El incremento en este colesterol inhibe la señal de la PUERE disminuyendo la expresión y actividad de los receptores de LDL, deteriora el aclaramiento plasmático y promueve el incremento de las concentraciones de colesterol total y cLDL en plasma. Por otra parte el cambio en la composición de los ácidos grasos en los fosfolípidos de las membranas celulares y de las lipoproteínas interfiere con el funcionamiento normal de receptores celulares o reduce su interacción con las lipoproteínas, lo que favorece la síntesis de colesterol endógeno. La reducción en el consumo de ácidos grasos saturados desde un 15%, habitual en las dietas occidentales al recomendado 10% o menos con una ingesta de colesterol menor de 300 mg/día se puede lograr un descenso del colesterol plasmático de un 10 a 15%. Este puede ser mayor si el consumo de ácidos grasos saturados es menor al 7% del contenido calórico total (Alonso y col., 2002).

Ácidos grasos monoinsaturados

El principal representante de este grupo es el ácido oleico que se encuentra en todas las grasas animales y en particular en aceites vegetales. Aunque tradicionalmente el ácido oleico se había asociado con disminución de los triglicéridos y se consideraba neutro en relación a sus efectos sobre el colesterol, algunos estudios han mostrado que la sustitución del ácido palmítico por oleico produce una disminución en el colesterol total y cLDL, manteniendo normales o ligeramente altas las concentraciones de cHDL lo que disminuye el riesgo aterogénico. Los mecanismos a través de los cuales sucede esto no se conocen muy bien, se ha sugerido que puede deberse a cambios en los receptores de las

lipoproteínas, membranas celulares y enzimas relacionadas con su metabolismo (Grundy y Abate, 2002). Las dietas establecidas por la NECP recomiendan la sustitución de AGS por AGM.

Ácidos grasos poliinsaturados

Se clasifican en n-3 y n-6 dependiendo de la posición del doble enlace con respecto al metilo terminal de la molécula. El principal ácido graso n-6 es el linoléico que se encuentra en los aceites de maíz, girasol y soya. Los n-3 cuyo principal exponente es el linoléico se encuentran en pequeñas cantidades en plantas y aceites, siendo su fuente principal los animales marinos. Los ácidos grasos n-3 de cadena larga (eicosapentaenoico y docosahexaenoico) se encuentran principalmente en pescados grasos, mariscos y aceites marinos. Los ácidos grasos linoléico y linoléico son esenciales o indispensables en la dieta. Los ácidos grasos n-6 pueden disminuir el colesterol total y cLDL, sin embargo se ha observado también que el alto consumo de n-6 disminuye las concentraciones de cHDL, lo que induce aumento en el factor de riesgo cardiovascular. La disminución del colesterol total y cLDL probablemente se deba más a la sustitución de saturados que al incremento de los poliinsaturados. La relación que los ácidos grasos n-3 tienen con las concentraciones de colesterol no ha sido suficientemente confirmada, el mayor efecto que estos compuestos tienen sobre el perfil lipídico es la disminución de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Esta reducción se debe a la inhibición de la síntesis hepática de triglicéridos y VLDL (Grundy, 2003; Illingworth y col., 1989). Para mantener los efectos favorables sobre el colesterol en LDL y colesterol total sin disminuir las HDL se recomienda un consumo no mayor del 10% de la ingesta calórica total. Un consumo excesivo de ácidos grasos n-6 condiciona un incremento en el ácido araquidónico y a través de esto el aumento en la producción de tromboxano A2 cuyo efecto agregante plaquetario incrementa el riesgo cardiovascular.

Ácidos grasos trans

La introducción de procesos industriales en la modificación de los alimentos ha incrementado el consumo de los ácidos grasos *trans*. La producción comercial de grasas vegetales implica un proceso de hidrogenación que modifica la saturación y la configuración de los dobles enlaces, transformándolos de *cis* en *trans* (dobles enlaces orientados en diferentes lados de la molécula). Las margarinas vegetales pueden tener hasta un 30% de estos compuestos cuyo efecto sobre el colesterol es muy similar al de los ácidos grasos saturados. Los ácidos grasos *trans* pueden estar presentes también en la leche y la carne de algunos rumiantes como consecuencia de la degradación bacteriana de ácidos grasos (Zock y Mensink, 1996).

Efectos pleiotrópicos de los ácidos grasos

Más allá de los efectos antes mencionados, los ácidos grasos pueden ejercer su efecto en otros sitios. Uno de los factores más estudiados en el desarrollo de la aterosclerosis es la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), la susceptibilidad a la oxidación de estas depende de la composición de ácidos grasos que tienen. El sustrato de oxidación son los dobles enlaces, de manera que los monoinsaturados son los más resistentes a la oxidación. Por otra parte algunos estudios han mostrado que una dieta rica en monoinsaturados disminuye la adhesión de los monocitos y la proliferación de las células musculares lisas (Brown y col., 2001; Mata y col., 1997). Produce además un efecto vasodilatador endotelio-dependiente (Fuentes y col., 2001), disminuye los requerimientos de insulina y mantiene las concentraciones de triglicéridos (Garg y col., 1988). Los ácidos grasos n-3 ejercen efecto sobre la síntesis de tromboxano y prostaglandinas, favoreciendo un estado antiagregante plaquetario (Knapp, 1997).

Fibra

Los carbohidratos representan el mayor porcentaje de nuestra ingesta calórica diaria, (55 a 60%) se recomienda una alta proporción de carbohidratos complejos, entre otras cosas por su contenido en fibra tanto soluble como insoluble. La fibra actúa en la luz intestinal a manera de resina de intercambio aniónico, secuestrando sales biliares y promoviendo su eliminación fecal, esto disminuye la concentración micelar crítica por lo que disminuye la absorción de colesterol, además, la disminución en el retorno enterohepático de sales biliares promueve la movilización de colesterol celular para la síntesis de sales biliares y estimula así la actividad de los receptores LDL para la captación de colesterol plasmático que cubra las necesidades celulares, disminuyendo así sus concentraciones en plasma. Por otra parte el efecto mecánico de la fibra al acelerar el tiempo de tránsito intestinal promueve la disminución en la absorción de colesterol. (Jenkins y Kendall, 2001). El consumo diario de fibra recomendado puede calcularse en la infancia sumando 5 a la edad hasta llegar a 25, en los adultos es de 30-35 gramos/día.

Esteroles vegetales

El alto consumo de carbohidratos complejos incrementa el contenido en la dieta de esteroles vegetales, compuestos similares estructuralmente al colesterol pero que difieren de él por su bajo porcentaje de absorción en los humanos (5%). Estos se encuentran en las plantas como sitostanol y campestanol. Los esteroles vegetales reducen de forma efectiva la absorción de colesterol, aunque los mecanismos no han sido completamente establecidos diversos estudios han mostrado que los esteroles vegetales disminuyen la solubilidad micelar y compiten por el sitio de unión del colesterol limitando así su absorción, por otra parte se ha

observado también la formación de complejos no absorbibles que promueven la excreción del colesterol (Cater, 2005). Los beneficios otorgados por los esteroides vegetales no son posibles sin una suplementación de los mismos dado que el contenido de la dieta es muy bajo. Esteroides vegetales extraídos de plantas y esterificados con ácidos grasos han sido adicionados a margarinas vegetales. (Thompson, 2005). Los esteroides más utilizados son el sitostanol y el sitosterol. El sitostanol tiene mayor efecto hipocolesterolemizante, el consumo de 1.5 g/día por más de 3 meses puede reducir las concentraciones plasmáticas en un 33%, mientras que la ingesta de 5 g/día de sitosterol por el mismo tiempo disminuye las concentraciones en sólo el 20%. En niños con hipercolesterolemia familiar, el consumo de esteroides vegetales nos permite mantener más bajas las dosis de fármacos (Becker y col., 1993; Miettinen y col., 1995; Grundi, 2005).

Efecto de los fármacos sobre el perfil lipídico

Inhibidores de la Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA Reductasa (HMGCoA Reductasa)

El hígado es el órgano en el cual se produce la mayor cantidad de colesterol a la vez que es el encargado de eliminar también la mayor proporción del mismo, entre el 40 y el 60% de las partículas LDL circulantes son captadas por el receptor apo B100/E. La estructura en anillo de las estatinas, similar a la de la enzima limitante en la biosíntesis endógena de colesterol (HMGCoA Reductasa) le permite inhibir de forma competitiva, parcial y reversible la actividad de esta enzima bloqueando la síntesis endógena de colesterol hepático. La disminución en la disponibilidad de colesterol intracelular promueve la expresión del gen del receptor de LDL con el consiguiente incremento de los receptores en la membrana celular del hepatocito. Esto da lugar a un mayor aclaramiento de las LDL circulantes y disminución de las concentraciones séricas (Illingworth y Tobert, 2001).

Las estatinas ejercen importantes efectos pleiotrópicos que disminuyen en gran medida el riesgo cardiovascular en los pacientes hipercolesterolémicos. Previenen la oxidación de las LDL al disminuir su tiempo en circulación y a través de la preservación de la superóxido dismutasa. Inhiben la expresión vascular de moléculas de adhesión con lo que disminuyen la fijación de células inmunológicas a la pared arterial, inhiben la actividad de los macrófagos, la fagocitosis de LDL por los mismos, así como la expresión del Factor Tisular de Macrófagos previniendo así la formación de trombos. Otro de sus efectos positivos lo representa la regulación a la alza de la actividad de la óxido nítrico sintetasa preservando con ello la síntesis de óxido nítrico endotelial.

Recientemente una nueva droga ha demostrado su efectividad, se trata del ezetimibe, este fármaco se fija a los enterocitos de la mucosa yeyunal e inhibe la circulación enterohepática de colesterol, resulta más efectivo que la sola restricción dietética dado que

bloquea la absorción del colesterol tanto de la dieta como el biliar. Este es uno de los fármacos que se han empezado a utilizar en niños (Gagne y col., 2002).

Resinas de Intercambio Iónico

Entre el 30 y el 50% del colesterol sintetizado por el hígado se convierte en ácidos biliares allí mismo. Los ácidos biliares son esenciales para la solubilización de las grasas y colesterol de la dieta para su absorción en el intestino. Cerca del 98% de las sales biliares intestinales se reabsorben por el íleon para reintegrarse a la circulación enterohepática. Las resinas son compuestos no absorbibles que forman en la luz intestinal complejos quelantes con las sales biliares, promoviendo su excreción y reduciendo la reabsorción por el íleon, esto condiciona disminución en el almacén de sales biliares, por lo que se activa la enzima 7 alfa-hidroxilasa para la síntesis de ácidos biliares a partir de colesterol. La movilización de colesterol para síntesis de ácidos biliares disminuye el colesterol intracelular, esto condiciona una mayor expresión de receptores LDL, lo que permite una mayor captación y disminución de las concentraciones en plasma de estas lipoproteínas. Los fármacos más empleados de este grupo son la colestiramina y el colestipol, recientemente el colesevalam, que ha demostrado mejor tolerancia y mayor efectividad. Son los fármacos de primera elección en niños (Goldstein y col., 2001).

Otros procedimientos terapéuticos

En aquellos pacientes con formas graves de hipercolesterolemia familiar ya sea homocigota o heterocigota resistente al tratamiento es necesario recurrir a otros métodos de tratamiento, de ellos el más empleado es la LDL-aféresis. Esta es una técnica que consiste en la eliminación de las LDL del plasma por circulación extracorpórea cada 2 semanas, el cLDL disminuye hasta en un 70% inmediatamente después del tratamiento y llega a un 30% antes de la siguiente sesión de LDL-aféresis (Thompson, 2003). En casos extremadamente graves se recurre al trasplante hepático (Barbir, 1992). Se han utilizado también técnicas de by-pass ileal y derivación porto-cava, con resultados impredecibles y no siempre mantenidos en el tiempo.

CONCLUSIONES

Las hipercolesterolemias familiares monogénicas debido al profundo trastorno metabólico se consideran el principal factor de riesgo cardiovascular en estos pacientes. El tratamiento farmacológico es uno de los ejes principales de su manejo clínico, sin embargo, cada día se está ampliando más el concepto de salud unido a la alimentación. La adherencia a una dieta saludable suele potenciar el efecto de los fármacos. Los nutrientes pueden influir en numerosos mecanismos relacionados con la aterosclerosis. La principal complicación de las hipercolesterolemias la representa precisamente el

desarrollo temprano de aterosclerosis con un alto índice de morbimortalidad por enfermedades cardiovasculares. Por ello no se debe olvidar la prevención global, basada en el estilo de vida saludable, en especial en la alimentación. El beneficio sobre la prevención cardiovascular que la dieta proporciona depende fundamentalmente de la modificación del perfil lipídico y el efecto de los diferentes componentes de la dieta sobre los mecanismos involucrados en la patogénesis de la aterosclerosis como la inflamación, oxidación y trombosis. El beneficio obtenido estará sujeto en gran medida al apego que se tenga al tratamiento nutricional por lo que es necesario un seguimiento regular del esfuerzo realizado por el paciente a través de evaluaciones dietéticas. Actualmente las recomendaciones dietéticas se basan en las dietas paso 1 y 2 cuyo principio básico es la modificación en el perfil de ingesta de grasas (Tablas 1 y 2). Es de gran importancia también el mantenimiento del peso corporal por medio de dietas hipocalóricas, esto se reflejará en las concentraciones de triglicéridos primordialmente y de forma indirecta en el colesterol total y colesterol LDL debido a la disminución en la formación de VLDL que a través de la cascada lipolítica dan lugar a las LDL. Un plan dietético bien indicado junto con un buen apego y seguimiento puede disminuir hasta en un 15 a 20% los valores de colesterol. En resumen la disminución del peso corporal, el menor consumo de colesterol y AGS, el consumo adecuado de fibra y un contenido calórico total adecuado se traducen rápidamente en disminución de los triglicéridos y posteriormente del colesterol. El tratamiento farmacológico en estos pacientes es imprescindible y deberá ser permanente.

TABLA I Recomendaciones Dietéticas.

| |
|--|
| Grasa Total: 30 % de las calorías totales |
| • Ácidos grasos saturados: < 10 % |
| • Ácidos grasos monoinsaturados: 10 – 13 % |
| • Ácidos grasos poliinsaturados: 10 % |
| Colesterol: < 300 mg/día |
| Hidratos de carbono: 55 % de las calorías totales |
| Proteínas: 15 % de las calorías totales |
| Ingesta calórica total: para mantener el peso corporal |

TABLA II Recomendaciones Dietéticas.

| |
|--|
| Grasa Total: < 30 % de las calorías totales |
| • Ácidos grasos saturados: < 7 % |
| • Ácidos grasos monoinsaturados: 13-15% |
| • Ácidos grasos poliinsaturados: 10 % |
| Colesterol: < 200 mg/dl |
| Hidratos de carbono: 55 – 60 % de las calorías totales |
| Proteínas: 15 % de las calorías totales |
| Ingesta calórica total: para mantener el peso corporal |

REFERENCIAS

- Alonso, R., Mata, N. y Mata, P. (2002). "Tratamiento dietético de las hipercolesterolemias". *Form. Contin. Nutr. Obes.* 5, 124-132.
- Barbir, M., Khaghani, A., Kehely, A., Tan, K. C., Mitchell, A., Thompson, G. R. y Yacoub, M. (1992). "Normal levels of lipoproteins including Lp (a) after liver-heart transplantation in a patient with homozygous familial hypercholesterolaemia". *Q. J. Med.* 85, 807-812.
- Becker, M., Staab, D. y von Bergmann K. (1993). "Treatment of severe hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol". *J. Pediatr.* 122, 292-296.
- Berge, K. E., Tian, H., Grat, G. A., Yu, L., Grishin, N. V., Schultz, J., Kwiterovich, P., Shan, B., Barnes, R. y Hobbs, H. H. (2000). "Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutation in adjacent ABC transporters". *Science.*, Pp. 290, 1771-1775.
- Brown, B. G., Zhao, X. O., Chait, A., Fisher, L., Cheung, M., Morse, J., Dowdy, A., Marino, E., Bolson, E., Alaupovic, P., Frohlich, J., Serafini, L., Huss-Frechette, E., Wang, S., DeAngelis, D., Dodek, A. y Albers, J. (2001). "Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins or the combination for the prevention of coronary disease". *New Engl. J. Med.*, Pp. 345, 1583-1592.
- Cater, N. B., García-García, A. B., Vega, G. L. y Grundy, S. M. (2005). "Responsiveness of plasma lipids and lipoproteins to plant ethanol esters". *Am. J. Cardiol.*, 4, 23D-28D.
- Control de la colesterolemia en España 2000. (2000). "Un instrumento para la prevención cardiovascular". Ministerio de Sanidad y
- Consumo. Sociedad Española de Cardiología y Sociedad Española de Arteriosclerosis. *Clin. Invest. Arteriosclerosis.*, 12, 125-152.
- Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) "Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults" (Adult Treatment Panel III). (2001). *JAMA.* 205, 2486-2497.
- Fuentes, F., López-Miranda, J., Sánchez, E., Sánchez, F., Páez, J., Paz-Rojas, E., Marin, C., Gomez, P., Jimenez-Pereperez, J., Ordovás, J. y Perez-Jimenez F. (2001). "A Mediterranean NCEP-1 diet improves endothelial function in hypercholesterolemic males". *Ann. Intern. Med.* 134, 1115-1119.
- Gagne, C., Gauder, D. y Bruckerr, E. (2002). "Efficacy and Safety of ezetimibe coadministered with atorvastatin or simvastatin in patients with homozygous familial hypercholesterolemia". *Circulation.*, 105, 2469-2475.
- Garg, A., Bananome, A., Grundy, S. M., Zhang, Z. J. y Unger, R. H. (1988). "Comparison of high-carbohydrate diet with a high monounsaturated-fat diet in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus". *N. Engl. J. Med.* 319, 829-834.
- Goldstein, J. L., Hobbs, H. H. y Brown, M. S. (2001). "Familial Hypercholesterolemia" En: Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W.S., Valle, D. (ed.). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease II.* McGraw-Hill 8ed. USA., Pp. 863-912.
- Grundy, S. M., Abate, N. y Chandalia, M. (2002). "Diet composition and the metabolic syndrome: what is the optimal fat intake?" *Am. J. Med.*, Pp. 30, 25S-29S.
- Grundy, S. M. (2003). "N-3 fatty acids: priority for post-myocardial infarction clinical trials". *Circulation.*, 15, 1834-1836.
- Grundy, S. M. (2005). "Stanols esters as a component of maximal dietary therapy in the National Cholesterol Education Program Adult Treatment" Panel III report. *Am. J. Cardiol.*, Pp. 4, 47D-50D.
- Grundy, S. M. y Denke, M. A. (1990). "Dietary Influences on serum lipids and lipoproteins". *J. Lipid Res.* 31, 1149-1171.
- Hagberg, J. M., Willund, K. R. y Ferrell, R. E. (2000). "APO E gene and gene-environment effects on plasma lipoprotein-lipid levels". *Physiol. Genomics.* 4, 101-108.
- Illingworth, D. R., Connor, W. E., Hatcher, L. F. y Harris, W. S. (1989). "Hypolipidaemic effects on n-3 fatty acids in primary hyperlipoproteinemia". *J. Intern. Med.* 225, 91-97
- Illingworth, D. R. y Tobert, J. A. (2001). "HMG-CoA reductase inhibitors". *Adv. Protein. Chem.*, 56, 77-114.
- Jenkins, D. J., Kendall, C. W., Popovich, D. G., Vidgen, E., Mehling, C. C., Vuksan, U., Ransom, T. P., Rao, A.V., Rosenberg-Zand, R., Tariq, N., Corey, P., Jones, P. J., Raeini, M., Story, J. A., Furumoto, E. J., Illingworth, D. R., Pappu, A. J. y Connelly, P. W. (2001). "Effect of a very-high-fiber-vegetable, fruit and nut diet on serum lipids and colonic function". *Metabolism.*, 50, 494-503.

- Keys, A., Anderson, J. T. y Grande, F. (1965). "Serum Cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular Saturated Fatty acids in the diet". *Metabolism.*, 14, 776-787.
- Knapp, H. R. (1997). "Dietary fatty acids in human thrombosis and hemostasis". *Am. J. Clin. Nutr.*, 65, 1687-1690.
- Mata, P., Varela, O., Alonso, R., Lahoz, C., De Oya, M. y Badimon, L. (1997). "Monounsaturated and polyunsaturated n-6 fatty acid-enriched diets modify LDL oxidation and decrease human coronary smooth muscle cell DNA synthesis. Arterioscler". *Thromb. Vasc. Biol.* 17, 2088-20095.
- Mensink, R. P. y Katan, M. B. (1992). "Effect of Dietary Fatty acids on serum lipids and lipoprotein. A meta-analysis of 27 trials". *Arterioscler. Thromb.* 12, 911-919.
- Miettinen, T. A., Puska, P., Gylling, H., Vanhanen, H. y Vartiainen, E. (1995). "Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population". *N. Engl. J. Med.* 333, 1308-1312.
- Ordovás, J. M., López-Miranda, J., Mata, P., Pérez-Jiménez, F., Lichtenstein, A. H. y Schaefer, E. J. (1995). "Gene-diet interaction in determining plasma lipid response to dietary intervention". *Atherosclerosis.*, 118, 511-527.
- Repa, J. J., Turley, S. D., Loboccaro, J. M. A., Medina, J., Li, L., Lustig, K., Shan, B., Heyman, R. A., Dietschy, J. M. y Mangelsdorf, D. J. (2000). "Regulation of absorption and ABC1 mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers". *Science.*, 289, 1524-1529.
- Smilde, T. J., Von Wissen, S., Wollersheim, H., Trip, M. D., Kastelein, J. J. P. y Stalenhoef, A. F. (2001). "Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolemia (ASAP): a prospective, randomized double-blind trial". *Lancet.*, 357, 577-581.
- Thompson, G. R. y Grundy, S. M. (2005). "History and development of plant sterols and stanols esters for cholesterol lowering purposes". *Am. J. Cardiol.*, 4, 3D-9D
- Thompson, G. R. (2003). "LDL aphaeresis". *Atherosclerosis.*, Pp. 167, 1-13.
- Zock, P. L. y Mensink, R. P. (1996). "Dietary trans-fatty acids and serum lipoproteins in humans". *Curr. Opin. Lipidol.*, 7, 34-37.

Normas de Publicación para Colaboradores

El comité editorial de la revista *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, acoge con gusto propuestas de artículos para su publicación, bajo dos modalidades: artículos de investigación y avances de investigación (artículos derivados de tesis de pregrado, escritos por los estudiantes y avalados por sus asesores). Las normas establecidas para la publicación son las siguientes:

- 1.- Los trabajos deberán ser de *calidad científica e inéditos*, avalados por un investigador de carrera.
- 2.- Una vez publicado el artículo, los derechos de autor pasan a la UACJ.
- 3.- Los artículos pueden ser de fondo (de investigación) o comunicaciones breves (avances de investigación), los cuales deberán referirse a las áreas de ciencias naturales y exactas, ajustándose al dictamen del Comité Editorial, quien evalúa su contenido científico de calidad y decide sobre la pertinencia de su publicación.
- 4.- Los trabajos pueden ser enviados para su publicación en el idioma inglés, el español u otras lenguas romances. Si se envía una traducción al español, hay que adjuntar el texto también en forma original. Los artículos deberán incluir resumen en español seguido de uno en inglés (y viceversa).
- 5.- No se devuelven los originales
- 6.- En caso de que el autor no responda después de haberse presentado las correcciones o dudas de su trabajo, la revista *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, se reserva el derecho de hacer los cambios de edición sin modificar el contenido original de la obra.
- 7.- Los trabajos deben ajustarse a los siguientes requisitos (de no cumplirse con ellos, no se consideraran para su publicación):
 - a) Título de trabajo, breve y conciso en inglés y español.

- b) Un resumen del contenido de una extensión aproximada de 40 palabras como mínimo y 150 palabras como máximo que deberá estar en inglés y español.
- c) Adscripción de todos los autores, incluyendo el máximo grado de estudios y área de especialización.
- d) La institución de adscripción de los autores participantes deberá incluirse como un pie de página, comenzando con el número 1.

Ejem. Ramírez, J.L.¹ y Martínez, R.²

¹Universidad de Puebla, México.

²Universidad de Santiago Compostela, España.

- e) Los pies de página, que denotan tanto la institución de adscripción como ciertos tipos de notas, etc.; aparecerán en el margen inferior izquierdo de la página en la que se mencionen.
- f) Naturaleza del trabajo; artículo de investigación, avance de investigación, etc.
- g) dirección para correspondencia que incluya: teléfono, fax y correo electrónico. El nombre del autor al cual se dirigirá la correspondencia debe indicarse con un asterisco (*).
- h) Presentar tres originales impresos en una sola cara, en papel Bond tamaño carta o A4, a doble espacio con márgenes de 3 cm.
- i) Adjuntar el texto con una copia del trabajo en disquete, en formato Win/Word 6.0 en adelante, los cuadros y figuras en hoja de Excel o Win/Word '97 en adelante. Cada figura deberá estar grabada en un archivo individual.
- j) La extensión del trabajo deberá ser de un mínimo de 10 cuartillas de texto más las figuras, y de un máximo de 30 cuartillas más las figuras para un artículo de investigación. La extensión de los avances de investigación

deberá ser de un máximo de 10 cuartillas de texto mas las figuras.

- k) Las ilustraciones, cuadros y fotografías, deberán referirse dentro del texto, enumerándose en el orden que se cita en el mismo, e indicar el programa de cómputo en el que están elaborados, de preferencia en archivos en formato TIFF o JPEG a un mínimo de 300dpi.
- l) Los pies de figura deberán ser claros, de forma que se entiendan sin necesidad de leer el texto. Estas deberán incluirse en un listado después de la bibliografía.
- m) Las referencias bibliográficas deben asentarse de la forma convencionalmente establecida en español, es decir, indicando estas en el cuerpo del texto con los apellidos del primer autor y año de publicación entre paréntesis, y los datos bibliográficos al final del escrito. La bibliografía se presenta al final del artículo por orden alfabético.
- n) Al citar los títulos de libro se deben utilizar mayúsculas solo al inicio y en nombres propios.
- o) Al menos la primera vez, se deben proporcionar la equivalencia de las siglas empleadas en el texto, en la bibliografía y en los cuadros y las figuras.
- p) Distribuir los datos de las referencias bibliográficas de la siguiente manera:

REFERENCIA DE LIBRO:

-Apellidos, nombre del autor (año). *Título de libro*. Lugar: Editorial. Número de páginas totales.

Ejemplo:

Foucault, Michael (1984). *Las palabras y las cosas*. México Siglo XXI Pp. 30-45.

REFERENCIA DE CAPITULO DEL LIBRO:

-Apellidos, nombres del autor (año). “Título del capítulo”. En: Nombre y apellido del editor (ed.). *Título del libro*. Lugar. Editorial. Páginas.

Ejemplo:

Levine, Frances (1991). “Economic perspectives on the Comanchero trade”. En: Catherine A. Spielmann (ed.). *Farmers, hunters and colonists*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press. 155-169.

REFERENCIA DE REVISTA:

-Apellidos(s) del autor, inicial(es); otros autores. (año). “Título del artículo”. *Nombre de la revista*, abreviando según el citation index o como aparezca en el artículo original, volumen, páginas.

Ejemplos:

Sagara, Y., Fernandez-Belda, F., de Meis, L. e Inesi, G. (1992). “Characterization of the inhibition of intracellular Ca²⁺ transport ATPases by thapsigargin”. *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

Rivas-Cáceres, R. (1999) “Medanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente”. *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.

Guidelines for authors

The Editorial Board of the journal *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, invites authors to submit manuscripts under three categories: research articles, short manuscripts (which will be short articles showing results of undergraduate thesis and written by the undergraduate students, reviewed by their advisers), and invited reviews. Manuscripts should be sent to the Editor in Chief, according to the following specifications.

- 1.- Papers should be form original research and with scientific content.
- 2.- Once published, articles cannot e published elsewhere in the same form, in any language, without the consent of UACJ publishers.
- 3.- Papers may be: research articles, short manuscripts and invited reviews, belonging to the fields of natural or exact sciences (biology, life sciences, chemistry, mathematics, physics, etc). Final decisions concerning acceptability of the manuscripts will be made by the Editorial Board.
- 4.- Papers may be written in English, Spanish or any Romance language. If a translation to Spanish is submitted, the text in original language should also be provided. Abstracts written both is Spanish and English should also be provided.
- 5.- Originals are not sent back.
- 6.- If the author fails to respond to the final comments of the Editorial Board of *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, the journal can make editing changes which do not modify the original content of the article.
- 7.- Papers should meet the following format:
 - a) Short and concise title, written in both English and Spanish or Romance languages.
 - b) A brief abstract between 40 and 150 words, which should also be written in both languages.
 - c) Name and nationality of authors.
 - d) Affiliation of authors, including highest degree and research field of all authors.
 - e) Author affiliations should be included as footnotes starting from number 1.

Ex. Ramírez, J.L.¹ y Martínez, R.²
¹Universidad de Puebla, México.
²Universidad de Santiago Compostela, España

Footnotes should be posted at the bottom left side of the page where they are mentioned.

- f) Specify type of paper, i.e. Research article, Short manuscript or Invited Review.
- g) Postal address of the corresponding author, which includes: telephone, fax and e-mail. Corresponding author should be highlighted with an asterisk (*) mark.
- h) Manuscripts should be submitted in triplicate, printed in one side only, letter or A4 size paper, double-spaced, with margins of 3cm.
- i) A disk copy of the manuscript in Win/Word 6.0 or higher, should also be provided. Figures and tables should be sent in Excel or WinWord 97, each saved in a different file.
- j) For Research articles, manuscript length should be between 10 and 30 pages, plus figures and tables. Short manuscripts should be shorter than 10 pages, plus figures and tables.
- k) Figures and tables should be mentioned in the text, and numbered in Arabic numbers. The software in which they were created should be mentioned, preferably in format file TIFF or JPEG with a minimum of 300dpi.
- l) Figure and table legends should be concise and understandable, and should be listed at the end of the manuscript (after references).
- m) Bibliographic references should be quoted in the text by writing the last name of the first author and publication year between parentheses. References will be included at the end of the text, ordered alphabetically.

- n) In references for book titles, capital letters should be used only at the beginning of the title and on authors' names.
- o) When using abbreviations, the full meaning of them should be provided, when mentioned for the first time.
- p) Bibliographic references should be formatted as follows:

BOOK REFERENCES:

-Author's last name, name (year). "*Book title*". City: Editorial. Total pages.

Ex:

Foucault, Michael (1984). "*Las palabras y las cosas*". México: Siglo XXI. 200 pp.

BOOK SECTION REFERENCES:

-Author's last name, first name (year). "Sections title". En: Editor's name and last name (ed.). *Book title*. City: Editorial. Pages.

Ex:

Levine, Frances (1991). "Economic perspectives on the Comanchero trade". En: Catherine A Spielmann (ed.). *Farmers, hunters and colonists*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press. 155-169.

JOURNAL REFERENCES:

-Author's last name, first name(s) initial(s); other authors. (year). "Article's title". *Journal abbreviation*, volume, pages.

Ex:

Sagara, Y., Fernandez-Belda, F., de Meis, L. e INEGI, G. (1992). "Characterization of the inhibition of intracellular Ca²⁺ transport ATPases by thapsigargin". *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

Rivas-Cáceres, R. (1999). "Medanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente". *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.

Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ,
se termino de imprimir en noviembre del 2006 en los talleres de la Imprenta
RED Design, Plutarco Elías Calles y José Borunda,
Ciudad Juárez, Chihuahua, México.



Lic. David M. Lizarraga
Director
david.lizarraga@redcomputacion.com

Mayram Zamora
Diseño Editorial
mayzam@redcomputacion.com

Tiraje: 500 ejemplares