

DEPARTAMENTO INTERFACULTATIVO DE FISIOLOGIA ANIMAL.
UNIVERSIDAD DE GRANADA

Director del Departamento: MARIA A. LOPEZ

BALANCE DE NITROGENO Y DIGESTIBILIDAD DE LA GRASA EN LA INTOXICACION HEPATICA EXPERIMENTAL POR TETRACLORURO DE CARBONO

A. SANZ,, M. MARTINEZ DE VICTORIA, S. ZAMORA y M. A. LOPEZ

SUMMARY

Nitrogen balance in adult rats fed either low-protein diet (4%), or normal-protein diet (18%), and with hepatic damage caused by repeated injections of carbon tetrachloride (CCl_4) was determined. In the same animals fed with a normal fat diet (4%) fat digestibility was also studied.

The treatment with CCl_4 balance, with an especial significance in the cases of a low ingestion of protein due to slight changes both in the intake and in the fecal and urinary excretion of nitrogen.

The digestibility of fat decreases after the treatment with CCl_4 .

INTRODUCCION

Es muy frecuente en la actualidad el empleo de tetracloruro de carbono para producir distintos tipos de lesiones hepáticas experimentales. Sin embargo todos los trabajos realizados en este campo (1), (2), (3), tan sólo proporcionan datos bioquímicos y en su mayoría se llevaron a cabo con inyecciones únicas de dosis altas del tóxico, lo que evidentemente hace imposible un estudio fisiológico. Por todo ello es por lo que hemos creído importante estudiar una serie de parámetros fisiológicos globales en animales a los que se les ha producido una intoxicación hepática sostenida mediante el tratamiento con dosis su-

cesivas de tetracloruro de carbono, para de este modo averiguar las posibles alteraciones del fisiologismo hepático en unas condiciones en las que el hígado no puede desempeñar con normalidad sus funciones. Al mismo tiempo y con fines de control hemos realizado un breve estudio histológico de las muestras de hígado intoxicado.

MATERIAL Y METODOS

En nuestras experiencias hemos utilizado ratas adultas de ambos sexos, de la cepa Nestle y de pesos comprendidos entre 170 y 230 g.

Se han efectuado dos tipos de experimentos:

A.—Experimentos de balance de nitrógeno en animales que han consumido una dieta de bajo nivel protéico (4%) y en aquéllos que han ingerido una dieta con el nivel protéico normal (18%).

B.—Experimentos de digestibilidad de la grasa en animales que han ingerido una dieta con el nivel graso normal (4%).

Para llevar a cabo dichos experimentos se colocaron los distintos lotes de animales en jaulas individuales de metabolismo que permiten la recogida de orina y heces por separado, así como el control de alimento ingerido. Dichas jaulas se encuentran en una habitación termorregulada ($23 + 1^{\circ}\text{C}$).

Tanto cuando los animales han consumido la dieta al 4% de proteína durante seis días, utilizada en primer lugar, como cuando lo han hecho con la del 18%, consumida a continuación y durante diez días, hemos considerado dos periodos: uno inicial de tres días de duración para que los animales se adapten tanto a la dieta como a las jaulas y al medio, y otro posterior en el que se han realizado los controles y análisis necesarios en cada caso.

En ambos tipos de experimentos se han utilizado animales a los que se les ha administrado mediante inyección intraperitoneal sucesivas dosis (tres veces por semana) de 2ml/Kg de peso, de tetracloruro de carbono al 50% disuelto en parafina o aceite de oliva, comenzando el tratamiento una semana antes de empezar la experiencia. En cada caso siempre se emplearon como controles animales inyectados sólo con el disolvente.

Tanto en el alimento ingerido como en las heces y orina, hemos analizado los siguientes parámetros:

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

NITROGENO: según el método de Kjeldahl, utilizando una mezcla de sulfato potásico, sulfato de selenio y cobre como catalizador. Se usa el factor 6,25 para la transformación de nitrógeno en proteínaa.

GRASA: extracción con eter sulfúrico por el método de Soxhlet.

Para observar los cortes de hígado al microscopio, previa inclusión en parafina, se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricómico de Masson.

En cuanto al tratamiento estadístico, en todos los casos en que se han comparado medias de poblaciones se ha usado el test de la t de Student. Los valores medios se acompañan del error de la media.

RESULTADOS Y DISCUSION

Sobre el balance de nitrógeno

El balance de nitrógeno se ve afectado negativamente por la administración de tetracloruro de carbono, tanto en los animales que ingieren una dieta al 4% de proteína (Fig. 1) como al 18% (Fig. 2) y con independencia de que se administre disuelto en parafina o en aceite de oliva. Estos resultados están en la misma línea de los encontrados por otros autores (4) (5) (6) que, en general observan una menor síntesis protéica a consecuencia del tratamiento con tetracloruro de carbono. Asimismo los controles histológicos (Tabla I) indican la existencia de necrosis en el hígado de las ratas tratadas, incluso en algún caso la presencia d efbrosis, lo cual ha sido puesto de manifiesto por otros autores (7) (8) (9).

Con la dieta al 4% de proteína las diferencias en el balance son estadísticamente significativas ($P < 0,02$) y no ocurre así con la dieta al 18% de proteína, lo que atribuimos a que en este caso el aporte nitrogenado procedente de la ingesta es suficientemente alto para que las repercusiones del tratamiento sean menos patentes.

Fig. 1.- BALANCE DE NITROGENO EN RATAS TRATADAS CON TETRACLORURO DE CARBONO
(dieta 4% proteina)

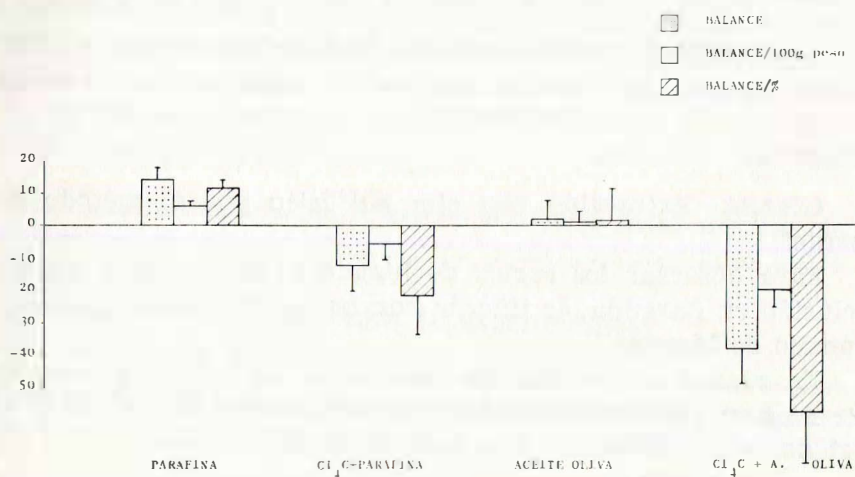
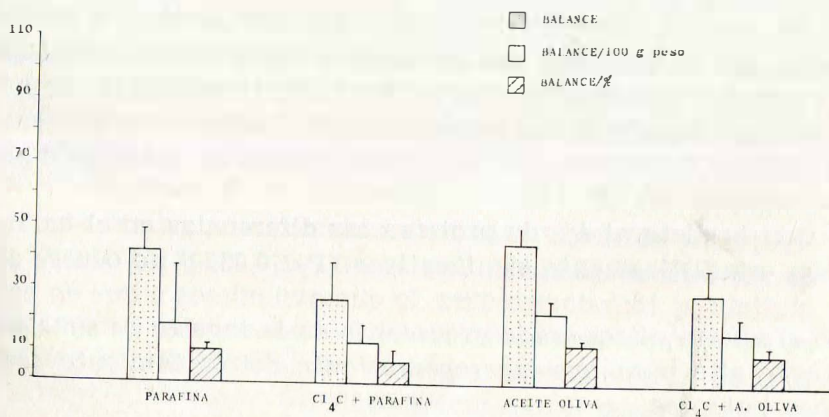
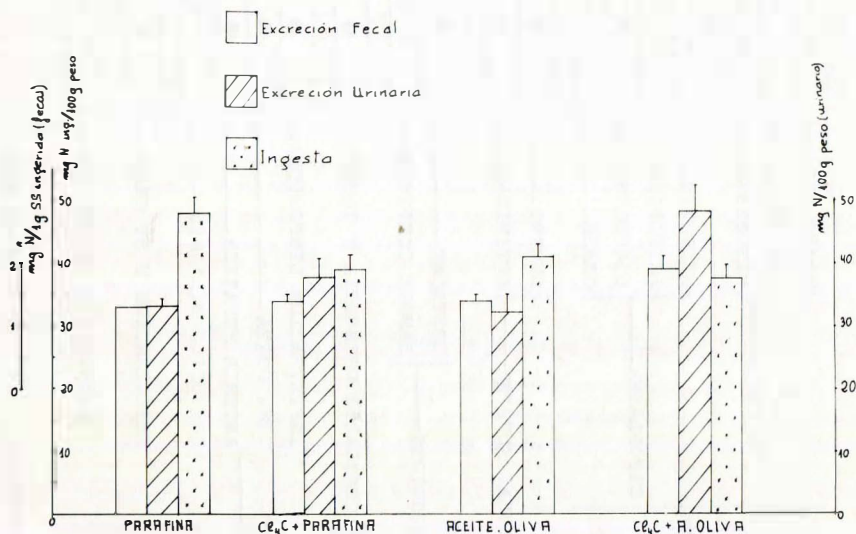


Fig. 2: BALANCE DE NITROGENO EN RATAS TRATADAS CON TETRACLORURO DE CARBONO
(dieta 18% proteina)



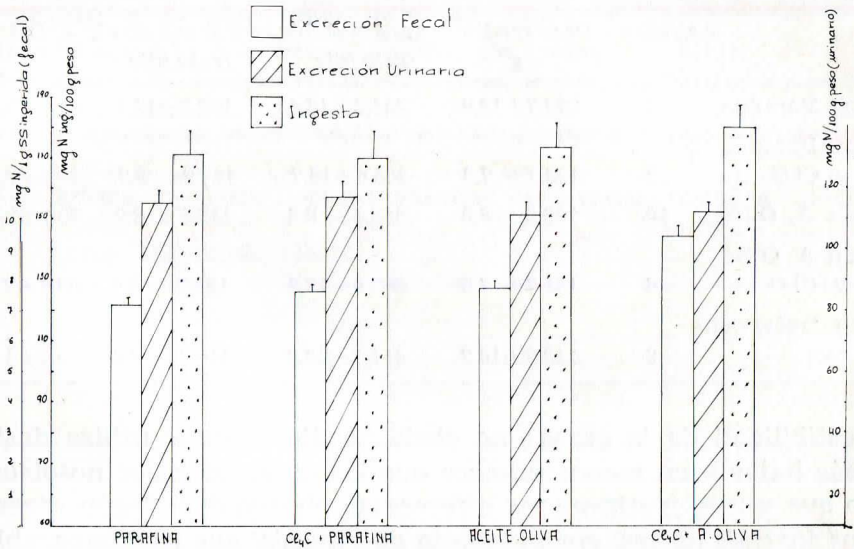
Por otra parte las diferencias se mantienen cuando el balance de nitrógeno se expresa por cien gramos de peso o en tanto por ciento del ingerido, lo que de entrada permite eliminar la posible influencia del tratamiento sobre la ingesta; en efecto no hay diferencias significativas en la ingesta expresada por cien gramos de peso cuando se comparan los lotes tratados con tetracloruro de carbono con los correspondientes controles inyectados con el disolvente. Asimismo en la excreción fecal (por gramo de sustancia seca ingerida) y en la excreción urinaria (por cien gramos de peso) (Figs. 3 y 4) las diferencias son pequeñas y sólo en algunos casos significativas (excreción urinaria de nitrógeno, con dieta al 4% de proteína, de ratas tratadas con tetracloruro de carbono en parafina frente a sus controles, ($P < 0,02$).

Fig. 3: INGESTA, EXCRECIÓN FECAL Y URINARIA (dieta 4% proteína)



En conjunto nuestros resultados indican que el efecto negativo del tratamiento con tetracloruro de carbono sobre el balance de nitrógeno especialmente importante para ingestas proteicas bajas y es consecuencia de pequeñas variaciones en los tres parámetros de que este depende.

Fig 4: INGESTA, EXCRECIÓN FECAL Y URINARIA EN RATAS TRATADAS CON TETRACLORURO DE CARBONO (dieta 15% proteínica)



Sobre la digestibilidad de la grasa

Al estudiar la digestibilidad de la grasa en ratas tratadas con tetracloruro de carbono, tanto disuelto en parafina como en aceite de oliva (Tabla II), se observa que el tratamiento reduce significativamente el coeficiente de digestibilidad de la grasa ($P < 0,001$ frente a los controles intactos). En principio cabría pensar que estos resultados se deben al efecto tóxico directo del tetracloruro de carbono sobre el parénquima hepático; sin embargo esto es cierto, pero influyen otros factores. Así, los animales inyectados simplemente con los disolventes, también presentan una digestibilidad de la grasa disminuída ($P < 0,01$ para la parafina y $P > 0,02$ para el aceite de oliva); por lo tanto el coeficiente de digestibilidad de la grasa se reduce por efecto de las inyecciones sucesivas, si bien la reducción es más marcada cuando se administra tetracloruro de carbono, lo que evidentemente habla a favor de una efectiva acción tóxica de dicha sustancia.

ARANDA (10) en conejos, no encuentra ninguna repercusión de la administración de tetracloruro de carbono sobre la di-

TABLA II: DIGESTIBILIDAD DE LA GRASA EN RATAS TRATADAS CON TETRACLORURO DE CARBONO

	n.º ratas	Peso medio g	mg grasa ing. /rata/día	mg grasa elimi. /rata/día	C.D.A.
Con Parafina	9	237,7 ± 12,9	454,3 ± 18,4	152,7 ± 12,3	66,5 ± 2,2
Con Parafina y Cl ₄ C	9	199,7 ± 7,6	365,6 ± 16,7	127,9 ± 9,7	64,9 ± 2,3
Con A. Oliva	10	203,0 ± 8,9	395,5 ± 8,8	117,5 ± 8,2	70,1 ± 2,2
Con A. Oliva y Cl ₄ C	6	181,7 ± 7,5	367,9 ± 13,2	134,7 ± 5,7	63,1 ± 2,1
Sin tratamien- to	9	213,2 ± 10,7	451,1 ± 29,8	110,3 ± 9,8	75,8 ± 1,0

gestibilidad de la grasa; no obstante dicho autor utiliza dosis más bajas y en menor número que las empleadas por nosotros, lo que puede justificar las diferencias observadas. Según diversos investigadores, en un estado de cirrosis, que es comparable a la intoxicación hepática con tetracloruro de carbono, la absorción digestiva de la grasa disminuye, aunque dicho descenso no es demasiado importante y no parece contribuir a la malnutrición de los pacientes (11).

RESUMEN

Hemos realizado experiencias de balance de nitrógeno con dietas de nivel protéico bajo (4%) y normal (18%) en ratas adultas a las que se les ha producido una intoxicación hepática sostenida mediante el tratamiento de dosis sucesivas de tetracloruro de carbono; asimismo se han efectuado experimentos de digestibilidad de la grasa en los mismos animales con un nivel graso en la dieta normal (4%).

El efecto negativo observado sobre el balance de nitrógeno en animales

para ingestas protéicas bajas y es consecuencia de pequeños cambios tanto en la ingesta como en la excreción fecal y urinaria. Al mismo tiempo la digestibilidad de la grasa se ve reducida por el tratamiento con tetracloruro de carbono.

BIBLIOGRAFIA

- (1) REES, K. R.; SPEUTOR, W. G.: *Nature*, 190, 821-822 (1961).
- (2) VILLELA, G. G.: *Biochem. Pharm.* 13, 665-676 (1964).

- (3) KOCHWUSER, D.; FABER, E.: *Arch. Path.* 51, 498 (1951).
- (4) CHRISTIE, G. S.; JUDAH, J. D.: *Proc. Roy Soc. B* 142, 241 (1954)
- (5) PATWARDHAN, M. V.; RAMALINGAWAMI, V.; SRIRAMACHARI, S.; PATWARDHAM, V. N.: *Ind. J. Med. Sc.* 7, 533 (1953).
- (6) MILLER, L. L.: *J. Biol. Chem.* 186, 253 (1950).
- (7) PAQUET, K. J.; KAMPHAUSEN, V.: *Acta Hepato-Gastroenerologica* 22, 84-88 (1975).
- (8) SCHLUMBERGER, H. G.: *Man of Exper. in Path.* 8, 1122-1123 (1959).
- (9) BASSI, M.: *Expte. Cell. Res.* 20, 313 (1960).
- (10) ARANDA, F.: Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Granada (1976).
- (11) FERES, A.; CERAN, R.; BARAONA, E.; ORREGO, H.; MALDONADO, E.: *Am. J. Dig. Dis.* 12, 65. (1967).