

ICB "VICTORIA DE GIRÓN", DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

Concentración plasmática e intraeritrocitaria de aminoácidos totales. Su posible aplicación al diagnóstico de la desnutrición marginal

Por:

Dra. MIRTA HERMELO TRECHE* y Lic. JORGE BACALLAO GALLESTEY**

Hermelo Treche, M.; Bacallao Galleste, J. *Concentración plasmática e intraeritrocitaria de aminoácidos totales. Su posible aplicación al diagnóstico de la desnutrición marginal.* Rev Cub Ped 49: 5, 1977.

Con el objeto de valorar su aplicación en el diagnóstico de la desnutrición marginal, estudiamos el comportamiento de la concentración de aminoácidos totales en el plasma (AATP) y en el eritrocito (AATE) en 216 niños supuestamente normales de círculos infantiles comprendidos entre uno y 60 meses de edad, seleccionados aleatoriamente. Los niños se clasificaron en tres categorías según el valor porcentual del peso para la talla como sigue: grupo I: 91-110%; grupo II: 90-86%; y grupo III: 85% o menos. Los AAT se determinaron por el método de Rubinstein y Pryce adaptado a micrométodo. Se calculó la concentración eritrocitaria en función del volumen neto de sangre y el hematócrito. Estos tres grupos fueron comparados respecto a la concentración de AATP y AATE. Las diferencias resultaron altamente significativas y también lo fueron las comparaciones binarias. Estos resultados sugieren que estas variables pueden ser utilizadas en la detección de estados marginales de desnutrición, lo que permitiría clasificar de aquellos niños con un peso bajo de acuerdo con su talla, cuáles se encuentran desarrollando realmente un desequilibrio nutricional y cuáles lo presentan como una característica constitucional.

INTRODUCCION

Para conocer en su verdadera magnitud la prevalencia de la desnutrición en una comunidad, no basta con detectar los individuos diagnosticables clínicamente y que con frecuencia ingresan con

formas descompensadas de desnutrición o con complicaciones infecciosas favorecidas por un estado nutricional deficitario, sino que es necesario detectar también aquellos individuos que teniendo un balance nutricional negativo, aún se encuentran por debajo del horizonte clínico, y que en una comunidad con un alto índice de prevalencia de desnutrición representan una masa varias veces superior a la de los desnutridos sintomáticos.¹ Podemos decir con *Whitehead*,² que muchos niños en el mundo pasan por una fase en la cual, debido a la cantidad limitada de aporte energético y pro-

* Profesora titular de bioquímica. ICB "Victoria de Girón". Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana, 146 No. 3102, Playa, La Habana 16, Cuba.

** Estadístico. Centro Cibernética Aplicada a la Medicina. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana.

teico en su dieta, ciertos aspectos esenciales de la función celular se hacen anormales, debiendo ser detectados por métodos bioquímicos.²

De todo lo anterior se deduce que uno de los aspectos fundamentales en el diagnóstico de la desnutrición proteico-energética (DPE), es el referente al desarrollo de métodos que permitan la detección de estas formas marginales o subclínicas.^{2,3,4}

Mucho antes de que los signos clínicos deficitarios se hagan evidentes, ya existen en el organismo que sufre un desequilibrio nutricional cambios metabólicos a nivel celular como primera manifestación de ese estado incipiente.² Estos cambios no tienen generalmente una rápida expresión en el plasma, ya que existen mecanismos de regulación que tienden a equilibrar las concentraciones a expensas de las propias reservas tisulares.⁵ Nuestras observaciones previas,⁵ que parecen indicar que el eritrocito se comporta como un reservorio de aminoácidos esenciales utilizables para mantener la distribución normal de aminoácidos entre el plasma y el eritrocito⁶ han motivado la realización de este trabajo, donde se estudia el comportamiento de las concentraciones de aminoácidos totales en plasma y eritrocitos en niños supuestamente normales con un peso para talla inferior a un 90% con el fin de comprobar si este grupo tiene un comportamiento bioquímico similar a aquél, cuyo peso para talla está entre 91 y 110%, es decir dentro de los límites considerados "normales".⁷

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 216 niños comprendidos entre 1 y 60 meses de edad asistentes a círculos infantiles de la Ciudad de La Habana, haciendo una selección aleatoria de la muestra según la población de cada círculo infantil. La evaluación antropométrica del estado de nutrición se hizo siguiendo la metodología de la Investigación Nacional de Crecimiento y

Desarrollo de la Población Cubana,⁸ tomándose como referencias para peso y talla los estándares de *Stuart y Stevenson*.⁹ La muestra estudiada se clasificó, atendiendo al valor porcentual del peso ideal para la talla real, en tres categorías: grupo I: peso para talla entre 91 y 110%; grupo II: entre 90 y 86%; y grupo III: con 85% o menos. A todos los niños objeto de este estudio se les tomó una muestra de sangre capilar por punción digital en ayunas, conservándose la muestra en frascos heparinizados y en frío hasta su procesamiento.

La concentración de AAT se determinó por el método colorimétrico de *Rubinsein y Pryce*,¹⁰ adaptado a micrométodo,⁵ y se utilizó para el cálculo de AATE, el valor del hematócrito empleando para ello el método de capilares de Hambre.¹¹ El procedimiento empleado fue el siguiente: se utilizó 0,1 ml de sangre total o de plasma desproteinizado con tungstíco/sulfúrico (v/v), y tomando 0,5 ml del sobrenadante para cada determinación por duplicado, se leyó en un espectrofotómetro *Spekol-Carl Zeiss*, a 570 m μ . El cálculo de la concentración eritrocitaria se hizo en función del volumen neto de sangre (0,1 ml) y el hematócrito según la fórmula:⁵

$$Z = \frac{(a - b) 100}{\text{Hematócrito}} + b = \text{mg}/100 \text{ ml de AAT}$$

donde:

a = AAT en sangre total, en mg/100 ml

b = AAT en plasma, en mg/100 ml

Z = AAT en eritrocito, en mg/100 ml

Las pruebas estadísticas realizadas fueron: análisis de varianza con un factor de clasificación (peso para la talla); comparaciones binarias por medio del test "t" de Student.^{12,13}

Finalmente, con el objetivo de conocer los cambios relativos que las concentraciones de AATE y AATP experi-

mentaban en cada grupo de individuos estudiados, se calculó el cociente resultante de dividir AATE entre AATP.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el estudio realizado son presentados en los cuadros I, II y III. Los análisis de varianza muestran que los tres grupos difieren significativamente para las variables estudiadas. Las diferencias resultan más significativas en el eritrocito que en el plasma aunque lo es en ambas. Los valores de las medias muestrales de cada grupo tienen un comportamiento anólo-

go: aumentan a medida que disminuye el valor porcentual del peso para la talla, siendo este fenómeno más marcado y progresivo en el eritrocito que en el plasma.

El cociente eritrocito/plasma no muestra una tendencia a aumentar tan progresivamente como se ve en eritrocito y plasma por separado; siendo evidente la divergencia de los valores medios del grupo II y III donde se aprecian diferencias significativas, al caer el cociente en este último mientras los valores de AATE y AATP siguen elevándose.

Las comparaciones binarias de las medias muestran diferencias significativas

CUADRO I

CONCENTRACIONES DE AMINOACIDOS TOTALES EN PLASMA DE 216 NIÑOS SUPUESTAMENTE NORMALES. AGRUPADOS SEGUN VALOR PORCENTUAL DE PESO PARA TALLA

Grupo % peso para talla	I 91-110	II 86-90	III ≤ 85
N	139	41	36
\bar{X} (mg/100 ml)	3,058	3,226	4,432
S	0,936	1,181	1,908
F = 19,05; p < 0,001			
I-II: n.s.	I-III: p < 0,001		II-III: p < 0,001

CUADRO II

CONCENTRACIONES DE AMINOACIDOS TOTALES EN ERITROCITOS DE 216 NIÑOS SUPUESTAMENTE NORMALES. AGRUPADOS SEGUN VALOR PORCENTUAL DE PESO PARA TALLA

Grupo % peso para talla	I 91-110	II 86-90	III ≤ 85
N	139	41	36
\bar{X} (mg/100 ml)	4,700	5,671	5,566
S	1,298	1,321	2,015
F = 26,58; p < 0,001			
I-II: p < 0,001	I-III: p < 0,001		II-III: p < 0,01

CUADRO III

COCIENTE ERITROCITO/PLASMA PARA LAS CONCENTRACIONES DE AMINOACIDOS TOTALES EN 216 NIÑOS SUPUESTAMENTE NORMALES. AGRUPADOS SEGUN VALOR PORCENTUAL DE PESO PARA TALLA

Grupo % peso para talla	I 91-110	II 86-90	III ≤ 85
N	139	41	36
\bar{X}	1,571	1,891	1,616
S	0,418	0,506	0,476
F = 8,219; p < 0,001			
I-II: p < 0,001		I-III: n.s.	II-III: p < 0,001

entre los grupos I y II, y I y III para AATE, y entre los grupos I y II tanto del cociente como de AATP, lo que sugiere que estas variables discriminan entre el grupo con peso para talla entre 91-110% y los que se hallan por debajo del 90%, siendo mayor la sensibilidad de discriminación en el eritrocito.

DISCUSION

De acuerdo con los resultados obtenidos es evidente que las variables estudiadas permiten diferenciar el grupo de niños con peso para talla entre 91 y 110% de aquellos comprendidos en valores porcentuales inferiores a 90%, lo cual refleja al parecer un comportamiento metabólico diferente entre los tres grupos, lo que se hace más ostensible a nivel celular. Si partimos del hecho de que los niños objeto de estudio eran individuos aparentemente normales, debemos suponer que, las diferencias encontradas pueden obedecer a que, en la composición de los distintos grupos existen diferencias, sin expresión clínica. Si tomamos en consideración que el criterio antropométrico empleado como base para la clasificación considera como rango normal el comprendido entre 91 y 110% podemos suponer que, si bien en los restantes dos grupos pueden

existir individuos sin desequilibrio nutricional con un peso para talla constitucionalmente bajo, también pueden existir otros con desequilibrio nutricional comenzante. De esta forma las categorías II y III estarían constituidas por una mezcla heterogénea de individuos desde el punto de vista de su equilibrio nutricional que influiría en los valores del conjunto.

Todo lo anterior nos sugiere que las variables AATE, AATP y su cociente pueden ser utilizadas en la detección de estados marginales de desnutrición, permitiendo separar, de aquellos niños con un peso bajo para su talla cuáles se encuentran realmente iniciando un desequilibrio nutricional.

Aunque los valores obtenidos se mantienen dentro del rango de normalidad según estudios previos realizados,^{5,11} tanto a nivel celular como plasmático, si se observa que a pesar de mantenerse dentro del rango normal, los valores medios suben progresivamente a medida que disminuye el valor porcentual de peso para la talla, sobre todo en el eritrocito. En el plasma no hay diferencia significativa entre los grupo I y II y si la hay en el eritrocito, lo cual parece indicar que la hipótesis planteada acerca de que los cambios intracelulares se

evidencian antes que los plasmáticos está bien fundamentada.

La poca variación en las relaciones eritrocito/plasma en los grupos I y III coinciden con las observaciones de Levy y Barkin,¹⁵ quienes también informan que en los individuos con desequilibrio nutricional inicial, AATE se eleva considerablemente, aumentando la relación AATE/AATP como hallamos en el grupo II. Una observación similar fue hecha por Arhammar y colaboradores¹⁶ y Björnesjö, Agemburg y Mellander¹⁷ y por nosotros en un estudio anterior.⁵

Los resultados de este estudio y los obtenidos por Arhammar,¹⁶ apoyan nuestras ideas de que el eritrocito puede constituir un reservorio de aminoácidos esenciales,^{18,19} y que la concentración de aminoácidos aumenta en el eritrocito a pesar de las bajas concentraciones en el plasma del desnutrido, bien porque los aminoácidos esenciales del eritrocito vayan a sintetizar proteínas más necesarias, o que la célula no sea capaz de dejarlos salir por alteraciones de la permeabilidad de la membrana debido a trastornos de los lípidos, sobre todo altas concentraciones de lecitina.²⁰ En el niño con una desnutrición marginal, si bien estos cambios pueden aún no estar ocurriendo sí es posible que se inicie una ligera alteración celular para así mantener la distribución normal de aminoácidos en plasma.⁵

La utilidad del estudio del eritrocito y la distribución de sus concentraciones de AAT con relación al plasma ha sido subrayada desde hace tiempo por Björnesjö,^{21,22} Otros autores como John-

son y Bergeim;²³ Christensen, Riggs y Ray;²⁴ McMenemy y colaboradores²⁵ ya hacían referencia al eritrocito maduro como sitio de acúmulo de aminoácidos, mostrando mayor concentración en eritrocito joven,²⁶ porque éste aún no ha perdido su capacidad para sintetizar las proteínas.

En nuestra experiencia, el eritrocito ha resultado un material biológico de fácil obtención que aporta resultados valiosos, aplicables al estudio de estados marginales o subclínicos de desnutrición, no sólo empleando los AAT sino también utilizando la relación aminoácidos no esenciales/esenciales.²⁷ Los cambios que experimentan las concentraciones de aminoácidos intraeritrocitarias no sólo han demostrado ser útiles en las circunstancias referidas en este estudio, sino que lo son también en el seguimiento de los desnutridos durante la etapa de recuperación nutricional.^{5,28,29}

Aunque la selección del criterio limitrofe de peso para talla en el valor porcentual 90%, es objeto de controversia³⁰ pues evidentemente dentro de la población normal existen individuos que son constitucionalmente delgados y muestran un peso para su talla inferior a 91%; no cabe dudas que, en nuestra experiencia este límite ha permitido diferenciar dos grupos con un comportamiento metabólico aparentemente distinto, lo que se ha reflejado en valores significativamente distintos para los AATE y AATP y para la relación entre unos y otros, que, para mayor interés, no se salen de los límites considerados como normales.

SUMMARY

Hermelo Treche, M.; Bacallao Gallestey, J. *Plasma and intraerythrocytic concentrations of total amino acids. Their possible use in diagnosing borderline denutrition. Rev Cub Ped* 69: 5, 1977.

The behavior of plasma and intraerythrocytic concentrations of total amino acids was studied in 216 apparently healthy and randomly selected children from day-care centers whose ages ranged between 1 and 60 months in order to assess their use in diagnosing borderline denutrition. According to the percentual figures of weight for height, children were grouped in three categories: group I, 91-110%; group II, 90-86%; and group III, 85% or less. Total aminoacids levels were determined by the Rubinstein-Pryce method adapted

to a micromethod. The intraerythrocytic concentration was calculated on the basis of the net blood volume and the hematocrit. Plasma and intraerythrocytic concentrations of total amino acids were compared in the three groups. Differences as well as binary comparisons were highly significant. Results suggest that these variables can be used in detecting borderline denutrition; this would permit the detection of children with an abnormal nutritional imbalance and those with nutritional imbalance as a constitutional feature among the children with low weight for their height.

RESUME

Hermelo Treche, M.; Bacallao Gallestey, J. *Concentration plasmatique et intraérythrocytaire des aminoacides totaux. Sa possible application dans le diagnostic de la dénutrition marginale.* Rev Cub Ped 49: 5, 1977.

Afin de valoriser son application dans le diagnostic de la dénutrition marginale, on étudie le comportement de la concentration des aminoacides totaux dans le plasma (AATP) et dans l'érythrocyte (AATE) chez 216 enfants apparemment normaux, des jardins d'enfants, âgés entre 1 et 60 mois, et choisis aléatoirement. Les enfants ont été classifiés en trois catégories d'après la valeur du pourcentage du poids pour la taille de la façon suivante: groupe I: 91-110%; groupe II: 90-86%; et groupe III: 85% ou moins. Les AAT ont été déterminés par la méthode de Rubinstein et Pryce adaptée à microméthode. On a calculé la concentration érythrocytaire par rapport au volume net de sang et l'hématocrite. Ces trois groupes ont été comparés en ce qui concerne la concentration d'AATP et d'AATE. Les différences ont été hautement significatives, ainsi que les comparaisons binaires. Ces résultats suggèrent que ces variables peuvent être utilisées dans le dépistage d'états marginaux de dénutrition, ce qui permettrait de classifier, parmi les enfants ayant un poids bas selon la taille, les enfants qui développent vraiment un déséquilibre nutritionnel et ceux qui présentent le poids bas comme une caractéristique constitutionnelle.

RESUME

Гермело Трече, М.; Бакальяо Галестей, Х. Плазменная и внутриэритроцитная концентрация общих аминокислот. Ее возможное применение при диагностике крайнего истощения. Rev Cub Ped 49: 5, 1977.

С целью оценки плазменной и внутриэритроцитной концентрации общих аминокислот, примененная нами в диагностике крайнего истощения, рассматриваем поведение концентрации этих кислот в плазме (ААТР) и в эритроците (ААТЕ) у 216ти детей, находящихся в детских садиках и предполагаемо нормальных, в возрасте от одного до шестидесяти месяцев, случайно отобранных. Эти дети были классифицированы на три группы, согласно пропорциональной эквивалентности их веса и роста, следующим образом: группа I, - 91-100%; группа II, 90-86%; группа III, 85% или менее. ААТ определены по методу Рубинштейна и Прейсе, приспособленного к микрометоду. Была подсчитана эритроцитная концентрация в действительности чистой крови и объема форменных элементов. Эти три группы были сопоставлены соответственно концентрации ААТР и ААТЕ. Результаты дали высокозначительные различия, তবে самое было получено при повторном сопоставлении. Эти результаты подсказали, что эти вариации могут быть использованы при обнаружении крайнего истощения, что позволило бы классифицировать тех детей с низким ростом соответственно их весу, у которых реально развивается нарушение питания и у которых оно представляется как конституционная характеристика.

BIBLIOGRAFIA

- Ghai, O. P., Seth, V. Grading of protein-calorie malnutrition. *Indian Pediatrics* 11: 727, 1972.
- Whitehead, R. G. The assessment of nutritional status in proteinmalnourished children. *Proc Nutr Soc* 28: 1, 1969.
- Gurson, C. T. The biochemical aspects of protein-calorie malnutrition. In: Albanese A. A. (Editor): *Newer Methods of Nutritional Biochemistry*. V: pp. 66-113, Academic Press, New York-London, 1972.
- Kanawati, A. A.; Mc Loren, D. S. Assessment of marginal malnutrition. *Nature* 228: 573, 1970.
- Hermelo, M. Detección de la desnutrición marginal: utilidad de los métodos antropométricos y bioquímicos. Tesis de Especialidad en Bioquímica Clínica. CNIC, Universidad de La Habana, 1975.
- Elwyn, D. H. Distribution of aminoacids between plasma and red blood cells in dogs. *Fed Proc* 25: 854, 1966.
- Waterlow, J. C. Classification and definition of protein-calorie malnutrition. *Br Med J* 3: 566, 1972.
- Jordán, J. y otros. Investigación Nacional de Crecimiento y Desarrollo. Cuba 1972-1973. *Actas XIV Congreso Internacional de Pediatría V: (5)*, 44, 1974.
- Stuart, H. C.; Stevenson, S. S. Physical Growth and Development. In: Nelson, W. E., Editor: *Textbook of Pediatrics*, 7 th. edition, pp. 12-61, Saunders, Philadelphia, 1959.
- Robinstein, H. M.; Pryco, J. D. The colorimetric estimation of alpha amino nitrogen in tissue fluids. *J Clin Pathol* 12: 80, 1959.
- Hambre, C. J. The capillary hematocrit method as determining blood cell volume. *J Lab Clin Med* 25: 547, 1940.
- Radhakrishna Rao, C. Advanced statistical methods in Biometric Research, pp. 92-102, John Wiley & Sons, New York, 1962.
- Dixon, W. J.; Massey, F. J. Introducción al análisis estadístico. Cap. 8-9, Instituto del Libro, La Habana, 1965.
- Hermelo, M. y otros. Rango de valores normales para algunos parámetros bioquímicos en niños de 0-60 meses de edad. *Rev Cub Ped* 49: 1977.
- Levy, H. L.; Barkin, E. Comparison of aminoacid concentrations between plasma and erythrocytes. Studies in normal human subjects and those with metabolic disorders. *J Lab Clin Med* 78: 517, 1971.
- Arhammar, G. et al. Plasma and erythrocyte aminoacids during treatment of protein-calorie malnutrition. *Acta Paed Scand* 61: 145, 1972.
- Björnesjö, K. B. et al. Aminoacid patterns in plasma and erythrocyte in protein malnutrition. *Acta Paed Scand* 58: 245, 1969.
- Vicedo, A. y otros. Respuesta de la relación de aminoácidos plasmáticos a una sobrecarga oral de glucosa en sujetos normales y marasmáticos. *Rev Cub Pediat* 45: 381, 1973.
- Illnait, J. y otros. Relación intraeritrocitaria entre aminoácidos esenciales y no esenciales. Influencia de una sobrecarga de glucosa. *Rev CENIC* 5: 35, 1974.
- Coward, W. A. The erythrocyte membrane in kwashiorkor. *Brit J Nutr* 25: 145, 1971.
- Björnesjö, K. B. The erythrocyte/plasma distribution of aminoacids in health and disease. *Clin Chim Acta* 20: 17, 1968.
- Björnesjö, K. B. The distribution of alpha amino nitrogen between erythrocytes and plasma in healthy males and females. *Scand J Lab Invest* 15: Suppl 69, 25, 1963.
- Johnson, C.; Bergelm, O. The distribution of free aminoacids between erythrocytes and plasma in man. *J Biol Chem* 188: 833, 1951.
- Christensen, H. et al. Concentrative uptake of aminoacids by erythrocytes in vitro. *J Biol Chem* 194: 41, 1952.
- McMenamy, R. et al. Studies of unbound aminoacid distribution in plasma, erythrocytes, leucocytes and urine of normal subjects. *J Clin Invest* 19: 1675, 1960.
- Allen, D. Aminoacid accumulation by human erythrocytes. *Blood* 16: 1564, 1960.
- Hermelo, M. Relación aminoácidos no esenciales/esenciales en plasma y eritrocito y sus proporciones relativas en niños normales con valores medios de peso para la talla y con valores limítrofes con estados de mala nutrición. *Actas I Jornada Nacional de Nutrición*, Santiago de Cuba, diciembre 1976.
- Hermelo, M. Variaciones de las concentraciones de aminoácidos totales intraeritrocitarios y plasmáticos y de su cociente durante la recuperación nutricional. (En preparación).
- Leitzmann, C. et al. Plasma amino acids in northern Thai children with protein-calorie malnutrition before and after treatment. *Abst. Xth International Congress of Nutrition* 3106, pp. 158. Kyoto, Japan, august, 1975.
- Waterlow, J. C. Some aspects of childhood malnutrition as a Public Health problem. *Br Med J* 4: 88, 1974.

Recibido: febrero 10, 1977.

Aprobado: abril 11, 1977.