

ALTERACIONES EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO ÓSEO EN RATAS ALBINAS SOMETIDAS A DIETA DEFICIENTE EN PROTEÍNAS Y DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HIERRO

Lita Amanda Cáceres Gutiérrez¹, Guido Ayala Macedo²

RESUMEN

El objetivo de la investigación fué determinar el efecto que produce la proteína y el hierro en la dieta sobre el crecimiento y desarrollo óseo en ratas albinas Holzman de 21 días de edad; se formaron 4 grupos experimentales: A1 (proteína 10g., hierro 29mg.), A2(proteína 10g., hierro 46mg.), B1(proteína 5g., hierro 29mg.), B2(proteína 5g., hierro 46mg) y fueron sacrificadas a los 46 días de iniciado el experimento. Se tomaron medidas del macizo craneofacial, mandíbula y fémur y se sometieron a un estudio histológico en tinción HE,PAS.y PERLS.

Los resultados obtenidos muestran, que el crecimiento y desarrollo de las ratas, está en relación directa con la concentración de las proteínas y hierro consumidas en la dieta, el peso, la longitud del macizo craneofacial, mandíbula, fémur y microscópicamente el número de osteoblastos, osteocitos, osteoclastos y hemosiderina es significativamente mayor en los grupos A en relación a los grupos B y el crecimiento y desarrollo del grupo B1 fue menor en relación con los grupos A1.

Palabras Claves: Nutrición, proteínas, hierro, crecimiento y desarrollo.

BONE GROWING AND DEVELOPMENT ALTERATIONS IN ALBINO RATS WITH A FAULTY PROTEIN DIET AND DIFFERENT IRON CONCENTRATIONS

ABSTRACT

The main research objective was to determine the effect that proteins and iron have; when they are included in the diet, over bone growing and development in Holzman albino rats 21 days old. They were divided in 4 experimental group: A1 (protein 10g., iron 29mg.), A2 (protein 10g., iron 46mg.), B1 (protein 5g., iron 29mg.), B2 (protein 5g., iron 46mg.) and were sacrificed 46 days after research beginning.

There were taken cranium facial Skeleton, mandible and femur measures and they were stained with hemotixilin- eosin, Schiff peryodic acid and Potassic ferrocianurum.

Our results show that growing and development of rats is directly related with protein and concentration of consumed diet. Weight and length of Craniofacial skeleton, mandible femur as well as number of osteoblasts, osteocytes, osteoclasts and hemosiderin of A groups were significantly greater in the relation with B groups. Growing and development of B1 group was smaller in relation with A1 group.

Key words: nutrition, proteins, iron and development.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento y desarrollo es un fenómeno que ha llamado la atención a los científicos, en todas las épocas, en todas las latitudes y se homologa dichos fenómenos con el estudio de la vida.

Es así, que el crecimiento es un fenómeno biofísico químico que se realiza en el interior de la célula, y luego se manifiesta en la estructura viviente, la composición y el tamaño del organismo. Siendo

muchos los factores que lo regulan y dentro de estos tenemos la nutrición como propiedad esencial y general de los seres vivos para el desarrollo y conservación del ser mediante la asimilación de los nutrientes.

Las proteínas son los elementos estructurales indispensables en todas las células y el hierro un micronutriente u oligoelemento esencial y componente formativo en muchos fenómenos vitales, principalmente en la respiración tisular y transporte de oxígeno hacia las células.

¹ Departamento Académico de Estomatología Biosocial - Facultad de Odontología - Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
² Facultad de Medicina - Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Este estudio surge por la necesidad de conocer cuales son los efectos de dietas con concentraciones diferentes de proteínas y hierro en el crecimiento y desarrollo óseo y poder extrapolar estos resultados en el humanos.

Objetivo

Evaluar el efecto de una dieta deficiente en proteínas con diferentes concentraciones de hierro sobre el crecimiento y desarrollo óseo en ratas albinas jóvenes de 21 días de edad en el tiempo de 46 días.

Material y Métodos

Población y muestra:

El experimento se llevó a cabo en ratas albinas de raza holtzman. La muestra estuvo constituida por 28 ratas machos.

El trabajo se realizó en el:

- Bioterio del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la U.N.M.S.M.
- El laboratorio de Histología del departamento de Ciencias Básicas de la Facultad de Odontología de la UNMSM.

Metodología: se desarrollaron las siguientes fases:

1. Fase Preliminar:

Luego de nacidas las ratas fueron alimentadas con lecha materna hasta alcanzar 21 días, y fueron colocadas al azar en jaulas individuales.

2. Fase Experimental:

Las ratas fueron agrupadas al azar en 4 grupos de 7 ratas cada uno con sus códigos respectivos, fueron alimentadas «ad libitum» registrándose la cantidad consumida por pesado directo de cada una de ellas tres veces a la semana, registrándose la cantidad consumida y el peso corporal ganado. Fueron alimentadas durante 46 días.

3. Fase de recolección, procesamiento de muestras quirúrgicas.

Los animales fueron sacrificados a las 4 semanas de iniciado el experimento.

De los cortes histológicos:

Se diseco el cráneo, la mandíbula y el fémur, y se hicieron las preparaciones histológicas con las tinciones de hematoxilina eosina (He) para la observación celular, el ácido peryódico de Schiff (PAS) para la sustancia fundamental, el ferrocianuro de potasio. (PERLS) para la hemosiderina.

4. Fase de análisis macroscópico

- a. Peso Corporal: Fue calculado mediante el peso controlado desde el inicio hasta el final del experimento.
- b. Crecimiento y desarrollo del macizo craneofacial: Longitud Anteroposterior, trasversal y altura del cráneo.
- c. Longitud del cuerpo, la rama y grosor de la mandíbula.
- d. Longitud y grosor del fémur.

5. Fase de análisis microscópico

Se uso el microscopio de luz a diferentes aumentos (10x, 40x, 100x) y un ocular micrométrico para el conteo de los elementos celulares.

6. Fase de Análisis Estadístico

Se utilizaron: promedio, análisis de varianza (ANOVA), comparaciones múltiples (LSD).

Resultados

Análisis Macroscópico

Peso Corporal:

El peso corporal de los grupos A1 y A2 alcanzó mayor peso que los grupos B1 y B2 siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.001$) atribuyéndose a las proteínas (10gr.). Entre los grupos A el grupo A1 fue el de mayor longitud y en los grupos B el grupo B2 fue el que mayor longitud alcanzó atribuyéndose al hierro de la dieta. Fotos No. 1, 2, 3.

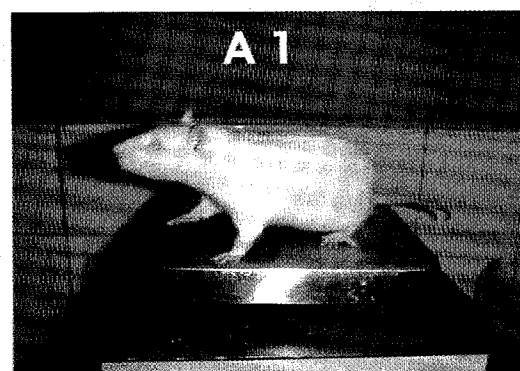


Foto 1: Vista de una rata del grupo A1 donde se observa que presenta crecimiento y desarrollo normal.

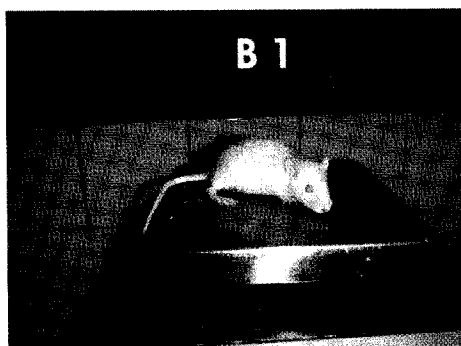


Foto 2: Vista de una rata del grupo B1, donde se observa crecimiento y desarrollo muy disminuido comparado al grupo control A1



Foto 3: En la vista se aprecia el tamaño corporal entre una rata del grupo control A1 y el grupo B2, observándose diferencias marcadas en el tamaño corporal entre ambos grupos.

Crecimiento y desarrollo del macizo craneofacial

El macizo craneofacial de los grupos A1 y A2 alcanzo mayor longitud anteroposterior y transversal que los grupos B1 y B2, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.001$). El grupo A1 fue el que mayor longitud alcanzo en los grupos A y el grupo B2 dentro de los grupos B, a tribuyéndose al hierro de la dieta. Foto No. 4.

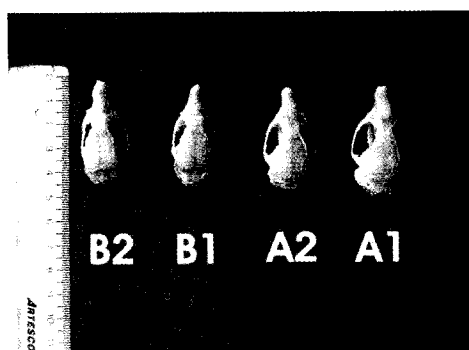


Foto 4: Vista del macizo craneofacial de las ratas de los grupos A1, A2, B1, B2, donde se observa las diferencias en la longitud entre los grupos A y B.

Crecimiento y desarrollo de la mandíbula

Observamos que la longitud del cuerpo y la rama de la mandíbula, los grupos A1y A2 lograron mayor longitud en relación con los grupos B1 y B2 siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.001$). Atribuyéndose a la proteína consumida de la dieta. El grosor de la mandíbula es mayor en los grupo A en relación al B siendo esta diferencia significativa ($P < 0.045$).

Crecimiento de desarrollo de fémur

El fémur de los grupos A1 y A2 alcanzó mayor longitud y grosor que los grupos B1 y B2 siendo esta diferencia significativa ($P < 0.001$) atribuyéndose a la proteína consumida en la dieta (10gr.). Dentro de los grupos A, el grupo A2 es el que mayor longitud y grosor y dentro de los grupos B el grupo B2 es el que mayor longitud y grosor alcanzo atribuyéndose al hierro consumido en las dietas. Foto No. 5.

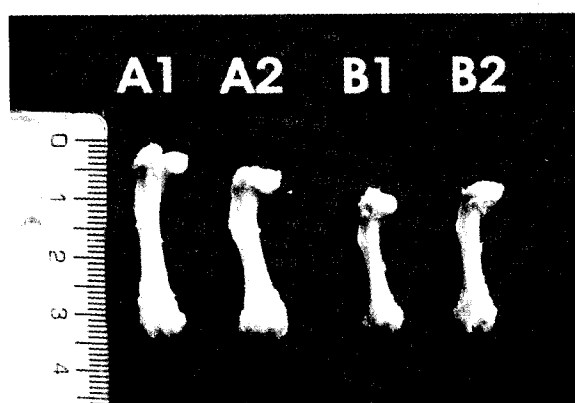


Foto 5: Vista del fémur de los grupos A1, A2, B1 y B2. Se puede apreciar las diferencias en le crecimiento longitudinal entre los grupos.

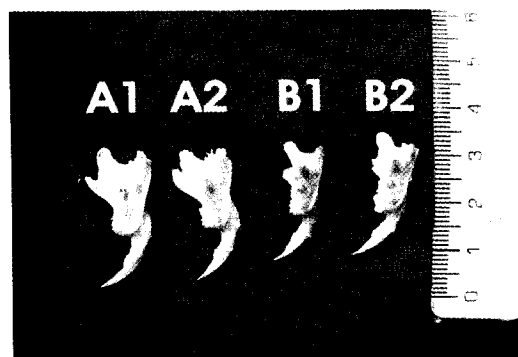


Foto 6: Vista de las caras externas de las mandíbulas de los grupos A1, A2, B1 y B2, se observa mayor crecimiento en los grupos A y disminuido en los grupos B.

Análisis Microscópico

Osteoblastos, osteocitos y osteoclastos en la mandíbula y fémur

En el análisis observamos mayor número de osteoblastos, osteoclastos y osteocitos por campo en los grupo A1 y A2 en relación a los grupos B1 y B2 siendo esta diferencia estadísticamente significativa, atribuyéndose a las proteínas de la dieta. Fotos No. 7, 9, 10, 15.

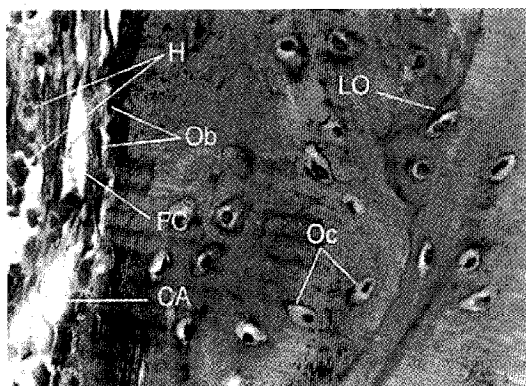


Foto 7: Corte longitudinal 40x He de la mandíbula
Se observa numerosas lagunas óseas con presencia de osteocitos (Oc), laminillas óseas (LO), en la periferia izquierda osteoblastos (Ob), fibras colágenas (Fc), células adiposas (CA) y hematíes (He).

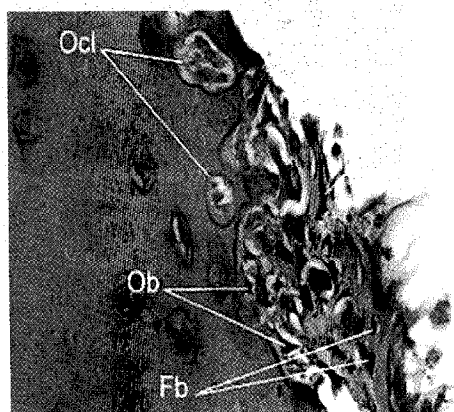


Foto 9: Corte longitudinal 40x He de mandíbula grupo A2
Se observa numerosos osteoblastos (OB), fibroblastos (Fb), fibras colágenas (Fc), osteoclastos (Oc), hacia la izquierda tejido óseo maduro con lagunas óseas y osteocitos (Oc)

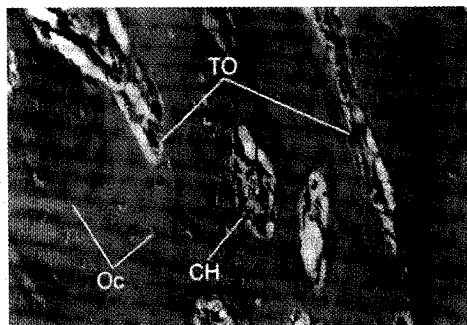


Foto 10: Corte longitudinal 20X PAS de la mandíbula grupo A2
Se observa tejido óseo abundante, con numerosos conductos de Havers (CH), trabéculas óseas (TO) y entre ellos abundantes lagunas óseas con osteocitos. (Oc).

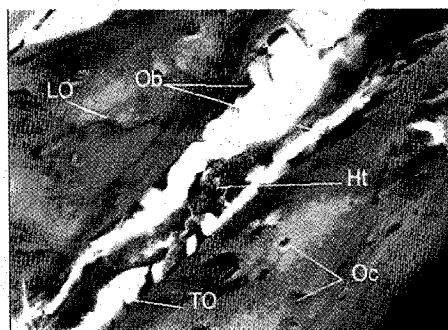


Foto 15: Corte longitudinal 40x HE de mandíbula del grupo B2
Se observa trabécula ósea (TO) con columna de osteoblastos (OB), y numerosos hematíes. (HT). lagunas óseas ocupadas por osteocitos (Oc), numerosas laminillas óseas (LO).

La mandíbula y el fémur del grupo A2 es el que mayor número de osteoblastos y osteocitos y osteoclastos presenta en el grupo A y el grupo B2 en los grupos B. Fotos No. 8, 12, 14, 17.

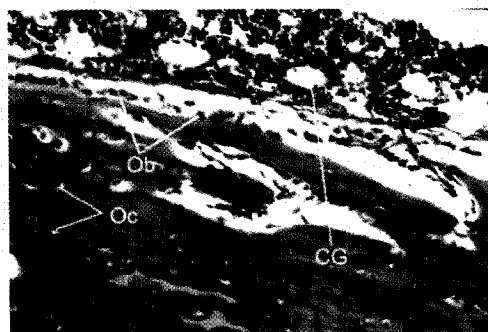


Foto 8: Corte longitudinal de diáfisis 20X PAS del fémur del grupo A1
Tejido óseo compacto en gruesas bandas, se observa columnas de osteoblastos (Ob), lagunas óseas con osteocitos (Oc), hacia arriba médula ósea con abundantes hematíes, y células grasa (CG)



Foto 12: corte transversal 40x PAS del fémur del grupo A2 Se observa abundante Sustancia osteoide (SO), lagunas óseas ocupadas por osteocitos, (Oc) laminillas óseas, Osteoblastos (Ob), osteoclasto (Ocl).

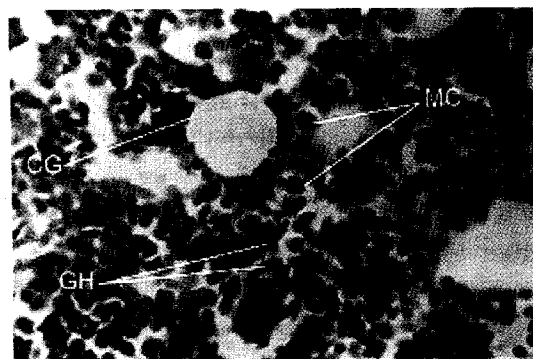


Foto 11: Corte longitudinal 40x PERLS de la mandíbula grupo A2 Se observa en médula ósea imágenes negativas de grasa(CG), presencia de células maduras, eritroblastos megacarioblastos (Mc). Numerosos gránulos de hemosiderina.(GH).

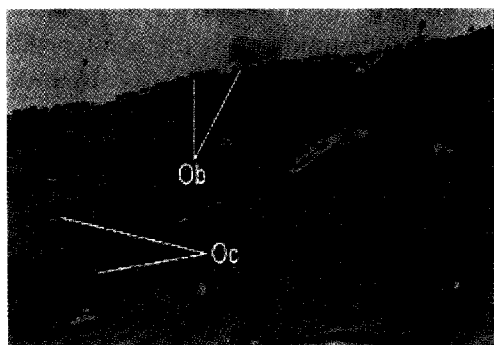


Foto 14 Corte longitudinal 40X HE de la diáfisis del fémur grupo B1 Se observa hacia la parte superior tejido fibroso del periostio con fibroblastos (Fb), fibras colágenas (FC), sustancia osteoide (SO) ;hacia la parte inferior lagunas óseas con osteocitos(Oc).

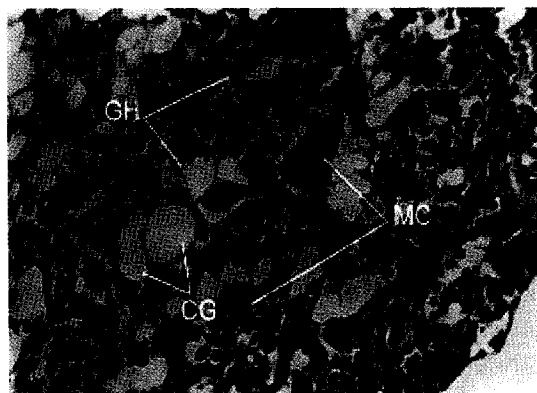


Foto 16: corte transversal 20X PERLS de la mandíbula grupo B2 Médula ósea con abundante células grasa (CG)minúsculos gránulos de hemosiderina (GH), megacarioblastos (Mc).

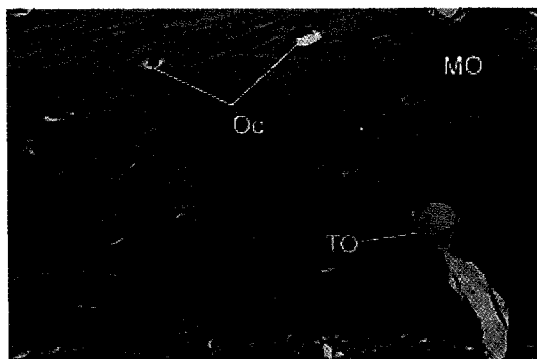


Foto 17: Corte longitudinal 40x He de fémur del grupo B2 se observa trabécula ósea (TO), lagunas óseas con escasos osteocitos en su luz (Oc).

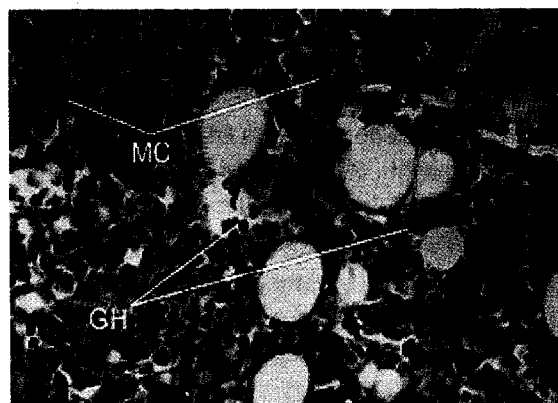


Foto 18: corte longitudinal 20X PERLS de la diáfisis del fémur grupo B2, Abundantes células grasa(CG) Megacarioblastos (MC) y células mesenquimales indiferenciadas, gránulos de hemosiderina (GH).

Hemosiderina en médula ósea

En el análisis observamos que los grupos A1 y A2 presentan cantidad moderada de gránulos de hemociderina y los grupos B1 y B2 presenta escasos gránulos. Fotos No. 11, 16, 18.

DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo por finalidad determinar el efecto de las proteínas y el hierro de la dieta sobre el crecimiento y desarrollo del tejido óseo de las ratas albinas en crecimiento.

Se observa alteraciones en el tejido óseo en aquellos grupos que consumieron baja concentración de proteína (5%) y hierro en cantidades diferentes (29 y 46mg./100gr.) mostrando mayor retardo en el crecimiento y desarrollo y lo vemos al evaluar el peso corporal, estos resultados con corroborados por **Sorgob**²⁴ quien demostró que la dieta hipoproteica produce reducción de peso y **Flores**¹¹ sostiene que la desnutrición energético – proteínica ocasiona un desequilibrio provocado por el aporte insuficiente y un gasto excesivo y esto conduce a un agotamiento de las reservas titulares y por lo tanto alteraciones en el crecimiento y desarrollo.

El crecimiento y desarrollo del macizo craneofacial presenta diferencias altamente significativas en sus medidas entre los grupos que consumieron proteínas 10gr(Grupo A). y 5 gr. (grupo B) observándose la influencia de la proteína y en los grupos A2 y B2 vemos la influencia del hierro (46mg./100gr.), Resultados corroborados por **Machado**¹⁶.

Al extrapolar las alteraciones del crecimiento y desarrollo de la cara y el cráneo al humano se puede deducir que las desarmonia esqueléticas en zonas que circulan el aparato masticatorio (hueso alveolar basal) o en otras zonas más alejadas (base craneal, articulación temporal, mandibular) puede deberse a la falta de proteínas en la dieta materna y durante la lactancia.

La longitud y el grosor del fémur de las ratas de los grupos A1 y A2 presentaran mayor longitud, siendo esta diferencia estadísticamente significativa frente a los grupos B1, B2 la explicación sería por la ingesta de proteínas.

Las proteínas y el hierro son dos nutrientes que juegan un rol importante en la formación del tejido óseo. La población celular en el tejido óseo es mayor en los grupos A en relación a los B esta diferencia se explicaría por la deficiencia de aminoácidos

necesarios para la síntesis de proteínas en el tejido óseo, tales como el colágeno y la elastina por lo tanto un menor crecimiento óseo.

En los grupos A1 y B1 donde la ingesta de hierro es de 29mg./100gr. vemos que hay mayor actividad osteoclástica, la que implicaría que estos grupos no han logrado completar su crecimiento óseo, sin embargo en los grupos A2 y B2 la actividad osteoclástica es menor lo que se explicaría que el hierro influye positivamente para alcanzar el crecimiento más temprano.

La médula ósea presenta cantidad moderada de gránulos de hemosiderina en los grupos A y escasos en los grupos B, se atribuye al porcentaje de proteína consumida en la dieta, las proteínas transportadoras como la transferrina esta proteína libera hierro hacia los tejidos a través de receptores de la membrana celular específica para ello.

Según **Tsao**²⁵ y **Popiela**²³ la transferrina actúa estimulando la proliferación celular de los tejidos, al sinergizar la acción de los factores de crecimiento insulina y sales férricas.

CONCLUSIONES:

1. La proteína y el hierro de la dieta influyen positivamente en el crecimiento y desarrollo.
2. El peso corporal es estadísticamente mayor en los grupos de ratas A en relación a los grupos B que presentan menor peso.
3. El crecimiento y desarrollo del macizo craneofacial, mandíbula y fémur en los grupos A es mayor en relación a los grupos B atribuyéndose a la proteína y en los grupos A1 y B2 al hierro consumido en la dieta.
4. La población celular de osteoblastos, osteocitos y osteoclastos es mayor en los grupos A en relación a los grupos B influyendo las proteínas de la dieta en la actividad celular.
5. Los grupos A2 y B2 presentan mayor actividad celular atribuyéndose al hierro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alippi R.M.; M.D. Mete; M.I. Olivera; C. Bozzini; P. Schneider; I.F. Meta; Bozzini C.E. (2002) Effect of protein – energy mal nutrition in early life on the dimensions and quality of the adult rat mandible. *Arch. Oral Biol.* Jan; 41: 47- 53.
- Bhan M. K.; M. Sommerfet; T. Strand (2001) Micronutrient deficiency in children *Br. J. Nutri* May; 85 suppl 199-203
- Bhandari, M.; R. Bahi; S. Tenejas (2001) Effect of micronutrient supplementation on linear growth of children. *J. Nutri.*, May 85 Suppl. 2: 131-7
- Bothwell, T. (2000) Iron requirements pignay strategies in to meet then. *Am J. Clin.*, 72 (Suppl.) 2575 – 645
- Cusmisky, M.; E. Moreno; E. Suárez O. (1988) Crecimiento y Desarrollo Publicación Científica 510. Organización Panamericana de la Salud.
- Delgadillo Á. J. (2001) El desarrollo histológico del tejido óseo en carencia de riboflavina. Facultad de Odontología UNMSM. Tesis para optar el grado de magíster.
- Dini, E. (1999) Vitaminas y Minerales en el crecimiento. Caracas, Caligafy C.A. Enero p. 147
- Ekhard E.; L. G. Ziegler; J. R. Filar (1997) Conocimientos actuales sobre nutrición. 7ma. Edición O.P.S.
- Fernández – Pol J. A. (1978) Insolation and characterization of the a sinderophore – like growth factor from mutantes of SV 40 – transformed cells adapted to picolinic acid. *Cell* 14: 489 – 99
- Ferreti J.; R. Cappelza; G. Country; C. Bozzini; R. Alippi; C. Bozzini (1991) Additive effects of dietary protein and energy deficiencies on diaphysis and bone tissue of femurs as determined by bending test. *Acta Physical Pharmacol Latinoam*; 41: 253 – 62.
- Flores H., S. (1995) Desnutrición energético proteínica. *Nutrilogía Médica México D.F. Médica Panamericana*, Jun. p. 151 – 68 illus.
- Fujita K.; A. Mori; T. Cono (1990) Alometric study between bone maturation, growth of the craneo facial structures and growth of stature in japoneses children. *J. Kyushu Dent. Soc.* 44: 297 – 309.
- Guerrero S.; A. Morales; M. Argueros (1993) Crecimiento pondoestatural y craneal, desarrollo dentario y maduración ósea en niños recuperados de desnutrición: marismática grave *Pediatría (Santiago de Chile)* 36 68 Abril-Junio 1993.
- Leung A. K.; K.W. Chan (2000) La Anemia de deficiencia férrica. Universidad de Calgarty – Hospital de niños Alberta – Canadá. *Pub. Med.*
- Limborgh J. Van (1970) A new riew on the control of the morfogénesis of the Skull. *Acta morphol meed scandinav.* 8: 143.
- Machado M.; F. Caravia; S. Morales (1989) Influencia de la nutrición en el crecimiento y desarrollo craneofacial. *Medicentro*: 5: 3233
- Masse E. G. (2002) A small RNA regulates the expression of genes involved in iron metabolism in escherichia coli. *Proc Natl* 2;99 (7): 4620 – 5.
- Montoya A.; J. Naranjo; M. Vargas; M. Jorge; M. Álvarez; I. Jiménez (1992) Análisis de crecimiento y desarrollo craneofacial y general, en una muestra de individuos de la población de Damasco. *CES Odontología*: Vol 5, Nro.1
- Nanda, R.S. (1955) The rats of growth of several facial components measured from serial cephalometric roentgenograma. *Am J. Orthodont* 41: 658
- Olivares S.; D. Soto; I. Zacarías (1991) Nutrición Confederación Latinoamericana de Nutrición, dietistas. 115 - 118
- O'Brien K.; N. Zebolite; L. Confield (1999) Influence of prenatal iron and zinc supplements on supplemental iron absorption, red blood cell iron incorporation and iron status in pregnant Peruvian woman. *Am J. Clin Nutr.* 69: 509 – 15
- Pike, J.B. (1968) A serial investigation of facial and statural growth in seven – to – twelve. *Angle orthodont* 38: 63-234 year o children.
- Popiela H, W. Moore. (1989) Proliferation of immunocytochemi -lly identified islet beta cells in culture: effect of growth factors, hormones, and nutrients. *Pancreas.* 4 (2): 244-8.
- Sorgob F., E. Quiroz; S. Blanes; Rodríguez U. Pereira; Ch. Luzanic (1990) Importancia de las proteínas para crecimiento: estudio experimental en conejos. *Salnvista*; 9 (1); 71-80, Ilus. Tab.
- Tsao MS, GH Sanders, JW Grisham.(1987) Regulation of growth of cultured hepatic epithelial cells by transferrin. *Exp Cell Res.* 171:52-62.