

AVANCES EN EL CAMPO DE LA NUTRICION¹

GUILLERMO ARROYAVE, NEVIN S. SCRIMSHAW, Y RICARDO, BRESSANI

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala, C. A.

I. INTRODUCCION

En los últimos años se ha observado un reconocimiento cada vez mayor del problema de la malnutrición proteica en una gran parte del mundo y un incremento constante en la comprensión de las bases científicas para evaluar la calidad de las proteínas. Un índice de esto es el hecho de que la investigación en aquellos aspectos relacionados directa o indirectamente con el metabolismo proteico ha formado parte muy significativa del total de los trabajos llevados a cabo en el campo de la bioquímica de la nutrición. En vista del gran número de artículos que han sido publicados recientemente sobre este tema y de la forma tan completa en que la revisión publicada el año pasado cubrió los trabajos sobre lípidos, otro campo bioquímico que hoy día es de gran interés nutricional, en el presente trabajo no se intentó referirse a otros artículos que no fueran los relacionados con el tópico principal, o sea el de la nutrición proteica. Sin embargo, se ha tratado en especial de considerar los informes de investigadores de países técnicamente poco desarrollados, que en la actualidad estén llevando a cabo trabajos relacionados con la malnutrición proteica, como un problema nacional de urgente solución.

II. REQUERIMIENTOS DE PROTEINAS

A pesar de que la Conferencia sobre Requerimientos Proteicos de los Seres Humanos y su Satisfacción en la Práctica (1) patrocinada conjuntamente por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Fundación Josiah Macy Jr., de Nueva

York, reveló la escasez de conocimientos cuantitativos sobre este tema, también arrojó evidencia que sugiere que las recomendaciones presentes del Consejo Nacional de Investigaciones de los Estados Unidos de América (NRC) son más altas de lo necesario. Un informe posterior del Comité de la FAO sobre Requerimientos de Proteínas (2) propuso nuevas cifras, las cuales varían con la tasa de crecimiento, desde 2 g por kg de peso corporal para el niño lactante, hasta 0,35 g por kg de peso en el caso del adulto, estableciéndose cierto aumento durante el período de la adolescencia. Se recomendó un margen de seguridad del 50 % por arriba de estas cifras para así tomar en cuenta variaciones individuales. Estas cifras se expresan en términos de proteína de alto valor biológico; en este informe, que es de gran utilidad, se hace hincapié en el hecho de que los requerimientos aumentan apreciablemente cuando la proteína es de baja calidad, y da instrucciones detalladas para ajustar estas recomendaciones a diversos tipos de dietas.

Varias publicaciones recientes han aportado evidencia en favor de una disminución de las recomendaciones dietéticas en cuanto a las proteínas. Rose y Wixom (3) llegaron a la conclusión de que cuando los ocho aminoácidos esenciales eran administrados a niveles "seguros" de ingesta (4), se podía mantener el equilibrio nitrogenado con el agregado de nitrógeno proveniente de aminoácidos no esenciales en forma de glicina, en cantidades suficientes como para proporcionar una ingesta diaria global de solamente 3,5 g de nitrógeno total. Esto, calculado como nitrógeno multiplicado por 6,25, representa sólo alrededor de 0,32 g de proteína por kg de peso corporal en el caso del más liviano de los sujetos, y cerca de 0,25 para el de mayor peso. Scoular y cola-

¹ Basado en el artículo publicado originalmente en el *Annual Review of Biochemistry*, 27:403-426, 1958, bajo el título "Nutrition", No. INCAP I-94. Publicación INCAP E-182.

boradores (5) encontraron que en 171 mujeres jóvenes de los Estados Unidos, al parecer bien nutridas, cuyas edades estaban comprendidas entre los 17 y 27 años y que consumían dietas seleccionadas por ellas mismas, el promedio de ingesta diaria era de $0,84 \pm 0,19$ g de proteína por kilo de peso, según los estudios de balance de 5 días de duración que estos autores llevaron a cabo. Barness y colaboradores (6) estudiaron 9 lactantes en buen estado de salud, todos ellos menores de 1 mes de edad, con una alimentación isocalórica e isonitrogenada a base de fórmulas elaboradas con leche de vaca y con leche materna por períodos alternativos. Dos de estos lactantes permanecieron en balance nitrogenado positivo y crecieron satisfactoriamente al recibir 0,8 g diarios de proteína por kg de peso, cualquiera que fuese la fórmula administrada.

Aquellos individuos bajo dietas vegetarias pobres en proteínas pueden alcanzar equilibrio de nitrógeno con niveles de ingesta bajos, pero esto lo logran a costa de sus reservas adecuadas de nitrógeno o a expensas de un menor crecimiento, o de ambos. Por ejemplo, Murthy y colaboradores (7) han informado que 5 niñas, de edades entre 7 y 9 años, permanecieron en equilibrio nitrogenado aún consumiendo una dieta elaborada a base de arroz cuando ingerían un total de 1.010 calorías y su ingesta proteica diaria era de 1,2 g por kg de peso corporal. Sur y colaboradores (8) estudiaron 12 niños de 8 a 11 años de edad a los que mantenían con una dieta de arroz o con una alimentación a base de arroz y de maní, las que proveían una ingesta proteica diaria de aproximadamente 1,1 y 1,5 g por kilo de peso corporal, respectivamente. A pesar de las bajas ingestas de proteínas solamente uno de los niños presentó un balance negativo de nitrógeno. Subrahmanyam y colaboradores (9) también informan que un grupo de personas adultas estudiadas por ellos mantuvieron equilibrio nitrogenado administrándoseles una dieta vegetariana que les proporcionaba 1,2 g de proteína por

kg de peso corporal, proteína que tenía una digestibilidad aparente de solamente el 50 %.

Informes recientes relativos a la menor utilización de nitrógeno durante períodos de restricción calórica se basan en investigaciones llevadas a cabo en ratas (10-13), ratones (14) y pollos (15, 16). Cualquier disminución que ocurra en la "energía digerible" de la dieta es compensada por un mayor consumo de alimentos (13, 17). Sibbald y colaboradores (17) encontraron que la relación entre la "energía aparentemente digerible" y el "nitrógeno aparentemente digerible" de un alimento controla el porcentaje de nitrógeno retenido por el organismo. Las relaciones óptimas al parecer son de 250 a 300 calorías de "energía aparentemente digerible" por gramo de "nitrógeno aparentemente digerible". En un artículo más reciente los mismos autores (18) confirmaron estos hallazgos y demostraron que eran aplicables también en el caso de dietas elaboradas a base de aminoácidos y libres de proteína.

Los trabajos experimentales llevados a cabo con ratas (19, 20) y con perros (21) aportan evidencia de que la grasa de la dieta tiene una acción específica de ahorro proteico independiente de su valor calórico. Sin embargo, las recientes investigaciones de Metta y Mitchell (22) proporcionan pruebas de que las grasas y los carbohidratos de la dieta tienen esencialmente el mismo efecto de ahorro proteico cuando se administran en cantidades isocalóricas.

Heinicke, Harper y Elvehjem (23), en sus experimentos con conejillos de Indias, no encontraron diferencias en cuanto a los requerimientos proteicos de estos animales al alimentarlos con dietas que contenían dextrina o sucrosa. Womak y Marshall (24), sin embargo, informan que en pruebas realizadas con ratas que tenían una baja ingesta de aminoácidos, tanto la sucrosa como la fructosa dieron como resultado un balance nitrogenado más negativo que cuando se reemplazaron éstas por almidón o por dextrina de maíz. Los resultados

obtenidos por Cornely, Barness y Gyorgy (25) también sugirieron que la retención de nitrógeno era mayor en niños de menor edad que recibían lactosa que en aquellos a los que se les administró dextromaltosa como fuente de carbohidrato. Yoshida y Morimoto (26) han demostrado que el efecto de ciertos carbohidratos sobre las necesidades orgánicas totales de nitrógeno del animal puede ser debido a que éstos interfieren en el proceso de la digestibilidad. Esos autores encontraron que en las ratas había una marcada disminución en la digestibilidad de la caseína cuando se les administraba a éstas almidón de papa crudo como parte de la dieta, efecto que no se hizo evidente cuando se les administró almidón precocido a vapor. El efecto del tipo de carbohidrato sobre los requerimientos de los aminoácidos ha sido muy bien discutido por Harper y Elvehjem (27).

Es un hecho ya reconocido desde hace tiempo que la urea puede satisfacer parte de las necesidades de nitrógeno de los rumiantes, pero hoy día se ha logrado establecer que esta sustancia también puede ser utilizada por la rata (28), por el hamster (29), por los seres humanos adultos (3) y hasta por niños prematuros (30). Merece tomarse en cuenta el hecho de que la leche humana contiene aproximadamente el 20% de su nitrógeno en forma de urea y de otros compuestos nitrogenados no proteicos, mientras que la leche de vaca contiene sólo el 5% de nitrógeno en esta forma. A pesar de esto se ha demostrado que la retención de nitrógeno, calculada como por ciento de la ingesta total de nitrógeno es ligeramente mayor en el caso de la leche humana aunque la diferencia no es significativa (6). Finlayson y Baumann (31) informan que tanto el citrato diamónico como la urea ejercen una acción depresora sobre el crecimiento de las ratas, ya sea que se administren estas sustancias a períodos espaciados o *ad-libitum*; sin embargo, debe señalarse que los niveles empleados por estos autores fueron extremadamente altos.

El hecho de que el método de balance nitrogenado sea usado por la mayoría de los investigadores que estudian los requerimientos humanos de aminoácidos y de proteínas, le da gran utilidad a la crítica de esta técnica publicada por Lowe y Pessin (32). Además, Allison y Wannemacher (33) han destacado el hecho de que el requerimiento proteico para el mantenimiento de reservas adecuadas de nitrógeno es mayor que el que se necesita para mantener el equilibrio nitrogenado. Meyer (34) demostró que a cada incremento de la cantidad de celulosa en la dieta correspondía un aumento del nitrógeno metabólico fecal, pero no encontró ningún efecto de la cantidad de fibra sobre el nitrógeno endógeno urinario de ratas en proceso de crecimiento. Esto enfatiza de nuevo la importancia de mantener constante el contenido de fibra de las dietas experimentales en los estudios de balance nitrogenado, de digestibilidad, y del valor biológico de las proteínas.

III. VALOR BIOLÓGICO DE LAS DIETAS Y DE LOS ALIMENTOS PROTEICOS

A. *Métodos de Ensayos*

La evaluación del valor biológico de las proteínas vegetales y animales está siendo objeto de especial atención, a pesar de que los métodos usados en su mayor parte están ya bien establecidos. Bender (35) ha demostrado que la "razón de eficiencia proteica" (protein efficiency ratio-PER) determinada en ratas, varía directamente con la ingesta del alimento y no representa la verdadera utilización de nitrógeno, ya que el peso total corporal usado para el cálculo de la "razón de eficiencia proteica" se ve afectado por otros factores tales como la deposición de grasa. Bender y Doell (36) han propuesto un método más corto para evaluar la calidad de las proteínas, el que consiste en alimentar a un grupo de ratas con dietas que contienen 10% de la proteína bajo ensayo, y a otro grupo de ratas, de la misma camada, con una ración libre

de proteínas. La diferencia algebraica entre los aumentos de peso de los dos grupos, dividida por el peso de la proteína consumida al final de 10 días se conoce como "razón proteica neta" (net protein ratio-NPR). La razón proteica neta puede ser expresada en porcentaje, multiplicando por el factor 16 para obtener lo que se denomina "eficiencia de retención proteica" (protein retention efficiency-PRE).

Miller y Bender (37), Bender y Doell (38) y Dreyer (39) describieron el cálculo de la "utilización proteica neta" (net protein utilization-NPU) por la fórmula $(B_F - B_K + I_K) \div I_F$, en la que B_F es el nitrógeno contenido en el carcás de las ratas alimentadas con proteína; B_K el nitrógeno del carcás de las ratas que recibieron la dieta libre de proteínas; I_F es el nitrógeno total de la dieta, e I_K el nitrógeno proveniente de otras fuentes distintas de la proteína sujeta a prueba. Estos autores creen que la "utilización proteica neta" es una estimación más precisa de la proporción del nitrógeno de la dieta retenida por el carcás del animal. La "utilización proteica neta" determinada por análisis del carcás, guarda buena correlación con la "eficiencia de retención proteica", pero esta última tiene la ventaja de combinar los requerimientos de proteína, tanto para el mantenimiento como para el crecimiento.

Desde hace muchos años se hacen ensayos con pollos para evaluar el valor biológico de las proteínas, pero Beaty y colaboradores (40) han propuesto recientemente el uso de pollos que han sido previamente depauperados de proteínas hasta en un 75% de su peso inicial. Esos autores ensayan la proteína a niveles dietéticos de 6,5, 9 y 12% de proteína. De acuerdo con Peo y colaboradores (41), en los cerdos jóvenes la técnica de depleción-repleción es una medida muy sensible de la calidad proteica. Estos mismos investigadores (42) hacen hincapié en el hecho de que a medida que los niveles de la proteína de la dieta aumentan, las diferencias entre los alimentos bajo ensayo, en cuanto a su calidad proteica,

se vuelven menos críticas. Meade (43) y Meade y Teter (44) también han destacado el hecho de que la proporción relativa de los aminoácidos es más importante cuando la cantidad total de la proteína de la dieta es inadecuada.

Estas observaciones, que son de gran importancia práctica, las sustenta ampliamente un estudio de DeMaeyer y Vanderborcht (45) el que demuestra que el valor biológico de la soya administrada a niños, es superior cuando se proporciona a niveles altos de ingesta que a niveles bajos, según lo indica la retención de nitrógeno. Esto también lo sugiere Sure (46), quien ha estudiado el valor nutritivo de las proteínas de varios alimentos a niveles de ingesta cada vez mayores, y ha encontrado que 15% es el nivel más eficiente para la alimentación de pollos y de ganado. Sin embargo, se debe advertir que la nutrición humana se interesa tanto por el resultado final de la nutrición proteica como por su eficiencia, y que el aumento de la cantidad de una proteína de valor intermedio puede ser una medida tan efectiva, desde el punto de vista práctico, como el mejoramiento *per se* de la calidad de la proteína.

Allison (47) ha continuado llamando la atención sobre el hecho de que el balance nitrogenado es solamente la suma del metabolismo del nitrógeno total y no mide la ganancia o pérdida de proteínas de órganos o de tejidos específicos. Un trabajo reciente llevado a cabo por Vijayaraghavan (48) aporta más evidencia de que el crecimiento y el balance de nitrógeno no son los únicos criterios en base a los cuales se debería estimar el valor nutritivo de las proteínas. En el curso de su estudio, este autor encontró que la caseína, el huevo, la carne, el gluten de trigo y la proteína del arroz variaban mucho en cuanto a su eficiencia para la hematopoyesis en las ratas. Perdue, Lambert y Frost (49) han demostrado que la sangre humana y la sangre de perro son fuentes pobres del nitrógeno de aminoácidos esenciales para las ratas depauperadas de proteínas. Este hallazgo enfatiza el hecho

de que ciertos tejidos especiales bien pueden tener requerimientos de aminoácidos distintos de los necesarios para el crecimiento y para el mantenimiento.

Sheffner y colaboradores (50, 51) han usado la determinación microbiológica del patrón de los aminoácidos liberados *in vitro* por medio de la pepsina para revelar diferencias existentes entre las proteínas, que no se hacen aparentes por la simple observación de su contenido de cada aminoácido esencial. Los mismos autores han propuesto un nuevo índice llamado "residuo de digestión péptica", (pepsin digest residue—PDR) que, al ser dividido por la digestibilidad, predice exactamente el valor biológico de proteínas tan diversas como son las del huevo, de la soya, de la caseína, de la levadura y de la harina blanca de trigo. Otros métodos microbiológicos para medir la utilización de las proteínas han sido propuestos por Mertz y colaboradores (52) usando *Pseudomonas aeruginosa*, por Fernell y Rosen (53, 54) empleando *Tetrahymena pyriformis* y por Teeri, Virchow y Loughlin (55) utilizando la hidrólisis enzimática de la muestra previo a su ensayo con *Streptococcus fecalis*.

B. "Patrón de Referencia" de Aminoácidos

La reciente revisión de Flodin (56) documenta bien el principio de que el patrón de aminoácidos en las proteínas animales proporciona una eficiencia mayor de utilización proteica en los períodos de gran actividad anabólica, así como para el mantenimiento de las reservas proteicas lábiles del organismo. Asimismo, éste tiene mucha semejanza con el patrón de aminoácidos que ha demostrado ser el mejor para el crecimiento de las ratas y para el mantenimiento del equilibrio nitrogenado en las personas adultas. Por ejemplo, Albanese y colaboradores (57) han aportado nuevas pruebas en favor de que la utilización de las proteínas de la dieta aumenta conforme su proporción de lisina y triptofano se acerca a la del tejido muscular. Para la evaluación de los alimentos que contienen

proteínas, estos autores proponen el cálculo de un índice de utilización proteica, el cual es equivalente al aumento de peso del cuerpo multiplicado por la retención de nitrógeno, en mg por kg de peso corporal, dividido por 100.

Estas consideraciones guiaron al Comité de la FAO (2) para designar una "proteína de referencia", cuyo patrón de aminoácidos podría ser usado para calcular un "puntaje de proteínas", basado en el por ciento de deficiencia del aminoácido más limitante. Esta combinación tipo o patrón de referencia de aminoácidos de la FAO, dada en mg de aminoácido por gramo de nitrógeno, es como sigue: isoleucina, 270; leucina, 306; lisina, 270; metionina y cistina, 270; fenilalanina y tirosina, 180; treonina, 180; triptofano, 90 y valina, 360. Evidencia preliminar obtenida por los autores (58) sugiere que la combinación tipo de aminoácidos tal vez sea demasiado baja en su contenido de lisina y demasiado alta en metionina. El principio de esa combinación tipo es muy útil y las investigaciones necesarias para perfeccionarla deberían ser objeto de especial prioridad.

IV. EL CONTENIDO DE AMINOACIDOS DE LOS ALIMENTOS

La tendencia de expresar el contenido de aminoácidos en términos de proporciones, más bien que sólo en cantidades absolutas, la ilustra el trabajo de Raica, Heimann y Kemmerer (59), investigadores que escogieron treonina como el aminoácido de referencia. En otros informes, tales como el que Flodin (60) publicó en 1954, y más recientemente el relativo a la combinación tipo de aminoácidos de la FAO (2), se manifiesta preferencia por el uso del triptofano, como el aminoácido de referencia, para calcular las proporciones en que los otros aminoácidos deben estar presentes para lograr su utilización máxima.

Wertz y colaboradores (61) proporcionan datos sobre el contenido de aminoácidos esenciales de 74 alimentos cocidos y ya listos para ser consumidos. Desafortuna-

damente, en este artículo no se incluyen datos en lo que respecta a la humedad o al nitrógeno total de las muestras, ni se dan detalles en cuanto a los métodos de cocimiento y preparación de los alimentos, hecho que dificulta la aplicación de los datos. Edwards, Carter y Outland (62) han proporcionado mayor información sobre el contenido de aminoácidos, de humedad, y de nitrógeno total, de un grupo apreciable de alimentos seleccionados. Nueve vegetales congelados fueron analizados por Murphy y colaboradores (63) quienes determinaron su contenido de aminoácidos esenciales permitiendo así que estos datos puedan ser usados para el cálculo de la ingesta de aminoácidos de las poblaciones.

Baptist y Perera (64) han obtenido apreciable información sobre la composición de aminoácidos de cereales tropicales, al estudiar diversas variedades de mijo encontrando que éstas eran bajas tanto en metionina como en lisina. Adrian y Sayerse (65) también estudiaron diferentes variedades de mijo y de sorgo, y observaron que éstas presentaban gran variación en su contenido de arginina, treonina e isoleucina. El contenido de triptofano de estas muestras era satisfactorio; sin embargo ambos cereales contenían bajas cantidades de lisina. Chatterjee, Ray y Banerjee (66), Khan y Baker (67), Jelliffe y colaboradores (68), Majumder, Dutta y Ganguli (69) y Ramachandran y Phansalkar (70) han estudiado diversas leguminosas y legumbres de los trópicos. A pesar de que la información obtenida mediante ensayos microbiológicos de los aminoácidos es útil desde el punto de vista práctico, se continúa acumulando evidencia que demuestra que el uso de estos valores involucra ciertos riesgos si no se tiene en cuenta la disponibilidad biológica de los aminoácidos provenientes de las distintas fuentes. Recientemente han recibido atención algunos de los factores que afectan la composición de aminoácidos de las semillas de leguminosas. Krober (71) informa que encontró diferencias significativas entre 14 variedades de frijol de soya

por él investigadas, en cuanto a su concentración en metionina, el aminoácido limitante en este grano. Este autor encontró también apreciable variación estacional pero los efectos de la localidad no acusaron diferencias significativas consistentes. Este investigador afirma que es posible aumentar el contenido de metionina de la soya mediante los cruces genéticos. Los factores que influyen el contenido de proteína, metionina, lisina y triptofano de 25 variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*) fueron estudiados por Tandon y colaboradores (72) quienes informan que las diferencias en el contenido de nitrógeno y de triptofano, de una a otra variedad y entre las diversas localidades fueron altamente significativas, aun cuando la fertilidad del suelo no alteró el contenido de nitrógeno, metionina, lisina, triptofano, niacina o tiamina. Las variedades de trigo con un alto contenido de proteína, producidas por medio de fertilización a base de nitrógeno, contienen cantidades significativamente menores de lisina en por ciento de proteína cruda, que aquellas variedades de trigo cuyo contenido de proteína es bajo (73). En vista de que el contenido de lisina también varió con el año y con el rendimiento, esta observación se considera de importancia práctica dudosa.

La escasez mundial de proteína de buena calidad ha estimulado un sinnúmero de nuevos estudios sobre el valor nutritivo de las proteínas del pescado, en particular, en productos derivados del mismo, tales como las harinas de pescado. Jaffé, Nolberga, Embden, García, Olivares y Gross (74) han analizado pescados de agua dulce y salada, así como 17 muestras de alimentos marinos o mariscos enlatados o en conserva. Cuando el contenido de triptofano, lisina, metionina y cistina de estos productos fue expresado en base a 16 g de nitrógeno, se pudo observar gran uniformidad entre las muestras, notándose que, en general, las proporciones entre los aminoácidos eran similares a las que se encuentran en la caseína. Lahiry y Proctor (75) encontraron que el sábalo, róbalo y castañola, eran excelentes fuentes

de lisina y buenas fuentes de triptofano, así, como de metionina, y que el contenido de aminoácidos no difería significativamente entre el pescado crudo, deshidratado o enlatado (76).

La composición del colágeno y de la gelatina de pescado ha sido estudiada por Eastoe (77) quien encontró que era muy similar a la del colágeno de los mamíferos. Sin embargo, la posible aplicación de estos productos como fuentes de proteína en la dieta es muy dudosa desde el punto de vista práctico. Mojonier, Hedrick y Porter (78) han aportado mayor información sobre el contenido de aminoácidos de 4 géneros de levaduras cultivadas. Estos investigadores llegan a la conclusión de que aun cuando tales productos por su alto contenido de lisina son fuentes potenciales de aminoácidos esenciales para la suplementación de proteínas de baja calidad, son, en cambio, relativamente pobres en cistina y en metionina. La bacteria *Azotobacter vinelandii* contiene, en su forma desecada, hasta un 75 % de proteína de contenido relativamente alto en metionina (79).

Disponibilidad de los aminoácidos en los alimentos. Deshpande y colaboradores (80) han aprovechado el bajo contenido de isoleucina de la sangre desecada para demostrar el grado de disponibilidad de ese aminoácido en 8 diferentes proteínas usadas para suplementarla. Los autores llegan a la conclusión de que, para la rata, la isoleucina contenida en la zeína se encuentra disponible solamente en un 30 %; en la caseína y en la gelatina en un 60 a 70 %, mientras que la isoleucina de la fibrina vacuna, de la albúmina del huevo y de la proteína "Drackett" (proteína de soya) se encuentra disponible para la rata en más del 90 %. Gupta y Elvehjem (81) usando ratas como animales de experimentación encontraron que la disponibilidad biológica de triptofano de las proteínas de la carne de res y de marrano, de la albúmina del huevo, de la fibrina vacuna, de la proteína de soya purificada y de la leche en polvo, variaba entre 80 y 100 %. Stevens y Henderson obtuvieron

resultados similares empleando caseína (82). Kratzer y Green (83) encontraron que para pollos, la disponibilidad biológica de la lisina en la harina soluble de sangre desecada por atomización, era solamente un 75 % de la que se encontró por ensayos microbiológicos después de hidrólisis ácida. En la harina de sangre desecada en tanques, únicamente un 60 % de la lisina determinada microbiológicamente resultó ser biológicamente disponible para los pollos.

Otros artículos que han aportado información con respecto a los efectos del procesamiento sobre la disponibilidad de los aminoácidos de los alimentos han sido publicados recientemente. Por ejemplo, Mouron y colaboradores (84) demuestran que en la leche desecada por atomización hay una destrucción de lisina del 3,6 %; que en la leche evaporada ésta es de 8,4 %; en la leche desecada en rodillo, de 13 %; y en la leche pulverizada a rodillo de 26,6 %. La evidencia más reciente de que la lisina se destruye durante el proceso del horneado la proporcionan una serie de artículos por Sabiston y Kennedy (85) y Strømnaes y Kennedy (86). Hepburn, Lewis y Elvehjem (87) también muestran que hay diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de aminoácidos del trigo y de la harina, y entre las de la harina y del pan.

Por otra parte, Bender y Haizelden (88) determinaron el valor biológico de la proteína en 27 tortas de pescado y harinas deodorizadas de pescado, preparadas para consumo humano. Estos autores encontraron que la utilización proteica neta fluctuaba entre el 18 y el 80 %, la digestibilidad entre el 47 y el 97 % y que el valor biológico variaba del 36 al 82 %. Este trabajo de nuevo demuestra que aun cuando el valor biológico del pescado es uniformemente alto (74), las harinas para consumo humano derivadas de este producto varían grandemente. Aún más, como Almquist ya lo ha demostrado (89) el residuo proteico no digerible por la pepsina de las tortas de pescado aumentó lentamente al ser éstas almacenadas durante los 331 días del experimento. Al

parecer, el proceso de oxidación es el factor responsable de este fenómeno. Es sencillamente imposible asumir que cualquier harina de pescado es una buena fuente de proteínas para consumo humano hasta tanto ésta haya sido sujeta a pruebas biológicas estrictas.

Se ha demostrado que muchos otros factores de almacenaje o de procesamiento afectan la disponibilidad de los aminoácidos. Por ejemplo, Windmueller, Ackerman y Engel (90) han observado que después de fumigar la caseína con óxido de etileno, solamente un 29% de la histidina y un 44% de la metionina de la caseína son, al parecer, utilizables por el *Lactobacillus mesenteroides*. Las ratas recién destetadas no crecen cuando se les sujeta a una dieta que contiene de 9 a 18% de caseína fumigada; sin embargo, la adición de histidina y metionina a esta dieta anula la inhibición del crecimiento. En estudios hechos con arroz sancochado (91) se han observado pérdidas significativas de aminoácidos durante pruebas de almacenamiento acelerado.

Desde hace poco tiempo que se viene prestando atención cada vez mayor a los estudios sobre los efectos de la esterilización de los alimentos por medio de radiación, estudios que evidentemente son de gran importancia. Johnson y Metta (92) resumieron la información disponible al respecto hasta principios de 1956 y llegaron a la conclusión de que la pérdida en el valor nutritivo de la proteína debida a la esterilización por medio de radiación, en la carne de res, en los frijoles, en las arvejas y en la leche no es mayor de la que se produce por otros métodos de elaboración. Sin embargo, en la leche ocurre una pérdida de cistina de significado nutricional. En un artículo subsiguiente Metta, Norton y Johnson (93) informan que la esterilización por medio de radiación, al igual que el cocimiento por calor, no afecta significativamente la digestibilidad de la proteína de la arveja cruda pero que, en contraste con lo que sucede en el cocimiento por calor, reduce su valor biológico en un 8%. Por otra parte,

la irradiación no afecta ni la digestibilidad ni el valor biológico de la proteína de las habas.

V. MEJORAMIENTO DE LAS PROTEINAS

Mezclas vegetales y dietas mixtas. Un excelente informe recientemente elaborado por el Consejo de Investigaciones Médicas de la India (94) hace una revisión del trabajo llevado a cabo en la China y en la India sobre la preparación, ensayo y uso de sustitutos de leche en aquellas regiones en donde la producción de este alimento básico es inadecuada. En este informe se llega a la conclusión de que las leches preparadas a base de frijol de soya, de maní, de pepita de jocote marañón, de semilla de coco, de almendras o de leguminosas, pueden ser de gran ayuda en la suplementación de dietas pobres elaboradas a base de cereales. En el Congo Belga, Holemans, Lambrechts y Martin (95) administraron una leche preparada de maní a 96 mujeres que estaban amamantando y a 135 lactantes. Dicha leche demostró ser un buen suplemento alimenticio a juzgar por los índices bioquímicos y clínicos observados.

Un informe de Rusia (96) describe varias mezclas de cereales y de leguminosas de alto valor nutritivo, la mejor de las cuales demostró tener cualidades superiores a la caseína en las pruebas de crecimiento llevadas a cabo en ratas, y la cual contenía 60% de trigo sarraceno, 20% de soya y 16% de arroz. Scrimshaw y colaboradores (58) han descrito una mezcla para alimentación humana que contiene 25% de proteínas y que está constituida por 50% de harina de masa de maíz (preparada de maíz tratado con cal), 35% de harina de ajonjolí, 9% de torta de semilla de algodón, 3% de harina de kikuyu deshidratado y 3% de levadura tórula. Esta mezcla demostró ser tan efectiva como la leche de vaca al ensayarse a niveles isonitrogenados e isocalóricos en ratas y en perros, así como en niños sanos.

En estudios de retención de nitrógeno llevados a cabo en seres humanos, Ladell y Phillips (97) encontraron que, siempre y

cuando la dieta aporte una cierta cantidad mínima de proteína animal (al menos 14 g), una parte de esta proteína es reemplazable por 2.2 partes de proteína de maní. Desikachar, Sankaran y Subrahmanyam (98) y Phansalkar y Patwardhan (99) han usado ratas para demostrar que el valor nutritivo de las proteínas de los cereales mejora mediante el agregado de leguminosas. El artículo de Kammath y Sohoni (100) es uno de los más recientes que demuestran que el contenido de aminoácidos de las hojas verdes, aunque inferior al de la caseína, es un suplemento potencialmente útil para las dietas elaboradas a base de cereales. Otras posibles fuentes de proteína vegetal que, en el curso de experimentos de crecimiento realizados con ratas, han demostrado ser valiosas como suplementos de las dietas de cereales son las algas verdes *Scenedesmus obliquius* y *Chlorella pyrenoidosa* (101), la quinúa sudamericana, *Chenopodium quinoa* (102) y el trigo sarraceno, *Fagopyrum tartaricum* (103).

Es imposible referirse, en este trabajo, a los muchos estudios que recientemente se han llevado a cabo sobre el valor nutritivo del pescado y de sus productos. Sin embargo, debe mencionarse la publicación de diversos informes que tratan del uso de productos derivados del pescado como suplementos de las dietas de cereales. Costamaillere y Ballester (104) encontraron que la harina de pescado es tan efectiva como el polvo de leche entera en cuanto a su capacidad para mejorar la velocidad de crecimiento de ratas sujetas a una dieta diseñada de acuerdo con la consumida por los grupos de población de un nivel económico inferior en Chile. Cravioto y colaboradores (105) comprobaron, mediante experimentos de crecimiento llevados a cabo en ratas, que de 7 harinas de pescado que ellos estudiaron, 5 mejoraron el valor biológico de las proteínas del maíz al agregarse al nivel del 10% a una dieta de tortillas. Las dos harinas de pescado que demostraron ser inefectivas habían sido deodorizadas durante el proceso industrial. Sure (106) y Carpenter y colaboradores

(107) han encontrado que las harinas de pescado constituyen suplementos efectivos para las dietas preparadas a base de cereales.

Maíz. Considerando el bajo valor biológico de la proteína del maíz, es sorprendente que los únicos informes publicados sobre el mejoramiento del valor biológico de las dietas elaboradas predominantemente a base de maíz, mediante el uso de proteínas vegetales complementarias, sean los artículos de Scrimshaw y colaboradores (58), ya mencionados, así como el trabajo de Mangay, Pearson y Darby (108) quienes demostraron que el maicillo (*Setaria italica*) corrige la deficiencia de niacina inducida en las ratas, mediante la administración de una dieta con 9% de caseína y 40% de maíz. Estos autores (108) también demostraron que la adición de 1% de lisina a una dieta de 40% de maíz y 40% de maicillo mejoró apreciablemente el crecimiento de esos animales, pero este mismo porcentaje de lisina no produjo ninguna respuesta de crecimiento al agregarse a una dieta de 80% de maíz y 10% de maicillo, al menos que también se añadiera a dicha dieta niacina, triptofano o ambos. Así, se hace evidente que el maicillo mejora la deficiencia de triptofano del maíz, pero no la deficiencia de lisina de este grano. Scrimshaw y colaboradores (58) han logrado mejorar la retención de nitrógeno de niños pequeños adicionando triptofano a una mezcla básica compuesta de masa de maíz y de gluten del mismo grano. Sin embargo, esa retención de nitrógeno mejora aún mucho más al agregar simultáneamente, a esa mezcla, triptofano y lisina a los niveles de la combinación tipo de aminoácidos de la FAO. Al realizar experimentos de crecimiento con ratas, Hogan y colaboradores (109) encontraron que la lisina es el aminoácido más limitante en el maíz entero y que el triptofano le sigue en segundo término. Mosqueda-Suárez (110) observó que la adición de 0,2% de triptofano a un producto de maíz pilado (desprovisto del germen) mejoraba en un 214% la velocidad del aumento de peso de las ratas, mientras que la adición de lisina sola lo mejoraba en un

59% y la suplementación con ambos aminoácidos en un 414%.

Trigo. Muchos estudios han demostrado que la suplementación de productos del trigo con lisina tiene como resultado una mejora de su calidad proteica. Entre los trabajos más recientes a este respecto se encuentran los de Hutchinson, Moran y Pace (111, 112), Sure (113), Deshpande, Harper y Elvehjem (114) y Rosenberg (115). Deshpande y colaboradores (114) demostraron que la lisina prevenía el hígado graso provocado por una dieta de bajo contenido proteico (5,4%) en la que el trigo era la principal fuente de proteína.

También se ha comprobado que la leche y la carne pueden suplementar una dieta básica de harina de trigo, haciendo así que la suplementación con lisina sea innecesaria (116, 117). Por otra parte, Jahnke y Schuck (118) han observado que la adición de lisina es beneficiosa aun cuando la harina de trigo haya sido enriquecida previamente con un 3% de leche descremada en polvo. Sarett (119) estudió una mezcla compuesta de 70% de un alimento preparado a base de cereales ("Pabulum", Mead Johnson & Co.) y 30% de leche en polvo y encontró que, según podía evaluarse por medio del crecimiento en ratas, la adición de lisina no mejoraba el valor de la mezcla, resultado que era de esperarse ya que la dieta básica contenía en sí cantidades adecuadas de lisina para satisfacer los requerimientos de las ratas.

Otras fuentes de proteínas vegetales. También ha merecido atención la suplementación de otras proteínas vegetales con aminoácidos sintéticos. Las investigaciones sobre los efectos beneficiosos de la suplementación de raciones alimenticias para animales con metionina, lisina, o con ambos aminoácidos, han sido debidamente revisadas por Rosenberg (115). Cowlshaw y colaboradores (120, 121) encontraron que el valor nutritivo de un concentrado proteico de hojas, para alimentación infantil, mejoró al agregársele lisina, lo que no sucedió con el agregado de metionina. Kik (122, 123) ha demostrado que las proteínas del afrecho y del germen

de arroz comercial usadas como única fuente proteica en las ratas, pueden ser mejoradas por el agregado de 0,2% de L-lisina y de 0,2% de DL-treonina. Sure (124) agregó a las proteínas de cebada molida 0,4% de L-lisina, 0,5% de DL-treonina y 0,5% de DL-metionina, lo que dió por resultado una mejoría del 151% en crecimiento de las ratas bajo experimentación y un aumento en la razón de eficiencia proteica de 224%. La suplementación de la harina de maní con 0,5% de DL-metionina y 0,5% de DL-treonina mejoró la tasa del aumento de peso en un 60,6% y la razón de eficiencia proteica en un 61,5%.

Es obvio que los alimentos no mejoran con el agregado de aminoácidos, a menos que con ello se corrija una deficiencia limitante. Por ejemplo, el agregado de lisina no logró mejorar las proteínas de la soya (125). Los estudios de Sure (126) sobre el arroz y el trigo, y los llevados a cabo en lo que respecta a la suplementación del arroz por Hundley y colaboradores (127), por Kik (122, 123) y por Deshpande y colaboradores (128), demuestran claramente que es probable que más de un aminoácido esencial sea necesario para lograr que una proteína de cereales mejore satisfactoriamente.

VI. REQUERIMIENTOS DE AMINOACIDOS

En el hombre. El Comité de la FAO sobre Requerimientos de Proteínas (2) dió el importante paso de considerar, tanto los requerimientos humanos de aminoácidos como los de proteínas. De especial importancia para los debates de este Comité fue la serie de artículos de Rose y colaboradores publicada desde 1947 hasta 1955. Estos artículos describen la cantidad mínima de cada aminoácido esencial requerida para mantener "un balance positivo definido, determinado por el promedio obtenido durante un período de varios días." Estos informes fueron muy bien resumidos en un artículo de Elvehjem (129) así como en una revisión completa y crítica por Rose (4).

Una serie de estudios similares por Leverton y colaboradores, llevados a cabo en

mujeres jóvenes, estuvo a la disposición del Comité de la FAO, a pesar de que en ese entonces no había sido publicada. En esos estudios los límites de los requerimientos de treonina resultaron ser de 103 a 305 mg por día (130); en el caso de la valina los límites de los requerimientos fueron de 465 a 650 mg (131); para el triptofano de 82 a 157 mg (132), y para la leucina, de 170 a 620 mg (133).

Los requerimientos de fenilalanina fueron investigados con dietas que proporcionaban 900 mg de tirosina diarios y, bajo estas circunstancias, se necesitaron de 120 a 200 mg de fenilalanina (134). En estudios similares realizados en mujeres jóvenes, Swendseid, Williams y Dunn (135), encontraron que los requerimientos de metionina más cistina fluctuaban entre 350 y 550 mg y Swendseid y Dunn (136) han informado que el requerimiento de isoleucina oscila entre 250 y 450 mg. Se puede observar que estas cifras tienden a ser más bajas que las encontradas previamente en estudios llevados a cabo en hombres, pero como Rose ha señalado (4) estos resultados se basan en un criterio diferente de equilibrio de nitrógeno, a saber, "la zona en la cual la diferencia entre la ingesta y la excreción no excede del 5%". Así, 8 de los 16 sujetos que Leverton y colaboradores (130) informaron que se encontraban en equilibrio nitrogenado, habrían sido considerados por Rose como en balance negativo en sus estudios sobre treonina.

Otra diferencia que posiblemente explique los valores más bajos encontrados en las mujeres puede ser la práctica de ajustar las calorías para prevenir el aumento o pérdida de peso corporal, en vez de mantenerlas constantes a través de todo el experimento como lo hizo Rose. Jones, Baumann y Reynolds (137) han estudiado el requerimiento de lisina en la mujer e informan que éste varía entre 400 y 500 mg por día. En esas investigaciones se han usado dietas en las que todo o casi todo el nitrógeno está constituido por aminoácidos sintéticos y urea o citrato de amonio.

Los estudios mencionados dejan la duda de posibles errores en que se pueda haber incurrido al determinar los requerimientos individuales de los aminoácidos usando dietas que contienen solamente cantidades mínimas de los otros aminoácidos esenciales. Nasset (138) demostró claramente que, en las ratas, una mezcla elaborada con base en los requerimientos mínimos promedio de los 9 aminoácidos esenciales es muy inferior a la proteína del huevo o a una mezcla de aminoácidos que simula la proteína del huevo. En el primero de una serie de artículos que proyectan preparar sobre los requerimientos de aminoácidos de hombres y de mujeres, Clark y colaboradores (139) usaron cereales y otras fuentes proteicas para proveer alrededor de la mitad del nitrógeno total de las dietas. Estos autores informan que en un grupo de 10 sujetos, de ambos sexos, éstos se mantuvieron en equilibrio nitrogenado con una ingesta de 500 a 900 mg de lisina. No se observaron diferencias debidas al sexo. En estos dos últimos estudios con lisina se empleó un criterio para el equilibrio de nitrógeno similar al de Rose, y es satisfactorio observar que todos estos resultados concuerdan, ya sea que la dieta haya sido total o parcialmente sintética.

Como ya se señaló en la sección previa dedicada a los requerimientos proteicos, no debe darse por sentado que la medición de los requerimientos para mantener el balance de nitrógeno necesariamente representa los requerimientos nutricionales óptimos. Schultze (140) encontró mezclas de aminoácidos que eran capaces de mantener "normales" la función reproductiva y la lactancia en las ratas, por períodos hasta de 4 generaciones consecutivas. Sin embargo, estas mezclas no eran del todo adecuadas para lograr un aumento óptimo de peso en los animales jóvenes, tanto antes como después de la lactancia, ni para prevenir el desarrollo de hígados grasos en las madres durante el período de la lactancia. El trabajo de Allison y colaboradores (141) ilustra el punto de que las demandas nutricionales de los tejidos de un animal pueden hacerse

evidentes, a veces en una forma más adecuada, estudiando los efectos de diversos "stresses" sobre los requerimientos de los nutrientes.

Snyderman y colaboradores (142) han estudiado nuevamente el requerimiento de lisina de 6 lactantes normales usando una dieta sintética constituida por 18 L-aminoácidos combinados en las mismas proporciones en que se encuentran en la leche humana, habiendo encontrado que los 6 niños requerían menos de 90 mg de lisina por kg de peso, por día. La información de que se dispone en cuanto a los requerimientos de fenilalanina y treonina de los niños ha sido resumida por Holt y Snyderman (30).

En los roedores. Continúan apareciendo en la literatura nuevos estudios sobre los requerimientos de aminoácidos en las ratas. Forbes, Vaughan y Norton (143) han empleado una medida a la que estos autores se refieren como "pérdida mínima de nitrógeno" [(nitrógeno urinario exógeno/ingesta de nitrógeno) \times 100]. La cantidad mínima de isoleucina requerida para lograr un desperdicio mínimo del nitrógeno de la dieta en ratas en proceso de crecimiento, alimentadas con dietas sintéticas, fue de 2,6 % del equivalente de la proteína convencional de las dietas, sin tener en cuenta su contenido de nitrógeno total. El requerimiento de histidina de la rata adulta fue reinvestigado por Moore y Wilson (144) quienes encontraron que ese aminoácido sí es esencial para la retención normal de nitrógeno en este roedor. La discrepancia entre esta conclusión y la mayor parte de los resultados obtenidos en el curso de trabajos anteriores bien puede deberse a diferencias en cuanto a la composición de la dieta experimental. Hartsook y Mitchell (145) han demostrado que el porcentaje de metionina más cistina requerido en las dietas para ratas en proceso de crecimiento decrece en una forma exponencial con la edad, mientras que aumenta como por ciento del requerimiento proteico desde 7 hasta 8 %, probablemente debido a síntesis continua de queratina para la formación del pelo, a pesar de que la velocidad de creci-

miento corporal disminuye con la edad. Womack, Snyder y Rose (146) han comprobado que la D-valina es relativamente inefectiva como factor de promoción de crecimiento para las ratas, aun cuando se administre al nivel del 2 %, y que este aminoácido se utiliza aún menos cuando la L-leucina contenida en la dieta es reemplazada por una cantidad doble de DL-leucina. Al parecer, la D-valina es usada con dificultad por el organismo bajo cualquier circunstancia, pero esta dificultad se acentúa aún más cuando se administran otros D aminoácidos. Ya fue publicado el segundo de una serie de artículos por Heinicke, Harper y Elvehjem (147) que también demuestra que el conejillo de Indias tiene un requerimiento particularmente alto en arginina y metionina, el que decrece conforme el animal madura, en forma paralela a la disminución en la tasa de crecimiento.

En los pollos. Baldini y Rosenberg (148) han encontrado que el requerimiento de metionina de los pollos aumenta conforme el nivel de energía productiva de la dieta aumenta. Esta forma de relacionar el requerimiento de un nutriente con el nivel de energía productiva de la dieta es aplicable a la mayor parte de los requerimientos de nutrientes de los pollos. Por ejemplo, Griminger, Scott y Forbes (149) han demostrado que a medida que la parte no digerible de la dieta aumenta, el requerimiento de triptofano y arginina de los pollos, expresado como por ciento de la dieta, disminuye. De manera análoga, Williams y Grau (150) han observado que cuando la glucosa de la dieta es reemplazada por "cellu-flour" (celulosa) en un 12 % o más, reduciendo así la concentración de energía digerible de la dieta, el consumo del alimento y el crecimiento de los animales sujetos a todas las dietas deficientes en lisina, aumentan. Cuando hay suficiente energía disponible, el requerimiento de metionina de los pollos para asado aumenta a medida que el contenido de proteína de la dieta también aumenta (151). Griminger, Scott, y Forbes (152) han demostrado que el requerimiento de triptofano de

los pollos en proceso de crecimiento aumenta con el nivel proteico, aun cuando a una velocidad menor que este último.

Fisher (153) informa que en presencia de suficiente tirosina, los pollos requieren 0,5 % de L-fenilalanina para lograr un crecimiento normal y una máxima utilización del alimento. Ya que en previos estudios se ha establecido un requerimiento de 0,9 % para la forma DL de este aminoácido, al parecer, los pollos, al igual que las ratas, no utilizan eficientemente la forma D de la fenilalanina. El requerimiento de L-tirosina, en presencia de 0,46 % de L-fenilalanina es, de acuerdo con Fisher, Johnson y Leveille, entre 0,3 y 0,5 % (154).

VII. INTERRELACIONES ENTRE LOS AMINOACIDOS Y OTROS NUTRIENTES

Entre los aportes más recientes a un mejor entendimiento de la interrelación entre la niacina y el triptofano cabe mencionar el artículo de Horwitt y colaboradores (155), quienes hicieron una revisión de las relaciones entre estos compuestos en el hombre. Estos autores llegan a la conclusión de que 60 mg de triptofano son aproximadamente equivalentes a 1 mg de niacina, y sugieren que la pelagra se desarrolla cuando la ingesta es menor de 8,8 mg "equivalentes de niacina" para las primeras 2.000 calorías, más una cantidad adicional de 0,44 mg por cada 100 calorías por arriba de 2.000. Fisher, Scott y Johnson (156) demuestran que el requerimiento de triptofano en los pollos es de 0,15 % cuando la cantidad de niacina en la dieta es adecuada y de 0,20 % cuando se omite la niacina. En cerdos jóvenes, Firth y Johnson (157) han observado que el requerimiento de DL-triptofano para obtener un crecimiento máximo es de cerca de 0,29 % cuando la cantidad de niacina de la dieta es adecuada, y de aproximadamente 0,45 % cuando la dieta no contiene niacina. Este estudio también hace hincapié sobre la utilización de la forma DL con una eficiencia aproximada de $\frac{1}{3}$ de la eficiencia de utilización del isómero natural. Banerjee y Basak

(158) han estudiado la biosíntesis del ácido nicotínico a partir del triptofano en el mono *Rhesus* llegando a la conclusión de que los microorganismos intestinales, así como también los tejidos, están involucrados en esta síntesis, ya que la sulfaguanidina hace decrecer la excreción urinaria de los metabolitos de la niacina en animales alimentados con triptofano. En este mismo artículo se dice que la administración de piridoxina, pero no la de vitamina C, tiene cierto efecto sobre la excreción de metabolitos del triptofano en monos a los que se les había administrado sulfaguanidina. Puesto que los organismos que producen piridoxina son inhibidos por las drogas sulfa, estos resultados indican que la vitamina B₆ desempeña un papel importante en la conversión intestinal.

Lichstein (159) ha proporcionado evidencia directa en este sentido, al demostrar que la síntesis de la enzima triptofanasa, por una variedad de *E. coli*, depende de la presencia de la vitamina B₆. El papel de esta vitamina en la metilación de la nicotinamida ha sido comprobada por Marquez, Cheslock y Reynolds (160) quienes informan haber observado un aumento de la excreción urinaria de N-1-metil-nicotinamida en sujetos humanos a los que administró metionina más piridoxina, pero no así cuando se les dió solo metionina.

Una observación más general en relación con el papel de la vitamina B₆ en el metabolismo proteico, es la de Ross y Pike (161) que en el curso de sus estudios llevados a cabo en ratas, observaron que, ya fuese la falta de piridoxina en la dieta o la adición de desoxipiridoxina, tenía como resultado una retención más baja de nitrógeno. La información provista por esos autores también indica que, durante el embarazo, la vitamina B₆ ejerce cierta influencia sobre la síntesis proteica en el hígado.

Persiste gran interés en lo que respecta a la función de la vitamina B₁₂ en el metabolismo de las proteínas y de los aminoácidos. Wagle y Johnson (162) en sus experimentos con ratas y cerdos han encontrado que la administración de vitamina B₁₂ a animales

deficientes en ese factor da como resultado una mejor incorporación de C^{14} de serina o de glucosa en las proteínas del hígado. Henry y Kon (163) también han demostrado que en las ratas la vitamina B_{12} está implicada en la síntesis de los grupos metilo. También existen pruebas de que en las ratas mantenidas sin vitamina B_{12} y sin ácido fólico, estas deficiencias tienen como resultado niveles reducidos de proteínas séricas, hecho que se debe principalmente a una reducción en la albúmina y en la glubulina alfa (164). El valor de la vitamina B_{12} administrada a niños como suplemento de una dieta predominantemente vegetariana, cuantitativa y cualitativamente inadecuada en su contenido de proteínas, ha sido de nuevo objeto de investigación en otros dos trabajos en los que no se logró encontrar ningún efecto estimulante positivo sobre el crecimiento (165, 166). Un artículo reciente de McDonald (167), también sugiere una vez más la posible participación del ácido fólico en el metabolismo de los grupos metilo. La influencia de los niveles de la proteína y de los carbohidratos de la dieta sobre los requerimientos de tiamina, riboflavina, piridoxina y ácido pantoténico, ha sido objeto de investigación por Kaunits, Slanetz y Johnson (168) quienes emplearon antivitaminas y utilizaron ratas como animales de experimentación. Estos autores observaron que los requerimientos de las tres primeras vitaminas aumentaban conforme la ingesta proteica era incrementada. Al reemplazar la proteína por carbohidratos, la deficiencia de ácido pantoténico se hizo más pronunciada, hecho que sugiere que el aumento de la proteína de la dieta disminuye los requerimientos de ácido pantoténico. Bonomolo y Bifano (169) administraron a conejillos de Indias una dieta deficiente en vitamina C, cuyos niveles proteicos eran 9, 18 y 36 % de la dieta, no habiendo logrado demostrar influencia alguna de la ingesta proteica sobre el metabolismo del ácido ascórbico. Este hecho es sorprendente, en vista de la necesidad ya conocida del ácido ascórbico en el metabolismo de la fenilalanina y de la tirosina.

El informe de Smith y Nelson (170) en el que se demuestra un aumento en los aminoácidos libres del músculo, del corazón, del bazo, y del hígado de conejos deficientes en vitamina E, de nuevo llama la atención hacia la relación entre el metabolismo de los aminoácidos y esta vitamina.

Los minerales también están interrelacionados con el metabolismo de las proteínas y de los aminoácidos. Frazier, Hughes y Cannon (171) proporcionan nueva evidencia de que cuando el balance de nitrógeno es negativo en las ratas, la retención del potasio de la dieta por los tejidos se altera; para lograr una utilización celular óptima de potasio es esencial que el organismo esté en balance positivo de nitrógeno. Esta observación ayuda a explicar las características de la deficiencia de potasio observadas en los casos de una deficiencia proteica severa en los niños (Síndrome Pluricarenal de la Infancia). Wasserman y colaboradores (172) han demostrado que la lisina o la vitamina D estimulan la absorción de calcio⁴⁵ en ratas deficientes en vitamina D, y que el efecto de la administración conjunta de ambos factores es aditivo. Esto también es cierto en el caso de la lisina y de la lactosa cuando se administran a ratas normales. Sin embargo, la lisina fue del todo inefectiva en cuanto a estimular la absorción de calcio⁴⁵ en pollos raquíuticos.

Además de la absorción de calcio⁴⁵, Wasserman, Comar y Nold (173) han estudiado, en ratas, la absorción de estroncio⁸⁹. Estos autores ensayaron el efecto de 18 aminoácidos y encontraron que aun cuando el L-triptofano, la L-leucina y el ácido L-aspartico producían aumentos notables en la absorción de estroncio⁸⁹, sin lugar a duda la L-lisina y la L-arginina eran los factores más potentes en su acción promotora de absorción de minerales. Roth y Milstein (174) han presentado evidencia que contribuye a esclarecer el mecanismo de la influencia de la metionina de la dieta sobre el metabolismo de los lípidos. Estos autores administraron a un grupo de ratas una dieta que contenía 12 % de caseína y 4,8 % de metionina, ha-

biendo notado, en comparación con el grupo testigo, un aumento en el colesterol sérico y en el del carcás, una disminución de los lípidos totales del carcás y una incorporación significativamente mayor de acetato- $2C^{14}$ en el colesterol hepático.

El trabajo de Cofer, Porter, y Davis (175) demuestra que cuando se suspende la administración de estrógenos, esta medida trae como consecuencia un aumento ligero en la retención de nitrógeno. Kyle y Hess (176) confirman el hecho de que en las personas que están siendo tratadas con progesterona (o con anhidro-hidroxiprogestero) se produce un balance negativo de nitrógeno. Estos autores llegan a la conclusión de que la progesterona ejerce un efecto sobre el balance de nitrógeno que, aun cuando pequeño, es definitivamente desfavorable. La relación entre la proteína de la dieta y el colesterol sérico también ha despertado nuevo interés. El aumento del contenido proteico de la dieta de ratas sujetas a un régimen hipercolesterolémico ocasionó una disminución progresiva de los niveles séricos del colesterol (177). Por otra parte, Jones y Huffman (178) informan de los resultados de sus trabajos de experimentación con ratas viejas, en los que la administración de una dieta con 40 % de caseína produjo niveles de colesterol sérico excesivamente altos. El marcado desacuerdo que se observa entre estos dos últimos trabajos podría ser explicado por la presencia de colato en la dieta empleada por Moyer y colaboradores (177) en sus experimentos, hecho que bien puede haber alterado el efecto de la proteína de la dieta. En otro trabajo publicado por Okey y Lyman sobre este mismo tema (179) la información sugiere, en general, que la proteína es más activamente lipotrópica en lo que se refiere al colesterol cuando el animal tiene un crecimiento rápido. En un trabajo aún más reciente, por estos mismos autores (180), se demuestra que la albúmina es más lipotrópica que una cantidad de metionina equivalente a la proporcionada por esa proteína.

El acúmulo de evidencia en lo que respecta a la relación entre la proteína de la dieta y

el colesterol sérico en el hombre, ha sido objeto de reciente revisión por Keys y Anderson (181). En ese artículo los autores mencionan un trabajo en el que hicieron variar la ingesta proteica desde 8,6 % hasta 17,7 % de las calorías provenientes de la proteína, por períodos de 4 semanas, sin que esto afectase significativamente los niveles de colesterol.

VIII. INTERRELACIONES ENTRE LOS AMINOACIDOS

Considerando que Elvehjem ha trabajado directamente en la investigación de este tema de tanta importancia, sus artículos de revisión son particularmente informativos en ese respecto (182-184). Este autor ha hecho la distinción entre "desbalance de aminoácidos", "antagonismo entre dos o más aminoácidos" y "efectos tóxicos de niveles excesivos de aminoácidos". Benton y colaboradores (185) han comprobado que existe cierto antagonismo entre la isoleucina y la valina, entre la fenilalanina y la isoleucina, y entre la fenilalanina y la valina, en ratas alimentadas con una dieta de 9 % de caseína suplementada con varios aminoácidos. En un artículo subsiguiente estos autores (186) demuestran que bajo las mismas condiciones experimentales la treonina previene la depresión de crecimiento ocasionada por la presencia de 3 % de DL-fenilalanina o de 3 % de tirosina.

Rerat, Bouffault y Jacquot (187) han demostrado que tanto la deficiencia de lisina como un exceso de ésta pueden producir un retardo en el crecimiento de ratas alimentadas con una dieta preparada a base de gluten de maíz o de trigo. Es evidente la necesidad que hay de llevar a cabo estudios sistemáticos similares de cada uno de los otros aminoácidos esenciales. Wu y Lewis (188) encontraron que una deficiencia, ya sea de lisina sola o bien de lisina y triptofano, aumenta considerablemente la excreción de ácido homogentísico después de haber inyectado una dosis de DL-fenilalanina. Este efecto queda anulado al suplementar la dieta de gliadina con lisina, pero sólo se anula par-

cialmente cuando la dieta de zeína se suplementa con lisina y triptofano. El trabajo de Sauberlich (189) una vez más demuestra que el crecimiento de las ratas disminuye y que el consumo de alimentos por gramo de ganancia en peso corporal aumenta, cuando la dieta es deficiente en cualquiera de los aminoácidos esenciales metionina, isoleucina, treonina o triptofano. El mismo estudio muestra, además, que la adición del aminoácido en el que la dieta es deficiente corrige estos cambios.

Gessert y Phillips (190) han informado que, tanto el agregado de la metionina como el de la lisina por sí solas, a una dieta mixta administrada a perros en el proceso de crecimiento, produce una disminución de crecimiento que puede ser corregida al agregar conjuntamente los dos aminoácidos. Esta observación es de interés cualitativo, aun cuando el trabajo tiene el inconveniente de que para calcular el contenido de aminoácidos de la dieta, los autores usaron valores encontrados en la literatura, hecho que limita la validez de las posibles conclusiones cuantitativas que pueden derivarse de este estudio.

IX. METABOLISMO DE LAS PROTEINAS Y DE LOS AMINOACIDOS

Ciclo de renovación ("Turnover") de las proteínas. Varios estudios indirectamente relacionados con el problema de las deficiencias proteicas han contribuido al conocimiento del metabolismo de las proteínas y de los aminoácidos. La excreción urinaria de yodo I^{131} , después de administrar albúmina marcada, ha probado ser una medida directa de la degradación de la albúmina. En cuatro de cinco personas adultas en buen estado de nutrición, estudiadas por Fremont-Smith y por Iber (191) se notó cierta asociación entre un aumento repentino de la ingesta de nitrógeno de 0,5 a 3,0 g por kg de peso corporal, y un aumento pequeño, pero definitivo, de la velocidad de degradación de la albúmina. Este efecto persistió aún después de que el equilibrio nitrogenado se había restaurado. Sharp y colaboradores (192) han

usado proteínas de levadura marcadas con nitrógeno¹⁵ para demostrar que, en las personas adultas, ni la acloridria ni la edad deprimen su capacidad de absorber proteína marcada durante períodos de ingesta proteica elevada. Usando de nuevo la misma técnica, Sharp y colaboradores (193) encontraron que el promedio de retención de dos sujetos jóvenes (de 24 años de edad) era mayor que el de cuatro personas de edad avanzada (de 51 a 66 años), siendo los valores de 57,6 % y de 49,1 %, respectivamente. La vida media fisiológica del nitrógeno¹⁵ contenido en la levadura fue de 61 días en los sujetos jóvenes y de 86 días en las personas de edad avanzada. El requerimiento total diario promedio de nitrógeno proveniente del "pool" (el que incluye tanto el nitrógeno de la dieta como el nitrógeno del "pool" que puede ser usado de nuevo), resultó ser 0,23 g por kg de peso corporal.

X. LA DEFICIENCIA PROTEICA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Los estudios de depleción proteica en animales son relativamente pocos en comparación con el gran número de artículos publicados en los últimos dos años sobre la malnutrición proteica en los seres humanos. Stanier (194) y Widdowson y McCance (195) investigaron la composición del músculo, del hígado, de la piel y del carcás de un grupo de ratas adultas que recibieron durante un término aproximado de dos meses una dieta muy baja en proteínas (dieta *a*) así como en otro grupo de ratas sujetas a una dieta muy alta en su contenido de proteínas, (dieta *b*). Esta última se administró en cantidades limitadas a fin de mantener a los animales con el mismo peso en ambos grupos. La dieta *a* de bajo contenido proteico era similar a la dieta que da lugar a la aparición del SPI (Kwashiorkor) en los niños, y la dieta *b*, alta en proteínas, era similar a aquella que consumida en cantidades insuficientes daría como resultado el "marasmo"; los cambios en la composición del hígado de las ratas fueron muy similares a los observados en cada una de estas dos condi-

ciones clínicas en los niños. Iacobellis, Muntwyler y Dodgen (196) encontraron que tanto la deficiencia de proteínas como la de potasio (K^+) resultan en niveles aumentados de lisina y de arginina, y en niveles reducidos de ácido aspártico y glutámico en el músculo esquelético, en el diafragma y en el riñón. Ya que estos autores observaron que una deficiencia simultánea de proteína y de K^+ no ocasiona ninguna alteración en las concentraciones de los aminoácidos, prestaron especial atención a la importancia que al parecer tiene el que se mantenga una relación correcta entre las proteínas y el K^+ en las dietas terapéuticas usadas en el tratamiento de la malnutrición en los seres humanos.

Hahn, Baugh y Meng (197) depauperaron perros de sus proteínas por medio de repetidas flebotomías superimpuestas a una dieta de bajo contenido proteico. A pesar de haber encontrado cambios relativamente pequeños en los niveles plasmáticos de las proteínas totales, estos autores observaron una disminución marcada en la albúmina y un aumento en las globulinas alfa, beta y gama. De especial importancia fue la observación de que las reacciones anafilácticas que siguieron al inmunizar a los perros con suero de caballo se presentaban disminuidas o bien no eran evidentes en los animales deficientes en proteínas. Otros artículos de igual interés sugieren mecanismos por cuyo medio un estado de deficiencia proteica puede reducir la resistencia al estreptococo B-hemolítico en conejos (198) a la *Salmonella typhi* en ratas (199) y al bacilo tuberculoso en hamsters (200).

Srinivasan y Patwardhan (201) han demostrado claramente que la rata en el proceso de crecimiento reacciona más rápidamente que el animal adulto a una deficiencia proteica provocada y que sufre daños histológicos y bioquímicos mayores. Mangoni, Pennetti y Spadoni (202) encontraron que la oxidasa de la xantina en el hígado de ratones decrecía conforme la ingesta proteica disminuía dentro de un término de 21 días durante el cual se mantuvo a los animales

con dietas cuyo contenido de proteínas era de 8, 18, y 30%. Este descenso de la oxidasa de la xantina fue más acentuado en aquellos grupos a los que se les administró 24 mg de xantina por 100 g de peso corporal. También es de fundamental importancia la investigación de Ross y Batt sobre la relación entre la actividad de cuatro enzimas hepáticas con la dieta (203) y con la edad (204). Una dieta alta en caseína alteró el tipo de composición enzimática, cambiándolo de aquel característico del animal joven, a aquel propio del animal viejo, mientras que una dieta baja en caseína tuvo un efecto opuesto.

De importancia para los estudios sobre SPI es la demostración de Magee y Hong (205) en el sentido de que la adición de 1% de un aminoácido de prueba, en vez de caseína, a una dieta que contiene 7% de caseína, puede alterar la actividad de las enzimas pancreáticas. Por ejemplo, la metionina aumentó la actividad de la lipasa y de la proteasa, la fenilalanina o la isoleucina aumentaron la actividad de la proteasa solamente, mientras que ninguno de los suplementos de aminoácidos puestos a prueba aumentó la actividad de la amilasa. Magee y Anderson (206) encontraron que la valina estimulaba la actividad lipolítica y proteolítica en el páncreas de ratas mantenidas con una dieta similar.

El período cubierto por esta revisión fue relativamente escaso en lo que respecta a estudios sobre las relaciones entre la deficiencia proteica y los cambios endócrinos. Sin embargo, Gopalan (207) experimentando con monos alimentados con dietas cuyo contenido proteico era de 20% o de 3%, de nuevo ha contribuido a su serie de excelentes artículos sobre este mismo tema.

XI. LA DEFICIENCIA DE PROTEINAS EN EL HOMBRE

Durante el período que cubre este trabajo, se han publicado al menos 50 artículos que contribuyen al mejor entendimiento y a la solución del problema de la malnutrición proteica severa en los niños, condición que en la actualidad es conocida con el nombre

de Síndrome Pluricarencial de la Infancia (SPI), o kwashiorkor. La mayoría de los aspectos de este problema han sido objeto de revisión en una serie de artículos por Scrimshaw y colaboradores. Estos trabajos han tratado las características del síndrome (208) la respuesta a la terapia proteica (209) y la epidemiología y prevención de la enfermedad (210), información que también ha sido compilada en una monografía (211). Waterlow y Vergara (212) en una publicación sobre malnutrición proteica en el Brasil, y Gopalan y Ramalingaswami (213), en un trabajo de revisión sobre el kwashiorkor en la India, han proporcionado, asimismo, resúmenes muy bien documentados de los conocimientos recientes a este respecto. Un artículo por Waterlow y Scrimshaw (214) cubre ampliamente el acuerdo internacional sobre las características básicas del SPI y deja poco lugar a duda sobre el hecho de que estas características son esencialmente las mismas dondequiera que se presente el síndrome.

En estudios bioquímicos del hígado en casos de kwashiorkor, Waterlow (215) ha encontrado que, a pesar de la severidad de la infiltración de grasa y de la pérdida de proteínas del hígado, en el SPI, el grado de estos cambios no constituye una medida segura de la severidad del caso. Este autor también observó que la pérdida total de nitrógeno del músculo es mucho mayor que la del hígado. Waterlow y Weisz (216) han demostrado que la pérdida promedio de proteína hepática y de ácido ribonucleico es de 40 % en los casos estudiados en Jamaica, al calcular ésta con base en la presunción de que la cantidad de ácido deoxiribonucleico, por célula y por hígado, permanece constante aún durante el estado de malnutrición severa. Tanto Waterlow y Patrick (217) como Burch y colaboradores (218) han estudiado la actividad de varias enzimas en muestras de hígado obtenidas por biopsia en niños con SPI. La reductasa del citocromo C (217, 218), la oxidasa del citocromo (217), la dehidrogenasa del ácido láctico (217), la dehidrogenasa del ácido málico (217, 218), la dehidrogenasa del ácido succínico (218), la oxidasa del ácido

glicólico (218) y la transaminasa (217, 218) no se encontraron significativamente reducidas cuando se calcularon por unidad de proteína hepática. Sin embargo, se encontró que la oxidasa de la xantina y la oxidasa de los D-aminoácidos (218) se presentaban disminuidas en grado muy significativo, tanto por unidad de peso de hígado, como por unidad de proteína.

El informe de Bras, Waterlow y DePass (219) describe la patología del páncreas en "malnutridos", incluyendo lactantes y niños pequeños, así como en niños con marasmo. Tanto Waterlow y sus asociados (220) como Senecal y Dupin (221) hacen hincapié en la necesidad de distinguir entre el SPI y el marasmo ("inanición") y señalan que en este último el hígado no se presenta infiltrado de grasa. Senecal y Dupin (221) de nuevo destacan el hecho de que el hígado graso observado en el SPI ocurre como consecuencia de un exceso de calorías en relación con las proteínas, ya sea que, en términos absolutos, la ingesta de calorías totales sea alta o baja.

Badr-El-Din y Aboul-Wafa, en Egipto (222), confirman hallazgos previos de una marcada disminución o ausencia de la actividad de la tripsina y una reducción, aunque no tan grande, de la actividad de la amilasa en lactantes con SPI. La observación de estos autores de que la actividad de la tripsina también se encuentra disminuida en los casos de marasmo aparentemente contradice otro artículo reciente (223). Mehta, Venkatachalam y Gopalan (224) han demostrado que los niños afectados con el "síndrome de edema nutricional" (kwashiorkor, SPI) alimentados con dietas cuyo contenido de grasa era insignificante, excretaron más grasa, en las heces, de la que consumieron en la dieta.

Los hallazgos bioquímicos en el suero sanguíneo de casos de kwashiorkor que han sido resumidos en los artículos citados previamente (208, 211-213), incluyen cambios en los niveles de la proteína sérica; niveles reducidos de vitaminas liposolubles; actividad sérica disminuida de las enzimas colines-

terasa, lipasa, amilasa y fosfatasa alcalina y baja concentración sérica de colesterol y de lípidos totales. Ramanathan (225) llamó la atención hacia los valores reducidos de urea sanguínea, de nitrógeno no proteico, de colesterol total y de los ésteres del colesterol, así como del nitrógeno total, pero encontró que la globulina gama era elevada. Los cuadros electroforéticos de las proteínas séricas publicados por Bollo y Montero (226) en Chile, y por Senecal y colaboradores (227) en el Africa Occidental Francesa, están de acuerdo con los muchos estudios anteriores sobre la separación electroforética de las proteínas séricas en este síndrome, los que muestran la fracción albúmina reducida, tanto absoluta como relativamente, y las globulinas gama y alfa, relativamente aumentadas.

El grupo de Gómez y colaboradores (228-231) ha publicado recientemente cinco artículos sobre la composición intracelular y el mecanismo homeostático en niños lactantes afectados con malnutrición crónica severa. Valiéndose de análisis del suero sanguíneo, del músculo y de la piel estos autores encontraron que, independientemente de los aumentos y disminuciones en cuanto a su volumen, el fluido extracelular se encontraba hipotónico. El volumen del líquido intracelular se presentó aumentado, excepto en pacientes que fueron clasificados como casos de "atrofia" (marasmo). Entre otros cambios electrolíticos, se encontró que el contenido de K^+ del tejido muscular estaba reducido en mayor grado en los pacientes que presentaban edema. Desafortunadamente, los casos estudiados por esos autores presentaban proporciones relativas variables de marasmo y de SPI, y muchos de ellos tenían complicaciones secundarias. Politzer y Wayburne (232) han encontrado igualmente que no hay correlación entre el grado de edema y los valores de Na^+ o K^+ séricos, y que la severidad de la diarrea tampoco tiene correlación con el nivel de Na^+ en el suero. Los niveles de K^+ sérico se presentaron reducidos solamente en aquellos sujetos que sufrían de diarrea moderada a severa.

En cinco casos de kwashiorkor estudiados

por Ramachandran, Venkatachalam y Gopalan (233), la excreción urinaria en 24 horas, de 17-cetosteroides fue mucho más baja que la de 12 niños bien nutridos, pero los valores recobraron rápidamente sus niveles normales con la administración de una dieta de alto contenido de proteínas. Venkatachalam, Srikantia y Gopalan (234) midieron también el espacio de la urea y estudiaron el balance de nitrógeno durante la recuperación clínica de 8 adultos desnutridos, y encontraron que los cambios en peso corporal proporcionaban un cuadro engañoso del verdadero aumento en tejido durante el proceso de la recuperación, debido a variaciones en el contenido de agua en el cuerpo.

Cheung y colaboradores (235) han estudiado la excreción de aminoácidos en la orina de tres niños con kwashiorkor, usando cromatografía en columna. Los hallazgos más notorios fueron una relación isoleucina/leucina elevada debida a un aumento en la excreción de la isoleucina, y una relación fenilalanina/tirosina también alta debida a un aumento en la excreción de la fenilalanina. En dos de los pacientes se observó una excreción de treonina notablemente baja. Antes de que estos resultados puedan ser generalizados, se hace necesario el estudio de nuevos casos, bajo condiciones más estandarizadas. Garrow (236) encontró que la fijación de S^{35} se presentaba aumentada en dos niños jamaiqueños con marasmo y en otro con kwashiorkor atípico y no severo. A pesar de que estos resultados son demasiado preliminares como para que de ellos se puedan derivar conclusiones definitivas, este autor experimentando con perros a los que les hizo perder 0, 17,7, 21,1 y 37% de sus proteínas corporales, demostró que estos animales incorporaban cantidades progresivamente mayores de la dosis de prueba de S^{35} a medida que la pérdida proteica era mayor.

Close (237) ha encontrado que la composición de aminoácidos del pelo de niños africanos con kwashiorkor tiene un bajo contenido de cistina. Sin embargo, el caso de un niño centroamericano con kwashiorkor, estu-

diado por este mismo autor, no presentó esta reducción. Jones y Dean (238) han descrito un severo retardo en la maduración de los huesos de la mano en casos de kwashiorkor, encontrando también descalcificación y muchas líneas transversales que indican trastornos pasados en el crecimiento.

Los trabajos de Brock y su grupo en Africa del Sur han contribuído grandemente a resolver las dudas sobre la importancia primordial que la deficiencia proteica tiene en la producción de las características básicas del kwashiorkor. Después de haber demostrado que la "iniciación de la curación" se puede lograr no sólo con leche descremada sino también usando caseína libre de vitaminas con el agregado de agua, glucosa y sales (239), se iniciaron estudios sobre la efectividad de combinaciones de aminoácidos sintéticos para este propósito. Hansen, Howe y Brock (240) informaron que la cura también se podía iniciar administrando una mezcla de 18 aminoácidos sintéticos en proporciones tales que simulaban la caseína, más glucosa, agua y sales, con o sin mezclas de vitaminas. Notificaron, asimismo, que también era posible lograr la "iniciación de la curación", aunque menos satisfactoriamente, con una mezcla de aminoácidos. Al presente no hay razón para dudar de que las fórmulas elaboradas a base de proteínas vegetales, tan satisfactorias como la leche para el tratamiento del kwashiorkor, pueden ser desarrolladas y producidas (58, 241-243). Close (244), en el Congo Belga, ha estudiado la leche de dos mujeres cuyos hijos desarrollaron kwashiorkor cuando aún estaban siendo amamantados y llegó a la conclusión de que la leche de estas madres, aun cuando insuficiente en cantidad, no era diferente en su composición de aminoácidos de la de otras madres africanas.

Los estudios de balance metabólico llevados a cabo en niños con kwashiorkor a su ingreso al hospital, así como los realizados a intervalos durante el período de su tratamiento han contribuído también al mejor conocimiento de la naturaleza del síndrome. Senecal y colaboradores (245) y Robinson y

colaboradores (246) han encontrado que la absorción intestinal de niños afectados con kwashiorkor que recibían diferentes cantidades de proteínas de leche era buena, y que el porcentaje de retención permanecía elevado durante varias semanas, a pesar de las altas ingestas proteicas. Gómez y colaboradores (247) también han observado balances marcadamente positivos, a través del tratamiento y del período de recuperación, administrando *ad libitum* dietas preparadas a base de leche, de frijoles negros y de tortillas de maíz. En un estudio sobre el efecto de la suplementación de la leche con lisina, Gómez y colaboradores (248) no hicieron hincapié sobre la diferencia en respuesta observada en tres niños con edema (aparentemente casos de kwashiorkor) y en dos sin edema (al parecer casos de marasmo). En los casos edematosos la retención de nitrógeno se presentó elevada al principio, decreciendo gradualmente conforme se corregían las reservas insuficientes de nitrógeno, sin que se observara ningún aumento en la retención de nitrógeno al suplementar la dieta con lisina. En los niños sin edema, la retención inicial fue baja, hecho que indica que las reservas relativas de nitrógeno no habían sufrido una depleción muy marcada, pero aumentaban gradualmente a medida que la muy reducida masa muscular comenzaba a regenerarse. Por esta razón, no se justifica ninguna conclusión en estos últimos casos en cuanto al efecto del aumento gradual de los suplementos de lisina.

La necesidad urgente de distinguir entre las dos condiciones, kwashiorkor y marasmo, ha sido destacada por Matsaniotis (223) quien encontró que no había diferencia ni en la velocidad de absorción de los aminoácidos ni en la actividad proteolítica intestinal de 12 niños "desnutridos", en comparación con 15 niños bien nutridos. A juicio del autor, estos resultados eran de esperarse ya que los niños desnutridos "a pesar de que presentan una reducción crónica de sus reservas de proteínas, no sufren de depleción proteica aguda". Las diferencias entre el marasmo y

el kwashiorkor también han sido comentadas por Béhar y colaboradores (249).

McCarthy (250) cree que la predominancia de alimentos a base de almidón y, por consiguiente, el bajo contenido de proteínas de las dietas de los habitantes de Polinesia, son los factores responsables del porcentaje relativamente alto de aumento en el tamaño del hígado de los niños y de la presencia de cirrosis en las personas adultas. Fierro del Río y colaboradores (251) demostraron que, en pacientes con malnutrición severa, la infusión de un litro de NaCl al 0,9 % causaba una marcada disminución en las proteínas totales circulantes debido a una reducción en todas las fracciones, mientras que los sujetos bien nutridos presentaban un aumento en todas las fracciones exceptuando la globulina gama. Un artículo por Aschkenasy (252) contiene una revisión completa de los trastornos de la sangre que se asocian con la deficiencia proteica.

XII. ESTUDIOS DE DEFICIENCIAS ESPECIFICAS DE AMINOACIDOS

Además de los muchos estudios llevados a cabo sobre las consecuencias de la deficiencia proteica, mencionados en la sección previa, últimamente se ha publicado un número considerable de artículos relacionados con los efectos de la falta de aminoácidos individuales. Vohra y Kratzer han demostrado que la deficiencia de lisina, en las ratas, produce un pelo más claro y más fino en textura que el pelo normal (253), así como despigmentación de las plumas en los pavos pequeños (254). Klain y colaboradores (255) han confirmado estos hallazgos experimentando con pollos de cuatro razas diferentes. Al parecer, la deficiencia de lisina también tiene por resultado una disminución del depósito de calcio⁴⁵ en el esqueleto debido, al menos en parte, a un retardo en el crecimiento óseo (256).

En ratas alimentadas con dietas que contenían lisina en tres distintos niveles (0,25, 0,50 y 1,00 %), cuya ingesta fue controlada a manera que todos los grupos consumieran la misma cantidad de alimento, se observó una

actividad más reducida de la oxidasa de la xantina cuando el nivel de la lisina de la dieta era de 0,25 %. En el grupo alimentado con la dieta que contenía 0,50 % de lisina, proporcionalmente hubo más síntesis de esta enzima que de las proteínas hepáticas (257). Van Pilsum, Speyer y Samuels (258), administrando dietas tanto *ad libitum* como forzadas, investigaron el efecto de las dietas deficientes en triptofano, en isoleucina, o en fenilalanina, sobre la actividad de varias enzimas de los tejidos de las ratas. La ausencia de cualquiera de estos aminoácidos produjo una reducción de la arginasa y de la aconitasa del hígado, así como de la oxidasa de los D-aminoácidos del riñón, paralelas a la pérdida proteica de dichos órganos, mientras que la catalasa y la oxidasa de la xantina disminuyeron independientemente de la pérdida de proteínas totales del hígado.

En el quinto artículo de una serie de estudios sobre la histopatología de las deficiencias específicas de aminoácidos, Scott (259), se refiere al efecto que tiene la falta total de isoleucina en la dieta de las ratas. Las alteraciones múltiples observadas en la hipófisis, en los testículos y en las glándulas sexuales secundarias fueron muy similares a las observadas previamente como consecuencia de una deficiencia de treonina, de histidina, de fenilalanina y de triptofano. Al parecer, estos cambios representan la interferencia de la deficiencia de un aminoácido específico con el metabolismo proteico en general, más bien que efectos específicos atribuibles a la falta del aminoácido en sí.

La necrosis hepática se puede producir fácilmente en las ratas, alimentándolas con una dieta que contenga ya sea levadura de tórula o levadura de cerveza administradas a un nivel de 9 %, pero esta alteración hepática se puede prevenir agregando a la dieta 0,5 % de DL-metionina o de L-cistina (260). Un hecho muy interesante es la observación de que un tercio de levadura de cerveza y dos tercios de levadura de tórula, dados juntos a un nivel del 18 % de proteínas, no produjo este efecto, sino, por el contrario, tuvo como resultado un proceso de regeneración

completa de las proteínas del hígado. De nuevo, esto parece indicar que la administración de cantidades suficientes de una proteína de bajo valor biológico hace desaparecer, bajo ciertas condiciones, el efecto de la deficiencia específica de un aminoácido, deficiencia que se hace aparente solamente a niveles más bajos de ingesta proteica total.

Hallanger y Schultze (261) han demostrado que las ratas pueden desarrollar un hígado graso severo en el período de la lactancia cuando se alimentan con una mezcla de aminoácidos que se supone es completa y que simula la caseína de la dieta, proteína que sí es adecuada para el crecimiento. Esto representa otra indicación de la posibilidad de que una ración puede ser adecuada para el crecimiento y para el mantenimiento, pero

inadecuada para prevenir cambios patológicos en los tejidos bajo condiciones de "stress". Harper y Benton (262) encontraron infiltración grasa en el hígado de ratas en un grado más severo cuando éstas eran alimentadas con una dieta que contenía 9% de caseína y 12% de gelatina, que cuando la dieta tenía 18% o más de caseína solamente. Al parecer, esto se debió al bajo contenido de treonina y al alto contenido de arginina y de glicina de la gelatina. Arata y colaboradores (263) llegan a la conclusión de que el hígado graso resultante de una deficiencia parcial de treonina en las ratas se debe, tanto a un defecto en la producción de DPN, como a alteraciones en su metabolismo endógeno en el hígado.

REFERENCIAS

- (1) Waterlow, J. C., y Stephen, J. M. L.: Actas de la Conferencia celebrada en Princeton, Nueva Jersey, 1955. Patrocinada conjuntamente por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, la Organización Mundial de la Salud y la Fundación Josiah Macy Jr. de Nueva York, 1957
- (2) F.A.O. Nutritional Studies: Food and Agriculture Organization. U. N. Nutrition Meeting Rept., Ser. No. 16, Roma, Italia, 1955
- (3) Rose, W. C., y Wixom, R. L.: *Jour. Biol. Chem.*, 217:997-1004, 1955
- (4) Rose, W. C.: *Nutrition Abstracts and Reviews*, 27:631-647, 1957
- (5) Scoular, F. I.; Davis, A. N.; Pace, J. K.; Rankin, A. B., y Boshart, G. J.: *Jour. Nutrition*, 61:297-306, 1957
- (6) Barness, L. A.; Baker, D.; Guilbert, P.; Torres, F. E., y György, P.: *Jour. Pediat.*, 51:29-39, 1957
- (7) Murthy, H. B. N.; Reddy, S. K.; Swaminathan, M., y Subrahmanyam, V.: *Brit. Jour. Nutrition*, 9:203-209, 1955
- (8) Sur, G.; Reddy, S. K.; Swaminathan, M., y Subrahmanyam, V.: *Brit. Jour. Nutrition*, 9:210-215, 1955
- (9) Subrahmanyam, V.; Narayanarao, M.; Ramarao, G., y Swaminathan, M.: *Brit. Jour. Nutrition*, 9:350-357, 1955
- (10) Calloway, D. H., y Spector, H.: *Jour. Nutrition*, 57:73-88, 1955
- (11) Sibbald, I. R.; Berg, R. T., y Bowland, J. P.: *Jour. Nutrition*, 59:385-392, 1956
- (12) Rosenthal, H. L., y Allison, J. B.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 4:792-796, 1956
- (13) Sibbald, I. R.; Bowland, J. P.; Robblee, A. R., y Berg, R. T.: *Jour. Nutrition*, 61:71-85, 1957
- (14) Fenton, P. F., y Marsh, J. M.: *Jour. Nutrition*, 60:465-472, 1956
- (15) Sunde, M. L.: *Poultry Science*, 35:350-354, 1956
- (16) Donaldson, W. E.; Combs, G. F., y Romoser, G. L.: *Poultry Science*, 35:1100-1105, 1956
- (17) Sibbald, I. R.; Bowland, J. P.; Robblee, A. R., y Berg, R. T.: *Jour. Nutrition*, 62:185-200, 1957
- (18) Sibbald, I. R.; Bowland, J. P.; Berg, R. T., y Robblee, A. R.: *Jour. Nutrition*, 62:171-183, 1957
- (19) Cohn, C., y Joseph, D.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 93:462-466, 1956
- (20) Schreiber, M., y Elvehjem, C. A.: *Jour. Nutrition*, 57:133-145, 1955
- (21) Ontko, J. A.; Wuthier, R. E., y Phillips, P. H.: *Jour. Nutrition*, 62:163-169, 1957
- (22) Metta, V. C., y Mitchell, H. H.: *Jour. Nutrition*, 59:501-513, 1956
- (23) Heinicke, H. R.; Harper, A. E., y Elvehjem, C. A.: *Jour. Nutrition*, 57:483-496, 1955
- (24) Womack, M., y Marshall, M. W.: *Jour. Nutrition*, 57:193-202, 1955
- (25) Cornely, D. A.; Barness, L. A., y György, P.: *Jour. Pediatrics*, 51:40-45, 1957
- (26) Yoshida, M., y Morimoto, H.: *Jour. Nutrition*, 57:565-577, 1955
- (27) Harper, A. E., y Elvehjem, C. A.: *Jour.*

- Agricultural and Food Chemistry*, 5:754-758, 1957
- (28) Rose, W. C., y Dekker, E. E.: *Jour. Biol. Chem.*, 223:107-121, 1956
- (29) Matsumoto, T.: *Jour. Agr. Research*, 6:127-131, 1955
- (30) Holt, L. E., Jr., y Snyderman, S. E.: *En "Some Aspects of Amino Acid Supplementation"*, Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey, E.U.A., p. 60-68, 1956
- (31) Finlayson, J. S., y Baumann, C. A.: *Jour. Nutrition*, 59:211-221, 1956
- (32) Lowe, C. U., y Pessin, V.: *Pediatrics*, 19:694-700, 1957
- (33) Allison, J. B., y Wannemacher, R. W., Jr.: *En "Amino Acid Malnutrition"*, Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey, E.U.A., p. 1-13, 1957
- (34) Meyer, J. H.: *Jour. Nutrition*, 58:407-413, 1956
- (35) Bender, A. E.: *Brit. Jour. Nutrition*, 10:135-143, 1956
- (36) Bender, A. E., y Doell, B. H.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:140-148, 1957
- (37) Miller, D. S., y Bender, A. E.: *Brit. Jour. Nutrition*, 9:382-388, 1955
- (38) Bender, A. E., y Doell, B. H.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:138-139, 1957
- (39) Dreyer, J. J.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:22-27, 1957
- (40) Beaty, A.; Conlan, F. J.; McMinn, S., y Weisberg, S. M., *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 5:541-544, 1957
- (41) Peo, E. R., Jr.; Hays, V. W.; Ashton, G. C.; Speer, V. C.; Liu, C. H., y Catron, D. V.: *Jour. Nutrition*, 62:465-474, 1957
- (42) Peo, E. R., Jr.; Hays, V. W.; Ashton, G. C.; Speer, V. C.; Liu, C. H., y Catron, D. V.: *Jour. Nutrition*, 62:475-488, 1957
- (43) Meade, R. J.: *Jour. Nutrition*, 60:599-608, 1956
- (44) Meade, R. J., y Teter, W. S.: *Jour. Nutrition*, 60:609-618, 1956
- (45) DeMaeyer, E. M., y Vanderborcht, H.: *Folia Scientifica Africae Centralis (Africa)*, 3:16, 1957
- (46) Sure, B.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 5:463-464, 1957
- (47) Allison, J. B.: *En "Some Aspects of Amino Acid Supplementation"*, Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey, E.U.A., p. 69-85, 1956
- (48) Vijayaraghavan, P. K.: *Indian Jour. Medical Research*, 43:569-574, 1955
- (49) Perdue, S.; Lambert, G. F., y Frost, D. V.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 94:549-552, 1957
- (50) Sheffner, A. L.; Eckfeldt, G. A., y Spector, H.: *Jour. Nutrition*, 60:105-120, 1956
- (51) Sheffner, A. L.; Adachi, R., y Spector, H.: *Jour. Nutrition*, 60:507-516, 1956
- (52) Mertz, E. T.; Rennert, S. S., y Cole, E. W.: *Jour. Nutrition*, 56: 437-446, 1955
- (53) Fernell, W. R., y Rosen, G. D.: *Brit. Jour. Nutrition*, 10:143-156, 1956
- (54) Rosen, G. C., y Fernell, W. R.: *Brit. Jour. Nutrition*, 10:156-169, 1956
- (55) Teeri, A. E.; Virchow, W., y Loughlin, M. E.: *Jour. Nutrition*, 59:587-593, 1956
- (56) Flodin, N. W.: *Metabolism*, 6:350-364, 1957
- (57) Albanese, A. A.; Higgons, R. A.; Hyde, G. M., y Orto, L.: *Am. Jour. Clin. Nutrition*, 4:161-168, 1956
- (58) Scrimshaw, N. S.; Squibb, R. L.; Bressani, R.; Béhar, M.; Viteri, F., y Arroyave, G.: *En "Amino Acid Malnutrition"*, Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey, E.U.A., p. 28-46, 1957. *Suplemento No. 3 del Boletín de la OSP*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 86, 1959.
- (59) Raica, N.; Heimann, J., y Kemmerer, A. R.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 4:704-707, 1956
- (60) Flodin, N. W.: *Cereal Science Today*, 1:165-170, 1956
- (61) Wertz, A. W.; Ruttenberg, P. K.; French, G. P.; Murphy, G. H., y Guild, L. P.: *Jour. Am. Dietet. Assoc.*, 32:926-928, 1956
- (62) Edwards, C. H.; Carter, L. P., y Outland, C. E.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 3:952-957, 1955
- (63) Murphy, D. M.; Kline, B. E.; Robbins, R. N.; Teply, L. J., y Derse, P. H.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 5:608-610, 1957
- (64) Baptist, N. G., y Perera, B. P. M.: *Brit. Jour. Nutrition*, 10:334-337, 1956
- (65) Adrian, J., y Sayerse, C.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:99-105, 1957
- (66) Chatterjee, K. P.; Ray, A.; y Banerjee, S.: *Food Research*, 21:569-570, 1956
- (67) Khan, N. A., y Baker, B. E.: *Jour. Sci. Food and Agr.*, 8:301-305, 1957
- (68) Jelliffe, D. B.; Arroyave, G.; Aguirre, F.; Aguirre, A., y Scrimshaw, N. S.: *Jour. Trop. Med. and Hyg.*, 59:216-217, 1956. *Suplemento No. 3 del Boletín de la OSP*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 197, 1959.
- (69) Majumder, S. G.; Dutta, R. N., y Ganguli, N. C.: *Food Research*, 21:477-480, 1956
- (70) Ramachandran, M., y Phansalkar, S. V.: *Indian Jour. Med. Res.*: 44:501-509, 1956
- (71) Krober, O. L.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 4:254-259, 1956

- (72) Tandon, O. B.; Bressani, R.; Scrimshaw, N. S., y LeBeau, F.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 5:137-142, 1957. *Suplemento No. 3 del Boletín de la OSP*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 185, 1959.
- (73) Gunthardt, H., y McGinnis, J.: *Jour. Nutrition*, 61:167-176, 1957
- (74) Jaffé, W. G.; Nolberga; B., Embden; C.; García, C.; Olivares, S., y Gross, M.: *Archivos Venezolanos de Nutrición*, 7:163-166, 1957
- (75) Lahiry, N. L., y Proctor, B. E.: *Food Research*, 21:87-90, 1956
- (76) Proctor, B. E., y Lahiry, N. L.: *Food Research*, 21:91-92, 1956
- (77) Eastoe, J. E.: *Biochem. Jour.*, 65:363-368, 1957
- (78) Mojonner, M. L.; Hedrick, L. R., y Porter, T.: *Jour. Nutrition*, 67:579-591, 1955
- (79) Almon, L.; Kilgore, L., y Gieger, M.: *Jour. Am. Dietet. Assoc.*, 33:481-484, 1957
- (80) Deshpande, P. D.; Harper, A. E.; Collins, M., y Elvehjem, C. A.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 67:341-349, 1957
- (81) Gupta, J. D., y Elvehjem, C. A.: *Jour. Nutrition*, 62:313-324, 1957
- (82) Stevens, C. O., y Henderson, L. M.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 93:445-447, 1956
- (83) Kratzer, F. H., y Green, N.: *Poultry Science*, 36:562-565, 1957
- (84) Mouron, J.; Mottu, F.; Bujard, E., y Egli, R. H.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 59:433-451, 1955
- (85) Sabiston, A. R., y Kennedy, B. M.: *Cereal Chem.*, 34:94-110, 1957
- (86) Strømnaes, A. S., y Kennedy, B. M.: *Cereal Chem.*, 34:196-200, 1957
- (87) Hepburn, F. N.; Lewis, E. W., Jr., y Elvehjem, C. A.: *Cereal Chem.*, 34:312-322, 1957
- (88) Bender, A. E., y Haizelden, S.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:42-43, 1957
- (89) Almquist, H. J.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 4:638-639, 1956
- (90) Windmueller, H. G.; Ackerman, C. J.; y Engel, R. W.: *Jour. Nutrition*, 60:527-537, 1956
- (91) Hunter, I. R.; Ferrel, R. E., y Houston, D. F.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 4:874-875, 1956
- (92) Johnson, B. C., y Metta, V. C.: *Federation Proc.*, 15:907-909, 1956
- (93) Metta, C. V.; Norton, H. W., y Johnson, B. C.: *Jour. Nutrition*, 63:143-154, 1957
- (94) Subrahmanyam, V.; Patwardhan, V. N., y Moorjani, M. N.: *Indian Council of Medical Research*, Special Report Series No. 31, Nueva Delhi, 1955.
- (95) Holemans, K.; Lambrechts, A., y Martin, H.: *Mémoires Academie Royale Sciences Coloniales*, (Classe des Sciences Naturelles et Médicales, Mém.) Tome IV, fasc. 6, 1956
- (96) Tongur, V. S., y Orlova, L. V.: *Voprosy Pitaniia* (Moscú), 15:25-30, 1956
- (97) Ladell, W. S. S., y Phillips, P. G.: *West African Council for Medical Research Report*. 1957. En prensa
- (98) Desikachar, H. S. R.; Sankaran, A. N., y Subrahmanyam, V.: *Indian Jour. Medical Research*, 44:741-748, 1956
- (99) Phansalkar, S. V., y Patwardhan, V. N.: *Indian Jour. Medical Research*, 44:1-10, 1956
- (100) Kamath, S. H., y Sohoni, K.: *Jour. Scientific and Industrial Research*, 15C:121-123, 1956
- (101) Hundley, J. M.; Ing, R. B., y Krauss, R. W.: *Science*, 124:536-537, 1956
- (102) Quirós-Pérez, F., y Elvehjem, C. A.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 5:538-541, 1957
- (103) Sure, B.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 3:793-795, 1955
- (104) Costamailere, L., y Ballester, D.: *Archivos Venezolanos de Nutrición*, 7:37-45, 1956
- (105) Cravioto, R. O.; Guzmán, J.; Cravioto, O. Y.; Suárez, Ma. de la L., y Massieu, G.: *Ciencia (México)*, 15:83-88, 1955
- (106) Sure, B.: *Jour. Nutrition*, 61:547-554, 1957
- (107) Carpenter, K. J.; Ellinger, G. M.; Munro, M. I., y Rolfe, E. J.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:162-173, 1957
- (108) Mangay, A. S.; Pearson, W. N., y Darby, W. J.: *Jour. Nutrition*, 62:377-393, 1957
- (109) Hogan, A. G.; Gillespie, G. T.; Koçtürk, O.; O'Dell, B. L., y Flynn, L. M.: *Jour. Nutrition*, 57:225-239, 1955
- (110) Mosqueda-Suárez, A.: *Archivos Venezolanos de Nutrición*, 6:185-193, 1955
- (111) Hutchinson, J. B.; Moran, T., y Pace, J.: *Nature*, 178:46-47, 1956
- (112) Hutchinson, J. B.; Moran, T., y Pace, J.: *Proc. Roy. Soc. (Londres) (B)* 145:270-279, 1956
- (113) Sure, B.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 5:373-375, 1957
- (114) Deshpande, P. D.; Harper, A. E., y Elvehjem, C. A.: *Jour. Nutrition*, 62:503-512, 1957
- (115) Rosenberg, H. R.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 5:694-700, 1957
- (116) Westerman, B. D.; Hays, B., y Schoneweis, B.: *Jour. Nutrition*, 61:137-148, 1957
- (117) Westerman, B. D.; Kannarr, J., y Rohrbough, M.: *Jour. Nutrition*, 62:151-162, 1957

- (118) Jahnke, J. K., y Schuck, C.: *Jour. Nutrition*, 61:307-316, 1957
- (119) Sarett, H. P.: *Jour. Nutrition*, 60:129-135, 1956
- (120) Cowlshaw, S. J.; Eyles, D. E.; Raymond, W. F., y Tilley, J. M. A.: *Jour. Science of Food and Agriculture*, 7:768-774, 1956
- (121) Cowlshaw, S. J.; Eyles, D. E.; Raymond, W. F., y Tilley, J. M. A.: *Jour. Science of Food and Agriculture*, 7:775-780, 1956
- (122) Kik, M. C.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 4:170-172, 1956
- (123) Kik, M. C.: *Jour. Am. Dietet. Assoc.*, 32:647-650, 1956
- (124) Sure, B.: *Jour. Agricultural and Food Chemistry*, 3:789-792, 1955
- (125) Block, R. J.; Anderson, D. W.; Howard, H. W., y Bower, C. D.: *Am. Jour. Diseases Children*, 92:126-130, 1956
- (126) Sure, B.: *Jour. Am. Dietet. Assoc.*, 31:1232-1234, 1955
- (127) Hundley, J. M.; Sandstead, H. R.; Sampson, G., y Whedon, D.: *Am. Jour. Clinical Nutrition*, 5:316-326, 1957
- (128) Deshpande, P. D.; Harper, A. E.; Quirós-Pérez, F., y Elvehjem, C. A.: *Jour. Nutrition*, 57:415-428, 1955
- (129) Elvehjem, C. A.: *Jour. Am. Dietet. Assoc.*, 32:921-925, 1956
- (130) Leverton, R. M.; Gram, M. R.; Chaloupka, M.; Brodovsky, E., y Mitchell, A.: *Jour. Nutrition*, 58:59-81, 1956
- (131) Leverton, R. M.; Gram, M. R.; Brodovsky, E.; Chaloupka, M.; Mitchell, A., y Johnson, N.: *Jour. Nutrition*, 58:83-93, 1956
- (132) Leverton, R. M.; Johnson, N.; Pazur, J., y Ellison, J.: *Jour. Nutrition*, 58:219-229, 1956
- (133) Leverton, R. M.; Ellison, J.; Johnson, N.; Pazur, J.; Schmidt, F.; y Geschwender, D.: *Jour. Nutrition*, 58:355-365, 1956
- (134) Leverton, R. M.; Johnson, N.; Ellison, J.; Geschwender, D., y Schmidt, F.: *Jour. Nutrition*, 58:341-353, 1956
- (135) Swendseid, M. E.; Williams, I., y Dunn, M. S.: *Jour. Nutrition*, 58:495-505, 1956
- (136) Swendseid, M. E., y Dunn, M. S.: *Jour. Nutrition*, 58:507-517, 1956
- (137) Jones, E. M.; Baumann, C. A., y Reynolds, M. S.: *Jour. Nutrition*, 60:549-562, 1956
- (138) Nasset, E. S.: *Jour. Nutrition*, 61:555-569, 1957
- (139) Clark, H. E.; Mertz, E. T.; Kwong, E. H.; Howe, J. M., y DeLong, D. C.: *Jour. Nutrition*, 62:71-82, 1957
- (140) Schultze, M. O.: *Jour. Nutrition*, 60:35-45, 1956
- (141) Allison, J. B.; Wannemacher, R. W., Jr.; Hilf, R., y Hetzel, C. A.: *Jour. Nutrition*, 59:27-38, 1956
- (142) Snyderman, S. E.; Holt, L. E., Jr.; Norton, P.; Fowler, D. I., y Hasselmeyer, E.: *Federation Proc.*, 15:573, 1956
- (143) Forbes, R. M.; Vaughan, L., y Norton, H. W.: *Jour. Nutrition*, 57:593-598, 1955
- (144) Moore, T. B., y Wilson, J. E.: *Jour. Nutrition*, 62:357-365, 1957
- (145) Hartsook, E. W., y Mitchell, H. H.: *Jour. Nutrition*, 60:173-195, 1956
- (146) Womack, M.; Snyder, B. B., y Rose, W. C.: *Jour. Biol. Chem.*, 224:793-802, 1957
- (147) Heinicke, H. R.; Harper, A. E., y Elvehjem, C. A.: *Jour. Nutrition*, 58:269-280, 1956
- (148) Baldini, J. T., y Rosenberg, H. R.: *Poultry Science*, 34:1301-1307, 1955
- (149) Griminger, P.; Scott, H. M., y Forbes, R. M.: *Jour. Nutrition*, 62:61-69, 1957
- (150) Williams, A., y Grau, C. R.: *Jour. Nutrition*, 59:243-254, 1956
- (151) Rosenberg, H. R., y Baldini, J. T.: *Poultry Science*, 36:247-252, 1957
- (152) Griminger, P.; Scott, H. M., y Forbes, R. M.: *Jour. Nutrition*, 59:67-76, 1956
- (153) Fisher, H.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 60:108-114, 1956
- (154) Fisher, H.; Johnson, D., Jr., y Leveille, G. A.: *Jour. Nutrition*, 62:349-355, 1957
- (155) Horwitt, M. K.; Harvey, C. C.; Rothwell, W. S.; Cutler, J. L., y Haffron, D.: *Jour. Nutrition*, 60, Supl. No. 1, 43 págs, 1956
- (156) Fisher, H.; Scott, H. M., y Johnson, B. C.: *British Jour. Nutrition*, 9:340-349, 1955
- (157) Firth, J., y Connor Johnson, B.: *Jour. Nutrition*, 59:223-234, 1956
- (158) Banerjee, S., y Basak, R.: *Jour. Nutrition*, 61:395-403, 1957
- (159) Lichstein, H. C.: *Jour. Biol. Chem.*, 219:27-32, 1956
- (160) Marquez, L. R.; Cheslock, K. E., y Reynolds, M. S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 90:352-355, 1955
- (161) Ross, M. L., y Pike, R. L.: *Jour. Nutrition*, 58:251-268, 1956
- (162) Wagle, S. R., y Johnson, C.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 70:619-620, 1957
- (163) Henry, K. M., y Kon, S. K.: *Brit. Jour. Nutrition*, 10:39-50, 1956
- (164) Mulgaonkar, A. G., y Sreenivasan, A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 94:44, 1957
- (165) Mackay, I. F. S.; Patrick, S. J.; Stanford, D., y Cleveland, F. S.: *Jour. Nutrition*, 59:155-170, 1956
- (166) Someswara Rao, K.; Ramanathan, M. K.; Taskar, A. D., y Phansalkar, S. V.: *Indian Jour. Medical Research*, 43:277-283, 1955
- (167) McDonald, M. W.: *Australian Jour. Agr. Research*, 8:318-324, 1957

- (168) Kaunitz, H.; Slanetz, C. A., y Johnson, R. E.: *Science*, 122:1017-1018, 1955
- (169) Bonomo, A., y Bifano, V.: *Bol. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 31:1113-1115, 1955
- (170) Smith, L. C., y Nelson, S. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 94:644-646, 1957
- (171) Frazier, L. E.; Hughes, R. H., y Cannon, P. R.: *Am. Jour. Clin. Nut.*, 4:655, 1956
- (172) Wasserman, R. H.; Comar, C. L.; Schooley, J. C., y Lengemann, F. W.: *Jour. Nutrition*, 62:367-376, 1957
- (173) Wasserman, R. H.; Comar, C. L., y Nold, M. M.: *Jour. Nutrition*, 59:371-383, 1956
- (174) Roth, J. S., y Milstein, S. W.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 70:392-400, 1957
- (175) Cofer, E. S.; Porter, T., y Davis, M. E.: *Jour. Nutrition*, 61:357-371, 1957
- (176) Kyle, L. H., y Hess, W. C.: *Jour. Lab. Clin. Med.* 47:278-283, 1956
- (177) Moyer, A. W.; Kritchevsky, D.; Logan, J. B., y Cox, H. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 92:736-737, 1956
- (178) Jones, R. J., y Huffman, S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 93:519, 1956
- (179) Okey, R., y Lyman, M. M.: *Jour. Nutrition*, 58:471-482, 1956
- (180) Okey, R., y Lyman, M. M.: *Jour. Nutrition*, 61:103-126, 1957
- (181) Keys, A., y Anderson, J. T.: *Am. Jour. Clin. Nutrition*, 5:29-34, 1957
- (182) Elvehjem, C. A.: *Federation Proc.*, 15:965-970, 1956
- (183) Elvehjem, C. A.: *Jour. Am. Dietet. Assoc.*, 32:305-308, 1956
- (184) Elvehjem, C. A.: *En "Some Aspects of Amino Acid Supplementation"*, Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey, E.U.A., p. 22-30, 1956
- (185) Benton, D. A.; Harper, A. E.; Spivey, H. E., y Elvehjem, C. A.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 60:147-155, 1956
- (186) Benton, D. A.; Harper, A. E.; Spivey, H. E., y Elvehjem, C. A.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 60:156-163, 1956
- (187) Rerat, A.; Bouffault, J. C., y Jacquot, R.: *Compte Rendus Hebdomadaires des Seances de L'Académie des Sciences (Francia)*, 243:192-194, 1956
- (188) Wu, H. C., y Lewis, H. B.: *Jour. Nutrition*, 60:437-446, 1956
- (189) Sauberlich, H. E.: *Jour. Nutrition*, 59:353-370, 1956
- (190) Gessert, C. F., y Phillips, P. H.: *Jour. Nutrition*, 58:423-431, 1956
- (191) Fremont-Smith, K., e Iber, F. L.: *Jour. Clin. Invest.*, 35:705, 1956
- (192) Sharp, G. S.; Lassen, S.; Shankman, S.; Gebhart, A. F., Jr., y Hazlet, J. W.: *Jour. Nutrition*, 58:443-457, 1956
- (193) Sharp, G. S.; Lassen, S.; Shankman, S.; Hazlet, J. W., y Kendis, M. S.: *Jour. Nutrition*, 63:155-162, 1957
- (194) Stanier, M. W.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:206-212, 1957
- (195) Widdowson, E. M., y McCance, R. A.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:198-206, 1957
- (196) Iacobellis, M.; Muntwyler, E., y Dodgen, C. L.: *Am. Jour. Physiol.*, 185:275-278, 1956
- (197) Hahn, P. F.; Baugh, P., y Meng, H. C.: *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.*, 93:448-450, 1956
- (198) Mannino, N., y Schiraldi, O.: *Bolletino dell' Istituto Sieroterapico, Milanese (Italia)*, 35:479-488, 1956
- (199) La Via, M. F.; Barker, P. A., y Wissler, R. W.: *Jour. Lab. Clin. Med.*, 48:237-254, 1956
- (200) Ratcliffe, H. L., y Merrick, J. V.: *Am. Jour. Clin. Pathol.*, 33:107-129, 1957
- (201) Srinivasan, P. R., y Patwardhan, V. N.: *Indian Jour. Medical Research*, 43:1-13, 1955
- (202) Mangoni, A.; Pennetti, V., y Spadoni, M. A.: *Bolletino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, 31:1397-1399, 1955
- (203) Ross, M. H., y Batt, W. G.: *Jour. Nutrition*, 60:137-144, 1956
- (204) Ross, M. H., y Batt, W. G.: *Jour. Nutrition*, 61:39-49, 1957
- (205) Magee, D. F., y Hong, S. S.: *Am. Jour. Physiol.*, 184:449-452, 1956
- (206) Magee, D. F., y Anderson, E. G.: *Am. Jour. Physiol.*, 181:79-82, 1955
- (207) Gopalan, C.: *Indian Jour. Medical Science*, 10:370-374, 1956
- (208) Scrimshaw, N. S.; Béhar, M.; Arroyave, G.; Viteri, F., y Tejada, C.: *Federation Proc.*, 15:977-985, 1956. *Bol. Of. San. Pan.*, 41:274-286, 1956
- (209) Scrimshaw, N. S.; Béhar, M.; Arroyave, G.; Tejada, C., y Viteri, F.: *Jour. Am. Med. Assoc.*, 164:555-561, 1957. *Bol. Of. San. Pan.*, 44:513-523, 1958
- (210) Scrimshaw, N. S.; Béhar, M.; Viteri, F.; Arroyave, G., y Tejada, C.: *Am. Jour. Public Health*, 47:53-62, 1957. *Bol. Of. San. Pan.*, 42:317-327, 1957
- (211) Béhar, M.; Arroyave, G.; Tejada, C.; Viteri, F., y Scrimshaw, N. S.: *Revista del Colegio Médico de Guatemala*, 7:221-278, 1956
- (212) Waterlow, J. C., y Vergara, A.: *Protein Malnutrition in Brazil, FAO Nutritional Studies No. 14*, Roma, Italia, 39 págs, 1956
- (213) Gopalan, C., y Ramalingaswami, V.: *Indian Jour. Medical Research*, 43:751-773, 1955
- (214) Waterlow, J. C., y Scrimshaw, N. S.: *Bull. Wld Hlth Org.*, 16:458-464, 1957. *Bol. Of. San. Pan.*, 42:265-270, 1957

- (215) Waterlow, J. C.: *West Indian Medical Jour.*, 5:167-174, 1956
- (216) Waterlow, J. C., y Weisz, T.: *Jour. Clin. Invest.*, 35:346-354, 1956
- (217) Waterlow, J. C., y Patrick, S. J.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 57:750-763, 1954
- (218) Burch, H. B.; Arroyave, G.; Schwartz, R.; Padilla, A. M.; Béhar, M.; Viteri, F., y Scrimshaw, N. S.: *Jour. Clin. Invest.*, 36:1579-1587, 1957. *Suplemento No. 3 del Boletín de la OSP*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 102, 1959.
- (219) Bras, G.; Waterlow, J. C., y DePass, E.: *Jour. Tropical Pediatrics*, 2:147-158, 1956
- (220) Waterlow, J. C.; Bras, G., y DePass, E.: *Jour. Tropical Pediatrics*, 2:189-198, 1957
- (221) Senecal, J., y Dupin, H.: *Revue Internationale d'Hépatologie*, 6:189-244, 1956
- (222) Badr-El-Din, M. K., y Aboul-Wafa, M. H.: *Jour. Tropical Pediatrics*, 3:17-22, 1957
- (223) Matsaniotis, N. S.: *Jour. Pediatrics*, 51:267-284, 1957
- (224) Mehta, G.; Venkatachalam, P. S., y Gopalan, C.: *Indian Jour. Medical Research*, 44:231-235, 1956
- (225) Ramanathan, M. K.: *Indian Jour. Medical Research*, 43:517-520, 1955
- (226) Bollo, F. A., y Montero S., R.: *Revista Chilena de Pediatría*, 28:6-9, 1957
- (227) Senecal, J.; Aubrey, L.; Dupin, H.; Davin, R., y Darrasse, F.: *Bulletin Médical de l'Afrique Occidentale Française*, 1:147-157, 1956
- (228) Gómez, F.; Ramos Galván, R.; Cravioto, J.; Frenk, S.; Janeway, C. A.; Gamble, J. L., y Metcoff, J.: *Pediatrics*, 20:101-104, 1957
- (229) Frenk, S.; Metcoff, J.; Gómez, F.; Ramos Galván, R.; Cravioto, J., y Antonowicz, I.: *Pediatrics*, 20:105-120, 1957
- (230) Gordillo, G.; Soto, R. A.; Metcoff, J.; López, E., y García Antillón, L.: *Pediatrics*, 20:303-316, 1957
- (231) Metcoff, J.; Frenk, S.; Gordillo, G.; Gómez F.; Ramos Galván, R.; Cravioto, J.; Janeway, C. A., y Gamble, J. L.: *Pediatrics*, 20:317-336, 1957
- (232) Politzer, W. M., y Wayburne, S.: *Brit. Jour. Nutrition*, 11:105-111, 1957
- (233) Ramachandran, M.; Venkatachalam, P. S., y Gopalan, C.: *Indian Jour. Medical Research*, 44:227-230, 1956
- (234) Venkatachalam, P. S.; Srikantia, S. G., y Gopalan, C.: *Indian Jour. Medical Research*, 43:511-516, 1955
- (235) Cheung, M. W.; Fowler, D. I.; Norton, P. M.; Snyderman, S. E., y Holt, L. E., Jr.: *Jour. Tropical Pediatrics*, 1:141-147, 1955
- (236) Garrow, J. S.: *En* "Amino Acid Malnutrition" Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey, E.U.A., p. 14-27, 1957
- (237) Close, J. A.: *Centre de Recherche Scientifique du Kivu (Lwiro) I.R.S.A.C. (Congo Belge)*. Presentado a la Conferencia Inter-Africana de Nutrición (Luanda), octubre 13, 1956
- (238) Jones, P. R. M., y Dean, R. F. A.: *Jour. Tropical Pediatrics*, 2:51-68, 1956
- (239) Brock, J. F.; Hansen, J. D. L.; Howe, E. E.; Pretorius, P. J.; Davel, J. G. A., y Hendrickse, R. G.: *Lancet*, 269:355-360, 1955
- (240) Hansen, J. D. L.; Howe, E. E., y Brock, J. F.: *Lancet*, 271:911-913, 1956
- (241) Venkatachalam, P. S.; Srikantia, S. G.; Mehta, G., y Gopalan, C.: *Indian Jour. Medical Research*, 44:539-545, 1956
- (242) Dean, R. F. A.: *Bull. Wld Hlth Org.*, 14:798-801, 1956
- (243) Thompson, M. D.: *East African Medical Jour.*, 32:451-458, 1955
- (244) Close, J.: *Annales de la Société de Médecine Tropicale (France)*, 35:411-424, 1955
- (245) Senecal, J.; Pille, G.; Dupin, H.; Sayerse, C., y Ospital, T.: *Bulletin Médical de l'Afrique Occidentale Française*, 1:175-179, 1956
- (246) Robinson, U.; Béhar, M.; Viteri, F.; Arroyave, G., y Scrimshaw, N. S.: *Jour. Tropical Pediatrics*, 2:217-223, 1957. *Suplemento No. 3 del Boletín de la OPS*. "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 72, 1959.
- (247) Gómez, F.; Ramos Galván, R.; Cravioto, J., y Frenk, S.: *Revista de Investigación, Clínica (México)*, 9:41-54, 1957
- (248) Gómez, F.; Ramos Galván, R.; Cravioto, J.; Frenk, S.; de la Peña, C.; Moreno, M. E., y Villa, M. E.: *Jour. Pediat.*, 51:262-266, 1957
- (249) Béhar, M.; Viteri, F.; Bressani, R.; Arroyave, G.; Squibb, R. L., y Scrimshaw, N. S.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 69:954-968, 1958
- (250) McCarthy, D. D.: *New Zealand Medical Jour.*, 54:651-657, 1955
- (251) Fierro del Río, L.; Reynaud Acosta, R.; Coyotzin Gordillo, C.; Cancino Serna, L., y Sánchez Quintanar, E.: *Revista de Investigación Clínica (México)*, 9:55-84, 1957
- (252) Aschkenasy, A.: *Am. Jour. Clin. Nut.*, 5:14-25, 1957
- (253) Vohra, P., y Kratzer, F. H.: *Science*, 124:1145, 1956
- (254) Vohra, P., y Kratzer, F. H.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 68:76-80, 1957
- (255) Klain, G. J.; Hill, D. C.; Gray, J. A., y Branion, H. D.: *Jour. Nutrition*, 61:317-328, 1957

- (256) Likins, R. C.; Bavetta, L. A., y Posner, A. S.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 70: 401-412, 1957
- (257) Bavetta, L. A., y Narrod, S. A.: *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.*, 94:289-290, 1957
- (258) Van Pilsum, J. F., Speyer, J. F., y Samuels, L. T.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 68: 42-53, 1957
- (259) Scott, E. B.: *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.*, 92:134-140, 1956
- (260) Goyco, J. A.: *Jour. Nutrition*, 58:299-308, 1956
- (261) Hallanger, L. E., y Schultze, M. O.: *Jour. Nutrition*, 60:25-33, 1956
- (262) Harper, A. E., y Benton, D. A.: *Biochem. Jour. (Londres)*, 62:440-448, 1956
- (263) Arata, D.; Svenneby, G.; Williams, J. N., Jr., y Elvehjem, C. A.: *Jour. Biol. Chem.* 219:327-333, 1956