

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

LICENCIATURA EN NUTRICIÓN

DEPARTAMENTO DE EVALUACIÓN PROFESIONAL



EFFECTO DE UNA DIETA ELEVADA EN HIDRATOS DE CARBONO Y LÍPIDOS EN LA PRODUCCIÓN DE INMUNOGLOBULINA A EN INTESTINO DELGADO DE RATONES

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN NUTRICIÓN

PRESENTAN:

P.L.N. ALMAZÁN TORRES KAREN

P.L.N. GARCÍA CHÁVEZ KARINA FÁTIMA

DIRECTORAS DE TESIS:

DR. EN C. ROXANA VALDÉS RAMOS

DR. EN I. M. BEATRIZ ELINA MARTÍNEZ CARRILLO

REVISORES:

M. EN CS. LUIS GUILLERMO DE HOYOS MARTÍNEZ

M. EN CS. LILIANA MERCEDES DIEGO ACOSTA

L. EN NUT. MATILDE AMPARO MILLAN ANDUJAR

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, 2013.

DEDICATORIAS

A Dios por ser el dueño de mi vida y el motivo de mí vivir.

A mis padres por amarme sin reservas y por ser un ejemplo a seguir.

A mis hermanos por regalarme tantos momentos felices.

A mis maestros por su entrega a su profesión y por ser parte de mi formación.

A mis amigos por su cariño, confianza y comprensión.

Al amor de mi vida por llegar a mi corazón en el momento preciso.

Karen Almazán Torres

Primero que nada doy gracias a Dios por ser mi motor y el que guía mi vida.

A mis padres por dar todo a sus hijos y enseñarme el valor de la responsabilidad.

A mi hermano por estar siempre dispuesto a apoyarme

A mis amigos porque son una prueba del amor de Dios y porque me impulsan a seguir adelante.

Y especialmente a las personas que aportaron su sabiduría para la elaboración del presente
trabajo.

Karina Fátima García Chávez

**EFFECTO DE UNA DIETA ELEVADA EN HIDRATOS DE CARBONO Y LIPIDOS EN LA
PRODUCCIÓN DE INMUNOGLOBULINA A EN INTESTINO DELGADO DE RATONES.**

ÍNDICE

RESUMEN	4
I. ANTECEDENTES.....	6
Sistema Inmunitario.....	7
1.1 Sistema Inmunitario de mucosas.....	7
1.1.1 Tejido linfoide Asociado a Intestino	7
1.1.2 Placa de Peyer	8
1.1.3 Lámina propia	8
1.2 Inmunoglobulinas	8
1.2.1 Inmunoglobulina A.....	9
1.2.1.1 Inmunoglobulina A secretora	9
2 Dieta	10
2.1 Macronutrientes.....	10
2.1.1 Hidratos de Carbono	11
2.1.2 Lípidos	12
2.1.3 Proteínas	12
3. Dieta y sistema Inmunitario.....	13
4. Estudios en ratones como modelos experimentales.....	16
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
III. JUSTIFICACIÓN	20
IV. HIPÓTESIS.....	20
V. OBJETIVOS.....	21
VI. MÉTODO	21
6.1 Diseño del estudio	22
6.2 Operacionalización de variables	23
6.3 Universo de trabajo y muestra	24
6.4 Desarrollo del proyecto	24
VII. IMPLICACIONES ÉTICAS	30
VIII. RESULTADOS.....	32
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	35
X. CONCLUSIONES.....	40
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	41
XII. ANEXOS	45

RESUMEN

La dieta es fundamental para mantener una óptima función inmunitaria. En el estilo de vida actual predominan dietas elevadas en hidratos de carbono y lípidos, por lo que investigar el efecto de las mismas en el tejido linfoide asociado a intestino es de vital importancia.

El objetivo de este estudio fue identificar el efecto de una dieta elevada en hidratos de carbono y lípidos en la producción de inmunoglobulina A de intestino delgado en ratones Balb/c. Se emplearon 24 ratones machos de 21 días de edad con los cuales se formaron los siguientes grupos: 1) Dieta control, 2) Dieta elevada en hidratos de carbono, 3) Dieta elevada en lípidos. La administración de las dietas abarcó un período de 9 semanas, se procedió a la obtención de linfocitos de lámina propia de intestino y de placa de Peyer para su posterior determinación de fenotipo por citometría de flujo, a fin de cuantificar el porcentaje de células productoras de inmunoglobulina A, además se obtuvo la inmunoglobulina A secretora en líquido intestinal por medio de la técnica de ELISA.

Los resultados mostraron que la dieta elevada en hidratos de carbono aumentó la concentración de células productoras de IgA en lámina propia y la de IgA secretora. La dieta elevada en lípidos aumentó el porcentaje de células productoras de IgA en placa de Peyer mientras que en lámina propia presentó menor concentración respecto a la dieta control y la dieta elevada en hidratos de carbono.

ABSTRACT

A diet is an elementary factor to maintain in optimal conditions some immune function. Actual lifestyle is dominated by diets that include a high consumption of carbohydrates and lipids, therefore, to investigate the effect of these macromolecules in the lymphoid tissue, gut-associated is imperative.

The objective of this study was to identify the effects of a diet with a high consumption of carbohydrates and lipids in the production of immunoglobulin A in the small intestine in Balb/c mice. Twenty-four mice males of twenty-one days old were used to form the following groups: 1) Control diet, 2) High carbohydrate *diet*, 3) High lipid diet.

The period of administration of the diets covered a period of nine weeks, we proceeded to obtaining lymphocytes of lamina propria and Peyer's patch for subsequent determination of phenotype by flow cytometry, in order to quantify the percentage of immunoglobulin A producing cells; also, it was obtained immunoglobulin A secretory in the intestinal fluid using ELISA technique.

The results showed that the high carbohydrate diet increased the concentrations of IgA-producing cells in the lamina propria and IgA secretory. The High lipid diet increased the percentage of IgA-producing cells in Peyer's patches while lamina propria presented a lower concentration regarding the control diet and the high carbohydrate diet.

I. ANTECEDENTES

1. Sistema Inmunitario

El sistema inmunitario es el encargado de proteger al organismo de agentes externos como: bacterias, virus, hongos, parásitos y de otras ofensas nocivas. El sistema inmunitario se organiza a su vez en el sistema innato y el adaptativo. Estos sistemas involucran a diversos factores que son transmitidos por la sangre y las células. En la médula ósea se originan todas las células del sistema inmunitario, se pueden encontrar en el torrente sanguíneo y organizado en órganos linfoides como son el timo, el bazo, ganglios linfáticos y en el tejido linfoide asociado a intestino⁽¹⁾.

Inmunidad innata (natural): Es la primera línea de defensa para enfrentar agentes infecciosos. Funciona de manera independiente de la exposición previa del huésped al agente infeccioso, e incluye barreras mecánicas (por ejemplo, la piel, el epitelio de la mucosa) y componentes celulares (por ejemplo, la mayoría de los macrófagos y neutrófilos)^(1,2).

Inmunidad de memoria: se basa en mecanismos de adaptación, mediante el reconocimiento de agentes invasores generando una memoria inmunológica, es decir, que después de contactar por primera vez con un antígeno adquiere la capacidad de responder de manera más rápida y eficaz en una exposición posterior⁽²⁾.

Esta categoría a su vez se divide en inmunidad celular e inmunidad humoral. La primera corresponde a aquella ejercida por los linfocitos del timo y sus acciones mediadas por las citocinas que ellos u otras células producen. La segunda se refiere a los efectos de protección que son promovidos por medio de fluidos corporales, mediante un mecanismo de defensa que desempeñan los linfocitos B a través de las moléculas que secretan, llamadas anticuerpos o inmunoglobulinas. De este modo los linfocitos B constituyen la base celular de

la respuesta inmunitaria humoral debido a que resulta inadecuada para la proliferación de invasores extraños ^(3,4).

1.1 Sistema inmunitario de las mucosas

El tracto gastrointestinal es el hogar de múltiples bacterias comensales las cuales son beneficiosas para el huésped; sin embargo, también representa un medio de entrada para los organismos patógenos. El sistema inmunitario de la mucosa es una red compleja de compartimentos linfoides que trabajan en conjunto para brindar protección al organismo de los agentes invasores ^(5,6).

El intestino es un órgano inmunológico con diversas estructuras especializadas y tipos de células linfoides, se estima que un 25 % de la mucosa intestinal es tejido linfoide y que las células inmunosectoras en un 70-80% se encuentran localizadas en el intestino ⁽⁷⁾.

1.1.1 Tejido Linfoide Asociado a Intestino (GALT)

El tejido linfoide asociado a intestino (GALT) se organiza en sitios inductores y efectores. El sitio inductor está integrado por las placas de Peyer (PP), folículos linfoides aislados, el apéndice y los ganglios linfáticos mesentéricos (MLN) que drenan al intestino; mientras que en el sitio efector las células se acumulan en la lámina propia (LP) en forma de linfocitos de lámina propia (LPL) y en el epitelio como los linfocitos intraepiteliales (IEL). El sistema inmunitario adaptativo de mucosas regula las respuestas a los antígenos que han cruzado el epitelio de la mucosa, formándose por una red de células epiteliales intestinales (CEI) y actúa como un muro de protección física ⁽⁸⁾.

1.1.2 Placa de Peyer

Es un agregado de folículos linfoides localizado a lo largo del intestino, del lado antimesentérico de la mucosa del intestino delgado. Morfológicamente las placas de Peyer contienen una cúpula subepitelial que es una región subyacente de folículos linfoides la cual contiene células B vírgenes y activadas; otra región es la interfolicular que contiene células T. La cúpula en su superficie está cubierta por el epitelio folicular asociado donde se incluyen las células M, cuya función es la selección y el transporte luminal de agentes^(9,10).

1.1.3 Lámina propia

La lámina propia se encuentra entre el epitelio y la capa muscular de la mucosa, contiene células plasmáticas maduras que son productoras de IgA, linfocitos T (principalmente) y otras clases de células como son macrófagos. El 80% de las células plasmáticas producen Ig A, solo un 15% Ig M y una pequeña fracción Ig E^(11,7).

1.2 Inmunoglobulinas

Los linfocitos B son caracterizados por su habilidad de producir inmunoglobulinas (Igs) estas se dividen en cinco isotipos, de acuerdo con la estructura de la región constante en su cadena pesada: IgM, IgG, IgA, IgE e IgD, que difieren en la especialización de sus extremos posteriores para distintas funciones biológicas, como la activación del complemento o la activación de mastocitos.^(1,12)

Las inmunoglobulinas son proteínas fijadoras de antígenos, su función es identificar a las sustancias extrañas y microorganismos que invaden el organismo y eliminarlos a través de la acción de las moléculas del sistema de complemento^(1,12,13).

1.2.1 Inmunoglobulina A

La Inmunoglobulina A (IgA) en sangre es un anticuerpo monoclonal que pesa 160,000 Daltons y, representa el 13% de las inmunoglobulinas ^(14,15).

La IgA producida por células plasmáticas, comprende el 20% del total de las células plasmáticas de los tejidos linfoides periféricos, mientras que más del 80% de las células plasmáticas producen IgA en el Tejido linfoide asociado a Mucosas (MALT). Esto ocurre al diferenciarse las células B en células productoras de IgA en los tejidos de la mucosa, proceso que es mediado por células T^(16,17).

1.2.1.1 Inmunoglobulina A Secretora

Se encuentra como isotipo predominante en la gran parte de las superficies mucosas, se le conoce como Inmunoglobulina A secretora (IgAs), que es un complejo de polipéptido formado por dos monómeros de IgA, la cadena J de conexión y el componente secretor. Este isotipo se produce diariamente excediendo la síntesis de las demás clases de inmunoglobulinas, la IgAs juega un papel muy esencial como defensa de la mucosa que abarca unos 400 m² del organismo protegiéndola contra agentes nocivos^(14,18,19).

Se encuentra en forma selectiva en secreciones seromucosas como saliva, lágrimas, líquidos nasales, sudor, calostro y las secreciones del pulmón, de las vías genitourinarias y las gastrointestinales; donde tienen por función defender las superficies corporales externas expuestas contra el ataque de microorganismos. Aparece como dímero unido a un componente secretor. Aproximadamente 40 mg de IgA secretora/kg de peso corporal se transportan a diario a través del epitelio de las criptas intestinales humanas hacia la superficie mucosa. La IgA se sintetiza en forma localizada por la acción de las células plasmáticas y se dimeriza en el interior de la célula junto con un polipéptido^(20,12).

La IgAs, se adhiere selectivamente a las células M de las placas de Peyer intestinales, mediando el transporte transepitelial de anticuerpos de la luz intestinal al tejido linfoide asociado a intestino, en las placas de Peyer la IgAs se une y es interiorizada por las células dendríticas en la región de la cúpula subepitelial⁽¹⁰⁾.

En relación al epitelio de la mucosa, la IgAs tiene como funciones: prevenir la adherencia y la entrada de agentes en el epitelio, en la lámina propia excreta agentes a la luz; además de que puede inhibir la producción de virus en el tránsito intestinal a través del epitelio o neutralizar los agentes proinflamatorios. La IgAs es capaz de inhibir la liberación de mediadores inflamatorios a través de los receptores específicos⁽¹⁰⁾.

2.Dieta

La dieta es el conjunto de alimentos aislados y platillos consumidos a lo largo del día, viene del griego diaita, que significa “forma de vida”. Una dieta recomendable o correcta debe ser satisfactoria en tres aspectos: biológico (vehículo eficaz de nutrimentos), psicológico y sociológico. Resulta importante que la dieta cumpla con todos los nutrimentos, en las cantidades requeridas por el organismo, pero sin excesos que pudiesen causar acumulaciones peligrosas. La dieta debe ser: completa, suficiente, variada y equilibrada⁽²¹⁾.

2.1 Macronutrimentos

Los organismos vivos intercambian materia y energía con su medio para lo cual necesitan sustancias específicas que intervienen en su metabolismo, es decir nutrimentos que son definidos como las sustancias que cumplan una o más funciones en el metabolismo normal y tengan, habitual o forzosamente, un origen externo al organismo⁽²¹⁾.

Las células tienen un número limitado de estados metabólicos, esto es variable dependiendo

del tipo de combustible que la célula consume. Los combustibles celulares están integrados por los macronutrientes: hidratos de carbono, lípidos y proteínas⁽²²⁾.

2.1.1 Hidratos de carbono.

Conocidos también como glúcidos, constituyen una parte fundamental en la alimentación humana. Su función principal es la de proporcionar energía, pero algunos de sus derivados en el organismo son de naturaleza estructural o funcional, generalmente unidos a una fracción proteica (proteoglicano y glucoproteínas) o lipídica (glucolípidos).

De los Hidratos de Carbono ingeridos un 60% son polisacáridos como el almidón y el glucógeno, los disacáridos sucrosa (sacarosa) y lactosa representan el 30 y el 10% respectivamente⁽²³⁾.

Se dividen en azúcares simples, polialcoholes y polisacáridos.

Azúcares simples: monosacáridos (glucosa, fructuosa, galactosa), disacáridos (maltosa, sacarosa, lactosa) y oligosacáridos (maltotriosa y rafinosa).

Polialcoholes: Obtenidos a partir de la hidrogenación industrial del azúcar, destacan el sorbitol, manitol, dulcitol, lactitol, xilitol e inositol.

Polisacáridos: De los más importantes se encuentran los polímeros de glucosa, los empleados directamente por el organismo son el almidón y el glucógeno, otros participan de forma indirecta y parcial debido a la actividad de la flora intestinal, rindiendo energía metabólica (celulosa). Los demás polisacáridos no utilizables son polímeros de azúcares o derivados (hemicelulosas, gomas, mucílagos, pectinas, etc.)⁽²³⁾.

El Intervalo Aceptable de Distribución de Macronutrientes (AMDR) respecto a hidratos de carbono es de 45 a 65 % en personas sanas, por encima de este porcentaje se considera una dieta elevada en hidratos de carbono⁽²⁴⁾.

2.1.2 Lípidos.

Sustancias compuestas por carbono e hidrógeno; con menor cantidad de átomos de oxígeno que los hidratos de carbono por lo que aportan 9 Kcal /g. En su estado sólido a temperatura ambiente se denominan grasas y los lípidos de naturaleza líquida se llaman aceites. Los lípidos son sustancias no solubles en agua, pero sí lo son en disolventes inorgánicos (éter y benceno)⁽²⁵⁾.

La grasa alimentaria es almacenada en las células adiposas ubicadas en depósitos en el organismo humano, ésta es esencial para la digestión, absorción y transporte de vitaminas liposolubles, además inhibe las secreciones gástricas, reduce la rapidez del vaciamiento gástrico y estimula el flujo biliar y pancreático, facilitando con ello el proceso digestivo⁽²⁵⁾.

Los lípidos, moléculas extraídas de tejidos animales y vegetales, representan un grupo heterogéneo de compuestos clasificados como: **ácidos grasos** que corresponden a las cadenas de hidrocarburo largas con grupos de cabeza de ácido carboxílico; **triacilglicéridos** a los ésteres neutrales de glicerol y ácidos grasos; **fosfolípidos** que son ésteres iónicos de glicerol, ácidos grasos y fosfato; **lípidos que no contienen glicerol** donde se encuentran esfingolípidos, alcoholes, ceras, terpenos y esteroides; **lípidos combinados con otros componentes** como glucolípidos y glucoproteínas, que por lo general se encuentran en la biomembrana y por último se tiene a los **lípidos sintéticos**⁽²⁵⁾.

El Intervalo Aceptable de Distribución de Macronutrientos (AMDR) respecto a lípidos es de 20 a 35 % en personas sanas, por encima de este porcentaje se considera una dieta elevada en lípidos⁽²⁴⁾.

2.1.3 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas constituidas a partir de aminoácidos que desempeñan diversas funciones, todas ellas de extraordinaria importancia, en los seres vivos. Su nombre alude precisamente a esta característica (proteos: primera categoría). Se encuentra en gran cantidad en el organismo humano⁽²³⁾.

Los aminoácidos se unen entre sí, formando un enlace amida entre un grupo carboxilo y un grupo amino. Este enlace recibe el nombre de enlace peptídico, denominándose péptidos los compuestos resultantes. El nombre de oligopéptidos se emplea para designar los péptidos constituidos por pocos aminoácidos (generalmente menos de diez), llamándose polipéptidos los constituidos por más aminoácidos. El nombre de proteínas se reserva para los polipéptidos de gran peso molecular y que tienen una conformación espacial determinada⁽²³⁾.

Se le llaman aminoácidos proteinógenos a los que entran a formar parte de las proteínas, existen 20, lo que permite que existan posibilidades prácticamente infinitas de polímeros diversos. Por consiguiente las proteínas pueden desempeñar una multiplicidad de funciones, entre las que se destacan:

- a) Catalíticas** (enzimas).
- b) Reguladoras** (hormonas, neurotransmisores, etc.).
- c) De transporte** (albúmina, hemoglobina, apoproteínas, etc.).
- d) Estructurales** (colágeno, queratina, elastina, etc.).
- e) Defensinas** (inmunoglobulinas, fibrinógeno, etc.).
- f) Reserva** (ferretina, mioglobina, etc.).
- g) Energética** (todas las proteínas aunque tengan otras funciones)⁽²³⁾.

El Intervalo Aceptable de Distribución de Macronutrientes (AMDR) respecto a proteínas es de 10 a 35 % en personas sanas, por encima de este porcentaje se considera una dieta elevada en proteínas⁽²⁴⁾.

3. Dieta y sistema inmunitario.

Existe una relación dinámica entre los nutrientes de los alimentos y la flora gastrointestinal en la salud del sistema inmunitario. La dieta es fundamental para mantener una óptima función inmunitaria. El intestino delgado está expuesto a una gran variedad de antígenos del medio ambiente lo cual es evidente durante la digestión de los alimentos y la absorción de

nutrimentos. El tejido linfoide asociado a intestino (GALT), crea una barrera de protección contra antígenos intestinales potencialmente perjudiciales y estimula la tolerancia a antígenos de los alimentos^(26,27).

Los lípidos ejercen un efecto profundo en la modulación del sistema inmunitario, por lo que la composición de ácidos grasos de los linfocitos y de otras células inmunitarias se ve afectada por la composición de ácidos grasos de la dieta⁽²⁸⁾.

La relación entre los lípidos y la respuesta inmunitaria es compleja, multifactorial, y aún es poco conocida. Estudios en animales indican que la ingestión de dietas altas en lípidos, sobre todo ácidos grasos saturados, disminuyen la inmunocompetencia innata y adaptativa al afectar la actividad de las células inmunitarias como los macrófagos, células dendríticas, o linfocitos T, aumentando así el riesgo para la infección grave y el cáncer⁽²⁾.

Los ácidos grasos desempeñan diversas funciones en las células inmunitarias, son importantes como fuente de energía, como componentes estructurales de las membranas celulares, como moléculas de señalización y como precursores para la síntesis de eicosanoides y mediadores similares. Ha sido de interés en investigaciones recientes el hecho de que la localización y la organización de los ácidos grasos en distintos grupos celulares tienen influencia directa sobre el comportamiento de una serie de proteínas que participan en la activación de las células inmunitarias, incluyendo los relacionados con la respuesta de células T, presentación de antígenos y ácidos grasos derivados de la producción de mediadores inflamatorios.⁽²⁹⁾

Estudios en animales han demostrado que el consumo de ácidos grasos omega -3 puede actuar como agente anti-inflamatorio e inmunomodulador en infecciones y enfermedades autoinmunes. Se ha evidenciado una fuerte eficacia clínica en algunas enfermedades como lo es la artritis reumatoide; sin embargo no ha sido notable en enfermedades del intestino y el asma^(30,31).

A fin de mejorar la tolerancia oral y favorecer el desarrollo de una flora intestinal saludable y por consecuencia promover un sistema inmunitario competente, se recomienda la ingestión de ácidos grasos omega 3 y 6 en cantidades adecuadas; así como el fomento de la lactancia materna y la disminución del uso de antimicrobianos⁽²⁶⁾.

Se ha relacionado de forma directa a la grasa consumida en la dieta como uno de los factores predisponentes para el riesgo de padecer ciertos tipos de cánceres, como son: mama, colon y recto, próstata y ovarios, otros estudios indican que no es la cantidad de la grasa sino la calidad lo que realmente propicia al desarrollo de la enfermedad⁽³²⁾.

Existe una relación entre el sistema inmunitario, los lípidos de la dieta y el desarrollo del cáncer; sin embargo, se ha demostrado que el efecto en la inmunorespuesta depende del tipo de lípidos. Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) modulan la producción de citocinas, la proliferación de linfocitos, la expresión de moléculas superficiales, la fagocitosis, la apoptosis y la actividad de las células asesinas naturales, por lo que un aumento en la ingestión de ácidos grasos omega 3 contribuye al control en la producción de eicosanoides proinflamatorios así como de citocinas⁽³³⁾.

Nayak y cols.(2009) investigaron la relación existente entre el sistema inmunitario y la energía de la dieta. Se demostró que la restricción de energía en la dieta puede modular la función inmunitaria celular o adaptativa. Los linfocitos CD4+ y las células IgA pueden servir como indicadores biológicos para estimar el aporte energético de la dieta, modulando la inmunorespuesta en el bazo y el colon⁽³⁴⁾.

Verwaerde y Delanoye (2006) realizaron un estudio en ratones (cepa DO11.10) transgénicos para un receptor de células T, que reconocen específicamente un péptido de la ovoalbúmina, en ellos evaluaron la influencia de una dieta alta en grasas, rica en ácidos grasos saturados sobre el sistema inmunológico. En dicho estudio se demostró que la respuesta inmunitaria de las células T se vió afectada por una alimentación rica en grasas y que la expresión de este

efecto es diferente dependiendo del hecho de que las células T sean vírgenes o que hayan experimentado un previo encuentro con algún agente⁽³⁵⁾.

Por otra parte se ha observado que los Hidratos de Carbono no digeribles (NDC) como son: galactooligosacaridos, β -glucanos, pectinas, almidón y oligofruktuosa tienen un efecto modulador en el sistema inmunitario y otros beneficios a la salud. Los Hidratos de Carbono no digeribles son fermentados por la microbiota intestinal. Se conoce que algunos NDC se unen a receptores específicos sobre células del sistema inmunitario⁽³⁶⁾.

Estudios realizados por Watzl y Bernhard (2007) indican que la ingestión de inulina (IN) y oligofruktuosa (OF) tienen efectos benéficos sobre el Tejido Linfoide Asociado al Intestino al reflejar una elevada concentración de IgA secretora⁽³⁷⁾.

4. Estudios en ratones como modelos experimentales.

La investigación en animales ha permitido a los científicos descubrir maneras de sanar enfermedades y prolongar la vida humana, además de conocer el funcionamiento de los sistemas orgánicos, debido a que existen semejanzas significativas entre los sistemas fisiológicos de los seres humanos y los de varias especies animales⁽³⁸⁾.

Según el Código de Nuremberg, cualquier experimento hecho en seres humanos "debe ser diseñado y basado en los resultados de investigación animal". La Declaración de Helsinki, adoptada en 1964 por la XIII Asamblea Médica Mundial y revisada en cinco ocasiones, cita también que la investigación médica en sujetos humanos "debe estar basada en pruebas de laboratorio adecuadamente realizadas y en experimentación con animales". El desarrollo de una nueva medicina es un proceso largo y complejo. Las pruebas en animales son parte de la información disponible antes de determinar la seguridad y eficacia en humanos⁽³⁸⁾.

Fue el científico Halsey J. Bagg que con el fin de modificar las variaciones conductuales en ratones, realizó un emparejamiento de ratones genéticamente homogéneos y de la cepa de

color blanco originalmente usada por Bagg; derivaría después otra que resultó muy útil en la investigación ulterior: la llamada BALB/c (Bagg albino)⁽³⁹⁾.

El empleo de modelos animales como los ratones en la investigación ha sido la herramienta experimental de elección para la mayoría de los inmunólogos y el estudio de su sistema inmunitario ha dado una perspectiva diferente sobre el funcionamiento del sistema inmunitario humano⁽⁴⁰⁾.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México se vive un grave problema de salud pública, como la prevalencia de enfermedades crónico-degenerativas, principalmente la obesidad. Ha contribuido al presente estado de salud el cambio en los estilos de vida, es decir antes eran más saludables y hoy suelen constituir un factor de riesgo para la salud.⁽⁴¹⁾

La vida hoy en día se vive a un ritmo acelerado donde ya casi no se tiene tiempo para llevar a cabo actividades en familia, recreativas y aquellas que intervienen en el cuidado de la salud, uno de ellas es una adecuada alimentación.

La alimentación ha adquirido un cambio notable donde la comida tradicional ha sido desplazada principalmente por alimentos con un elevado porcentaje de grasas y azúcares simples tales como los industrializados, comida rápida y algunas preparaciones de alimentos, que en conjunto suelen ser densamente energéticos, propiciados principalmente por el aumento de la urbanización.^(42,43)

Se ha descrito que un estado de nutrición saludable se encuentra asociado a una alimentación correcta y a su vez a un adecuado funcionamiento del sistema inmunitario.⁽²⁶⁾

Algunos estudios refieren que un funcionamiento óptimo del sistema inmunitario se asocia a una adecuada defensa contra infecciones y otros procesos fisiológicos que dependen de un sistema inmunitario intacto.⁽¹⁵⁾ Se ha establecido una relación entre la ingestión de hidratos de carbono, lípidos y la respuesta inmunitaria siendo esta compleja, multifactorial, y aún poco conocida.^(2,36)

Por lo tanto es necesario y de vital importancia estudiar la relación entre los nutrimentos provenientes de la alimentación, y su efecto en el sistema inmunitario.

Como se ha mencionado, el consumo de hidratos de carbono y lípidos en la dieta mexicana es frecuente y sobre todo en cantidades considerables. Sabiendo que el estado de nutrición influye en la respuesta inmunitaria y en la condición de salud del individuo, es así que surge la pregunta:

¿Cuál es el efecto de una dieta elevada en hidratos de carbono y lípidos en la producción de inmunoglobulina A de intestino delgado en ratones Balb/c?

III.JUSTIFICACIÓN

Existe una relación dinámica entre la alimentación y sus nutrimentos con la salud del sistema inmunitario⁽²⁶⁾. La dieta es fundamental para mantener una función inmunitaria óptima, ya que a falta de una nutrición adecuada, el sistema inmunitario se ve limitado de los componentes necesarios para generar una respuesta inmunitaria eficaz⁽²⁸⁾.

Algunos estudios han demostrado que la desnutrición energético-protéica se asocia a un deterioro importante de la inmunidad mediada por células, la función de los fagocitos, el sistema de complemento y la concentración de anticuerpos como la Inmunoglobulina A secretora; en tanto que, cantidades excesivas de algunos nutrimentos pueden reducir la respuesta inmunitaria⁽⁴⁴⁾. También se ha descrito que diversos ácidos grasos dietéticos están implicados en la modulación del sistema inmunitario⁽⁴⁵⁾.

Sin embargo, no hay evidencia suficiente de investigaciones que busquen establecer el efecto de una dieta elevada en hidratos de carbono y lípidos sobre la Inmunidad Humoral. Por ello el presente estudio es de suma importancia para identificar el efecto de este tipo de dietas, cuyo consumo es frecuente en la población, y que de este modo los resultados obtenidos sirvan de referencia, a fin de brindar pautas nutricionales de importancia práctica y de impacto en el estado de nutrición y óptimo funcionamiento del sistema inmunitario y por ende en la salud pública.

IV.HIPÓTESIS

Una dieta elevada en hidratos de carbono aumentará la producción de inmunoglobulina A en intestino delgado de ratones Balb/c.

Una dieta elevada en lípidos disminuirá la producción de inmunoglobulina A en intestino delgado de ratones Balb/c.

Una dieta elevada en hidratos de carbono aumentará la producción de inmunoglobulina A secretora de ratones Balb/c.

Una dieta elevada en lípidos disminuirá la producción de inmunoglobulina A secretora en ratones Balb/c.

V.OBJETIVOS

General:

Identificar el efecto de una dieta elevada en hidratos de carbono y lípidos en la producción de Inmunoglobulina A de intestino delgado en ratones Balb/c.

Específicos:

- Cuantificar los linfocitos B de lámina propia y Placa de Peyer.
- Cuantificar el porcentaje de células productoras de Inmunoglobulina A en placa de Peyer y lámina propia mediante la técnica de citometría de flujo.
- Cuantificar la cantidad de Inmunoglobulina A secretora mediante la técnica de ELISA.

VI.MÉTODO

El presente estudio deriva del proyecto de investigación titulado: “Efecto de la dieta y ejercicio físico moderado sobre algunas poblaciones celulares de la mucosa intestinal”, con clave: UAEM 2461/2007U. Dicho proyecto tiene como objetivo evaluar el efecto de la ingestión de dietas isoenergéticas con alto porcentaje de hidratos de carbono y lípidos sobre algunos componentes celulares del sistema inmunitario de la mucosa intestinal de ratones Balb/C.

La participación en el proyecto estuvo integrada por estudiantes de doctorado y maestría del Centro de Estudios Avanzados e Investigación en Ciencias de la Salud (CIEACS), así como de Pasantes de la Licenciatura en Nutrición de la Facultad de Medicina. En esta última categoría se sitúa la intervención de las presentes quienes realizaron diferentes actividades en conjunto.

Las actividades fueron las siguientes:

- Cuidado y aseo de los animales: Suministro de alimento, colocación de bebederos, limpieza de tinas, cambio de aserrín, etc.
- Toma de peso semanal de cada ratón y del alimento administrado.
- Registro de datos.
- Desarrollo de técnicas: sacrificio de los animales, obtención de linfocitos de placas de Peyer, lámina propia e intestino delgado, cultivo de linfocitos, etc.
- Toma de muestras.
- Manejo de material de laboratorio.
- Visitas al citómetro.

El presente estudio, el cual se enfoca en identificar el efecto que tienen las dietas altas en Hidratos de Carbono o en Lípidos en la producción de inmunoglobulina A de intestino delgado en ratones Balb/C. Por lo que se usó únicamente la base de datos correspondiente al estudio.

6.1 Diseño de estudio

El estudio fue de tipo experimental. Se trata de un estudio longitudinal, prospectivo, de intervención deliberada y en paralelo (con controles concurrentes en el tiempo y el espacio); controlado y aleatorizado.

6.2 Operacionalización de variables

Variable	Definición teórica	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Dieta	Es el conjunto de alimentos aislados y platillos consumidos a lo largo del día, viene del griego diaita, que significa "forma de vida". La dieta debe ser: completa, suficiente, variada y equilibrada.	<p>Dietas utilizadas en cada grupo:</p> <p>Dieta elevada en Hidratos de carbono: Dio Rodent Purified Diet w/10% Energy from Fat Yellow 58Y2 ^(anexo 1,3).</p> <p>Dieta elevada en Lípidos: Dio Rodent Purified Diet w/45% Energy From Fat Red 58V8 ^(anexo 1, 2,3).</p> <p>Dieta control: AIN-93G Growth Purified Diet (also Know as #5801-G) 57W5 ^(anexo 1, 3).</p>	<p>Categoría</p> <p>policotómica</p> <p>Nominal</p>	<p>Dieta elevada en Hidratos de carbono</p> <p>Dieta elevada en lípidos</p> <p>Dieta control</p>
Linfocitos B	Células provenientes de la médula ósea cuyo fin es la producción de anticuerpos y de esta manera constituyen la base celular de la respuesta inmunitaria humoral.	Células identificadas como linfocitos B en Lámina propia y Placa de Peyer.	<p>Dependiente</p> <p>Cuantitativa</p> <p>Continua</p>	<p>Porcentaje</p> <p>(0 – 100%)</p>
Células productoras de IgA	Células comprometidas para producir anticuerpos de un determinado isotipo.	Células que son positivas para producir IgA localizadas en Placa de Peyer y Lámina propia.	<p>Dependiente</p> <p>Cuantitativa</p> <p>Continua</p>	<p>Porcentaje</p> <p>(0 – 100%)</p>
Inmunoglobulina A secretora (IgAs)	Molécula dimérica predominante en gran parte de la superficie mucosa del intestino delgado.	Cantidad de IgAs localizada en líquido Intestinal	<p>Dependiente</p> <p>Cuantitativa continua</p>	<p>pg/ml</p>

6.3 Universo de trabajo y muestra.

Integrada por 24 ratones Balb/c jóvenes machos de 21 días de edad con los cuales se formaron aleatoriamente los 3 grupos siguientes:

Grupo	Tipo de dieta	Número de ratones
1	Dieta control: AIN-93G Growth Purified Diet (also Know as #5801-G) 57W5 ^(anexo 1,3) .	8
2	Dieta elevada en Hidratos de carbono: Dio Rodent Purified Diet w/10% Energy from Fat Yellow 58Y2 ^(anexo 1,3) .	8
3	Dieta elevada en Lípidos: Dio Rodent Purified Diet w/45% Energy From Fat Red 58V8 ^(anexo 1, 2,3) .	8

6.4 Desarrollo del proyecto

Los ratones machos cepa BALB/c se destetaron a los veintiún días de edad y se les administró a cada grupo la dieta correspondiente en un esquema *Ab libitum* todos los días, durante un período de nueve semanas. Los ratones se pesaron semanalmente y se registraron estos datos así como la cantidad de alimento ingerida.

A las doce semanas se sacrificaron de manera individual con vapores de cloroformo a fin de extraer los tejidos necesarios para realizar las técnicas correspondientes que se describen a continuación.

Técnicas de laboratorio

- **Obtención de linfocitos de lámina propia de intestino**

Procedimiento

1. Se sacrifica al ratón BALB/c con cloroformo.
2. Se coloca al animal en la cama de disección y se sujeta sus extremidades.
3. Se abre la piel del animal con la ayuda de las tijeras y se corta el peritoneo hasta la altura del diafragma.
4. Se disecciona el intestino delgado, para lo cual se corta su parte proximal, se tira de él delicadamente y se corta donde finaliza éste y comienza el intestino grueso.
5. Se coloca el intestino en una caja de Petri con unos mililitros de RPMI simple.
6. Se afloja el contenido intestinal presionando ligeramente con la ayuda de un émbolo de jeringa.
7. Se lava el contenido intestinal con una sonda y 5mL de RPMI simple. Este contenido intestinal puede recabarse para su posterior análisis.
8. Se introduce el ganchillo crochet no. 6 en el intestino y se retiran las Placas de Peyer (que son protuberancias a lo largo del intestino), colocándolas en una caja de Petri con RPMI simple para su manejo posterior.
9. Ya introducido el ganchillo en el intestino, se amarra una porción de éste al gancho y se evierte cuidadosamente el intestino.
10. Se coloca el intestino en un tubo de 50mL con 10mL de medio RPMI-EDTA-DTT, se sellan con parafilm y se incuban en agitación a 150rpm, durante 30 minutos, a 37 °C (Baño María).
11. Transcurrido ese tiempo, se desecha el medio, se agregan 8mL de RPMI simple, se agita en vórtex y se desecha el medio nuevamente. Finalmente se agregan 8mL de RPMI

simple con colagenasa y se incuba en agitación a 150 rpm, durante 30 minutos, a 37 °C (Baño María).

12. Posterior a la incubación, se colocan los intestinos y el medio en una caja de Petri y se disgregan con un émbolo para desbaratarlo.

13. Se recolecta el medio con ayuda de una pipeta Pasteur y se filtra con organza en tubos cónicos de 15mL.

14. La suspensión de células se traslada a tubos Fisher y se agregan 400uL de SFB y se afora con RPMI simple a volúmenes iguales.

15. Se centrifuga a 2000 rpm a 4 °C, durante 10 minutos.

16. Se desecha el sobrenadante, se agregan 400µL de SFB, se afora a 4mL con RPMI simple y se resuspende. Se centrifuga nuevamente a 2000 rpm a 4 °C, durante 10 minutos.

17. Se desecha el sobrenadante, se agregan 4mL de Percoll al 40% y se resuspende con pipeta Pasteur. Se recolecta la suspensión y se agrega a un tubo con 4mL de Percoll al 75%, deslizando el contenido por los bordes para que no se rompan los gradientes.

18. Se centrifuga 25 minutos a 2000rpm (sin freno, ni aceleración) a 21 °C

19. Con la ayuda de una pipeta Pasteur se toma el anillo de linfocitos (suspendido entre los dos gradientes) y se transfiere a un tubo cónico de 15mL. Se adiciona 200µL de SFB y se afora con RPMI simple a 4mL

20. Se centrifuga 10 minutos a 1500 rpm a 4 °C.

21. Se desecha el sobrenadante y se resuspende en 1mL de RPMI + 50µL de SFB

21. Se desecha el sobrenadante y se resuspende en 400µL de medio Hanks

22. Con las células obtenidas se puede continuar con las técnicas para determinar fenotipo.

- **Obtención de linfocitos de Placa de Peyer**

Procedimiento

1. Una vez obtenidas las Placas de Peyer (pasos 1 al 8 de la técnica de obtención de linfocitos de lámina propia), se maceran éstas en una placa de Petri con 1 mL de RPMI .
2. Se recolecta la suspensión con ayuda de una pipeta Pasteur y se filtra con organza en un tubo cónico de 15mL y se agregan 200µL de SFB.
3. Se centrifuga durante 5 minutos a 1500 rpm a 4 °C.
4. Se desecha el sobrenadante y se resuspende la pastilla en 4mL de RPMI simple + 200µL de SFB.
5. Se centrifuga durante 5 minutos a 1500 rpm a 4 °C.
6. Se tira el sobrenadante y se resuspende en 1mL de RPMI + 200µL de SFB.
7. Se centrifuga durante 10 minutos a 1500 rpm a 4 °C.
8. Se elimina el sobrenadante y se resuspende en medio Hanks, en un volumen dependiendo del siguiente paso: fenotipo y/o cultivo; si es sólo fenotipo se resuspende en 400µL pero si se hará cultivo también, se resuspende en 600µL.
9. Posterior a este paso se puede hacer el fenotipo de linfocitos.

- **Determinación de fenotipo de linfocitos**

Procedimiento

Nota: Este procedimiento puede hacerse ya obtenidos los linfocitos y resuspendidos en 400µL de medio Hanks

1. Se marcan los tubos Falcon dependiendo de la combinación de anticuerpos* .
2. Se agregan los anticuerpos, a una concentración de 10µL/mL (son 15µL para CD19 e IgA)
3. Se agregan 200µL de la suspensión de células (aproximadamente 1.5×10^6) al tubo correspondiente

4. Se incuban las células durante 30 minutos, cubiertos con aluminio y a 4 °C
5. Transcurrido ese tiempo, se agrega 1mL de medio Hanks frío y se centrifuga 5 minutos a 1500 rpm.
6. Se tira el sobrenadante, se agregan nuevamente 1mL de Hanks frío y se centrifuga 5 minutos a 1500 rpm.
7. Se desecha el sobrenadante y se resuspende en 400µL de paraformaldehído al 1%
8. Las muestras se guardan a 4 °C y protegidos de la luz con papel aluminio. Para su lectura en el citómetro al día siguiente, se trasladan en iguales condiciones.

* Combinación actual de anticuerpos

1: CD3, CD4 y CD8

2: CD3, IgA y CD8

- Citometría de flujo

Para la lectura de las muestras se utiliza un citómetro de flujo (BD FACSCALIBUR) equipado con láser de 488nm capaz de detectar y distinguir emisiones de fluorescencia en 576 y 670nm, además se emplea el software BD CellQuest para analizar las muestras y darle formato a los datos para su análisis subsecuente usando el software BD CBA.

- **Obtención de Inmunoglobulina A en líquido intestinal.**

1. El líquido intestinal obtenido anteriormente se centrifuga y congela a -70°C para obtener y cuantificar IgA-s por la técnica de ELISA.

-Técnica de ELISA

1. Las placas se cubren con 20 g/mL de Igs de conejo anti-IgA de ratón por pozo, se incuban durante 18 h a 4°C.
2. Se lavan tres veces con PBS-T (pH 7.2-0.05% tween 20), posteriormente se incuban con PBS-leche descremada (Svelty) al 5%, durante 1 h a 37°C.

3. Se lavan las placas 5 veces con PBS-T y 5 veces con PBS y se incuban durante 2 h a 37°C con el conjugado de peroxidasa de chivo IgG antiratón cabra anti IgA de ratón (Serotec) diluido 1:2000 en PBS-T.

4. Finalmente las placas se lavan tres veces con PBS-T y 3 veces con PBS. Se revela la reacción con Ortofenilendiamina; y después de 15 min a temperatura ambiente

6.5 Límite de tiempo y espacio

- Tiempo: 3 meses
- Espacio: Laboratorio de investigación en Nutrición del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Ciencias de la Salud (CIEACS) de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Estado de México.

6.6 Diseño de análisis.

Para el análisis de datos se utilizó:

- ANOVA (acrónimo de análisis de la varianza).
- El software SPSS.18 para Windows.
- Medida de tendencia central: Media.
- Medida de dispersión: Desviación estándar.
- T de Student.

VII.IMPLICACIONES ÉTICAS

El presente trabajo de investigación fue aprobado por el comité de Bioética de la Universidad Autónoma del Estado de México. En todo momento se cumplió con la Ley General de Salud referente al reglamento en materia de investigación que indica:

TÍTULO SEPTIMO

De la Investigación que incluya a la utilización de animales de experimentación.

CAPÍTULO ÚNICO

ARTÍCULO 121.- En las investigaciones experimentales con animales, referidas a la salud humana, se deberán llenar los requisitos que establezcan las normas de las propias instituciones de salud, autorizadas por la Secretaría y satisfacer lo señalado en este Capítulo.

ARTÍCULO 122.- Las investigaciones se diseñarán a modo de evitar al máximo el sufrimiento de los animales.

ARTÍCULO 123.- Cuando sea necesario sacrificar a un animal de experimentación, se empleará un procedimiento que asegure en lo posible su muerte sin sufrimiento.

ARTÍCULO 124.- Los bioterios deberán estar de acuerdo con la especie, conformación corporal, hábitos, preferencias posturales y características locomotoras de los animales, para proporcionarles comodidad, excepto cuando las variables experimentales justifiquen otras situaciones.

ARTÍCULO 125.- Los bioterios de producción o mantenimiento crónico serán supervisados por profesionales calificado y competente en la materia y deberán permitir el crecimiento, maduración, reproducción y comportamiento normal de los animales, de conformidad con las normas que la propia institución emita.

ARTÍCULO 126.- El titular de la institución de salud en donde se realice investigación a la que se refiere este Capítulo, deberá establecer y vigilar el cumplimiento de las medidas de seguridad para el cuidado y manejo de los animales, así como las medidas de profilaxis y vacunación necesarias para la protección del personal ocupacionalmente expuesto.

VIII. RESULTADOS

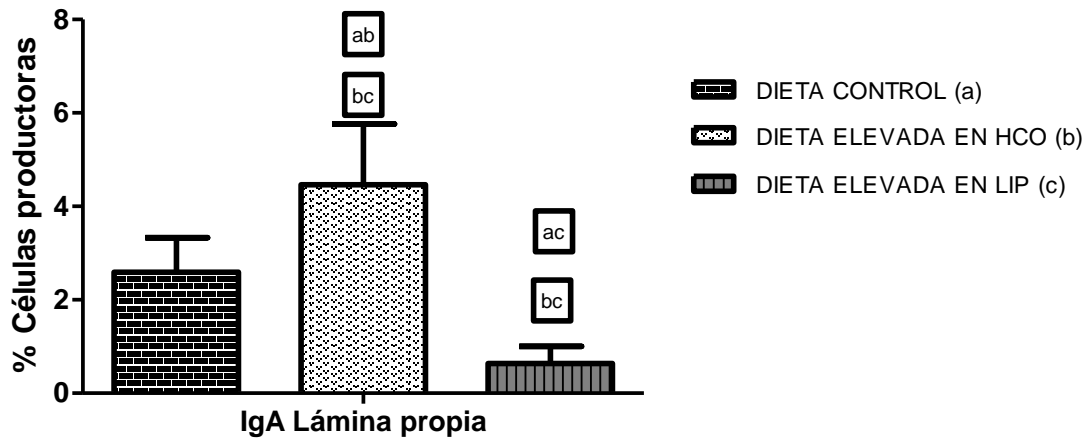
Células positivas para IgA en lámina propia.

Con respecto a las células positivas para IgA en lámina propia el grupo control presentó una media de 2.59% (± 0.74); el grupo de ratones alimentados con dieta elevada en hidratos de carbono obtuvo el valor más alto con una media de 4.46% (± 1.30), la concentración de células productoras de IgA de este grupo se ubicó 1.87% por encima de la dieta control. El grupo que se alimentó con dieta elevada en lípidos presentó la cantidad más baja con una media de 0.64% (± 0.36), esto representa 1.95% por debajo del grupo control. También se observó que la diferencia entre el grupo de dieta elevada en lípidos y el grupo de dieta elevada en hidratos de carbono es de 3.82%. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($F=36.68$ $p \leq .001$). (Tabla 1 y gráfica 1).

Tabla 1. Concentración de células productoras de IgA en lámina propia.

CÉLULAS PRODUCTORAS	DIETA CONTROL		DIETA ELEVADA EN HCO		DIETA ELEVADA EN LIP		F	p
	MEDIA (%)	D.E.	MEDIA (%)	D.E.	MEDIA (%)	D.E.		
IgA Lámina propia	2.59	0.74	4.46	1.30	0.64	0.36	36.68	.001*

*Se realizó ANOVA, las diferencias se consideraron significativas con un valor de $p < .05$. HCO = hidratos de carbono, LIP= Lípidos.



Gráfica 1. Inmunoglobulina A obtenidos de lámina propia de ratones Balb/c alimentados con tres tipos de dieta. Los valores representan la media \pm (DE) de 2 determinaciones, cada grupo con una N=8, se realizó ANOVA, $p < .005$ La prueba Post hoc de Tukey para comparar los tres grupos (a,b,c,) muestra que entre los grupos se encontraron diferencias, con un IC del 95% y una $p < .005$. HCO = hidratos de carbono, LIP= Lípidos.

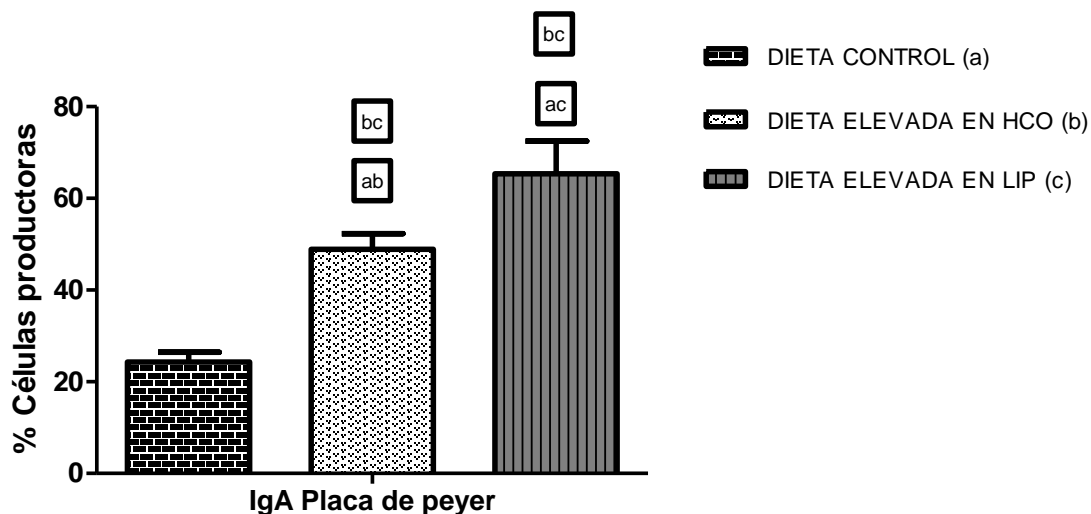
Células positivas para IgA en placa de Peyer.

En cuanto a las células positivas para IgA en placa de Peyer se observaron mayores concentraciones en el grupo alimentado con dieta elevada en lípidos con una media de 65.38% (± 7.15), mientras que el grupo de ratones alimentados con dieta elevada en hidratos de carbono mostró una media de 48.88% (± 3.39), siendo menor la concentración en el grupo control con una media de 24.32% (± 2.12). Respecto a la dieta control la dieta elevada en hidratos de carbono se encontró en mayor concentración con un 24.56% mayor, en tanto que la dieta elevada en lípidos presentó un 41.06% mayor que la dieta control. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($F=152.33$ $p \leq .001$). (Tabla 2 y gráfica 2).

Tabla 2. Concentración de células productoras de IgA en placa de Peyer.

CÉLULAS PRODUCTORAS	DIETA CONTROL		DIETA ELEVADA EN HCO		DIETA ELEVADA EN LIP		F	p
	MEDIA (%)	D.E.	MEDIA (%)	D.E.	MEDIA (%)	D.E.		
IgA Placa de peyer	24.32	2.12	48.88	3.39	65.38	7.15	152.33	.001*

*Se realizó ANOVA, las diferencias se consideraron significativas con un valor de $p < .05$. HCO = hidratos de carbono, LIP= Lípidos.



Gráfica 2. Inmunoglobulina A obtenidos de Placa de peyer de ratones Balb/c alimentados con tres tipos de dieta. Los valores representan la media \pm (DE) de 2 determinaciones, cada grupo con una N=8, se realizó ANOVA, $p < .005$ La prueba Post hoc de Tukey para comparar los tres grupos (a,b,c,) muestra que entre los grupos se encontraron diferencias, con un IC del 95% y una $p < .005$. HCO = hidratos de carbono, LIP= Lípidos.

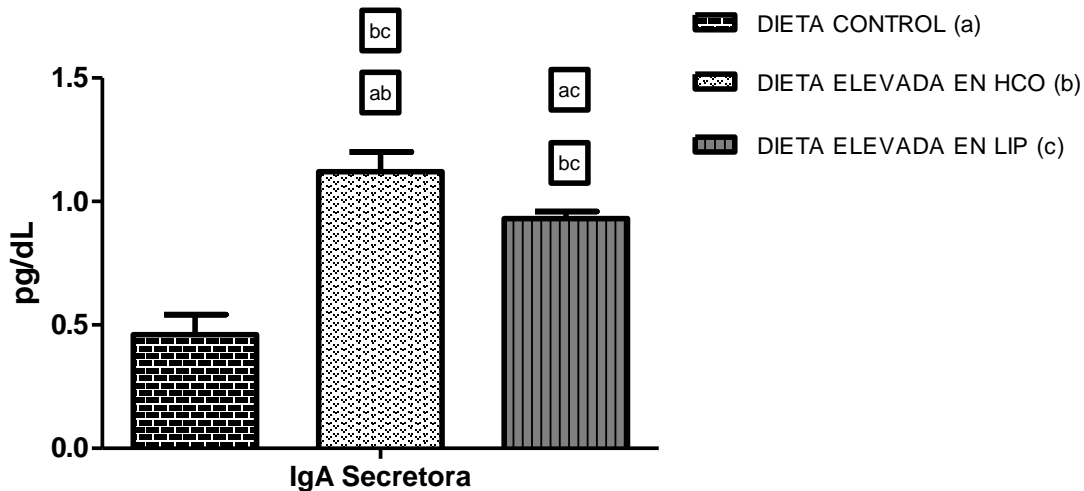
Concentración de IgA secretora en intestino.

Se observaron mayores concentraciones de IgA secretora en los grupos de dieta experimental siendo la media del grupo de dieta elevada en hidratos de carbono de 1.12 pg/dl (\pm 0.084) y del grupo de dieta elevada en lípidos de 0.93 pg/dl (\pm 0.030), con una diferencia entre estos grupos de 0.19 pg/dl. El grupo de ratones alimentados con dieta control tuvo una media de 0.46 pg/dl (\pm 0.082) con un valor de 0.47pg/dl por debajo de la dieta elevada en lípidos y con 0.66 pg/dl menor que la dieta elevada en hidratos de carbono. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($F=40.54$ $p \leq 0.001$). (Tabla 3 y gráfica 3).

Tabla 3. Concentración de IgA secretora en intestino.

	DIETA CONTROL		DIETA ELEVADA EN HCO		DIETA ELEVADA EN LIP		F	p
	MEDIA (pg/dl)	D.E.	MEDIA (pg/dl)	D.E.	MEDIA (pg/dl)	D.E.		
IgA Secretora	0.46	0.82	1.12	.08	0.93	0.03	185.46	.001*

*Se realizó ANOVA, las diferencias se consideraron significativas con un valor de $p < .05$. HCO = hidratos de carbono, LIP= Lípidos.



Gráfica 3. Inmunoglobulina A secretora obtenida de Intestino de ratones Balb/c alimentados con tres tipos de dieta. Los valores representan la media \pm (DE) de 2 determinaciones, cada grupo con una N=8, se realizó ANOVA, $p < .005$ La prueba Post hoc de Tukey para comparar los tres grupos (a,b,c,) muestra que entre los grupos se encontraron diferencias, con un IC del 95% y una $p < .005$. HCO = hidratos de carbono, LIP= Lípidos.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Efecto de la dieta en el sistema inmunitario

En un estudio realizado por Hildebrandt y cols. (2009) en ratones KO (de tipo salvaje) y RELM β , se investigó la influencia que tiene la dieta, el genotipo y la presencia de obesidad en la composición microbiana. Inicialmente los ratones eran alimentados con una dieta estándar y al cambiar a una dieta alta en grasas se encontró que los ratones de tipo salvaje presentaron obesidad, mientras que en los ratones RELM β no se presentó obesidad, también se manifestaron grandes alteraciones en la composición microbiana asociadas con la dieta alta en grasas en ambos genotipos; demostrando así que la dieta alta en grasa en sí misma y no la presencia de obesidad causaron los cambios que se observaron en la flora intestinal. Por lo que en relación al presente estudio, se observa que una dieta alta en grasa tiene un efecto en la mucosa del intestino, pues se notó que en presencia de este tipo de dieta se incrementó el porcentaje de células productoras de inmunoglobulina A en placa de Peyer. ⁽⁴⁶⁾

En un estudio en ratones machos obesos (C57BL de 6 a 8 semanas de edad) alimentados con una dieta alta en grasas (45% de la energía de aceite de manteca de cerdo y soya) y ratones de control alimentados con una dieta regular durante tres meses, se aislaron los nódulos linfáticos mesentéricos e inguinales y se determinó la población de células T, estado de activación, y el grado de apoptosis por análisis de citometría de flujo. Se mostró que la acumulación de grasa visceral aunado a una dieta alta en grasa puede causar la atrofia de los ganglios linfáticos mesentéricos mediante la mejora de la activación inducida por la apoptosis de células linfoides. Por lo que se sugiere que la grasa de la dieta induce a la obesidad visceral y por lo tanto tiene un efecto importante en relación a la disfunción inmunitaria. ⁽⁴⁷⁾

Ruud y cols. (2002) realizaron un estudio en seis grupos de quince ratones BALB / c que se alimentaron con dietas que proporcionan 16% de energía en forma de proteína, 54% en forma de hidratos de carbono y 30% en forma de grasa para imitar el modelo de dietas altas en grasa en los habitantes de países industrializados. Las dietas eran ricas en ácidos

grasos saturados y poliinsaturados. Se empleó un modelo murino de sensibilización (dinitroclorobenceno DNCB) para evaluar los cambios inducidos por la dieta. Se observó una disminución de los niveles séricos de los isotipos Th1-dependientes, mientras los niveles de los isotipos dependientes de Th2 y la mucosa aumentó (IgE) o no se vieron afectados (IgG1 e IgA).⁽⁴⁸⁾ En relación al presente estudio no se empleó ningún modelo de sensibilización y si mostraron efectos en el sistema inmunitario de mucosas.

Se ha estudiado que los hidratos de carbono no digeribles (NDC) como son: galactooligosacaridos, β -glucanos, pectinas, almidón y oligofruktosa tienen un efecto modulador en sistema inmunitario y otros beneficios a la salud. Los hidratos de carbono no digeribles son fermentados por la microbiota intestinal. Se conoce que algunos NDC se unen a receptores específicos sobre células del sistema inmunitario⁽⁴⁹⁾.

Se realizó un experimento en ratas jóvenes y de edad avanzada para evaluar el efecto de tres tipos de dieta (dieta control, dieta baja en proteínas y alta en hidratos de carbono, y dieta alta en proteínas y baja en hidratos de carbono) sobre la respuesta inmunitaria. Los resultados obtenidos mostraron que las dietas con diferente distribución nutrimental pueden actuar como moduladores de la respuesta inmunitaria exógena aunado a la edad y que la dieta baja en proteínas y alta en hidratos de carbono puede ser beneficiosa para reducir la velocidad de deterioro de la respuesta inmunitaria en individuos de edad avanzada.⁽⁵⁰⁾ Dichos resultados son similares al presente estudio en razón de que un cambio en los porcentajes de lípidos e hidratos de carbono en la dieta puede afectar positivamente el sistema inmunitario humoral.

Inmunoglobulina A y dieta

Estudios en ratones señalan que la IgA es esencial para la regulación de la flora intestinal y afirman que la IgA es capaz de modular la expresión de estructuras de las superficies bacterianas.⁽⁵¹⁾

Estudios en ratones han informado que la dieta representa un factor importante para la estimulación en la formación de folículos linfoides aislados ⁽⁵²⁾. En el presente estudio la dieta elevada en hidratos de carbono tuvo un efecto en el desarrollo de células productoras aumentando su porcentaje en los tejidos de lámina propia y placas de Peyer respecto a la dieta control. Así mismo, la dieta alta en lípidos presentó un efecto en la lámina propia al modificar el porcentaje de células productoras.

Nicole Manhart y cols. (2003) investigaron el efecto inmunomodulador que ejercen los fructooligosacáridos (FOS) sobre las placas de Peyer en hembras Balb/C sanas y endotoxémicas, los ratones fueron alimentados con una dieta suplementada con FOS durante 16 días. Las placas de Peyer fueron extirpadas y al analizarse se encontró que, los FOS tienen un efecto inmunoestimulante en los linfocitos de placa de Peyer en condiciones saludables y endotoxémicas; por lo que se puede concluir que los hidratos de carbono en este caso los FOS afectan el principal sitio inductivo del sistema inmunitario intestinal. En comparación con este estudio los resultados mostraron que la dieta alta en hidratos de carbono aumentó el porcentaje de células productoras de IgA en lámina propia al igual que en placa de Peyer con respecto a la dieta control. ⁽⁵³⁾

IgA secretora

En el presente estudio se encontró que la dieta alta en lípidos por si sola provocó un aumento en la IgA secretora, en comparación con otro estudio realizado por Okazaki y cols. (2010) en ratas donde se observó que el consumo de una dieta alta en grasa aunada a un polifenol como la curcumina, elevan la concentración de inmunoglobulina A intestinal ⁽⁵⁴⁾.

Seifert y Watzl (2007) informaron que los hidratos de carbono no digeribles afectan el sistema inmunitario, pues se ha demostrado que la inulina y la oligofruktosa intervienen en los procesos inmunitarios a nivel del tejido linfoide asociado a intestino en humanos adultos. Por otro lado los estudios en bebés indican que la suplementación con prebióticos tiene un efecto en el desarrollo inmunitario posnatal, incrementando la

inmunoglobulina A secretora.⁽⁵⁵⁾ Lo cual concuerda con este estudio al demostrar que la dieta elevada en hidratos de carbono tuvo un efecto al incrementar la concentración de IgA secretora, aunque la diferencia respecto al presente estudio estriba en el hecho de que Seifert y Watzl emplearon únicamente hidratos de carbono no digeribles.

Se realizó un estudio de tres grupos de ratones con dietas diferentes, uno con dieta alta en hidratos de carbono, otro con dieta alta en lípidos y la dieta control, donde se evaluó el efecto de la dieta en el sistema inmunitario sobre las placas de Peyer del intestino de ratones. Se obtuvieron linfocitos T de los cuales se determinaron que en una dieta alta en lípidos disminuyen CD3, CD4 y CD8 y con la dieta alta en hidratos de carbono aumentaron respecto a la dieta control. En cuanto a las IL y TNF aumentaron tanto en la dieta alta en hidratos de carbono como en la dieta alta en lípidos en relación a la dieta control. En este estudio se concluye que una dieta alta en lípidos afecta drásticamente el sistema inmunitario presentando una disminución en las poblaciones de células T y aumentando el TNF. En relación al presente estudio se mostró un efecto similar pero en células productoras de IgA en lámina propia donde la dieta elevada en lípidos provocó una disminución de células productoras de IgA respecto a la control.⁽⁵⁶⁾

Martínez –Carrillo y cols. (2009) realizaron un estudio en ratones cepa Balb/c cuyo objetivo fue evaluar el efecto de una dieta con alto contenido en grasas y una dieta con un alto contenido de hidratos de carbono sobre linfocitos B y células positivas para IgA en el sistema inmunitario de la mucosa de ratones. Los resultados demostraron que las células positivas para CD19 mostraron un valor más alto en placa de Peyer con la dieta control y posteriormente las dietas experimentales. En lámina propia las células positivas para IgA fueron más altas en el grupo de ratones alimentados con dieta alta en hidratos de carbono, seguidos por los alimentados con dieta control; mientras que en placa de Peyer, las células positivas para IgA alcanzaron los valores más altos con la dieta alta en grasas, seguido por la dieta alta en hidratos de carbono y dieta control. Se puede decir entonces que las modificaciones en la dieta participan en la disminución de linfocitos B o

en la aceleración de su transformación en células productoras de IgA, actuando como un estímulo antigénico a nivel de la mucosa, lo cual concuerda con el presente estudio.⁽⁵⁷⁾

X. CONCLUSIONES

- Es evidente que la dieta elevada en lípidos y la dieta elevada en hidratos de carbono tienen un efecto en la producción de inmunoglobulina A de ratones.
- La dieta elevada en hidratos de carbono tuvo un efecto en lámina propia al aumentar la concentración de células productoras de IgA .
- En placa de Peyer la dieta elevada en lípidos aumentó el porcentaje de células productoras de IgA.
- La IgA secretora tuvo mayor concentración por efecto de la dieta elevada en hidratos de carbono.
- El efecto de la dieta elevada en lípidos fue menor en lámina propia respecto a la dieta control y la dieta elevada en hidratos de carbono.
- Las dietas experimentales tuvieron un efecto en placa de Peyer al incrementar la concentración de células productoras de IgA.
- La IgA secretora se incrementó por efecto de las dietas experimentales.
- Los resultados del presente estudio son alentadores, pero es necesaria una minuciosa consideración al hacer la extrapolación de los datos obtenidos a los seres humanos, ya que existen marcadas diferencias respecto a los factores fisiológicos y metabólicos entre modelos animales y humanos, así como diferencias en la composición de las dietas consumidas por seres humanos y murinos.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Calder PC. Immunological Parameters: What Do They Mean. *J of Nutr.* 2007;137 : 773-780.
2. Wolowczuk I, Verwaerde C, Viltart O, Delanoye A, Delacre M, Pot B, et al. Feeding Our Immune System: Impact on Metabolism. *Clin Dev Immunol.* 2008: 639803.
3. Giraldo PM, Vásquez G, et al. Respuesta inmunológica con el ejercicio. *Rev Colomb Reumatol.* 2002 Diciembre; 9 (4):251-261.
4. Schmidlin H, Sean AD, Blom B. New insights in the regulation of human B cell differentiation. *Trends immunol.* 2009 June; 30(6): 277-285
5. Coombes JL, Powrie F. Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nat Rev Immunol.* 2008 June; 8(6): 435-446.
6. McDonald KG, McDonough JS, Newberry RD. Adaptive Immune Responses Are Dispensable for Isolated Lymphoid Follicle Formation: Antigen-Naive, Lymphotoxin-Sufficient B Lymphocytes Drive the Formation of Mature Isolated Lymphoid Follicles. *J Immunol.* 2005;174:5720-5728.
7. García de Lorenzo y Mateos A, Acosta Escribano J, Rodríguez Montes JA. Importancia clínica de la translocación bacteriana. *Nutr Hosp.* 2007;22(Supl. 2):50-5
8. Wijk F, Cheroutre H. Intestinal T cells: Facing the mucosal immune dilemma with synergy and diversity. *Semin Immunol.* 2009 June; 21(3): 130–138.
9. Erickson KL, Hubbard NE. Assessing mucosal immunity with new concepts and innovative, time-honored strategies. *Nutr Rev.* 2009; 67(Suppl. 2):172–182.
10. Corthésy B. Roundtrip Ticket for Secretory IgA: Role in Mucosal Homeostasis?. *J Immunol.* 2007; 178: 27-32.
11. Ramiro-Puig E, Pérez-Cano FJ, Castellote C, Franch A and Castell M, The bowel: A key component of the immune system. *Rev Esp Enferm Dig.* 2008; 100 (1): 29-34
12. Roitt I, Delves P. *Essential Immunology.* 10th edition. Blackwell Science Ltd, Londres, Inglaterra, 2001. pp.25,58-60.
13. Carrol MC. The Complement system in regulation of adaptative immunity. *Nat Immunol* 2004; 5(10):981-6.
14. Corthésy B, Benureau Y, Perrier C, Fourgeux C, Perez N, Greenberg H, Schwartz I. Rotavirus Anti-VP6 Secretory Immunoglobulin A Contributes to Protection via Intracellular Neutralization but Not via Immune Exclusion. *J Virol.* 2006 November; 80(21): 10692–10699.
15. Zuñiga-Torres MG, Martínez-Carrillo BE, Pardo-Morales RV, Benitez-Arciniega A, Valdez-Ramos, Roxana. Sistema Inmunitario y Nutrición. *Rev Fac Med UAEMex.*
16. Tezuka H, Abe Y, Iwata M, Takeuchi H, Ishikawa H, Matsushita H, et al. Regulation of IgA production by naturally occurring TNF/iNOS-producing dendritic cells. *Nature.* 2007; 448:929-933
17. Sira M, Yoshida T, Takeuchi M, Kashiwayama Y, Futatani T, Kanegane H, et al. A novel immunoregulatory protein in human colostrum, syntenin-1, for promoting the development of IgA-producing cells from cord blood B cells. *Inter Immunol,* 2009;21 (9):1013–1023

18. Snoeck V, Peters IR, Cox E. The IgA system: a comparison of structure and function in different species. *Vet Res.* 2006 May-Jun; 37(3):455-67
19. Czyzewska-Buczyńska A, Lewandowicz-Uszyńska A, Jankowski A. IgA, an essential part of the immune system: selected issues. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2007 Jan 29;61:38-47.
20. Oliver S, Laing S, Wilson S, Bilzon J, Walters R, Walsh N. Salivary immunoglobulin A response at rest and after exercise following a 48 h period of fluid and/or energy restriction. *Br J Nutr.* 2007; 97(6):1109-1116
21. Casanueva E, Kaufer-Horwitz M, Pérez-Lizaur AB, Arroyo P. Los alimentos y la dieta *Nutriología Médica*. 1ª ed. México:Panamericana;2001.pág 487.
22. Newell MK, Villalobos- Menuey E, Schweitzer SC, Harper ME, Camley RE. Cellular metabolism as a basis for immune privilege. *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines.* 2006; 4(1):1-6
23. Mataix Verdú, José. Tratado de Nutrición y Alimentación.Ed.Oceano/ergon,España 2000,pp 74-77,121.
24. García-Gabarra A. Ingesta de Nutrientes: Conceptos y Recomendaciones Internacionales (2ª Parte). *Nutr Hosp.* 2006;21(4):437-47
25. Mahan K, Escott-Stump. *Nutrición y Dietoterapia de Krause*.10ª ed.México:Mc Graw Hill Interamericana;2001.Pág.46-47
26. Hanaway P. Balance of flora, Galt, and mucosal integrity. *Altern Ther Health Med.* 2006 Sep-Oct; 12(5):52-60.
27. Ramiro-Puig E, Pérez-Cano FJ, Ramos-Romero S, Pérez-Berezo T, Castellote C, Permanyer J, et al. Intestinal immune system of young rats influenced by cocoa-enriched diet. *J Nutr Bioch.* 2008; 19 (8) 555-65
28. Marcos A, Nova E, Montero A. Changes in the immune system are conditioned by nutrition. *European Journal of Clinical Nutrition.* 2003; 57 (Suppl 1): 66–69.
29. Yaqoob P, Calder PC. Fatty acids and immune function: new insights into mechanisms. *Br J Nutr.* 2007; 98(1): 41-45.
30. Fritsche K. Fatty acids as modulators of the immune response. *Annu Rev Nutr.* 2006;26:45-73.
31. Calder P C. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr.*2006;83(6): 1505-19.
32. Granados S, Quiles JL, Gil A, Ramírez-Tortosa MC. Lípidos de la dieta y cáncer. *Nutr Hosp.* 2006; 21 (Supl. 2):44-54
33. Valdés RR, Benítez AD. Nutrition and immunity in cancer.*Br J Nutr.*2007; 98(1): 127–132.
34. Nayak BN, Friel JK, Rempel CB, Jones PJ. Energy diets result in a greater number of CD4 + and CD8 +, immunoglobulins (A, F and G) and CD45RA cells in the spleen and CD4 +, immunoglobulin A, and CD45RA cells in the lamina propria of the colon rats. *Nutr Res.* 2009 Jul; 29 (7) :487-93.
35. Verwaerde C, Delanoye A, Macia L, Tailleux A, Wolowczuk I. Influence of high-fat feeding on both naive and antigen-experienced T-cell immune response in DO10.11 mice. *Scand J Immunol.* 2006 Nov;64(5):457-66.

36. M'Rabet L, Stahl B, Boehm G, Garssen J. Immune-Modulatory Effects and Potential Working Mechanisms of Orally Applied Nondigestible Carbohydrates. *Crit Rev Immunology*. 2007; 27 (2) : 97-140.
37. Watzl, Bernhard. Inulin and Oligofructose: Review of Experimental Data on Immune Modulation1-4. *J Nutr*. 2007;137 : 2563-7.
38. Rodríguez YE. Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. *Acta Bioeth*. 2007; 13(1): 25-40.
39. Mazana JS. Los ratones sinérgicos y los genes de histocompatibilidad.<<http://www.fctransplant.org/agenda/...especiales/./Historia%20MCH.pdf/>
40. Mestas J, Christopher CW. Hughes Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology. *J Immunol*.2004;172:2731-2738.
41. Olaiz FG, Rivera DJ, Shamah LT, Rojas R, Villalpando HS, Hernández A, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT). 2006; 85-102.
42. Bourges H. La alimentación y la nutrición en México. *Comer Exter*.2001;51 (10).
43. Ortiz-Hernández L, Delgado-Sánchez G, Hernández-Briones A. Cambios en factores relacionados con la transición alimentaria y nutricional en México. *Gac. Méd. Méx*. 2006;142(3):181-93.
44. Chandra R K. Nutrition and the immune system from birth to old age. *Eur J. of Clin Nutr*.2002; 56(3).
45. De Pablo MA, Álvarez G. Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol and Cell Biol* .2000; 78: 31–39.
46. Hildebrandt MA, Hoffmann C, Scott A, Sherrill M, Keilbaugh SA, Hamady M. High-Fat Diet Determines the Composition of the Murine Gut Microbiome Independently of Obesity. *Gastroenterology*. 2009; 137(5):1716–24
47. Kim CS, Lee SC, Kim YM, Kim BS, Choi HS, Kawada T, et al. Visceral fat accumulation induced by a high-fat diet causes the atrophy of mesenteric lymph nodes in obese mice. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(6):1261-9.
48. Albers R, Bol M, Bleumink R, Willems A, Blonk C, Pieters R. Efectos de los lípidos de la dieta sobre la función inmunitaria en un modelo murino de sensibilización. *Br J Nutr*. 2002; 88, 291–299
49. Vos AP, M'Rabet L, Stahl B, Boehm G, Garssen J. Immune-Modulatory Effects and Potential Working Mechanisms of Orally Applied Nondigestible Carbohydrates. *Crit Rev Immunology*. 2007; 27 (2) : 97-140
50. Pal S, Poddar MK. Dietary protein–carbohydrate ratio: Exogenous modulator of immune response with age. *Immunobiology*. 2008;213(7):557-66.
51. Sutherland DB, Fagarasan S. IgA synthesis: a form of functional immune adaptation extending beyond gut. *Curr Opin Immunol*. 2012 Jun;24(3):261-8
52. Mestecky J, Mcghee JR. Immunoglobulin A (IgA): Molecular and Cellular Interactions Involved in IgA Biosynthesis and Immune Response. *Adv Immunol*. 1987;40:153-245.
53. Manhart N, Spittler A, Bergmeister H, Mittlböck M, Roth E. Influence of Fructooligosaccharides on Peyer's Patch Lymphocyte Numbers in Healthy and Endotoxemic Mice. *Nutrition*. 2003 Jul-Aug;19(7-8):657-60

54. Okazaki Y, Han Y, Kayahara M, Watanabe T, Arishige H, Kato N. Consumption of curcumin elevates fecal immunoglobulin a, an index of intestinal immune function, in rats fed a high-fat diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2010;56(1):68-71.
55. Seifert S, Watzl B. Inulin and Oligofructose: Review of Experimental Data on Immune Modulation1-4. *J Nutr*. 2007 Nov;137(11 Suppl):2563S-2567S
56. Martínez BE, Jarillo LR, Rivera AV, Campos RR, Pardo MR, Jiménez LD, et al. The effect of a high fat or high carbohydrate diet on the immune system of young Balb/c mice. *Proc Nutr Soc*. 2010; 69
57. Martínez BE, Jarillo LR, Rivera AV, Campos RR, Pardo MR, Rosales GC. Et al. Dietary modification of B lymphocytes. *Proc Nutr Soc*. 2010; 69

XII. ANEXOS

Anexo 1. Contenido nutrimental de la dieta experimental expresado en porcentaje

DIETA ELEVADA EN HIDRATOS DE CARBONO: DIO RODENT PURIFIED DIET W/10% ENERGY FROM FAT YELLOW 58Y2		
Macronutrientos	Porcentaje	Kcal/g
Hidratos de carbono	% 60.36	2.96
Grasas	%22.5	1.10
Proteína	%17.2	0.84
Total	%100	4.9

DIETA ELEVADA EN LÍPIDOS: DIO RODENT PURIFIED DIET W/45% ENERGY FROM FAT RED 58V8		
Macronutrientos	Porcentaje	Kcal/g
Hidratos de carbono	35.5 %	1.649
Grasas	45.7 %	2.124
Proteína	18.3 %	0.850
Total	100 %	4.62

DIETA CONTROL: AIN-93G GROWTH PURIFIED DIET (ALSO KNOW AS #5801-G) 57W5		
Macronutrientos	Porcentaje	Kcal/g
Hidratos de carbono	65%	2.8
Grasas	16%	.70
Proteína	19%	.83
Total	100%	4.40

Anexo 2. Distribución porcentual del tipo de grasa de cada dieta

TIPO DE ÁCIDOS GRASOS	TIPO DE DIETA		
	Control	Elevada en lípidos	Elevada en hidratos de carbono
A. G. Saturados	15.5 %	38.3%	26.5%
A. G. Monoinsaturados	23.5%	39.5%	30.20%
A. G. Poliinsaturados	60.9%	22.2%	43.20%
Colesterol	0.0	196 ppm	18 ppm*

*ppm: partes por millón

Anexo 3. Contenido nutrimental de las dietas expresado en gramos

Cada 100g de alimento contiene:

MACRONUTRIMENTOS		TIPO DE DIETA		
		Control	Elevada en lípidos	Elevada en Hidratos de carbono
Hidratos de carbono	Almidón	39.74	0.00	0.00
	Maltodextrina	13.20	20.13	33.17
	Sucrosa	10.00	20.13	33.18
	Total	62.94	40.26	66.35
Grasas	Aceite de soya	7.01	2.91	2.37
	Manteca de cerdo	0.00	20.69	1.93
	Total	7.01	23.6	4.3
Proteína	Caseína	20.00	23.30	18.95
Total		89.96	87.16	89.60
	Celulosa	0.0	5.83	4.73
	Vitaminas y minerales	10.00	7.01	5.67