

AMILASAS PACREATICAS Y SALIVARES EN NIÑOS DESNUTRIDOS¹
 Ronald R. Watson, Ph. D.², John G. Tye³, Marco A. Reyes, M.D.⁴ y David
 N. McMurray, Ph.D.⁵

EXTRACTO

Se midió la producción de amilasas, en la orina y en las secreciones de un grupo de niños severamente desnutridos y en un grupo de niños normales. Se observaron cambios significativos en la actividad de las amilasas pancreáticas y salivares de los niños desnutridos con relación a los niños normales. Se observó un aumento relativo en las amilasas salivares y disminución en las amilasas pancreáticas. En los niños desnutridos grado II y en los desnutridos grado III la actividad de las amilasas estaba prácticamente suprimida tanto en la saliva y lágrimas como en el suero.

INTRODUCCION

Las alfa-amilasas (alfa-1, 4-glucan 4-glucanhidrolasas) son importantes en la digestión de almidones, a los cuales hidrolizan y transforman en polímeros de glucosa^{1,2}. Las alfa-amilasas humanas son los productos de dos loci estrechamente ligados²; Amy₁ expresado primordialmente en las glándulas salivares y Amy₂ expresado en el páncreas³. Ambos loci orientan la producción de una compleja familia de enzimas, que muestran diferente movilidad electroforética en el gel de poliacrilamida, según la técnica de Ward y col.⁴. El método de electroforesis permite la diferenciación y comparación directa de todas las amilasas en la orina.

Las amilasas orales funcionan degradando almidones y juegan así un papel importante en mantener alcalino el medio de la boca y en la conversión de carbohidratos en azúcares absorbibles.

Manaker y Navia⁵ encontraron que las ratas jóvenes desnutridas tenían una baja significativa en la producción de saliva y sus proteínas totales, con aumento en las caries. Watson (observaciones sin publicar) ha confirmado algunos de estos resultados y ha visto una disminución en las proteínas de la saliva de las ratas jóvenes severamente desnutridas. La desnutrición intrauterina, seguida por dieta pobre en proteínas

produce una baja significativa en la amilasa salivar de la rata hija. Si en la desnutrición prolongada se adiciona un 8% de proteínas, en una dieta iso-energética y mayor ingesta de almidones se estimula la producción de amilasas.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 2 grupos de niños (n=135) de la misma extracción racial y socio-económica, en la ciudad de Cali a quienes se tomaron muestras de suero, orina, saliva total y lágrimas.

En el grupo A, 71 niños fueron estudiados desde su nacimiento hasta los 21 meses empleando varios parámetros inmunológicos. El grupo B los formaban 64 niños con un promedio de 44 meses de edad, estudiados en 2 centros de salud. Ninguno de los niños estaba seriamente enfermo en el momento de la toma de las muestras. El estado nutricional se determinó mediante las tablas colombianas de sexo-talla-edad.

Las muestras de suero, orina, saliva total y lágrimas se colectaron según las técnicas descritas por Reyes et al.⁶.

Actividad total de amilasa

La amilasa en la orina fue medida por una modificación del método de Searcy et al.⁷ de acuerdo con Tye y col. (resultados sin publicar) el método amiloclástico es menos satisfactorio para detectar amilasa y a bajos niveles, tales como los que se presentan en la orina de estos infantes. Se adicionó a la orina (0.25 ml) solución de almidón al 1% para que un tubo control 1 ml de solución de almidón y 2 ml de ácido dinitrosalicílico (DNSA) al 1% como reactivo. Ambos fueron incubados por 60 minutos a 37°C, y la reacción fue detenida con la acción de 2.0 ml de solución DNSA al tubo de ensayo. Los tubos se colorearon al colocarlos por 5 minutos en agua hirviendo y las mezclas se diluyeron al 1:10 con agua destilada. La lectura se hizo a 540 nm y se comparó con una curva estandar de maltosa.

Se definió una unidad de actividad enzimática como 1 mg de maltosa producida durante los 60 minutos de incubación de la muestra.

La actividad de la amilasa en las lágrimas, suero y saliva se midió por el método de Somogyi⁸. Una Somogyi es definida como la actividad de la amilasa requerida para reducir 1 mg de glucosa en 30 minutos a 40°C. La proteína se midió por el procedimiento de Lowry et al.⁹.

Electroforesis de amilasa urinaria

La técnica de la muestra múltiples, hoja vertical de poliacrilamida para electroforesis de saliva y orina, se ha informado en otro lugar¹⁰.

-
1. Auspiciado por la Universidad del Tulane Centro Internacional de Investigaciones Médicas (CIDEIM), Donación No. AI-10050 del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas de los Estados Unidos y por la Universidad del Valle.
 2. Profesor Asociado, Departamento de Microbiología, Indiana University Medical School, Indianapolis, Indiana, EE. UU.
 3. Estudiante de Medicina, University of Cincinnati Medical School, Ohio, EE. UU.
 4. Profesor Asociado, Departamento de Pediatría, Universidad del Valle.
 5. Profesor Asociado, Departamento de Microbiología e Inmunología, Texas A&M University, College Station Texas, EE. UU.

Cuadro 1. Edad, Sexo y hemograma en Niños Normales y Desnutridos (Grupo A).

	Normal	Grado I	Grado II
Número de niños	27	32	12
Edad promedio (meses)	21.2(18.8-24) ^a	21.8(19.5-25)	21.2(20-23.8)
Sexo (F/M)	12/15	15/17	7/5
Hematocrito (%)	36.9 ± 0.7 ^b	35.1 ± 0.6	35.6 ± 1.5
Linfocitos circulantes (No. / mm ³)	4687 ± 230 ^b	4483 ± 173	3802 ± 375
Proteínas totales (g/100 ml)	5.01 ± 0.33 ^b	4.63 ± 0.28	4.79 ± 0.32
Albumina sérica (g/100 ml)	3.73 ± 0.26 ^b	3.85 ± 0.18	3.38 ± 0.73

a = promedio (rango)

b = promedio ± error estandard (EE)

Actividad de aminopeptidasas

La actividad de las aminopeptidasa se midió siguiendo las técnicas descritas por Reyes et al.⁶.

Se midió la albúmina sérica con bromocresol verde¹¹. La albúmina en las lágrimas fue medida por inmunodifusión radial (Hyland-Costa Mesa, California).

RESULTADOS

Los datos sobre la edad, el sexo y el hemograma para los niños del grupo A se presentan en el Cuadro 1. La edad promedio fue casi igual en los 3 grupos nutricionales, con un predominio en el sexo masculino. No hubo variación significativa en el hematocrito, proteínas totales y albúmina. Los niños desnutridos grado II tenían niveles reducidos de linfocitos circulantes, aunque la diferencia no era estadísticamente significativa.

La edad promedio del grupo B de niños, varió entre 38 y 45 meses en los diferentes grupos, siendo 27 niños normales y 37 con variables grados de desnutrición (Cuadro 2). El sexo tuvo relativo predominio masculino.

No se observaron variaciones significativas en los valores de hemoglobina, hematocrito y leucocitos. Se encontró una reducción importante en la cifra de proteínas totales y de la albúmina sérica en los niños más desnutridos. Tres de los 17 niños grado III, presentaban signos de marasmo.

Actividad de amilasas en la orina

La actividad de las amilasas pancreáticas muestra una reducción significativa en los niños más desnutridos. Un hallazgo similar fue observado en cuanto a las proteínas totales en la orina y a la actividad total de las amilasas, presentadas por enzimas pancreáticas (Cuadro 3).

Cuadro 2. Edad, Sexo y Hemograma en Niños Normales y Desnutridos (Grupo B).

	Normal	Grado I	Grado II	Grado III
Número de niños	27	11	9	17
Edad Promedio (meses)	43(30-57) ^a	44(27-60)	38(27-48)	45(25-60)
Sexo (F/M)	10/17	4/7	3/6	6/11
Hemoglobina	12.7 ± 0.8 ^b	12.3 ± 0.5	12.2 ± 0.3	12.2 ± 2.8
Hematocrito (%)	39 ± 1	37 ± 1	38 ± 1	38 ± 2
Leucocitos / mm ³	10.047 ± 2.123 ^b	12.190 ± 1950	11.840 ± 1.333	11.580 ± 1.925
Proteínas totales (g / 100 ml)	5.53 ± .25 ^b	4.43 ± .23	4.65 ± .36	3.85 ± .17
Albumina Sérica (g / 100 ml)	4.61 ± .13 ^b	4.34 ± .20	2.89 ± .21	2.70 ± .08

a = promedio (rango)

b = promedio ± EE

Cuadro 3. Actividad¹ de Amilasas Pancreáticas y Salivares en Orina de Niños Normales y Desnutridos (Grupo A).

Estado Nutricional	Amilasas pancreáticas	Amilasa salivar	Amilasas totales pancreáticas (%)	Proteínas x mg/100 ml 100 ml
Normal (25) ²	0.848 ± 0.131	0.870 ± 0.115	48.5 ± 5.5	141.4 ± 25.1
Grado I (27)	0.675 ± 0.085	0.800 ± 0.106	43.6 ± 3.9	139.2 ± 55.9
Grado II (9)	0.181 ± 0.066 ³	0.720 ± 0.149	25.1 ± 1.0 ³	87.2 ± 21.7 ⁴

1 = Mg maltosa liberada / min a 37° ± EE

2 (n) = número de niños en cada grupo

3 = significativamente más baja que en los niños normales a un nivel de confianza de p < .01

4 = significativamente más baja que en niños normales a un nivel de confianza de p < .01

Sin embargo, en los niños mayores y más desnutridos (grupo B) los patrones de 2 tipos de amilasas fueron similares a los de los niños normales (Cuadro 4).

Actividad de amilasas en lágrimas y saliva

La actividad total de amilasas fue significativamente más baja en las lágrimas de los desnutridos grupo II, como se puede observar al compararla con la de los niños normales (Cuadro 5). En el primer grado de desnutrición no hubo cambio en las amilasas de las lágrimas con respecto a los niños normales pero en cambio estaban reducidas 48% en los niños desnutridos grado II. Sin embargo, las proteínas totales y la aminopeptidasa no registraron variaciones significativas (Cuadro 6). Las proteínas totales, aminopeptidasas y albúmina en saliva total, no ofrecieron variaciones notables. Igual hecho se observó en el grupo B de niños, entre la albúmina, proteínas totales y aminopeptidasas, con referencia a las lágrimas de los niños controles y desnutridos (Cuadro 7).

DISCUSION

Ha sido demostrado en ratas que la desnutrición produce cambios significativos en las amilasas salivares⁵. Se ha encon-

trado una baja similar en la actividad de las amilasas de la saliva y las lágrimas en niños severamente desnutridos¹⁰. Aunque las aminopeptidasas, albúmina y proteínas totales no estaban significativamente disminuídas, la reducción de las amilasas no se traduce necesariamente por una reducción general en la síntesis o secreción de proteínas en lágrimas y saliva. La reducción de amilasas puede presentar un fenómeno más o menos general dentro de las proteínas secretoras.

Tanto la IgA secretora y la lisozoma como las amilasas, son producidas en superficies mucosas o glándulas secretoras. Estas se encuentran muy reducidas en lágrimas y saliva de niños severamente desnutridos¹⁰. La baja de amilasas salivares en niños desnutridos, traduce un detrimento de la salud. En particular una pobre degradación de los almidones suministra menos energía y al permanecer más tiempo en la cavidad oral puede aumentar las placas dentales y caries⁵. Los niveles de amilasas en saliva, suero, lágrimas y amilasas pancreáticas en orina se encontraron disminuídas significativamente.

Otros estudios de patrones de lisosimas¹² muestran que las amilasas pancreáticas y salivares aparecen en la orina. Aunque la actividad total de amilasas en la orina de los niños desnu-

Cuadro 4. Actividad¹ de Amilasas Pancreáticas y Salivares en Orina en Niños Normales y Desnutridos (Grupo B)

Estado nutricional	Amilasas pancreáticas	Amilasa salivar	Amilasas total pancreáticas (%)	Proteínas mg/100 ml
Normal (27) ²	0.716 ± 0.105	0.871 ± 0.109	41.2 ± 5.7	164.1 ± 39.8
Grado I (12)	0.893 ± 0.135	0.948 ± 0.171	50.2 ± 9.8	182.0 ± 62.0
Grado II (6)	0.484 ± 0.103	1.15 ± 0.271	29.1 ± 9.2	164.1 ± 40.0
Grado III (14)	0.725 ± 0.166	1.06 ± 0.091	39.3 ± 6.9	125.0 ± 20.3

1 = Mg maltosa liberada / min a 37° ± EE

2 (n) = número de niños en cada grupo

Cuadro 5. Actividad de Amilasas en Lágrimas de Niños Controles y Desnutridos (Grupo A)

Estado Nutricional	Actividad de amilasas ¹	Actividad de aminopeptidasa ²	Proteínas totales ³	Albúmina ³
Normal				
Normal (25)	297.6 ± 20.8	0.106 ± 0.018	730 ± 100	37 ± 6
Grado I (27)	246.5 ± 12.7	0.110 ± 0.017	920 ± 130	40 ± 4
Grado II (9)	158.0 ± 17.4 ⁴	0.080 ± 0.009 ⁴	880 ± 230	34 ± 10

1 = Unidades Somogyi (promedio ± EE)

2 = Unidades Aminopeptidasa (promedio ± EE)

3 = mg/ml (promedio ± EE)

4 = significativamente más bajo que los niños normales a un nivel de $p < .01$

tridos (Grupo A) estaba más baja que en los niños controles la contribución de otras enzimas salivares parece elevarlas proporcionalmente, pero esto no ocurre con las enzimas pancreáticas, donde las amilasas aparecen bajas. Townes¹³ ha mostrado que una reducción en la función pancreática produce más baja eliminación de amilasas en la orina, que las observadas en estos niños desnutridos. La baja de amilasas pancreáticas en la orina fue menor en el grupo de niños mayores (grupo B). Esto puede ser similar a lo sucedido con las ratas que sufren de insuficiencia proteica crónica y prolongada. Después de 110 días de dieta con bajas proteínas y abundantes almidones, las ratas secretaron más amilasa y proteínas totales, lo cual representan una inducción de amilasas⁵. Se ha visto que los efectos de la desnutrición proteica sobre la secreción de amilasas en lágrimas, saliva total y orina, determinan una reducción en los niveles de amilasas. En estos niños que reciben bajas proteínas y abundante dieta carbohidratada ocurren 2 fenómenos diferentes. Uno, es la inducción o estimulación de actividad de amilasas por la presencia de la dieta de carbohidratos. En humanos, Squires¹⁴ informa que nativos adultos africanos que consumen aproximadamente 450 g de carbohidratos diariamente tenían valores de amilasa 10 veces más altos que los observados en nativos normales que consumen una dieta alta en proteínas y baja en carbohidratos. Los europeos que viven

en el Africa y consumen una dieta mixta, dan valores de amilasas, entre los 2 grupos anteriores de nativos. Este estudio es de difícil interpretación por la diferente naturaleza social y étnica de los 3 grupos involucrados, que incluían pigmeos, europeos y negros africanos. Con niños racial y socio-económicamente similares no se observó una estimulación significativa de las amilasas.

El segundo fenómeno que puede afectar la actividad de las amilasas es la baja dieta en proteínas, que conduce a la desnutrición. Esto podría explicar las bajas amilasas en lágrimas saliva, suero y en la orina (grupo A).

En afirmación de este hallazgo, las ratas desnutridas muestran baja en proteínas, amilasas y volumen de saliva durante su período de crecimiento hasta la madurez⁵.

La reducción de las amilasas en las secreciones puede ser explicada en base al aumento del catabolismo tisular y una disminución proteica, como consecuencia natural de la deficiencia proteica¹⁵. Schimke¹² hace énfasis en que ocurren cambios en niveles de enzimas durante la desnutrición que disminuyen la síntesis y degradación continua de proteínas. Es posible de otro modo, que una baja en la actividad enzimática pueda deberse a la inactivación de enzimas activas¹².

Cuadro 6. Actividad de Amilasas en Saliva Total de Niños Normales y Desnutridos (Grupo A)

Nutricional	Actividad de amilasas ¹	Actividad de aminopeptidasa ²	Proteínas ³	Albúmina ³
Normal (25)	603.7 ± 62.1	0.142 ± 0.027	109 ± 9	3.68 ± 0.57
Grado I (27)	806.2 ± 58.2	0.141 ± 0.025	100 ± 10	4.02 ± 0.42
Grado II (9)	390 ± 95.7 ⁴	0.139 ± 0.024 ⁴	101 ± 2	3.44 ± 1.04

1 = Unidades Somogyi (promedio ± EE)

2 = Unidades (promedio ± EE)

3 = mg/ml (promedio ± EE)

4 = Significativamente más baja que los niños normales a un nivel de $p < .01$

Cuadro 7. Amilasa en Lágrimas de Niños Normales y Desnutridos (Grupo B)

Estado Nutricional	Actividad de amilasa ¹	Actividad de aminopeptidasa ²	Proteínas ³	Albúmina ³
Normal (27)	522.9 ± 59.1	0.81 ± 0.19	497 ± 51	34.2 ± 8
Grado I (12)	372.1 ± 80.5	0.91 ± 0.26	585 ± 40	53.2 ± 9
Grado II (6)	414.5 ± 74.5	0.93 ± 0.18	628 ± 60	45.9 ± 11
Grado III (14)	268.1 ± 41.0 ⁴	0.79 ± 0.18	650 ± 55	31.9 ± 6

1 = Unidades Somogyi (promedio ± EE)

2 = Unidades (promedio ± EE)

3 = mg/ml (promedio ± EE)

4 = Significativamente más baja que los niños normales a un nivel $p < .01$

Es más probable que la actividad reducida de amilasas en lágrimas, saliva, suero y orina de niños severamente desnutridos se daba a una reducción en la síntesis de amilasa, lo cual se traduce en menos amilasa secretada.

RECONOCIMIENTO

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Sra Cora Foulks y Joan Roberts por su excelente asistencia técnica. Igualmente agradecemos al Dr Paul C. Beaver y Dr Antonio D'Alessandro, directores de CIDEIM, por su estímulo y apoyo durante este trabajo. La asistencia de los Drs. Lawrence Cazassa, Robert Karn y Humberto Rey, es grandemente apreciada. Les damos gracias también a la Srta Olga Vanegas y la Sra María Cristina de Rodríguez por la toma de las muestras.

SUMMARY

Amylase was measured in urine and secretions in a group of severe malnourished children. It was found a significant change between pancreatic and salivary amylase in the malnutrition group, as compared with the controls. Salivary amylase was increased and pancreatic amylase was decreased. Amylase of saliva and tears were lower and its activity was almost absent in saliva, tears and serum in children with severe malnutrition.

REFERENCIAS

- Bernfeld, P.: Amylases, A and B in Method, Enzymol. (S.P. Colowick and N.O. Kaplan, eds.) 1: 149, Academic Press, New York, 1955.
- Merritt, A.D., Rivas, M.L. y Ward, J.C.: Evidence for close linkage of human amylase loci. *Nature New Biology* 239: 243-244, 1972.
- Karn, R.C., Rosenblum, B.B., Ward, J.C. y Merritt, A.D.: Genetic and post-translational mechanisms determining human amylase isozyme heterogeneity. In: *Isozymes: IV Genetics and Evolution* (C.L. Market ed.), p. 745, 1975.
- Ward, J.C., Merritt, A.D. y Bixler, D.: Human salivary amylase: genetics of electrophoretic variants. *Amer J Hum Genet* 23: 403-409, 1971.
- Menaker, L. y Navia, J.: Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat. II. Caries susceptibility in underfed rats supplemented with protein or caloric additions during the suckling period. *J Dent Res* 52: 680-687, 1973.
- Reyes, M.A., Rey, H., Watson, R.R., Casazza, L.J. y McMurray, D.N.: Inmunidad secretora e inmunoglobulinas en niños desnutridos. *Acta Med Valle* 8: 14-19, 1977.
- Searcy, R.L., Hayashi, S. y Berk, J.E.: A new micro saccharogenic method for serum amylase determination. *Amer J Clin Path* 36: 582, 1966.
- Merritt, A.D., Rivas M.L., Bixler, D. y Newell, R.: Salivary and pancreatic amylase: electrophoretic characterizations and genetic studies. *Amer J Hum Genet* 25: 510-522, 1973.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951.
- Watson, R.R.: Identification of microbes by their aminopeptidase substrate specificity. *Meth Micro* 9: 1, 1976.
- Doumas, B.T., Watson, W.A. y Biggs, H.C.: Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta* 31: 87-96, 1971.
- Schimke, R.T.: Enzyme synthesis and degradation: Effects of nutritional status. In: *Metabolic Adaption and Nutrition*, pp. 21-30, Pan American Health Organization Science Publication No. - 22,
- Towes, P.L., Moore, W.D. y White, M.R.: Amylase polymorphism: Studies of sera and duodenal aspirates in normal individuals and in cystic fibrosis. *Amer J Hum Genet*. In press.
- Squires, B.T.: Human salivary amylase secretion in relation to diet. *J Physiol* 119: 153-156, 1953.
- Watson, R.R. y Selmic, M.A.: Effect of protein malnutrition on amylase, aminopeptidase, and immunoglobulins in rat saliva. *Fed Proc* 35: 257, 1976.