

**Centro de Investigación en Alimentación
y Desarrollo, A. C.**

EVALUACIÓN DE LA RESERVA HEPÁTICA DE VITAMINA A
EN NIÑOS DE EDAD ESCOLAR INFECTADOS CON *Giardia*
lamblia

Por:

VERÓNICA LÓPEZ TEROS

**TESIS APLICADA POR LA
COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS

HERMOSILLO, SONORA

OCTUBRE DE 2005

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Patología Experimental de la Coordinación de Nutrición del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., bajo la dirección del Dr. Humberto Astiazarán G.; con el apoyo del Fondo Mixto CANACYT-Gobierno del Estado de Sonora a través del proyecto SON-2004-C01-002.

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis , deberá de dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión, del director de la tesis.

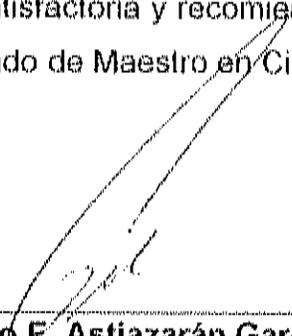


Dr. Alfonso Gardea Béjar

Director General

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Verónica López Teros, la han encontrado satisfactoria y recomiendan sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dr. Humberto F. Astiazarán García

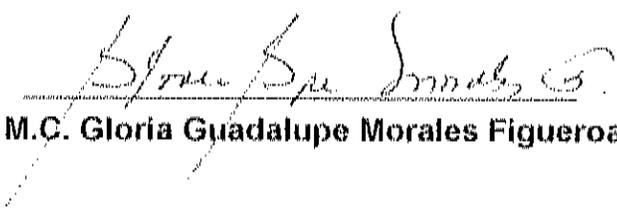
Director de Tesis



Dr. Mauro E. Valencia Juillerat



Dr. Luis Quihui Cota



M.C. Gloria Guadalupe Morales Figueroa

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca-crédito brindada y por el apoyo financiero otorgado al presente proyecto.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.) por abrirme las puertas de esta institución y por las facilidades otorgadas durante la realización de este trabajo.

A la Secretaría de Educación y Cultura, en especial a la Dirección de Salud Escolar por conceder el permiso para realizar este estudio.

Al Hospital Infantil del Estado de Sonora, particularmente al Dr. Norberto Sotelo Cruz por su participación activa en el presente proyecto.

A los niños, padres y personal docente que colaboró con nosotros.

Al Dr. Humberto Astiazarán García por la confianza depositada en mí a lo largo de estos cinco años, por su paciencia y por ser más que un director de tesis, un amigo.

Al Dr. Luis Quihui Cota por las facilidades otorgadas para el análisis de muestras.

A la Dra. Ana María Calderón de la Barca por abrirme las puertas de su laboratorio y por compartir con nosotros parte de sus conocimientos.

Al Q.B. Francisco Vázquez Ortiz por su incondicional ayuda en el HPLC pero sobre todo por su amistad.

A la Q.B. Bertha Pacheco, Q.B. Diana Mendoza y Q.B. René Valenzuela por su apoyo tanto en el ámbito laboral como en el personal.

Al Dr. Mauro E. Valencia por dar otra perspectiva a este trabajo.

A la M.C. Guadalupe Morales Figueroa por el consejo oportuno.

También a todos aquellos que estuvieron involucrados en este proceso de investigación y de crecimiento personal.

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y permitirme disfrutar de ella lo mejor, la vida misma.

A mis papás, por darme la fuerza para seguir adelante. Por enseñarme que unión no es sinónimo de cercanía y que el amor no se afecta por la distancia...

A mis amigos: Mónica, Dan's, Patty, Eneida, Karlita, Faby, Elsa, Pedro. Los quiero mucho...

A la persona que me ha sabido comprender y que ha estado conmigo a lo largo de la maestría pero sobre todo en mis locuras de la vida diaria. Al Q.B. Orlando Tortoledo Ortiz, te amo...

CONTENIDO

CONTENIDO	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
RESUMEN	IX
INTRODUCCIÓN	1
<i>Giardia lamblia</i>	3
<u>Generalidades</u>	3
<u>Patogénesis de la Giardiasis</u>	4
GIARDIASIS Y MALABSORCIÓN DE VITAMINA A	9
VITAMINA A	11
<u>Aspectos Nutricios Generales</u>	11
<u>Metabolismo</u>	12
<u>Función Inmune</u>	14
<u>Deficiencia</u>	15
JUSTIFICACIÓN	19
OBJETIVO GENERAL	20
OBJETIVOS PARTICULARES	20
BIBLIOGRAFÍA	21
Giardiasis: efecto sobre la reserva hepática de vitamina A en escolares	27

LISTA DE FIGURAS

1. Anormalidades estructurales en la Giardiasis	6
2. Metabolismo del retinol	13
3. Distribución mundial de la prevalencia de DVA	17

RESUMEN

La deficiencia de vitamina A (DVA), es un problema que afecta la salud de los países emergentes ya que compromete la inmunidad innata y adaptativa, aumentando así la predisposición a enfermedades infecciosas. A su vez, la infección ocasionada por *Giardia lamblia*, se relaciona con la DVA debido a que causa alteraciones en la arquitectura intestinal y compromete la absorción de dicha vitamina. En un estudio previo, se evaluó la relación entre la giardiasis y el estado de vitamina A empleando al jerbo como modelo animal y se encontró que la infección tuvo un efecto negativo tanto en los niveles séricos de retinol como en la reserva hepática. Por lo anterior surge el cuestionamiento ¿Sucede lo mismo en el humano?. En el estudio participaron 30 niños de edad escolar infectados con *Giardia*. En ellos, se evaluó la reserva hepática de vitamina A empleando la técnica MRDR (Modified Relative Dose Response) y se les administró tratamiento antiparasitario, Además, se realizó una evaluación antropométrica y dietaria. De acuerdo a los indicadores antropométricos (Z peso-edad, Z talla-edad y Z índice de masa corporal para la edad) y dietarios, los sujetos tuvieron un estatus nutrido adecuado. El retinol sérico no mostró un cambio significativo al eliminar la infección por *Giardia* ($P > 0.05$), sin embargo los valores de MRDH tuvieron una mejora significativa ($P < 0.002$). Lo anterior permite concluir que la giardiasis no ejerce únicamente un efecto superficial a nivel de malabsorción de vitamina A en el intestino, sino que éste repercute a un nivel más profundo induciendo la rápida movilización de la reserva hepática de retinol.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de vitamina A es uno de los principales problemas nutricios que aquejan la salud en los países emergentes. Se estima que anualmente entre 250,000 a 500,000 niños, sufren ceguera por déficit de vitamina A dietaria (WHO, 1995; Tanumihardjo y cols., 1990).

Según la Organización Mundial de la Salud, México es un país con deficiencia subclínica de vitamina A, sin embargo, no existen datos sobre la prevalencia nacional. En el Estado de Sonora, se han realizado diversos estudios para evaluar el estado de vitamina A en la población y en ellos se observó que la prevalencia de deficiencia de vitamina A en distintos grupos etarios es cercana al 50 % (Cervera y Zazueta, 1995; Robles y cols, 1998; López y Tortoledo, 2003; García y Ochoa, 2005; López-Mata, 2005).

Además de la deficiencia de vitamina A, otro problema que afecta tanto a los países emergentes como a los desarrollados, son las parasitosis intestinales. Estas constituyen aún un problema de salud pública y han sido relacionadas con problemas nutricios, afectando principalmente a los países emergentes como México (Walker-Smith, 1993).

El agente causal más frecuente de las infecciones intestinales por parásitos protozoarios, es *Giardia lamblia* y además, es el parásito mundialmente más distribuido (Farthing, 1993). En México, es el patógeno intestinal más común, la prevalencia en la población general va desde un 7 hasta un 68% (Ponce y cols., 2002). En particular, en el Estado de Sonora se ha encontrado hasta en el 50% de la población preescolar de zonas urbanas marginadas (Sotelo, 1998).

En el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., se realizó un estudio donde se evaluó la relación existente entre la giardiasis y el metabolismo del

retinol, empleando al jerbo como modelo animal. Se encontró que la infección con este protozoo, tuvo un efecto negativo sobre las concentraciones séricas y la reserva hepática de vitamina A (Barreras y Ontiveros, 2002). Por lo anterior, es necesario generar información para saber si en el ser humano sucede lo mismo que en el modelo animal empleado anteriormente.

Para desarrollar el presente proyecto se contó con la participación de niños de edad escolar, ya que este grupo etario además de ser un porcentaje importante de la población en el Estado de Sonora (15.11%) (INEGI, 2000), es un grupo vulnerable a las infecciones en general, pero también en forma particular a infecciones intestinales, entre ellas la causada por *G. lamblia*. Por lo anterior, sería importante estudiar el efecto de la giardiasis sobre la reserva hepática de vitamina A y el retinol sérico en niños de edad escolar.

Giardia lamblia

Generalidades

Giardia lamblia, es un microorganismo unicelular, eucariótico, piriforme y flagelado. En su forma vegetativa (trofozoito), mide de 12 a 15 μm de largo por 5 a 9 μm de ancho, tiene dos núcleos, cuatro pares de flagelos (anterior, posterior, caudal y ventral) y un disco ventral (Ortega y Adam, 1997; Faust y Russell, 1961; Davidsohn y Henry, 1972).

El quiste de este protozooario se forma después de la replicación nuclear pero antes de la citocinesis, por lo tanto, los quistes contienen cuatro núcleos. Miden aproximadamente 11-14 μm de largo por 7 a 10 μm de diámetro y están cubiertos por una pared con grosor de 0.3 a 0.5 μm , la cual está compuesta por una capa externa filamentosa y una capa interna membranosa (Adam, 2001).

El ciclo vital de *G. lamblia* se desarrolla en dos etapas: el trofozoito y el quiste, éste último es la forma infecciosa y es relativamente inerte, su ritmo metabólico es sólo el 10 ó 20% del que se encuentra en el trofozoito, permitiéndole sobrevivir en una variedad de condiciones ambientales (Adam, 2001).

El ciclo inicia con la ingestión de quistes de *G. lamblia* en aguas y alimentos contaminados, por contacto persona-persona y ano-mano-boca (Farthing, 1997). Una vez ingerido el quiste y después de exponerse a las condiciones ácidas del estómago y a las enzimas pancreáticas, el parásito desenquista a trofozoito en el intestino delgado proximal (duodeno-yeyuno). Éste último se une al epitelio intestinal, se multiplica por fisión binaria y coloniza el intestino delgado (Ortega y Adam, 1997; Baruch y cols., 1996; Faust y Russell, 1961). Después de la exposición a

secreciones biliares, algunos trofozoitos enquistan en el yeyuno y pasan a las heces, permitiendo el inicio de un nuevo ciclo al infectar un nuevo hospedero (Farthing, 1997; Adam, 2001).

Patogénesis de la Giardiasis

Prevalencia

Inicialmente se pensaba que *G. lamblia* era un parásito comensal, sin embargo, ahora es reconocido como el agente causal más frecuente de infecciones intestinales por protozoarios. Además, es el parásito mundialmente más distribuido y se encuentra no sólo en países emergentes, sino también entre personas que viven en países desarrollados (Farthing, 1993).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en Asia, África y América Latina, cerca de 200 millones de personas presentan giardiasis sintomática con aproximadamente 500,000 casos reportados cada año (citado en Thompson, 2000). En México es el patógeno intestinal protozoario más común, la prevalencia en la población general va de un 7 a un 68% (Ponce y cols., 2002), en particular, en el Estado de Sonora se ha encontrado hasta en el 50% de la población preescolar de zonas urbanas marginadas (Sotelo, 1998).

Características Clínicas

Generalizar la sintomatología de la infección por *G. lamblia* es una labor complicada, ya que ésta puede variar de un individuo a otro (Solomons, 1982). El espectro de presentaciones de la giardiasis va desde individuos asintomáticos, hasta

aquellos con síntomas gastrointestinales, llegando a presentar, en algunas ocasiones síndrome de malabsorción (Farthing, 1993; Hall, 1994).

Efecto de la Giardiasis Sobre la Fisiología del Tracto Gastrointestinal

El tracto gastrointestinal, es la interfase que existe entre el cuerpo y el ambiente externo. Es un órgano altamente especializado cuya función principal es la extracción de nutrimentos a partir de la mezcla compleja que representan los alimentos consumidos (Schneeman, 2002). Sin embargo, en algunas ocasiones los alimentos además contener los nutrimentos esenciales, numerosos microorganismos los emplean como vehículo para llegar al intestino. Es aquí donde se inicia la compleja relación hospedero-parásito.

Como se mencionó anteriormente, es complicado explicar el desarrollo de la patología de la giardiasis, por lo que se dificulta establecer el mecanismo patogénico causante de las alteraciones intestinales que se presentan en el transcurso de la infección (Buret, 1994). Se han descrito varios mecanismos, los cuales se enfocan en dos aspectos principales: a) Daños en la mucosa intestinal y b) Factores del lumen intestinal.

a) Daños en la Mucosa Intestinal

En la giardiasis se pueden presentar una variedad de alteraciones funcionales y estructurales que van desde una estructura normal hasta una atrofia parcial o subtotal del epitelio intestinal (**Figura 1**) (Farthing, 1993).

Recambio epitelial. El recambio epitelial acelerado es una característica del intestino infectado con *Giardia*, hay atrofia de las vellosidades e hiperplasia en las

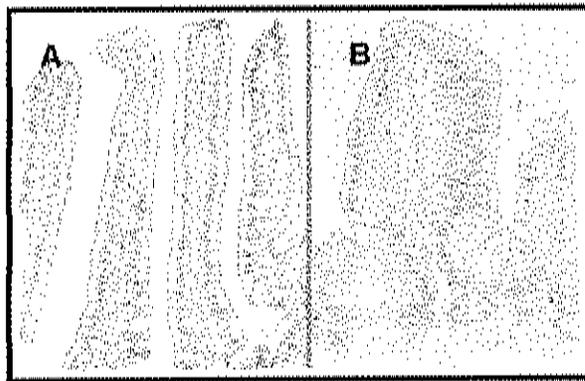


Figura 1. Anomalías estructurales en la Giardiasis. Epitelio intestinal del grupo control en jerbos (A) y epitelio infectado con *G. lamblia* (B). Existen importantes diferencias estructurales en ambos grupos (Astiazarán, 2000).

criptas (Buret y cols., 1992). El incremento en la tasa de recambio también puede llevar a que células inmaduras avancen más rápidamente a lo largo de la vellosidad. Algunos autores sugieren que la pérdida epitelial, asociada con atrofia de las vellosidades, la fusión de enterocitos y su desprendimiento son las bases para desarrollar diarrea, particularmente en giardiasis (Buret y cols., 1990).

Daños en el borde en cepillo (Microvellosidades). En los humanos, aún cuando la arquitectura de las vellosidades es normal, se presentan cambios ultraestructurales de las microvellosidades. En la giardiasis, las anomalías del borde en cepillo sólo son acortamientos localizados y encorvamiento de las vellosidades uniformemente y no específicas al sitio de unión del trofozoito. Deficiencias en las enzimas asociadas con las microvellosidades, ocurren principalmente por la pérdida de área y se corrigen después de la eliminación del parásito (Buret y cols., 1992).

b) Factores del Lumen Intestinal

Sobrecrecimiento Bacteriano. Existe evidencia contradictoria para sugerir que la giardiasis sintomática está asociada con aumento de bacterias aerobias o anaerobias en el intestino delgado proximal. Se especula que el sobrecrecimiento bacteriano también puede causar anomalías en la estructura del intestino delgado similares a las descritas en giardiasis y por lo tanto puede jugar un papel en el daño a la mucosa (Tandon y cols., 1977). Sin embargo, lo anterior no ha sido corroborado. En estudios donde se han realizado infecciones experimentales con *Giardia lamblia* tanto en un modelo animal (Astiazarán y cols., 2000) como en humanos (Nash y cols., 1987), no se encontró en ninguno de ellos evidencia de sobrecrecimiento bacteriano.

Ingesta de sales biliares por G. lamblia. Las sales biliares en bajas concentraciones estimulan el crecimiento del parásito y disminuyen su tiempo de reproducción, por lo tanto pueden ser un importante factor de colonización para este parásito, aún y cuando es difícil pensar en un efecto de competencia con el hospedero en función de la escasa biomasa del patógeno (Farthing, 1993; Hall, 1994).

Impacto Nutricio

Las infecciones intestinales pueden comprometer el estado nutricio del hospedero. Dos grupos particularmente vulnerables a la infección por *Giardia*, son el hospedero desnutrido y los niños. En ambos, la infección ocasionalmente puede volverse crónica con diarrea profunda, pérdida de peso, malabsorción y en el caso de los niños, retardo en el crecimiento (Ortega y Adam, 1997).

En general, las personas infectadas con *Giardia*, sean sintomáticos o no, pueden desarrollar el síndrome de malabsorción, el cual se caracteriza por emaciación, hipoalbuminemia, diarrea y esteatorrea (Solomons, 1982). En algunos casos, se puede presentar malabsorción específica de uno o varios nutrimentos, principalmente grasas, carbohidratos (D(-)-xilosa, almidón y lactosa) y vitaminas (A, ácido fólico y B₁₂) (Farthing, 1994; Ortega y Adam, 1997).

El estudio realizado por Egger y cols. (1990) evaluó el efecto de la giardiasis sobre el estado nutricio en niños escolares y se observó que al comparar sujetos infectados con sanos, los primeros presentaban ingestiones menores de proteína, hierro y riboflavina.

En el estudio realizado por Valencia y cols. (1995), se evaluó el efecto de la infección con *Giardia* sobre el gasto energético en 10 niños de 6 a 10 años de edad. El 80 % de los sujetos tuvo un aumento en el gasto energético total después de la

eliminación del parásito, desafortunadamente los resultados de este estudio no alcanzaron significancia estadística ($P = 0.08$).

Por lo anterior, es evidente que la giardiasis tiene un impacto negativo en el estado nutricional, particularmente en niños, en los cuales se ha sugerido que las infecciones crónicas con *Giardia* tienen mayor probabilidad de estar asociadas con desórdenes nutricionales y retardo en el crecimiento (Thompson y Walters, 2002).

GIARDIASIS Y MALABSORCIÓN DE VITAMINA A

Marinho y cols. (1991) realizaron un estudio, donde se evaluó el efecto de la suplementación con zinc y vitamina A en niños de 3 a 7 años de edad con infecciones por *Ascaris lumbricoides* y/o *Giardia lamblia*. Los niños infectados con *Giardia* presentaron niveles séricos de retinol menores comparados con los del grupo control, por lo cual se sugirió que la infección compromete la absorción del retinol suplementado sin descripción del mecanismo que explicara estos hallazgos.

Lo anterior nos indica que la giardiasis puede tener un impacto negativo en el estado de vitamina A del hospedero, sin embargo, el mecanismo por el cual *Giardia* afecta la absorción de ésta vitamina no está completamente claro (Solomons, 1982). Para responder al cuestionamiento, se han propuesto tres posibles causas:

- 1) **Barreras Físicas.** Éste mecanismo sugiere que hay una gran cantidad de trofozoitos tapizando la superficie intestinal o que compiten con el hospedero por los nutrientes. Sin embargo, difícilmente el área tapizada por los trofozoitos podrá tener un efecto negativo en la absorción de nutrientes, ya que el intestino cuenta con una gran superficie de absorción, dada por las

criptas, vellosidades y microvellosidades intestinales (Anand y cols., 1980; Hall, 1994).

- 2) **Sobrecrecimiento bacteriano y desconjugación de sales biliares.** Durante las infecciones con *Giardia*, se observa colonización del intestino delgado por bacterias y la concentración de éstas se ha asociado con la severidad de la malabsorción (Tandon y cols., 1977). Este efecto *per se*, puede llegar a producir anomalías en la arquitectura intestinal y aunado a la giardiasis, contribuir en el daño a la mucosa del intestino. La desconjugación de sales biliares presente en los pacientes infectados por *G. lamblia*, así como el sobrecrecimiento bacteriano, son las dos posibles causas de la malabsorción de grasas y por lo tanto, de vitamina A (Farthing, 1997). Sin embargo, como lo mencionamos anteriormente, no existe evidencia clara que apoye esta hipótesis.
- 3) **Cambios en la arquitectura intestinal.** Este mecanismo puede ser el causante de la malabsorción intestinal que se presenta en la infección por *G. lamblia* (Lunn y Northrop, 1993), aunque la relación entre la giardiasis y los cambios estructurales en la mucosa no siempre son consistentes (Astiazarán, 2000). Harrison y Hussain (2001), sugieren que el retinol se internaliza en la célula a través de receptores, los cuales, durante la giardiasis, podrían verse afectados y por ende disminuir la absorción de vitamina A.

Independientemente de que el daño a las microvellosidades intestinales afecta la actividad enzimática de las disacaridasas (Farthing, 1997), el acortamiento de las vellosidades provoca una disminución de la superficie de absorción, siendo éste el mecanismo más comúnmente aceptado para la disminución en la captación de nutrimentos a partir de la dieta.

VITAMINA A

Aspectos Nutricios Generales

La vitamina A es un componente esencial en el metabolismo, ya que interviene en numerosos procesos fisiológicos como la visión, donde el retinol y sus derivados participan activamente. Además, está involucrada en la diferenciación celular, así como en el mantenimiento de una adecuada respuesta inmune, reproducción, desarrollo fetal y crecimiento (Blomhoff y cols., 1990), donde casi todas las funciones mencionadas anteriormente dependen, directa o indirectamente, de la primera (Fazzio-Tirozzo y cols., 1998).

Desafortunadamente, los humanos somos incapaces de sintetizar sustancias que posean actividad de vitamina A, por lo tanto, debe ser obtenida a partir de la dieta. Existen diversas formas de vitamina A, de las cuales la vitamina A preformada o retinoides son la fuente principal; estos los encontramos en productos animales como hígado, carne, huevo, leche, etc (Smolin y Grosvenor, 1994). Además de los retinoides, podemos obtener vitamina A a partir de los carotenoides biológicamente activos, de los cuales el β -caroteno es la forma más común y más activa, sin embargo, este posee sólo una sexta parte de la eficiencia comparado con el retinol en concentraciones equivalentes (Murray y cols., 2001). La zanahoria, calabaza, brócoli y papaya son las principales fuentes de carotenoides.

Metabolismo

Digestión

En la dieta, más del 90% de la vitamina A se encuentra como ésteres de retinol, principalmente palmitato (González de Buitrago y cols., 1998). Durante la digestión proteolítica que se produce en el estómago, se liberan de los alimentos el éster de retinil y los carotenoides, formando agregados junto con otros lípidos. En el intestino delgado, la acción combinada de las esterasas biliar y pancreática hace que los ésteres de retinol y carotenoides se hidrolicen.

Absorción

En el lumen intestinal, el retinol libre y los carotenoides son captados por el enterocito involucrando posiblemente dos mecanismos: uno llevado a cabo por un proceso saturable mediado por acarreadores protéicos y otro no saturable dependiente de difusión (**Figura 2**)(Harrison y Hussain, 2001). Una vez dentro, los carotenoides son parcialmente convertidos a retinol. En el enterocito, el retinol reacciona con ácidos grasos para formar nuevamente ésteres, que posteriormente serán incorporados a los quilomicrones. Éstos últimos pasan a la vía linfática y posteriormente a la circulación general donde son convertidos a remanentes de quilomacrón, los cuales contienen casi todo el retinol absorbido y son captados por el receptor de la apolipoproteína E en las células parenquimatosas del hígado (Biesalski y Nohr, 2004; Harrison y Hussain, 2001; Blomhoff y cols., 1990).

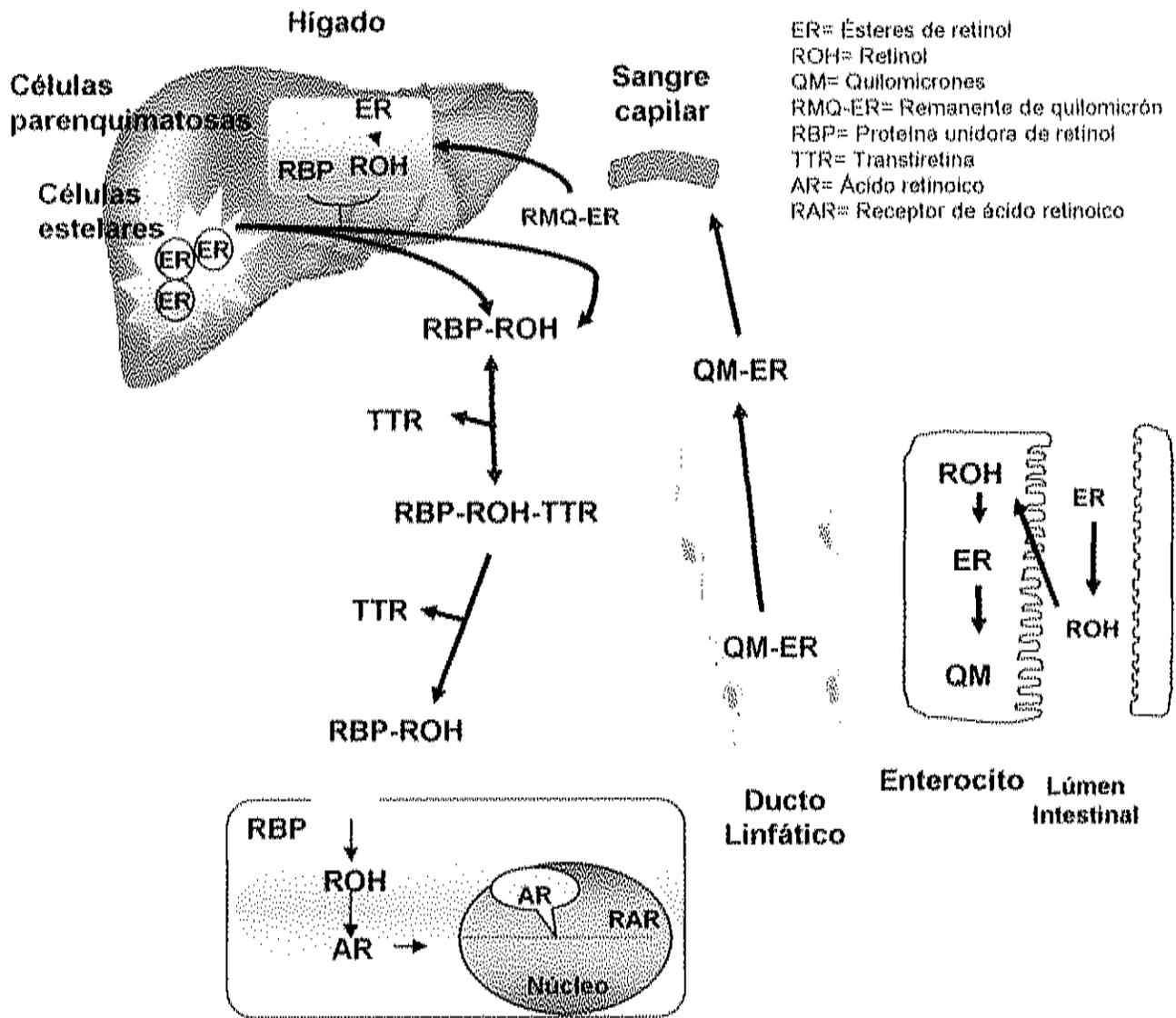


Figura 2. Metabolismo del retinol (Blomhoff, 1990)

Reserva

Dentro de las células parenquimatosas, los ésteres de retinilo son rápidamente hidrolizados a retinol, el cual se une a la proteína RBP (por sus siglas en inglés: Retinol Binding Protein) y el complejo retinol-RBP se secreta y transporta a las células estelares en el hígado. En ellas, se almacena del 50 al 80% del total de la vitamina A corporal como ésteres de retinilo, los cuales se encuentran en vacuolas citoplásmicas. Es posible que las células estelares secreten el complejo retinol-RBP directamente al plasma (Gamble y cols., 2001; Hendriks, 1996).

Captación celular

En el plasma, la mayor parte del retinol unido a RBP, forma un complejo reversible con la proteína transtiretina (TTR) y de esa forma es menos susceptible a la filtración glomerular por el riñón. La captación celular del retinol todavía no está completamente dilucidada, se cree que el complejo RBP-retinol entra a las células en cuya superficie se expresan receptores específicos para RBP (Blomhoff y cols., 1990). Una vez dentro de la célula, el retinol puede ser oxidado a ácido retinoico (AR) por una enzima alcohol deshidrogenasa y éste último puede difundir al núcleo, donde se une a su receptor y regula la expresión genética por su interacción con el DNA (Hendriks, 1996).

Función Inmune

Diversos estudios han correlacionado el estado bioquímico de vitamina A con la respuesta inmune (Semba, 1999; Aukrust y cols., 2000; Long y Santos, 1999). Los resultados obtenidos muestran que los mecanismos inmunes que se ven afectados

mayormente cuando existe deficiencia de este micronutriente, son la integridad de las barreras mucosas y la respuesta tipo Th2 (Thurnham y cols., 2000; Carman y Hayes, 1991).

En un estudio realizado en niños por Quadro y cols. (2000), se evaluó la relación entre la integridad intestinal y la concentración sérica de retinol y se observó que a menor concentración de retinol es mayor la probabilidad de una integridad intestinal deficiente. Estos resultados concuerdan con los reportados por Thurnham y cols. (2000).

La vitamina A juega un papel muy importante en el desarrollo tanto de células Th1 como Th2. Diversos estudios tanto en humanos como en modelos animales, muestran que cuando los niveles séricos de vitamina A son deficientes, se ve disminuida la actividad de eosinófilos y los títulos de anticuerpos IgG1 e IgA asociados con la respuesta Th2. Además, al suplementar con vitamina A hay un marcado aumento en los niveles plasmáticos de IL-10, IgA *in vivo* e IgG *in vitro* y una disminución del FNT- α , lo cual sugiere efectos anti-inflamatorios y se inclina la respuesta inmune hacia Th2 (Aukrust y cols., 2000; Carman y Hayes, 1991). Sin embargo, no se observan cambios en la inmunidad mediada por células (Wiederman y cols., 1993).

Deficiencia

La deficiencia de vitamina A (DVA) es uno de los principales problemas nutricios que afecta a los países emergentes. Se presenta cuando las reservas corporales se han agotado hasta el punto en el que las funciones fisiológicas se ven comprometidas, aunque los signos clínicos de la deficiencia no sean evidentes (Miller y cols., 2002; WHO, 1995).

Signos Clínicos

En la DVA, la integridad de las barreras epiteliales y el sistema inmune, se ven comprometidos antes de que los signos clínicos sean evidentes, lo que lleva a un aumento en la severidad de las infecciones y riesgo de muerte, especialmente en niños (WHO, 1995). Cuando la deficiencia es suficiente para afectar el sistema visual, se presenta ceguera nocturna y ésta a su vez se acompaña por pérdida de las células de Goblet llevando a xeroftalmia, la cual puede afectar tanto a la conjuntiva como a la córnea y en algunos casos ocasionar ceguera parcial o total (queratomalacia)(Olson, 1987).

Prevalencia

A nivel mundial, se estima que la DVA afecta entre 75 a 254 millones de niños en edad preescolar, sin embargo, ésta también puede extenderse hacia niños de edad escolar, así como adolescentes y adultos (West, 2002).

Como se observa en la **Figura 3**, México se encuentra catalogado como un país con deficiencia subclínica severa de vitamina A, sin embargo, no existen datos de la prevalencia de DVA a nivel nacional. En el estado de Sonora, Cervera y Zazueta (1995) encontraron DVA subclínica en el 46.33 % de niños de 6 a 10 años de edad pertenecientes a la comunidad Yaqui en Sonora; López-Mata (2005) en el mismo grupo de edad pero en niños de comunidades rurales y mixtas, encontró que aproximadamente el 54 % cursó con DVA. Además, Robles y cols. (1998) observaron que el 48.3 % de un grupo de niños de 6 a 36 meses de edad de la ciudad de Hermosillo cursó con DVA. Otro estudio donde se evaluó el estado de vitamina A pero en adolescentes (15 a 18 años), fue el realizado por López y Tortoledo (2003), donde se encontró que el 49.04% de la población presentó DVA y



Figura 3. Distribución mundial de la prevalencia de DVA (WHO, 1995).

finalmente García y Ochoa (2005) en un estudio realizado en adultos mayores encontraron un 59 % de DVA.

Los datos mostrados anteriormente, son una prueba de que la DVA no es únicamente un problema de niños pequeños, sino también de la población en general.

JUSTIFICACIÓN

En el Estado de Sonora, se ha observado en distintos estudios y con diversos grupos poblacionales, que la deficiencia de vitamina A es cercana al 50% (Cervera y Zazueta, 1995; Robles y cols., 1998; López y Tortoledo, 2003, García y Ochoa, 2005; López-Mata, 2005) y además, las parasitosis intestinales presentan una prevalencia similar (50 %) en los niños de las zonas urbano marginadas (Sotelo, 1998).

En el estudio realizado por Barreras y Ontiveros (2002), se encontró que la infección con *Giardia lamblia* en el jerbo tuvo un efecto negativo sobre las concentraciones séricas y la reserva hepática de vitamina A. Por lo anterior, es necesario generar información para saber si en el ser humano sucede lo mismo que en el modelo animal empleado anteriormente.

En Sonora, los niños de edad escolar (6 a 12 años) representan el 15.11% del total de la población (INEGI, 2000) y además, son un grupo propenso a las infecciones intestinales por parásitos, por lo que surge el cuestionamiento:

¿La infección con *Giardia lamblia* afecta la reserva hepática de vitamina A en niños de edad escolar?

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la giardiasis sobre la reserva hepática de vitamina A y el retinol sérico en escolares.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar el nivel sérico y la reserva hepática de vitamina A en escolares infectados con *Giardia lamblia*.
2. Observar el efecto del tratamiento antiparasitario sobre la reserva hepática de vitamina A en escolares infectados con *Giardia lamblia*.
3. Analizar la influencia de otros parásitos intestinales sobre la reserva hepática de vitamina A en escolares infectados con *Giardia lamblia*.
4. Evaluar el consumo dietario de vitamina A y los valores de crecimiento en escolares infectados con *Giardia lamblia*.

BIBLIOGRAFÍA

- ADAM, R. 2001. Biology of *Giardia lamblia*. Clin Microbiol Rev 14:447-75
- ANAND, B., Kumar, M., Chakravarti, R., Sehgal, A., Chhuttani, P. 1980. Pathogenesis of malabsorption in *Giardia* infection: an experimental study in rats. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 74:565-9
- ASTIAZARÁN, H. 2000. Estudio experimental del efecto de la infección con *Giardia lamblia* sobre el estado nutricional del jerbo (*Meriones unguiculatus*). Tesis del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. pp 45-66
- AUKRUST, P., Muller, F., Ueland, T., Svardal, A.M., Berge, R.K., Froland, S. 2000. Decreased vitamin A levels in common variable immunodeficiency: vitamin A supplementation in vivo enhances immunoglobulin production and downregulates inflammatory responses. Eur J Clin Invest 30:252-9
- BARRERAS Morales E., Ontiveros Apodaca N. 2002. Efecto de la giardiasis aguda sobre el metabolismo del retinol en jerbos (*Meriones unguiculatus*) con desnutrición proteica y de vitamina A. Tesis Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad de Sonora.
- BARUCH, A., Renton, J., Adam, R. 1996. The molecular epidemiology of *Giardia lamblia*: a sequence-based approach. J Infect Dis 174:233-6
- BIESALSKI, H., Nohr, D. 2004. New aspects in vitamin A metabolism: the role of retinyl esters as systemic and local sources for retinol in mucous epithelia. J Nutr 134:3453S-7S
- BLOMHOFF Rune, Green Michael, Berg Trond, Norum Kaare. 1990. Transport and storage of vitamin A. Science 250:399-403

- BURET, A. 1994. Pathogenesis - How does *Giardia* cause disease? In: Thompson, R., Reynoldson, J., Lymbery, A. *Giardia: from molecules to disease*. CAB International. pp 293-315
- BURET, A., Gall, D., Nation, P., Olson, M. 1990. Intestinal protozoa and epithelial cell kinetics, structure and function. *Parasitol today* 6:375-80
- BURET, A., Hardin, J., Olson, M., Gall, D. 1992. Pathophysiology of small intestinal malabsorption in gerbils infected with *Giardia lamblia*. *Gastroenterol* 103:506-13
- CARMAN, J., Hayes, C. 1991. Abnormal regulation of IFN- γ secretion in vitamin A deficiency. *J Immunol* 147:1247-52
- CERVERA Gómez, Zazueta Munguía. 1995. Evaluación nutricia en la población infantil de la tribu Yaqui por métodos bioquímicos. Tesis Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora.
- DAVIDSOHN, I., Henry, J. 1972. Diagnóstico clínico por el laboratorio. 5ª ed. Ed. Salvat. pp 877-8
- EGGER, R., Hofhuis, E., Bloem, M., Chusilp, K., Wedel, M., Intarakhao, C., Saowakontha, S., Schreurs, H. 1990. Association between intestinal parasitoses and nutritional status in 3-8 year old children in northeast Thailand. *Trop Geogr Med* 42:312-328
- FARTHING, M. 1993. Pathogenesis of giardiasis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 87:17-21
- FARTHING, M. 1994. Giardiasis as a disease. In: Thompson, R., Reynoldson, J., Lymbery, A. *Giardia: from molecules to disease*. CAB International. pp 15-37
- FARTHING, M. 1997. The molecular pathogenesis of giardiasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 24:79-88
- FAUST, E., Russell, P. 1961. *Parasitología clínica de Craig y Faust*. 2ª ed. Ed. UTEHA. pp 93-6

- FAZZIO-TIROZZO G., Brabin L., Brabin B., Agbaje O., Harper G., Broadhead R. 1998. A community based study of vitamin A and vitamin E status of adolescent girls living in the Shire Valley, Southern Malawi. *Eur J Clin Nutr* 52:637-642
- GAMBLE, M., Ramakrishnan, R., Palafox, N., Briand, K., Berglund, L., Blaner, W. 2001. Retinol binding protein as a surrogate measure for serum retinol: studies in vitamin A-deficient children from the republic of the Marshal Islands. *Am J Clin Nutr* 73:594-601
- GARCÍA, B.N., Ochoa, M.N. 2005. Evaluación bioquímica del estado de nutrición en adultos mayores, empleando como indicadores homocisteína y un perfil parcial de vitaminas séricas. Tesis del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad de Sonora.
- GONZALEZ de Builrago, J.M., Arilla Ferreiro E. Rodríguez-Segade M., Sánchez Pozo A. 1998. *Bioquímica Clínica*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. pp. 296-298
- HALL, A. 1994. *Giardia* infections: epidemiology and nutritional consequences. In: Thompson, R., Reynoldson, J., Lymbery, A. *Giardia: from molecules to disease*. CAB International. pp 251-73
- HARRISON H. Earl, Hussain M.M. 2001. Mechanisms involved in the intestinal digestion and absorption of dietary vitamin A. *J Nutr* 131:1405-1408
- HENDRIKS, H. 1996. Retinoid (vitamin A) metabolism. *Eur J Clin Nutr* 50:S2-S6
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 2000. World Wide Web: <http://www.inegi.gob.mx/difusion/español/pobla.html> (Visitado el 26 de mayo de 2004)
- LONG, K., Santos, J. 1999. Vitamins and the regulation of the immune response. *Pediatr Infect Dis J* 18:283-90

- LÓPEZ, V., Tortoledo, O. 2003. Evaluación bioquímica del estado de nutrición en adolescentes de educación media superior, residentes en Hermosillo, Sonora. Tesis Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora.
- LOPEZ-MATA, M.A. 2005. Giardiasis y vitamina A sérica en escolares durante la campaña nacional de desparasitación en Sonora. Tesis del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
- LUNN, B., Northrop. 1992. Parasitism and protein and energy metabolism and animals. *Proc Nutr Soc* 52:101-11
- MARINHO, H., Shrimpton, R., Giugliano, R., Burini, R. 1991. Influence of enteral parasites on the blood vitamin A levels in preschool children orally supplemented with retinol and/or zinc. *Eur J Clin Nutr* 45:539-44
- MILLER, M., Humphrey, J., Johnson, E., Marinda, E., Brookmeyer, R., Katz, J. 2002. Why do children become vitamin A deficient?. *J Nutr* 132:2867S-80
- MURRAY, Robert K., Mayes Peter A., Granner Daryl, Rodwell Victor. 2001. Bioquímica de Harper. 15ª ed. Ed. Manual Moderno. pp. 735-738
- NASH, T., Herrington, D., Losonsky, G., Levine, M. 1987. Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J Infect Dis* 156:974-84
- OLSON James A. 1987. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin A in humans. *Am J Clin Nutr* 45:704-716
- ORTEGA, Y., Adam, R. 1997. *Giardia*: overview and update. *Clin Infect Dis* 25:545-50
- PONCE, M.M., Martínez, G.M., Bermúdez, C.R., Salazar, S.P., Ortega, G., Ey, P. 2002. Unusual prevalence of the *Giardia intestinalis* A-II subtype amongst isolates from humans and domestic animals in Mexico. *Int Jour Parasitol* 32:1201-2

- QUADRO, L., Gamble, M., Vogel, S., Lima, A., Piantedosi, R., Moore, S., Colantuoni, V., Gottesman, M., Guerrant, R., Blaner, W. 2000. Retinol and retinol binding protein: gut integrity and circulating immunoglobulins. *J Infect Dis* 182:S97-102
- ROBLES, A., Astiazaran, H., Dávalos, N., Quihui, L., Cabrera, P., Valencia, M. 1998. Efecto de la suplementación masiva de vitamina A en niños de 6 a 36 meses de edad. *Sal Pub Mex* 40:309-15
- SCHNEEMAN, B. 2002. Gastrointestinal physiology and functions. *Brit J Nutr* 88:S159-S163
- SEMBA, R.D. 1999. Vitamin A and immunity to viral, bacterial and protozoan infections. *Proc Nutr Soc* 58:719-27
- SMOLIN Lori A., Grosvenor Mary B. 1994. Nutrition science and applications. Ed. Saunders College Publishing, pp. 256-263
- SOLOMONS, N. 1982. Giardiasis: nutritional implications. *Rev Infect Dis* 4:859
- SOTELO, C. 1998. Giardiasis en niños. Aspectos clínicos y terapéuticos. *Bol Med Hosp Infant Mex* 55:47-53
- TANDON, B, Tandon, R., Satpathy, B., Shrinivas. 1977. Mechanism of malabsorption in giardiasis: a study of bacterial flora and bile salt deconjugation in upper jejunum. *Gut* 18:176-81
- TANUMIHARDJO, Sherry A., Yuniar Muhilal Y., Permaesih Dewi, Sulaiman Zein, Karyadi Darwin, Olson James A. 1990. Vitamin A status in preschool-age Indonesian children as assessed by the modified relative-dose-response assay. *Am J Clin Nutr* 52:1068-1072
- THOMPSON, R., Walters, R. 2002. Correlation between genotype of *Giardia duodenalis* and diarrhoea. *Int J Parasitol* 32:229-31
- THOMPSON, R.C. 2000. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and it's zoonotic potential. *Int J Parasitol* 30:1259-67

- THURNHAM, D., Northrop-Clewes, C., McCullough, F., Das, B., Lunn, P. 2000. Innate immunity, gut integrity, and vitamin A in Gambian Indian infants. *J Infect Dis* 182:S23-8
- VALENCIA, M., McNeill, G., Haggarty, P., Moya, S., Pinelli, A., Quihui, L., Davalos, R. 1995. Energetic consequences of mild *Giardia intestinalis* infestation in Mexican children. *Am J Clin Nutr* 61:860-5
- WALKER-SMITH, J. 1993. Malnutrition and infection. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 87:13-5
- WEST, K. 2002. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr* 132:2857S-66
- WHO. 1995. Global Prevalence of Vitamin A Deficiency. MDIS working paper No. 2. pp. 1-107
- WIEDERMAN, U., Hanson, L., Kahu, H., Dahlgren, U. 1993. Aberrant T-cell function in vitro and impaired T-cell dependent antibody response in vivo in vitamin A deficient rats. *Immunol* 80:581-6

INTRODUCCIÓN

Giardia lamblia, el agente causal de la giardiasis es el parásito intestinal protozooario más común y mundialmente más distribuido (Upcroft y Upcroft, 2001; Farthing, 1993). A pesar de que *Giardia* es uno de los protozoarios más estudiados, es poco lo que se conoce acerca del mecanismo de su patogénesis, sin embargo se sabe que involucra daño en la arquitectura intestinal, particularmente a nivel de las microvellosidades (Buret y cols., 1990; Astiazarán y cols., 2000). Estos cambios a su vez, correlacionan con una absorción comprometida de nutrimentos (Lunn y Northrop, 1993; Thompson y Wallers, 2002). Una vez eliminada la infección, las alteraciones mencionadas anteriormente, se corrigen hasta llegar a su nivel de actividad normal.

Diversos autores han documentado que *Giardia*, compromete la absorción de vitamina A y los niveles séricos de la misma (Mahalanabis y cols., 1979; Elnaggar y cols., 1981; Marinho y cols., 1991). Sin embargo, dichos estudios se llevaron a cabo en poblaciones con un estado nutrimental comprometido, por lo que otros factores pudieron influir sobre el estado bioquímico de la vitamina A.

La prueba MRDR (Modified Relative Dose Response), es una técnica que detecta los cambios que ocurren a nivel de la reserva de vitamina A en hígado. Su uso se ha recomendado cuando se pretende evaluar alguna intervención, debido a que es más sensible a los cambios en el estado de vitamina A que el retinol sérico, ya que éste último se encuentra controlado homeostáticamente (Green y Green, 1994). El fundamento de la MRDR consiste en que la síntesis de apo-RBP en el hígado, no se controla por el estado de vitamina A y por lo tanto, cuando disminuye la concentración sérica de retinol, la apo-RBP se acumula. Al dosificar con el 3,4-Didehidroretinol acetato (vitamina A₂), compuesto empleado en la MRDR, éste se une a la RBP y el complejo es

liberado al plasma, donde puede ser detectado (Tanumihardjo y cols., 1988; Tanumihardjo y cols., 1990; Tanumihardjo y Olson, 1991).

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la giardiasis en el estado de vitamina A, empleando la MRDR y el retinol sérico como indicadores en una población de niños aparentemente sanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos y Diseño

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) y por la Jefatura de Enseñanza del Hospital Infantil del Estado de Sonora (HIES).

La población del estudio fueron niños y niñas de 6 a 12 años de edad, provenientes de 3 escuelas primarias localizadas en sectores de nivel socioeconómico medio-bajo en la ciudad de Hermosillo, Sonora. Previa autorización de los padres de familia, se realizó un análisis coproparasitoscópico (cps) a todos aquellos niños que accedieron a participar en el estudio. Se inició con 315 niños, de éstos 43 resultaron positivos a *Giardia lamblia*, 3 de los cuales decidieron no ingresar al protocolo del presente trabajo. El estudio inició con 40 niños cuyos padres otorgaron un consentimiento informado para participar en el proyecto. Sin embargo, de ellos únicamente 30 culminaron el estudio. Se recolectaron datos de peso y talla, se realizó un registro dietario y se tomaron muestras fecales y de sangre.

El diseño del presente trabajo fue de tipo prospectivo y longitudinal. Al inicio se realizó una evaluación nutricional empleando indicadores antropométricos y dietarios, se evaluó la parasitosis intestinal y el estado de vitamina A en los niños participantes. Al ingresar al estudio, los niños se

sometieron a una evaluación clínica por personal médico del HIES. Posteriormente, se realizó un control parasitario a los tres meses y finalmente a los seis meses posteriores a la erradicación inicial de *Giardia*, se evaluaron los mismos parámetros que al inicio del proyecto.

Evaluación Nutricional

Antropometría. Las mediciones se realizaron en base a la metodología descrita por Cameron (1978). Los sujetos se pesaron sin zapatos empleando una balanza (Accu-Weight, Sunnyvale, CA, 0 a 150 \pm 0.05 kg) y se midió su talla empleando un estadiómetro (Holtain, LT, UK, 2.05 \pm 5x10⁻⁴ m), además se tomó el registro de su edad (a partir de su fecha de nacimiento), la cual fue confirmada por sus padres.

Para evaluar el estado nutricional se calcularon los puntajes Z de los indicadores talla para la edad (T/E), peso para la edad (P/E) e índice de masa corporal para la edad (IMC/E), usando el programa Nutstat de la base de datos y estadístico Epi-Info (versión 3.2, 2004) y empleando la referencia desarrollada por el CDC (Center for Disease Control and Prevention, Atlanta; 2000 CDC growth charts. NCHS). El puntaje Z, es una unidad de desviación estándar de una población de referencia, la cual entre los valores \pm 1.0 z tiene una distribución normal y valores \leq -2.0 z y \geq 2.0 z representan un riesgo nutricional en los indicadores antropométricos P/E, T/E e IMC/E.

Evaluación Dietaria. Se realizó empleando la técnica del recordatorio de 24 horas, la cual consiste en registrar los alimentos y bebidas consumidos por los sujetos 24 horas previas a la entrevista. Ya que los alimentos consumidos en este período pueden o no ser representativos del patrón típico de ingestión del individuo, se realizaron tres recordatorios seriados no consecutivos con un

intervalo promedio de 3 meses y de esta forma se redujo la variabilidad e imprecisión. La característica fundamental del recordatorio de 24 horas es que provee mayormente información cualitativa (Sanjur y Rodríguez 1997)

Parasitosis Intestinal

De cada sujeto se obtuvieron tres muestras de heces de tres días distintos, para lo cual se les proporcionaron recipientes plásticos con tapa de presión, así como las indicaciones para la recolección de las mismas. Las muestras se colocaron en una hielera para su transporte y fueron inmediatamente analizadas por la técnica de flotación de Faust (Faust y cols., 1939). A los niños que resultaron parasitados con *Giardia lamblia*, se les proporcionó Secnidazol (20 mg/kg de peso corporal/día por 3 días), comprobando la efectividad a los 10 días posteriores al término del mismo. Como control, se practicó un cps a los 3 meses y finalmente 6 meses posteriores a la erradicación de la infección inicial. En aquellos casos donde se presentó re-infección por *Giardia*, se proporcionó tratamiento hasta que el cps resultó negativo.

Vitamina A

Una vez identificado el parásito *Giardia lamblia* en heces, se procedió a la realización de la prueba MRDR en el plantel escolar y para tal efecto, se pidió a los niños que acudieran en ayuno y acompañados por sus padres. El protocolo se inició al administrar una dosis oral de 3,4-Didehidroretinol acetato (7 μ mol) disuelto en aproximadamente 175 μ L de aceite de maíz. Posteriormente se proporcionó un alimento alto en grasa y bajo en vitamina A para promover la absorción del compuesto. Cinco horas después, se colectó una muestra de 5 mL.

de sangre por punción de la vena antecubital del antebrazo empleando jeringa o el sistema Vacutainer[®]. El suero obtenido se almacenó a -70° C para su posterior análisis por HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución). El procedimiento descrito anteriormente, se realizó al inicio del estudio y a los seis meses posteriores a la erradicación inicial de *Giardia lamblia*.

Cuantificación del Retinol (R) y 3,4-Didehidroretinol (DR). En un tubo cónico de 1.5 mL (Eppendorf[®]), se colocó una alícuota de 200 µL de suero, 200 µL de agua y 400 µL de etanol y se agitaron brevemente en un agitador tipo "vortex". Posteriormente, se agregaron 700 µL de hexano y se agitó por 10 minutos. Se centrifugó 10 minutos a 4° C y 900 g en una microcentrífuga (Eppendorf[®] 5417 R). Se recolectaron 600 µL de la capa de hexano y ésta se evaporó hasta sequedad bajo una suave corriente de nitrógeno. La muestra se reconstituyó en 150 µL de metanol:agua (90:10 v/v) y se agitó durante 10 minutos antes de su inyección al Cromatógrafo (modificación al método de Hess y cols., 1991). La eficiencia de extracción fue comprobada empleando un suero estándar de referencia certificado (NIST –National Institute of Standards and Technology- Standard reference material[®] 968c) y se obtuvo un coeficiente de variabilidad menor al 5 %.

Para el análisis, se inyectaron 10 µL de la muestra reconstituida a una columna C-18 supelcosil de 5µm de tamaño de partícula (Supelco[®] 5-8298) a través de un inyector Rheodyne[®] 7125. La fase móvil metanol:agua (90:10 v/v) se bombeó por el sistema empleando una bomba Varian Pro-Star[®] (modelo 220) a un flujo de 1 mL/min. Los compuestos se detectaron a 340 nm empleando un detector de longitud de onda variable UV-Visible Varian 9050[®]. Las áreas de las muestras fueron comparadas contra estándares purificados de 3,4-didehidroretinol y retinol respectivamente.

Análisis Estadístico

Los cálculos se efectuaron utilizando el paquete estadístico NCSS (versión 6.0, 2000). Las características generales de la población se presentan en base a un análisis descriptivo de los datos. Para observar el efecto del tratamiento antiparasitario sobre el estado de vitamina A, se realizó una prueba de *t*-pareada, así como un análisis de covarianza (GLM ANOVA), donde las covariables fueron parásitos patógenos distintos de *Giardia* y parásitos comensales.

RESULTADOS

Evaluación Nutricional

Las características generales de la población del estudio se muestran en la **Tabla 1**, donde de los 30 participantes el 60 % (n=18) perteneció al género femenino. El tiempo entre el inicio y el final del estudio fue de 6.82 ± 0.56 meses y en este lapso no existió diferencia estadísticamente significativa al ajustar por sexo, en ninguno de los indicadores antropométricos mostrados en la tabla.

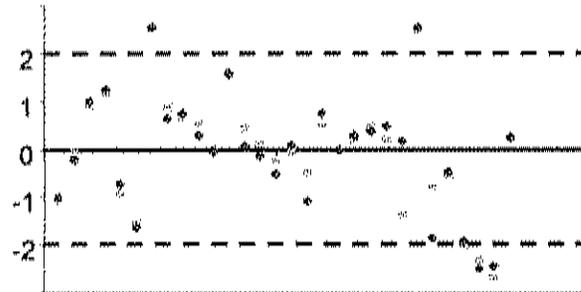
Tabla 1. Características físicas de los escolares infectados con *Giardia lamblia* al inicio y 6 meses posteriores a la erradicación inicial del protozooario.

	INICIO (Media \pm DE)	FINAL (Media \pm DE)
Edad (años)	8.9 ± 1.7	9.5 ± 1.7
Peso (Kg)	30.3 ± 10.4	32.4 ± 11.3
Talla (m)	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1
Z P/E	-0.04 ± 1.3	-0.06 ± 1.2
Z T/E	-0.19 ± 1.2	-0.20 ± 1.1
Z IMC/E	0.12 ± 1.2	0.11 ± 1.1

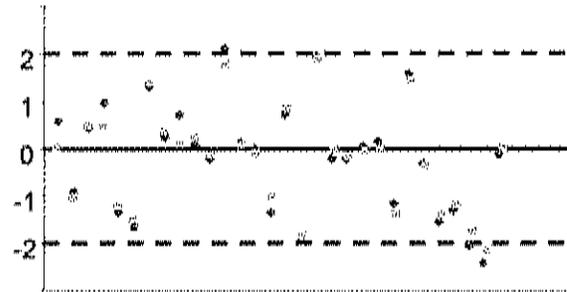
P > 0.05

De acuerdo a los puntajes Z T/E, P/E e IMC/E mostrados en la tabla, se observa que la población estudiada, en promedio, se encuentra dentro de los rangos normales para su edad, lo cual indica que no existen alteraciones nutricionales evidentes. Al analizar de forma individual cada uno de los parámetros mencionados (**Figura 1**), al inicio se encontró una prevalencia de 6.7 % (n=2) tanto de bajo P/E como de baja T/E, valores que al final se

PE



TE



IMCE

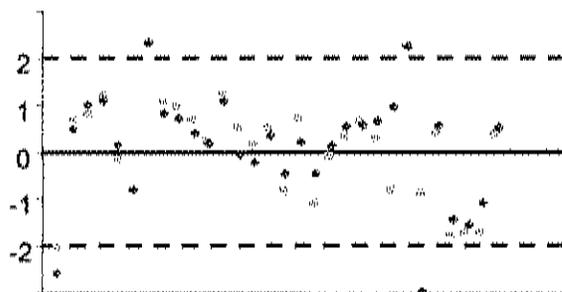
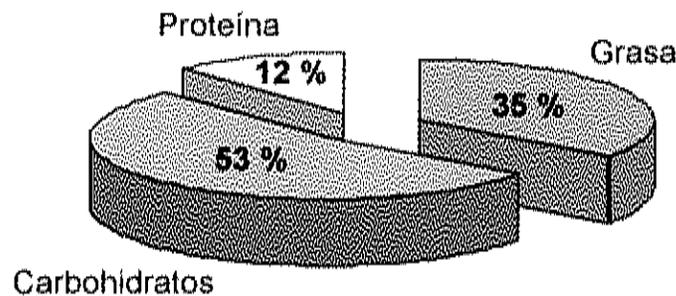


Figura 1. Clasificación antropométrica de los niños del estudio de acuerdo a los puntajes z: peso para la edad (PE), talla para la edad (TE) e índice de masa corporal para la edad (IMCE)

modificaron encontrándose un 3.3 % (n=1) de baja T/E y un 10 % (n=3) de bajo P/E. En cuanto al IMC/E, al inicio se encontró que el 6.7 % (n=2) de los sujetos cursó con un valor de $z > 2$, mismo que se conservó al final del estudio.

Respecto a la evaluación dietaria, en la **Figura 2** se observa la distribución y el consumo promedio de energía a lo largo del estudio. La ingestión promedio de vitamina A se observa en la **Tabla 2**, donde a pesar de que el porcentaje de adecuación es muy elevado, únicamente el 77 % de los sujetos cubrió su ingestión diaria recomendada (DRI's, 2003). Los principales alimentos aportadores de vitamina A a partir de los tres recordatorios fueron: zanahoria, cereales fortificados, mango e hígado. No se observó diferencia significativa en el consumo de los nutrimentos durante las tres entrevistas no consecutivas realizadas a los sujetos del estudio.

Figura 2. Distribución y consumo promedio de energía en los escolares infectados con *Giardia lamblia*.



	CONSUMO (Media \pm DE)	PORCENTAJE DE ADECUACIÓN (Media)
Energía (kcal)	2232 \pm 520	109

Tabla 2. Consumo promedio de vitamina A (Equivalentes de Retinol) en los escolares infectados con *Giardia lamblia*.

	CONSUMO (Media \pm DE)	PORCENTAJE DE ADECUACIÓN (Media)
Vitamina A (ER)	776 \pm 534	209

Parasitosis intestinal

En la **Figura 3**, se muestra la distribución de los parásitos intestinales encontrados en los 30 niños participantes al ingresar al estudio, en un seguimiento a los tres meses y finalmente a los 6 meses. Los parásitos comensales (no relacionados con sintomatología clínica) encontrados fueron *Entamoeba coli* y *Endolimax nana*, mientras que aquellos denominados como patógenos (asociados a sintomatología clínica) fueron *Hymenolepis nana/diminuta* y *Entamoeba histolytica/dispar*, ésta última se encontró únicamente al inicio del estudio.

Vitamina A

Los valores del retinol séricos obtenidos al inicio y al final del estudio se muestran en la **Tabla 3**. El 36.7 % (n=11) de los sujetos cursó con deficiencia de vitamina A moderada (0.35 a 0.7 μ mol/L), mientras que al final esta prevalencia disminuyó a un 13.3 % (n=4)(P < 0.02).

Para la prueba MRDR (DR/R), se empleó un punto de corte \geq 0.06 (Tanumihardjo y cols., 1996) y se encontró que al inicio el 76.7 % (n=23) presentó valores por arriba del punto de corte, valor que disminuyó a 73.3 % (n=22) al final del estudio. Si bien no existe un aumento evidente en el



Figura 3. Distribución de los parásitos encontrados en los niños del estudio al inicio (A), en un control parasitario a los 3 meses (B) y finalmente a los 6 meses posteriores a la erradicación inicial de *Giardia lamblia* (C).

porcentaje de niños que alcanzaron a restablecer su reserva hepática hasta obtener un valor por debajo de 0.06 en la relación DR/R, si se observó un cambio favorable una vez que se eliminó la infección por *Giardia lamblia* (Figura 4).

Al analizar la relación entre el retinol sérico y la MRDR en el presente estudio, se encontró que la correlación entre ambas variables fue negativa y resultó altamente significativa ($r = -0.59$; $P < 0.001$)(Figura 5).

Tabla 3. Niveles séricos de retinol y reserva hepática de vitamina A en escolares infectados con *Giardia lamblia*.

	INICIO Media \pm DE	FINAL Media \pm DE	P
Retinol ($\mu\text{mol/L}$)	0.79 \pm 0.2	0.88 \pm 0.2*	< 0.02
MRDR (DR/R)	0.18 \pm 0.1	0.09 \pm 0.05**	< 0.001

Los resultados mostrados anteriormente, tanto para el retinol sérico como para la MRDR, son en base a la comparación directa entre el inicio y el final del estudio (*t*-pareada). Sin embargo, al ajustar por la presencia de otros parásitos (ANCOVA) se encontró que no hubo diferencia significativa en los valores de retinol sérico entre el inicio y el final del estudio ($P > 0.05$). Aún así, es posible apreciar en el análisis que la presencia o ausencia de *Giardia* fue el principal factor contribuyente en la modificación de los valores de retinol (Figura 6).

A diferencia del retinol sérico, el análisis de varianza para la MRDR ajustada por otros parásitos muestra que sí existe diferencia estadísticamente significativa entre el inicio y el final del estudio. Si bien, la presencia de otros parásitos patógenos también contribuyó significativamente ($P < 0.02$) en la

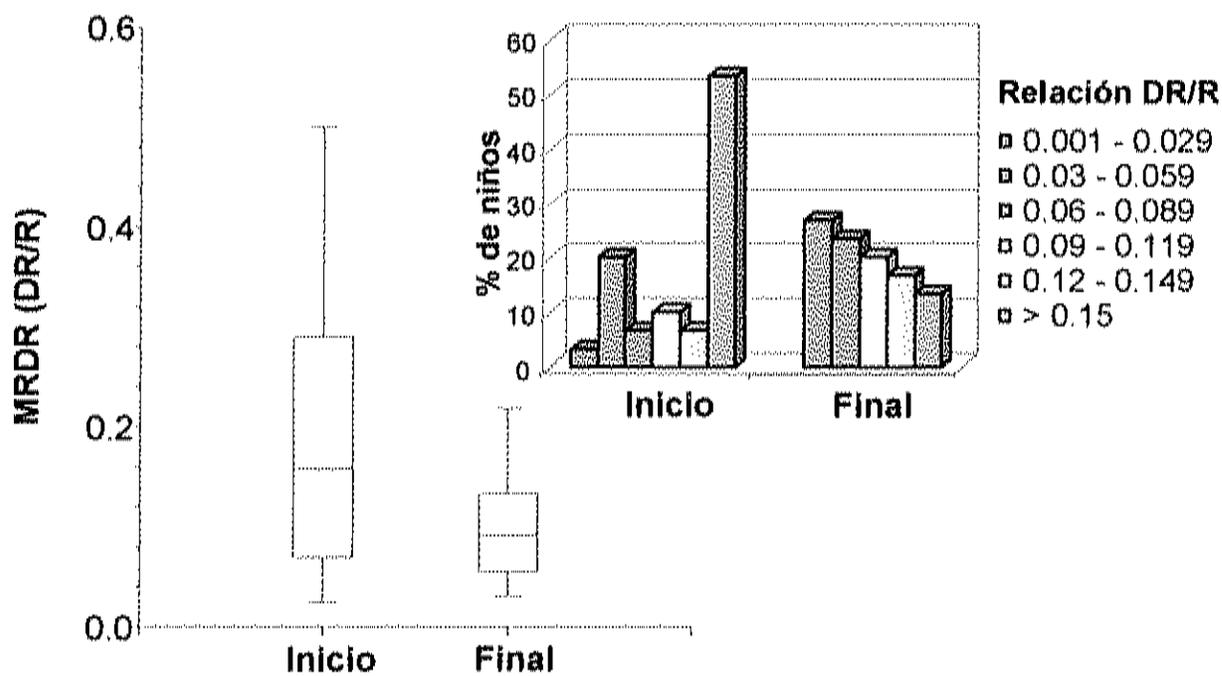


Figura 4. Distribución de los valores de MRDR en los niños infectados con *Giardia lamblia* antes y después de la erradicación del parásito.

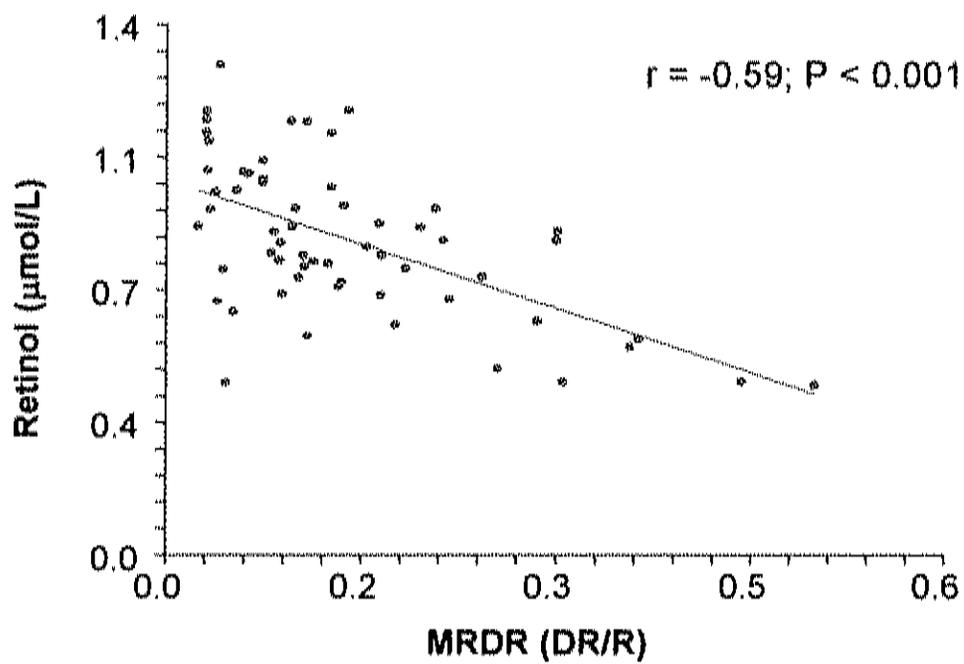


Figura 5. Relación entre el retinol sérico y la MRDR en los niños infectados con *Giardia lamblia*.

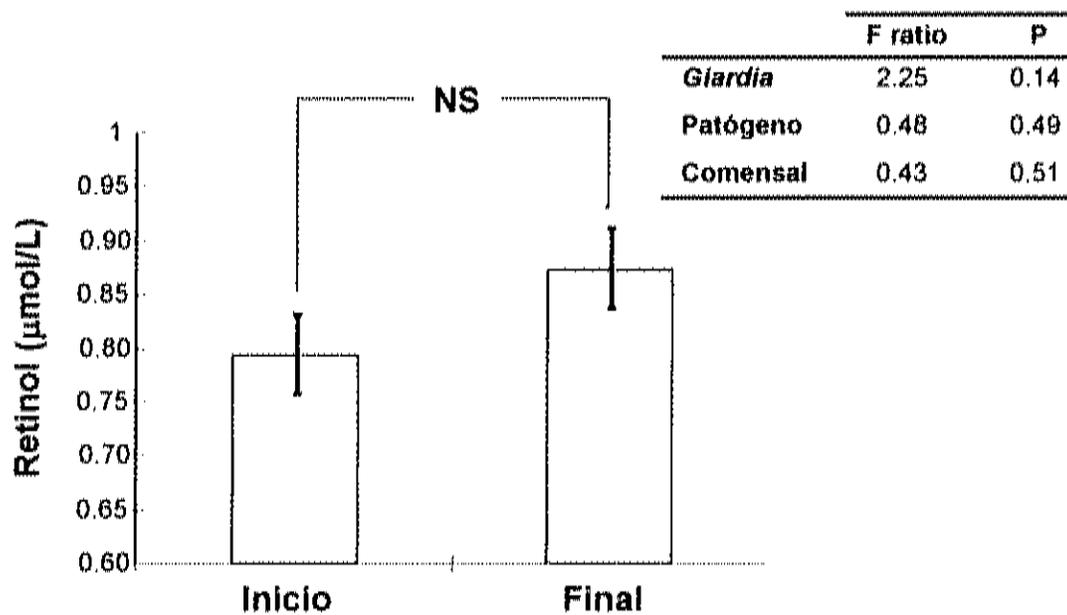


Figura 6. Comparación entre los valores de retinol sérico en escolares infectados con *Giardia lamblia*, al inicio y 6 meses posteriores a la erradicación inicial del parásito. (Media \pm ES ajustada por otros parásitos)

alteración de la reserva hepática, es sin duda alguna la presencia o ausencia de *G. lamblia* el factor determinante y de mayor peso en el análisis ($P < 0.002$) el que contribuyó a la modificación de los valores de la relación DR/R (Figura 7).

DISCUSIÓN

En este trabajo, si bien existió un cambio favorable en los valores de retinol sérico, no se observó una diferencia significativa al comparar la concentración media de retinol sérico al inicio y seis meses posteriores a la erradicación inicial de *Giardia lamblia*. Estos resultados concuerdan con lo documentado por otros autores (Tanumihardjo y cols., 1996; Yakinci y cols., 1998; Muniz-Junqueira y cols., 2002) donde, al eliminar la infección parasitaria no hubo un cambio significativo en los valores séricos de retinol. Lo anterior se explica por el hecho de que la población del presente estudio cursó con valores de retinol sérico limítrofes al rango de deficiencia de vitamina A, por lo cual es difícil observar cambios importantes asociados a éste parámetro en virtud de que el retinol es un metabolito regulado homeostáticamente (Green y Green, 1994).

En contraste, a partir de los resultados obtenidos al evaluar la reserva hepática se observó que, a pesar de que el valor promedio de retinol sérico se encontró dentro del rango normal, la mayor parte de la población del estudio (73 %) cursó con una reserva de vitamina A disminuida. Si bien la reserva hepática no llegó a reestablecerse en su totalidad, sí se observó una modificación favorable en los valores de la relación DR/R seis meses posteriores a la erradicación inicial de *Giardia*. Además de *Giardia*, se encontró que otros parásitos patógenos tales como *H.nana* y *E. histolytica*, también contribuyeron aunque en menor grado, al detrimento de la reserva hepática de vitamina A.

Es importante resaltar que la población del estudio fueron sujetos con un estado nutricio adecuado, por lo que en los resultados mostrados anteriormente,

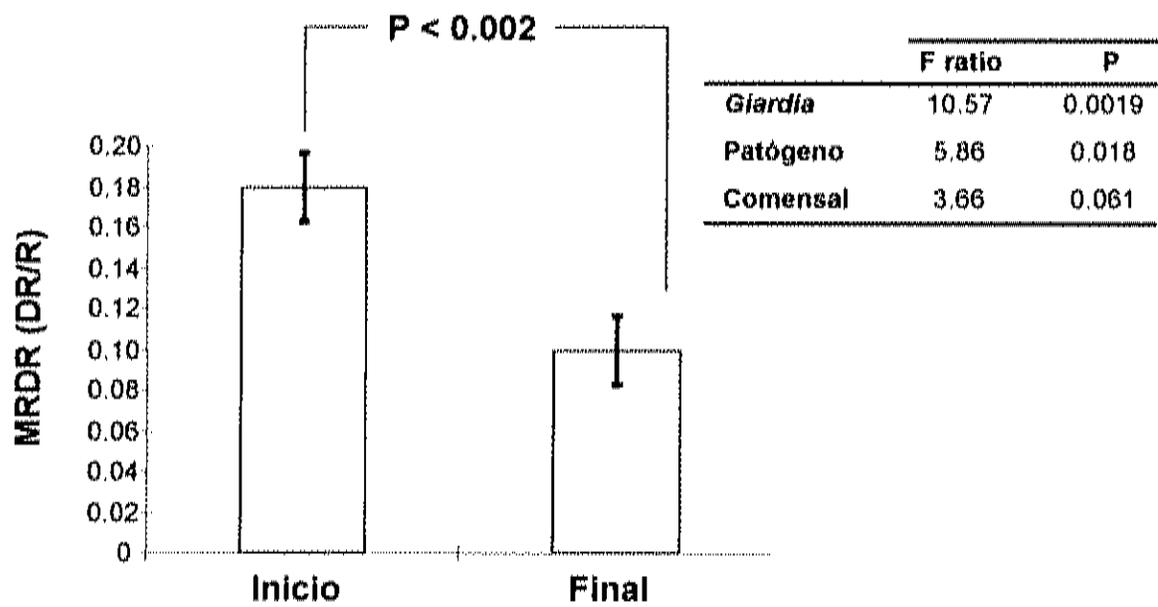


Figura 7. Comparación entre los valores de MRDR en escolares infectados con *Giardia lamblia*, al inicio y 6 meses posteriores a la erradicación inicial del parásito. (Media \pm ES ajustada por otros parásitos)

es posible eliminar el efecto de la desnutrición sobre la movilización de la vitamina A hepática, lo que a su vez contribuye a enmascarar el efecto de la giardiasis sobre los niveles séricos de la vitamina.

Con base en los resultados obtenidos es posible postular que la giardiasis no ejerce únicamente un efecto superficial a nivel de malabsorción de nutrimentos en el intestino, particularmente de vitamina A, sino que éste repercute directamente a un nivel más profundo como lo es la reserva hepática de retinol.

Si bien el mecanismo exacto por el cual el parásito compromete el metabolismo de la vitamina A aún no está completamente entendido, es muy factible que las alteraciones en la arquitectura intestinal (Buret y cols., 1992; Scott y cols., 2000) y la pérdida de la integridad intestinal (Goto y cols., 2002) presentes a lo largo del intestino durante la infección con *Giardia*, sean los factores que contribuyen a limitar la captación de la vitamina a partir de la dieta. Al verse disminuida la incorporación de vitamina A, el organismo debe mantener la homeostasis y por lo tanto tiene que movilizar rápidamente la reserva hepática a fin de mantener niveles óptimos de retinol sérico, para lo cual es necesario un adecuado balance proteico en el individuo.

Recientemente, Verhoef y West (2005) han cuestionado la validez de las pruebas de dosis respuesta para la evaluación de la reserva hepática de vitamina A, ya que éstas dependen directamente de la concentración circulante de retinol y por lo tanto, concluyen que los resultados obtenidos son en realidad un artefacto matemático y no un reflejo real de la condición en la que se encuentra la reserva hepática. Nuestra opinión al respecto es que si bien las técnicas de dosis respuesta utilizan los niveles de retinol sérico en sus cálculos, éstas han demostrado ser hasta el momento el mejor instrumento para valorar la reserva hepática de vitamina A. Por otra parte el metabolismo del retinol en el

organismo además de ser regulado homeostáticamente está fuertemente influenciado por el balance proteico y por el aporte dietario de la vitamina.

Finalmente, podemos concluir que la infección por *Giardia lamblia* tuvo un efecto negativo sobre las concentraciones de retinol, pero de forma más importante la giardiasis compromete la reserva hepática de vitamina A en los niños y niñas de edad escolar infectados con este protozooario.

REFERENCIAS

- ASTIAZARÁN, H., Espinosa, M., Castañón, G., Chávez, B., Martínez, A. 2000. *Giardia lamblia*: effect of infection with symptomatic and asymptomatic isolates on the growth of gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Exp parasitol* 95:128-35
- BURET, A., Gall, D., Nation, P., Olson, M. 1990. Intestinal protozoa and epithelial cell kinetics, structure and function. *Parasitol today*. 6:375-80
- BURET, A., Hardin, J., Olson, M., Gall, D. 1992. Pathophysiology of small intestinal malabsorption in gerbils infected with *Giardia lamblia*. *Gastroenterol*. 103:506-13
- CAMERON. 1978. The methods of auxological anthropometry. In: Falkner, F. and Tanner, J. Human Growth. Post natal growth. Plenum Press London.
- DRI's. Dietary Reference Intakes: Guiding principles for nutrition labeling and fortification, 2003. Web site: <http://www.nap.edu/books/0309091438/html>
Visitado el 12 de octubre de 2005.
- EGGER, R., Hofhuis, E., Bloem, M., Chusilp, K., Wedel, M., Intarakhao, C., Saowakontha, S., Schreurs, H. 1990. Association between intestinal parasitoses and nutritional status in 3-8 year old children in northeast Thailand. *Trop Geogr Med*. 42:312-328.
- ELNAGGAR, B., Gaafar, S., Allam, H., Osman, N., Hussein, L. 1981. Study of the absorption of vitamin A oily preparation among school pupils from the rural. *Int J Vit Nutr Res* 51:3-8
- FARTHING, M. 1993. Pathogenesis of giardiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 87:17-21
- FARTHING, M. 1994. Giardiasis as a disease. In: Thompson, R., Reynoldson, J., Lymbery, A. *Giardia*: from molecules to disease. CAB International. pp 15-37.

- FAUST, E., D'Antoni, J., Odom, V., Miller, J., Peres, C., Sawitz, W., Thomen, L., Tobie, J., Walker, J. 1939. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. *Am J Trop Med* 18:169-83.
- GOTO, R., Panter-Brick, C., Northrop-Clewea, C., Manahdar, R., Tuladhar, N. 2002. Poor intestinal permeability in mildly stunted Nepali children: associations with weaning practices and *Giardia lamblia* infection. *Br J Nutr* 88:141-9.
- GREEN, M., Green, J. 1994. Dynamics and control of plasma retinol. In: Blomhoff, R. Vitamin A in health and disease. Marcel Dekker. pp. 119-33
- HESS, D., Keller, H., Oberlin, B., Bonfant, R., Scheup, W. 1991. Simultaneous determination of retinol, tocopherols, carotenes and lycopene in plasma by means of high-performance liquid chromatography on reverse phase. *Int J Vit Nut Res* 61:232-8
- LUNN, B., Northrop. 1992. Parasitism and protein and energy metabolism and animals. *Proceedings of the Nutrition Society*. 52:101-11.
- MAHALANABIS, D., Simpson, T., Chakraborty, M., Ganguli, C., Bhattacharjee, A., Mukherjee, A. 1979. Malabsorption of water miscible vitamin A in children with giardiasis and ascariasis. *Am J Clin Nutr* 32:313-8
- MARINHO, H., Shrimpton, R., Giugliano, R., Burini, R. 1991. Influence of enteral parasites on the blood vitamin A levels in preschool children orally supplemented with retinol and/or zinc. *Eur J Clin Nutr*. 45:539-44.
- MUNIZ-JUNQUEIRA, M., Oliveira, E. 2002. Relationship between protein-energy malnutrition, vitamin A, and parasitoses in children living in Brasilia. *Rev Soc Bras Med Trop* 35:133-41
- SANJUR y Rodríguez. 1997. Evaluación de la ingesta dietaria: aspectos selectos en la colección y el análisis de datos. División de ciencias nutricionales.

- Programa de nutrición comunitaria. Colegio de Ecología Humana. Cornell University.
- SCOTT, K., Logan, M., Klammer, G., Teoh, D., Buret, A. 2000. Jejunal brush border microvillous alterations in *Giardia muris* infected mice: role of T lymphocytes and interleukin-6. *Infect Immun* 68:3412-8
- TANUMIHARDJO, S., Furr, H., Erdman, J., Olson, J. 1990. Use of the modified relative dose response (MRDR) assay in rats and its application to humans for the measurement of vitamin A status. *Eur J Clin Nutr* 44:219-24
- TANUMIHARDJO, S., Olson, J. 1988. A modified relative dose response assay employing 3,4-didehidroretinol (vitamin A₂) in rats. *J Nutr* 118:598-603
- TANUMIHARDJO, S., Olson, J. 1991. The reproducibility of the modified relative dose response (MRDR) assay in healthy individuals over time and its comparison with conjunctival impression cytology (CIC). *Eur J Clin Nutr* 45:407-11
- TANUMIHARDJO, S., Permaesih, D., Muherdiyantiningsih, Rustan, E., Rusmil, K., Fatah, A., Wilbur, S., Muhilal, Karyadi, D., Olson, J. 1996. Vitamin A status of Indonesian children infected with *Ascaris lumbricoides* after dosing with vitamin A supplements and albendazole. *J Nutr* 126:451-7
- THOMPSON, R., Walters, R. 2002. Correlation between genotype of *Giardia duodenalis* and diarrhoea. *Int J Parasitol*. 32:229-31.
- UPCROFT, P., Upcroft J. 2001. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clin Microbiol Rev* 14:150-64
- VERHOEF, H., West, C. 2005. Validity of the relative-dose-response test and the modified-relative-dose-response test as indicators of vitamin A stores in liver. *Am J Clin Nutr* 81:835-9
- YAKINCI, C., Küçükbay, F., Durmaz, Y., Küçükbay, H., Rafiq, M. 1998. Serum vitamin A and beta-carotene levels in children with giardiasis before and after treatment. *J Trop Ped* 44:248

