

En 1965 Bowie reportaba la deficiencia de lactasa en niños con desnutrición y años después (1972) la empresa Tokio Tanabe Co. lanzaba el primer producto enzimático "Galactase" antes de que en EUA apareciera en el mercado "Lactaid". Este ensayo clínico exploratorio publicado hace 33 años muestra la inquietud que como pediatras vivimos al no haber en el mercado fórmulas lácteas sin lactosa.

Absorción facilitada de lactosa mediante beta-galactosidasas del *Aspergillus*[§]

(Facilitated absorption of lactose by beta-galactosidase of *Aspergillus*)

Leopoldo Vega Franco,* Enedina Jiménez Cardoso,* Carmen Vega Martínez*

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objeto valorar la eficacia de un producto liofilizado de beta-galactosidasas obtenidas del *Aspergillus*. Partiendo de la información de que en los episodios de desnutrición severa existe una disminución importante en la actividad de las disacaridasas, particularmente de la lactasa, se relacionaron diez niños afectados por desnutrición a fin de valorar la efectividad del liofilizado al proporcionar una carga de lactosa. A cada uno de los niños se le proporcionó la lactosa a razón de 2 g/kg por vía oral, y se investigó el nivel de glucosa en la sangre a los 0, 60, 90 y 120 minutos. Veinticuatro horas después se repitió el estudio adicionando a la carga de lactosa 1.5 g del liofilizado por cada 10 a 15 g del disacárido. Los resultados del presente estudio demostraron en los niños una deficiente absorción de lactosa, corroborando lo reiteradamente informado por otros investigadores. Aun cuando las curvas de glucosa no mostraron un patrón uniforme que permitiese asegurar una absorción normal de lactosa en todos ellos, hubo un cambio estadísticamente significativo en la concentración de glucosa a los 90 minutos, cuando se usó la enzima. Por otra parte se apreció un cambio en la frecuencia y consistencia de las evacuaciones a pesar de que las curvas de glucosa fuesen planas. Estos hallazgos permiten reconocer que el uso de las beta-galactosidasas obtenidas del *Aspergillus*, puede ser una medida favorable en el tratamiento dietético de niños afectados por una deficiente actividad de lactasa en el intestino.

Palabras clave: Absorción de lactosa, deficiencia de lactasa, desnutrición.

SUMMARY

A preparation containing beta-galactosidases from *Aspergillus* species was used in 10 severe malnourished children with lactase deficiency. All cases were studied by the lactose loading test, the thin-layer chromatography and the demonstration of reducing substances in the stool. Twenty four hours after, once the deficiency was identified, it was given the same quantity of lactose used in the loading test, but it was added with the preparation containing beta-galactosidases. There was a significant difference of glucose in blood 90 minutes after the loading of lactose; when it was added with enzymes, the level of glucose was higher. These findings indicate that lactose is hydrolyzed and absorbed better when the preparation containing beta-galactosidases is added simultaneously.

Key words: Lactose absorption, lactose deficiency, malnutrition.

La deficiente actividad de las disacaridasas de las células epiteliales de la mucosa intestinal, ha sido repetidamente comunicada en niños afectados por desnutrición severa.¹⁻⁶

Esta circunstancia ha dado lugar a sugerir durante la diarrea el uso de una dieta libre en disacáridos⁷ ya que la

* Departamento de Nutrición y Gastroenterología, Hospital Infantil de México.

§ Publicado en la Rev Mex Pediatr 1975; 44(2):137-47.

intolerancia a estos azúcares se agrava durante estos procesos.⁸ Otra solución terapéutica ha sido la de agregar a la leche un liofilizado que contiene beta-galactosidasas obtenidas del *Aspergillus*. Este procedimiento ha dado lugar a resultados halagadores, en niños lactantes afectados por intolerancia a la lactosa de origen secundario.⁹

Si bien la deficiencia en la actividad de las disacaridasas es un hallazgo constante en los niños desnutridos, la intolerancia a la leche se manifiesta en la generalidad de los casos, sólo durante los episodios de diarrea de causa infecciosa o después de estos procesos.¹⁰ Es así como la desnutrición constituye un factor limitante en la absorción de estos azúcares, durante el estadio agudo de la desnutrición severa.

Contando con un liofilizado de beta-galactosidasa obtenido del *Aspergillus*,¹ se consideró prudente valorar su efectividad en la lactosa durante la desnutrición.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en diez niños afectados por desnutrición proteico-calórica. El criterio para clasificar a los niños fue el sugerido por Gómez,¹¹ seleccionando únicamente aquéllos afectados por desnutrición de segundo y tercer grado.

Previo ayuno por 8 horas, se investigó la tolerancia a una carga oral de lactosa, proporcionando este azúcar a razón de 2 g por kilo de peso. Las muestras de sangre fueron obtenidas en tubos capilares a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos.

Los niños fueron sujetos a estudio por un lapso de 8 horas durante el cual se recolectó la materia fecal. Veinticuatro horas más tarde se repitió la investigación, proporcionando 1.5 g del liofilizado que contenía las beta-galactosidasas, por cada 10 a 15 g de lactosa. El disacárido fue proporcionado en una leche maternizada que contenía 7.2 g de este azúcar en 100 mL de una dilución normal, adicionando lactosa hasta proporcionar los 2 g por cada kilo del niño.

La estimación de la absorción se hizo indirectamente, determinando de manera seriada la concentración de la glucosa en la sangre mediante el procedimiento de la glucosa oxidasa.¹² La excreción de azúcar en la materia fecal fue cuantificada por el método de Nelson-Somogyi.¹³

Se investigó también el pH y la presencia de sustancias reductoras en las heces, siguiendo el procedimiento sugerido por Kerry y Anderson.¹⁴ Cuando hubo azúcar, éste se identificó mediante la cromatografía en capa

fina.¹⁵ El análisis de los datos se hizo comparando en cada niño la curva de tolerancia a la lactosa, cuando ésta fue proporcionada con y sin la enzima.

El grado de significación de las diferencias entre los promedios, se investigó mediante la prueba de «t» para muestras dependientes.¹⁶

RESULTADOS

El estado de nutrición de los niños, al momento de realizar la investigación, se presenta en el *cuadro 1*. Todos ellos tenían un porcentaje de peso, con respecto a lo ideal para su edad cronológica, que permitía clasificarlos como desnutridos de 2o y 3er grados. La edad en nueve de los diez niños, fue menor de 2 años.

La concentración de glucosa en la sangre, aparece en el *cuadro 2*. Como se aprecia, cuando se dio solamente la lactosa los niveles de glucosa en la sangre tuvieron un escaso incremento; en sólo dos de los niños la concentración sobrepasó 20 mg, con respecto al nivel de glucosa encontrado al minuto cero.

En contraste, cuando se dio la misma cantidad de lactosa adicionada del liofilizado que contenía la enzima, en ocho de los niños el incremento pasó de 20 mg, siendo en los otros dos niños de 19 mg y 16 mg. La media aritmética y la mediana obtenida en cada uno de los tiempos de observación, coinciden en mostrar un mayor incremento de glucosa en la sangre, al dar la lactosa con la enzima.

Es evidente que la respuesta no fue uniforme en todo el material de estudio, ya que si bien el máximo incremento en los niños identificados como nueve y diez fue de 28 mg, la *figura 1* da muestra de que sus curvas tuvieron la característica de ser planas; es necesario hacer

Cuadro 1. Estado de nutrición según el peso corporal de los niños.

Niño	Edad (meses)	Peso (kg)	%*	Grado de desnutrición
1	8	5.60	67.8	2°
2	16	5.70	53.3	3°
3	84	15.00	68.2	2°
4	24	7.35	59.3	3°
5	17	8.25	75.3	2°
6	8	4.40	53.3	3°
7	19	8.70	75.9	2°
8	5	5.22	76.2	2°
9	7	4.10	52.2	3°
10	7	3.75	47.8	3°

* Porcentaje de peso con respecto al ideal¹⁷ para su edad cronológica.

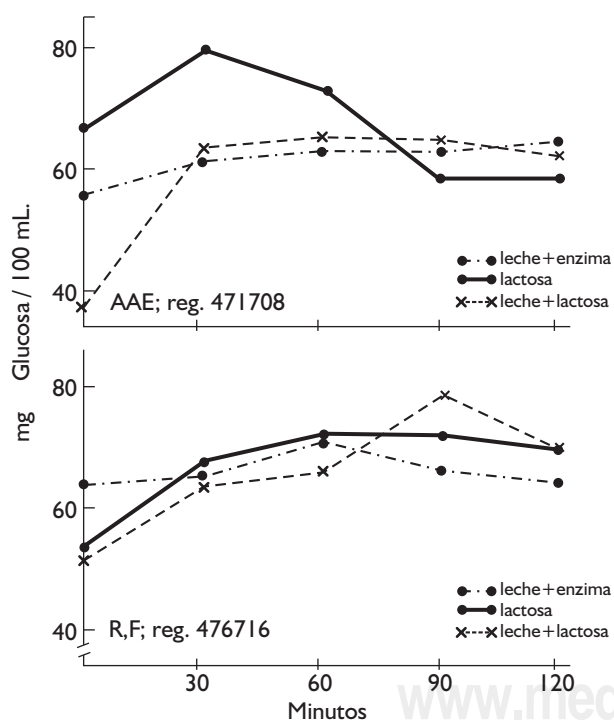
¹ "Galantase" Tokyo Tanabe Co.

Cuadro 2. Concentración* de glucosa en sangre después de recibir una carga de lactosa (2 g/kg) sola y adicionada con enzimas.

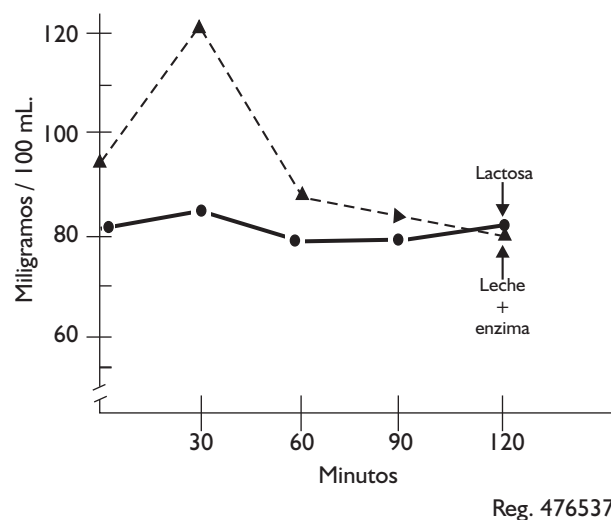
Niños	Lactosa					Máximo** incremento (mg)	Lactosa + enzima					Máximo** incremento (mg)
	0	30	60	90	120		0	30	60	90	120	
1	81	85	79	79	81	4	96	120	88	86	80	24
2	90	94	94	118	92	28	80	90	120	92	80	40
3	80	—	80	92	92	12	80	86	92	100	108	28
4	74	72	92	108	103	34	93	102	109	112	100	19
5	60	68	74	72	72	14	64	96	92	79	79	32
6	60	64	70	70	67	10	62	76	74	70	64	16
7	79	70	87	84	82	8	72	78	92	84	80	20
8	72	70	74	65	64	2	78	98	100	94	90	22
9	54	68	73	73	71	39	52	64	67	80	72	28
10	67	80	74	60	60	13	38	64	66	66	64	28
Media aritmética	71.7	75.5	79.7	82.1	78.4	10.4	71.5	87.4	90.0	86.3	81.7	18.5
Mediana	75.5	72.0	76.5	76.0	76.5		75.0	88.0	92.0	85.0	80.0	

* mg/100 mL.

** Con respecto al minuto cero.

**Figura 1.** Curvas de tolerancia a la lactosa correspondientes a los niños 9 (abajo) y 10 (arriba).

notar que éstas fueron muy semejantes cuando se dio la carga de lactosa, que cuando se ofreció la misma cantidad de este azúcar en la leche adicionada de lactosa. En la figura 2 se aprecia de manera objetiva el resultado de

**Figura 2.** Curva de tolerancia a la lactosa correspondiente al niño 1.

los estudios realizados en el niño 1, en ella se puede apreciar la mejoría en la curva de glucosa al adicionar la enzima a la lactosa.

Tomando como ejemplo de comportamiento clínico y respuesta bioquímica la de los niños 1 y 9, es posible abarcar de manera descriptiva el amplio margen de respuestas habidas en el material biológico investigado. El niño 1 es tomado como ejemplo de un resultado muy satisfactorio y el número 9 como un niño en el que se obtuvo una respuesta dudosamente favorable.

Cuadro 3.

Niño I Reg. 476537 Edad Peso 5.600 kg						
Primer estudio:			Glucosa en sangre			
Lactosa proporcionada 1 l g			Minutos		mg/100	
			0		81.2	
			30		85.6	
			60		69.2	
			90		79.2	
			120		81.2	
Materia fecal						
Mues- tra núm.	Minutos transcu- rridos	Peso (g)	Consis- tencia	pH	Sust. reducto- ras %	Glucosa excre- tada
1	75	13	Líquida	6	.25	0.523
2	170	48	"	6	+ 2.0	1.867
3	210	34	"	5	+ 2.0	1.186
4	235	34	"	5	+ 2.0	1.564
5	255	26	"	5	+ 2.0	1.274
Segundo estudio:			Glucosa en sangre			
12.74 g de leche maternizada =			7 g lactosa	Minutos	mg/100	
			3 g lactosa	0	96.0	
			—	30	120.1	
Total			11.0 g lactosa	60	88.0	
Se adicionó 1.5 g del				90	86.4	
lío-filizado que				120	80.0	
contenía la enzima						
Materia fecal						
Mues- tra núm.	Minutos transcu- rridos	Peso (g)	Consis- tencia	pH	Sust. reducto- ras %	Glucosa excre- tada
1	250	3	Pastosa amarillo- verdoso	6	0	0

El niño identificado con el número 1, presentó durante el lapso del primer estudio cinco evacuaciones líquidas; la primera de ellas 75 minutos después de haberse dado la lactosa. El pH de las heces fue de 6 y 5, habiéndose detectado la presencia de sustancias reductoras en concentraciones por arriba de 2%, excepto en la primera en que fue de 0.25%. La cantidad de azúcar estimada en la materia fecal, fue en un total de 6.4 g. Durante el segundo estudio en que se ofreció la enzima, efectuado 24 horas después, el incremento en la concentración de glucosa en la sangre permite afirmar que

Cuadro 4.

Niño 9							
Reg. 471708							
Edad							
Peso 4.100 kg							
Primer estudio							
Lactosa 8.2 g				Glucosa en sangre			
				Minutos		mg/100	
				0		67	
				30		80	
				50		74	
				90		60	
				120		60	
Materia fecal							
Mues- tra núm.	Minu- tos trans- curri- ridos	Peso (g)	Con- sisten- cia	pH	Sust. reduc- toras %	Glucosa excre- tada	Cro- mato- grafía
1	220	5	Pastosa	6	.25	1.32	Lactosa
2	360	8	"	6.5	.25	.576	Galactosa Lactosa
Segundo estudio							
11.7 g leche maternizada =				Glucosa en sangre			
6.6 de lactosa				Minutos		mg/100	
1.6 de lactosa				0		38	
Total				30		64	
Liofilizado con la enzima =				60		66	
1.5 g				90		66	
				120		64	
Materia fecal							
Mues- tra núm.	Minu- tos trans- curri- ridos	Peso (g)	Con- sisten- cia	pH	Sust. reduc- toras %	Glucosa excre- tada	Cro- mato- grafía
1	5	2	Pastosa	6	Neg.	—	—
2	250	6.5	"	6	Neg.	—	—
Tercer estudio							
Igual cantidad de leche y lactosa pero sin enzima				Glucosa en sangre			
				Minutos		mg/100	
				0		56	
				30		62	
				60		64	
				90		64	
				120		66	
Materia fecal							
Mues- tra núm.	Minu- tos trans- curri- ridos	Peso (g)	Con- sisten- cia	pH	Sust. reduc- toras %	Glucosa excre- tada	Cro- mato- grafía
1	155	7	Pastosa	6	.25	1.3	Lactosa
2	220	5.5	Semi- líquida	6	.25	0.9	Galactosa Glucosa

hubo una adecuada absorción de la lactosa; esta observación coincidió con la respuesta clínica, ya que el niño presentó sólo una evacuación de aspecto normal, sin sustancias reductoras ni azúcar (*Cuadro 3*).

El niño 9 eliminó durante el transcurso del primer estudio, dos evacuaciones con pH de 6 y 1.95 g de azúcar. Los carbohidratos identificados por la cromatografía, fueron lactosa y glucosa. Si bien en el segundo estudio, el nivel de la glucosa en la sangre mostró un incremento importante en los primeros 30 minutos, el niño se encontraba con hipoglicemia (38 mg), manteniendo después un nivel constante entre 64 y 66 mg. Sólo presentó tres evacuaciones sin sustancias reductoras ni azúcares (*Cuadro 4*).

A fin de corroborar la respuesta obtenida en este niño, a las 48 horas del primer estudio se repitió la carga de lactosa ofreciendo 11.7 g de leche maternizada (que contenía 6.6 g de lactosa) y se agregó 1.6 g de lactosa, para completar los 2 g/kg requeridos; la curva fue nuevamente plana y a diferencia del segundo estudio, dos evacuaciones mostraron sustancias reductoras, se cuantificaron en ellas 2 g de azúcares, y fueron identificadas, lactosa, galactosa y glucosa.

Al comparar los niveles de glucosa en la sangre, cuando se dio la lactosa sola con respecto a los obtenidos cuando se ofreció la enzima, en el *cuadro 5* se puede observar que las diferencias sólo fueron significativas a los 60 minutos ($t = 2.58$; $p 0.05$).

Cuadro 5. Concentración de glucosa en la sangre a los 60 y 90 minutos de dar una carga de lactosa (2 g/kg) sola y adicionada con enzimas.

Niño núm.	A los 30 minutos		A los 60 minutos		A los 90 minutos	
	Sin enzima	Con enzima	Sin enzima	Con enzima	Sin enzima	Con enzima
1	85	120	79	88	79	86
2	94	90	94	120	118	92
3	—	86	80	92	92	100
4	72	102	92	109	108	112
5	68	96	74	92	72	79
6	64	76	70	74	70	70
7	79	78	87	92	84	84
8	70	98	74	100	65	94
9	68	64	73	67	73	80
10	80	64	74	66	60	66
Valor de t	1.82		2.58*		0.97	

* p menor que 0.05.

COMENTARIOS

De las enzimas localizadas en las microvellosidades de las células epiteliales que recubren la mucosa intestinal, la lactasa es la que se ve sensiblemente más afectada en la desnutrición proteico-calórica.^{3,18,19} Es esta la razón fundamental que motiva la búsqueda de soluciones, que sean ajenas a la de restringir la dieta de los alimentos que contienen lactosa.

En los niños que integran el presente estudio, fue evidente que la absorción de la lactosa se llevó a cabo de manera muy deficiente, corroborando así lo reiteradamente informado por otros investigadores.¹⁻⁵

El comportamiento clínico de los niños y su respuesta bioquímica, después de la ingestión de la carga de lactosa, estuvo de acuerdo con lo habitualmente observado en casos de intolerancia. La presencia de evacuaciones líquidas o aguadas después de dar el disacárido, fue un hallazgo común. En todos los niños se registró la presencia de azúcares en una o varias de las evacuaciones, y el máximo incremento de glucosa, no sobrepasó el nivel de 20 mg en ocho de los diez niños; es importante señalar que en los otros dos niños el incremento más alto correspondió a los 90 minutos, denotando un retardo en el tiempo en que generalmente acontece la absorción.

Cabe reconocer, que la disminución en la actividad enzimática, se manifiesta con síntomas de intolerancia sólo hasta en tanto se sobrepasa la capacidad de hidrólisis de la enzima.

Así pues, se puede aceptar que los niños desnutridos toleran un volumen de leche acorde con la capacidad hidrolítica de su mucosa intestinal. Este concepto tiene aplicación en el tratamiento dietético de la desnutrición, ya que existen opiniones contradictorias. Hay quienes sugieren que la leche debe ser ofrecida al niño desnutrido a pesar del efecto adverso a que puede dar lugar;⁵ otros recomiendan que la leche sólo debe darse una vez que se ha comprobado que es bien tolerada por el niño.²⁰

En el estadio agudo de la desnutrición, es cuando mayor importancia dietética tienen los alimentos de origen animal, y de éstos la leche y lácteos tratándose de niños lactantes; de aquí la trascendencia del uso de enzimas capaces de ayudar a la hidrólisis de la lactosa. La eficacia del producto había sido probada en niños afectados por una disminución en la actividad de las disacarasas, secundaria a episodios de diarrea,⁹ lo cual promovió el interés por su estudio en niños desnutridos.

En primer término se juzgó prudente corroborar *in vitro* la actividad enzimática del producto. Los estudios realizados comprobaron que el liofilizado conservaba la capacidad de hidrólisis señalada por los fabricantes.²¹ A partir de este estudio se comprobó que cinco unidades

de la enzima (1 mg del liofilizado) hidrolizaban 4.05 mg de lactosa; es decir, que por cada 10 g del disacárido se requerían 2.5 g del liofilizado.

Aun cuando en algunos de los niños, la curva de glucosa en la sangre no mostró incrementos acordes con una absorción normal de lactosa, hubo un cambio estadísticamente significativo en la concentración obtenida a los 90 minutos de haberse dado la lactosa con la enzima. Por otra parte, clínicamente se apreció un cambio en la frecuencia y consistencia de las evacuaciones, aun en los niños en los que la curva de glucosa fue plana.

Las beta-galactosidasas contenidas en el producto tienen la particularidad de reaccionar a un pH ácido, de tal manera que conservan su actividad a pesar de la acidez de las secreciones gástricas.

Suponiendo que exista un retraso en el vaciamiento del estómago, la enzima y el sustrato permanecerán un mayor tiempo reaccionando a una temperatura y pH adecuados para una hidrólisis óptima y por lo tanto habrá una mejor absorción; así pues es explicable que a los 30 minutos haya habido una escasa significación estadística en la concentración de glucosa en la sangre, y por lo contrario explican la razón de las diferencias obtenidas a los 60 minutos, es decir transcurrido un lapso razonable para que la enzima tuviese efecto.

Estos hallazgos permiten sugerir que el liofilizado que contiene la enzima debe ser adicionado a la leche, 30 a 60 minutos antes de que ésta sea ofrecida al niño, acidificando y elevando la temperatura de la leche antes de darla.

Los resultados obtenidos permiten plantear la posibilidad del uso de beta-galactosidasas obtenidas del *Aspergillus*, en la alimentación láctea de niños afectados por una deficiente actividad de lactasa en el intestino.

Referencias

1. Bowie MD, Brinkman GL, Hansen JDL. Diarrhoea in protein calorie malnutrition. *Lancet* 1963; 2: 550.
2. Bowie MD, Brinkman GL, Hansen JDL. Acquired disaccharide intolerance in malnutrition. *J Pediatr* 1965; 66: 1083.
3. Bowie MD, Barbezat GO, Hansen JDL. Carbohydrate absorption in malnourished children. *Amer J Clin Nutr* 1967; 20: 89.
4. James WPT. Intestinal absorption in protein calorie malnutrition. *Lancet* 1968; 1: 333.
5. Prinsloo JG, Wittmann W, Pretorius PJ, Kruger H, Fellighan SA. Effect of different sugars on diarrhoea of acute kwashiorkor. *Arch Dis Child* 1969; 44: 593.
6. James WPT. Jejunal disaccharidase activities in children with marasmus and kwashiorkor. *Arch Dis Child* 1971; 46: 218.
7. Vega-Franco L, Chong A. Efecto de una dieta libre en disacáridos durante los procesos diarreicos del lactante. *Bol Méd Hosp Infant (Méx)* 1972; 29: 23.
8. Vega-Franco L, Jiménez E, Galindo E. Malabsorción de disacáridos en niños lactantes con diarrea aguda. Aceptado para su publicación en: *Bol. Méd Hosp Infant (Méx)* 1973; 36: 109.
9. Nakao T, Hiroshi Y, Horino K. Clinical trial with a lactase preparation upon infantile diarrhea. *J Pediatric Practice* 1970; 33: 1.
10. Vega-Franco L. Diarrea y desnutrición. En: *Enfermedades diarreicas en el niño*. Ed. Hosp. Infant. (Méx.) México 1973: 253-258.
11. Gómez T. Desnutrición. *Bol Méd Hosp Infant (Méx)* 1946; 3: 543.
12. Hugget A, Nixon OA. Use of glucose oxidase, peroxidase and o-dianisidine in determination of blood and urinary glucose. *Lancet* 1957; 2: 368.
13. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 1944; 153: 375.
14. Kerry KR, Anderson CM. A ward test for sugar in feces. *Lancet* 1964; 1: 981.
15. Gal AE. Separation and identification of monosaccharides from biological materials by thinlayer chromatography. *Anal Bioch* 1968; 24: 452.
16. Campbell RC. *Statistics for biologists*. Cambridge University Press, London, 1967: 125.
17. Torregrosa JL, Nieto VJ, Spíndola GLM. Crecimiento de peso y talla en el lactante nacido a término. En: *Problemas en pediatría IV. Evaluación y manejo de ciertos aspectos del crecimiento y desarrollo en los niños*. Editado por: Asoc. Méd. Hosp. Infant. Méx., 1966.
18. Cook GC, Lee FD. The jejunum after kwashiorkor. *Lancet* 1966; 2: 1263.
19. Editorial. The jejunal mucosa after kwashiorkor. *Nutr Rev* 1967; 25: 140.
20. Vega-Franco L. *Malabsorción en la práctica pediátrica*. 1ª ed. Ediciones Méd. Hosp. Infant. Méx. México, D.F., 1974: 106.
21. Tokyo Tanabe Co. *Galactase. Chemistry, toxicity and pharmacological effects*. Ed. Tokyo Tanabe Co. Tokyo, 1972: 2-12.