



Universidad
Nacional
de Loja

**FACULTAD AGROPECUARIA Y DE
RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

**DESARROLLO DE LA ACTIVIDAD DE LA LIPASA
PANCREÁTICA EN CUYES DESDE EL
NACIMIENTO HASTA LAS 7 SEMANAS DE EDAD**

Trabajo de tesis previo a la obtención del título de
MÉDICA VETERINARIA Y ZOOTECNISTA

AUTORA

Karla Anabel Ramírez Uchuay

DIRECTOR

Dr. Rodrigo Abad Guamán, Ph.D.

LOJA - ECUADOR

2019

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Dr. Rodrigo Abad Guamán, Ph.D.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA

Que he revisado la presente tesis titulada “**DESARROLLO DE LA ACTIVIDAD DE LA LIPASA PANCREÁTICA EN CUYES DESDE EL NACIMIENTO HASTA LAS 7 SEMANAS DE EDAD**” realizada por la Srta. Egresada **KARLA ANABEL RAMÍREZ UCHUARY**, la misma que **CULMINÓ DENTRO DEL CRONOGRAMA APROBADO**, cumpliendo con todos los lineamientos impuestos por la Universidad Nacional de Loja, por lo cual, **AUTORIZO QUE SE CONTINÚE CON EL TRÁMITE DE GRADUACIÓN.**

Loja, 28 de febrero del 2019

Atentamente



Dr. Rodrigo Abad Guamán, Ph.D.
Director de Tesis

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“DESARROLLO DE LA ACTIVIDAD DE LA LIPASA PANCREÁTICA EN CUYES DESDE EL NACIMIENTO HASTA LAS 7 SEMANAS DE EDAD”

POR

Karla Anabel Ramírez Uchuay

Tesis presentada al tribunal de grado como requisito previo a la obtención del título de: MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

HA SIDO APROBADO

Enero 2020

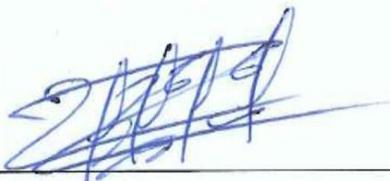


Dr. Galo Escudero Sánchez, Mg.Sc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Ing. Junior Villa Quezada, Mg.Sc.

VOCAL



Dr. Edwin Mizhquero Rivera, Mg.Sc.

VOCAL

AUTORÍA

Yo, **Karla Anabel Ramírez Uchuary**, declaro ser autora del presente trabajo de tesis que ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma; los conceptos, ideas, resultados, conclusiones, y recomendaciones vertidos en el desarrollo del presente trabajo de investigación, son de absoluta responsabilidad de su autor.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

AUTORA: Karla Anabel Ramírez Uchuary

FIRMA:



CÉDULA: 1105945636

FECHA: Enero 2020

**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR
PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y
PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO**

Yo **Karla Anabel Ramírez Uchuary**, declaro ser la autora de la tesis titulada “DESARROLLO DE LA ACTIVIDAD DE LA LIPASA PANCREÁTICA EN CUYES DESDE EL NACIMIENTO HASTA LAS 7 SEMANAS DE EDAD”, como requisito para optar al grado de Médica Veterinaria Zootecnista, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la reproducción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera, en el Repositorio Digital Institucional (RDI): Las Personas puedan consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de Información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero, con fines académicos. Para constancia de esta autorización, firmo en la ciudad de Loja, a los 29 días del mes de Enero del 2020.

FIRMA: 

Autora: Karla Anabel Ramírez Uchuary

Cédula de identidad: 1105945636

Dirección: Loja, Parque Podocarpus entre José Salvador y Ángel Benjamín Carrión, El Panecillo.

Correo electrónico: karlaanabel95@hotmail.com

Teléfono: 0969591623

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis:

Dr. Rodrigo Abad Guamán, Ph.D.

Tribunal de Grado:

Dr. Galo Escudero Sánchez, Mg.Sc. (Presidente)

Ing. Junior Villa Quezada, Mg.Sc. (Vocal)

Dr. Edwin Mizhquero Rivera, Mg.Sc. (Vocal)

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme salud y sabiduría para poder culminar mi trabajo de tesis y permitirme llegar hasta este momento de mi vida.

A mi madre la Licenciada Guadalupe Uchuary por su amor infinito, sus consejos, apoyo y su ejemplo de lucha y perseverancia, que me han enseñado que a pesar de las dificultades que se presenten en el camino nunca hay que darse por vencidos y siempre luchar por cumplir con nuestras metas.

A mi padre el Licenciado Yorky Ramírez por estar siempre conmigo brindándome su apoyo incondicional y quien con sus sabias palabras me ha guiado para ser una persona fuerte y no rendirme ante nada.

También quiero agradecer a mis hermanos por ser los ángeles que Dios puso en mi vida y quienes son mi motivo para seguir luchando por cumplir mis metas a lo largo de mi vida; a toda mi familia y amigos que de una u otra forma han estado acompañándome y apoyándome para seguir adelante con mis estudios.

Mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja por haberme abierto sus puertas y darme la oportunidad de formarme para ser una profesional; a mis docentes por compartir sus conocimientos y experiencias, que han sido de gran ayuda para mi formación académica; además, que con sus sabios consejos me han guiado para ser una persona con muchos valores.

De manera especial quiero agradecer a mi director el Dr. Rodrigo Abad, por su esfuerzo y dedicación, quien con sus consejos y experiencia me impulso con la realización de mi tesis; también al Ingeniero Israel Villa, por brindarme sus conocimientos y ser un apoyo en el transcurso de la investigación.

Karla Anabel Ramírez Uchuary

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis lo dedico con mucho amor a Dios por bendecirme con un día más de vida y darme la fortaleza para seguir siempre adelante y poder terminar este proyecto.

A mis Padres quienes me han brindado su cariño incondicional y apoyo en todo momento a lo largo de mi vida, confiando siempre en mí y dándome sus consejos de perseverancia, es por ellos que he logrado llegar hasta aquí y ser lo que soy ahora.

A mis hermanos que siempre han estado conmigo, y quienes me han enseñado lo importante que es la familia y han sido mi inspiración para poder cumplir cada meta que me he planteado.

A todos mis familiares, docentes y amigos que han estado presentes en mi vida y me han incentivado para seguir adelante y lograr ser una profesional.

Karla Anabel Ramírez Uchuary

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS.....	X
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
RESUMEN.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. MORFOFISIOLOGÍA DIGESTIVA DEL CUY	3
2.1.1. Boca.....	4
2.1.2. Esófago	4
2.1.3. Estómago	4
2.1.4. Intestino delgado.....	5
2.1.5. Intestino grueso.....	6
2.1.6. Ciego.....	6
2.1.7. Páncreas	7
2.2. DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS.....	8
2.2.1. Factores que afectan la Digestibilidad.....	9
2.3. ENZIMAS.....	9
2.3.1. Clasificación de las Enzimas	10
2.3.2. Principales Enzimas.....	11
2.4. LIPASA.....	12
2.4.1. Función	13
2.4.2. Actividad enzimática	13
2.4.3. Diferencias por especies	14
2.5. PROTEÍNA SOLUBLE.....	14
2.5.1. Solubilidad de las proteínas	15

2.5.2. Determinación de Proteínas	15
2.6. TRABAJOS RELACIONADOS	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1. UBICACIÓN	20
3.2. MUESTREO	20
3.3. DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO	21
3.4. ANÁLISIS QUÍMICO	21
3.4.1. Proteína soluble	21
3.4.2. Actividad enzimática	23
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	24
4. RESULTADOS	25
4.1. Concentración de proteína soluble.....	25
4.2. Actividad enzimática de la lipasa pancreática	26
5. DISCUSIÓN	28
5.1. Concentración de proteína soluble.....	28
5.2. Actividad enzimática de la lipasa pancreática	28
6. CONCLUSIONES.....	30
7. RECOMENDACIONES.....	31
8. BIBLIOGRAFÍA.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentración de proteína soluble en muestras de páncreas en cuyes de 0 a 42 días de edad.....	25
Tabla 2. Actividad enzimática y específica de la lipasa pancreática en cuyes de 0 a 42 días de edad.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema digestivo del cuy.....	3
Figura 2. Anatomía topográfica del estómago del cuy.....	5
Figura 3. Ubicación de la Quinta Experimental Punzara.....	20
Figura 4. Curva de proteína estándar.....	23
Figura 5. Concentración de proteína soluble en cuyes de 0 a 42 días de edad.....	26
Figura 6. Actividad enzimática de la lipasa pancreática.....	27
Figura 7. Actividad específica de la lipasa pancreática.....	27
Figura 8. Adecuación de jaulas.....	37
Figura 9. Hembras gestantes.....	37
Figura 10. Peso vivo de animales.....	38
Figura 11. Extracción del páncreas.....	38
Figura 12. Pesaje de las muestras de páncreas.....	38
Figura 13. Homogenización de las muestras.....	39
Figura 14. Placa de la concentración de Proteínas.....	39
Figura 15. Placa de la actividad enzimática.....	39
Figura 16. Análisis estadístico de la actividad específica de Lipasa.....	40
Figura 17. Análisis estadístico de la concentración de proteína soluble.....	41

**“DESARROLLO DE LA ACTIVIDAD DE LA LIPASA
PANCREÁTICA EN CUYES DESDE EL NACIMIENTO HASTA
LAS 7 SEMANAS DE EDAD”**

RESUMEN

Se realizó el estudio del desarrollo de la actividad de la lipasa pancreática en cuyes (*Cavia porcellus*) desde el nacimiento hasta las 7 semanas de edad; para lo cual se utilizó el galpón del Programa de cobayos de la Quinta experimental Punzara de la Universidad Nacional de Loja ubicada a 2160 m.s.n.m. Se utilizaron 22 hembras gestantes, que fueron alimentadas con balanceado comercial (PB 18%, grasa 5%, fibra cruda 6%) y de las cuales se obtuvieron 21 crías que se las sacrificó a los días 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 42. El sacrificio se lo realizó mediante dislocación cervical y se los desangró, posteriormente se extrajo el páncreas de cada animal en estudio, se los colocó en frascos estériles y se los guardó en el congelador. La extracción de proteína de las muestras de páncreas se la realizó mediante el método de lisis y precipitación en frío; para determinar la concentración de proteína soluble se llevó a cabo el método biuret y se tomó como curva de proteína estándar la albúmina bovina sérica. Para medir la actividad enzimática se utilizó un Kit comercial (Lipase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision). La concentración de proteína soluble en el páncreas no presenta diferencias significativas ($P > 0,816$) respecto a la edad del animal, dando un promedio de 6,261 mg de proteína/mg de muestra. La actividad específica presenta una disminución brusca a los 14 días (0,040mU/mg de proteína), un incremento a los 21 días (0,083mU/mg de proteína) y de 35 a 42 días (0,041mU/mg de proteína y 0,092mU/mg de proteína) se normaliza. El estudio reveló que la concentración de proteína soluble y la actividad específica de la lipasa disminuyen después del destete, debido al cambio de alimentación y el estrés que sufren los animales durante esta etapa.

Palabras claves: lipasa, proteína, páncreas, cuy

ABSTRACT

The study of the development of pancreatic lipase activity in guinea pigs (*Cavia porcellus*) from birth to 7 weeks of age; for which the shed of the guinea pig Program was used of the Quinta Experimental Punzara of the National University of Loja located at 2160 m.s.n.m. 22 pregnant females which were fed with commercial equilibrium (PB 18%, 5% fat, 6% crude fiber) will were used, and from which 21 offspring were obtained that were sacrificed on days 0, 7, 14, 21, 28, 35 and 42. The sacrifice was made by cervical dislocation and bled, subsequently the pancreas of each animal under study was extracted, were placed in sterile jars and stored in the freezer. Protein extraction from pancreas samples was performed using the lysis and cold precipitation method; to determine the concentration of soluble protein, the biuret method was carried out and the bovine serum albumin was taken as curve of standard protein. To measure enzymatic activity a commercial Kit (Lipase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision) will was used. The concentration of soluble protein in the pancreas does not show significant differences (P 0,816) with respect to the age of the animal, giving an average of 6,261 mg of protein / mg of sample. The specific activity shows a sharp decrease at 14 days (0,040mU / mg of protein), an increase at 21 days (0,083mU / mg of protein) and 35 to 42 days (0,041mU / mg of protein and 0,092mU / mg of protein) is normalized. The study revealed that the concentration of soluble protein and the specific activity of lipase decrease after weaning, due to the change in diet and stress that animals suffer during this stage.

Key words: lipase, protein, pancreas, guinea pig

1. INTRODUCCIÓN

Al cuy (*Cavia porcellus*) se lo ha clasificado por su anatomía gastrointestinal como un fermentador post gástrico, el cual posee dos tipos de digestión; la enzimática, que se produce en el estómago e intestino delgado y la microbial que se da a nivel del ciego (Arroyo, 2014).

La fisiología digestiva es un proceso muy complejo el cual consta de la ingestión, digestión la misma que empieza en la boca en donde se encuentran piezas dentarias que cortan y trituran la materia vegetal reduciendo el tamaño de las partículas de la ingesta, que al mezclarse con la saliva se facilita la acción de las enzimas digestivas sobre el contenido celular del bolo alimenticio, el mismo que luego pasa al estómago a través del esófago; y finalmente la absorción de los nutrientes que se realiza en el estómago e intestino delgado, incluyendo los ácidos grasos de cadena larga (Arroyo, 2014).

Lebas *et al.* (1971) señala que cuando un animal comienza a consumir alimento sólido el páncreas aumenta su peso; por otro lado, Gallois *et al.* (2008) manifiesta que al consumir sólidos existe un desarrollo de la morfología intestinal, cuyos sucesos están en correlación con la funcionalidad del tracto digestivo el cual se limita de 21 a 42 días de edad para la amilasa y la lipasa secretada por el páncreas y algunas enzimas de la mucosa gástrica e intestinal.

En cuanto a la actividad enzimática se toma referencias de trabajos realizados en conejos, donde se señala, que en la etapa adulta del animal la lipasa gástrica representa la mayor parte de la actividad lipolítica de todo el aparato digestivo, mientras que en los conejos de 3 meses este proceso no se puede detectar (Marounek *et al.*, 1995).

Los cuyes son muy susceptibles a presentar trastornos digestivos; por esta razón, se debe desarrollar estudios sobre los mecanismos fisiológicos a nivel del sistema digestivo en especial de la actividad de ciertas enzimas que son primordiales para el aprovechamiento de nutrientes.

En estos animales no se tiene referencias sobre estudios de base fisiológicos que

nos muestren los cambios de la actividad enzimática en el sistema digestivo o son muy limitados; por lo tanto, el desarrollo tecnológico también es mínimo, debido a esto los productores no tienen conocimiento del manejo apropiado que se debe dar a los cuyes; de tal manera, que el porcentaje de mortalidad en las diferentes etapas de vida de los animales es elevado (Jaramillo, 2017).

Los resultados de la presente investigación sobre el desarrollo de la actividad de la lipasa pancreática en cuyes desde el nacimiento hasta las 7 semanas de edad, permitirá que las personas interesadas en esta especie puedan tener una información más precisa de los cambios que se dan a nivel enzimático, lo cual les ayudará en la realización de raciones alimenticias apropiadas al desarrollo digestivo del animal y así puedan reducir problemas digestivos y optimizar la eficiencia alimenticia en esta especie. Además, este estudio será de ayuda para futuras investigaciones que busquen mejorar parámetros productivos de los cobayos. Es por ello que en el presente trabajo se han planteado los siguientes objetivos:

- Determinar los cambios en la concentración de proteínas solubles en el páncreas de cuyes de 0 a 7 semanas de edad.
- Analizar los cambios de la actividad enzimática de las lipasas pancreáticas en cuyes de 0 a 7 semanas de edad.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. MORFOFISIOLOGÍA DIGESTIVA DEL CUY

El cuy (*Cavia porcellus*) es una especie herbívora monogástrica que presenta un estómago en donde se inicia la digestión enzimática y un ciego funcional en donde se desarrolla la fermentación bacteriana; además, realiza la cecotrofia esto con el objetivo de reutilizar el nitrógeno, y debido a los microorganismos que contiene en el ciego se lo ha clasificado como un fermentador post - gástrico (Ñañañay, 2012).

El Sistema Digestivo del cuy (Figura 1), contiene órganos accesorios que ayudan en la digestión como son: dientes, glándulas salivales, páncreas, hígado y vesícula biliar (Hargaden y Singer, 2012).

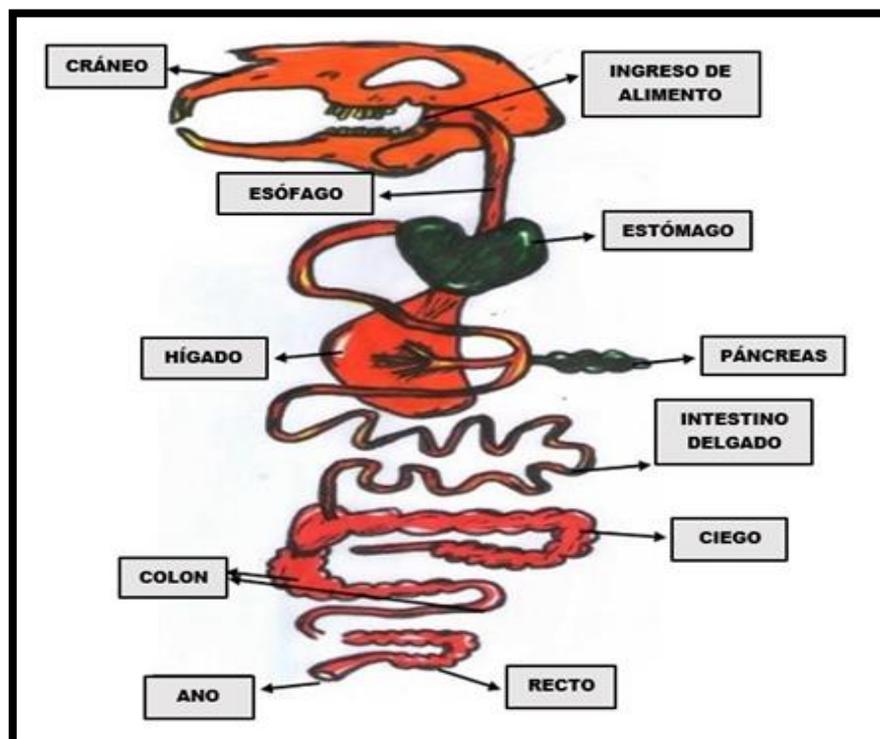


Figura 1. Sistema digestivo del cuy (Moreta, 2018).

A través de la fisiología se estudia los mecanismos encargados de transferir los nutrientes orgánicos e inorgánicos del medio exterior al interior, para posteriormente ser conducidos por el sistema circulatorio a cada una de las células del organismo, consta de la ingestión, digestión, desplazamiento, absorción de nutrientes y el desplazamiento de los mismos a lo largo del tracto digestivo (De Zaldívar, 1997).

2.1.1. Boca

En la cavidad oral se hallan piezas dentarias capaces de cortar y triturar la materia vegetal, con la masticación se logra reducir el tamaño de las partículas del alimento, de tal forma, que al mezclarse con la saliva se facilita el trabajo de las enzimas digestivas sobre el contenido celular del bolo alimenticio que luego pasa al estómago a través del esófago (Sakaguchi, 2003). Según Quesenberry y Carpenter (2011) existen cuatro pares de glándulas salivales que son la parótida, mandibular, sublingual y molar.

2.1.2. Esófago

El esófago limita con la porción caudodorsal de la faringe y pasa caudoventralmente sobre la superficie dorsal de la laringe; se encuentra cerca de la mitad derecha de la curvatura menor del estómago y se une oblicuamente al orificio cardinal, internamente está revestido por el epitelio escamoso estratificado el cual es queratinizado (Breazile y Brown, 1976).

Jaramillo (2017) menciona que el esófago es un conducto destinado a impulsar el alimento de la faringe al estómago por medio del peristaltismo, proceso que se produce por las contracciones rítmicas que realizan las paredes musculares del esófago.

2.1.3. Estómago

Desde el punto de vista topográfico (Figura 2), el estómago consta de cinco regiones: cardias o unión gastroesofágica (GE), fundus, cuerpo, antro, y píloro; en el fundus y cuerpo, se albergan glándulas secretoras de ácido, mientras que en el antro se aloja epitelio superficial que secreta sustancias alcalinas, y células G (secretoras de gastrina) endocrinas (Soybel, 2005).



Figura 2. Anatomía topográfica del estómago del cuy (Arroyo, 2014).

De acuerdo a Carabaño *et al.* (2010) el pH del estómago varía de 1 a 5, dependiendo del sitio de determinación, la presencia o ausencia de heces blandas, el tiempo desde el consumo de alimento y la edad del conejo; así mismo, explica que la capacidad del estómago es aproximadamente de 0,34 de la capacidad total del sistema digestivo.

El estómago cumple funciones motoras como: almacenar grandes cantidades de alimento hasta que puedan vaciarse en el duodeno, mezclar el alimento con las secreciones gástricas hasta formar una mezcla semifluida que se la conoce como quimo y el vaciamiento lento de este hacia el intestino delgado a una velocidad adecuada para que se dé una correcta digestión y absorción de nutrientes (Rodríguez, 2018).

El estómago contiene ácido clorhídrico que activa ciertas secreciones, como la secreción de pepsinógeno que se convierte en pepsina, la cual degrada las proteínas y las transforma en polipéptidos; así también, algunas amilasas que degradan a los carbohidratos y lipasas que degradan a las grasas (Cacuango, 2015).

2.1.4. Intestino delgado

Es la parte más larga del tracto digestivo midiendo 125cm de longitud, y consta de tres secciones: duodeno (10 a 12cm), yeyuno (95cm) e íleon que mide aproximadamente unos 10cm (Hargaden y Singer, 2012).

Jaramillo (2017) manifiesta que el intestino delgado realiza 3 funciones básicas:

- Recoge el jugo pancreático que está compuesto de enzimas y secreta el jugo intestinal que también contiene enzimas, las cuales ayudan a la digestión final de las proteínas y convierten los azúcares en compuestos más sencillos.
- Absorbe el alimento digerido y envía los nutrientes al torrente circulatorio.
- Tiene una función peristáltica a través de la cual se ayuda al paso del material no digerido hacia el ciego.

Según Carabaño *et al.* (2010) el pH del intestino delgado está cerca de 7 y es el sitio donde la mayor parte de la digestión y absorción tienen lugar a través del transporte pasivo o activo de la mucosa.

2.1.5. Intestino grueso

De acuerdo a Hargaden y Singer (2012) el intestino grueso no contiene ningún apéndice cecal, colon sigmoideo o apéndice vermiforme y tiene una medida aproximada de 70 a 75 cm de longitud.

Las secreciones del IG están compuestas de líquido acuoso carente de enzimas, que contiene bicarbonato sódico y mucina, la cual lubrica los restos de los alimentos que pasan por el intestino grueso y por la superficie interna; la digestión que se realiza en el IG se produce como resultado de la actividad microbiana, la cual es realizada por organismos microbianos parecidos a los existentes en el rumen (Leandro, 2012).

2.1.6. Ciego

Es la parte donde se realizan los procesos fermentativos del alimento y se clasifican las heces para la cecotrofia, siendo por esta razón el órgano más importante del aparato digestivo. Estructuralmente está formado por tres partes o

porciones: cuerpo, apéndice y saco redondo o válvula íleo-cecal; tiene una longitud de 30 a 50 cm, es de forma espiral con un aspecto un poco abollado (Jaramillo, 2017).

De acuerdo a la fisiología y anatomía que presenta el ciego en el cuy puede soportar una ración que contenga un material voluminoso; además, permite que la celulosa almacenada se fermente por acción microbiana, dando como resultado un mejor aprovechamiento del contenido de fibra; así mismo, por acción de los microorganismos presentes en el ciego se produce la síntesis de la proteína microbiana, vitamina K y de la mayoría de las vitaminas del complejo B (Arce, 2017).

La ingestión de los cecotrófos permite reutilizar el nitrógeno proteico y no proteico que no alcanzó a ser digerido en el intestino delgado y aprovechar la proteína contenida en la célula de las bacterias presentes en el ciego (Vargas y Yupa, 2011).

2.1.7. Páncreas

Es de forma triangular, se localiza en la concavidad del duodeno y se extienden hacia el bazo, está cubierto por una capa muy fina de tejido conectivo que en ciertos lugares se introduce en el órgano formando tabiques, cabe señalar que los conejillos de indias carecen de un conducto pancreático accesorio, y al igual que otras especies, los islotes de Langerhans se encuentran en todo el páncreas (Hargaden y Singer, 2012).

Estructuralmente se encuentra constituido por un lóbulo derecho o duodenal debido a que se sitúa dentro del meso duodeno y un lóbulo izquierdo que recibe el nombre de transversal o esplénico por que se extiende sobre la superficie caudal del estómago hacia el bazo, dentro del omento mayor (Dyce *et al.*, 2007).

El estudio de la morfogénesis, la diferenciación del páncreas y sus tipos celulares durante el desarrollo fetal, describen que el páncreas se desarrolla como una estructura de yemas simples en el tubo del intestino primitivo a un órgano muy ramificado con muchos tipos de células especializadas (Rodríguez *et al.*, 2012).

Según Castro *et al.* (2011) el páncreas está constituido por dos tipos de tejidos:

exocrino, que contiene acinos, los cuales son masas glandulares que secretan enzimas digestivas al intestino delgado, y endocrino, en el que se encuentran los islotes de Langerhans, que constituyen conjuntos de células ovoides distribuidas por todo el páncreas, secretando hormonas directamente al torrente sanguíneo siendo estas la insulina y el glucagón.

2.1.7.1. Jugo Pancreático

La acción digestiva del jugo pancreático se debe a las enzimas que produce, las cuales son vertidas al intestino por medio del conducto pancreático, la cantidad adecuada de enzimas digestivas que contiene permiten la degradación de proteínas (tripsina, quimotripsina), almidón (amilasa) y grasas (lipasa) (Sinaluisa, 2015).

Según lo manifestado por Lis *et al.* (2003) el contenido de bicarbonato del jugo pancreático es secretado junto con grandes cantidades de agua por las células centro acinosas y por las células del resto del sistema de conductos, y la secreción exocrina es regulada por las hormonas secretina y CCC liberadas por las células epiteliales del intestino delgado en presencia del quimo ácido y con un alto contenido de proteínas.

2.2. DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS

A través de la digestibilidad se puede evaluar la calidad nutritiva de las raciones que consumen los animales, y es uno de los factores más importantes porque indica el grado en que los nutrientes de los ingredientes de una dieta van a ser aprovechados directamente por el animal, con una buena digestibilidad de la dieta se obtendrá una mayor productividad por parte del animal (Ñauñay, 2012). En general se representa con el llamado coeficiente de digestibilidad (CUD) que se expresa en porcentaje de materia seca (De Zaldívar, 1997).

Según De Blas *et al.* (2002) la capacidad digestiva y fermentativa en animales jóvenes es limitada, como consecuencia, aumenta el flujo de substrato fermentable que alcanza la zona fermentativa, o se podría alterar la composición de la flora digestiva, y así se explicaría la mayor incidencia de problemas digestivos; en este

sentido, también se ha observado que gazapos destetados precozmente (a los 25 días de edad) que reciben un pienso comercial de cebo crecen más lentamente y tienen una mayor mortalidad hasta los 35 días que los gazapos que permanecen con la madre hasta esta edad.

Carabaño *et al.* (2010) menciona que el estudio de la evolución de la funcionalidad de la mucosa intestinal y el páncreas es de gran importancia, para poder comprender la capacidad de los animales alrededor del destete para digerir sustratos distintos de la leche.

2.2.1. Factores que afectan la Digestibilidad

Ñañañay (2012) indica que los factores que afectan la digestibilidad son propios del alimento como la composición química, nivel de consumo y deficiencias de los nutrientes, y dependientes del animal como el tiempo para realizar la acción digestiva y los trastornos digestivos.

2.3. ENZIMAS

De acuerdo a Ravindran (2010), las enzimas son proteínas que se producen en el interior de los organismos vivos y se encargan concretamente en hacer posibles reacciones específicas del metabolismo, tienen como función principal el aumentar la velocidad de ciertas reacciones bioquímicas específicas que forman parte del proceso metabólico de las células, sin la presencia de enzimas estas reacciones se producirían lentamente o simplemente no ocurrirían.

En cuyes y conejos, la degradación de materia orgánica involucra una serie de reacciones hidrolíticas que son catalizadas por enzimas cuyo origen puede ser endógeno o bacteriano, cumpliendo así un papel importante en la digestión, por esta razón, se considera que a través de la suplementación de enzimas como se ha hecho para otras especies, se puede mejorar el valor nutricional de las dietas de cuyes (Leandro, 2012).

Según Cacuangó (2015) las enzimas digestivas permiten que el organismo

aproveche mayormente los nutrientes de alimentos que conforman una dieta.

2.3.1. Clasificación de las Enzimas

De acuerdo a McDonald (2011) las enzimas se clasifican en 6 grupos de acuerdo a su mecanismo de acción, como se mencionan a continuación:

2.3.1.1. Clase 1: Oxidorreductasas

Estas catalizan reacciones redox, en las cuales cambia el estado de oxidación de uno o más átomos en la molécula. En este grupo se encuentran las siguientes enzimas: deshidrogenasas, oxidasas, peroxidasas, catalasas, oxigenasas e hidroxilasas.

2.3.1.2. Clase 2: Transferasas

Catalizan la transferencia de grupos como acetilo, amino y fosfato, de unas moléculas a otras. En este grupo se incluyen las transaldolasas, glucocil, quinasas, fosfomutasas y lipasas.

2.3.1.3. Clase 3: Hidrolasas

Catalizan las escisiones hidrolíticas. Este grupo incluye esterasas, glicosidasas, amilasas, peptidasas, fosfatasas, tiolasas, fosfolipasas, amidasas, desaminasas, ribonucleasas y lactasas.

2.3.1.4. Clase 4: Liasas

Catalizan degradaciones no hidrolíticas, que suponen la retirada de ciertos grupos como las reacciones de descarboxilación y desaminaciones. En este grupo se incluyen aldosas, hidratasas, deshidratasas, sintasas, liasas.

2.3.1.5. Clase 5: Isomerasas

Catalizan los cambios en la distribución intramolecular en los isómeros ópticos y de posición. En este grupo se incluyen las racemasas, isomerasas y mutasas.

2.3.1.6. Clase 6: Ligasas

Catalizan reacciones que se unen dos moléculas con la degradación de enlaces fosfato de alta energía como el ATP. Entre estas enzimas se encuentra la acetil coenzima A sintetasa.

2.3.2. Principales Enzimas

2.3.2.1. Amilasa

La amilasa pancreática es estable en un pH entre 4 y 11, es la enzima que se encarga de la digestión del almidón en el duodeno, en el cual hidroliza polisacáridos como el almidón, amilopectina, maltosa y una pequeña parte de glucosa (Escallón, 2012).

En el estómago la amilasa se origina en la saliva y permanece en un nivel constante a partir de la cuarta semana de vida del animal independientemente de la ingesta de almidón, el pH gástrico es el principal factor que limita la actividad enzimática de acuerdo a unos estudios realizados en conejos de 4 semanas y 3 meses de edad donde no se encontró actividad de amilasa en los contenidos del estómago con incubaciones de enzimas y sustratos a un pH de 2,5; en conejos de 9 semanas se observó actividad enzimática en el contenido gástrico con incubaciones a un pH de 6,9, concluyendo que la actividad de la amilasa del contenido del estómago desaparece por completo si el pH es inferior a 3,2; sin embargo, la capacidad amortiguadora de la dieta, las heces blandas y la saliva probablemente previenen la acidificación inmediata (Blas y Gidenne, 2010).

2.3.2.2. Lactasa

La lactasa es una enzima disacaridasa de tipo β -galactosidasa la cual hidroliza la lactosa, un disacárido presente en la leche y otros productos lácteos, con sus

componentes de glucosa y galactosa, esta enzima se produce en el borde del intestino delgado y se sintetiza durante los primeros días de vida de los mamíferos (Montes *et al.*, 2018).

En casi todos los mamíferos, y en la mayoría de los seres humanos, la actividad de la lactasa empieza a disminuir después del destete (Montes *et al.*, 2018).

2.4. LIPASA

Según Escallón (2012) la lipasa pancreática (EC 3.1.1.3) se secreta en forma activa, y es la encargada de hidrolizar los triacilgliceroles ya emulsificados, existen varias lipasas que son secretadas como zimógenos inactivos en el jugo pancreático, que al llegar a la luz intestinal son activadas por la tripsina, entre estas lipasas se encuentran la colipasa, esterasa de colesterol y la fosfolipasa A2, tanto la colipasa y las sales biliares ayudan a facilitar el contacto de la lipasa con los triacilgliceroles, mientras que la fosfolipasa A2 digiere los fosfolípidos formando así ácidos grasos libres y lisolecitina, con la ayuda de estas enzimas menos del 5 % de los triacilgliceroles, en condiciones normales, logran escapar del proceso digestivo.

Como se observa en diferentes especies (humanos, cerdos, ratas, vacas), el proceso digestivo en animales lactantes comienza en el estómago, donde las lipasas preduodenales (orales y a veces gástricas) hidrolizan la grasa naturalmente emulsionada en la leche, en conejos en etapa de lactancia, las lipasas gástricas representan la mayor parte de la actividad lipolítica, después del destete, los triacilgliceroles de la alimentación sólida requieren emulsificación, por lo cual, la digestión de las grasas solo se da en el intestino delgado, la emulsificación de grasas es iniciada por las sales biliares secretadas por el hígado, las cuales se mezclan con las gotitas de grasa, descomponiéndolas en diminutos glóbulos que pueden hidrolizarse fácilmente por la lipasa pancreática y otras enzimas lipolíticas (colipasa, esterasa de colesterol y fosfolipasa), la hidrólisis enzimática que se produce de los triacilgliceroles lleva a la separación de glicerol, FA libres y monoglicéridos, que permanecen emulsionados con bilis, formando micelas microscópicas (Xiccato *et al.*, 2010).

2.4.1. Función

Se encargan de romper los triacilgliceroles, para formar glicerina y ácidos grasos, pero para su activación requieren de ácidos biliares, normalmente, los monogástricos ingieren en su dieta lípidos en forma de grasas neutras (triacilgliceroles), fosfolípidos y colesterol, estos sustratos, luego de pasar por un calentamiento y mezcla en el estómago, se transportan al duodeno en donde reciben la acción de las sales biliares con el propósito de ser emulsificados, es decir, que se reducen en partículas más pequeñas, con la finalidad de aumentar la acción de la lipasa pancreática, la cual se encarga de degradar estas moléculas en estructuras químicamente más sencillas, para que puedan ser absorbidas por el epitelio intestinal (Vallecilla, 2014).

2.4.2. Actividad enzimática

De acuerdo a Jensen *et al.* (1997) la digestibilidad de los nutrientes está relacionada a la actividad de las enzimas digestivas. Las actividades enzimáticas pancreáticas se expresan como actividad específica (IU/mg de proteína), actividad total (IU) y actividad relativa (IU/kg de tejido) (Debray *et al.*, 2003). Según Hedemann y Jensen (2004) después del destete de los cerdos, la actividad de las enzimas pancreáticas disminuye, restableciéndose entre los 7 - 9 días posteriores, es así que la actividad de la lipasa también aumenta con la edad debido a la alometría positiva del páncreas.

Jakob *et al.* (2000) manifiestan que el tipo, el origen y el nivel de grasa en la dieta son factores importantes que afectan la secreción de enzimas lipolíticas pancreáticas, por ejemplo, en cerdos en crecimiento que recibieron aceite de pescado, se observó una mayor secreción de lipasa pancreática en comparación con los que recibieron otra fuente de grasa como aceite de coco o manteca de cerdo; además, menciona que las enzimas aumentan la velocidad de las reacciones químicas combinándose con los reactivos, de tal forma que estos alcancen un estado de transición con una energía de activación menor que los producidos por una reacción no catalizada.

2.4.3. Diferencias por especies

Toro *et al.* (2007) menciona sobre la importancia de considerar que las secreciones pancreáticas responden a un estímulo alimentario y que la actividad de estas enzimas, una vez que ingresan a la mucosa intestinal, también pueden ser afectadas, de acuerdo a un estudio realizado en pollos de engorde. Las actividades que realizan las enzimas lipasa, tripsina y quimotripsina en el contenido del intestino delgado, están correlacionadas con el potencial de estas enzimas en el páncreas (Debray *et al.*, 2003).

Lindemann *et al.* (1986) señala que la alta digestibilidad de la grasa durante el periodo de lactancia en cerdos se observa a pesar del bajo nivel de la enzima lipolítica más importante como lo es la lipasa pancreática. Así mismo, Cera *et al.* (1988) manifiesta que al destete la digestibilidad de la grasa disminuye al 65 y 80%.

Según Borgström (1986) la digestión de la grasa depende en gran medida de las enzimas pancreáticas; mientras, Li *et al.* (2001) señala que la lipasa gástrica también puede jugar un papel importante en la hidrólisis de los triglicéridos, especialmente en el cerdo joven.

La eficiencia de la digestión de la grasa, así como de algunos otros nutrientes, varía durante la vida de un conejo, la leche de estos animales contiene una gran cantidad de lípidos, que son fácilmente digeridos y absorbidos por conejos lactantes, los cuales muestran una alta actividad de la lipasa gástrica (Xiccato *et al.*, 2010).

2.5. PROTEÍNA SOLUBLE

Según Rodwell *et al.* (2016) las proteínas son macromoléculas complejas desde los puntos de vista físico y funcional, que desempeñan múltiples funciones de importancia crucial, estas están sujetas a cambios físicos y funcionales que reflejan el ciclo de vida de los organismos en los cuales residen.

Las proteínas están formadas por aminoácidos unidos entre sí, de forma que el grupo α -carboxilo de un aminoácido reacciona con el grupo α -amino del aminoácido contiguo, con pérdida de una molécula de agua, el enlace formado es un grupo amida

(-CONH-) que se denomina enlace peptídico (Roca *et al.*, 2004).

Koolman y Röhm (2012) menciona que las proteínas solubles son más complejas que las fibrilares, la forma de las proteínas solubles es más o menos esférica (globular), si se destruye la conformación nativa de una proteína por desnaturalización desaparecerá no sólo el efecto biológico, sino que además la proteína se tornará insoluble.

2.5.1. Solubilidad de las proteínas

La solubilidad de una proteína está en función de la composición iónica del medio (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}), de la fuerza iónica μ y del pH; además, depende de las proporciones y distribución de los grupos hidrofílicos polares y de los hidrofóbicos no polares en la molécula, del momento dipolar resultante en la proteína y de la temperatura (Teijón *et al.*, 2009).

2.5.2. Determinación de Proteínas

Los métodos para la determinación de proteínas totales están basados en sus características diferenciales con relación al resto de biomoléculas presentes en las muestras biológicas, hay métodos que tienen su acción en la determinación de la cantidad de nitrógeno presente (método de Kjeldahl), en la presencia del enlace peptídico (métodos del biuret, de Lowry y de BCA-ácido bicinconínico) y en la formación de complejos con determinados agentes (método de Bradford) (Roca *et al.*, 2004).

2.6. TRABAJOS RELACIONADOS

Equipo enzimático del páncreas exocrino en el conejo, implementación y evolución desde el nacimiento al destete. Relación con la composición de la dieta

Lebas *et al.* (1971) realizó un estudio el cual se centró en conejos de raza California desde el nacimiento hasta los 32 días de edad. A varias edades, utilizó broyat de páncreas entero para determinar el contenido total de proteínas de la

glándula y las actividades enzimáticas de amilasa, lipasa, tripsina y quimotripsina. Sus resultados mostraron que las diversas enzimas estudiadas están presentes al nacer y que hay un aumento muy fuerte en las actividades totales de lipasa, amilasa y quimotripsina desde el segundo día de edad, mientras que la actividad de la tripsina total permaneció constante durante todo el periodo estudiado. Las variaciones de la actividad de la lipasa le indicaban que parecían ser independientes de la composición de la dieta y, en particular, de su contenido en lípidos.

Comprobación de la evolución del equipo enzimático del páncreas exocrino del conejo desde el nacimiento a las 6 semanas

Corring *et al.* (1972) para verificar la hipótesis de una adaptación del páncreas exocrino a las variaciones en la dieta al momento del destete, en conejos debajo de la madre, asignó 2 lotes de 57 conejos a las siguientes dietas experimentales: 1) lactancia materna exclusiva entre el nacimiento y el tercer día, luego destete brutal con un alimento rico en almidón; 2) lactancia materna exclusiva entre el nacimiento y el día 2, luego destete brutal con la misma comida rica en almidón. Las actividades enzimáticas de tripsina, quimotripsina, lipasa y amilasa las determinó en 9 etapas distribuidas entre y 43 días. Sus resultados mostraron que, independientemente de la dieta experimental, todas las actividades enzimáticas presentan un aumento hacia el segundo día, independientemente del peso de los animales. Sin embargo, estas actividades son ligeramente más altas en animales destetados a los 21 días. Determinó que la comida no es el factor que estimula el desarrollo de enzimas pancreáticas, pero sería probable que modulara la magnitud de la respuesta a esta estimulación.

La actividad de algunas enzimas digestivas en conejos domésticos antes y después del destete

Dojană *et al.* (1998) analizó la actividad de la amilasa, maltasa, lipasa, pepsina, tripsina y quimotripsina en la lactancia (15 días de edad) y en conejos domésticos destetados de 1 día (43 días de edad) comparándolos con conejos más viejos (90 y 180 días). Encontró que la amilasa estaba activa en el páncreas a los 15 días (11 580 unidades de amilasa (AU) por mg de proteína) y aumentó durante el crecimiento, alcanzando un nivel máximo (58 960 AU por mg de proteína) a los 90 días de edad.

La lipasa SA alcanzó un nivel máximo en conejos lactantes a la edad de 15 días (en la mucosa gástrica 242 y en el páncreas 608 mequiv. de ácido oleico liberado por mg de proteína por hora, 37°C) y disminuyó bruscamente al destete: en la mucosa gástrica hasta 86 y en páncreas hasta 89 mequiv. de ácido oleico por mg de proteína por h, 37°C.

Desarrollo del tracto digestivo en conejos según la fuente energética dietética: correlación entre la digestión del tracto completo, las actividades enzimáticas pancreáticas e intestinales

Debray *et al.* (2003) estudió los cambios en el desarrollo de las enzimas pancreáticas e intestinales y la influencia de la composición de la dieta en las actividades enzimáticas en conejos lactantes y destetados. Además, registró la digestibilidad de nutrientes de todo el tracto en respuesta a dos fuentes energéticas dietéticas. Los conejos fueron alimentados ad libitum con una dieta baja en grasas y alta en almidón (grupo LF), una dieta alta en grasas y alta en fibras (grupo HF) entre los días 32 y 42, y ambos grupos recibieron una dieta de crecimiento final a partir de entonces. Antes del destete (d 32), la digestión de nutrientes fue alta (75% para materia orgánica, proteínas y grasas), y luego disminuyó bruscamente, excepto para las grasas. Entre d 32 y d 42, la digestión en el grupo HF fue 7,5 y 4,6 % menor, respectivamente, para materia orgánica y proteína, mientras que la digestión de fibra y grasa fue mayor (q 14,0 y q 5,0 %, respectivamente). Entre los 25 y 42 días de edad, encontró que las actividades pancreáticas específicas de tripsina y quimotripsina no cambiaron mientras que las de amilasa y lipasa aumentaron en 1,5 y 76 veces (P-0,05), respectivamente. Sin embargo, las actividades totales y la actividad relativa expresada en un LW aumentaron después del destete como consecuencia principal de un aumento específico en el peso de los órganos y el contenido de proteínas pancreáticas. Las actividades totales de las enzimas pancreáticas medidas en el contenido total del intestino delgado aumentaron durante el mismo periodo, pero el rango de variaciones fue menor que el medido en la glándula pancreática. Las actividades totales de lipasa, tripsina y quimotripsina medidas en el contenido del intestino delgado se correlacionaron significativamente con las potencialidades de la enzima del páncreas. Determinó que la actividad total de la lipasa en el intestino delgado fue un 58 % más alta (P-0,001) en HF que en el

grupo LF, mientras que las otras fuentes energéticas de la dieta no influyeron en las otras actividades enzimáticas pancreáticas e intestinales medidas.

Efectos de una dieta de estilo occidental con alto contenido de colesterol y grasas saturadas en el páncreas exocrino del conejo

Burgos *et al.* (2015) a pesar de los conocidos efectos cardiovasculares de una dieta aterogénica, realizó un estudio con el objetivo de investigar las consecuencias de este patrón de alimentación en el páncreas exocrino, utilizando doce conejos de Nueva Zelanda que fueron asignados al azar a uno de dos grupos dietéticos, grupo control (C) e hipercolesterolémico (HCHOL), los cuales fueron alimentados durante 50 días con una comida estándar y una dieta que contenía 95,7 % comida estándar, 3 % manteca y 1,3 % colesterol, respectivamente. No encontró diferencia para la concentración de proteína pancreática (mg/g), entre el grupo C ($7,754 \pm 0,855$) y el grupo HCHOL ($7,292 \pm 1,229$). La actividad de la lipasa pancreática ($6,46 \pm 0,948$ vs. $1,40 \pm 0,460$; $P < 0,05$), colipasa ($8,93 \pm 2,138$ vs. $2,36 \pm 0,512$; $P < 0,05$) y quimotripsina ($18,54 \pm 3,125$ vs. $9,69 \pm 1,363$; $P < 0,05$) fueron mayores en el grupo HCHOL que en el grupo C. La dieta HCHOL aumentó los ácidos grasos monoinsaturados y disminuyó los ácidos grasos saturados en las membranas plasmáticas pancreáticas en comparación con el alimento estándar. Con estos resultados determina que existe una adaptación homeostática del páncreas a una dieta aterogénica y una mayor resistencia al desarrollo de lesiones que la que existe en otros órganos.

Lipasa gástrica: evidencia de una respuesta adaptativa a la grasa dietética en el conejo

Borel *et al.* (1991) estudió la respuesta adaptativa de las lipasas gástricas y pancreáticas a la grasa de la dieta en el conejo adulto. El efecto de la duración lo estudió alimentando conejos con un 12 % de grasa en la dieta durante 1, 2, y 4 semanas y un 2,7 % durante 2 semanas (control). Para estudiar los efectos de la cantidad de grasa, los conejos fueron alimentados con la dieta de control (2,7 % de grasa) o 6 % y 12 % de grasa en la dieta durante 2 semanas. Aproximadamente duplicando (6 % vs. 2,7 %) la cantidad usual de grasa en la dieta fue suficiente para inducir un aumento máximo en la actividad de la lipasa gástrica en el fundus [+ 66,3

% (unidades por gramo de tejido) o + 85,2 % (unidades por miligramo de proteína)] y la mucosa total del estómago [+ 84,5 % (unidades por mucosa)], mientras que la actividad de la lipasa pancreática solo aumentó significativamente cuando los conejos fueron alimentados con 12 % de grasa en la dieta. Observó una respuesta adaptativa completa tanto para las lipasas gástricas como pancreáticas después de 2 semanas de dieta. Además, se determinó que la composición de triglicéridos no cambió notablemente la respuesta adaptativa de ambas enzimas lipolíticas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente estudio se realizó en la Quinta Experimental Punzara de la Universidad Nacional de Loja (Figura 3), ubicada al suroeste de la Hoya de Loja, en el sector “La Argelia”, que cuenta con las siguientes características meteorológicas:

- Altitud: 2 160 m.s.n.m.
- Temperatura: oscila de 12 a 18°C con un promedio de 15,5°C
- Precipitaciones: 759,7 mm anuales.
- Formación Ecológica: Bosque seco - Montañoso bajo



Figura 3. Ubicación de la Quinta Experimental Punzara (Google Maps, 2017)

3.2. MUESTREO

Se realizó un estudio observacional con muestreo no probabilístico por conveniencia, donde se tomó como tamaño muestral a 21 crías del total de las madres gestantes, las cuales fueron seleccionadas al azar cada semana, desde el día 0 hasta los 42 días de edad.

3.3. DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO

El trabajo de campo se realizó en el galpón del Programa Cobayos de la Quinta Experimental Punzara, en el cual se adecuó dos jaulas con las siguientes medidas:

- 1,50m de largo
- 1m de ancho
- 0,60m de alto

La limpieza del lugar se realizó 15 días antes de colocar los animales, se inició con un barrido general y se desinfectó con una mezcla de cal, cemento y formol. Las jaulas estuvieron equipadas con dos comederos y un bebedero; en cuanto a la alimentación fue 100 % balanceado comercial (PB 18%, grasa 5%, fibra cruda 6%) y se lo proporcionó ad libitum.

Se adquirió 22 hembras en etapa de gestación y se las alimentó hasta que parieran. Una vez obtenidas las crías, estas fueron sacrificadas de acuerdo a la edad requerida (0, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días) a las 11:30 de la mañana, mediante dislocación cervical y se los desangró siguiendo las debidas recomendaciones, esto se lo realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja.

Se extrajo el páncreas de los 21 animales sometidos a estudio, se colocó en frascos estériles y se los guardó en el congelador para posteriormente realizar el análisis de la actividad de la lipasa pancreática mediante un kit comercial (Lipase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision) y la concentración de proteína soluble por medio del método Biuret.

3.4. ANÁLISIS QUÍMICO

3.4.1. Proteína soluble

La extracción de proteína del tejido pancreático se realizó mediante el método de lisis y precipitación en frío, para lo cual se descongeló las muestras de páncreas, se pesó y colocó en un mortero sobre hielo a -4°C ; se agregó como valor mínimo 1400 μl de PBS (tapón fosfato salino), se homogenizó con ayuda del vástago hasta

disgregar todo el tejido, en algunas muestras se agregó más PBS para que la disgregación sea completa.

Con una micropipeta se recolectó el extracto líquido y se colocó en tubos ependorf, luego se centrifugó a 13 000 g por 25 minutos para remover material insoluble. El sobrenadante se colocó en tubos ependorf debidamente refrigerados y se conservó en el congelador.

Para la concentración de proteína soluble se utilizó el método biuret, que debe su nombre al compuesto biuret, el cual forma complejos de coloración azul con el Cu^+ , la reacción del biuret es una reacción general de las proteínas, y se produce con proteínas que presentan al menos dos enlaces peptídicos o dos grupos amida consecutivos, estos grupos son capaces de reducir el Cu^{2+} a Cu^+ , igual que hacen las moléculas de biuret formando del Cu^+ un complejo con las proteínas en medio alcalino, que produce una coloración azul con máximos de absorción de radiación electromagnética a 330 nm y a 545 nm (Roca *et al.*, 2004).

El reactivo se preparó con la siguiente fórmula:

2,25g de tartrato de sodio y potasio (Mm 282,22); 0,75g de sulfato cúprico x $5\text{H}_2\text{O}$ (Mm 249,68); 1,25g de ioduro de potasio (Mm 166,0)

Todo se disolvió en ese mismo orden en 100ml de NaOH 0,2M, y se llevó a un volumen de 250ml con agua destilada.

Se tomó como curva de proteína estándar (Figura 4) la albúmina bovina sérica, de la cual se pesó 2604,1mg y se colocó en un balón de aforo de 25ml, se llenó con agua destilada y con un vortex se mezcló hasta que se diluyera todo. Se etiquetó tubos ependorf: 3 blancos, 16 estándar y 14 de las muestras de páncreas.

Se pipeteó en los 16 tubos ependorf debidamente etiquetados concentraciones de: 40mg/ml (800 μ l), 30mg/ml (600 μ l), 20mg/ml (400 μ l), 18mg/ml (360 μ l), 16mg/ml (320 μ l), 14mg/ml (280 μ l), 12mg/ml (240 μ l), 10mg/ml (200 μ l), 8mg/ml (160 μ l), 6mg/ml (120 μ l), 5mg/ml (100 μ l), 4mg/ml (80 μ l), 3mg/ml (60 μ l), 2mg/ml (40 μ l), 1mg/ml (20 μ l), 0,8mg/ml (16 μ l); luego en cada ependorf colocamos agua destilada hasta completar 2 ml.

Se hizo una relación de 9:1 es decir 900 µl del reactivo biuret y 100 µl de agua destilada (blancos), de proteína estándar y de las muestras a analizar; esto se colocó en nuevos tubos ependorf ya etiquetados y se mezcló con ayuda del vortex.

Se llevó las muestras a baño maría 37°C por 25min, se colocó en una placa de 96 pocillos y se lo llevó al espectrofotómetro por 3 min para que se realice la lectura a 490nm y 630 nm.

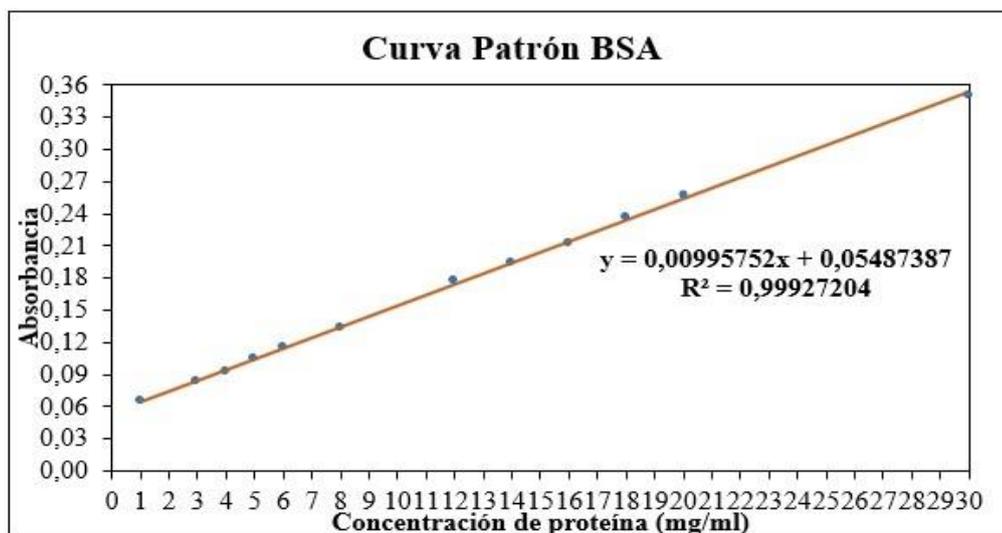


Figura 4. Curva de proteína estándar (Autora, 2019)

3.4.2. Actividad enzimática

Para medir la actividad enzimática, cada muestra de páncreas se pesó y colocó en tubos ependorf debidamente identificados para ser homogenizados con 320 µl de Tampón de ensayo de Lipasa. El homogenizado se centrifugó a 13 000 g durante 10 minutos para eliminar el material insoluble.

En cada pocillo con estándar de glicerol, controles positivos de lipasa y muestras de prueba se agregó 100 µl de Mezcla de Reacción de muestra (93 µl de Tampón de ensayo, 2 µl de Sonda OxiRed, 2 µl de Mezcla de enzimas y 3 µl de Sustrato de Lipasa), y en los pocillos de controles de muestra se colocó 100 µl de Mezcla de Reacción de control (96 µl de Tampón de ensayo, 2 µl de Sonda OxiRed y 2 µl de Mezcla de enzimas).

Se llevó al espectrofotómetro a 490 y 630 nm en T_1 para leer A_1 , después se incubó la placa a 37°C por 60 minutos protegiéndola de la luz durante la incubación,

y nuevamente se colocó en el espectrofotómetro para medir T_2 y leer A_2 .

El cálculo de la diferencia óptica generada por la oxidación de glicerol es ΔA_{490} nm = $A_2 - A_1$. Restamos el valor de control de la diferencia óptica de 490 nm de la muestra para evitar el glicerol en las muestras. Graficamos la curva estándar de glicerol, aplicamos ΔA_{490} nm a la curva estándar de glicerol para obtener B nmol de glicerol (cantidad de glicerol generada entre T_1 y T_2 en los pocillos de reacción). Luego calculamos el glicerol generado en las muestras de prueba con la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad de Lipasa} = \left[\frac{(B \times \text{Factor de dilución})}{(T_2 - T_1) \times V} \right] = \text{nmol} / \text{min} / \text{ml} = \text{mU} / \text{ml}$$

Donde:

- B es la cantidad de glicerol de la curva estándar (nmol).
- T_1 es el tiempo de la primera lectura (A_1) (min).
- T_2 es el tiempo de la segunda lectura (A_2) (min).
- V es el volumen de muestra pretratada agregada al pocillo de reacción (ml).

Para obtener la actividad enzimática específica se dividió los miligramos de proteína obtenidos mediante el método Biuret con los resultados de la actividad enzimática.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Obtenidos los resultados se realizó una tabla descriptiva donde los datos se presentan en medias más/menos el error estándar para cada tiempo. Luego se utilizó el modelo de regresión lineal simple en donde se graficó los datos obtenidos utilizando dos gráficos de dos ejes, en los cuales el eje de las “X” se consideró el tiempo y en el eje de las “Y” la actividad específica de la enzima lipasa y la concentración de proteína soluble medida en mg de proteína/mg de muestra. El programa estadístico utilizado fue el SAS. Se utilizó un modelo de auto regresión de orden 1 “PROC CORR del SAS”.

4. RESULTADOS

4.1. Concentración de proteína soluble

Los cambios en la concentración de proteína soluble en cuyes de 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad se detallan en la Tabla 1 y Figura 5.

Tabla 1. Concentración de proteína soluble en muestras de páncreas en cuyes de 0 a 42 días de edad.

Edad	Concentración de proteína soluble (mg de proteína/ mg de muestra)	EEM
0	5,420	4,860
7	9,000	4,860
14	8,410	2,806
21	8,203	2,806
28	4,050	2,806
35	4,520	3,436
42	4,221	2,806
P valor	0,816	

*EEM= error estándar medio

La concentración de proteína soluble en el páncreas no presenta diferencias significativas (P 0,816) respecto a la edad del animal, dando un promedio de 6,261 mg de proteína/mg de muestra.

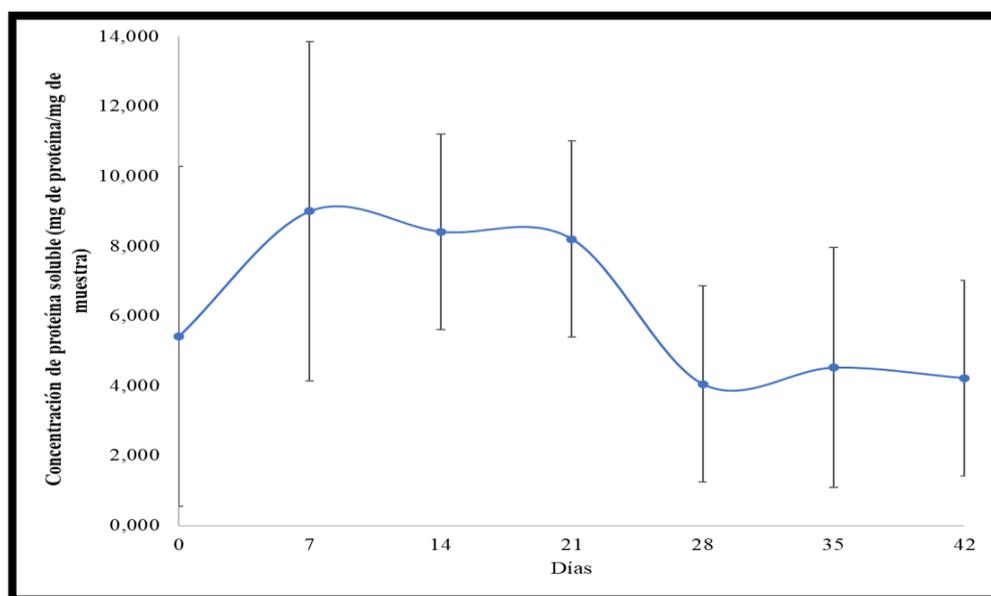


Figura 5. Concentración de proteína soluble en cuyes de 0 a 42 días de edad.

4.2. Actividad enzimática de la lipasa pancreática

El análisis de la actividad enzimática y actividad específica de la lipasa en muestras de páncreas de cuyes de 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad se muestran en la Tabla 2 y Figuras 6 y 7, respectivamente.

Tabla 2. Actividad enzimática y específica de la lipasa pancreática en cuyes de 0 a 42 días de edad.

Edad	Actividad enzimática de Lipasa (mU/ml)	Actividad específica de Lipasa (mU/mg de proteína)
0	1,340 ^a	
7	1,124 ^a	
14	0,355 ^{bc}	0,040
21	0,614 ^b	0,083
28	0,132 ^{cd}	0,028
35	0,069 ^d	0,041
42	0,432 ^b	0,092
EEM	0,076	0,030
P valor	<0,001	0,617

*EEM= error estándar medio

La actividad enzimática de la lipasa pancreática muestra variaciones considerables con respecto a la edad de los cuyes de 0 a 42 días ($P < 0,001$). La actividad enzimática de 0 a 7 días es alta (1,340mU/ml) y disminuye bruscamente a partir del día 14 (0,355mU/ml), a los 21 días existe un ligero aumento (0,614mU/ml), entre los días 28 y 35 baja y se mantiene constante; en la actividad específica no se observa variación significativa ($P 0,617$) en relación a la edad del animal.

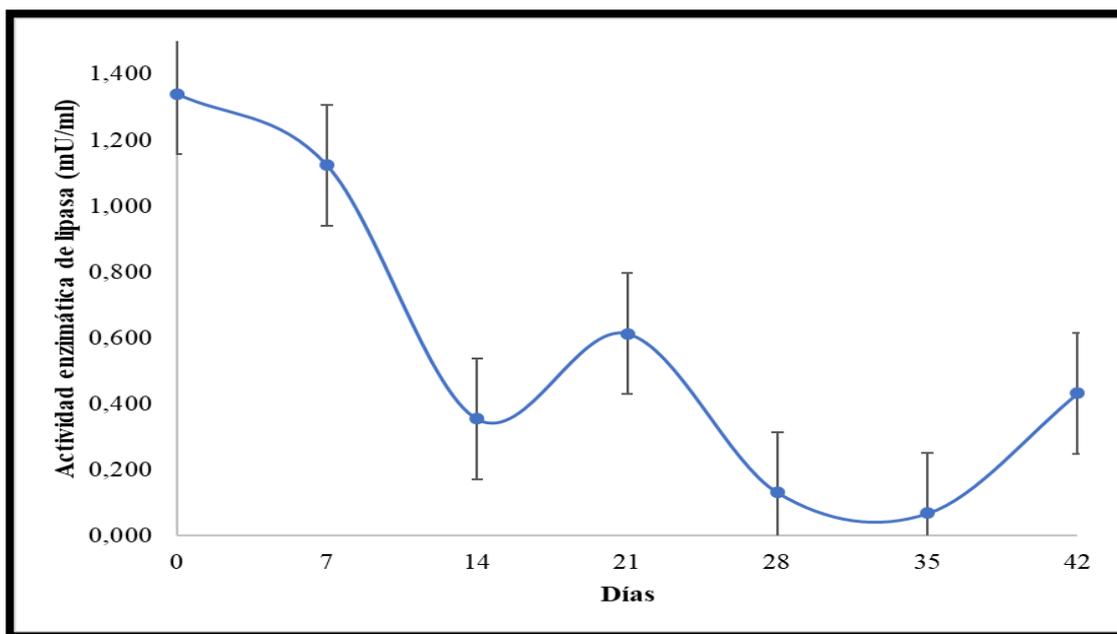


Figura 6. Actividad enzimática de la lipasa pancreática

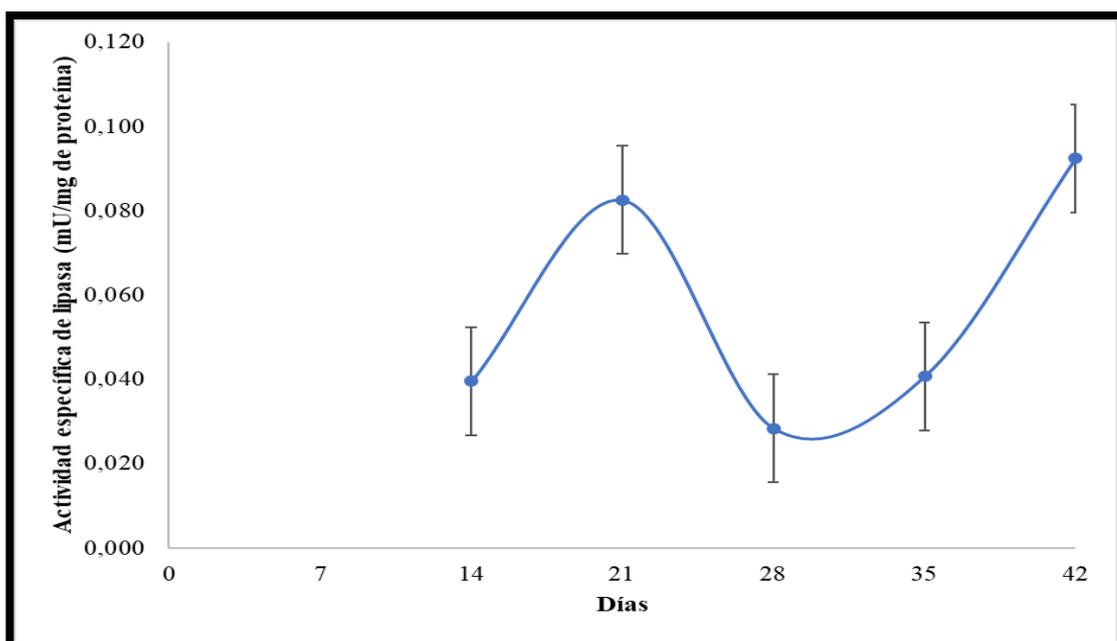


Figura 7. Actividad específica de la lipasa pancreática

5. DISCUSIÓN

5.1. Concentración de proteína soluble

Burgos *et al.* (2015) en un trabajo realizado en conejos después de 50 días de alimentación con distintas dietas, no encontró diferencia para la concentración de proteína pancreática (mg/g), entre el grupo control (C) de conejos alimentados con una comida de conejo estándar ($7,754 \pm 0,855$) y el grupo hipercolesterolémico (HCHOL) que tuvo una dieta rica en colesterol y manteca de cerdo ($7,292 \pm 1,229$). Por otro lado Debray *et al.* (2003) manifiesta en su investigación que la concentración de proteína en el páncreas fue 6,9 % mayor (P-0,05) en los conejos destetados que en las crías y como consecuencia principal de esto, en las enzimas las actividades totales y la actividad relativa expresada en un LW aumentan después del destete; estos datos no concuerda con nuestro trabajo donde obtuvimos mayor concentración de proteína a los 7 días de edad (9,000mg de proteína/mg de muestra), en cuyes ya destetados a los 21 días se mantiene alta (8,203 mg de proteína/mg de muestra), pero a partir del día 28 hay una disminución significativa (4,050 mg de proteína/mg de muestra).

5.2. Actividad enzimática de la lipasa pancreática

Lebas *et al.* (1971), en su trabajo realizado en conejos menciona que hay un aumento muy fuerte en la actividad total de la lipasa desde el segundo día de edad. Dojană *et al.* (1998), manifiesta que la actividad específica de la lipasa alcanzó un nivel máximo en conejos lactantes a la edad de 15 días y disminuyó bruscamente al destete. Por otro lado, Debray *et al.* (2003), revela en su investigación que, entre los 25 y 42 días de edad, la actividad pancreática específica de lipasa aumentó 76 veces (P-0,05). Corring *et al.* (1972) describe en un trabajo donde se analizaron las actividades enzimáticas de tripsina, quimotripsina, lipasa y amilasa, que todas las actividades enzimáticas muestran un aumento hacia el segundo día; sin embargo, estas actividades son ligeramente más altas en animales destetados a los 21 días.

En los resultados de esta investigación se obtuvo mayor actividad enzimática los primeros días de edad del cobayo (1,340mU/ml y 1,124mU/ml, respectivamente) y

mayor actividad específica luego del destete a los 21 días (0,083mU/mg de proteína), datos que concuerdan con los descritos por Lebas *et al.* (1971) y por Corring *et al.* (1972); entre los días 35 y 42 se observó un aumento de la actividad específica (0,041mU/mg de proteína y 0,092mU/mg de proteína, respectivamente), dato similar a lo que menciona Debray *et al.* (2003). Estos resultados se debieron a que en los primeros días de edad los cobayos consumían leche por lo que tenían un aporte considerable de grasa, durante el destete el % de grasa disminuyó por lo tanto la actividad de la lipasa pancreática también; además esta enzima pasa en forma de zimógeno en el páncreas y se activa en el lumen del intestino delgado, por lo tanto, luego de sufrir una adaptación a la nueva dieta alimenticia con balanceado comercial (PB 18%, grasa 5%, fibra cruda 6%), empieza a incrementarse la actividad enzimática como lo menciona Borel *et al.* (1991) en su investigación en donde señala que, la actividad de la lipasa pancreática aumentó significativamente cuando los conejos fueron alimentados con 12 % de grasa en la dieta.

6. CONCLUSIONES

- La concentración de proteína soluble no presenta cambios notables (P 0,816) respecto a la edad del cuy de 0 a 42 días.
- La actividad enzimática de lipasa presenta valores más significativos los primeros días de edad del cobayo (1,340mU/ml y 1,124mU/ml, respectivamente), esto puede deberse a que en esos días los animales consumían leche la cual presenta un contenido en grasa considerable.
- La actividad específica de la lipasa disminuye bruscamente a los 14 días (0,040mU/mg de proteína), debido al estrés que sufren los animales por el cambio de alimentación en la etapa de destete, y entre los días 35 y 42 se empieza a normalizar, ya que los animales se van adaptando a la nueva dieta alimenticia.

7. RECOMENDACIONES

- Elaborar más trabajos relacionados con el tema de esta investigación, para verificar y realizar comparaciones de los datos y así mejorar la comprensión de la actividad enzimática en cuyes, ya que es un tema de gran importancia para la elaboración de dietas que sean bien aprovechadas por los animales.
- Estudiar la actividad enzimática de la lipasa a nivel del lumen intestinal ya que es aquí donde la enzima se encuentra activa.
- Suministrar dietas con un máximo de grasa de 8% después del destete, pues la capacidad de digerir grasas no es tan elevada en cobayos adultos.
- Realizar un mejor manejo al momento del destete a los animales teniendo cuidado en la manipulación y cambio adecuado de la dieta alimenticia para disminuir el nivel de estrés y evitar alteraciones en los resultados de los análisis.

8. BIBLIOGRAFÍA

Arce, N. (2017). Estudio histológico de las vellosidades intestinales de cuyes (*Cavia porcellus*) criollos y mejorados según el sistema de alimentación.

Arroyo, P. (2014). Estudio morfométrico del estómago del cobayo (*Cavia porcellus*) lactante.

Blas, E., y Gidenne, T. (2010). 2 Digestion of sugars and starch. *Nutrition of the Rabbit*, 19.

Borel, P., Armand, M., Senft, M., Andre, M., Lafont, H., y Lairon, D. (1991). Gastric lipase: evidence of an adaptive response to dietary fat in the rabbit. *Gastroenterology*, 100(6), 1582–1589.

Borgström, B. (1986). Luminal digestion of fats. *New York: Raven*, 361–73.

Breazile, J., y Brown, E. (1976). Chapter 6: Anatomy. The Biology of the Guinea pig. *Academic Press, New York, NY*, 53–62.

Burgos, M. A. M., Torregrosa, M. D. Y., García, M. D. M., Millán, M. B. L., Carrillo, J. A. B., Velasco, A. R., ... de Victoria Muñoz, E. M. (2015). Effects of a westernstyle diet high in cholesterol and saturated fat on the rabbit exocrine pancreas. *Turkish Journal of Biology*, 39, 765–774.

Cacuango, J. (2015). *Evaluación del uso de dietas con tres niveles de enzimas digestivas en la alimentación de cuyes en la fase de crecimiento y finalización* (B.S. thesis). Quito: UCE.

Carabaño, R., Piquer, J., Menoyo, D., Badiola, I., y cols. (2010). The digestive system of the rabbit. *Nutrition of the Rabbit*, 1–18.

Castro, C. F., Jiménez, L. R., Ginés, M. Á. R., y Martín, G. R. (2011). El laboratorio clínico y la función hormonal. *LABCAM (Asociación Castellano-Manchega de Análisis Clínicos)*.

Cera, K., Mahan, D., y Reinhart, G. (1988). Weekly digestibilities of diets

supplemented with corn oil, lard or tallow by weanling swine. *Journal of Animal Science*, 66(6), 1430–1437.

Corring, T., Lebas, F., Courtot, D., Gueugneau, A.-M., Sardi, G., y Baudet, J.-J. (1972). Contrôle de l'évolution de l'équipement enzymatique du pancréas exocrine du lapin de la naissance à 6 semaines. En *Annales de biologie animale biochimie biophysique* (Vol. 12, pp. 221–231).

De Blas, J., García, J., y Carabaño, R. (2002). Avances en nutrición de conejos. *Simposium de Cunicultura*, 27, 83–91.

Debray, L., Le Huerou-Luron, I., Gidenne, T., y Fortun-Lamothe, L. (2003). Digestive tract development in rabbit according to the dietary energetic source: correlation between whole tract digestion, pancreatic and intestinal enzymatic activities. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 135(3), 443–455.

De Zaldívar, L. C. (1997). Producción de cuyes (*cavia porcellus*) (Vol. 138). Food & Agriculture Org.

Dojană, N., Costache, M., y Dinischiotu, A. (1998). The activity of some digestive enzymes in domestic rabbits before and after weaning. *Animal Science*, 66(2), 501–507.

Dyce, K. M., Sack, W. O., y Wensing, C. J. G. (2007). *Anatomía veterinaria* (n.º 619: 611). Manual Moderno.

Escallón, A. (2012). Insuficiencia pancreática exocrina en caninos domésticos de Bogotá.

Gallois, M., Le Huërou-Luron, I., Fortun-Lamothe, L., Lalles, J., y Gidenne, T. (2008). Adaptability of the digestive function according to age at weaning in the rabbit: I. effect on feed intake and digestive functionality. *animal*, 2(4), 525–535.

Gálvez, A., Flores, I., y Farrés, A. (2012). Capítulo 3: Concentración de Proteínas. En *Química de los alimentos* (5ta ed., p. 743). México: booksmedicos.org.

Hargaden, M., y Singer, L. (2012). Chapter 20: Anatomy physiology and

behavior. *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*. 1st ed, Amsterdam, Boston.

Hedemann, M. S., y Jensen, B. B. (2004). Variations in enzyme activity in stomach and pancreatic tissue and digesta in piglets around weaning. *Archives of animal nutrition*, 58(1), 47–59.

Jakob, S., Mosenthin, R., y Sauer, W. (2000). The influence of lipids on exocrine pancreatic secretions in pigs review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13(5), 711–719.

Jaramillo, A. (2017). Determinación de características morfofisiológicas del tracto digestivo del cuy (*cavia porcellus*) (B.S. thesis). Loja.

Jensen, M. S., Jensen, S. K., y Jakobsen, K. (1997). Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the stomach and pancreas. *Journal of animal science*, 75(2), 437–445.

Koolman, J., y Röhm, K. (2012). *Bioquímica Humana: Texto y Atlas* (4ed): Editorial Médica Panamericana.

Leandro, V. (2012). Caracterización de la actividad de las enzimas hidrolíticas localizadas en la región cecal de cuyes (*cavia porcellus*).

Lebas, F., Corring, T., Courtot, D., Gueugneau, A.-M., Sardi, G., y Cotta, Y. (1971). Équipement enzymatique du pancréas exocrine chez le lapin, mise en place et évolution de la naissance au sevrage. relation avec la composition du régime alimentaire. En *Annales de biologie animale biochimie biophysique* (Vol. 11, pp. 399–413).

Li, F., Jiang, Y.-N., y Shen, T. F. (2001). Development of lipase in nursing piglets. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, Life sciences*, 25(1), 12–16.

Lindemann, M., Cornelius, S., El Kandelgy, S., Moser, R., y Pettigrew, J. (1986). Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet 1st2. *J. Anim. Sci*, 1298, 1307.

Lis, A., Barra, F., Beltramino, F., Peralta, J., y Rejf, P. (2003). Páncreas: *diferencias microestructurales y de indicadores funcionales*. Sitio argentino de producción animal. [internet].

Marounek, M., Vovk, S., y Skřivanová, V. (1995). Distribution of activity of hydrolytic enzymes in the digestive tract of rabbits. *British Journal of Nutrition*, 73(3), 463–469.

McDonald, P. (2011). Nutrición animal capítulo de enzimas. (7ma. ed.). Editorial Hélice.

Montes, F. M., Vázquez, J. P. P., y Rosas, H. R. (2018). *Bioquímica de Laguna y Piña*. Manual Moderno.

Moreta, C. (2018). Efecto de dos tipos de sales minerales y determinación del incremento de peso en la crianza de cuyes (*cavia porcellus*) (B.S. thesis). Quito: UCE.

Ñauñay, I. (2012). Valoración energética de diferentes tipos de balanceado utilizados en la alimentación de cuyes (*cavia porcellus*) (B.S. thesis).

Quesenberry, K., y Carpenter, J. W. (2011). *Lic-ferrets, rabbits, and rodents: Clinical medicine and surgery*. Elsevier Health Sciences.

Ravindran, V. (2010). Aditivos en alimentación animal: presente y futuro. *Institute of Food, Nutrition and Human Health, Massey University, New Zealand. XXVI Curso de Especialización FEDNA (Fundación Española para el desarrollo de la Nutrición Animal.)*. Madrid.

Roca, P., Oliver, J., y Rodríguez, A. M. (2004). *Bioquímica: técnicas y métodos*. Editorial Hélice.

Rodríguez, F. (2018). Suplementación con un complejo enzimático en dietas balanceadas de crecimiento en cuyes mejorados (*cavia porcellus*).

Rodríguez, J., Cueva, S., Vásquez, M., Lira, B., Olivera, L., y Espinoza, J. (2012). Desarrollo postnatal del páncreas endocrino de cuyes (*cavia porcellus*) lactantes postnatal. *Rev Inv Vet Perú*, 23(1), 13–19.

Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., y Weil, P. A. (2016). *Bioquímica ilustrada de Harper*. McGraw Hill Brasil.

Sakaguchi, E. (2003). Digestive strategies of small hindgut fermenters. *Animal Science Journal*, 74(5), 327–337.

Sinaluisa, O. (2015). *Evaluación del crecimiento-engorde de conejos neozelandez alimentados con diferentes porcentajes 4 %, 6 %, 8 % y 10 % de harina de cabeza de camarón en la parroquia San Pablo, provincia de Bolívar* (B.S. thesis). Universidad Estatal de Bolívar. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela.

Soybel, D. I. (2005). Anatomy and physiology of the stomach. *Surgical Clinics*, 85(5), 875–894.

Teijón, J., Garrido, A., y Blanco, G. (2009). *Bioquímica estructural: conceptos y tests*. Editorial Tébar: España.

Toro, M. V. L., de Arvelo, E. E. R., Delgado, M. V. C., Ochoa, A. M., y Betancourt, C. M. (2007). Efecto de la concavalina sobre la actividad de las enzimas α -amilasa pancreática y tripsina en pollos de engorde. *Revista Científica*, 17(1), 83–88.

Vallecilla, C. (2014). Fisiología digestiva de monogástricos. *Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia*.

Vargas, S., y Yupa, E. (2011). Determinación de la ganancia de peso en cuyes (*cavia porcellus*), con dos tipos de alimentos balanceados (B.S. thesis).

Xiccato, G., y cols. (2010). Fat digestion. *The Nutrition of the Rabbit. Nutrition of the rabbit. 2nd ed. Oxon (UK): CAB International*, 56–65.

Anexo A: Fotografías del trabajo de campo



Figura 8. Adecuación de jaulas.



Figura 9. Hembras gestantes.

Anexo B: Fotografías del trabajo de Laboratorio



Figura 10. Peso vivo de animales.



Figura 11. Extracción del páncreas.



Figura 12. Pesaje de las muestras de páncreas.



Figura 13. Homogenización de las muestras.

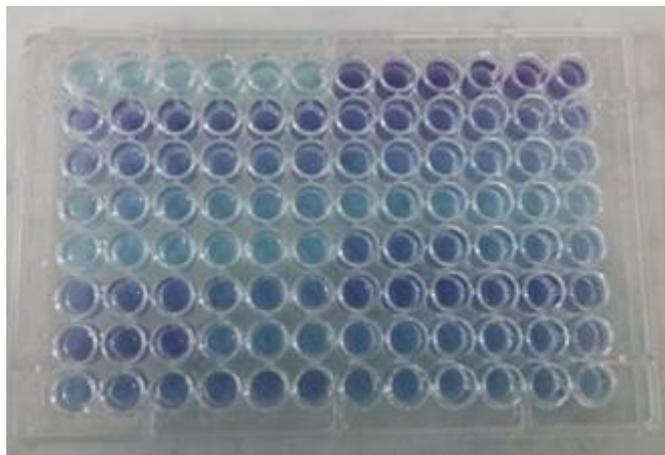


Figura 14. Placa de la concentración de Proteínas.



Figura 15. Placa de la actividad enzimática

Anexo B: Fotografías del Análisis estadístico

Información del modelo	
Conjunto de datos	WORK.IMPORT
Variable dependiente	Actividad_especifica
Estructura de covarianza	Simetría compuestas
Efecto de sujeto	Animal
Método de estimación	REML
Método de varianza del residual	Perfil
Método SE de efectos fijos	Basado en el modelo
Método de grados de libertad	Between-Within

Test de tipo 3 de efectos fijos				
Efecto	DF Num	Den DF	Valor F	Pr > F
Edad	4	4	0.73	0.6166

Medias de mínimos cuadrados						
Efecto	Edad	Estimación	Error estándar	DF	t valor	Pr > t
Edad	14	0.03957	0.03009	4	1.32	0.2588
Edad	21	0.08255	0.03009	4	2.74	0.0517
Edad	28	0.02841	0.03009	4	0.94	0.3986
Edad	35	0.04071	0.03009	4	1.35	0.2476
Edad	42	0.09246	0.03009	4	3.07	0.0372

Diferencias de medias de mínimos cuadrados							
Efecto	Edad	Edad	Estimación	Error estándar	DF	t valor	Pr > t
Edad	14	21	-0.04298	0.04754	4	-0.90	0.4172
Edad	14	28	0.01116	0.04754	4	0.23	0.8259
Edad	14	35	-0.00113	0.04754	4	-0.02	0.9821
Edad	14	42	-0.05288	0.04754	4	-1.11	0.3284
Edad	21	28	0.05414	0.04754	4	1.14	0.3184
Edad	21	35	0.04184	0.04754	4	0.88	0.4285
Edad	21	42	-0.00991	0.04754	4	-0.21	0.8451
Edad	28	35	-0.01230	0.04754	4	-0.26	0.8087
Edad	28	42	-0.06405	0.04754	4	-1.35	0.2492
Edad	35	42	-0.05175	0.04754	4	-1.09	0.3376

Figura 16. Análisis estadístico de la actividad específica de Lipasa

Información del modelo	
Conjunto de datos	WORK.IMPORT1
Variable dependiente	proteína
Estructura de covarianza	Simetría compuestas
Efecto de sujeto	Animal(Edad)
Método de estimación	REML
Método de varianza del residual	Perfil
Método SE de efectos fijos	Basado en el modelo
Método de grados de libertad	Between-Within

Test de tipo 3 de efectos fijos				
Efecto	DF Num	Den DF	Valor F	Pr > F
Edad	6	9	0.47	0.8161

Medias de mínimos cuadrados						
Efecto	Edad	Estimación	Error estándar	DF	t valor	Pr > t
Edad	0	5.4200	4.8595	9	1.12	0.2936
Edad	7	9.0000	4.8595	9	1.85	0.0970
Edad	14	8.4100	2.8057	9	3.00	0.0150
Edad	21	8.2031	2.8057	9	2.92	0.0169
Edad	28	4.0498	2.8057	9	1.44	0.1828
Edad	35	4.5200	3.4362	9	1.32	0.2209
Edad	42	4.2211	2.8057	9	1.50	0.1667

Diferencias de medias de mínimos cuadrados							
Efecto	Edad	Edad	Estimación	Error estándar	DF	t valor	Pr > t
Edad	0	7	-3.5800	6.8724	9	-0.52	0.6150
Edad	0	14	-2.9900	5.8113	9	-0.53	0.6070
Edad	0	21	-2.7831	5.8113	9	-0.50	0.6318
Edad	0	28	1.3702	5.8113	9	0.24	0.8126
Edad	0	35	0.9000	5.9517	9	0.15	0.8831
Edad	0	42	1.1989	5.8113	9	0.21	0.8356
Edad	7	14	0.5900	5.8113	9	0.11	0.9186
Edad	7	21	0.7969	5.8113	9	0.14	0.8902
Edad	7	28	4.9502	5.8113	9	0.88	0.4006
Edad	7	35	4.4800	5.9517	9	0.75	0.4708
Edad	7	42	4.7789	5.8113	9	0.85	0.4165
Edad	14	21	0.2069	3.9678	9	0.05	0.9595
Edad	14	28	4.3602	3.9678	9	1.10	0.3003
Edad	14	35	3.8900	4.4361	9	0.88	0.4033
Edad	14	42	4.1889	3.9678	9	1.06	0.3186
Edad	21	28	4.1532	3.9678	9	1.05	0.3225
Edad	21	35	3.6831	4.4361	9	0.83	0.4279
Edad	21	42	3.9820	3.9678	9	1.00	0.3418
Edad	28	35	-0.4702	4.4361	9	-0.11	0.9179
Edad	28	42	-0.1713	3.9678	9	-0.04	0.9665
Edad	35	42	0.2989	4.4361	9	0.07	0.9478

Figura 17. Análisis estadístico de la concentración de proteína soluble