



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE INULINA
EN EL MODELO DE REFLUJO COLOILEAL EN PERROS**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

MIRIAM MARTÍNEZ BAUTISTA

TUTOR:

DR. FERNANDO PÉREZ - GIL ROMO

COMITÉ TUTORAL:

DRA. FLORENCIA VARGAS VORÁCKOVÁ

DR. ISIDRO CASTRO MENDOZA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A Dios

A mis padres

A mi esposo

A mis hermanos

A mis sobrinas, Gaby, Pao, Maryjose y Emma

A Daniel Ortega, por su amistad

AGRADECIMIENTOS

A mi facultad (FMVZ - UNAM), por todas las facilidades y apoyo recibido.

A mi tutor, Dr. Fernando Pérez -Gil Romo, por todo su apoyo brindado.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), que me brindo el apoyo económico, así como el uso de las instalaciones y laboratorio para el desarrollo del proyecto.

Al Dr Rafael Hernández y al Dr Octavio del Bioterio del INCMNSZ por las facilidades en cuanto a instalaciones y laboratorio de histopatología.

Al posgrado de mi facultad, por todo el apoyo recibido.

A la Dra. Florencia Vargas, por ser un ejemplo y aliento para la vida.

Al Dr. Isidro Castro, por participar en este proyecto y brindarme su tiempo.

A la Biol. María Eugenia Juárez, por todo su apoyo que fue determinante para realizar la parte de laboratorio del proyecto.

Al MVZ Alejandro Hernández por su ayuda y valiosa contribución.

A Don Rafa, por su amistad y por la inmensa ayuda desinteresada en el cuidado de los animales de este proyecto.

Al personal de la Sección de Enseñanza Quirúrgica de la FMVZ – UNAM.

A mis amigos por su valiosa ayuda durante las largas jornadas de cirugías, Ricardo, Mariana, Yadira, Silvia, Pao, Paco, Miguel, Sergio y todos los demás.

A mi cuñado, Andy, por su gran ayuda y hospitalidad.

A Megafarma SA de CV que a través de MVZ Daniel Ortega Alvarez, me apoyaron económicamente y sin el cual no se hubiera podido concretar este proyecto.

A mi esposo por ser mi mejor amigo. (Juan 15:12 al 17).

A Dios, por amarme inagotablemente, creer en mí y enseñarme que todo es posible a su lado. (Juan 3:16, Filipenses 4:13).

ÍNDICE

Resumen	VI
Abstrac	VII
Introducción	1
Descripción anatomo - fisiológica del tracto digestivo del perro	1
Prebiótico	5
Inulina	6
Hipótesis	12
Objetivo	13
Objetivos específicos	13
Material y métodos	14
Tamaño de la muestra	14
Criterios de inclusión, de exclusión y de eliminación	15
Maniobras conductuales: procedimientos de habituación para el manejo	17
Protocolo seguido para la cirugía	19
Manejo prequirúrgico	19
Manejo transquirúrgico y posquirúrgico.	20
Técnica quirúrgica	21
Obtención de las muestras	23
Análisis químico proximal (AQP) del alimento	25
Técnica para determinación enzimática de inulina	26
Diagrama de flujo del método enzimático para determinación de fructanos	29
Técnica de sacrificio	30
Resultados	31
Discusión	34
Conclusiones	37
Cuadros	38
Figuras	48
Bibliografía.	67

RESUMEN

Se trabajó con 2 grupos (n = 7) de perros de dos meses de edad, uno con una dosis de inulina de 1 g/día (PO) y otro sin inulina (testigo) con una duración de 4 meses. A ambos grupos se les realizó resección de la válvula ileocecal y anastomosis ileocólica a los 4 meses de edad. No se utilizaron antibióticos. Se comparó la ganancia de peso, calcio sérico, temperatura corporal durante 10 días posquirúrgicos, largo de vellosidades en ileon y largo del epitelio en colon. Se evaluó en heces, por método enzimático, el aprovechamiento de inulina. Se encontraron diferencias numéricas en peso, calcio y temperatura, siendo más favorable para los individuos tratados con inulina. Se observó diferencia estadística significativa para el largo de las vellosidades intestinales en ileon, resultando mayores en las del grupo con inulina que en las del testigo ($P < 0.0001$), no hubo diferencia en colon ($P > 0.05$).

Palabras clave: Inulina, prebiótico, perro, calcio, vellosidades, intestino.

ABSTRACT

2 groups (n = 7) of dogs of 2 months of age was in an experiment, one with a dose 1 g/day of inulin (oral) and another without inulin (control), both with a duration of 4 months. All the dogs were carried out resection of the ileocaecal valve and ileocolic anastomosis at 4 months of age. Antibiotics were not used. The gain weight, seric calcium, corporal temperature was compared during 10 days after surgery, long of villi in ileon and the long of epithelium in colon was compared to. Faeces was evaluated, by enzymatic method, in the inulin precense. Numeric differences were found in weight, calcium and temperature, being more favorable for the individuals tried with inulin. Significant statistical difference was observed for the long of the intestinal villi in ileon, being bigger in those of the group with inulin than those of the control ($P < 0.0001$), was not difference in colon ($P > 0.05$).

Keywords: Inulin, prebiotic, dog, calcium, intestinal villi, intestine.

INTRODUCCIÓN

Descripción anatómico - fisiológica del tracto digestivo del perro.

El aparato digestivo del perro se divide en: cavidad bucal, que va desde los labios hasta la faringe, continúa con el esófago que a través del cardias se comunica con el estómago, posteriormente se encuentra el píloro que comunica con el intestino delgado, continuando con el trayecto, existe un esfínter o válvula ileocecal (de Bauhini), que comunica al íleon, parte distal del intestino delgado, y el colon o parte proximal del intestino grueso, continuando el recto y terminando en el ano. Figura 1.

Unas de las funciones del intestino delgado son, la digestión y absorción de nutrientes y en menor grado comparado con intestino grueso, agua y electrolitos.¹

El intestino consta de tunicas del órgano tubular; túnica mucosa, túnica submucosa, túnica muscular externa y túnica serosa. La diferencia más visible es la presencia de vellosidades en el intestino delgado y la ausencia de estas en el intestino grueso (Figura 2).²

El intestino delgado está altamente modificado para secretar enzimas y absorber nutrientes, para lo que tiene muchas modificaciones para aumentar la superficie de secreción y absorción: longitud, pliegues, vellosidades y microvellosidades. Aunque hay diferencias distintivas de las diferentes regiones del intestino, éstas comparten muchas propiedades.³

El duodeno es la porción fija del intestino, la túnica mucosa tiene muchas vellosidades y pliegues circulares. Aunque varían, las vellosidades tienden a ser regulares, anchas y romas. Las criptas de Lieberkuhn son notorias, hay cantidad variable de glándulas intestinales submucosas, en el perro se limitan a la parte inicial del duodeno. Pueden encontrarse linfonodos, pero son escasos.³

El yeyuno es muy parecido al duodeno, las glándulas intestinales submucosas se limitan a la porción inicial, las vellosidades son más angostas y pequeñas y están en menor cantidad en la porción craneal de duodeno.³

En la región del íleon hay un aumento en el número de células caliciformes. El tejido linfático es muy notorio en la mucosa y submucosa, estos agregados se llaman placas de Peyer. Los linfonodos pueden ser tan grandes que incluso llegan a obliterar a las vellosidades. Las vellosidades en esta región tienen forma de palo de golf y son menos prominentes que en el yeyuno. En esta región no hay pliegues.^{2,3}

La válvula ileocecal previene el reflujo, impidiendo el movimiento retrogrado de los contenidos del colon hacia el íleon y regula el paso del quimo del íleon al ciego. La válvula posee un esfínter muscular, cuando el ciego se distiende se intensifica la contracción del esfínter ileocecal y se inhibe el peristaltismo ileal. Cualquier irritante en ciego retrasa el vaciamiento, la irritación puede producir un espasmo tan intenso del esfínter ileocecal que provoca una parálisis parcial del íleon, prolongando la permanencia del quimo en íleon, facilitando la absorción. Los reflejos a través de los cuales está controlada son mediados por el plexo mientérico de la pared intestinal y por nervios autónomos extrínsecos, en particular de los ganglios simpáticos prevertebrales.^{1,3}

La organización del intestino grueso tienen características que lo distinguen del intestino delgado: no hay vellosidades, las criptas intestinales alargadas y rectas, abren a la superficie en el borde luminal, las células caliciformes se distinguen con mucha facilidad en la lámina epitelial, aunque no hay células de Paneth, los linfonodos suelen ser más prominentes en la abertura del ciego. El ciego en el perro es pequeño.^{1,3}

En el colon el diámetro es mucho mayor que el intestino delgado, la membrana mucosa es lisa. La capa más externa de la túnica muscular está engrosada y

dispuesta en bandas aplanadas de orientación longitudinal, constituidas por músculo liso.^{1, 2, 3}

El recto posee una túnica muscular más gruesa que el colon. El epitelio de revestimiento y glandular tienen muchas células caliciformes. Por otro lado, el ano es una unión mucocutánea marcada por un epitelio de transición de cilíndrico a estriado escamoso en la unión recto anal.³

La renovación, reemplazo y reparación del epitelio intestinal sucede en dirección de las criptas a la región del lumen intestinal. El borde estriado está mejor desarrollado y las microvellosidades son más largas hacia el ápice de las vellosidades que en la base de las criptas. En la profundidad de las criptas hay muchas figuras mitóticas que demuestran que las células de revestimiento de las vellosidades se originan ahí. Las células germinales en las criptas se dividen, se diferencian y migran hacia la punta de la vellosidad, descamándose hacia el lumen intestinal, de esta forma todas las células de revestimiento del epitelio intestinal pueden ser diferenciadas de las células germinales primitivas de las criptas. El reemplazo de las células descamadas es más o menos cada tres días. En el colon la renovación y reemplazo es similar a lo antes señalado, las células de descamación contribuyen al volumen fecal, lo que indica la gran cantidad de células perdidas y sustituidas todos los días. La reparación del intestino grueso es semejante a la descrita en el delgado. Hay muchos factores que disminuyen el potencial de cicatrización tales como la gran cantidad de material orgánico que constituirá las heces fecales y una cuenta bacteriana alta dentro del intestino. El derrame del contenido es una secuela común, la porción de intestino grueso que se encuentra en cavidad pélvica carece de cubierta serosa, en esta porción es más común el derrame del contenido después de la reparación quirúrgica. La irrigación aunque adecuada, no basta para asegurar la cicatrización.³

Hoy en día se sabe que otra propiedad inherente del tubo digestivo es el albergar un sin número de microorganismos (1 a 3×10^{10} / g de heces fecales) los cuales favorecen la fermentación de materia no digerida por el animal, constituyendo de esta forma un ecosistema que participa en la estabilidad o integridad intestinal lo que es fundamental para un sitio de absorción de nutrientes.^{1, 4}

La enfermedad puede interrumpir estas complejas e interrelacionadas funciones, manifestándose en la mayoría de las especies como diarrea o constipación.⁵

Entre las causas más comunes están la ingesta de objetos extraños, infecciones bacterianas o virales (de carácter primario o secundario) y dentro de éstas últimas existen zoonosis importantes en salud pública el caso de *Campylobacter* spp y *Salmonella* spp .⁶

Los patógenos antes mencionados pueden ocasionar diarreas principalmente en individuos jóvenes donde los factores de estrés ambiental, fisiológico o quirúrgico se hayan involucrados. Las diarreas por *Campylobacter jejuni* clínicamente son parecidas a las provocadas por la infección por parvovirus, pero diferenciándose con el aislamiento bacteriano, esto último es probable pues la excreción del microorganismo aunque intermitente puede ser propiciada por estrés.

La cirugía intestinal es comúnmente realizada en medicina veterinaria, los procedimientos más comunes del intestino delgado del perro y gato incluyen enterotomía y resección con anastomosis intestinal.^{6, 7, 8}

Específicamente, la cirugía de intestino grueso es indicada por lesiones causadas por obstrucción debidas a cuerpo extraño, neoplasias, perforaciones, inercia colónica o inflamación crónica causada por agentes patógenos encontrados también en intestino delgado.⁹

Toda resección intestinal que involucra segmentos de intestino delgado, grueso o ambos implica un proceso de recuperación en el cual la válvula ileocecal

juega un papel regulador de absorción de líquidos, electrolitos y la homeostasis intestinal. Husemann en 1979 indica que si la válvula es reseccionada, los individuos presentarán un efecto de mala absorción, comparado con aquellos en los que no es reseccionada, por lo cual recomienda que en este tipo de resecciones la válvula ileocecal debe ser conservada.¹⁰

Ecker y colaboradores en el 2000, tratan la relación que existe entre la resección de la válvula ileocecal y el reflujo fecal, lo que provoca las inflamaciones recurrentes intestinales causadas por bacterias y otros antígenos a nivel intraluminal como modelo en la enfermedad de Crohn en humanos. Estos autores fabricaron e implantaron en perros una válvula inmunocompetente que sustituye a la ileocecal, con lo que previenen el reflujo fecal después de la resección ileocólica, esto sugiere que en la enfermedad de Crohn, se puede prevenir la recurrencia inflamatoria implantando dicha válvula.⁹

En otro experimento en 1995 el autor anterior, confirma en un estudio bacteriológico en perros mestizos que la ausencia de la válvula ileocecal mediante la resección e ileocolostomía, provoca una migración y colonización bacteriana retrógrada del intestino, que no se registra en pacientes donde la válvula se conserva.^{11, 12}

Una buena terapia posoperatoria que implica el manejo correcto de alimentos y líquidos al paciente, favorece la recuperación intestinal y por ende la del individuo. El uso de alimentos funcionales como prebióticos se ha vislumbrado como una alternativa que beneficia la evolución en problemas gastrointestinales, tanto los relacionados con diarrea, constipación y como de otros desórdenes intestinales, tal como cita Meier y colaboradores en 2003 en su revisión en humanos.^{13, 14, 15}

Un **prebiótico** es un ingrediente alimenticio no digerible por el huésped, que estimula de manera selectiva a una bacteria o grupo limitado de bacterias

presentes en el intestino, en su crecimiento y su actividad, favoreciendo la salud del huésped.^{14, 16, 17}

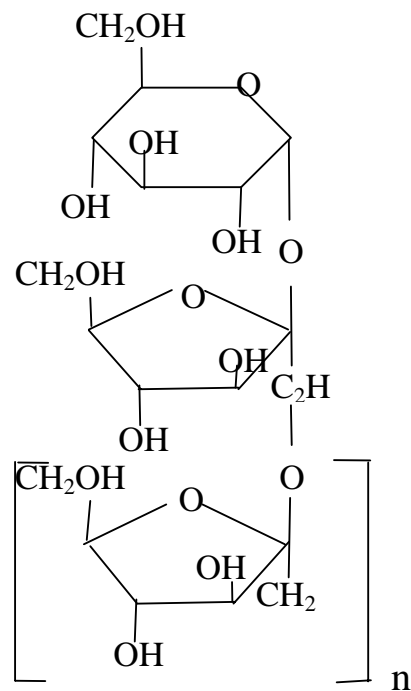
Para que un componente sea clasificado como prebiótico debe de cubrir las siguientes características: no ser hidrolizado ni absorbido en la parte superior de tracto gastrointestinal; ser un sustrato selectivo para una o más bacterias potencialmente benéficas en el intestino grueso; estimular la multiplicación y la actividad metabólica bacteriana; alterar el microambiente intestinal provocando un efecto favorable; inducir un efecto local o sistémico benéfico para el huésped y tener un valor de energía menor a 9 kJ/g.^{18, 19}

La diversidad de este tipo de ingredientes es muy amplia y se encuentran actualmente en uso en el mercado nacional e internacional. La inulina posee propiedades y funciones que se mencionan mas adelante, además de que es un producto ya comercializado en Europa, Estados Unidos y Brasil, en la industria humana y de pequeñas especies. En México el uso de inulina es reciente y a pesar de la gran cantidad de estudios hechos en el hombre, existen relativamente pocos en el área veterinaria a nivel mundial y muchos menos en el campo Mexicano.

La Inulina está presente como carbohidrato estructural y de reserva en más de treinta y seis mil plantas (ajo, plátano, cebolla, alcahofa, avena, espárrago, achicoria, etc.) como depósito de energía, de las cuales la raíz de la achicoria (*Cichorium intybus*) posee el mayor porcentaje en su estructura (15% – 20%). Este producto es considerado como prebiótico oligosacárido perteneciente al grupo de los fructanos.²⁰

La inulina está formada por cadenas lineales de moléculas de fructosa unidas por enlaces β 2-1, con una longitud de hasta 60 unidades, que acaban en una molécula de glucosa.²¹

Estructura química de la inulina



Donde n (2-60)

Hussein, et al 1998.

Específicamente las bifidobacterias se benefician incrementando su número y se ha publicado que el de bacterias menos deseables o patógenas como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Fusobacterium* ssp y *Clostridium* spp se disminuye, por ende también la cantidad de sustancias o metabolitos con efectos inflamatorios y cancerogénicos producidas por bacterias de este tipo.^{16, 19, 20, 22, 23}

Además incrementa la absorción de nutrientes esenciales como agua, electrolitos, minerales como el calcio y también vitaminas del complejo B, debido a que una ecología sana induce la salud del epitelio en la constitución de superficie de absorción.^{22, 23, 24}

El calcio es un mineral que juega un papel central en el mantenimiento de la homeostasis de los animales vertebrados, incluyendo la contracción muscular, la coagulación sanguínea, actividad enzimática, excitabilidad neuronal y adhesión celular, además de ser un componente estructural en la conformación del esqueleto. El calcio de la dieta es absorbido principalmente en el intestino delgado, en duodeno. El calcio a nivel sérico representa solamente el 0.1% del calcio existente en todo el cuerpo, la cantidad del calcio presente está regulada por diferentes hormonas: hormona paratiroidea, calcitonina y vitamina D principalmente; corticosteroides adrenales, estrógenos, tiroxina, somatotropina, glucagon y proteína relacionada con la hormona paratiroidea en solo ciertas condiciones. La interacción de estas hormonas permite el mantenimiento de niveles adecuados de calcio en la sangre que en su momento se incorpora de la dieta o de las reservas en los huesos.²⁵

Coudray en el 2005, realizó un estudio en ratas con duración de 3 semanas administrando inulina, donde por medio de isótopos mide la absorción intestinal de calcio y magnesio en relación al consumo de inulina en la dieta en jóvenes y adultos, los grupos con inulina incrementaron la absorción de estos minerales siendo el calcio mayormente absorbido que el magnesio, los individuos jóvenes absorbieron más minerales que los adultos.²⁶

La inulina representa una alternativa en el uso de fibra dentro de la dieta con propiedades organolépticas muy particulares, entre las que se encuentran su alta capacidad higroscópica por lo que es soluble al agua y diversos líquidos, su sabor dulce solamente es percibido en forma pura, esto aunado su baja viscosidad permite que los cambios en el sabor de los alimentos o bebidas donde se adiciona, sean mínimos o nulos.^{23, 27}

El proceso de fermentación en colon es fundamental para el mantenimiento y desarrollo de la flora bacteriana, así como de células epiteliales, con lo que la fibra en la dieta se confirma como indispensable para la salud. Se han comprobado efectos benéficos en la inmunidad local del intestino, involucrando tanto la de tipo humoral como la celular, mediante el uso de prebióticos.^{28, 29}

La fermentación colónica de la inulina da lugar a la formación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC): Acetato, Propionato y Butirato, estos representan el sustrato energético fundamental del colonocito, contribuyen en un 80% a los requerimientos de los enterocitos. Una vez absorbidos son metabolizados por el epitelio intestinal, 90% del butirato y 10 a 15 % del propionato son metabolizados por la mucosa intestinal. Estos AGCC estimulan la absorción de agua y sodio, y potencian la absorción de cationes divalentes. El Butirato tiene mayor efecto trófico sobre la mucosa (aporte de energía, aumento flujo sanguíneo e incremento de secreción pancreática). A nivel sistémico el remanente del propionato y el acetato llegan a hígado, el propionato es utilizado para la gluconeogénesis, el acetato es metabolizado dando lugar a glutamina y cuerpos cetónicos: acetoacetato y β hidroxibutirato.^{6, 30}

La presencia de AGCC propicia también la estimulación selectiva del crecimiento y actividad de ciertas bacterias, como las bifidobacterias y los lactobacilos, las cuales a su vez producen diversas enzimas, metabolitos y otros productos de la digestión o fermentación bacteriana como vitaminas del complejo B, vitamina K, favoreciendo la disminución del pH luminal al formar

ácidos acético y láctico. Además convierten amoniaco (NH_3) en amonio (NH_4), reduciendo su toxicidad hepática.^{17, 30}

Flickinger y colaboradores en el 2003 mencionan una disminución del amonio fecal al adicionar una dieta de inulina hidrolizada de 1.9 g/día/perro.

El propionato disminuye la síntesis hepática de colesterol, por inhibición de la actividad de hidroximetil glutaril coenzima A reductasa. Reduce la secreción de ácidos biliares, por lo tanto de colesterol plasmático, y junto con el acetato, disminuyen la glucemia posprandial y la respuesta insulínica. Por todo esto la inulina se recomienda en pacientes diabéticos. Niness, en una revisión publicada en 1999, reporta que en Persia se usó la inulina desde el año 1905 en altas dosis (40 - 100 g/día) en humanos con diabetes.³²

El ácido butírico por su parte, inhibe la producción de algunas citocinas proinflamatorias (TNF), modulando la actividad del factor de transcripción NF- κ B. Regula la expresión de genes implicados en la proliferación y diferenciación del colonocito (cáncer de colon).³⁰

Mientras que la mayoría de los tipos de fibra disminuyen la biodisponibilidad de minerales de la dieta, la inulina aumenta la biodisponibilidad de calcio, magnesio, zinc y hierro. El calcio en circunstancias normales solo la tercera parte de lo ingerido es absorbido en el tracto gastrointestinal, ya que se encuentra en forma de sales insolubles que pasan a solubilizarse en un medio de pH bajo y en estas condiciones puede absorberse, mejorando la biodisponibilidad del calcio aumentando la densidad mineral y la masa ósea.³³

La similitud entre los oligosacaridos como la inulina y la oligofruktosa con los carbohidratos superficiales del epitelio intestinal llevan a algunas bacterias patógenas a que interaccionen con los oligosacaridos, impidiendo o disminuyendo la fijación de estas bacterias en el epitelio intestinal.^{23, 27, 31}

Algunos prebióticos se han utilizado como sustitutos del uso de antibióticos y como promotores de crecimiento en animales de producción, como el pollo de engorda.¹⁶

La inulina provoca una disminución de intolerancias (lactosa, proteínas) y reducción de alergias al procurar la estabilidad de la barrera intestinal.²⁹

Por lo tanto la resección de la válvula ileocecal implica un riesgo mayor, al ser un factor de complicación en el proceso de recuperación del paciente quirúrgico, se cita inclusive que la resección de ésta favorece la esteatorrea indicativo de una mala absorción. La migración de poblaciones bacterianas de intestino grueso a delgado y viceversa está presente, aumentando el riesgo a patologías similares a la enfermedad de Crohn o intestino irritable.

Considerando los estudios que se han realizado en el área de alimentos funcionales, la inulina podría beneficiar la recuperación del epitelio intestinal y que los problemas pronosticados en la resección de la válvula ileocecal disminuyan.

HIPÓTESIS

El uso de inulina en la dieta disminuye el daño inducido por el reflujo coloileal en los perros con resección de válvula ileocecal.

OBJETIVO

Evaluar el efecto de la inulina en la integridad intestinal y en la mejoría clínica en un modelo de reflujo coloileal en perros con resección de la válvula ileocecal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Medir el largo de las vellosidades intestinales de intestino delgado distal (ileon) y el epitelio del intestino grueso proximal (colon).
- Evaluar el estado de salud a través de examen físico completo; peso, temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, tiempo de llenado capilar, mucosas, linfonodos, campos pulmonares, palpación abdominal, reflejos tusígeno, deglutorio, patelar y Hemograma.
- Evaluar el aprovechamiento de la inulina por la biota intestinal a través del análisis de heces fecales por método enzimático.
- Evaluar niveles de calcio sérico a través de química sanguínea.

MATERIAL Y MÉTODOS

El proyecto se realizó en las instalaciones del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INNCMSZ) y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM

El proyecto fue aprobado por el Comité de Investigación en Animales del INCMNSZ. Con número de registro CINVA No. 204.

Tamaño de la muestra

Se trabajó con 7 perros por grupo (n=7)*

En total se utilizaron 6 perros de raza Beagle y 8 perros criollos, obtenidos de madres criadas en el Bioterio del INNCMSZ.

Fueron identificados con un número colocando un collar.

Los perros fueron designados a cada grupo experimental al que pertenecerían, mediante una asignación aleatoria simple, los grupos se denominaron, grupo A y grupo B.

El experimento fue doble ciego.

* Con una probabilidad a priori de cambio de 0.5, con 7 de 7 animales que presenten este cambio se alcanza un nivel de significancia < 0.05 (distribución binomial).

Los criterios utilizados para la asignación de los dos grupos A y B fueron los siguientes:

Criterios de inclusión

Especie: Perro doméstico

Raza: Beagle y criollo

Sexo: machos y hembras

Edad: 2 meses

Estado físico: Sano,

FC 100-140/min.

FR 10-40/min.

T° 38-39.5 °C

TLLC 1-2 seg.

Mucosas rosadas y húmedas.

Hemograma dentro de los rangos de los valores de referencia.

Niveles de calcio dentro de los valores de referencia

* (2.17 - 2.94 mmol/L)

Criterios de exclusión

Cualquier enfermedad previa al estudio, evaluada por signos clínicos.

Se excluyeron 4 perros criollo, debido a presencia de enfermedad respiratoria y dermatitis.

Criterios de eliminación

Presencia de cualquier enfermedad, evaluada por signos clínicos.

*Valores de referencia del Laboratorio de Patología Clínica FMVZ - UNAM 2006.

Los grupos quedaron de la siguiente manera:

Grupo A	Grupo B
1(C)	3 (C)
8(B)	5(C)
12 (B)	7 (C)
16 (C)	9 (B)
17(C)	11 (B)
18 (C)	13 (B)
19 (C)	14 (B)

C = Criollo; B = Beagle

Mediciones fisiológicas

El examen físico completo fue registrado, al momento de la inclusión al estudio, en el prequirúrgico, durante la cirugía y la recuperación anestésica.

La temperatura fue registrada, al momento de la inclusión al estudio, al examen físico prequirúrgico, durante la cirugía y la recuperación anestésica. Posterior a la cirugía se monitoreó por 10 días.

Peso corporal

Semanalmente se pesaron desde el momento de la inclusión al experimento hasta el final, se pesaron en una báscula digital. El registro de peso sirvió como un indicador indirecto para evaluar la salud intestinal y del individuo.

Alimentación

Fueron alimentados desde el destete hasta el final del experimento con alimento balanceado (Pedigree puppy®) en comederos de acero inoxidable tres veces al día (NOM 062-ZOO-1999), de acuerdo a las necesidades fisiológicas por talla y edad.³⁴

La inulina (Raftifeed® IPS) fue administrada vía oral a dosis de 1 g por día a cada perro, disuelta en 5 ml de agua.

Las soluciones administradas a los grupos A y B, fueron preparadas por personal ajeno al experimento, una contenía agua potable con inulina y otra solo agua potable. Las cuales fueron administradas con jeringa hipodérmica directamente en el hocico del perro (Figura 3).

Los frascos que contenían las soluciones, así como la jeringa, estaban forrados para evitar ver el contenido y lograr el doble ciego del experimento.

Agua

El agua ofrecida fue potable, ad libitum en bebederos de acero inoxidable.

Maniobras conductuales: procedimientos de habituación para el manejo

El uso de animales de laboratorio dentro del proceso experimental es hasta ahora inevitable debido a que los resultados obtenidos en pruebas con animales constituyen la apreciación más aproximada con que se cuenta, en la inmensa mayoría de los casos, para determinar el posible impacto de una sustancia candidata para el uso humano o en la misma especie.^{35, 36}

Es por esto que se debe prestar especial atención al bienestar animal durante el proceso experimental, el dolor se agrava frente situaciones de estrés y de incomodidad, con seguridad después de una intervención quirúrgica, por lo que es importante que el perro disfrute de un entorno agradable y de unos cuidados postoperatorios óptimos, siendo básico mantener a los perros en un ambiente cálido y tranquilo, bajo una luz tenue, limpios y cubriendo sus requerimientos nutricionales.^{35, 36}

La introducción en la jaula de experimentación de medios de enriquecimiento (elemento familiar como un muñeco o un juguete), ayudará a disminuir la ansiedad resultante de un ambiente desconocido lo que será beneficioso para el animal de experimentación. Resulta también importante, en lo posible dirigirse a los animales de forma suave, cariñosa y acariciarlos.^{35, 36}

Al destete al mes de edad, se les mantuvo por 7 días la cama con sábana a la cual estaban acostumbrados desde su nacimiento. Posteriormente y junto con el retiro de la cama se introdujo a las jaulas juguetes, botellas de plástico, para distracción de los perros. Diariamente se les sacaba de las jaulas por lo menos 1h al área común, donde tenían espacio para jugar, correr y socializar (Figura 4).

A todos los animales se les dio un periodo de adaptación al alimento de 15 días posterior al destete, tiempo en el cual se les realizó un coproparasitoscópico para determinar el desparasitante a usar. Se desparasitaron al mes 15 días de edad con Endogard® 2,5 Kg (Febantel 37.5 mg, Pirantel 36.0 mg, Praziquantel 12.5 mg, Ivermectina 0.015 mg, excipiente c.b.p. 225.0 mg), se repitió la dosis 15 días (2 meses de edad) y 30 días después (2 meses 15 días de edad). Se realizó nuevamente un coproparasitoscópico resultando negativo.

Al mes 20 días de edad se vacunaron contra moquillo, hepatitis infecciosa, *adenovirus*, *parvovirus* y *Leptospira* aplicando el refuerzo a los 15 días.

Se comenzó a administrar la inulina al grupo experimental a los 2 meses de edad y se tomaron las primeras muestras basales de heces y sangre.

La inulina fue administrada desde los 2 meses de edad hasta fin del experimento, no se suspendió nunca.

Protocolo seguido para la cirugía

El procedimiento quirúrgico se llevó cabo en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Coordinación de Enseñanza Quirúrgica del Departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia para Pequeñas Especies de la UNAM.

Elaboración de un molde de reflujo coloileal para la evaluación de la inulina en beneficio de la recuperación intestinal y clínica posquirúrgica en perros.

La cirugía fue realizada a los 4 meses 15 días de edad.

Manejo Prequirúrgico

Cada individuo fue sometido al siguiente procedimiento:

Baño un día antes de la cirugía.

Ayuno de 12 h de alimento y 6 h de agua.

El día de la cirugía fue pesado y se le realizó un examen físico general.

Se realizó un Hemograma.

Administración de terapia de líquidos, solución Hartmann, en vena cefálica con catéter número 24.

Se rasuró desde apófisis xifoides hasta sínfisis púbica y se realizó la asepsia de la zona operatoria.

Se calcularon las dosis de los fármacos. El protocolo anestésico que se administró fue el siguiente:

- Preanestésico tranquilizante Acepromacina (Calmivet ®) a dosis de 0.05 mg/kg de peso IM.
- Anestésico Pentobarbital sódico (Anestosal ®) a dosis de 25 mg/kg de peso IV.
- Analgésico Piroxicam (Feldene® 20mg-1ml) a dosis de 0.25 mg/kg de peso IM.

Una vez anestesiado fue entubado endotraquealmente y conducido al quirófano.

Manejo Transquirúrgico

El perro se colocó sobre la mesa quirúrgica en posición decúbito dorsal.

Se realizó un segundo embrocado con yodo, para iniciar la cirugía.

Se monitorearon las constantes fisiológicas, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y temperatura.

Manejo Posquirúrgico

Una vez terminada la cirugía se colocaron bolsas de agua caliente para evitar hipotermia, se mantuvo con la terapia de líquidos, hasta la recuperación de la conciencia.

Una vez que pasó el periodo anestésico se transportó a los perros al INCMNSZ donde fueron colocados en su jaula, sobre una frazada y se mantuvo en observación por 24h.

Al día siguiente de la cirugía, se les ofreció alimento húmedo por 8 días y posteriormente se fue combinando con alimento seco.

La administración de los tratamientos A y B no se interrumpieron.

Técnica quirúrgica

Todos los principios básicos de la cirugía fueron respetados, antes, durante y posterior a la intervención quirúrgica.³⁷

Resección de la válvula ileocecal con anastomosis ileocólica.

1. Abordaje al abdomen mediante celiotomía media ventral.
2. Localizar la válvula ileocecal. Figura 5.
3. Aislar la cavidad abdominal e intestino mediante compresas quirúrgicas húmedas.
4. Disecar las arteria ileales, arterias ileocólicas y rama ileal antimesentérica (Figura 6, figura 7 y figura 8).
5. Hacer dobles ligaduras cercanas al intestino en los siguientes vasos sanguíneos: arterias ileocólicas, arterias ileales y rama ileal antimesentérica (Figura 9 y figura 10).
6. Oprimir con suavidad la materia fecal hacia proximal y distal del intestino aislado.
7. Colocar clamps intestinales de Doyen para ocluir el lumen en ambos extremos a una distancia de 4 a 6 cm del sitio de incisión, con el fin de reducir la posible contaminación fecal.
8. Colocar otro par de clamps de Doyen en ileon y colon extremos del segmento intestinal a cortar (Figura 11).
9. Cortar a través del colon empleando bisturí por fuera de la pinza compresiva, hacer lo mismo del lado del ileon (Figura 12).
10. Eliminar el contenido intestinal de los bordes incididos con gasas humedecidas. Recortar la mucosa evertida con tijera de Metzenbaum antes de comenzar con la anastomosis.

11. Anastomosis: Reafrontar los extremos intestinales con polidioxanona (PDSII®) 3-0 con aguja atraumática. Colocar puntos interrumpidos simples a través de todas las capas de la pared con los nudos en situación extraluminal. Empezar con una sutura en el borde antimesentérico (Figura 13) y otra en el borde mesentérico (Figura 14), posteriormente colocar los puntos de sutura con una separación de 2-3 mm.
12. Evaluar la presencia de derrames mediante la distensión moderada del lumen con solución salina y aplicación de presión digital delicada (Figura 15).
13. Colocar suturas adicionales en el sitio si se produce el derrame.
14. Suturar el mesenterio con puntos simples interrumpidos con material polidioxanona (PDSII®) 3-0 (Figura 16).
15. Retirar las compresas, y cambiar los guantes e instrumental.
16. Envolver el sitio anastomosado con omento.
17. Suturar cavidad abdominal, sutura polidioxanona (PDSII®) 2-0; línea alba con surgete simple, refuerzos con patrón en "X", subdérmico con surgete simple y piel con nylon 2-0 con puntos separados simples.

Obtención de las muestras

Heces para análisis enzimático de inulina: fueron recolectadas al mes 15 días de edad (basal), a los 4 meses 15 días de edad (pre cirugía), 4 meses 21 días de edad (posterior a la cirugía) y a los 5 meses 15 días de edad (sacrificio).

Se colectaron directamente del piso de la jaula, en botes de plástico identificados con número de perro y fecha, inmediatamente se colocaron en una hielera con refrigerantes para su posterior congelación a temperatura de - 4°C hasta el día de su procesamiento en laboratorio.

Sangre para determinación de calcio: fueron recolectadas al mes 15 días de edad (basal), 2 meses, 3 meses, día de la cirugía y en el día del sacrificio.

Se muestreó de la vena cefálica, 2 ml de sangre en vacutainer sin anticoagulante, posteriormente se mantuvo en refrigeración para transporte y remisión al Laboratorio de Patología Clínica FMVZ - UNAM en un lapso no mayor de 2 horas.

Obtención de tejidos: Durante la cirugía se colectó la válvula ileocecal, porción distal del ileon y proximal del colon al momento del corte quirúrgico y se colocaron en botes de plástico con formalina al 10% buferada.

A la necropsia, (un mes después de haber realizado la cirugía) se colectaron muestras de intestino delgado (ileon) e intestino grueso (colon) cercanos (5 cm) a la anastomosis, y el sitio de anastomosis, todas segmentos intestinales se colocaron en botes de plástico con formalina al 10% buferada, identificados de cada individuo, para su procesamiento histológico y posterior medición del largo de las vellosidades intestinales.

El procedimiento histológico de los segmentos intestinales fue realizado en el laboratorio de diagnóstico patológico veterinario del Bioterio del Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Se realizaron cortes transversales de cada segmento intestinal, teñidas con Hematoxilina Eosina. Se utilizó el analizador de imágenes del Departamento de Patología Experimental del INCMNSZ, observándose con el objetivo 2.5X, para medir el largo de las vellosidades y epitelio intestinal, expresado en micras.

Se midieron 10 vellosidades completas al azar, de la base a la punta, de ileon por perro y 10 mediciones al azar del ancho del epitelio del colon, antes y 1 mes después de la cirugía, de este modo se completaron 70 mediciones por grupo de cada segmento.^{16, 38}

Análisis químico proximal (AQP) del alimento

Se realizó el análisis químico proximal del alimento PEDIGREE® Cachorro en el laboratorio del departamento de Nutrición Animal en el INCMNSZ.

Siguiendo los siguientes métodos:

Oficial Methods of Analisis of AOAC. Internacional 17 th Edition, Revision 2, 2003.

Humedad No. 925.09

Oficial Methods of Analisis of AOAC. Internacional 17 th Edition, Revision 2, 2003.

Cenizas No. 923.03

Oficial Methods of Analisis of AOAC. Internacional 17 th Edition, Revision 2, 2003.

Extracto etéreo No. 920.39 y 963.15

Oficial Methods of Analisis of AOAC. Internacional 17 th Edition, Revision 2, 2003.

Nitrógeno total No. 976.05

Oficial Methods of Analisis of AOAC. Internacional 17 th Edition, Revision 2, 2003.

Fibra cruda

Técnica enzimática para la determinación de inulina en heces fecales.

Esta técnica está basada en el método para determinación de fructanos, Oficial Methods of Analysis of AOAC No.985.29, 1992 ⁽³⁹⁾.

Siguiendo la técnica empleada en el: Fructose Assay Kit, Product Code Fa-20 SIGMA®

Material utilizado

Balanza analítica

Espectrofotometro Beckman DU-70 (340nm)

Potenciometro

Baño metabólico

Tubos de 50 ml con tapa rosca

Micropipetas de 100µl y 2 ml

Matraces aforados de 1L

Matraces aforados de 100 ml

Matrices aforados de 50 ml

Celdas de cuarzo

Reactivos utilizados

KOH 0.05 mol

Ácido clorhídrico 4N

Buffer de acetado de sodio

Fosfoglucosa isomerasa (PGI) 500-800U/mg de 5,000U SIGMA®

Inulinasa SIGMA®

Glucosa hexoquinasa SIGMA®

Fructosa estándar SIGMA®

Preparación de reactivos

KOH 0.05 mol

Número atómico

K = 39

O = 16

H = 1

—————
56 g = 1 mol

56 g – 1 mol

X – 0.05 mol = 2.8 g/ 1L

Para la preparación:

1. pesar 2.8 g de KOH
2. aforar a 1L con agua destilada

ÁCIDO CLORHÍDRICO 4N

Peso molecular = 36.46g

Pureza = 37%

Densidad 1.185 g/ml

36.46 – 1N

X – 4N = 145.84g

145.84g
V = ————— = 123.07173 ml
1.185g/ml

123.0713 ml - 37%
X - 100% = 332.63 ml/L

Para la preparación:

1. medir 332.62 ml de ácido clorhídrico
2. aforar a 1L con agua destilada, debido a la reacción del HCL con el H₂O se debe enfriar el matraz con hielo mientras se hace la mezcla.

BUFFER DE ACETATO DE SODIO

1. medir 2.985 ml de ácido acético
2. agregar 3.98 g de acetato de sodio anhidro
3. aforar a 1L con agua estilada

DILUCIÓN DE PGI

1. medir 0.108 ml de PGI
2. agregar 0.895 ml de agua destilada

La técnica consiste, en que la fructosa es fosforilada por adenosin trifosfato (ATP) en la reacción catalizada por hexoquinasa. La fructosa 6-fosfato es convertida en glucosa 6-fosfato por la fosfoglucosa isomerasa (PGI). La glucosa 6-fosfato (G6P) después es oxidada a 6-fosfogluconato en la presencia de nicotinamida adenin dinucleotido (NAD) en la reacción catalizada por glucosa 6-fosfato dehidrogenasa (G6PDH). Durante esta oxidación, una cantidad equimolar de NAD es reducida a NADH. El consecuente incremento en la absorbancia a 340nm es directamente proporcional a la concentración de fructosa.

La técnica para la determinación de inulina en heces fue montada y estandarizada en el laboratorio del departamento de Nutrición Animal en el INCMNSZ.

DIAGRAMA DE FLUJO DEL MÉTODO ENZIMÁTICO PARA DETERMINACIÓN DE FRUCTANOS

Homogenizar la muestra (1g)

EXTRACCIÓN



Agregar 40 ml de agua hirviendo
Ajustar el pH 6.5 a 8, agregando KOH 0.05 mol ó
HCL 4N
Agitar suave durante 10 min a $85^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
Enfriar a temperatura ambiente



Aforar a 100 ml
Medir fructosa con espectrofotometro (1)

HIDRÓLISIS



Tomar 15 ml
Ajustar el pH 4.5 ± 0.05 , agregando KOH 0.05 mol ó HCL 4N
Agregar 15 ml de buffer de acetato de sodio
Agregar enzima inulinasa 20 μ l
Agitar constantemente por 30 min a $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
Enfriar a temperatura ambiente



Aforar a 50 ml
Medir fructosa con espectrofotometro (2)

Técnica de sacrificio

Los perros se mantuvieron por un periodo posoperatorio de 4 semanas, en condiciones de bienestar, para su posterior sacrificio.

El método de sacrificio que se utilizó fue sobredosificación con Pentobarbital sódico (Dolethal® 20 g-1ml) a dosis de 65 mg/kg IV, previa tranquilización con Acepromacina (Calmivet ®) a dosis de 1 mg/kg.

Esta técnica está aprobada por la norma oficial mexicana NOM 062-ZOO-1999, en la cual no hay sufrimiento provocado al animal.^{34, 40}

Disposición de los cadáveres

Se dispusieron de acuerdo a la NOM-087-ECOL-1995 donde el párrafo 4. 4.3.3 dice; los cadáveres de pequeñas especies, animales provenientes de clínicas veterinarias, centros antirrábicos o los utilizados en los centros de investigación. Los cadáveres, fueron dispuestos en bolsas de plástico transparente y colocados como residuos biológicos estatales.⁴¹

Análisis estadístico propuesto

Las varianzas nominales se resumieron en términos de frecuencias, las variables cuantitativas se resumieron en términos percentivas. Las comparaciones pre y poscirugía se hicieron mediante la distribución probabilística binomial y la prueba de Kruscal-Wallis, respectivamente. Las comparaciones de los grupos experimental y testigo se hicieron mediante prueba Kruscal-Wallis y t de Student. Un valor de $P < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo.⁴²

RESULTADOS

Al final de la evaluación de los resultados obtenidos se descubrió el tratamiento al cual pertenecía cada grupo, resultando el grupo A; 7 individuos con resección de válvula ileocecal (RVI) sin administración de inulina y grupo B; 7 individuos con RVI con administración de inulina 1 g/día.

Cirugía

Durante el proceso quirúrgico no se presentó ningún problema, ni en lo concerniente a la técnica quirúrgica ni en el proceso anestésico, manteniéndose las constantes fisiológicas dentro de los rangos normales establecidos para la edad de los perros.

La recuperación anestésica se llevo a cabo en un promedio de 5 horas en ambos grupos.

Constantes fisiológicas

La frecuencia cardiaca y respiratoria monitoreada a lo largo de todo el experimento no reflejó una variación entre los dos grupos, los valores registrados estuvieron dentro de los valores normales.

El registro de temperatura corporal monitoreada por 10 días posteriores a la cirugía, presentó una diferencia numérica, siendo en promedio menor en el grupo B (inulina) en relación con el grupo A (testigo), estando ambos grupos dentro de los rangos normales, tal como se muestra en la gráfica de temperatura de recuperación posquirúrgica (Figura 17).

Peso

Los pesos por grupo fueron evaluados en kg de ganancia de peso semanal (Cuadro 1, Figura 18), y se agruparon por tratamiento (Cuadro 2) y por tratamiento y raza (Cuadro 3) también fueron expresados en base 10 log, para

determinar el incremento porcentual de cada perro, por grupo (Cuadro 4, Figura 19) y por grupo y raza (Cuadro 5 y Figura 20). Los pesos reflejan una mayor ganancia en los del grupo B (inulina), en el análisis de varianza practicado no se encontró diferencia estadística significativa entre los grupos inulina y testigo ($p>0.05$).

Calcio

La determinación de calcio sérico presentó diferencias numéricas entre los grupos inulina y testigo, siendo mayor en los tratados con inulina (Cuadro 6, Figura 21, Figura 22), las cuales no fueron estadísticamente significativas ($P>0.05$).

Análisis enzimático

El método enzimático montado para la determinación del aprovechamiento de la inulina por la biota intestinal resultó, reproducible, sensible, rápido, y por lo tanto ideal para el análisis de fructosa.

La curva estándar para la evaluación del método resultó con un coeficiente de correlación confiable para la determinación; $R^2 = 0.9992$ (Cuadro 7).

Los resultados reflejan el aprovechamiento prácticamente en su totalidad de la Inulina en los individuos del grupo inulina B, a lo largo de los diferentes tiempos de muestreo (Cuadros 8, 9, 10 y 11).

AQP

Al comparar los resultados obtenidos en el análisis químico proximal del alimento con los datos que informa el fabricante, se encontró que concuerdan con el AQP realizado.

Mediciones histológicas

El análisis estadístico (Figura 23, Figura 24) indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos en vellosidades a nivel de ileon, encontrando que los individuos tratados con inulina poseen vellosidades más grandes en comparación con los testigos, antes y después de la cirugía, lo anterior demostrado en las pruebas t de Student ($P < 0.01$) y en la prueba de Kruscal-Wallis ($P < 0.0001$).

El análisis estadístico (Figura 25, Figura 26) indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos a nivel de colon, ni antes ni después de la cirugía, lo anterior demostrado en la prueba t de Student ($P > 0.05$), suficiente para no realizar el análisis estadístico de la prueba de Kruscal-Wallis.

DISCUSIÓN

Con respecto al monitoreo de temperatura corporal y valoración clínica, no se observó ningún signo asociado a proceso infeccioso, a pesar de no haber utilizado antibioterapia, pre, trans y posquirúrgica, tal y como lo recomienda la literatura en cirugías gastrointestinales.³⁷ En las cirugías realizadas en ambos grupos se confirmó que es posible evitar infecciones atribuidas a la cirugía sin el uso de antibióticos, siempre y cuando se realice la técnica de forma aséptica.

Los pesos muestran una tendencia mayor en el grupo con inulina, si bien no es estadísticamente significativa ($P>0.05$), esto quizá se deba a la dosis utilizada en el grupo experimental de 1 g/día por perro, pudiendo ser incrementada a 2 g/día por perro (Flickinger et al, 2003). He et al, en 2000 emplea inulina en agua de bebida en cerdos, obteniendo una ganancia de peso mayor en el grupo tratado con inulina, esto concuerda con lo encontrado en este trabajo.

En cuanto a la determinación de calcio sérico y la diferencia entre los grupos el de inulina fue mayor y el testigo menor, aunque estadísticamente no fue significativa ($P>0.05$), clínicamente son importantes ya que reflejan una mayor cantidad de calcio en sangre, muy probablemente proveniente de lo absorbido en intestino, tal como lo reportan Beynen y colaboradores en 2002, en su trabajo sobre absorción de calcio en perros tratados con inulina y en la revisión de Greger sobre biodisponibilidad mineral e inulina en 1999.

La absorción de calcio y la ganancia de peso observado, siendo mayor en los individuos con inulina que los testigos, puede deberse al largo mayor de vellosidades en intestino delgado, ya que es en esta superficie es donde se lleva a cabo la absorción de nutrientes. Una mayor cantidad de calcio sérico en individuos tratados con inulina también ha sido publicada por otros autores, tal como lo describe Coudray y colaboradores en el 2005, en su estudio con ratas,

así como Husein et al 1999, Greger en 1999 y Beynen et al 2002.

El largo de las vellosidades esta relacionado con que el epitelio intestinal conforme una simbiosis con la microbiota del lumen (Tomomatsu 1994, Roberfroid 1998, McCracken and Lorenz 2001 y Xu et al 2003), esta última provee al enterocito de ácidos grasos volátiles, los cuales son necesarios como sustrato energético tal como lo menciona Friedel y Levine 1992, en su artículo sobre efectos de los AGVs en la función y estructura de las células entéricas. (Xu et al 2003) Esto explica el porque un prebiótico como la inulina al estimular el crecimiento de la microbiota benéfica (Tomomatsu 1994, Saito 1992, Beynen 2002), como por ejemplo las bifidobacterias, beneficia en una mejor conformación y un largo mayor de las vellosidades, además de mejorar la recuperación de las mismas ante circunstancias patógenas (Schiffrin y Blum 2002, Xu et al 2003 y Rastall 2004) o como en el presente caso fue comprobado, ante la cirugía intestinal.

La dosis ofrecida de 1g/día desde el mes de edad, posiblemente pueda incrementarse hasta 2g/día, lo anterior quizá ofrezca un beneficio mayor, y en el caso una mayor diferencia con individuos que no reciban este tratamiento (Flickinger et al 2003), aunque Propst y colaboradores en el 2003 hacen la observación en su experimento en perros con dosis de inulina que van de 1.9 g/día hasta 5.6 g/día (sin efectos adversos), no encontraron diferencia en las dosis utilizadas, con respecto a la digestibilidad de nutrientes, entre otros proteína.

Como es sabido, una población o microbiota bacteriana a nivel intestinal es de alguna manera promovida y diversificada según los alimentos o (en este caso) prebióticos que se ofrezcan de manera constante en la dieta (Rastall 2004 y Meier et al 2003). Lo anterior puede ser importante en la decisión del momento de la prescripción de prebióticos (Meier et al 2003), ya que la estimulación temprana de

manera selectiva de la microbiota pudiese representar una respuesta diferente a lo observado en el presente trabajo, esto, quizá no se hubiese encontrado el mismo tamaño de vellosidades si la administración de la inulina fuese después de la cirugía practicada.

CONCLUSIONES

La dosis y el periodo de prescripción de inulina utilizados fueron suficientes para lograr una diferencia estadística en el largo de las vellosidades de ileon en comparación con perros no tratados ($P < 0.0001$).

La inulina es un prebiótico que estimula el crecimiento de las vellosidades intestinales.

El administrarlo en perros sanos provee una mayor posibilidad en mejorar el crecimiento corporal y absorción de calcio.

Se puede prescribir antes y después en casos de cirugía intestinal, lo que mejora la recuperación del epitelio y las vellosidades intestinales, esta recuperación del epitelio es fundamental para la absorción de nutrientes y por ende en estos casos, la recuperación del paciente.

CUADROS

Cuadro 1. Pesos semanales (Kg)

Individuo	Grupo	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem	sem
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	T	1.70	2.20	2.85	3.60	4.60	5.70	6.75	7.25	8.40	9.00	10.10	10.90	11.20	12.50	13.30	16.00	17.05	18.40	19.80
8	T	1.55	2.05	2.20	2.45	3.10	3.30	3.55	3.90	4.40	4.60	5.10	5.40	5.60	6.10	6.20	6.00	6.70	6.85	7.15
12	T	1.90	2.40	2.85	3.60	4.15	4.55	5.00	5.50	5.85	6.00	6.85	7.10	7.20	7.40	7.30	7.50	8.00	8.50	8.40
16	T	1.45	1.70	1.95	2.20	2.70	3.30	3.70	4.10	4.60	5.50	6.30	7.35	8.00	9.20	10.20	9.95	11.70	13.50	15.10
17	T	1.75	2.70	3.55	4.50	5.00	6.25	6.20	7.10	7.80	9.30	10.15	10.15	12.50	13.60	15.50	15.00	15.40	18.30	19.30
18	T	1.80	2.35	2.55	3.30	4.10	5.10	5.35	6.15	6.80	8.10	9.10	9.95	11.65	12.50	13.60	13.00	14.20	15.50	16.50
19	T	1.80	2.35	2.50	3.10	3.60	4.30	4.30	4.55	4.90	5.60	6.20	6.60	7.80	9.10	10.40	10.20	11.00	13.40	14.70
3	I	1.20	1.70	2.00	2.70	3.65	4.40	4.80	5.80	6.60	7.60	8.50	9.50	10.10	11.60	12.60	12.20	12.40	14.05	15.70
5	I	1.70	2.20	2.65	3.30	4.30	5.20	6.00	7.30	8.30	9.10	9.90	10.80	11.30	12.90	13.66	14.10	14.90	15.70	17.00
7	I	1.60	2.10	2.60	3.45	4.80	5.85	7.00	8.15	9.80	10.10	11.50	12.90	13.50	15.60	16.20	14.40	12.90	13.20	15.30
9	I	1.70	2.20	2.30	2.50	3.15	3.50	3.95	5.00	5.00	5.40	5.90	6.30	6.70	7.15	7.70	7.30	7.90	8.25	8.75
11	I	1.70	2.20	2.10	2.75	3.40	4.20	4.50	4.85	5.20	5.60	6.30	6.70	6.80	7.30	7.50	7.80	7.90	8.35	9.00
13	I	1.95	2.35	2.15	2.25	2.50	3.05	3.70	3.90	4.50	4.65	5.75	6.40	6.70	7.00	7.50	7.70	8.30	8.90	9.90
14	I	1.40	1.65	1.60	2.60	3.10	3.80	4.10	4.30	4.85	5.05	6.05	6.50	6.90	7.20	7.05	7.20	7.50	8.00	8.00

T = Testigo; I = Inulina

Cuadro 2. Pesos promedio por grupo

semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Testigo	1.71	2.25	2.64	3.25	3.89	4.64	4.98	5.51	6.11	6.87	7.69	8.21	9.14	10.06	10.93	11.09	12.01	13.49	14.42
Inulina	1.61	2.06	2.20	2.79	3.56	4.29	4.86	5.61	6.32	6.79	7.70	8.44	8.86	9.82	10.32	10.10	10.26	10.92	11.95

Cuadro 3. Pesos promedio por grupo y raza

semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
T Beagle	1.73	2.23	2.53	3.03	3.63	3.93	4.28	4.70	5.13	5.30	5.98	6.25	6.40	6.75	6.75	6.75	7.35	7.68	7.78
T Criollo	1.70	2.26	2.68	3.34	4.00	4.93	5.26	5.83	6.50	7.50	8.37	8.99	10.23	11.38	12.60	12.83	13.87	15.82	17.08
I Beagle	1.69	2.10	2.04	2.53	3.04	3.64	4.06	4.51	4.89	5.18	6.00	6.48	6.78	7.16	7.44	7.50	7.90	8.38	8.91
I Criollo	1.50	2.00	2.42	3.15	4.25	5.15	5.93	7.08	8.23	8.93	9.97	11.07	11.63	13.37	14.15	13.57	13.40	14.32	16.00

T = Testigo; I = Inulina

Cuadro 4. Pesos semanales expresados en log base 10, promedio por grupo

Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Testigo	0.23	0.35	0.41	0.50	0.58	0.66	0.69	0.73	0.77	0.82	0.87	0.90	0.94	0.99	1.02	1.02	1.06	1.11	1.13
Inulina	0.20	0.31	0.34	0.44	0.54	0.62	0.68	0.74	0.78	0.81	0.87	0.91	0.93	0.97	0.99	0.98	1.00	1.02	1.06

Cuadro 5. Pesos semanales expresados en log base 10, promedio por grupo y raza

Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
T Beagle	0.23	0.35	0.40	0.47	0.55	0.59	0.62	0.67	0.71	0.72	0.77	0.79	0.80	0.83	0.83	0.83	0.86	0.88	0.89
T Criollo	0.23	0.35	0.42	0.51	0.59	0.68	0.71	0.75	0.80	0.86	0.91	0.95	1.00	1.05	1.09	1.10	1.14	1.20	1.23
I Beagle	0.22	0.32	0.31	0.40	0.48	0.56	0.61	0.65	0.69	0.71	0.78	0.81	0.83	0.86	0.87	0.87	0.90	0.92	0.95
I Criollo	0.17	0.30	0.38	0.50	0.63	0.71	0.77	0.85	0.91	0.95	1.00	1.04	1.06	1.12	1.15	1.13	1.13	1.15	1.20

T = Testigo; I = Inulina

Cuadro 6. Niveles de calcio sanguíneo (mmol/L)

TESTIGO	Individuo	1 mes	2 mes	3 mes	4 mes	5 mes	
Criollo	m	1	2.75	2.80	2.67	2.58	2.78
Beagle	h	8	2.53	2.60	2.65	2.51	2.58
Beagle	m	14	2.51	2.63	2.62	2.48	2.50
Criollo	m	16	2.60	2.73	2.43	2.55	2.45
Criollo	m	17	2.79	2.92	2.44	2.63	2.58
Criollo	h	18	2.66	2.73	2.43	2.52	2.53
Criollo	m	19	2.69	2.97	2.40	2.63	2.56
	Prom		2.65	2.77	2.52	2.56	2.57

CON INULINA			1 mes	2 mes	3 mes	4 mes	5 mes
Criollo	m	3	2.33	2.83	2.55	2.66	2.70
Criollo	m	5	2.69	2.76	2.82	2.72	2.88
Criollo	m	7	2.60	2.75	2.81	2.49	2.76
Beagle	m	9	2.92	2.82	2.73	2.68	2.82
Beagle	m	11	2.71	2.71	2.61	2.58	2.71
Beagle	m	13	2.51	2.67	2.71	2.35	2.48
Beagle	m	14	2.51	2.63	2.62	2.48	2.50
	Prom		2.61	2.74	2.69	2.57	2.69

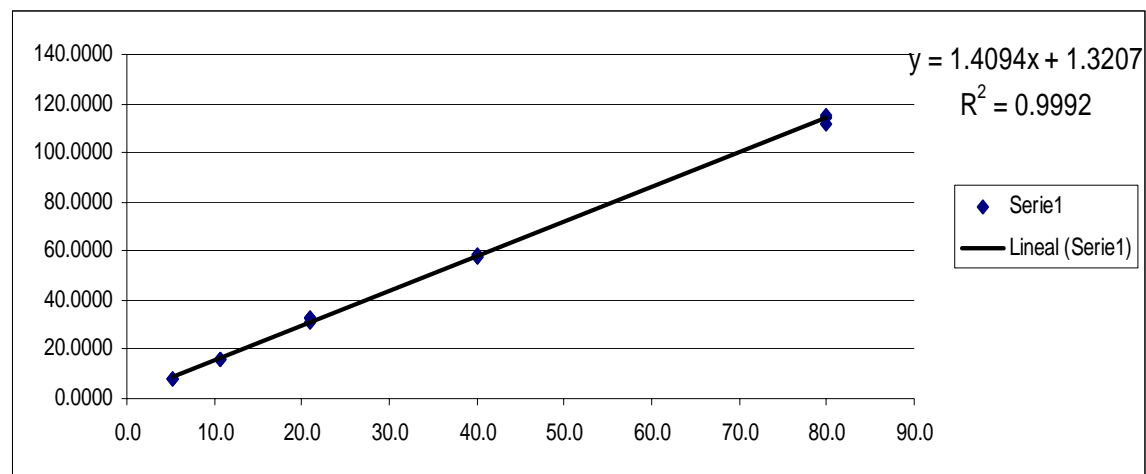
m= macho

h = hembra

Cuadro 7. Curva de estandarización de fructosa.

inulina mg	fructosa mg/100ml
5.3	7.8880
5.3	7.8880
5.3	8.1183
10.7	15.8912
10.7	15.8624
10.7	16.3230
20.9	30.9187
20.9	32.7324
20.9	32.9051
40.0	57.6919
40.0	58.2101
40.0	57.5191
80.0	114.1458
80.0	115.0671
80.0	112.0443

Gráfica y ecuación de la curva de fructosa



La curva corresponde a lo obtenido en la estandarización de la técnica para determinación de fructosa,

Cuadro 8. Primer análisis corresponde a la muestra basal (sin administración de inulina) del grupo inulina.

Clave	Abs 1	Abs 2	%	%		g		mg		mg/fructosa (*dilución)	mg de fructosa	mg inulina muestra
				humedad	Seca	fresca	Seca	Materia en Seca	Materia Abs1 mg fructosa			
I3'	0.7298	0.3141	0.7910	0.2090	1.0268	0.2146	57.9987	18.7509	62.5029	4.5042	2.2588	
I3	0.7531	0.3687	0.7910	0.2090	1.0340	0.2161	60.1985	23.9059	79.6862	19.4877	12.8901	
I5'	0.7132	0.2701	0.7450	0.2550	1.0353	0.2640	56.4314	14.5967	48.6555	-7.7759	-6.4543	
I5	0.7557	0.2984	0.7450	0.2550	1.0388	0.2649	60.4440	17.2686	57.5619	-2.8821	-2.9820	
I7'	0.3788	0.2245	0.7100	0.2900	1.0772	0.3124	24.8594	10.2914	34.3046	9.4452	5.7646	
I7	0.3504	0.2013	0.7100	0.2900	1.0673	0.3095	22.1781	8.1010	27.0033	4.8252	2.4866	
I9'	0.2241	0.1611	0.7500	0.2500	1.0582	0.2646	10.2536	4.3056	14.3518	4.0982	1.9708	
I9	0.1741	0.1288	0.7500	0.2500	1.0221	0.2555	5.5329	1.2560	4.1866	-1.3463	-1.8923	
I11'	0.2124	0.1461	0.6980	0.3020	1.0405	0.3142	9.1490	2.8893	9.6312	0.4822	-0.5950	
I11	0.2781	0.1727	0.6980	0.3020	1.0364	0.3130	15.3520	5.4008	18.0025	2.6505	0.9436	
I13'	0.2262	0.2359	0.8010	0.1990	1.0085	0.2007	10.4519	11.3677	37.8924	27.4405	18.5328	
I13	0.2262	0.2359	0.8010	0.1990	1.0452	0.2080	10.4519	11.3677	37.8924	27.4405	18.5328	
I14'	0.2111	0.1308	0.8120	0.1880	1.0081	0.1895	9.0262	1.4448	4.8161	-4.2102	-3.9243	
I14	0.1949	0.1589	0.8120	0.1880	1.0583	0.1990	7.4967	4.0978	13.6595	6.1627	3.4356	

Claves: I, II, III, IV = Número de muestra. 3, 5, 7, 9, 11, 13, 14 = Número de perro. ' = Duplicado de la muestra

Cuadro 9. Segundo análisis, muestras colectadas al tercer mes de edad, con administración de inulina.

clave	Abs 1	Abs 2	%	%		g		mg		mg/fructosa (*dilución)	mg de fructosa	mg Inulina muestra
				humedad	Materia Seca	muestra fresca	en Materia Seca	Abs1 mg fructosa	Abs2 mg fructosa			
II3'	0.1547	0.1495	0.7422	0.2578	1.0568	0.2724	3.7013	3.2104	10.7012	6.9999	4.0296	
II3	0.2130	0.1929	0.7422	0.2578	1.0236	0.2639	9.2056	7.3079	24.3597	15.1541	9.8152	
II5'	0.1922	0.1413	0.7343	0.2657	1.0414	0.2767	7.2418	2.4362	8.1205	0.8787	-0.3136	
II5	0.1922	0.1408	0.7343	0.2657	1.0362	0.2753	7.2418	2.3890	7.9632	0.7214	-0.4252	
II7'	0.1704	0.1161	0.6691	0.3309	1.0545	0.3489	5.1836	0.0569	0.1898	-4.9938	-4.4803	
II7	0.1791	0.1257	0.6691	0.3309	1.0549	0.3491	6.0050	0.9633	3.2110	-2.7940	-2.9195	
II9'	0.2317	0.1608	0.6942	0.3058	1.0408	0.3183	10.9712	4.2772	14.2574	3.2863	1.3946	
II9	0.2317	0.1595	0.6942	0.3058	1.0083	0.3083	10.9712	4.1545	13.8483	2.8771	1.1044	
II11'	0.2447	0.1171	0.6330	0.3670	1.0157	0.3728	12.1985	0.1513	0.5045	-11.694	-9.2344	
II11	0.2447	0.1724	0.6330	0.3670	1.0275	0.3771	12.1985	5.3724	17.9081	5.7096	3.1140	
II13'	0.2536	0.2509	0.6752	0.3248	1.0493	0.3408	13.0388	12.7839	42.6130	29.5742	20.0468	
II13	0.2330	0.2509	0.6752	0.3248	1.0482	0.3405	11.0939	12.7839	42.6130	31.5191	21.4268	
II14'	0.3361	0.1609	0.6778	0.3222	1.0176	0.3279	20.8280	4.2867	14.2889	-6.5391	-5.5767	
II14	0.2894	0.1517	0.6778	0.3222	1.0279	0.3312	16.4188	3.4181	11.3935	-5.0253	-4.5027	

Cuadro 10. Tercer análisis, muestras colectadas al cuarto mes de edad, previo a la resección de la válvula ileocecal.

clave	Abs 1	Abs 2	%	mg muestra			Abs1 mg fructosa	Abs2 mg fructosa	mg/fructosa (*dilución)	mg de fructosa	mg Inulina muestra
				% humedad	% Materia Seca	g muestra fresca					
III3	0.1904	0.1325	0.6862	0.3138	1.0472	0.3286	7.0719	1.6053	5.3511	-1.7208	-2.1580
III5'	0.1511	0.1262	0.7716	0.2284	1.0296	0.2352	3.3614	1.0105	3.3684	0.0070	-0.9321
III5	0.1924	0.2241	0.7716	0.2284	1.0155	0.2319	7.2607	10.2536	34.1787	26.9180	18.1621
III7'	0.1757	0.2293	0.7291	0.2709	1.0019	0.2714	5.6840	10.7446	35.8153	30.1313	20.4420
III7	0.1625	0.1270	0.7291	0.2709	1.0272	0.2783	4.4377	1.0860	3.6201	-0.8176	-1.5172
III9'	0.2265	0.1345	0.6171	0.3829	1.0637	0.4073	10.4802	1.7941	5.9805	-4.4997	-4.1298
III9	0.2620	0.1721	0.6171	0.3829	1.0642	0.4075	13.8319	5.3441	17.8137	3.9818	1.8881
III11'	0.1515	0.1508	0.6417	0.3583	1.0322	0.3698	3.3992	3.3331	11.1103	7.7111	4.5342
III11	0.3427	0.1566	0.6417	0.3583	1.0324	0.3699	21.4511	3.8807	12.9356	-8.5155	-6.9791
III13'	0.2700	0.1614	0.6862	0.3138	1.0654	0.3343	14.5872	4.3339	14.4463	-0.1410	-1.0371
III13	0.1903	0.1410	0.6862	0.3138	1.0398	0.3263	7.0624	2.4078	8.0261	0.9637	-0.2533
III14'	0.3117	0.2070	0.6419	0.3581	1.0300	0.3688	18.5243	8.6391	28.7972	10.2729	6.3519
III14	0.2465	0.1463	0.6419	0.3581	1.0715	0.3837	12.3685	2.9082	9.6941	-2.6744	-2.8346

Cuadro 11. Cuarto análisis, muestras colectadas al quinto mes de edad, sacrificio.

clave	Abs 1	Abs 2	%	mg muestra			Abs1 mg fructosa	Abs2 mg fructosa	mg/fructosa (*dilución)	mg de fructosa	mg Inulina muestra
				% humedad	% Materia Seca	g muestra fresca					
IV3	0.2861	0.1810	0.6864	0.3136	1.0052	0.3152	16.1073	6.1844	20.6146	4.5073	2.2610
IV5'	0.1783	0.1171	0.8480	0.1520	1.0119	0.1538	5.9295	0.1513	0.5045	-5.4250	-4.7863
IV5	0.1498	0.1468	0.8480	0.1520	1.0057	0.1529	3.2387	2.9554	9.8515	6.6128	3.7549
IV7'	0.1650	0.1425	0.6985	0.3015	1.0086	0.3041	4.6738	2.5495	8.4982	3.8244	1.7765
IV7	0.1650	0.1543	0.6985	0.3015	1.0079	0.3039	4.6738	3.6635	12.2118	7.5380	4.4114
IV9'	0.2824	0.1539	0.6816	0.3184	1.0022	0.3191	15.7579	3.6258	12.0859	-3.6720	-3.5425
IV9	0.2824	0.1560	0.6816	0.3184	1.0084	0.3211	15.7579	3.8240	12.7468	-3.0111	-3.0736
IV11'	0.2853	0.2474	0.7534	0.2466	1.0015	0.2470	16.0317	12.4535	41.5116	25.4798	17.1417
IV11	0.2660	0.2474	0.7534	0.2466	1.1098	0.2737	14.2096	12.4535	41.5116	27.3020	18.4346
IV13'	0.1681	0.1264	0.6873	0.3127	1.0174	0.3181	4.9665	1.0294	3.4313	-1.5351	-2.0263
IV13	0.1681	0.1805	0.6873	0.3127	1.0014	0.3131	4.9665	6.1372	20.4573	15.4908	10.0542
IV14'	0.2162	0.1527	0.7310	0.2690	1.0150	0.2730	9.5078	3.5125	11.7083	2.2005	0.6243
IV14	0.2400	0.1492	0.7310	0.2690	1.0648	0.2864	11.7548	3.1820	10.6068	-1.1480	-1.7516

Cuadro 12. Largo promedio de vellosidades en ileon y epitelio en colon en micras por grupo

	Antes de Cirugía		Después de Cirugía	
	Colon	Ileon	Colon	Ileon
Promedio Testigo	859.17	559.09	760.50	505.23
Promedio Inulina	866.86	1033.32	799.79	707.93

FIGURAS

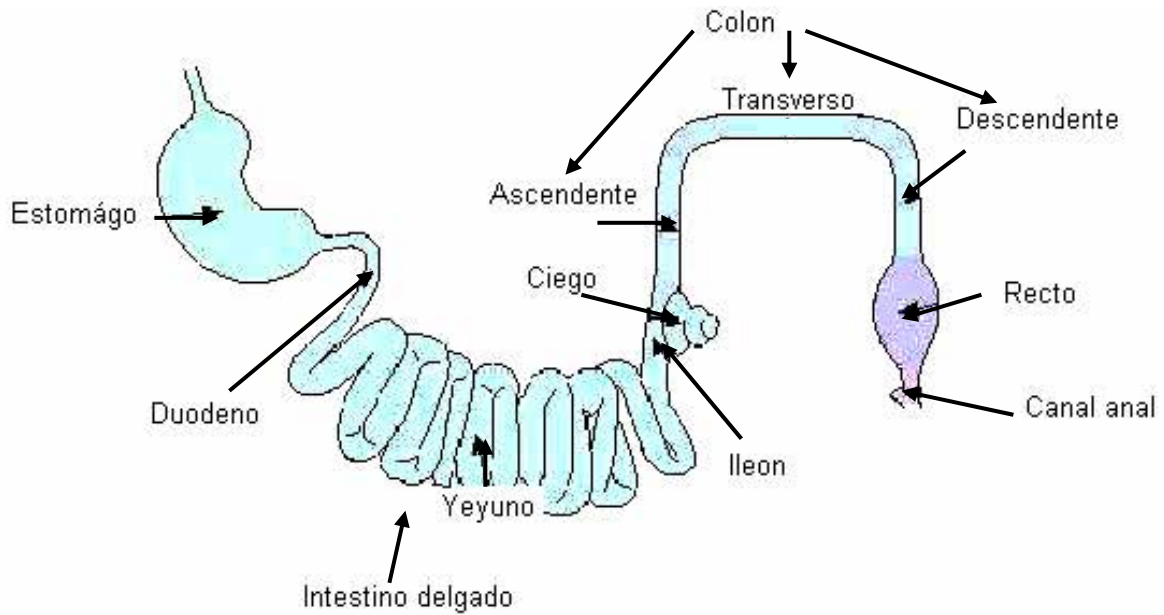


Figura 1. Tracto digestivo del perro

Tomado y modificado de <http://137.222.110.150/calnet/vetAB5/page2.htm>. Copyright © 1998 University of Bristol. All rights reserved. Author: Department of Anatomy, University of Bristol.

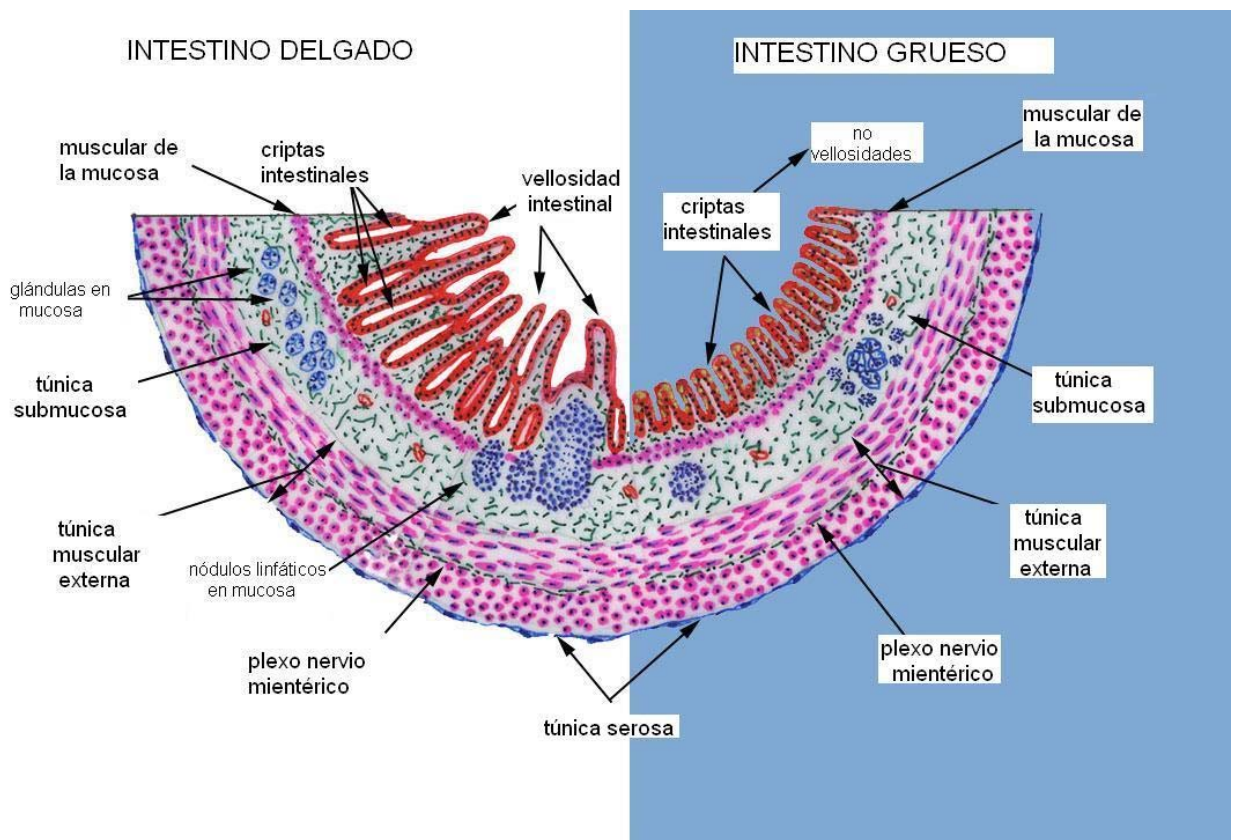


Figura 2. Histología de intestino delgado e intestino grueso

Tomado y modificado de:

<http://education.vetmed.vt.edu/Curriculum/VM8054/Labs/Lab19/Lab19.htm>

Veterinary Histology. Version 5.0 PART ONE

Copyright 1996-2005 All Rights Reserved. Dr. Thomas Caceci

Dept. of Biomedical Sciences & Pathobiology, Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA 24061-0442



Figura 3. Administración del tratamiento A en perro beagle a los 2 meses de edad



Figura 4. Área de socialización

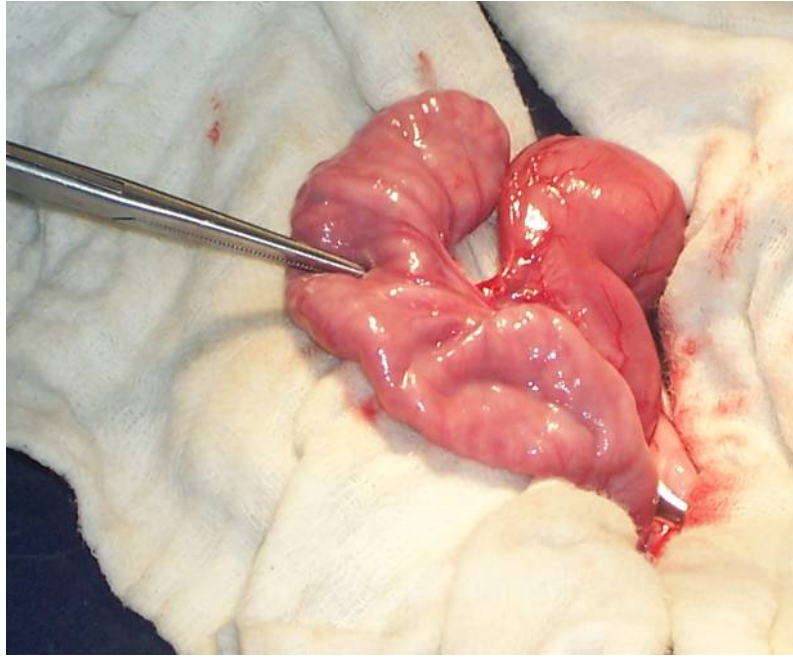


Figura 5. Exposición del ciego, aislamiento de cavidad abdominal.

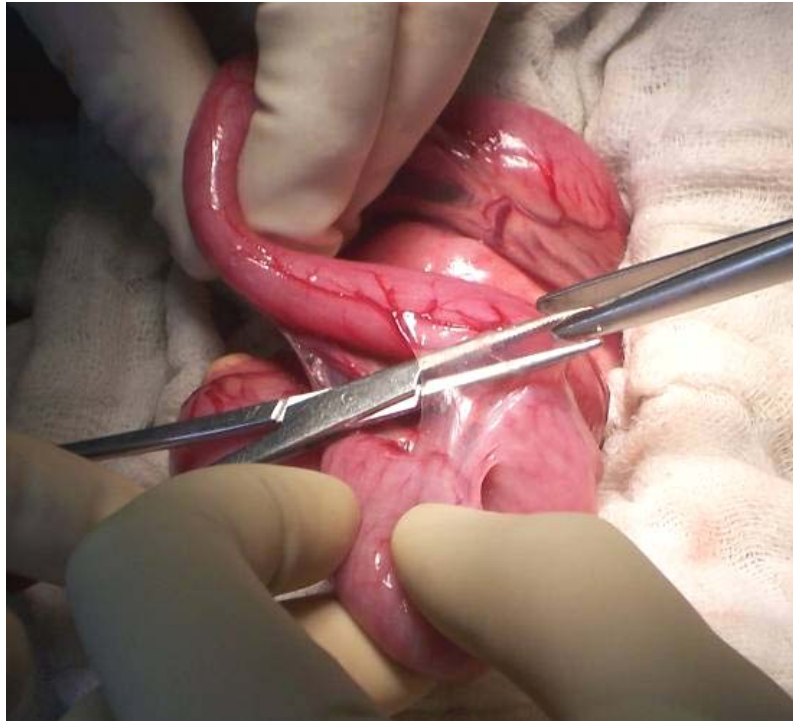


Figura 6. Disección de arterias y venas ileales.



Figura 7. Rama ileal antimesentérica.

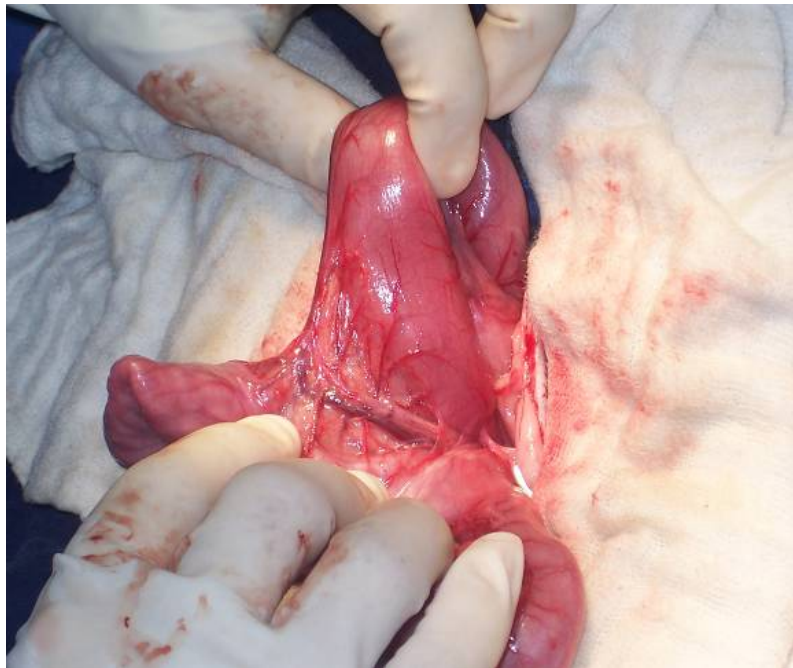


Figura 8. Arteria ileocólica.

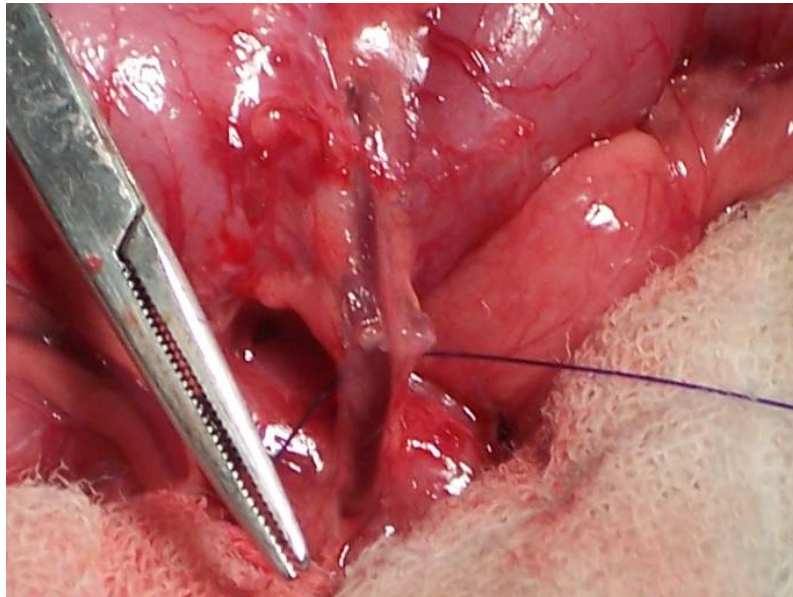


Figura 9. Ligadura en aarteria ileal.



Figura 10. Ligadura en Arteria ileocólica.

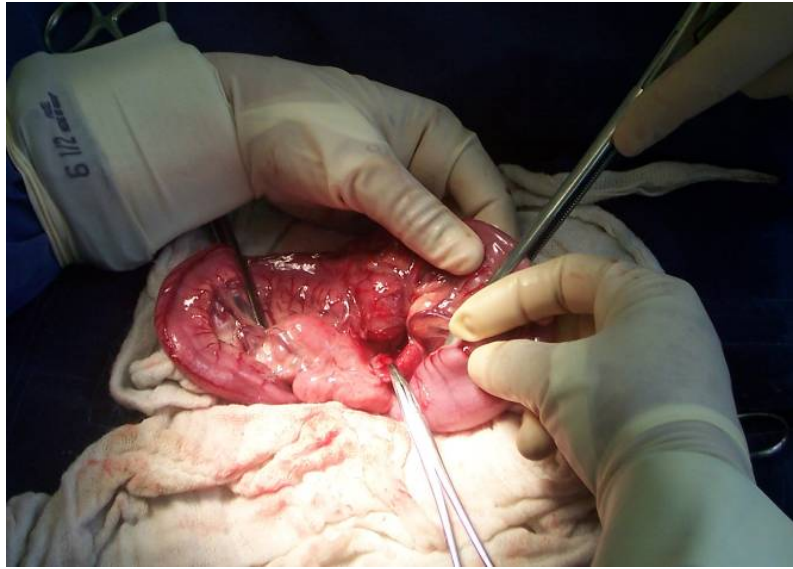


Figura 11. Colocación de clamp intestinal en ileon y colon.



Figura 12. Resección de ileon, ciego y colon

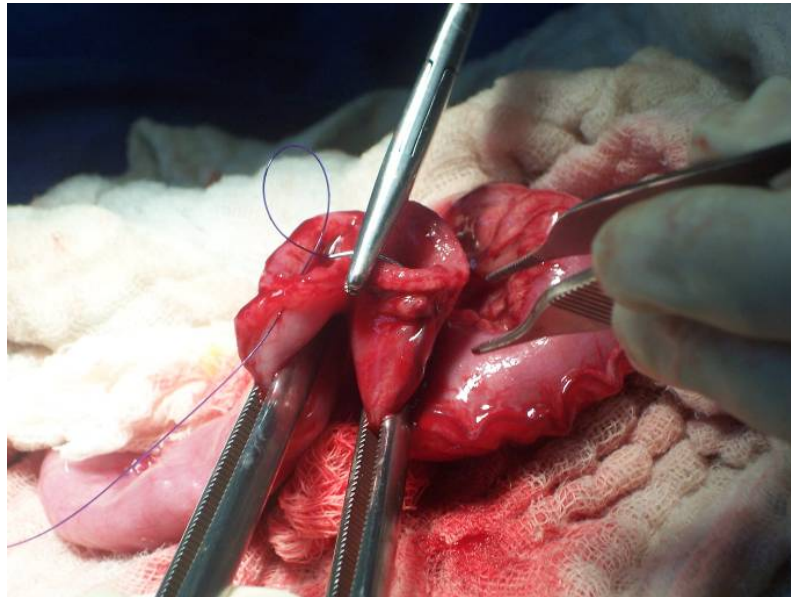


Figura 13. Anastomosis de ileon y colon, región antimesentérica.



Figura 14. Anastomosis de ileon y colon, región mesentérica.



Figura 15. Prueba de fuga, instilando solución salina.

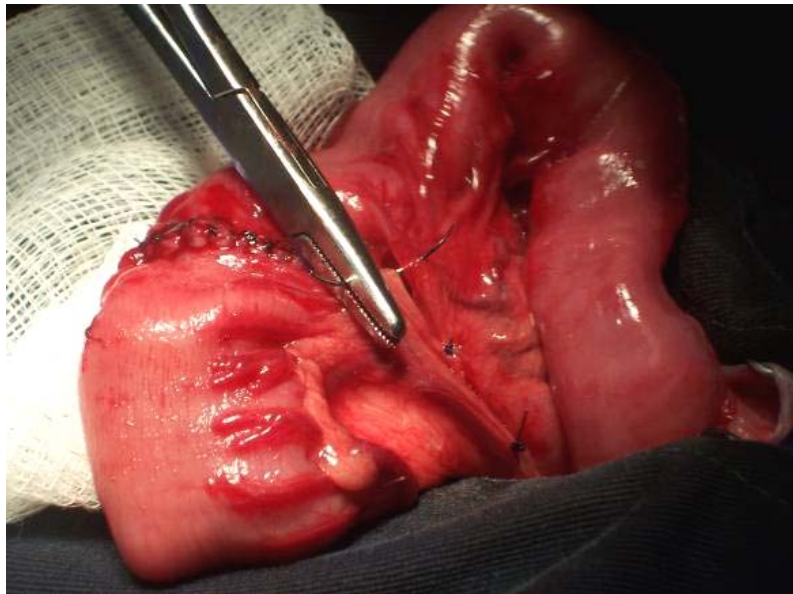


Figura 16. Sutura de mesenterio con puntos simples interrumpidos.

Figura 17. Gráfica de registro de temperatura posoperatoria.

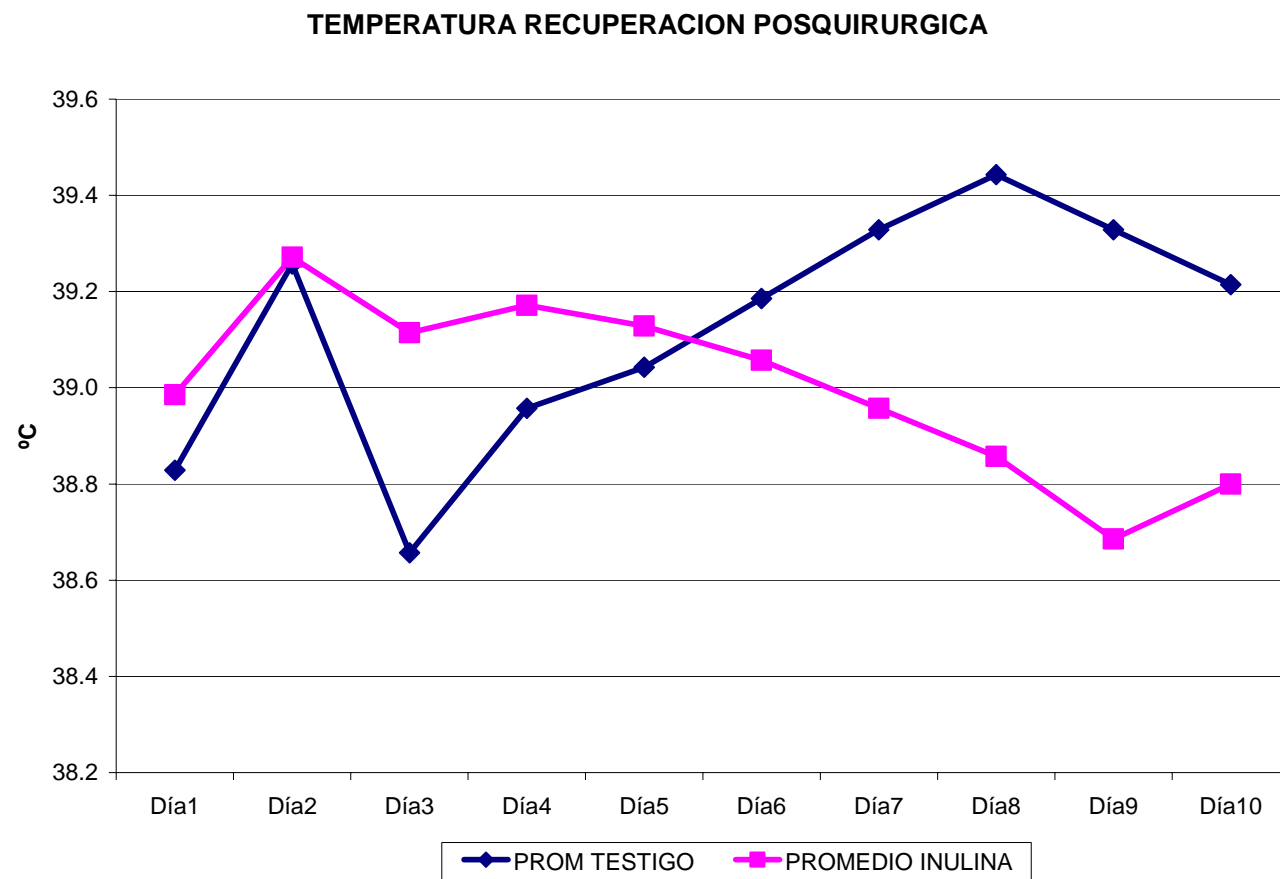


Figura 18. Pesos semanales por grupo

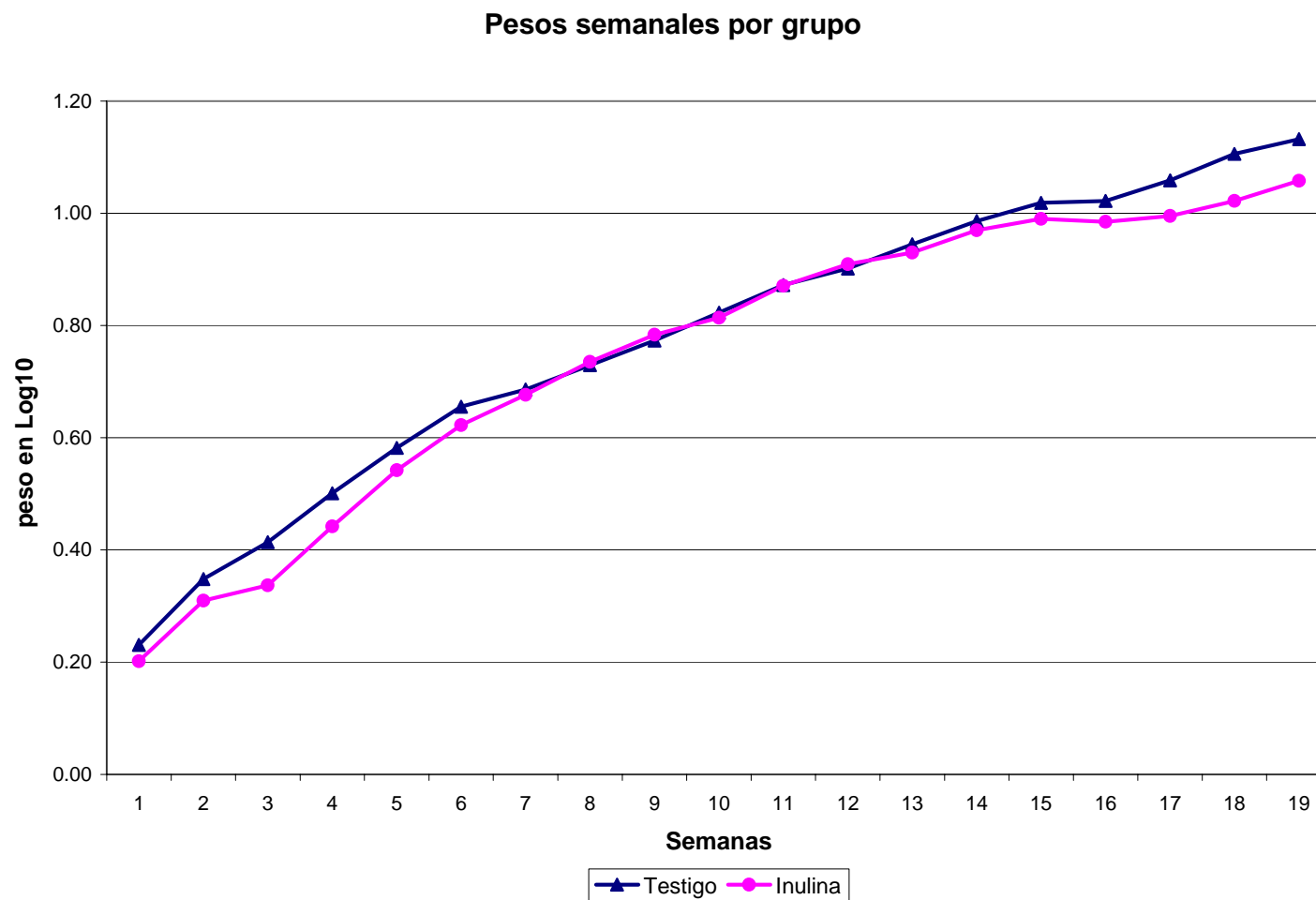


Figura 19. Pesos promedio por grupos y por grupo y raza.

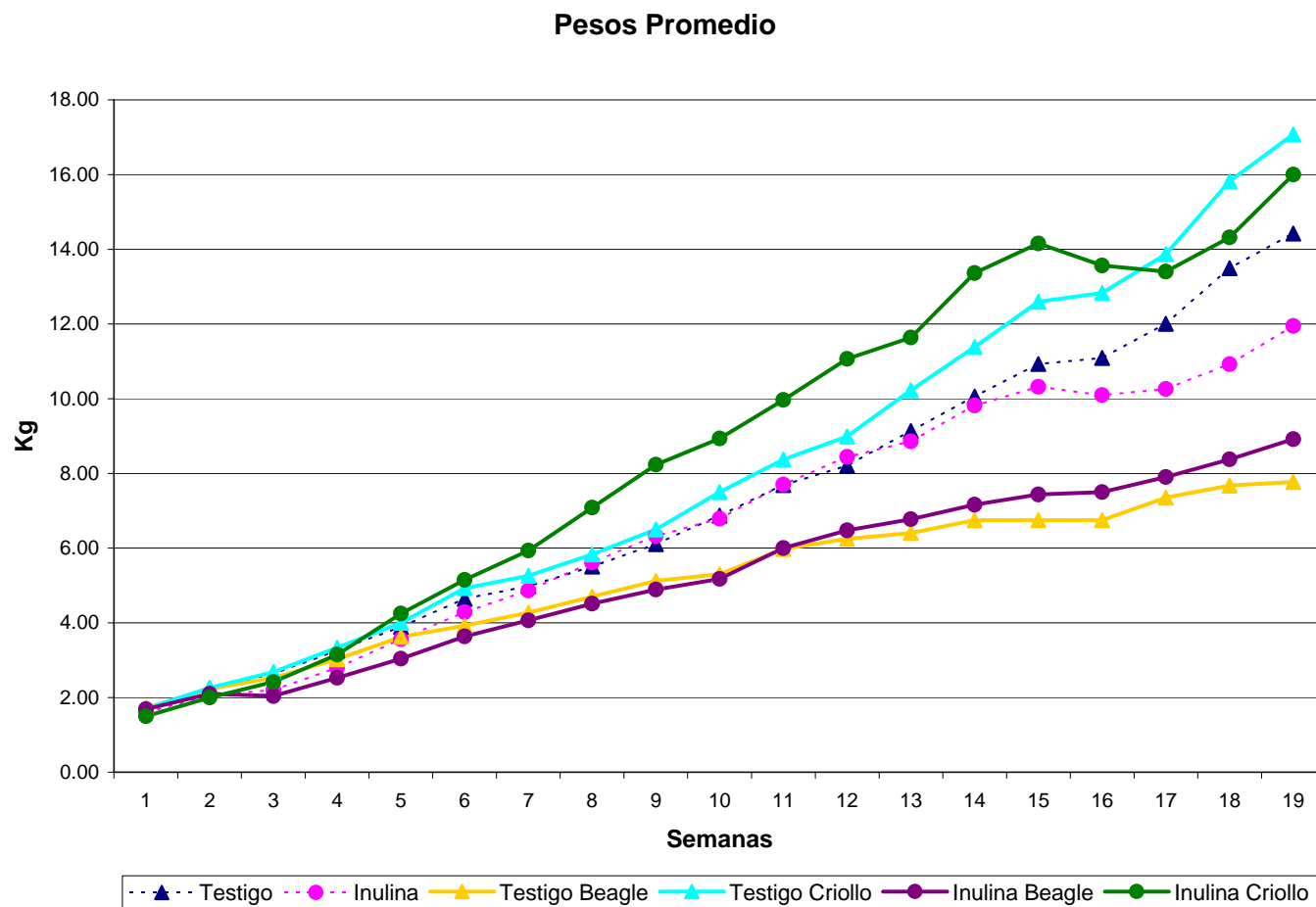


Figura 20. Pesos por grupo y raza.

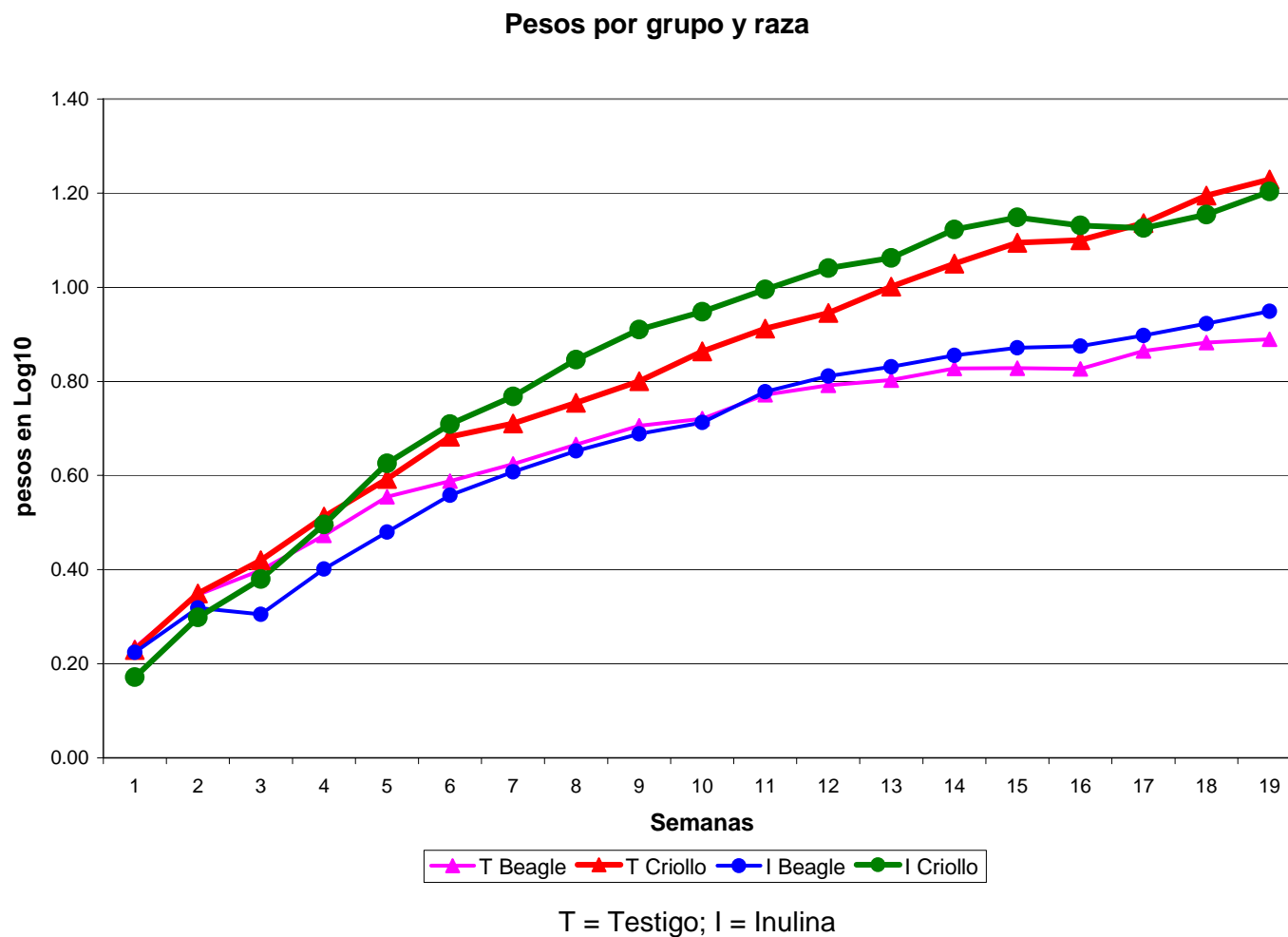


Figura 21. Niveles de calcio sanguíneo por grupos.

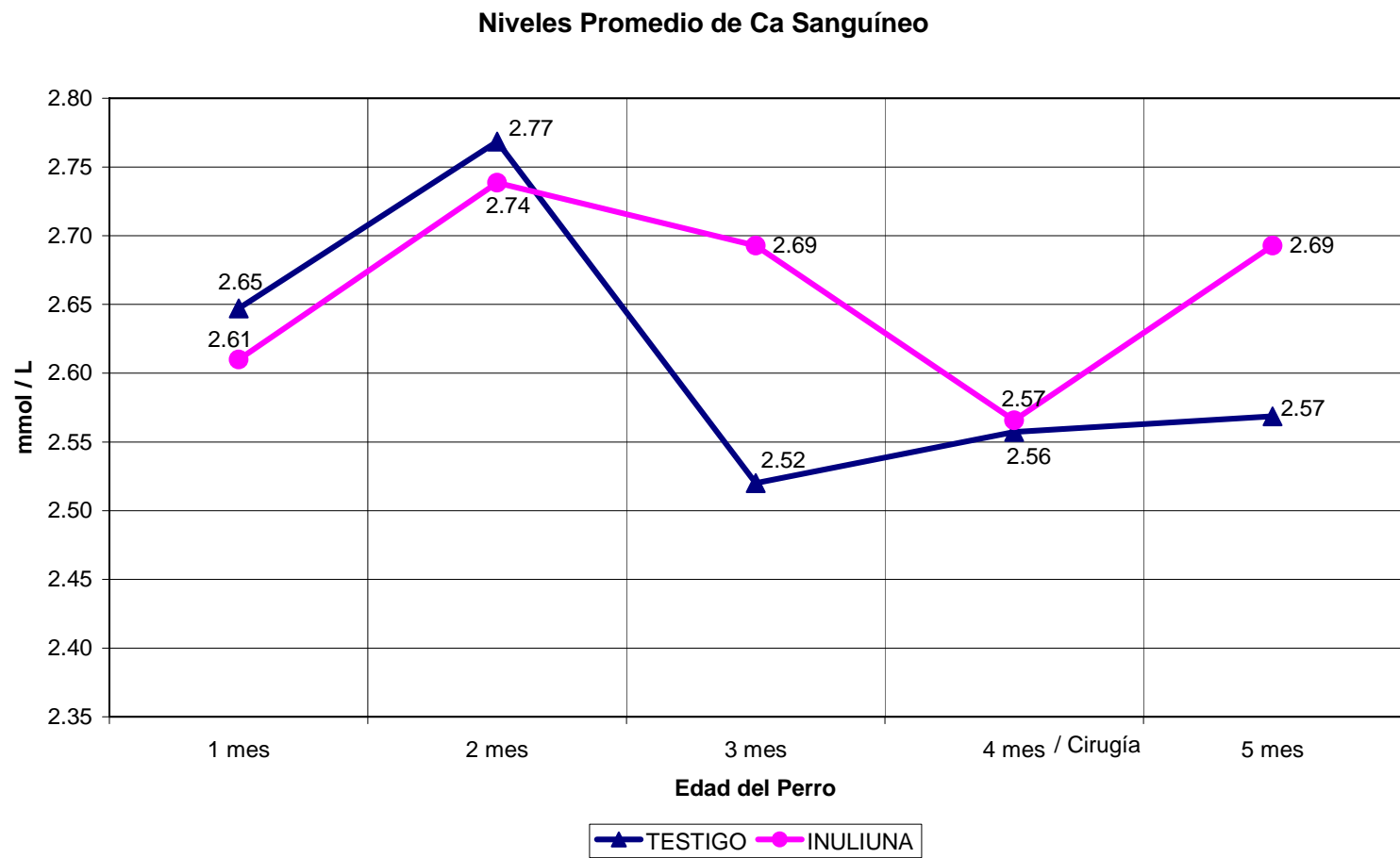


Figura 22. Niveles de calcio sanguíneo por tratamiento y raza.

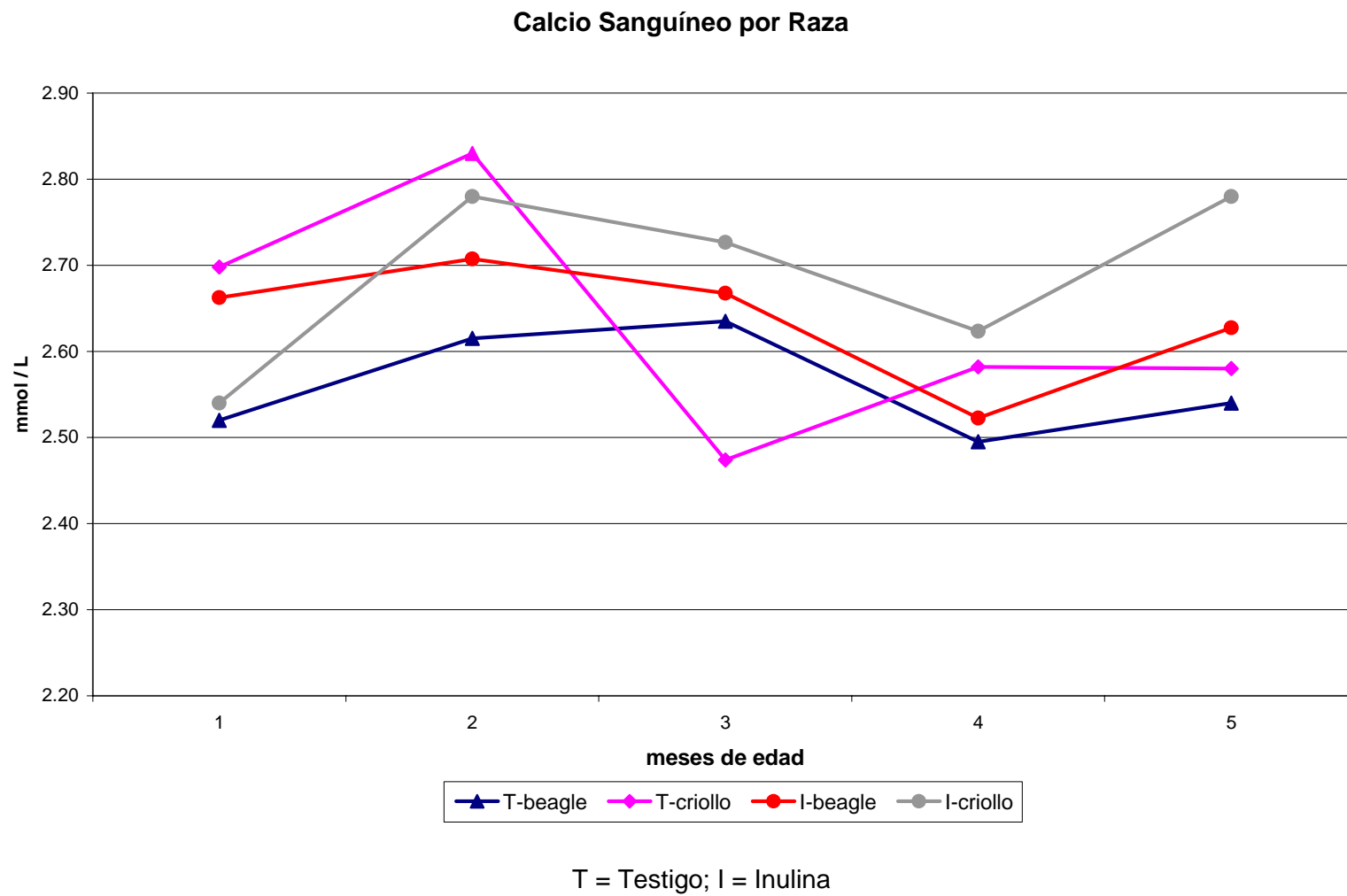
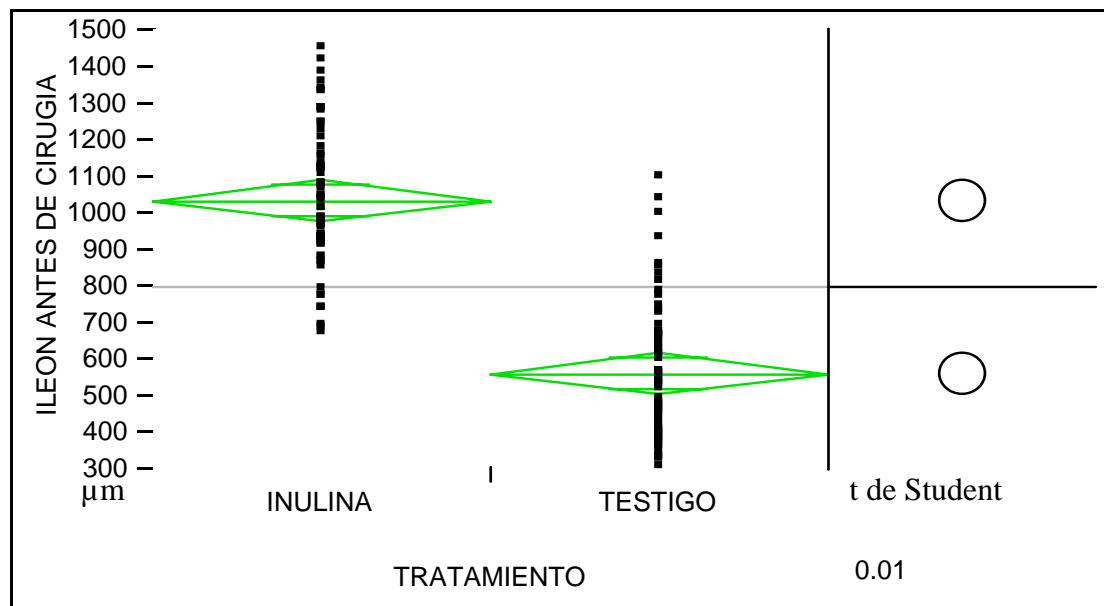


Figura 23



t
2.61193
Dif=Media[i]-Media[j]
INULINA
TESTIGO
Abs(Dif)-LSD
INULINA
TESTIGO

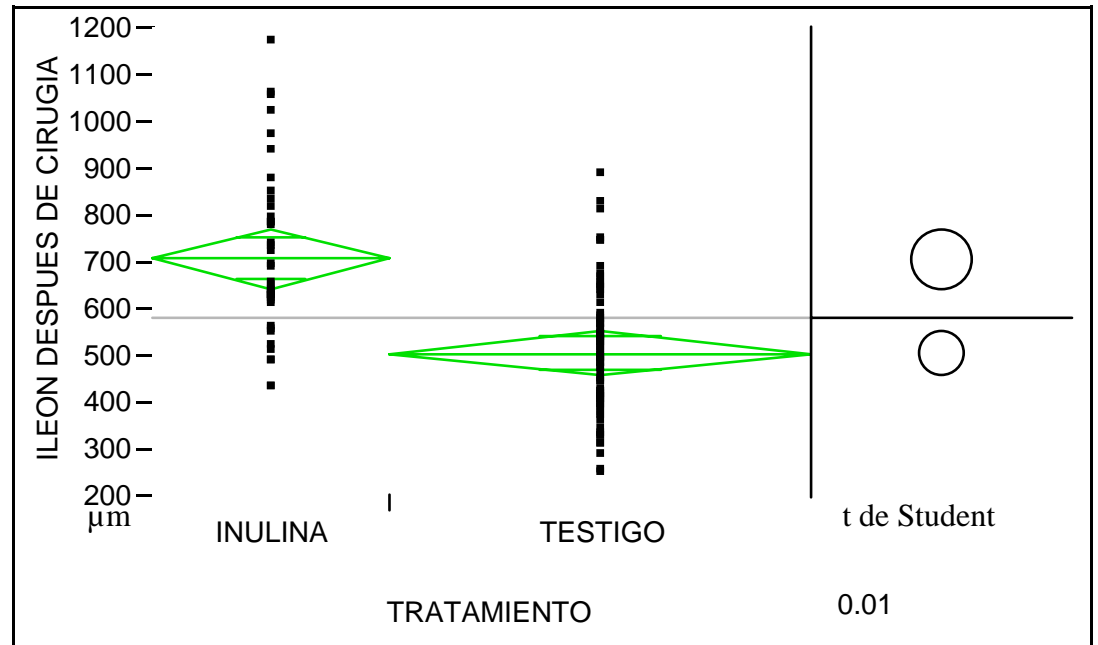
Alfa
0.01
INULINA
TESTIGO
INULINA
TESTIGO
INULINA
TESTIGO

NIVEL
INULINA A
TESTIGO B
MEDIA
1033.3153
559.0851
Niveles que no comparten la misma literal
son significativamente diferentes (P<0.01)

Prueba de Kruskal-Wallis

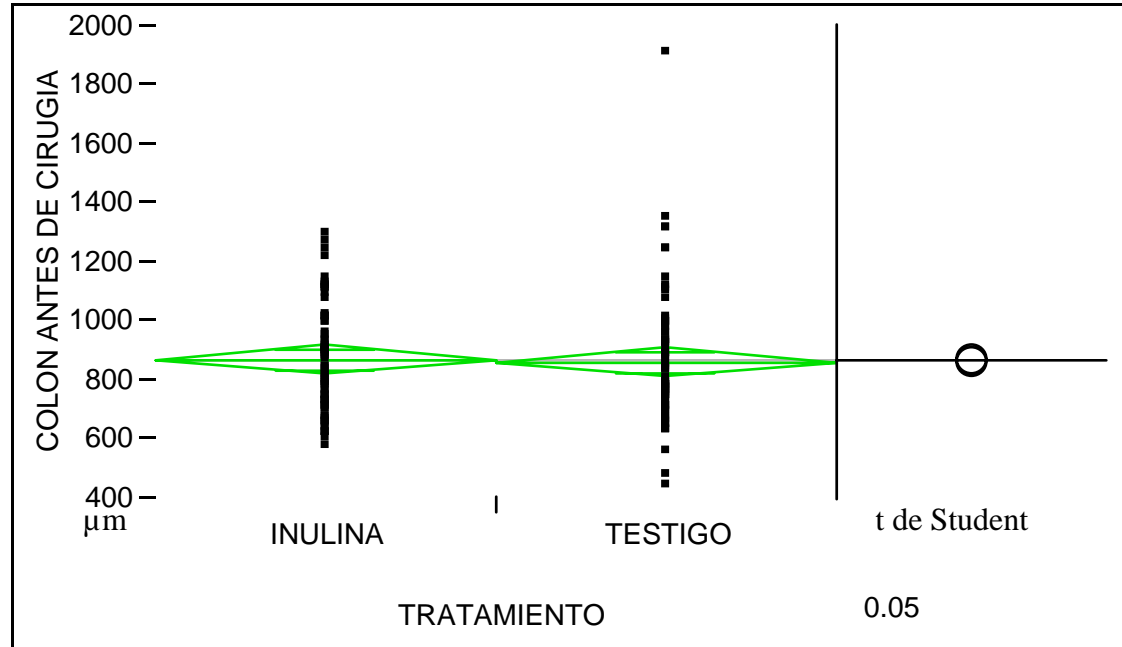
Nivel	Cuenta	Suma	Media	(Media-Media0)/Std0	S	Z	Prob> Z
INULINA	70	7178	102.543	9.346	2692	-9.34590	0.0000
TESTIGO	70	2692	38.457	-9.346			
					ChiCuadrada (ChiCu)	GL	Prob>ChiCu
					87.3848	1	<.0001

Figura 24



		t	Alfa						
		2.62212	0.01						
Dif=Mean[i]-Mean[j]				INULINA	TESTIGO	Nivel	Media		
INULINA		0.00		0.00	202.70	INULINA	A	707.92800	
TESTIGO		-202.70		-202.70	0.00	TESTIGO	B	505.22514	
Abs(Dif)-LSD				INULINA	TESTIGO	Niveles que no comparten la misma literal son significativamente diferentes (P<0.01)			
INULINA		-90.10		-90.10	122.84				
TESTIGO		122.84		122.84	-68.11				
Prueba de Kruskal-Wallis									
		ChiCuadrada	GL	Prob>ChiCu					
		30.8244	1	<.0001					
Nivel	Cuenta	Suma	Media (Media-Media0)/Std0	S	Z	Prob> Z			
INULINA	70	3113.5	77.8375	5.549					
TESTIGO	70	2991.5	42.7357	-5.549	3113.5	5.54887	<.0001		

Figura 25



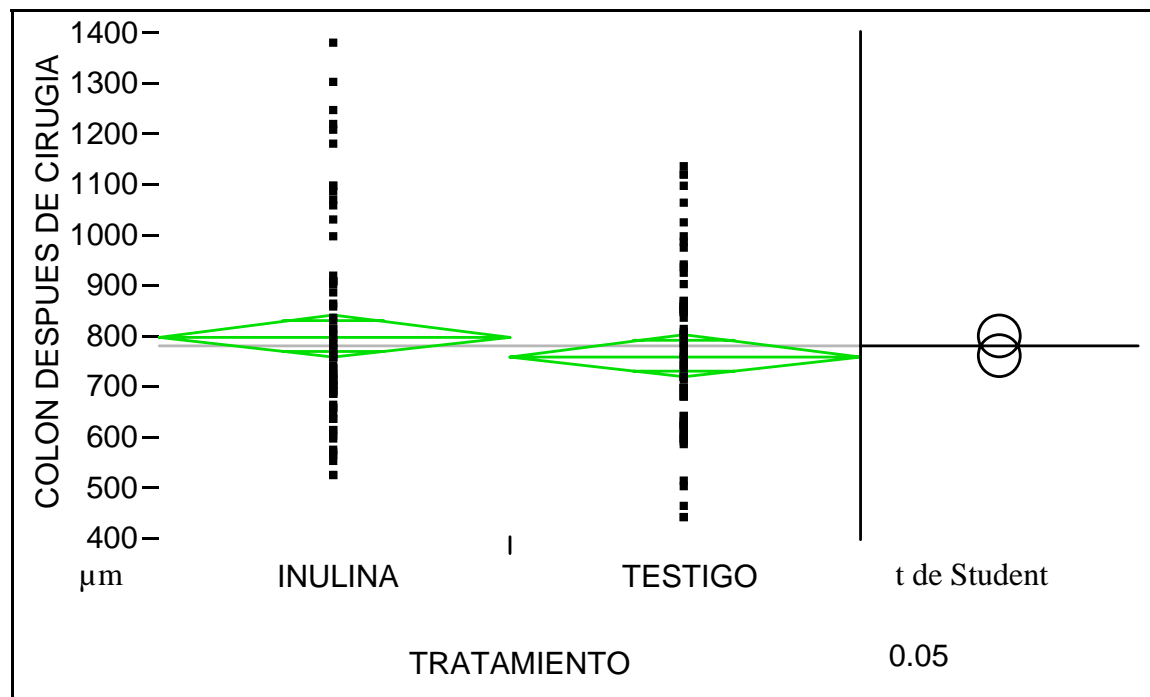
t
1.97730
Abs(Dif)-LSD
INULINA
TESTIGO

Alfa
0.05
INULINA TESTIGO
-69.009 -61.328
-61.328 -69.009

Nivel	Media
INULINA A	866.85486
TESTIGO A	859.17429

Niveles que no comparten la misma literal son significativamente diferentes (P<0.05)

Figura 26



t	Alpha			Level	Mean
1.97730	0.05				
Abs(Dif)-LSD		INULINA	TESTIGO		
		-60.230	-20.948	INULINA	A 799.78529
		-20.948	-60.230	TESTIGO	A 760.50386

Niveles que no comparten la misma literal son significativamente diferentes (P<0.05)

BIBLIOGRAFÍA

1. Ganong WF. Fisiología Médica. México: El Manual Moderno, 2001.
2. Gretty R, Sisson y Grossman. Anatomía de los animales domésticos 5ª ed. España, Barcelona: Slavats, 1982.
3. Banks WJ. Histología veterinaria aplicada. México, DF: El Manual Moderno, 1986.
4. Ruckebusch Y. Fisiología de Pequeñas y Grandes Especies. México: El Manual Moderno, 1994.
5. Brendt DJ, William DI. Gastroenterología canina y felina. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica, 1989.
6. Dillon AR et al. *Campylobacter* enteritis in dogs and Cats. *Gastroenterology in practice* 1987; 9:12
7. Sandberg M et al. Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. *Preventive Veterinary Medicine* 2002; 55: 241-253.
8. Thompson JS et al. Luminal short-chain fatty acids and post resection intestinal adaptation. *J Parenter Enteral Nutr* 1996; 20 (5): 338-43.
9. Fossum TW, Hedlund CS. Gastric and intestinal surgery. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003; 33 (5):1117-45.

10. Husemann B et al. Resection of the Bauhini valve and its effect on the metabolism. An experimental study in animals. *Langenbecks Arch Chir* 1979; 26, 348 (3):183-90.
11. Ecker KW et al. Establishment of an immunocompetent nipple valve anastomosis to prevent faecal reflux after ileocolic resection in dogs. *Eur J Sur* 2000; 166 (5): 409-14.
12. Ecker KW et al. Bacterial clearance of the terminal ileum in relation to the ileocolic connection. *Zentralbl Chir* 1995; 120 (4): 336-42.
13. Meier R, Burri E, Steuerwald M. The role of nutrition in diarrhea syndromes. *Current Opinion in clinical Nutrition and Metabolic Care* 2003; 6: 563-567.
14. Rémy M et al. The role of nutrition in diarrhoea syndromes. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 2003; 6 (5): 563-567.
15. Aandorenstraat EN. Orafiti. Whit Raftifeed. Doc FE-01/eng*03/01–Rep. Ed.:1, 3300 Tienen, Belgium.
16. Xu ZR et al. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science Association* 2003; 82:1030-1036.
17. Flickinger et al. Nutrient digestibilities, microbial populations, and protein catabolites as affected by fructan supplementation of dog diets. *Journal Animal Science* 2003; 81:2008-2018.

18. Gibson GR and Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401–1412.
19. Strickling JA et al. Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: influences on nutrient digestion and microbial populations. *Animal Feed Science and Technology* 2000; 86: 205-219.
20. Niness KR. Inulin and Oligofructose: What are they?. *Journal of Nutrition* 1999; 129: 1402 - 1406.
21. Hussein HS, et al. Selected fructooligosaccharide composition of pet - food ingredients. *Journal of Nutrition* 1998; 128: 2803 – 2805.
22. Schiffrin EJ and Blum S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56 (Suppl 3): 60 – 64.
23. Tomomatsu H. Health effects of oligosaccharides. *Food Technology* 1994; 48: 61-65.
24. Saito Y, Takano T, Rowland I. Effects of soybean oligosaccharides on the human gut microflora in in vitro culture. *Microbiol Ecol Health Dis* 1992; 5: 105-111.
25. Kneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th edition. USA: Academic Press 1997.
26. Coudray C, et al. Dietary inulin intake and age can significantly affect intestinal absorption of calcium and magnesium in rats: a stable isotope approach. *Nutrition Journal* 2005; 4:29-36.

27. Roberfroid MB, Van Loo JA, Gibson ER. The bifidogeneic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 1998; 128: 11-19.
28. Rastall Ra. Bacteria in the gut: Friends and foes and how to alter the balance. *Wlatham international science symposium: Nature, nurture, and the case for nutrition. American Society for Nutritional Sciences supplement* 2004; 2022-2026.
29. Swanson KS, et al. Effects of supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides on colonic microbial populations, immune function and fecal odor components in the canine. *Journal of Nutrition* 2002; 132: 1717-1719.
30. Friedel D, Levine GM. Effect of short-chain fatty acids on colonic function and structure. *J Paren Ent Nutr* 1992; 16: 1-4.
31. Propst EL, et al. A dose-response experiment evaluating the effects of oligofructose and inulin on nutrient digestibility, stool quality, and fecal protein catabolites in healthy adult dogs. *Journal Animal Science* 2003; 81:3057-3066.
32. Martí del Moral A, Moreno J, Martínez JA. Efecto de los prebióticos sobre el metabolismo lipídico. *Nutrición Hospitalaria*. 2003; 18: 181-188.
33. Hussein HS, Flickinger EA, Fahey GC Jr. Petfood Applications of Inulin and Oligofructose. *J Nutr*. 1999; 129 (7 Suppl):1454S-6S.
34. NOM-062-ZOO-1999, Norma Oficial Mexicana: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

35. De la Torre AR, Figueroa JM y Martínez LM. El código de ética en la experimentación animal no puede ser letra muerta. *Toxicología* 2001; 1 (1): 140-145.
36. Schweizerische SGV. Laboratory animals. *The International Journal of Laboratory Animal Science and welfare* 2004; 38 Supplement 1: 1 - 94.
37. Fossum TW: *Cirugía en pequeños animales*. Inter-Médica, Buenos Aires Argentina, 1999.
38. Yamauchi K, Tarachai P. Changes in intestinal villi, cell area intracellular autophagic vacuoles related to intestinal function in chickens. *British Poultry Science* 2000; 41: 416 - 423.
39. Prosky L, Hoebregs H. Methods to determine food inuline and oligofructose. *American Society for Nutritional Sciences supplement* 1999; 1418 - 1423.
40. NOM-033-ZOO-1995, Norma Oficial Mexicana: Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres.
41. NOM-087-ECOL-1995, Norma Oficial Mexicana: Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.
42. Harvey MD. *Intuitive Biostatistics*. USA, New York: Oxford University Press, 1995.

43. He GF et al. Effect of inulin and sugar beet pulp on the growth performance and carcass characteristics of wean to finish pigs. *Journal Animal Science* 2000; 81 Suppl. 1: 75 - 76.
44. Beynen AC et al. Faecal bacterial polife, nitrogen excretion and mineral absorption in healthy dogs fed supplemental oligofructose. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 2002; 86: 563 - 567.
45. Greger JL. Nondigestible Carbohydrates and mineral bioavailability. *American Society for Nutritional Sciences.* 1999; 3166: 1434 - 1435.
46. McCracken VJ, Lorenz RG. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cellular Microbiology* 2001; 3(1): 1-11.