



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA



INSTITUCIONES EDUCATIVAS
DE QUÍMICA

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE
PROTEINAS EN LA DIETA SOBRE LAS RESERVAS
CORPORALES DE LA RATA DURANTE EL PERIODO
DE GESTACION.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
ADRIANA GALLARDO BOLAÑOS



MEXICO, D. F.

2001.



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.

Jurado Asignado:

Presidente	Prof:	Angela Sotelo López
Vocal	Prof:	Homero Hernández Montes
Secretario	Prof:	Lucia Gabriela Bascuñan Termini
1 ^{er} Suplente	Prof:	Prof. Sobeida Sánchez Nieto
2 ^o suplente	Prof:	Prof. Elpidio García Ramírez

Sitio donde se desarrolló el tema:

Unidad de Investigación Médica en Nutrición
Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional
siglo XXI, IMSS.

Asesor del tema:



Dr. Homero Hernández Montes

Sustentante



Adriana Gallardo Bolaños

INDICE GENERAL

	Páginas
1. RESUMEN.	1
2. INTRODUCCION.	3
3. ANTECEDENTES.	
3.1 Ciclo reproductivo.	
3.1.1 Las funciones endocrinas: Ciclo menstrual y ovárico.	4
3.1.2 Ciclo estral en la rata.	6
3.2 Periodo gestacional.	7
3.2.1 Fecundación del óvulo.	8
3.2.2 Implantación.	9
3.2.3 Periodo embrionario.	10
3.2.4 Periodo fetal.	11
3.2.5 Membranas embrionarias.	11
3.2.6 Placenta y cordón umbilical.	12
3.2.7 Permeabilidad placentaria y transporte de nutrimentos.	14
3.3 Hormonas involucradas en el embarazo.	14
3.4 Adaptaciones metabólicas del organismo materno.	17
3.4.1 Metabolismo nitrogenado en la madre.	18
3.4.2 Relaciones madre-feto.	19
3.4.3 Metabolismo de lípidos.	19
3.5 La nutrición durante el embarazo.	20
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	22
5. JUSTIFICACION.	23

6. OBJETIVOS.	24
7. HIPOTESIS.	25
8. METODOLOGIA.	
8.1 Organización de los animales.	26
8.2 Elaboración de las dietas.	26
8.3 Alimentación de los animales.	27
8.4 Registro del consumo de alimento.	27
8.5 Periodo de cruce, toma de muestra y realización del frotis vaginal.	29
8.6 Grupos de estudio.	
8.6.1 Animales control.	29
8.6.2 Animales experimentales.	30
8. 7 Sacrificio y preparación de la carcaza.	30
8. 8 Registro de peso del "concepto" , del útero e hígado.	31
8.9 Procesamiento de la carcaza y determinación de humedad.	32
8.10 Composición corporal.	
8 10.1 Determinación de los lípidos totales en la carcaza de la rata.	32
8 10.2 Determinación del nitrógeno proteico en la carcaza de la rata.	33
8.11 Análisis estadístico.	33
8.12 Diagrama de trabajo.	34
9. RESULTADOS.	
9.1 Peso corporal de las ratas.	35
9.2 Consumo de alimento.	37
9.3 Consumo de proteína.	38
9.4 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso del útero junto con las unidades feto-placentarias.	40
9.5 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso del útero.	41

9.6 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el número de las unidades feto-placentarias.	41
9.7 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso de las unidades feto-placentarias.	43
9.8 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso de los fetos.	44
9.9 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso de las placentas.	45
9.10 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso del hígado materno.	46
9.11 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre peso húmedo de la carcaza.	48
9.12 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre peso seco de la carcaza.	49
9.13 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de humedad en la carcaza.	51
9.14 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre contenido de lípidos corporales.	53
9.15 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre contenido de proteínas corporales.	56
10. DISCUSIÓN.	59
10.1 Cambios en el peso corporal	60
10.2 Consumo de alimento.	61
10.3 Consumo de proteína.	62
10.4 El peso de los tejidos y las unidades feto-placentarias: el útero, los fetos, las placentas y el hígado	63
10.5 Composición corporal.	
10.5.1 El peso húmedo, el peso seco y el contenido de humedad de las carcazas.	66
10.5.2 Contenido de lípidos corporales.	67
10.5.3 Contenido de proteínas corporales.	69

11. CONCLUSIONES.	73
12. REFERENCIAS.	75

INDICE DE LAS TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Composición de las dietas.	28
Tabla 2. Grupos de estudio.	31

INDICE DE LAS FIGURAS

	Páginas
Figura 1. La citología vaginal en el ciclo estral de la rata.	7
Figura 2. La fecundación del óvulo.	9
Figura 3. Estructura placentaria y cordón umbilical	13

INDICE DE LAS GRAFICAS

	Páginas
Gráfica 1. Comparación del cambio en el <u>peso corporal</u> de las ratas <u>vírgenes</u> alimentadas con las dietas NP y BP	35
Gráfica 2. Comparación del cambio en el <u>peso corporal</u> de las ratas <u>vírgenes</u> y <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP	36
Gráfica 3. Comparación del <u>consumo de alimento</u> de las ratas <u>vírgenes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	37
Gráfica 4. Comparación del <u>consumo de alimento</u> de las ratas <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	38
Gráfica 5. Comparación del <u>consumo de proteína</u> de las ratas <u>vírgenes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	39
Gráfica 6. Comparación del <u>consumo de proteínas</u> de las ratas <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	39

Gráfica 7. Variación en el <u>número</u> de <u>unidades feto-placentarias</u> de las ratas <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	43
Gráfica 8. Variación en el <u>peso</u> del <u>concepto</u> de las ratas <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	44
Gráfica 9. Variación del <u>peso</u> de los <u>fetos</u> de las ratas <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	45
Gráfica 10. Variación en el <u>peso</u> de las <u>placentas</u> de las ratas <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	46

INDICE DE CUADROS

	Páginas
Cuadro 1. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el <u>peso</u> del <u>útero</u> junto con las <u>unidades feto-placentarias</u> de las ratas alimentadas con las dietas NP y BP .	40
Cuadro 2. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el <u>peso</u> del <u>útero</u> de las ratas <u>vírgenes</u> y <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	42
Cuadro 3. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el <u>peso</u> del <u>hígado</u> de las ratas <u>vírgenes</u> y <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	47
Cuadro 4. Comparación de los pesos <u>húmedo</u> y <u>seco</u> de las carcazas de las ratas <u>vírgenes</u> y <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	50
Cuadro 5. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de <u>humedad</u> de las ratas <u>vírgenes</u> y <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	52
Cuadro 6. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de <u>lípidos</u> de las ratas <u>vírgenes</u> y <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	55
Cuadro 7. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de <u>proteínas</u> de las ratas <u>vírgenes</u> y <u>gestantes</u> alimentadas con las dietas NP y BP .	57

1. RESUMEN.

Existe poca información sobre la influencia que tiene la concentración de proteínas en la dieta sobre las reservas corporales de la rata durante el periodo de gestación. Aunque no se ha descrito una ubicación para la reserva de proteínas, se ha sugerido al músculo esquelético como un sitio posible de almacenamiento.

En este proyecto se comparan los cambios que ocurren en la composición corporal de las ratas, durante el periodo de la gestación, cuando los animales fueron alimentados con dos dietas cuyo contenido de proteínas es contrastante: una denominada **NP** que contiene la cantidad recomendada de proteína (20%) y otra llamada **BP** la cual contiene una concentración marginal de proteína (13%) (1) En ambos grupos se determinó la composición corporal contenido de humedad, grasa y proteína (por gravimetría, Goldfisch y Kjeldhal, respectivamente).

También se estudió la influencia del tipo de dieta consumida sobre el peso del hígado, el útero, la placenta y los fetos y sobre el número de unidades feto-placentarias con los siguientes resultados.

Los animales gestantes alimentados con las dietas **NP** y **BP** incrementaron su peso corporal hacia el final de la gestación (~ 50 y 40%, respectivamente) con respecto a sus controles vírgenes pareados en edad. No se observó diferencia con respecto al tipo de dieta consumida.

Las ratas gestantes alimentadas con las dietas **NP** y **BP** aumentaron el consumo de alimento el día 21 de la gestación en relación a sus controles vírgenes (~35 y 40% respectivamente), disminuyendo considerablemente el consumo los días previos al parto.

El peso del útero cuando incluye las unidades feto-placentarias, el peso del útero, solo, el peso de las placentas y el peso de los fetos, se incrementó significativamente ($p < 0.0001$) al transcurrir los días del estudio, pero no se mostró ningún efecto por el tipo de dieta consumida.

2. INTRODUCCION.

Durante la gestación se establece un intercambio de señales entre la madre y el embrión, las cuales permiten que se lleven a cabo una serie de procesos fundamentales para que el embarazo se establezca y se mantenga en forma exitosa. Entre los procesos que dependen de este diálogo se encuentran el transporte del embrión, la implantación, la placentación y la estimulación del desarrollo embrionario. Cualquier falla en las señales, o una asincronía entre ellas, pueden resultar en la muerte temprana del embrión o en una falla funcional posterior al parto.

En la rata la gestación ocurre en tres semanas, durante las dos primeras se observa la diferenciación de los tejidos, el desarrollo de las membranas embrionarias y la placenta representa una estructura funcional, pero el crecimiento del feto es lento. Por el contrario en la última semana de la gestación, llamada etapa fetal, los cambios más importantes son el desarrollo y crecimiento del feto.

El adecuado crecimiento y desarrollo del feto dependerá de que la madre ofrezca una cantidad suficiente de nutrimentos y de energía puesto que el aumento en el tamaño de los tejidos metabólicamente activos y el aumento de la síntesis de los componentes tisulares ocasiona un incremento en el metabolismo basal materno. También se ha sugerido que durante las dos primeras semanas de la gestación, la madre forma una "reserva de proteínas" que es completamente movilizada en la última semana para apoyar el rápido crecimiento del feto (2).

Por lo tanto la alimentación crónica de la rata con una dieta que contenga cantidades insuficientes de proteína puede ser un factor limitante en la formación de la reserva corporal materna y en el desarrollo apropiado de las crías.

Esta información podría ser un reflejo de lo que sucede en las mujeres embarazadas de las zonas rurales y marginadas de los países en desarrollo, que en su alimentación presentan un déficit en el consumo de proteínas

3. ANTECEDENTES.

3.1 Ciclo reproductivo.

3.1.1 Las funciones endocrinas: ciclos menstrual y ovárico.

La unión de un óvulo y una célula espermática para formar un cigoto del cual se desarrolla un embrión y posteriormente un feto para finalmente emerger como un neonato independiente, requiere la participación de diversos procesos fisiológicos tanto en la madre como de la descendencia en desarrollo (3).

En la mujer, el **ciclo ovárico** ocurre mes tras mes y está vinculado con el **ciclo menstrual**; ambos procesos están sujetos a regulación hormonal. El **ciclo ovárico** es un conjunto de fenómenos hormonales que se desencadena por la liberación de la hormona estimulante del folículo (**FSH**), la cual inicia el desarrollo de los folículos en el ovario y la secreción de estrógenos por los mismos.

El factor liberador de la hormona luteinizante (**LHrh**) inicia la secreción de esta hormona adenohipofisaria, misma que también estimula el desarrollo de los folículos ováricos, la ovulación y la producción de estrógenos y progesterona por las células ováricas.

Las hormonas sexuales femeninas (**estrógenos y progesterona**) ejercen diversos efectos en el organismo; mientras que los estrógenos cumplen tres funciones fundamentales: el desarrollo y la conservación de las estructuras reproductoras femeninas; la regulación del equilibrio líquido y electrolítico y la estimulación del anabolismo de las proteínas. La progesterona se encarga de preparar al útero para la implantación y a las glándulas mamarias para la secreción de la leche (4).

El **ciclo menstrual** se compone de tres fases: **menstrual, preovulatoria y post-ovulatoria**, consta de una serie de cambios en el endometrio de la mujer no embarazada que lo prepara cada mes para la recepción del huevo fecundado. En caso de que no se efectúe la fecundación, la capa funcional del endometrio se desprende y a este proceso se le conoce como **menstruación**.

Durante la fase **menstrual** se inicia el **ciclo ovárico** con la secreción de la **FSH**, estimulando el desarrollo de los folículos primarios los cuales inician la producción de cantidades mínimas de **estrógenos** y desarrollan a su alrededor una membrana llamada zona pelúcida. Después, los folículos maduran, se transforman en secundarios e incrementan su producción de **estrógenos**. La secreción máxima de la **FSH** se alcanza durante esta parte del ciclo (4,5).

En la **fase preovulatoria**, la **FSH** y la **LH** estimulan una mayor producción de **estrógenos** que da lugar a la regeneración del endometrio y a la maduración de uno de los folículos secundarios que se transformará en un folículo de Graaf.

La **ovulación** involucra la ruptura del folículo ovárico maduro, el desprendimiento del óvulo y un incremento en la liberación de **estrógenos** que a su vez inhibirán la producción de la **FSH** e incrementarán la secreción de la **LH** y de **estrógenos** produciéndose la ovulación.

En la **fase postovulatoria** la concentración sanguínea de **estrógenos** disminuye, las células foliculares se colapsan y se forma un coágulo denominado cuerpo hemorrágico, mismo que por influencia de la **LH** adquiere un color amarillo, aumenta de tamaño y cambia sus características celulares formando un cuerpo **amarillo** o **lúteo** que secreta **progesterona**. Esta hormona junto con los **estrógenos** promueven que la mucosa uterina alcance la **fase progestacional** o **luteinica** como preparación para la implantación del embrión

En esta fase se incrementa la secreción tanto de la **FSH** como de la **progesterona** y los **estrógenos**, lo que inhibe la secreción de la **LH**. En el caso de que no ocurrieran la fecundación y la implantación, el cuerpo lúteo se degenera dando como resultado un cuerpo **blanco** (**albicans**) y la disminución consecuente en la secreción de **estrógenos** y **progesterona** dando pie a que se inicie otro ciclo menstrual. La reducción en la concen-

tración sanguínea de las hormonas antes citadas estimula la secreción de la FSH para dar inicio al nuevo ciclo ovárico.

Por el contrario, en caso de ocurrir la fecundación y la **implantación** del huevo, el cuerpo **lúteo** se conserva y continúa la secreción de **estrógenos** y **progesterona**. De esta combinación resulta la producción de la gonadotropina coriónica (**hCGH**) por la placenta en desarrollo y la secreción de esa hormona se interrumpe cuando la propia placenta sintetiza **estrógenos** y **progesterona** en concentración suficiente para mantener el **embarazo** (4,5).

3.1.2 El ciclo estral en la rata.

En la rata, la actividad reproductora se relaciona también con la liberación de hormonas y se conoce como ciclo **estral** el cual puede definirse como la periodicidad con la que se presenta el **estro** en una especie determinada. En general, el ciclo estral se divide en cuatro etapas que pueden identificarse por cambios característicos en el tipo de células presentes en la citología vaginal (6,7,8) y que se describen enseguida.

3.1.2.1 Estro: Esta etapa que tiene una duración de 9 a 19 horas muestra en la citología un predominio (80 al 90%) de grandes células epiteliales cornificadas y no nucleadas. No se observan leucocitos (**Figura 1**). En esta fase la hembra acepta copular, se produce la ovulación y el óvulo puede ser fertilizado .

3.1.2.2 Metaestro: Ocurre después de la ovulación, aparece una gran cantidad de neutrófilos junto con las células epiteliales cornificadas; su duración es de 8 a 10 horas.

3.1.2.3 Diestro: En esta etapa que tiene una duración de 60 a 70 horas, la citología vaginal muestra un predominio de polimorfonucleares y algunas células epiteliales nucleadas, las cuales presentan un tamaño mayor al de los leucocitos.

3.1.2.4 Proestro es la fase preparatoria para el próximo ciclo estral en la cual el 95% de las células son células epiteliales nucleadas, no cornificadas y se observan algunos leucocitos. Su duración es de 12 a 14 horas.

El ciclo estral en la rata tiene una duración de cuatro a cinco días, se repite a lo largo del año y puede ser interrumpido por el embarazo (6,7,8,9,10)

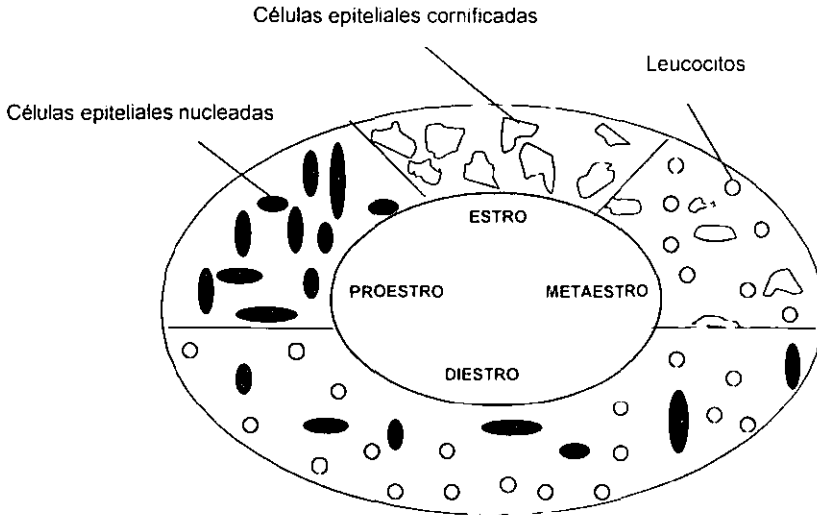


Figura 1. La citología vaginal en el ciclo estral de la rata. Se muestran las cuatro fases del ciclo y el tipo de estirpe celular que se presenta en cada una de las fases

3.2 Período gestacional.

Mientras que en la mujer la fertilización del óvulo y el inicio del embarazo ocurren después de la expulsión del óvulo y el ciclo ovárico se lleva a cabo independientemente de la copulación, en la **rata** se requiere de la copulación para que ocurra la expulsión del óvulo, la liberación de hormonas y el ciclo ovárico. El coito induce la formación del cuerpo lúteo y la secreción de la prolactina, que actúa como hormona luteotrófica, al inhibir la

conversión de la progesterona contribuyendo a la mayor concentración de progesterona durante el embarazo (9).

Mientras el organismo materno identifica la gestación, el cuerpo lúteo se conserva y de no ocurrir la fertilización nueve días después de la copulación, el cuerpo amarillo se destruye formándose entonces el cuerpo albicans; de ocurrir el **embarazo** se produce el lactógeno placentario que se encarga del cuerpo lúteo y se deja de producir la prolactina (11).

La **gestación** o **embarazo** representa un conjunto de fenómenos que incluyen la fecundación, la implantación, el desarrollo embrionario y, en condiciones normales, el desarrollo fetal que culmina con el nacimiento (12).

Mientras que en el ser **humano** se prefiere dividir la gestación en trimestres con una duración total de nueve meses (40 semanas), en la **rata** la gestación toma **21 días** (3 semanas).

3.2.1 Fecundación del óvulo.

El término **fecundación** (**Figura 2**) denota la unión de los núcleos del espermatozoide y del óvulo. Este proceso tiene lugar normalmente en las trompas uterinas cuando el óvulo ha recorrido el tercio superior de este conducto en dirección al útero. Después de la eyaculación, los espermatozoides migran dentro del útero y llegan a las ampollas localizadas en el extremo ovárico de las trompas de Falopio.

Antes de que un espermatozoide penetre al óvulo, debe atravesar las capas de células de la granulosa adheridas exteriormente al óvulo ("corona radiada") y la zona pelúcida que rodea al óvulo. Una vez que el espermatozoide entra en el óvulo, se observa el hinchamiento de la cabeza formando el pronúcleo masculino con 23 cromosomas que se alinean con los 23 cromosomas sin pareja del pronúcleo femenino para formar una dotación completa de 46 cromosomas (23 pares) en el óvulo fecundado (12,13).

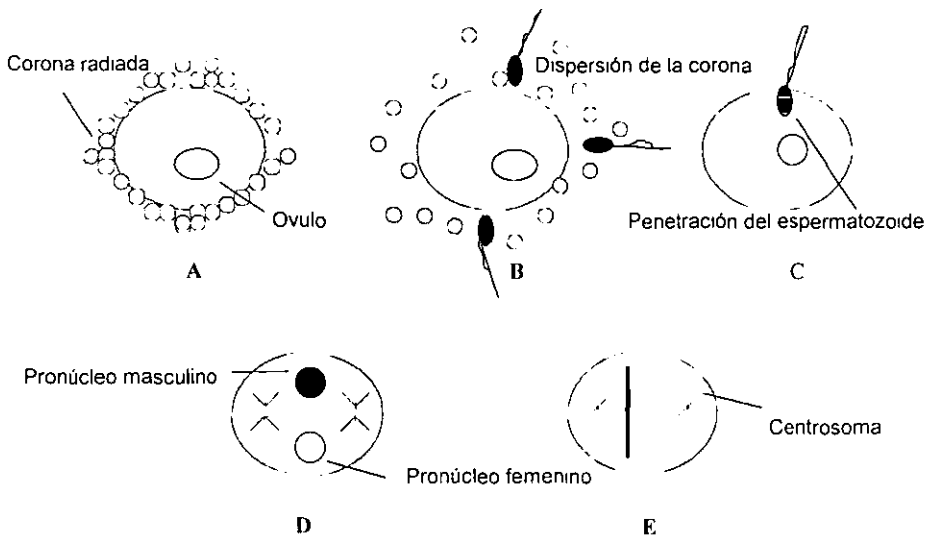


Figura 2. La fecundación del óvulo. **A.** el óvulo maduro se ve rodeado por las células de la corona radiada; **B.** el espermatozoide penetra la capa de células de la corona y estas se dispersan, **C.** ocurre la penetración del espermatozoide; **D.** se forman los pronúcleos masculino y femenino, **E.** se obtiene la dotación completa de cromosomas y se inicia la división del huevo

3.2.2 Implantación.

Después de la penetración del espermatozoide y de la unión de los pronúcleos, el cigoto resultante empieza a dividirse por mitosis y sus primeras etapas reciben el nombre de segmentación (11,12,13). Las células forman un racimo o **mórula**, que inicia el viaje hacia el útero, las células se dividen para formar el **blastocisto** el cual se implanta en el endometrio. Este periodo llamado blastogénesis es el primer periodo de la gestación y tiene una duración de siete días en la rata (3,14).

Durante el paso por el oviducto, las células de la mórula se diferencian en dos tipos, las contenidas en el interior del **blastocisto** y que forman el embrión y aquellas de la capa externa que forman el **trofoblasto**, una membrana protectora que suministra nutrimentos y que más adelante se convertirá en la placenta y otros tejidos envolventes

3.2.3 Período embrionario.

El proceso de implantación es seguido por el **periodo embrionario**, un periodo de organogénesis, caracterizado por la diferenciación celular y por la formación de la estructura de los órganos fetales, y su duración en la rata es de siete días (14). Al término de este período embrionario están presentes, aunque en forma rudimentaria, todos los órganos que tendrá un organismo adulto (12).

Las células del interior del blastocisto se diferencia en tres capas germinativas primarias: **ectodermo**, **endodermo** y **mesodermo**.

El estrato externo, llamado **ectodermo**, formará la base para la piel, las células de revestimiento de las glándulas que drenan en ella, las partes del ojo, la mayoría del sistema nervioso, la médula adrenal, la pituitaria, el epitelio de la nariz y de la boca, las glándulas salivales y el esmalte de los dientes.

El **endodermo** dará lugar al revestimiento epitelial de la mayor parte del tubo digestivo, de las glándulas que drenan en él, así como del epitelio de los oídos, la tiroides, la paratiroides, el timo, la próstata y de los tractos respiratorio y urinario

El **mesodermo** dará lugar a los órganos y tejidos restantes, incluyendo al hueso, al cartílago, a los tejidos conectivo y escleroso, a los dientes, a la musculatura, al sistema vascular y linfático; la mayor parte del sistema genito-urinario, la corteza suprarrenal y el revestimiento mesotelial de las cavidades pleural, pericárdica y peritoneal (3,14).

3.2.4 Período fetal.

El último período es llamado el **período fetal** el cual puede dividirse en período **fetal temprano** y período **fetal tardío** y tiene en la rata, una duración de siete días. Los órganos que se derivan de las capas germinativas primarias crecen con rapidez durante el período fetal y el producto adquiere un aspecto cada vez más completo. Después seguirá la formación de los principales órganos hasta su conclusión y de ahí en adelante los cambios más importantes son del desarrollo y el crecimiento (3,12,14)

El crecimiento del feto durante el embarazo es un proceso que requiere un aporte extra de nutrimentos y de energía para la madre ya que el aumento en el tamaño de los tejidos metabólicamente activos y el aumento en la síntesis tisular ocasiona un aumento en el metabolismo basal. El aumento de las necesidades del "concepto" (feto, placenta y líquido amniótico) induce el incremento en el consumo de alimento de la madre y de los cambios en el organismo materno requeridos para manejar la gran cantidad de nutrimentos y el consumo de oxígeno. Desde el momento en que el útero tiene una mayor demanda metabólica que el tejido materno, lo que ocurre hacia la fase final de la gestación recibe más nutrimentos por unidad de masa corporal que la madre. Más aún puede ser capaz de competir con la madre por los nutrimentos disponibles (15).

3.2.5 Membranas embrionarias.

Las **membranas embrionarias** que se forman durante el período del mismo nombre son de localización extraembrionaria; protegen y nutren al embrión y más adelante al feto. Las membranas de referencia son el **saco vitelino**, el **amnios**, el **corion** y la **alantoides**.

El **saco vitelino** es una membrana recubierta por endodermo que en muchas especies, aporta nutrimentos al embrión.

El **amnios** es una membrana delgada, que cumple funciones de protección y se encuentra superpuesta al embrión; esta capa rodeará totalmente al embrión, se llenará de líquido amniótico y tiene como función proteger al feto contra los impactos. El **amnios** suele romperse justo antes del parto, liberando el líquido que contiene

El **corion** es una membrana que rodea al embrión, y más adelante al feto, y después se transforma en la parte principal de la placenta, estructura que sirve para el intercambio de compuestos entre la madre y el feto.

La **alantoides** es una delgada capa vascularizada y sus vasos sanguíneos presentan una conexión en la placenta, entre la madre y el feto formando parte del cordón umbilical (12).

3.2.6 Placenta y cordón umbilical.

La **placenta** es un órgano especializado que se forma principalmente de tejido embrionario con el propósito de proveer al embrión/feto de oxígeno, nutrientes, hormonas y otras sustancias vitales, así como de remover los productos de desecho para prevenir su acumulación en el feto. Después de que el trofoblasto ha penetrado la mucosa uterina, ocurren cambios tanto en el tejido embrionario como en el materno para proporcionar un enlace entre los dos (3,16).

El trofoblasto forma dos cordones de enlace al blastocisto que a su vez están unidos al útero, los capilares sanguíneos procedentes del sistema vascular del embrión crece dentro de esos cordones y la sangre circula por ellos; alrededor de los cordones trofoblásticos se forman los senos sanguíneos por donde circula la sangre de la madre. Las células trofoblásticas emiten proyecciones que se convierten en las vellosidades placentarias dentro de las cuales, se desarrollan los capilares fetales. Por lo tanto, las vellosidades que transportan la sangre fetal, están rodeadas por los senos que contienen la sangre materna (13).

El **cordón umbilical** consiste en una capa externa de amnios, que incluye las arterias y las venas umbilicales y una capa interna de sostén compuesta por tejido mucoso de la alantoides (12). La sangre fetal circula siguiendo dos arterias umbilicales, avanza por los capilares de las vellosidades y finalmente regresa al feto por una sola vena umbilical; al mismo tiempo, el flujo sanguíneo de la madre, que procede de sus arterias uterinas penetra en los grandes senos maternos que rodean las vellosidades y regresa después a la madre por sus venas uterinas (13).

Existe una mayor superficie expuesta a la sangre materna, cuyo flujo al útero aumenta para dar un mayor aporte de nutrimentos; la sangre materna no se mezcla con la sangre fetal hasta el momento del nacimiento; antes, se encuentran separadas por membranas de las vellosidades a través de las cuales deben transportarse los nutrimentos y otros materiales (**Figura 3**). La placenta se vuelve funcional cuando el corazón del embrión empieza a latir y se establece su circulación (3,20)

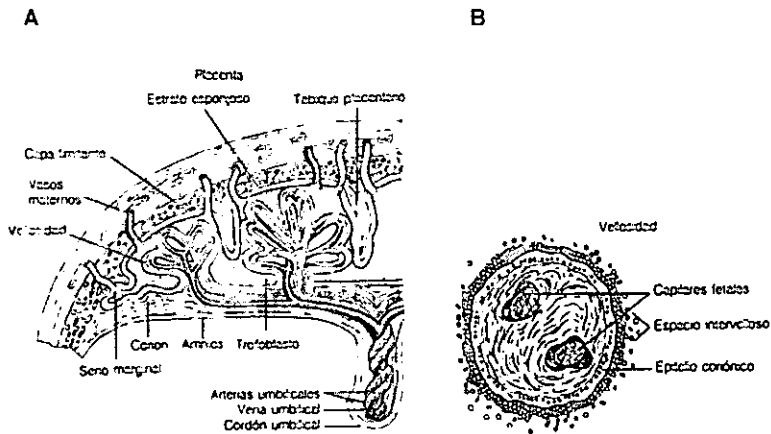


Figura 3. Estructuras de la placenta humana. A. Organización de la placenta madura B. Relación entre la circulación fetal y la circulación materna dentro de la vellosidad (13)

3.2.7 Permeabilidad placentaria y transporte de nutrimentos

El feto depende totalmente del aporte de nutrimentos del organismo materno, pues aunque puede sintetizar sus propios carbohidratos, lípidos y proteínas, requiere de un aporte suficiente de glucosa, aminoácidos, lípidos, minerales y proteínas (3).

En la transferencia de nutrimentos de la madre al feto se ve involucrada: la composición de la sangre materna, ya que determina la disponibilidad de oxígeno, nutrimentos y otros compuestos, el grado de transfusión sanguínea entre los espacios intervillosos, la integridad y la habilidad de la placenta para concentrar, sintetizar y transportar los nutrimentos, así como por la presión hidrostática en los espacios intervillosos.

El feto recibe, a través del cordón umbilical, glucosa que constituye el principal sustrato fetal, además de lactato y aminoácidos los cuales conduce a la acumulación de glucógeno en el hígado y el músculo y de triacilglicérolos en el tejido adiposo e hígado (17).

3.3 Hormonas involucradas en el embarazo.

Durante el embarazo, la placenta produce grandes cantidades de **gonadotropina corionica (hCG)**, **estrógenos**, **progesterona** y **somatomamotropina** que son indispensable para mantener el embarazo normal (13), sin embargo, se desconoce la relación entre los cambios endocrinos y las adaptaciones metabólicas que ocurren en la madre durante la gestación (12).

La endocrinología de la placenta es compleja, su papel tutor de la nutrición embrionaria le hace asumir muchas funciones que fuera del embarazo están localizadas en otras glándulas endocrinas como son la hipófisis, las suprarrenales y los ovarios (18).

3.3.1 La gonadotropina coriónica. En forma general, las funciones más importantes de esta hormona son: evitar la involución del cuerpo amarillo durante la primera

fase de la gestación, y dar el apoyo hormonal necesario para que el "concepto" se desarrolle hasta que la placenta produzca cantidades significantes de estrógenos.

Los niveles plasmáticos de la hCG aumentan poco tiempo después de la implantación para disminuir posteriormente. Esta hormona favorece la secreción de estrógenos y progesterona, los cuales estimulan el crecimiento del endometrio y el almacén de elementos nutritivos, necesarios para el desarrollo de los tejidos fetales y placentarios.

Las acciones de esta hormona son semejantes a las de la hormona luteinizante, promueve la esteroidogénesis ovárica y tiene efecto sobre las glándulas suprarrenales activando la producción de sus hormonas, además de ejercer una acción estimulante sobre la tiroides (12,19,21).

3.3.2 Los estrógenos (estradiol, estronal y estriol). Estas hormonas aumentan progresivamente su nivel sanguíneo hasta casi treinta veces; sintetizándose inicialmente en el cuerpo lúteo y posteriormente en estructuras de la madre, del feto y de la placenta, estimulan el crecimiento del útero, de las mamas, del tejido glandular y de los genitales externos femeninos, además de relajar los ligamentos pélvicos para que las articulaciones se tornen flexibles y elásticas. Los estrógenos, también participan en algunas adaptaciones metabólicas que ocurren en la madre, aunque no se ha establecido su papel específico (21).

3.3.3 La progesterona. La secreción de esta hormona aumenta hasta diez veces durante la gestación y por su efecto se observa la aparición de células deciduales en el endometrio uterino, mismas que desempeñan un papel importante en la nutrición del embrión. Esta hormona participa en el desarrollo del huevo incluso antes de su implantación, aumentando las secreciones tanto del útero como de las trompas de Falopio para suministrar a la mórula y al blastocisto en desarrollo, los elementos nutritivos adecuados. Además, la progesterona controla la división celular en el embrión en desarrollo, prepara las mamas para la lactancia y estimula la secreción de insulina afectando con

ello, los procesos metabólicos. Esta hormona participa en la relajación de la musculatura lisa materna (12,13,19)

3.3.4 La somatotropina coriónica, o lactógeno placentario (HPL) provoca el desarrollo de las mamas, tiene gran influencia en la lactancia y ejerce una acción débil, similar a la hormona de crecimiento, favoreciendo la síntesis y la acumulación de proteínas en los diversos tejidos. Esta hormona reduce la sensibilidad de los tejidos a la insulina con lo que disminuye el consumo de glucosa por la madre y favorece la disponibilidad de este metabolito por el feto. Además esta hormona induce la liberación de ácidos grasos de los depósitos maternos, suministrando una fuente alterna de energía.

La hormona procede del sincicio-trofoblasto y parece jugar un papel importante como factor de crecimiento para el feto y/o la placenta, además de tener implicaciones nutricionales para la madre y el feto. El incremento en sus niveles plasmáticos se han relacionado con el catabolismo observado en la madre a partir del segundo trimestre del embarazo (13,19,21).

3.3.5 Las demás glándulas endocrinas no sexuales de la madre reaccionan frente al embarazo, debido en parte al aumento en el metabolismo materno y en parte al efecto de las hormonas placentarias sobre la hipófisis anterior y otras glándulas.

La hipófisis anterior crece cuando menos el 50% durante el embarazo, aumentando su producción de **corticotropina, tirotropina, y prolactina**.

La producción de la hormona **folículo estimulante (FSH)** y de la hormona **luteinizante (LH)** disminuye a causa de los efectos inhibidores de los estrógenos y la progesterona.

La secreción de **glucocorticoides y aldosterona** aumenta durante la gestación y tal vez ayudan en la liberación de aminoácidos de los tejidos maternos para ser utilizados en la síntesis de tejidos fetales.

Las **paratiroides** incrementan su tamaño sobre todo si la alimentación materna es pobre en calcio ya que causa la reabsorción de calcio de los huesos maternos con lo que se conserva una concentración normal de iones calcio en los tejidos extracelulares de la madre, conforme el feto utiliza calcio para sus propios huesos (13).

Los cambios hormonales, junto con la necesidad de satisfacer los requerimientos de sustratos energéticos y estructurales para mantener el adecuado crecimiento y desarrollo del "concepto", condicionan los cambios metabólicos que ocurren en la madre (21).

3.4 Adaptaciones metabólicas del organismo materno.

Durante el embarazo ocurren una serie de cambios en el metabolismo materno que le permiten hacer frente a esta etapa de elevadas demandas metabólicas. El incremento del volumen sanguíneo es uno de los primeros cambios que ocurren en la madre gestante, en los humanos se presenta alrededor de las 10 primeras semanas del embarazo y en la rata a los 12 días (21)

La primera fase de la gestación que abarca los dos primeros tercios de ella se caracteriza por ser anabólica para la madre. En esta fase, el crecimiento fetal y sus requerimientos metabólicos son mínimos, pero la madre incrementa sus reservas corporales destacando la de lípidos (23-27) lo que ocurre en presencia de una intensa hiperplasia y de una hiperinsulinemia materna (21) y aunque la glucemia se encuentra inalterada, en el segundo tercio de la gestación se puede manifestar un deterioro de la tolerancia a la glucosa. Se ha descrito además, que en esta fase puede estar aumentada la sensibilidad a la insulina. Todo esto condiciona los cambios metabólicos que ocurren en la madre. En animales experimentales se ha demostrado un aumento en la lipogénesis de algunos tejidos maternos (tejido adiposo, hígado y en la carcasa) (21,28).

El intenso transporte de metabolitos hacia el feto, que tiene lugar durante el último tercio del embarazo, obliga al organismo materno a realizar una serie de adaptaciones metabólicas, probablemente regidas por cambios hormonales (21)

Los resultados de Beaton y Naismith muestran que la rata, retiene lípidos y proteínas desde la primera semana de embarazo hasta cerca del término de este, cuando la proteína acumulada es movilizada pero los lípidos son conservados aún después del parto (25,29).

Cerca del 60% de la proteína acumulada es localizada en el feto, la placenta y el líquido amniótico y el resto representa la ganancia del útero, de la glándula mamaria y de la sangre. Se ha propuesto que en el humano, la proteína representa uno de los 12 kilogramos de peso ganados por la madre durante el embarazo del cual, 50% se deposita en el feto, 25% en el útero y la glándula mamaria, 10% en la placenta y 15% en la sangre y el fluido amniótico (17).

3.4.1 Metabolismo del nitrógeno en la madre.

La madre mantiene, durante la gestación, un balance de nitrógeno positivo mejor al de los animales no gestantes (17). La retención de nitrógeno desde las primeras etapas de gestación, cuando el "peso anabólico" de la unidad feto-placentaria es prácticamente nulo, facilitará el anabolismo materno y fetal (25).

Naismith sugirió en 1976 un comportamiento bifásico del metabolismo materno de proteínas durante la gestación, en el cual se favorece la acumulación de proteínas durante los dos primeros tercios, para movilizarlas en el último tercio y garantizar el crecimiento fetal, basado en cambios en la concentración de proteínas en la carcasa materna a lo largo de la gestación y de observaciones donde la placenta y los fetos de ratas mal nutridas durante la última etapa de la gestación, incrementan su celularidad si las madres tuvieron acceso a una dieta equilibrada en la primera fase de la gestación (2).

A pesar de esas evidencias, los pocos datos existentes acerca de la síntesis y el catabolismo de las proteínas durante la gestación no permiten confirmar la existencia del patrón bifásico (30,31,32).

3.4.2 Relaciones madre-feto.

La unidad feto-placentaria crece exponencialmente en el último tercio de la gestación, por lo que la síntesis de nuevas estructuras requiere un elevado paso transplacentario de aminoácidos el cual aumenta a medida que avanza el embarazo por lo que el metabolismo nitrogenado materno se ve sometido a una fuerte presión metabólica que será cubierta, en gran medida, por un incremento en el consumo de alimentos y por el desarrollo de diversos mecanismos destinados a ahorrar nitrógeno (17) .

La concentración plasmática de aminoácidos en el feto son siempre mayores a los niveles maternos, por lo que el transporte en la placenta es en contra del gradiente de concentración y la captación de aminoácidos aumenta a medida que avanza el periodo gestacional gracias al incremento del flujo sanguíneo utero-placentario (33).

El metabolismo nitrogenado fetal se caracteriza por un elevado recambio de proteínas (síntesis y catabolismo) que resulta en una acumulación de proteínas, lo que también significa una alta tasa de recambio de aminoácidos (34) Además, la elevada actividad catabólica de aminoácidos del feto, se traduce en una fuerte producción de urea que es exportada en grandes cantidades hacia la madre (35).

3.4.3 Metabolismo de lípidos.

Como ya se mencionó, la madre acumula durante la gestación una cantidad considerable de reservas energéticas. El principal componentes de esa reserva corresponde a las grasas, que en la mujer llegan a contribuir hasta en un 28% del peso que esta gana en la gestación (21). De acuerdo con algunos autores la formación de esa reserva

ocurre en los dos primeros tercios de la gestación antes de que inicie el rápido crecimiento del "concepto" En el último tercio, las reservas lipídicas de la madre permanecen inalteradas o inclusive llegan a disminuir (15, 25)

3.5 La nutrición durante el embarazo.

La importancia de la nutrición en la reproducción es evidente a partir del hecho de que el tejido, ya sea materno o fetal, se forma de nutrimentos provenientes de la dieta materna, pasada o presente. La madre que está bien nutrida cuando concibe y cuya dieta durante el embarazo contiene los nutrimentos en cantidad, calidad y proporción suficientes para satisfacer sus requerimientos aumentados, muestra menos complicaciones durante el embarazo y el parto, producirá un infante más saludable y estará en mejores condiciones físicas después del parto, que una progenitora cuyo estado nutricional es marginal o insuficiente (3,29,37).

Para que el organismo materno pueda cubrir las demandas de la gestación emplea dos vías principales: la dieta y la movilización de reservas corporales formadas en este mismo período. Con respecto a la dieta, la madre incrementa su consumo de alimentos durante el embarazo y en relación con las reservas corporales está bien documentado que, durante el embarazo, el organismo materno acumula en el tejido adiposo, una cantidad de triacilgliceroles que son completamente movilizados durante la lactancia para la elaboración de la leche y para el suministro de energía (23,24,27) sin embargo en el caso de las reservas de proteínas, se ha sugerido que las proteínas acumuladas durante el embarazo son utilizadas para cubrir las necesidades del feto (26).

Naismith y Morgan han observado que durante los dos primeros tercios del embarazo en la rata, la madre forma una "reserva de proteínas" misma que es movilizada en el último tercio para apoyar el rápido crecimiento del feto (2) propuesta que ha sido apoyada por algunos investigadores (39,40), sin embargo, no se ha descrito una ubicación para

esa reserva, aunque algunos autores han sugerido al músculo esquelético como un sitio posible ya que constituye cerca del 40% del peso corporal y el 25% de las proteínas totales del organismo. Algunos estudios refuerzan esta propuesta, pues se ha observado, durante la gestación, un incremento en la captación de aminoácidos y en la síntesis de proteínas del músculo estriado (23,26,38).

Sin embargo, otros estudios han mostrado que los fetos de una rata desnutrida no utilizan los almacenes de energía maternos y consecuentemente los fetos muestran un retardo en el crecimiento uterino y las crías son más pequeñas y de menor peso ya que la madre no compromete su vida por la del feto (41).

La notable capacidad del organismo materno para ajustarse a los cambios en el medio interno dependiendo del aporte de nutrimentos, es especialmente marcada durante el embarazo pues, por ejemplo, se observa un aumento en la absorción de nutrimentos, en la retención de nitrógeno y de agua y en el aporte suficiente de glucosa, aminoácidos y otros nutrientes al feto. Una dieta materna insuficiente y el agotamiento del organismo materno por embarazos repetidos sin una ingesta nutricional suficiente es, a largo plazo perjudicial para la salud materna (3).

Uno de los principales problemas de salud pública en los países en desarrollo es la nutrición deficiente asociada con una elevada incidencia de mortalidad prenatal y crecimiento atrofiado y donde resalta que las dietas son típicamente marginales en energía y deficientes tanto en la calidad como en la cantidad de las proteína consumidas.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El embarazo es un proceso predominantemente anabólico en el cual se requieren sustratos no sólo para el mantenimiento del organismo materno sino también para la síntesis de tejido nuevo (feto, placenta y membranas). La constante demanda de la unidad feto-placentaria provoca importantes adaptaciones fisiológicas en la madre para garantizar su desarrollo; por lo que el organismo materno se ve obligado a formar reservas corporales durante la primera fase de la gestación para movilizarlas en la segunda fase y abastecer el rápido crecimiento fetal (2,42).

Por otra parte se ha demostrado que en varias especies de mamíferos incluyendo al hombre, el organismo materno pierde masa proteínica muscular durante la lactancia con el objeto de satisfacer la demanda de aminoácidos para la síntesis de la leche (23, 24, 27), sin embargo, se desconoce la influencia que tiene la concentración de proteínas en la dieta sobre la posible formación de reservas corporales de proteína durante la gestación en la rata, por lo que nuestro estudio fue diseñado para contestar las siguientes preguntas

- ¿ El organismo materno forma una reserva de proteínas durante las primeras etapas de la gestación ?
- ¿ Cómo se afecta la formación de las reservas corporales (proteínas y lípidos) cuando la madre es alimentada de manera crónica con una dieta baja en proteína ?
- ¿ Cómo afecta la alimentación crónica de la madre con una dieta baja en proteína el peso del hígado y del útero materno y el peso de las unidades feto-placentarias?

5. JUSTIFICACION

La gestación es un proceso con exigencias elevadas para el organismo materno, por lo que este debe realizar adaptaciones importantes en su metabolismo para garantizar el desarrollo del feto.

En los países en desarrollo existen comunidades rurales y marginadas en donde la población se alimenta con dietas con bajo contenido de proteínas o donde las proteínas son de calidad insuficiente lo cual impide a las madres cubrir los requerimientos maternos aumentados durante la gestación y que puede ser un factor limitante en la formación de las reservas corporales y afectar el desarrollo óptimo de las crías

Ya que la disponibilidad de nutrimentos para realizar una gestación exitosa depende de la dieta y de la movilización de las reservas corporales, es importante determinar el efecto de la alimentación crónica con una dieta deficiente en proteínas sobre la formación, durante la gestación, de la reserva corporal de proteínas y su impacto en el crecimiento de las unidades feto-placentarias.

Los resultados del presente estudio realizado en ratas, podrían sugerir los cambios que ocurren en las mujeres embarazadas de las comunidades antes mencionadas las cuales presentan una deficiencia en el consumo de proteínas en su alimentación, lo que nos permitirá conocer mejor las adaptaciones que realiza el organismo materno durante la gestación bajo esas condiciones.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de la alimentación crónica con una dieta baja en proteínas sobre la formación de las reservas corporales en la rata gestante y su influencia en el número y el tamaño de las unidades feto-placentarias.

6.2 Objetivos específicos

- Relacionar la ganancia de peso corporal de la rata durante la gestación con el tipo de dieta consumida.
- Determinar en la rata, el efecto de la alimentación crónica con dos dietas de diferente contenido de proteínas, sobre la formación de las reservas corporales maternas (lípidos y proteínas) durante la gestación.
- Estudiar el efecto, en la rata gestante, de la alimentación crónica con dietas cuyos contenidos de proteína sean contrastantes, sobre el peso del útero, la placenta, los fetos y el número de unidades feto-placentarias.
- Comparar el peso del hígado en ratas gestantes alimentadas crónicamente con dietas contrastantes en su contenido de proteínas.

7. HIPOTESIS.

7.1 Hipótesis general

- La alimentación crónica de la rata gestante con una dieta baja en proteínas afectará la formación de las reservas corporales de la madre e influirá en el número y el peso de las unidades feto-placentarias.

7.2 Hipótesis específicas

- La ganancia de peso corporal durante la gestación será menor en las ratas alimentadas con una dieta baja en proteínas si se compara con la ganancia de peso en grupo alimentado con una dieta normal en proteínas.
- La reserva de proteínas en la carcasa de las ratas gestantes será menor cuando los animales sean alimentados crónicamente con una dieta baja en proteínas si se compara con la reserva formada por los animales alimentados con una dieta normal en proteínas
- La formación de la reserva de lípidos en la madre no se verá modificada cuando la madre sea alimentada crónicamente con la dieta baja en proteína.
- El número de unidades feto-placentarias y el peso de los fetos se verá afectado negativamente cuando la madre reciba crónicamente una dieta deficiente en su contenido proteínico.
- El peso del hígado será menor en las madres alimentadas crónicamente con la dieta baja en proteína.

8. METODOLOGIA.

8.1 Organización de los animales.

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley de 14 semanas de edad, que tuvieran un peso de 240 ± 20 g, con el fin de asegurar que el aumento de peso se pueda deber únicamente a dos factores: el tipo de dieta consumida y el estado fisiológico de los animales. Hasta esta edad las ratas recibieron un alimento comercial (Nutricubos de Purina) y agua a libre demanda.

Las ratas se colocaron en jaulas colectivas de material plástico con un máximo de 8 animales, se mantuvieron en un cuarto acondicionado a una temperatura de 22°C y un ciclo de luz oscuridad de 12:00 horas iniciándose el ciclo luminoso a las 07:00 horas. El estudio se realizó en el Bioterio del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

8.2 Elaboración de las dietas.

Las dietas se prepararon en la cocina metabólica de la Unidad de Investigación Médica en Nutrición del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Se realizaron dos tipos de dieta purificada que contenían 13% (**BP**) y 20% (**NP**) de proteína, en las cuales se utilizó caseína como fuente de proteína, con un 90% de digestibilidad. (Tabla 1)

Ambas dietas isocalóricas presentaron un Valor Calórico Total (VCT) de 3800 kilocalorías por kilogramo de alimento, se modificó el contenido de glucosa, almidón y lípidos en la dieta baja en proteína (1).

Los componentes de las dietas se pesaron en una báscula Ohaus, (sensibilidad de 0.1 g, modelo TP4KD) y posteriormente se mezclaron en una batidora industrial Hobart

(capacidad 2 litros, velocidad 1) con 800 mL de agua destilada. Para la dieta NP se utilizaron 2.5 mL de colorante para alimentos Mc-Cormick color verde y 2.5 mL de color rojo para la dieta BP.

Con estas dietas en pasta se elaboraron galletas en forma de medios círculos con ayuda de una pistola para hacer galletas (Wilton Enterprise) y una espátula. Los productos fueron colocados en charolas de acero inoxidable y se dejaron secar a temperatura ambiente.

8.3 Alimentación de los animales.

Al término de la semana 13 las ratas se designaron de manera aleatoria a cualquiera de las dos dietas, y se alimentaron con la dieta respectiva durante las semanas 14 y 15. A este lapso de alimentación específica se le denominó periodo de adaptación.

El alimento y el agua se proporcionaron a libre demanda hasta el término del periodo de gestación. Desde la semana 14 y durante todo el periodo en estudio se determinó cada tercer día la curva de ganancia de peso de los animales y el alimento ingerido, este control se llevó a cabo entre las 9:00 y 10:00 horas para evitar variaciones circadianas.

8.4 Registro del consumo de alimento.

A partir del primer día de adaptación hasta el término del periodo de gestación se registró el consumo de alimento tres veces por semana. El consumo de alimento de las ratas embarazadas y no embarazadas. Para conocer el consumo durante el periodo de adaptación se dejaron 500 g por jaula (8 animales) de la dieta asignada; al tercer día se pesó el alimento residual de los 500 g que se dejaron con anterioridad y se agregó alimento nuevo hasta completar 500 g.

Tabla 1. Composición de las dietas NP y BP.

Componente (g/Kg de alimento)	Dieta NP (20% proteína)	Dieta BP (13 % proteína)
Caseína ⁽¹⁾	200.00	123.00
Glucosa en polvo	346.75	375.00
Almidón de maíz	346.75	375.25
Aceite de maíz	25.30	33.70
α -celulosa ⁽²⁾	37.80	37.80
DL-metionina ⁽³⁾	3.00	3.00
Minerales mixtos ⁽⁴⁾	26.10	26.10
Vitaminas mixtas ⁽⁵⁾	10.00	10.00

1) Caseinato de calcio Biotecnología y nutrición, contenido por 100 g; proteína 86-90 g, minerales de 6-8 g, grasa 0-2 g, humedad 0-6.2 g.

2) Celulosa: Sigma Aldrich chemie, Steinheim, Germany.

3) DL-metionina, Aprox .95.5%, Sigma St. Louis USA

4) Los minerales mixtos contienen por Kg de mezcla; molibdato de amonio 0.025 g, carbonato de calcio 292.9 g, fosfato de calcio 4.9 g, sulfato cúprico 1.36 g, citrato férrico 6.23 g, sulfato de magnesio 99.8 g, sulfato de manganeso 1.21 g, selenito de sodio 0.015 g, cloruro de zinc 0.2 g.

5) La mezcla de vitaminas contiene por Kg de mezcla; ácido p-aminobenzóico 11.01 g, ácido ascórbico 101.66 g, biotina 0.044 g, pantotenato de calcio 6.61 g, citrato de colina 349.69 g, ácido fólico 0.20 g, inositol 11.01 g, menadiona 4.95 g, niacina 9.91 g, piridoxina 2.20 g, riboflavina 2.20 g, tiamina 2.20 g, palmitato de retinol anhidro 3.96 g, ergocalciferol anhidro 0.44 g, y DL-acetato de tocoferol anhidro 24.23g.

El alimento consumido se calculó por la diferencia entre el peso colocado y el peso del alimento remanente, dividido entre el número de ratas en la jaula y entre los días comprendidos. Durante el período de cruce el registro del consumo de alimento es el mismo solo que se colocaron dos machos por cada 5 hembras en una jaula y se dejaron 500 g de alimento de la dieta correspondiente.

8.5 Período de cruce, toma de muestra y realización del frotis vaginal.

Al cumplir la semana 16, las ratas fueron cruzadas en un período de siete días con machos de la misma cepa (dos machos por cinco hembras). Durante este período se realizó diariamente un frotis vaginal para identificar la presencia de espermatozoides, para esto, se introdujeron en el orificio vaginal, con la ayuda de una punta plástica para micropipeta, 0.2 mL de una solución 0.9% de NaCl e inmediatamente se aspiró el contenido vaginal, el cual se extendió de manera uniforme sobre un portaobjetos y se observó al microscopio óptico con un aumento de 10x. La presencia de espermatozoides en el frotis nos indicó el primer día de embarazo; después de lo cual, las hembras se colocaron en jaulas individuales y se siguió la evolución de la gestación (7,42,43).

8.6 Grupos de estudio.

8.6.1 Animales control (Dieta normal en proteína, NP)

8.6.11 Ratas vírgenes. Animales no embarazados alimentados a libre demanda con una dieta normal en proteína (NP 20%) desde la semana 14 hasta la semana 19 de edad; equivalentes a la primera y segunda semanas de adaptación y a las tres semanas de gestación.

8.6.1.2 Ratas embarazadas. Alimentadas "ad libitum" con una dieta normal en proteína (**NP** 20%), durante las dos semanas de adaptación y las tres semanas de gestación (de la semana 14 hasta la semana 19).

8.6.2 Animales experimentales (Dieta baja en proteína, BP)

8.6.2.1. Ratas vírgenes. Animales no embarazados alimentados a libre demanda con una dieta deficiente en proteína (**BP** 13%), desde la semana 14 hasta la semana 19 de edad; equivalentes a la primera y segunda semanas de adaptación y a las tres semanas de la gestación.

8.6.2.2. Ratas embarazadas. Alimentadas "ad libitum" con una dieta baja en proteína (**BP** 13%) durante las dos semanas de adaptación y las tres semanas de gestación (semana 14 a la semana 19 de edad).

La **Tabla 2** resume la información de esta sección.

8.7 Sacrificio y preparación de la carcaza.

El sacrificio de las ratas se realizó por asfixia con éter dietílico entre las 9:00 y 10:00 horas para evitar variaciones circadianas (43)

Los animales se sacrificaron de acuerdo a la siguiente relación:

8.7.1. El último día de la primera semana de adaptación.

8.7.2. El último día de la segunda semana de adaptación.

8.7.3. Los días 7, 14 y 21 del periodo de gestación.

El cuerpo del animal se despojó de la piel, la cabeza, las patas, la cola y las vísceras obteniendo como resultado la fracción de músculo y hueso a la cual se le denomina carcaza. La carcaza se colocó en una bolsa de plástico, previamente rotulada y tarada,

se pesó y se conservó en congelación a -20°C para su posterior análisis de composición corporal.

Tabla 2. Grupos de estudio

Dieta	NP		BP	
Estado Fisiológico	Virgen	Gestante	Virgen	Gestante
Adaptación				
1a semana	♣	---	♣	---
2a semana	♣	---	♣	---
Gestación				
7	♣	♣	♣	♣
14	♣	♣	♣	♣
21	♣	♣	♣	♣

8.8 Registro del peso del “concepto”, del útero e hígado.

Se extrajeron el hígado y el útero de la cavidad abdominal, eliminando la grasa visceral, se registró el peso del hígado, del útero con los fetos y el número de unidades feto-placentarias. Posteriormente se disecó el útero obteniendo al “concepto” (fetos, placentas y líquido amniótico) y se pesaron por separado. Por último, se despojó a cada unidad feto-placentaria de su placenta y del saco vitelino y se pesaron por separado las placentas y los fetos.

La disección del útero y la obtención de las unidades feto-placentarias se realizó únicamente a los 21 días de la gestación. Para el caso de los animales vírgenes se registró únicamente el peso del útero y el hígado por obvias razones.

8.9 Procesamiento de la carcaza y determinación de humedad.

Las carcazas se descongelaron sumergiéndolas en agua y se cortaron en trozos con ayuda de unas tijeras. Los fragmentos se licuaron durante 2 min. con un volumen indefinido de agua destilada. El licuado resultante fue vaciado en una charola de papel aluminio previamente forrada con plástico, pesada y etiquetada, y se llevó a sequedad en un horno a 120°C hasta peso constante. El contenido de humedad se determinó por diferencia de peso.

El residuo se separó del plástico, se fragmentó con un mazo y se pulverizó (Picato Osterizer, modelo ADO-M) hasta obtener un polvo fino que se conservó en frascos de plástico previamente rotulados y almacenados en refrigeración (4°C) hasta su uso.

8.10 Composición corporal.

8.10.1 Determinación de lípidos totales en la carcaza de rata.

Se utilizó el método de Goldfish, el cual se basa en la extracción de la grasa de una muestra por reflujo con un disolvente orgánico (éter etílico, éter de petróleo (44).

Para esta determinación se pesó 1 g de polvo de la carcaza y se depositó en un cartucho de celulosa (Whatman cat 2800228) y se colocaron en dedales de vidrio de un extractor de lípidos tipo Goldfish (Labconco). Los lípidos fueron extraídos durante 4 horas a reflujo constante con éter dietílico. Transcurrido este lapso se evaporó el disolvente y los vasos se llevaron a peso constante y se determinó el peso del residuo lipídico.

8.10.2 Determinación del nitrógeno proteínico en la carcaza de rata

Para este propósito se utilizó el método de Kjeldahl (44), el cual se basa en la digestión ácida de las proteínas con ácido sulfúrico a altas temperaturas para la obtención de sulfato de amonio el cual se hace reaccionar con un álcali y es destilado posteriormente para obtener amoniaco, mismo que será recolectado en una solución de ácido bórico y determinando el nitrógeno total por medio de titulación con ácido clorhídrico.

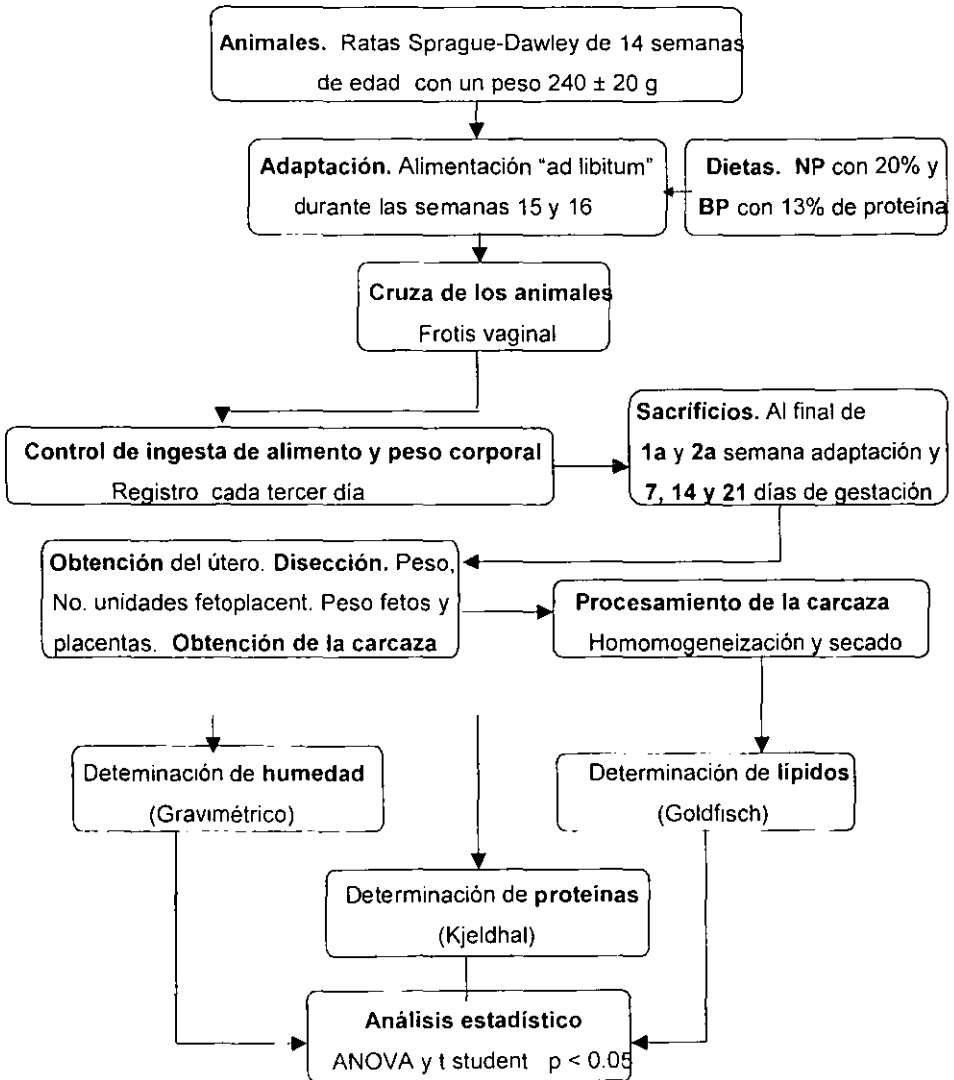
Para eso se pesaron 20 mg de polvo de la carcaza (balanza Ohio, Jupiter, sensibilidad de 0.01 mg), los cuales se colocaron en tubos "digestores" y se mezclaron con 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (96%) y 0.50g del catalizador de aluminio y selenio (Kjel-tabs auto, Tecator cat 1527-0001, 1.5 g de sulfato de potasio y 7.5 mg de selenio). Después de calentar durante 3 horas a 300°C, en una placa de digestión (Digestion system 40, Tecator cat1016) el sulfato de amonio formado se hizo reaccionar con hidróxido de sodio al 50% para formar amoniaco, cuya concentración se determinó por titulación con HCl 0.03N (Kjeltec auto sampler system, Tecator 1035). Este sistema muestra directamente los mililitros de ácido clorhídrico gastados

8.11 Análisis estadístico.

Los resultados son expresados como promedio \pm su desviación estándar. Los datos del peso de la rata madre, consumo de alimento y consumo de proteína se analizaron por análisis de varianza unidireccional (ANOVA de una vía), el peso del útero, la placenta, las unidades placentarias y el hígado se compararon por t de Student.

Los valores obtenidos de composición corporal de las ratas embarazadas se contrastaron con su grupo control virgen pareado en edad, esta comparación se realizó también entre los grupos **BP** y **NP**, a través de un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando el programa estadístico Minitab y comparados con la prueba de t de Student tomando un nivel de significancia de 0.05 ($p < 0.05$) (45)

8.12 Diagrama de trabajo

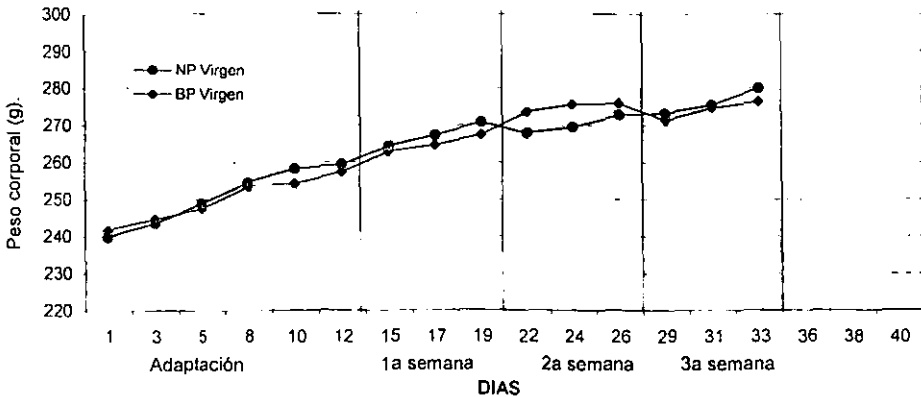


9. RESULTADOS

9.1 Peso corporal de las ratas.

En la **gráfica 1** se muestra la influencia de la alimentación con las dietas **NP** y **BP** sobre el peso corporal de las ratas vírgenes. Los animales iniciaron el estudio con pesos corporales cercanos a los 240 g mostrando incrementos, durante el periodo de observación, de 17 % en los animales alimentados con la dieta **NP** y de 14 % en los alimentados con la dieta **BP**. Esos incrementos no son estadísticamente diferentes.

Gráfica 1. Comparación del cambio en el peso corporal de las ratas vírgenes alimentadas con las dietas NP y BP.

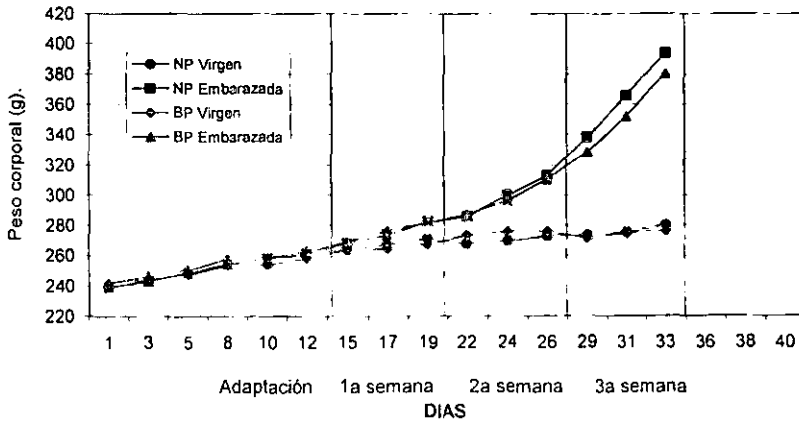


La **gráfica 2** muestra los cambios en el peso corporal de las ratas vírgenes y gestantes alimentadas con ambas dietas. En todo el periodo de estudio los grupos gestantes presentaron un comportamiento similar, incrementando su peso con respecto al peso de los animales no embarazados, desde el tercer día de la gestación sin embargo no se ob-

servaron diferencias significativas entre los animales gestantes alimentados con las diferentes dietas

Durante la segunda y tercera semanas los cambios son mas importantes alcanzando el máximo el día 21 de la gestación observándose un incremento máximo en el grupo NP de 52 % respecto a su peso inicial y de 40 % respecto a su control virgen pareado en edad. El peso corporal del grupo BP mostró el día 21 de la gestación un peso 47 % mayor respecto al inicio del embarazo y de 37% comparado con el peso de su control virgen pareado en edad. Las diferencias en los pesos corporales dependiendo del tipo de dieta consumida no son estadísticamente significativas.

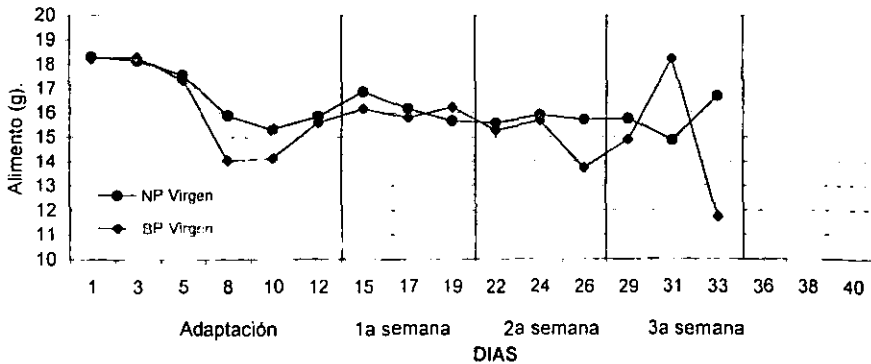
Gráfica 2. Comparación del cambio en el peso corporal de las ratas vírgenes y gestantes alimentadas con las dietas NP y BP.



9.2 Consumo de alimento

En la **gráfica 3** se comparan las variaciones en el consumo de alimento de las ratas vírgenes alimentadas con las dietas **NP** y **BP**. Se observa que durante la primera semana de adaptación, ambos grupos consumen en promedio 17.9 g de alimento, disminuyendo a 15.3 g en la segunda semana de adaptación. Aunque se observa una mayor reducción en el consumo del grupo **BP**, la diferencia no es significativa en relación al grupo **NP**. El consumo de las ratas vírgenes de ambos grupos durante las dos primeras semanas del tiempo equivalente a la gestación, no mostró cambios significativos (~16 g).

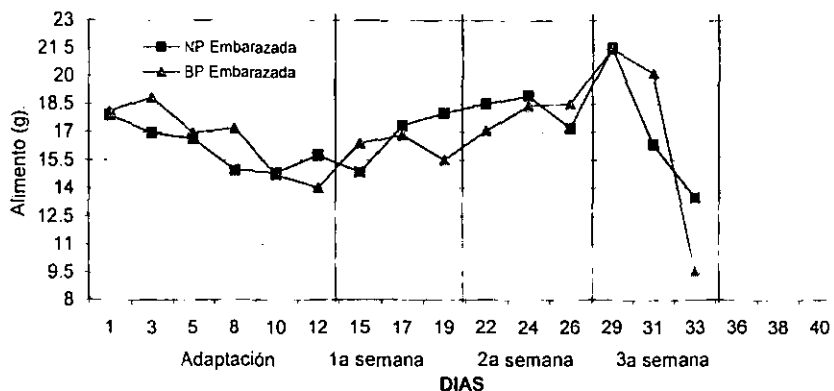
Gráfica 3. Comparación del consumo de alimento de las ratas vírgenes alimentadas con las dietas NP y BP.



El efecto de las dietas **NP** y **BP** sobre el consumo de alimento de las ratas gestantes se muestra en la **gráfica 4**. A partir del día 15 del periodo de estudio las ratas de ambos grupos aumentan paulatinamente su consumo alcanzando, los días previos a la conclusión de la gestación, un máximo de 21.5 g para las ratas alimentadas tanto con la dieta **NP** como con la **BP**.

Una observación interesante hecha en los animales de ambos grupos fue que el día previo al parto los animales redujeron considerablemente el consumo de alimento, siendo mayor el cambio en los animales alimentados con la dieta BP (-8 g en el grupo NP y de -12 g en el grupo BP).

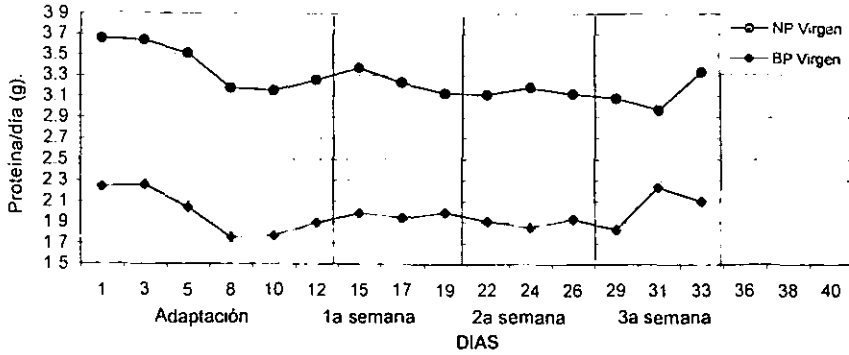
Gráfica 4. Comparación del consumo de alimento de las ratas gestantes alimentadas con las dietas NP y BP.



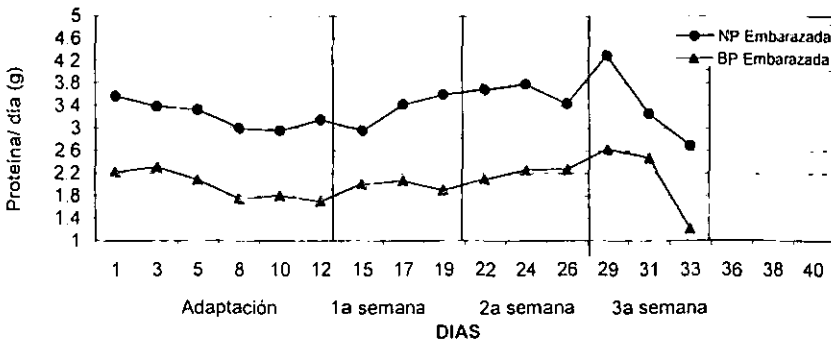
9.3 Consumo de proteína

La **gráfica 5** muestra el consumo de proteína de las ratas vírgenes alimentadas con las dietas NP y BP. Se observa que, de acuerdo a la diferencia en la concentración de proteínas contenida en las dietas, las ratas NP presentan un consumo de proteínas 64% mayor al de las ratas alimentadas con la dieta BP. Una observación similar se obtuvo con los animales gestantes (**gráfica 6**).

Gráfica 5. Comparación del consumo de proteína de las ratas vírgenes alimentadas con las dietas NP y BP.



Gráfica 6. Comparación del consumo de proteína por día de las ratas gestantes alimentadas con las dietas NP y BP.



9.4 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso del útero junto con las unidades feto-placentaria.

En el **cuadro 1** se presentan las variaciones en el peso del útero que incluye las unidades feto-placentarias de las ratas gestantes alimentadas con ambas dietas. Si se compara el peso de las unidades en los animales alimentados con la dieta **NP** en las diferentes semanas de la gestación puede observarse que aquel se incrementa con el desarrollo de la gestación así, el útero muestra a los **14** días un peso significativamente mayor que al día **7** (+13.12 g) mientras que el día **21**, el peso es 66.99 g mayor al del día **14** o sea un incremento de 80.127 g en total, en función del crecimiento de los fetos.

El grupo alimentado con la dieta **BP** mostró un patrón similar y no se observaron diferencias significativas con el grupo **NP**.

Cuadro 1. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta Sobre el peso del útero junto con las unidades feto-placentarias durante la gestación

Días de gestación	Peso del útero +unidades feto-placentarias (gramos)	
	Dieta NP	Dieta BP
7	3.01 ± 1.85	1.44 ± 0.71
14	16.15 ± 9.07	12.78 ± 2.56
21	83.14 ± 12.61	86.78 ± 22.60

¹ Los valores se presentan como el promedio en gramos ± la desviación estándar de 8 animales por cada grupo.

9.5 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso del útero

El efecto del tipo de dieta sobre la variación en el peso del útero de las ratas vírgenes se muestra en el **cuadro 2**. En él se observa un aumento en el peso del órgano de ambos grupos de estudio (**NP** y **BP**), propio de la edad de los animales, sin embargo, esas diferencias no son estadísticamente significativas.

El **cuadro 2** muestran que, como es de esperarse, el peso del útero de las ratas gestantes se incrementa significativamente con respecto al órgano de los animales vírgenes de ambas dietas; observándose al día **21** de los animales **NP**, un incremento significativo de 46% en relación al peso del día 14 de la gestación ($p < 0.0001$) mientras que el aumento observado en los animales gestantes **BP** en ese mismo periodo fue de 89 % ($p < 0.001$). No se observan diferencias significativas en el peso de los órganos de las ratas gestantes ocasionadas por la dieta.

9.6 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el número de unidades feto-placentarias.

El efecto de alimentar a las ratas con las dietas cuyos contenidos de proteínas son contrastantes sobre el número de unidades fetoplacentarias se muestra en la **gráfica 7**.

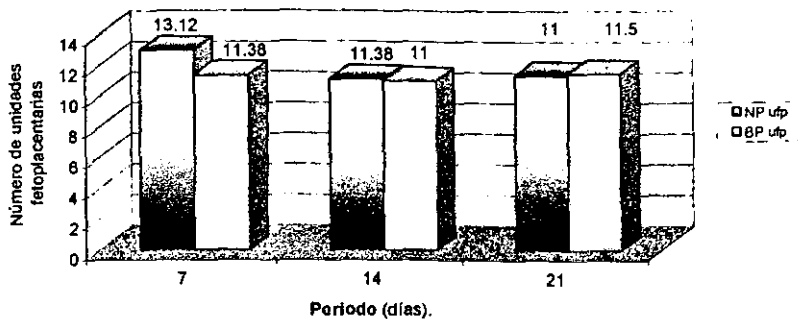
Se puede observar que no hay cambios en el número de unidades a los 7, 14 y 21 días de gestación en los animales alimentados con la dieta **NP** y que las ratas del grupo alimentado con la dieta baja en proteína (**BP**) muestran números idénticos de unidades feto-placentarias en toda la gestación. No se identificaron diferencias significativas entre los grupos **NP** y **BP**.

Cuadro 2. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso del útero de las ratas **vírgenes** y **gestantes** alimentadas con las dietas **NP** y **BP** ¹.

Estado Fisiológico		Peso del útero (g).	
		Dieta NP	Dieta BP
Adaptación	Primera Semana	0.730 ± 0.164	0.772 ± 0.149
	Segunda Semana	0.778 ± 0.157	0.732 ± 0.107
Gestación 7 días	Virgen	0.863 + 0.330	0.894 ± 0.220
	Gestante	-----	-----
14 días	Virgen	1.102 + 0.514	1.162 ± 0.323
	Gestante	4.445 ^a ± 0.927	3.773 ^a ± 0.904
21 días	Virgen	1.197 ± 0.567	1.147 ± 0.325
	Gestante	6.513 ^{a,b} ± 1.191	7.155 ^{a,b} ± 2.554

¹ Los valores se presentan como el promedio en gramos ± la desviación estándar de 8 animales por cada grupo. La comparación estadística se realizó de la siguiente manera: a= animales vírgenes vs gestantes; b= ratas gestantes del día 21 vs ratas gestantes del día 14. El valor mínimo de significancia es $p \leq 0.05$

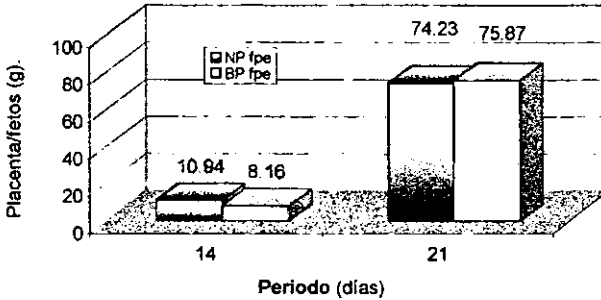
Gráfica 7. Variación en el número de unidades fetoplacentarias de las ratas gestantes alimentadas con las dietas NP y BP.



9.7 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso de las unidades fetoplacentarias

La gráfica 8 muestra los cambios en el peso del "concepto" a los 14 y 21 días de gestación de las ratas alimentadas con ambas dietas. Se observa que, mientras a los 14 días las unidades feto-placentarias del grupo NP muestran un peso ligeramente mayor que las unidades del grupo BP de la misma edad, a los 21 días de gestación los pesos de las unidades de ambos grupos son similares. No hay diferencia significativa en ninguna de las edades lo que sugiere que el contenido de proteínas en la dieta no afectó el peso de las unidades feto-placentarias. En la misma gráfica se puede observar que el peso del "concepto" aumentó de manera importante y significativa, en los animales de ambas dietas, del día 14 al día 21 de gestación obteniéndose un incremento de 578% para el grupo NP y de 829% para BP.

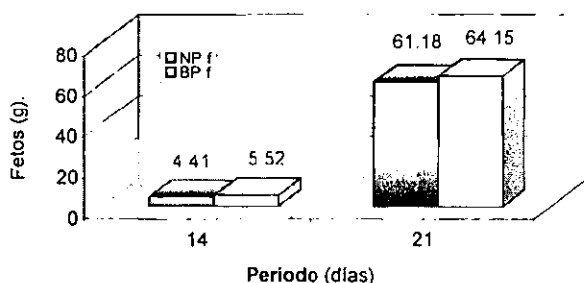
Gráfica 8. Variación en el peso del "concepto" de las ratas gestantes alimentadas con las dietas NP y BP.



9.8 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso de los fetos

En la **gráfica 9** se ilustran los cambios en el peso de los fetos de las ratas gestantes de ambos grupos a los 14 y 21 días del periodo de gestación. Los datos muestran que en ambas fechas no hay diferencia en el peso de los fetos entre el grupo NP y el grupo BP (4.41 ± 4.84 g vs 5.52 ± 6.77 g para el día 14 y 61.18 ± 10.32 g vs 64.15 ± 17.76 g para el día 21, respectivamente). El incremento en el peso entre los 14 y los 21 días de gestación es muy significativo para ambos grupos de dieta ($p < 0.0001$).

Gráfica 9. Variación en el peso de los fetos de las ratas gestantes alimentadas con las dietas NP y BP.

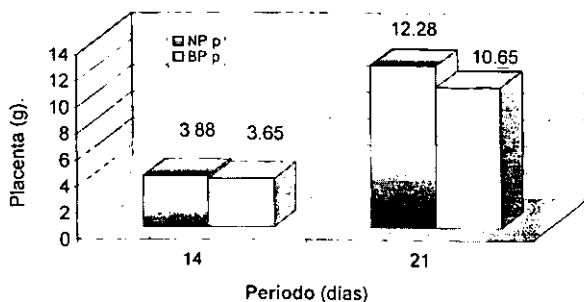


9.9 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso de las **placentas**

La influencia del tipo dieta consumida por las ratas sobre el peso de las placentas de los animales gestantes se presentan en la **gráfica 10**; en la cual puede apreciarse que a los **14** y **21** días del periodo en estudio, las placentas de los animales de los grupos **NP** y **BP** no muestran diferencias significativas.

Se observa también que, de manera similar a lo mostrado en los incisos **9.7** y **9.8**, el peso de las placentas del grupo **NP** a los **21** días de gestación es significativamente mayor ($12.28 \text{ g} \pm 3.82$, $p < 0.0001$) que las de los animales alimentados con la misma dieta a los **14** días del mismo periodo ($3.89 \text{ g} \pm 2.49$). Un efecto similar se observa en el peso de las placentas del grupo **BP** ($10.65 \text{ g} \pm 3.07$ a los **21** días y $3.66 \text{ g} \pm 2.05$ a los **14** días).

Gráfica 10. Variación en el peso de la placenta de las ratas gestantes alimentadas con las dietas NP y BP.



9.10 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso del hígado materno.

En el **cuadro 3** se muestra la influencia del tipo de dieta consumida por las ratas vírgenes y gestantes sobre el peso del hígado de la madre.

El peso del hígado de las ratas vírgenes alimentadas con la dieta **NP** mostró un aumento significativo ($p < 0.0001$) de la **primera** a la **segunda** semana de adaptación, manteniéndose posteriormente en valores cercanos. El peso del órgano de los animales gestantes de la misma dieta, no mostró modificaciones en la primera semana de gestación al compararlo con el peso del hígado de los animales vírgenes, pero se incrementó sucesiva y significativamente en la segunda y tercera semanas de gestación ($p < 0.0016$ y $p < 0.017$)

Cuadro 3. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso del hígado de las ratas vírgenes y gestantes alimentadas con las dietas NP y BP ¹

Estado Fisiológico		Peso del hígado (g)		Significancia (p)		
		Dieta NP	Dieta BP	BP/NP ¹	g/v NP ¹	g/v BP ¹
Adaptación	Primera Semana	10.61 ± 0.61	10.23 + 0.64	0.34		
	Segunda Semana	12.70 ^a + 0.44	10.00 + 0.89	0.0003		
Gestación	Virgen	12.49 ^a ± 0.47	10.90 ± 0.55	0.0005		
	Gestante	12.71 + 0.75	11.72 ± 1.04	0.093	0.56	0.14
14 días	Virgen	11.47 ^a + 0.88	11.49 + 1.78	0.98		
	Gestante	14.56 ^a ± 0.68	13.44 ^a + 1.41	0.12	0.0001	0.065
21 días	Virgen	11.87 + 1.13	12.43 + 1.30	0.45		
	Gestante	16.90 ^a + 1.62	14.25 + 2.09	0.037	0.041	0.11

¹ Los valores se presentan como el promedio en gramos + la desviación estándar para 8 animales de cada grupo. Las comparaciones estadísticas que se presentan en la tabla son NP/BP = ratas alimentadas con la dieta Normal en Proteína vs las alimentadas con la dieta Baja en Proteína. g/v = ratas gestantes vs vírgenes alimentadas con la misma dieta. a = diferencias entre los días transcurridos de estudio. El valor mínimo de significancia es $p < 0.05$.

La comparación del peso del hígado de los animales virgenes y gestantes alimentados con la dieta **NP** muestran diferencias significativas a los **14** y **21** días de gestación ($p < 0.001$ y $p < 0.041$).

El peso del hígado de los animales virgenes alimentados con la dieta **BP** se incrementó con la edad de manera significativa ($p < 0.007$) si se considera desde la primera semana de adaptación hasta la semana equivalente a la tercera semana de gestación.

Las ratas pertenecientes al grupo gestante alimentado con la misma dieta **BP**, mostraron también una tendencia creciente desde la adaptación hasta el término de la gestación ($p < 0.001$), observándose el cambio mas importante entre los **7** y los **14** días de gestación ($p < 0.040$). Aunque el peso del órgano de los animales gestantes fue mayor que el de los controles no embarazados pareados en edad, no se identificaron diferencias estadísticas.

El efecto del tipo de dieta sobre el peso del hígado de los animales virgenes muestra que el órgano del grupo **BP** es significativamente menor que el de las ratas **NP** ($p < 0.0003$) en la **segunda** semana de adaptación y a los **7** días de gestación ($p < 0.0005$); mientras que en los animales gestantes la diferencia importante ($p < 0.037$) solo se identificó a los **21** días de la gestación.

9.11 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso húmedo de la carcaza

El **cuadro 4** presenta las variaciones en el peso húmedo de las carcazas de las ratas virgenes y gestantes alimentadas con las dietas **NP** y **BP**

Durante todo el periodo de estudio los animales virgenes alimentados con la dieta **NP** mostraron una ligera ganancia en su peso húmedo, pero el único cambio significativo ($p < 0.0037$) ocurrió entre la **primera** y la **segunda** semana de la adaptación. Los animales

gestantes que recibieron la misma dieta, no mostraron cambios significativos en el transcurso del estudio.

Aunque las ratas vírgenes del grupo **NP** presentaron siempre un peso húmedo menor que el de los animales gestantes del mismo grupo, ninguna de esas diferencias fue significativa.

El peso húmedo de las carcazas de las ratas vírgenes que recibieron la dieta **BP** presentaron también un patrón creciente durante todo el estudio, pero las diferencias no son significativas. Los animales gestantes del mismo grupo (**BP**) incrementaron significativamente ($p < 0.048$) el peso húmedo de sus carcazas de los **7** a los **14** días del periodo de gestación para disminuirlo ligeramente a los **21** días. Este último cambio no fue significativo.

El peso húmedo de las carcazas de los animales gestantes del grupo **BP** fue mayor en relación con sus controles no embarazados a los **7** y **14** día de la gestación, sin embargo las diferencias no fueron significativas

No se identificó ningún efecto de la dieta sobre el peso húmedo de las carcazas de los animales vírgenes mientras que los animales gestantes **BP** mostraron un valor estadísticamente menor ($p < 0.019$) al **séptimo** día

9.12 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el peso seco de la carcaza

Los pesos secos de las carcazas de todos los grupos de estudio se presentan en el **cuadro 4**.

Cuadro 4: Comparación de los pesos húmedos y secos de las carcazas de las ratas vírgenes y gestantes alimentadas con las dietas NP y BP ¹

Estado fisiológico		Peso de la carcaza húmeda (g)		Peso de la carcaza seca (g)	
		Dieta NP	Dieta BP	Dieta NP	Dieta BP
Adaptación	Primera Semana	116.09 ±8.75	118.52 ±2.99	33.47 ±1.98	34.37 ±2.08
	Segunda Semana	129.14 ^c ±4.95	123.44 ±6.09	37.38 ^c ±1.97	34.74 ±2.12
Gestación	Virgen 7 días	133.95 ±11.52	124.96 ±10.31	38.40 ±4.34	35.79 ±2.74
	Gestante	143.85 ^c ±10.43	132.12 ^{b,c} ±5.66	40.55 ±3.46	38.22 ^c ±2.31
14 días	Virgen	134.15 ±6.61	137.29 ±13.57	38.62 ±2.71	39.37 ±4.01
	Gestante	135.92 ±8.81	142.43 ^c ±12.25	37.12 ±3.64	41.37 ±4.97
21 días	Virgen	135.66 ±8.27	138.35 ±9.97	37.62 ±2.59	37.75 ±3.15
	Gestante	144.307 ±10.48	136.79 ±8.46	42.75 ^{a,c} ±2.85	41.47 ^a ±2.13

¹ Los valores se presentan como el promedio ± la desviación estándar para 8 animales por cada grupo. Las comparaciones estadísticas que se presentan son: a = animales gestantes vs vírgenes y b = Ratas alimentadas con la dieta Normal en Proteína vs los alimentados con la dieta Baja en proteína c = Diferencias entre los días transcurridos del estudio. El valor de mínima significancia estadística es p<0.05

Los animales vírgenes alimentados con la dieta **NP** muestran un incremento significativo en el peso de la carcaza seca de la primera a la segunda semana de adaptación ($p \leq 0.0016$) manteniéndose constante el resto del estudio. En los animales gestantes se observó una ligera disminución de los 7 a los 14 días del periodo de gestación para regresar a valores similares el día 21 donde el peso seco de la carcaza de las ratas gestantes **NP** fue significativamente mayor al de sus controles no embarazados pareados en edad ($p < 0.0032$)

Los animales vírgenes del grupo **BP** incrementaron ligeramente el peso de la carcaza seca con la edad pero no se mostraron diferencias significativas entre ellas. Los animales gestantes **BP** incrementaron significativamente el peso de la carcaza seca de la **segunda** semana de adaptación a los 7 días de gestación ($p < 0.044$) para no modificarse por el resto de la gestación. El peso de la carcaza seca de los animales de 21 días de gestación fue significativamente mayor al de sus controles no embarazados pareados en edad ($p \leq 0.017$).

No se observaron diferencias significativas por efecto de la dieta ni en los animales vírgenes ni en los animales gestantes

9.13 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de agua en la carcaza

El **cuadro 5** ilustra la influencia de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de agua de la carcaza de las ratas vírgenes y gestantes alimentadas con la dieta **NP** y **BP**.

Cuadro 5. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de agua en la carcaza de las ratas vírgenes y gestantes alimentadas con las dietas NP y BP ¹.

Estado Fisiológico		agua (g)		Significancia (p)		
		Dieta NP	Dieta BP	BP/NP ¹	g/v NP ¹	g/v BP ¹
Adaptación	Primera Semana	81.90 ±8.37	84.140 ±1.462	0.48		
	Segunda Semana	91.76 ^a ±7.94	87.70 ±5.85	0.13		
Gestación	Virgen	95.55 ±7.94	89.17 ±8.04	0.13		
	Gestante	102.42 ^a ±8.50	93.91 ^a ±3.74	0.029	0.12	0.17
14 días	Virgen	95.53 ±4.51	97.92 ±9.83	0.55		
	Gestante	97.67 ±7.32	101.06 ±8.48	0.41	0.50	0.51
21 días	Virgen	97.92 ±9.00	100.63 ±10.15	0.58		
	Gestante	101.53 ±7.78	95.31 ±6.74	0.088	0.38	0.24

¹ Los valores se presentan como el promedio en gramos ± la desviación estándar para 8 animales por cada grupo. Las comparaciones estadísticas que se presentan en la tabla son NP/BP = Ratas alimentadas con la dieta Normal en Proteína vs las alimentadas con la dieta Baja en Proteína; g/v NP = Ratas gestantes vs vírgenes alimentadas con la dieta NP; g/v BP = Ratas gestantes vs vírgenes alimentadas con la dieta BP; a = diferencias entre los días de estudio. El valor mínimo de significancia es p<0.05

La carcaza de las ratas virgenes alimentadas con la dieta **NP** presentaron un aumento significativo en el contenido de agua corporal ($p < 0.014$) entre la **primera** y la **segunda** semana de adaptación sin mostrar diferencias significativas en las siguientes tres semanas equivalentes al periodo de la gestación.

Los animales gestantes no mostraron diferencias significativas ni por la etapa de la gestación por influencia de la dieta, mostrando un promedio de 100.54 g de agua en su carcaza.

Aunque los animales gestantes mostraron un contenido mayor de humedad que sus controles virgenes alimentados con la misma dieta (**NP** y **BP**), los valores no mostraron diferencias significativas.

9.14 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de lípidos.

El **cuadro 6** presenta el efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido lipídico de la carcaza de las ratas virgenes y gestantes que recibieron las dietas **NP** y **BP**.

El grupo de animales virgenes que consumieron la dieta **NP** no modificó su contenido de lípidos corporales durante el periodo estudiado mostrando un promedio de 7.2 g, un efecto similar se observó en las carcazas de las ratas virgenes que fueron alimentadas con la dieta **BP**, donde el contenido corporal de lípidos promedia 7.66 g. La diferencia con el grupo **NP** no es significativa.

Los animales gestantes del grupo **NP** no modifican su contenido de lípidos en las dos primeras semanas de la gestación pero muestran un incremento muy significativo en la última semana de ese periodo (10.298g, $p \leq 0.0050$). Los animales alimentados con la dieta **BP** mostraron un perfil diferente pues se observa un incremento significativo en el contenido de lípidos de la carcaza de esos animales de la **segunda** semana de adapta-

ción al día 7 de gestación (9.129g, $p < 0.017$). No se identifican cambios en el día 14 de gestación y aunque en el día 21 se observa un nuevo incremento (10.034g), este no es estadísticamente significativo. Este último valor es similar al valor acumulado por las ratas **NP** de la misma edad de gestación (10.298g).

Al comparar el contenido de lípidos corporales de los animales vírgenes alimentados con la dieta **NP** con el grupo gestante que recibió la misma dieta, se observó que hay un incremento significativo ($p < 0.0032$) a los 21 días de la gestación mientras que, cuando la misma comparación se realiza en el grupo alimentado con la dieta **BP** el incremento más importante en el contenido de lípidos corporales se observa en el día 7 de la gestación (9.129g, $p < 0.03$). La diferencia entre animales vírgenes y embarazadas a los 21 días de la gestación también es muy significativa ($p < 0.0085$).

La influencia del tipo de dieta consumida sobre el contenido de lípidos en las carcasas de las ratas vírgenes no mostró diferencias significativas en todo el estudio, en cambio, los animales gestantes mostraron una diferencia en el perfil de acumulación de los lípidos pues mientras los animales del grupo **BP** incrementaron su contenido desde los 7 días de la gestación ($p < 0.0091$ vs **NP**), se mantuvo el día 14 ($p < 0.042$ vs **NP**) y mostraron un nuevo incremento a los 21 días (10.298g, $p = 0.77$ vs **NP**), los animales gestantes **NP** no mostraron modificaciones en su contenido de lípidos corporales durante las dos primeras semanas de gestación presentando el incremento importante en la última de gestación. (10.034g, $p < 0.0085$ vs virgen **NP**), El valor final acumulado es igual en ambos grupos.

Cuadro 6. Efecto de la concentración de lípidos en la dieta sobre el contenido de lípidos corporales en la carcaza de las ratas vírgenes y gestantes alimentadas con las dietas **NP y BP**¹

Estado Fisiológico		Lípidos totales en la carcaza seca (g)		Significancia (p)		
		Dieta NP	Dieta BP	BP/NP ¹	g/v NP ¹	g/v BP ¹
Adaptación	Primera Semana	6.624 ± 1.21	7.065 + 0.932	0.44		
	Segunda semana	7.173 ± 1.69	7.906 + 0.802	0.31		
Gestación 7 días	Virgen	7.503 + 1.842	7.520 + 1.602	0.99		
	Gestante	7.240 ± 1.481	9.129 ^a + 0.645	0.0091	0.76	0.030
14 días	Virgen	7.198 ± 1.68	8.074 + 0.673	0.21		
	Gestante	7.576 ± 1.567	9.019 + 0.632	0.042	0.65	0.066
21 días	Virgen	7.495 ± 1.438	7.477 + 1.409	0.98		
	Gestante	10.298 ^a + 1.946	10.034 ± 1.478	0.77	0.0032	0.0065

¹ Los valores se presentan como el promedio en gramos + la desviación estándar para 8 animales por cada grupo. Las comparaciones estadísticas que se presentan en la tabla son **NP/BP** = ratas alimentadas con la dieta Normal en Proteína vs las alimentadas con la dieta Baja en Proteína, **g/v NP** = ratas gestantes vs vírgenes alimentadas con la dieta NP, **g/v BP** = Ratas gestantes vs vírgenes alimentadas con la dieta BP, **a** = diferencias entre los días de estudio. El valor mínimo de significancia es $p < 0.05$.

9.15 Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de proteína total en la carcaza

La influencia de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido proteínico corporal en la carcaza seca de las ratas vírgenes y gestantes alimentadas con las dietas **NP** y **BP** se muestra en el **cuadro 7** en el cual los resultados se expresan como los gramos de proteína corporal contenidos en la carcaza seca total (base seca).

La carcaza de las ratas vírgenes alimentadas con la dieta **NP** presentaron un primer incremento significativo en el contenido de proteína corporal ($p \leq 0.041$) entre la **primera** y la **segunda** semana de adaptación, y un segundo aumento de esta última a los **7** días de gestación ($p \leq 0.035$). El contenido de proteínas se mantiene constante en las dos siguientes semanas.

Los animales vírgenes alimentados con la dieta **BP** mostraron un comportamiento similar, pero los cambios ocurrieron más lentamente; pues el primer incremento significativo ($p < 0.0045$) se observó de la **segunda** semana de adaptación a los **7** días de gestación y el segundo aumento de los **7** a los **14** días ($p \leq 0.035$). No hay modificaciones posteriores.

Los animales gestantes del grupo **NP** muestran un incremento significativo en el contenido de proteínas de sus carcazas de la **segunda** semana de adaptación a los **7** días de gestación ($p < 0.0001$) sin mostrar cambios posteriores. Las carcazas de las ratas gestantes del grupo **BP** mostraron también un incremento significativo en su contenido de proteínas de la **segunda** semana de adaptación a los **7** días de la gestación ($p < 0.0001$) pero no muestran cambios significativos posteriormente.

Cuadro 7. Efecto de la concentración de proteínas en la dieta sobre el contenido de proteína corporal en la carcaza de las ratas **virgenes** y **gestantes** alimentadas con las dietas **NP** y **BP**¹

Estado Fisiológico		Proteína total en la carcaza seca (g)		Significancia (p)		
		Dieta NP	Dieta BP	BP/NP ¹	g/v NP ¹	g/v BP ¹
Adaptación	Primera Semana	18.29 ± 2.12	17.41 + 2.44	0.45		
	Segunda Semana	20.35 ^a ± 1.41	19.46 + 1.89	0.31		
Gestación 7 días	Virgen	22.65 ^a ± 2.57	21.02 ^a ± 1.34	0.14		
	Gestante	23.98 ^a + 2.37	22.33 ^a + 1.24	0.11	0.30	0.063
14 días	Virgen	22.96 + 2.11	23.43 ^a + 2.46	0.69		
	Gestante	23.21 ± 2.93	24.30 + 2.92	0.74	0.85	0.53
21 días	Virgen	23.44 ± 1.97	23.07 + 2.11	0.72		
	Gestante	23.75 + 2.21	23.08 + 2.17	0.74	0.99	0.99

¹ Los valores se presentan como el promedio en gramos + la desviación estándar para 8 animales por cada grupo. Las comparaciones estadísticas que se presentan en la tabla son **NP/BP** = ratas alimentadas con la dieta Normal en Proteína vs las alimentadas con la dieta Baja en Proteína, **g/v NP** = ratas gestantes vs virgenes alimentadas con la dieta NP, **g/v BP** = ratas gestantes vs virgenes alimentadas con la dieta BP, **a** = diferencias entre los días del estudio. El valor mínimo de significancia es de $p \leq 0.05$

Al comparar el contenido de proteína de los animales gestantes con el grupo de ratas virge-nes que consumieron la dieta **NP** no se observan diferencias significativas. Tampoco hay diferencias significativas en el contenido de proteína corporal entre las carcazas de las ratas virgenes y gestantes alimentadas con la dieta **BP**.

La alimentación de los animales con la dieta **BP** no afectó el contenido de proteínas de sus carcazas cuando se compara con los contenidos de las ratas que recibieron la dieta **NP**.

10. DISCUSION.

La capacidad de una mujer para nutrir a su feto, sobrevivir al parto y dar un producto vivo, está determinado tanto por su estado de salud como por su condición nutricional no solo durante el periodo de gestación, sino de su vida previa a la concepción (3)

La finalidad de aplicar a las ratas de nuestro estudio una restricción crónica de proteínas desde dos semanas antes de la gestación, fue para identificar las posibles adaptaciones que realiza el organismo materno en su composición corporal para llevar a término con éxito su embarazo. Esta información podría reflejar las adaptaciones que puede realizar el organismo materno en las mujeres de las zonas rurales o marginadas de los países en desarrollo, donde los habitantes muestran una deficiencia en el consumo de proteínas

Los estudios en animales han permitido comprender, de manera importante, la participación de los nutrientes en la fisiología y bioquímica del organismo materno durante la gestación y la lactancia y su impacto en el crecimiento y desarrollo de las crías, etapas del ciclo de vida en las cuales los estudios en humanos se ven restringidos por los impedimentos éticos que representa alimentar a mujeres y niños con dietas deficientes en algún nutrimento, que podrían tener el riesgo de producir daños permanentes en los organismos en estudio.

Además, la investigación en animales permite la aplicación de manera más flexible y controlada de condiciones que, como en nuestro caso, afecten la Nutrición, como es la posibilidad de manipular cuali y cuantitativamente las dietas con lo cual se pueden producir deficiencias específicas. En estos casos, los animales son sacrificados y sus tejidos analizados lo que permite identificar los posibles cambios que la dieta pueda producir en el organismo. En el caso de la rata, los estudios se pueden realizar en ambientes controlados, con un tamaño de población determinado y dado que el ciclo de vida en esta especie es corto, se facilita la aplicación de ciertas condiciones de manera

crónica en una misma generación o el estudio de los efectos en un número sucesivo de generaciones

Sin embargo, a pesar de las ventajas antes mencionadas, las diferencias en la fisiología y bioquímica entre las especies, exige un análisis cuidadoso de los resultados cuando se desean comparar con los obtenidos en otras especies (3).

10.1 Cambios en el peso corporal.

Los animales vírgenes alimentados a libre demanda, tanto con la dieta **NP** como con la dieta **BP**, mostraron durante todo el periodo de estudio un aumento similar y continuo en su peso corporal, mismo que puede atribuirse a la edad de los animales (46,47).

Los incrementos totales en el peso corporal de los animales gestantes alimentados con ambas dietas mostraron valores similares (40% en el grupo **NP** y de 37% para el grupo **BP**). El mayor incremento se observó en la última semana de la gestación lo que es atribuible al rápido crecimiento fetal. A esto se debe sumar el aumento en el crecimiento uterino, el volumen sanguíneo, el desarrollo de la glándula mamaria, el incremento en la celularidad de varios órganos (hígado, corazón, e intestinos), la formación de líquido amniótico y la formación de reservas corporales (2,23,24,26,27,37,38).

Nuestros datos no muestran ningún efecto de la dieta **BP** sobre el peso corporal materno. Debemos recordar que aunque dicha dieta muestra una reducción de 40% en proteína, el contenido calórico total se mantuvo idéntico al de la dieta **NP** gracias al incremento en la concentración de grasa y carbohidratos y fue suministrada crónicamente desde dos semanas antes del embarazo, lo que aparentemente permitió a la rata madre realizar ajustes suficientes que evitaron una pérdida de peso significativa

Glore & Lyman aplicaron de manera aguda una restricción energético proteica del 70%, desde el inicio del embarazo hasta el término de la lactancia y no observaron un efecto negativo en el peso corporal, sin embargo, si la restricción se aplica solo durante la

lactancia, el peso de los animales se afectó notablemente. Los autores proponen que las madres emplearon el periodo de la gestación para adaptarse a la dieta (41)

10.2 Consumo de alimento.

Aunque no se observó diferencia en el consumo de alimento entre los animales vírgenes o gestantes alimentados a libre demanda con ambas dietas (NP y BP), los animales gestantes de ambos grupos mostraron consumos significativamente mayores que sus controles vírgenes (cerca de 30%) en las dos últimas semanas de la gestación. Dicho aumento alcanzó un máximo el día 19 de la gestación para disminuir el consumo los dos días anteriores al parto, resultados que confirman las observaciones de otros investigadores (41).

El aumento en el consumo de la madre durante la gestación se puede explicar porque en la formación de los tejidos fetales y de las reservas corporales se utiliza una gran cantidad de los nutrimentos provenientes de la dieta (2,3,48)

La reducción notable en el consumo de alimento por las ratas gestantes en los días previos al parto también ha sido observado en otros estudios sin haberse definido las causas (10,22,23,47,49,50). Se ha sugerido que la madre debe conservar vacío el tracto digestivo y dar más espacio para que el útero se acomode y pueda realizar los movimientos necesarios durante el parto. Mantener el tracto intestinal vacío facilitaría también, el esfuerzo físico de la madre para la expulsión de las crías y evitar la expulsión de material fecal que podría contaminar a las crías y producirles infecciones. Podría sugerirse también, que la madre se prepara de esa manera pues el día del parto ella consume una por una las placentas y los sacos vitelinos de sus cría después de cada expulsión lo que le sería difícil si el intestino estuviera lleno

10.3 Consumo de proteína

Las necesidades de proteína en la rata varían dependiendo de su estado fisiológico por lo que los animales gestantes requieren de una mayor cantidad de proteína que los animales vírgenes, sin embargo no se ha determinado el requerimiento de proteínas para la rata gestante.

El requerimiento de proteína para ratas no embarazadas y no lactantes es de 13% (~2.5 g/día) con el cual se mantiene en equilibrio el balance de nitrógeno; por lo que los animales lactantes alimentadas con la dieta de 20% de caseína debería mantener a la rata en un balance positivo de nitrógeno. Una concentración de 13% de proteína en la dieta limita el aporte de aminoácidos pero permite el crecimiento y la lactancia en la rata, mientras que, la alimentación con una dieta de menor concentración de proteína (8%), restringe el aporte de aminoácidos lo que dificulta mantener la lactancia y afecta por lo tanto, el crecimiento de las crías (1). Sin embargo, se han realizado pocos estudios en ratas gestantes bajo diferentes condiciones de restricción de proteínas con los que podemos comparar nuestros resultados

Los resultados muestran que los animales vírgenes alimentados con la dieta **NP** consumieron en promedio **3.18 g** de proteína por día con lo cual se cubrió el requerimiento diario antes mencionado mientras que los animales no gestantes del grupo **BP** consumieron **1.88 g/día** lo que los coloca 25% por debajo del requerimiento, a pesar de lo cual estos animales mantuvieron un desarrollo muy parecido al de los animales alimentados con la dieta **NP**, si tomamos en cuenta el peso corporal

Los animales gestantes **NP** consumieron en promedio 3.35, 3.64 y 3.78g de proteína por día, en la primera, segunda y tercera semana mientras que los animales del grupo alimentado con la dieta **BP** consumieron 1.99, 2.21, 2.55 g de proteína en los mismos periodos. A pesar de que el consumo de proteína en los animales **BP** fue 40% menor al de los animales **NP**, los consumos permitieron un adecuado aumento de peso corporal,

aún en la tercera semana de gestación donde los pesos de los animales BP fueron apenas 3 a 4% menores al de las ratas NP

10.4 Peso de los tejidos y las unidades feto-placentarias: el útero, las unidades feto-placentarias, los fetos, la placenta y el hígado.

10.4.1 El peso del útero obtenido de las ratas alimentadas con la dieta NP y BP, incluya o no a las unidades feto-placentarias, se incrementó durante las diferentes etapas de la gestación. Souders menciona que el útero con su contenido manifestó cambios significativos a partir de la segunda semana de gestación (51), sin embargo nosotros observamos diferencias en todo el periodo en estudio. Este incremento no solo se debe al crecimiento fetal como lo sugieren Naismith y Morgan (2), sino también al crecimiento uterino, al crecimiento de la placenta y al líquido amniótico. Se ha descrito que en promedio el feto representa aproximadamente el 25% de la ganancia total del peso materno, la placenta cerca del 5% y el fluido amniótico el 6% (22)

10.4.2 Varios investigadores han observado que el aumento de peso en los fetos fue mas evidente entre los días 12 y 15 de la gestación (25,28), mientras que nuestro estudio mostró diferencias significativas el día 14 de la gestación el cual coincidió con un aumento en el peso corporal materno.

Otros estudios han evaluado el efecto de una restricción energético-proteinica sobre el crecimiento y desarrollo de los fetos y de las crías al nacimiento, por ejemplo, Chow y Lee restringiendo el consumo de alimento materno en un 50 y 70% demostraron que este tipo de restricción durante la gestación reduce la talla y el peso del recién nacido y que esos efectos son permanentes e irreversibles siendo mas afectados los machos (52). Este y otros estudios muestran que los efectos producidos dependen del grado de restricción (41,53).

Zeman observó que la alimentación de ratas con una dieta que contenía 6% de caseína durante la gestación, producía una reducción significativa en el peso corporal y en el peso de algunos órganos (54). Estos resultados resultan obvios si, como se indicó anteriormente, una dieta con un contenido de proteína menor al 8% dificulta el mantenimiento de la gestación, la lactancia y el crecimiento de las crías (1).

En contraste, Zartarian y Galler, utilizando una dieta con 7.5% de caseína no observaron efecto en el peso de los fetos, sugiriendo que el feto está protegido contra un grado de malnutrición (48).

De manera similar, nuestros resultados no muestran efectos significativos por el déficit en el consumo de proteína sobre el peso corporal de los fetos, lo cual podría sugerir que desde la adaptación, el organismo materno realizó ajustes en su metabolismo y contrarrestó el efecto de la restricción de la proteína.

Como se puede ver, los resultados y su interpretación son controvertidos, pues mientras algunos autores proponen que el peso de los fetos al nacimiento no se afecta por la concentración de proteína consumida en la dieta durante el embarazo y que solo una malnutrición severa y prolongada produce un daño en el producto (feto) (37), otros proponen que durante la desnutrición, los fetos son incapaces de utilizar los almacenes de energía maternos por lo que sufren un retardo en el crecimiento intrauterino lo cual puede establecer un retardo permanente del crecimiento (53,51)

En nuestro estudio, la restricción no afectó el número de unidades fetoplacentarias lo cual concuerda con las observaciones de varios autores (2,10,37,41,47-50,53) Berg observó reabsorciones entre los 8 y los 11 días de la gestación (53); efecto que no identificamos en nuestro estudio.

10.4.3 La velocidad con que se desarrollan los fetos está determinada no solo por la disponibilidad de nutrimentos en la circulación materna, sino también por la velocidad de transferencia de estos a través de la placenta, por lo que el crecimiento fetal está en parte influenciado por el desarrollo de la placenta (2).

En este estudio, el peso de la placenta aumentó de manera significativa durante la gestación debido seguramente a que, conforme aumenta la edad gestacional, el crecimiento fetal demanda de la madre una mayor concentración de nutrimentos; por lo tanto la placenta aumenta su actividad, el tamaño y número de células (3,12,13), sin embargo en nuestro estudio, el peso de la placenta no se vio afectado significativamente por la restricción de proteína (11%). Estos resultados concuerdan con el estudio de Zartarian quién tampoco observó un efecto en el peso de la placenta aún cuando las ratas fuesen alimentadas con una dieta que contenía 7.5% de caseína (48).

Se puede concluir que el peso del útero, de la placenta y del feto se ven afectados por el tipo y el grado de la restricción y de las condiciones en las cuales esta se aplique (53).

10.4.4 El hígado tiene un papel relevante en la regulación del metabolismo de proteínas en el organismo materno por lo que decidimos determinar el efecto de la restricción proteínica sobre el peso de ese órgano. El hígado de los animales gestantes alimentados con ambas dietas (**NP** y **BP**) mostraron un aumento significativo en su peso en relación al peso del órgano de sus controles vírgenes pareados en edad, sin embargo, el peso del órgano del grupo alimentado con la dieta restringida en proteínas (**BP**) mostró valores menores a los del grupo **NP** pero la diferencia fue significativa únicamente el último día de la gestación.

Zartarian observó que la hipertrofia del hígado durante la gestación se vio afectada por la cantidad de proteína de la dieta, observando que en las dos primeras semanas de

la gestación la restricción aplicada no mostró ningún efecto en el peso del órgano pero si mostró un efecto negativo en la tercera y última semana de la gestación (48). Estos datos son similares a los encontrados por otros autores (51,55,56).

Se ha sugerido que el incremento en el peso del hígado durante la gestación se debe a un aumento en el número de células pero no del tamaño celular y a un incremento en la velocidad de síntesis de proteínas con poca retención de agua, sin embargo no se ha observado, durante la gestación, la acumulación ni de proteínas ni de lípidos (23,25,38, 56).

10.5 Composición corporal.

10.5.1 Pesos húmedos y pesos secos de las carcazas y contenido de agua.

Las carcazas de los animales gestantes alimentados con los dos tipos de dieta **NP** y **BP** mostraron pesos húmedos y secos mayores a los obtenidos en las carcazas de sus controles vírgenes pareados en edad, mostrando que el estado fisiológico de la rata influye en el peso de su carcaza.

El contenido de agua en la carcaza de los animales gestantes fue mayor al mostrado por las carcazas de las ratas vírgenes alimentadas con ambas dietas. aunque en la comparación estadística no se identificaron diferencias significativas, estos resultados contrastan con los obtenidos por otros autores quienes han observado que la carcaza de las ratas gestantes tiene un contenido mayor de agua que la de los animales no gestantes (23,25,27,38,41). Beaton y cols. han observado que el contenido de agua es mayor en la última semana de la gestación y que es eliminada con el parto (25).

Kanto y Clawson han mostrado que en la rata el contenido de agua es inversamente proporcional al contenido de lípidos y directamente proporcional al contenido de proteínas (27).

10.5.2 Contenido de lípidos corporales.

Los animales vírgenes alimentados tanto con la dieta **NP** como **BP** mostraron un ligero incremento, pero no significativo, en sus lípidos corporales desde la primera semana de adaptación (semana 14) hasta el periodo equivalente a la última semana de gestación (semana 18).

Los animales gestantes en cambio, mostraron incrementos significativos en su contenido corporal de lípidos pero el perfil de acumulación fue diferente en función de la dieta recibida, las ratas gestantes del grupo **NP** mantuvieron una concentración de lípidos muy parecida a sus controles vírgenes pareados en edad, durante las dos primeras semanas de la gestación pero incrementaron significativamente su contenido en la tercera semana en cerca de 2.8 gramos ($p < 0.005$). En contraste, las ratas gestantes del grupo alimentado con la dieta **BP**, cuyo contenido de lípidos es mayor, iniciaron la acumulación desde la primera semana de gestación (1.6 gramos, $p < 0.01$) y la concluyeron la tercera semana (2.6 gramos, $p < 0.01$). Las cantidades almacenadas al final de la gestación por los animales de ambas dietas fueron significativamente diferentes de sus controles vírgenes pareados en edad pero no mostraron diferencias entre las dietas ($p = 0.77$).

Varios autores han demostrado la formación de la reserva de lípidos en la gestación como previsión a la gran demanda que se presentará en el periodo de lactancia, donde esas reservas son completamente movilizadas para cubrir el costo energético y la síntesis de la leche (23-27).

Naismith y colaboradores, por ejemplo, disecaron la grasa acumulada en el ovario, en la región lumbar, en la región subcutánea y en la carcaza eviscerada tanto de animales gestantes como no gestantes y observaron que los animales vírgenes mostraban un contenido total cercano a 16.79 g mientras que el de las ratas gestantes era de 24.43 g en la última semana de la gestación. La concentración de lípidos en las ratas gestantes los días 7 y 14 muestran fluctuaciones cercanas a los 16 g con el mayor incremento a los 21 días

de gestación (26) Este patrón es similar al mostrado en nuestro estudio, por los animales gestantes del grupo alimentado con la dieta NP

Beaton y cols identifican un patrón de acumulación de lípidos diferente pues encuentran un incremento continuo desde el quinto día de la gestación hasta obtener un máximo el día 14. En la tercera semana, los autores observaron que los lípidos son consumidos completamente y que ese consumo coincide con un aumento en la concentración de proteínas por lo que los autores argumentan que los lípidos son consumidos para proveer energía y evitar el consumo de la proteína que debe ser acumulada (25). Estos datos contradicen lo observado por otros grupos quienes han mostrado que los lípidos acumulados durante la gestación son conservados hasta el final de la gestación y son consumidos durante la lactancia (23,24,27,47,50).

Kanto y Clawson aplicando una restricción energético-proteica del 60% mostraron que la rata restringida al parto almacena una menor cantidad de lípidos (5.6%) que la rata sin restringir (13.5%) sin embargo, durante la lactancia moviliza una proporción similar a la de los animales control (~50%)(27).

Moore y Brasel alimentando a sus ratas con una restricción energético-proteica del 70% mostraron que al final de la gestación la rata restringida conservaba una cantidad de lípidos (15.1 g) muy parecidos a los animales control no gestantes (15.6 g), sin embargo la rata gestante no restringida mostraba una cantidad de lípidos mayor (19.7 g). Al término de la lactancia las ratas restringidas movilizaron un mayor porcentaje de la reserva que los animales no restringidos (74 vs 57%) (23)

Como lo señalamos en párrafos anteriores, nuestros resultados mostraron que la restricción marginal de proteína (BP) afectó el patrón de acumulación de los lípidos en la carcasa de las madres pero no afectó la cantidad final acumulada.

Naismith y cols sugieren que los almacenes de lípidos formados durante la gestación contribuyen al costo energético de la lactancia y que la movilización está controlada mas por la acción hormonal que por la dieta (26).

10.5.3 Contenido de proteínas corporales.

El contenido de proteína en la carcaza de los animales vírgenes alimentados con ambas dietas **NP** y **BP** se incrementó con la edad, pero las diferencias entre las dietas no fueron significativas, sin embargo, los patrones son ligeramente diferentes pues mientras los animales **NP** incrementaron su contenido hasta terminar la semana equivalente a la primera semana de gestación (semana 16) y no mostraron cambios en las dos semanas siguientes, las ratas **BP** incrementaron su contenido de proteína aún hasta la semana 17 equivalente a la segunda semana de gestación y se mantuvieron sin cambio en la última semana de ese periodo. La concentración final de proteínas acumulada en las carcazas de los animales alimentados con ambas dietas alcanzó valores idénticos (23.44 ± 1.97 g para **NP** vs 23.07 ± 2.11 g para **BP**).

Las carcazas de los animales gestantes de ambos grupos mostraron valores similares en su contenido de proteínas, desde la primera semana de gestación hasta el término de esta, obteniendo en la última semana, contenidos iguales a los identificados en las carcazas de los animales vírgenes (23.75 ± 2.21 g en **NP** y 23.08 ± 2.17 g en **BP**, $p=0.99$).

Estos datos resultan muy importantes porque en nuestras manos bajo un estricto control y vigilancia de nuestros animales y sus dietas, no observamos ningún cambio en la concentración de proteínas de las carcazas durante la gestación lo cual contradice la sugerencia de Naismith y Morgan de que la rata madre acumula proteína (cerca de 6 gramos) en las primeras dos semanas de la gestación para movilizarla en la última semana de ese periodo para apoyar el crecimiento del feto (2). En nuestro estudio el cre-

cimiento de los fetos **NP** fue adecuado y no identificamos ninguna relación con la posible acumulación de proteína o la formación de alguna reserva de proteína en la carcaza materna.

Esperábamos que si la reserva de proteína se formara, como sugieren esos autores, la alimentación de las ratas con la restricción de proteína en la dieta **BP** reduciría el contenido de proteínas de la "reserva" y su "movilización" afectaría el crecimiento de los fetos, sin embargo nuestros resultados muestran que el día 21 de la gestación, ni el peso de los fetos, ni el peso de las placentas, se vieron afectados por la alimentación con la dieta **BP**

Otros autores han reportado datos contradictorios. por ejemplo, Kanto y Clawson informaron que el contenido total de proteína en la rata madre, dos días después del parto, era 1.4% menor que el de los animales no gestantes (24) y Beaton indica la mayor acumulación el día 18 de la gestación para consumirla en los tres días siguientes, por otro lado, Moore y Brasel no mostraron cambios en el contenido de proteínas de la carcaza al final de la gestación si comparan los valores encontrados en las ratas gestantes con los de los controles vírgenes (23) Como puede verse, este último resultado coincide con nuestros datos y los valores obtenidos por Kanto y Clawson podrían estar afectados por el inicio de la lactancia pues sus determinaciones fueron realizadas dos días después del parto. De manera adicional debemos comentar que los resultados de Kanto y Clawson fueron obtenidos en homogeneizados de "rata total" incluyendo vísceras y el contenido intestinal mientras que los datos de Moore y Brasel y los nuestros son obtenidos exclusivamente en las carcazas de los animales

El estudio realizado por Naismith y Morgan de donde proponen la formación de la reserva de proteínas en la gestación es un estudio que deber ser analizado con todo cuidado pues los animales inician la gestación siendo alimentados con una dieta que contiene 5% de caseína hasta el 5º día. Del sexto al décimo día inclusive les ofrecen una die-

ta diferente con 25% de caseína y del día 11 de la gestación hasta el final (día 22) les alimentan de nuevo con la dieta baja en proteína. Los autores señalan que hay una pequeña diferencia (5%) en el consumo de alimento de los animales que ingirieron durante toda la gestación la dieta del 5% si se compara con el consumo de aquellos animales que recibieron la dieta del 5% y la "suplementación" por los cinco días antes señalados, explicando que la diferencia podría estar relacionada con una "estimulación del apetito" al ofrecerles la dieta con mayor contenido de proteína. Esta publicación solo muestra el porcentaje de "ganancia" en la proteína de la carcaza pero no muestran los valores absolutos del contenido de proteínas al inicio, al día 14 y al final de la gestación por lo que es imposible comparar nuestros resultados. Además, en ese estudio la carcaza incluye las vísceras de los animales habiendo lavado previamente el tracto gastrointestinal, lo que hace aún más difícil la comparación con nuestros datos (2, 37).

Debemos señalar que nuestro estudio muestra una dispersión muy homogénea en la determinación del contenido de proteínas de la carcaza lo que nos permitió identificar cambios en las primeras semanas del estudio, cuyos valores son menores que el cambio propuesto por Naismith y Morgan (~6 gramos) lo que nos da confianza para afirmar que, al menos en las condiciones utilizadas en este estudio y con las concentraciones de caseína empleadas en las dietas, las ratas no muestran el patrón bifásico durante la gestación y por lo tanto no hay la formación de la reserva proteínica en la carcaza materna ni su movilización en el último tercio de la gestación

La alimentación crónica de las ratas con una dieta deficiente en proteína pero suficiente en energía, no modificó la concentración de proteínas en las carcazas de los animales vírgenes y gestantes y no afectó de manera significativa el posible aporte de proteínas o aminoácidos de estos tejidos al crecimiento del feto.

Varios autores han propuesto al tejido muscular esquelético como el sitio de una posible reserva de proteínas para el uso del organismo en situaciones de gran demanda.

Nuestros resultados muestran que en las condiciones del estudio los músculos de la carcaza no parece ser el sitio de formación de alguna reserva de proteínas durante la gestación que pudiera ser movilizada a favor del crecimiento del feto, en contraste, los estudios realizados en nuestro laboratorio por Ayala, aplicando una restricción energético-proteica del 50% mostraron la movilización de proteínas de la carcaza desde la segunda semana de adaptación hasta el final de la lactancia (aproximadamente 7 gramos (50).

Además, estudios realizados en nuestro laboratorio para identificar el efecto de la alimentación durante la lactancia sobre la composición corporal de la madre (47) han mostrado que en la última semana de la lactancia existe la movilización de cerca de 2 gramos de proteína de la carcaza materna por lo que, basándonos en estos resultados podemos sugerir que el periodo de lactancia es mas demandante para la madre que la gestación lo que explicaría las diferencias observadas en nuestros diferentes estudios sobre el contenido de proteínas de la carcaza materna y su movilización durante la gestación y la lactancia.

11. CONCLUSIONES

- 11.1 El incremento en el **peso corporal** de las ratas virgenes y gestantes **no** se vio afectado por el consumo de una dieta con una deficiencia marginal de proteína (BP).
- 11.2 Los animales gestantes aumentaron su **consumo** de **alimento** durante la gestación pero el consumo disminuyó de manera importante el día anterior al parto. Este comportamiento fue similar con ambas dietas.
- 11.3 La dieta baja en proteínas **no** alteró el **peso** del **útero** ni de las **placentas** ni el número de las unidades **feto-placentarias**.
- 11.4 La gestación produjo un incremento en el **peso** del **hígado** y la deficiencia de proteínas en la dieta afectó negativamente ese incremento.
- 11.5 Los pesos **húmedo** y **seco** de las carcazas y el contenido de **humedad** mostraron una ligera tendencia a incrementarse por efecto de la gestación, sin embargo, la deficiencia en el consumo de proteína **no** mostró efectos negativos sobre éstos tres parámetros.
- 11.6 Los animales gestantes alimentados con ambos tipos de dieta depositaron **lípidos** en sus carcazas pero el patrón de acumulación fue diferente dependiendo de la concentración de lípidos en la dieta.

11.7 Durante la gestación las madres alimentadas con la dieta **NP** no formaron una **reserva de proteínas** ni **movilizaron** proteína de sus carcazas. Consumir una dieta isoenergética pero deficiente en proteína **no** afectó el contenido de proteínas en las carcazas.

12. REFERENCIAS

1. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet J Nutr 123:1939-1951.
2. Naismith DJ, Morgan BLG (1976) The biphasic nature of protein metabolism during pregnancy in the rat. Br J Nutr 36: 563-566.
3. Beal VA (1994) Embarazo. En Nutrición en el ciclo de vida. Limusa, México, D.F. pp. 135-193.
4. Tortora GJ, Anagnostakos NP (1984) Reproducción. En Principios de anatomía y fisiología, 3ª edición, Harla México, D.F. pp 920-928.
5. Guyton AC (1992). Fisiología femenina antes del embarazo: hormonas femeninas. En Tratado de fisiología médica, 8ª edición, Interamericana-McGraw Hill, Madrid, España pp 943-952.
6. Inglis JK (1988) Reproduction, breeding and heredity, En Introduction to laboratory animal science and technology. Pergamonn Press, Oxford pp. 160-174,232-233.
7. Hoar WS, Hickman Jr CP (1978) Ovariectomía y ciclo del estro en la rata, En Manual de laboratorio para fisiología general y comparada, Omega, Barcelona, España, pp 243-248.
8. Fox RR, Laird CW (1970) Sexual Cycles. En Hafez ESE (Ed) Reproduction and breeding techniques for laboratory animals, Lea & Febiger. Philadelphia, pp. 107-122.
9. Bennett JP, Vickery BH (1970) Rats and mice, En Hafez ESE (Ed) Reproduction and breeding techniques for laboratory animals, Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 299-315.
10. Aranda BC (1998) Efecto del contenido de lípidos en la dieta de la rata durante la lactancia sobre la captación de lípidos en la glándula mamaria Tesis profesional, ENEP Iztacala, UNAM, pp. 79-81
11. Valenzuela FM (1978) De la ovulación a la implantación. En Embriología general, Omega, Barcelona, pp. 31-47.
12. Tortora GJ, Anagnostakos NP (1984) Desarrollo embrionario y herencia. En Principios de anatomía y fisiología, 3ª edición, Harla México, D.F. pp 946-954.
13. Guyton AC (1992) Embarazo y lactancia. En Tratado de fisiología médica, 8ª edición, Interamericana-McGraw Hill, Madrid, España pp 957-970.
14. De Alba J. (1985) Fertilización, gestación y parto, En Reproducción animal La prensa médica mexicana, México, pp. 150-182.

- 15 Hay Jr WW (1992) Placental nutrient, metabolism and transport, En Herrera E, Knopp RH (Eds). Perinatal Biochemistry, CRC Press, Boca Ratón, Fla, pp.93-130.
- 16 Nalbandov AV (1969) El embrión en sus primeras fases. En Fisiología de la reproducción, Acribia, Zaragoza, España pp. 226-235
- 17 Verhaeghe J, Van Assche FA (1992) Maternal amino acid metabolism during pregnancy. En Herrera E, Knopp RH (Eds). Perinatal Biochemistry, CRC Press, Boca Ratón, Fla, pp.53-68.
- 18 Botella LJ (1976) La protección endocrina al embarazo, trofoblasto y placenta como órganos endocrinos. En Endocrinología de la mujer, Editorial Científico- Médica, Barcelona, España pp. 365-385.
19. Coronel PP, Coronel BP (1997) Endocrinología del embarazo. En Manual de endocrinología ginecológica. Universidad Veracruzana, Xalapa, México pp.111- 114.
20. Nalbandov AV (1969) Gestación, parto y lactación, En Fisiología de la reproducción, Acribia, Zaragoza, España pp. 250-264.
21. Herrera E (1986) Adaptaciones metabólicas en la madre durante la gestación. En: Herrera E (Ed) Bioquímica perinatal, Fundación Ramón Areces, Madrid España, pp. 9-28.
22. Feregrino NJ (1998) Influencia de la concentración de proteína en la dieta de la rata sobre la producción y composición de la leche. Tesis profesional, FES Cuautitlán, UNAM pp 3-5, 29-31.
- 23 Moore BJ, Brasel A (1984) One cycle of reproduction consisting of pregnancy, lactation or no lactation, and recovery: effects on carcass composition in ad libitum-fed and food restricted rats. J Nutr 114: 1548-1559.
- 24 Spray CM (1950) A study of some aspects of reproduction by means of chemical analysis Br J Nutr 4: 354-360.
25. Beaton GH, Beare J, Ryu MH, Mc Henry EW (1954) Protein metabolism in the pregnant rat. J. Nutr. 54:291-304.
26. Naismith DJ, Richardson DP, Pritchard AE (1982) The utilization of protein and energy during lactation in the rat, with particular regard to the use of fat accumulated in pregnancy Br J Nutr 48:433-441.
27. Kanto U, Clawson AJ (1980) Effect of energy intake during pregnancy and lactation on body composition in rats. J Nutr 110. 1829-1839.
- 28 Fain JN , Scow RO (1966) Fatty acid synthesis in vivo in maternal and fetal tissues in the rat Am J Physiol 210: 19-25.
- 29 Naismith DJ (1966) The requirement for protein and the utilization of protein and calcium during pregnancy. Metabolism 15: 582-595.

30. Mayel-Afshar S, Grimble RF, Taylor TG (1981) Tyrosine oxidation during pregnancy in normal and protein deficient rats. *Proc Nutr Soc* 40:36 A .
31. Mayel-Afshar S, Grimble RF (1982) Tyrosine oxidation and protein turnover in maternal tissues and the fetus during pregnancy in rats. *Biochim Biophys Acta* 716:201-207
32. Mayel-Afshar S, Grimble RF (1983) Changes in protein turnover during gestation in the fetuses, placenta, liver, muscle and whole body of rats given a low-protein diet *Biochim Biophys Acta* 756:182-190
33. Meier PR, Peterson RG, Bonds DR, Meschia G, Battaglia FC (1981) Rates of protein synthesis and turnover in fetal life. *Am J Physiol* 240 (Endocrinol Metab 3):E320-E324.
34. Gresham EL, James EJ, Raye JR, Battaglia FC, Makowski EL, Meschia G (1972) Production and excretion of urea by the fetal lamb. *Pediatrics* 50:372-379.
35. Battaglia FC, Meschia G (1981) Foetal and placental metabolism: their interrelationship and impact upon maternal metabolism. *Proc Nutr Soc* 40:99-113.
36. Lemons JA, Schreiner RL (1983) Amino acid metabolism in the ovine fetus. *Am J Physiol* 224 (Endocrinol. Metab.7): E459-E466.
37. Naismith DJ (1969) The foetus as a parasite. *Proc Nutr Soc* 28:25-31
38. Remesar X, Arola LI, Palou A, Alemany M (1981) Body and organ size and composition during the breeding cycle of rats. *Lab Animal Sci* 13:67-70
39. Fisher H, Grun J, Shapiro R, Ashley J. (1964) Protein reserves: evidence for their utilization under nutritional and disease stress conditions. *J Nutr* 83: 165-170.
40. Pine AP, Jessop NS, Oldham JD (1994) Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. *Br J Nutr* 71:13-27
41. Glore SR, Lyman DK (1985) Loss of tissues in female rats subjected to food restriction during lactation or during both gestation and lactation. *J Nutr* 115: 233-242.
42. Palomo EMA (1990) Efecto de la restricción alimentaria en ratas gestantes sobre la composición de la unidad feto-placentaria. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. UNAM pp 1-15.
43. Illera MM, Illera DJC, Illera DMJ (1991) Eutanasia, Teratogénesis En El ratón y la rata. Editorial Complutense. Madrid, pp.45-54.
44. Padmore JM (1990) Animal feed. En Helrich K Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Edition AOAC Inc. Arlington 15th pp 72,73,79,80.
45. Spiegel MR (1992) Análisis de varianza. En Teoría y problemas de probabilidad y estadística. McGraw-Hill, México, pp.306-315.

46. Barbosa CML (1990) Composición tisular y crecimiento postnatal de crías amamantadas por ratas sometidas a restricción alimentaria durante el embarazo y la lactancia. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, UNAM, pp28-39
47. Peña IA (1999) Influencia de la administración crónica de diferentes concentraciones de proteína en la dieta sobre la composición corporal y la proteólisis en algunos tejidos de la rata durante la lactancia y el destete. Tesis de Maestría, Universidad Iberoamericana, pp 43-63.
48. Zartarian GN, Galler JR, Munro HN (1980) Marginal protein deficiency in pregnant rats. I. Changes in maternal body composition. *J Nutr* 110:1291-1297
49. Cervantes RM (1997) Influencia de la concentración de proteínas de la dieta sobre la producción y composición de la leche en ratas y su efecto en la composición corporal de sus crías. Tesis Profesional, Universidad Veracruzana, pp 28-33
50. Ayala MR (2000) Efecto de la restricción energético-proteínica sobre la composición corporal y la proteólisis muscular en la rata madre lactante. Tesis Profesional Facultad de Química, UNAM, pp 33-47
51. Souders HJ, Morgan AF (1957) Weight and composition of organs during the reproductive cycle in the rat. *Am. J. Physiol.* 191: 1-7
52. Chow BF, Lee C (1964) Effect of dietary restrictions of pregnant rats on body weight gain of the offspring. *J.Nutr.* 82:10-18.
53. Berg BN (1965) Dietary restriction and reproduction in the rat. *J Nutr* 87:344-348
54. Zeman FJ (1970) Effect- of protein deficiency during gestation on postnatal cellular development in the young rat. *J Nutr* 100:530-538.
55. Lederman SA, Rosso P (1980) Effects of food restriction on fetal and placental growth and maternal body composition *Growth* 44, 77-88.
56. Millican PE, Vernon RG, Pain VM (1987) Protein metabolism in the mouse during pregnancy and lactation. *Biochem J* 248: 251-257.