

150
2 ej.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS



**EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA
EN RATAS GESTANTES SOBRE LA COMPOSICIÓN
DE LA UNIDAD FETO-PLACENTARIA.**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
MARIA ANGELICA PALOMO ESQUIVEL

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

I N D I C E

I. INTRODUCCION:

- | | |
|--|-------------|
| - Adaptaciones metabólicas en la madre durante la gestación. | Pag.
1-3 |
| - Cambios hormonales durante la gestación. | 3 |
| - Consecuencias de la restricción alimentaria durante la gestación sobre las adaptaciones metabólicas de la madre. | 3-5 |
| - Metabolismo del feto. | 5-6 |
| - Necesidades nutricionales del feto. | 7 |
| - Efecto de la restricción alimentaria materna sobre el feto. | 7-8 |
| - Placenta. | 8-10 |
| - Mecanismos de transporte placentario. | 11 |
| - Efectos de la nutrición materna sobre el transporte de nutrientes. | 11-12 |
| - Utero. | 12-14 |

II. JUSTIFICACION DEL MODELO ANIMAL. 15

III. CLASIFICACION TAXONOMICA DE LA RATA. 15

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. 16

V. HIPOTESIS. 17

VI. OBJETIVOS.

18

VII. MATERIALES Y METODOS:

1. ANIMALES:

1.1. Características. 19

1.2. Diagnostico del embarazo. 20

2. REGISTRO DEL CONSUMO DE ALIMENTO DE LA RATA. 20-21

3. GRUPOS DE ALIMENTACION. 21

4. ETAPAS DE ESTUDIO. 21-22

5. TRATAMIENTO DE LOS TEJIDOS. 22-23

6. DETERMINACION DE PROTEINAS. 23-24

7. EXTRACCION DE ACIDOS NUCLEICOS. 24-26

8. DETERMINACION DE ACIDOS NUCLEICOS. 26

8.1. Determinación de RNA. 26-27

8.2. Determinación de DNA. 27-28

9. PREPARACION DE LOS ESTANDARES EXTERNOS. 28-29

10. DETERMINACION DE PESO SECO. 29-30

VIII. ANALISIS ESTADISTICO.

32

IX. RESULTADOS.	
1 - CONSUMO DE LA RATA DURANTE EL EMBARAZO.	33
2 - PESO DE LA RATA MADRE.	33
3 - PESO NETO MATERNO.	34
4 - ESTUDIO DE LA COMPOSICION QUIMICA DE FETOS, UTERO Y PLACENTA.	35
5 - UTERO.	35-37
6 - PLACENTA.	37-39
7 - FETOS.	39-41
X. DISCUSION.	42-49
XI. CONCLUSIONES.	50
XII. SECCION DE TABLAS.	51-61
XIII. SECCION DE FIGURAS.	62-106
XIV. RESUMEN.	107-108
XV. BIBLIOGRAFIA.	109-115

I. INTRODUCCION:

ADAPTACIONES METABOLICAS EN LA MADRE DURANTE LA GESTACION:

El embarazo es un proceso predominantemente anabólico el cual requiere sustratos no solo para el mantenimiento del organismo materno sino también para la síntesis de tejido nuevo del feto, la placenta y membranas (1). El constante anabolismo de la unidad feto-placentaria provoca importantes adaptaciones fisiológicas en la madre para garantizar su desarrollo.

Los dos primeros tercios de la gestación se caracterizan por ser anabólicos para la madre. En esta fase, el crecimiento fetal y sus requerimientos metabólicos son mínimos (2). La hiperfagia y el hiperinsulinismo de la madre conducen a una acumulación de reservas energéticas: cerca del 30% del peso ganado por la rata corresponde a grasa (3).

Se ha demostrado en animales experimentales un aumento de la lipogénesis en todas las estructuras maternas (tejido adiposo, hígado, carcass) durante esta fase de la gestación, al mismo tiempo que aumenta la captación de lípidos circulantes y la deposición de proteínas en los tejidos maternos (2,4,5). Existe además un aumento en la retención de nitrógeno y una disminución en la capacidad de síntesis de urea (6,7).

El último tercio de la gestación representa una fase catabólica para la madre (5). La unidad feto placentaria crece exponencialmente durante esta etapa (8).

El intenso drenaje de metabolitos hacia el feto, que tiene lugar durante esta fase, obliga a la madre a someterse a otra serie de adaptaciones metabólicas.

Mientras que en la primera fase de la gestación (dos primeros tercios de la gestación) las reservas energéticas aumentan, en la segunda fase (último tercio de la gestación) las reservas lipídicas disminuyen (2). Esta disminución en las reservas lipídicas está asociada con una menor captación de lípidos circulantes y con un aumento en la capacidad lipolítica del tejido adiposo (9,10,11).

La fase anabólica inicial en la cual la proteína es depositada en los tejidos maternos, principalmente en el músculo, es seguida de una fase catabólica durante la cual la proteína es catabolizada y los aminoácidos liberados son utilizados para la síntesis de proteínas en el feto y la placenta (5).

Los niveles de glucosa disminuyen en la madre durante la última fase de la gestación a pesar de que la actividad gluconeogénica es mayor durante esta etapa (2,12). La hipoglucemia materna está condicionada principalmente por la transferencia de glucosa y precursores gluconeogénicos hacia la unidad feto placentaria (4).

Los niveles de ácidos grasos libres y de triglicéridos se encuentran intensamente elevados desde finales del segundo tercio de la gestación como resultado del aumento en la producción endógena de triglicéridos y de la reducción en la utilización de

lipoproteínas ricas en triglicéridos (10,11,13,14). El beneficio que la hipertrigliceridemia reporta para el feto es limitado ya que la placenta es impermeable al paso de triglicéridos.

CAMBIOS HORMONALES DURANTE LA GESTACION:

Los niveles plasmáticos de gonadotropina coriónica aumentan poco después de la implantación y disminuyen posteriormente. El principal efecto de esta hormona es mantener el cuerpo lúteo durante la primera etapa de la gestación hasta que la placenta produce cantidades significativas de estrógenos.

Los niveles de lactógeno placentario aumentan progresivamente con la gestación, esta hormona tiene un papel importante como factor de crecimiento para el feto y la placenta.

Los niveles plasmáticos de progesterona aumentan progresivamente durante la gestación, la fuente principal de esta hormona es la placenta (15). La progesterona aumenta la relajación de la musculatura lisa y se ha demostrado que estimula la secreción de insulina (16) la cual tiene profundos efectos sobre procesos metabólicos tales como la gluconeogénesis, la lipogénesis y la síntesis proteica.

CONSECUENCIAS DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA DURANTE LA GESTACION SOBRE LAS ADAPTACIONES METABOLICAS DE LA MADRE.

Está ampliamente demostrado que independientemente de los factores genéticos, una nutrición deficiente o inadecuada de la

madre gestante incide negativamente en el desarrollo y el crecimiento del feto (17,18,19,20,21). Una dieta adecuada en calidad y cantidad durante el embarazo asegura un producto saludable y una lactancia exitosa.

La mujer que inicia el embarazo con un buen estado nutricional y con reservas corporales suficientes, tiene un margen de seguridad que garantiza el aporte de nutrientes al feto aun cuando su ingesta alimentaria se viera limitada (22).

Durante la gestación, el ayuno provoca en la madre una pérdida acelerada de peso, aumento en la lipólisis, y la cetogénesis, hipoglucemia, disminución en la concentración de aminoácidos plasmáticos y un fuerte aumento en la síntesis de catecolaminas (4,23).

El tejido adiposo acumulado por la madre durante los dos primeros tercios de la gestación, tiene un papel muy importante en las adaptaciones metabólicas que ocurren en respuesta al ayuno. Gracias a esta reserva energética, la madre puede mantener un aporte continuo de sustratos hacia el feto aun durante periodos de ayuno. El feto está protegido contra las variaciones en la dieta materna aunque para ello haya necesidad de movilizar las reservas corporales de la madre (4,22,23).

Los niveles circulantes de glucosa de la madre disminuyen durante el ayuno como consecuencia de su incapacidad para contrarrestar con la gluconeogénesis el drenaje de glucosa hacia el feto. A pesar de que la actividad gluconeogénica de la rata al final de la gestación es mayor que la de la rata virgen tiene

como limitante la disponibilidad de sustratos (4,12). En condiciones de ayuno se activan la lipólisis y la utilización de sus productos. Los ácidos grasos son utilizados para la oxidación y formación de cuerpos cetónicos, y el glicerol para la gluconeogénesis (24).

Los cuerpos cetónicos pueden ser utilizados por el feto como sustrato. El incremento en los niveles circulantes de glicerol en la madre gestante en ayuno son utilizados por ésta para sintetizar glucosa. La glucosa proveniente de la gluconeogénesis materna es parcialmente transferida al feto a través de la placenta lo cual contribuye a la hipoglucemia materna (4).

Las ratas madres con ingesta restringida tienen una menor concentración de lípidos totales en plasma y un menor peso de sus órganos cuyo contenido total de DNA, RNA y proteínas está disminuido (7,20,25). Por otro lado una dieta deficiente en grasa puede afectar la fertilidad de la rata u ocasionar la muerte de sus embriones o la reabsorción de un segmento de huevo o blastocisto (26).

Los efectos de la alimentación y del ayuno materno sobre el suministro de sustratos al feto ha sido y continua siendo un tema de interés para muchos investigadores.

METABOLISMO DEL FETO:

La velocidad de crecimiento del embrión es mayor al inicio del embarazo y disminuye progresivamente. El crecimiento del

embrión en terminos de tamaño absoluto aumenta continuamente durante toda la gestación al igual que los requerimientos nutricionales (27,28). El crecimiento del embrión durante el primer trimestre es principalmente por hiperplasia, con un aumento acelerado en la síntesis de DNA y proteínas indicativo de la proliferación celular (22). Los sustratos necesarios para el desarrollo del embrión son suministrados por la madre en la forma mas simple posible, de tal manera que requieran una transformación mínima por aquel. Este hecho condiciona las características de los nutrientes, y se restringen principalmente a glucosa y aminoácidos (4).

Los fetos de ratas aumentan de tres a cuatro veces su peso durante el último tercio de la gestación y pueden sintetizar sus propios carbohidratos, grasas y proteínas pero deben recibir un aporte adecuado de glucosa y aminoácidos además de minerales y vitaminas (12,20,22).

La captación fetal de aminoácidos no esta solamente relacionada con la síntesis de proteínas, pues se ha demostrado en el feto de oveja que la captación de aminoácidos neutros y básicos excede las necesidades del feto. El feto utiliza los aminoácidos provistos por la madre tanto para la síntesis de proteínas como para su metabolismo oxidativo. La síntesis de lípidos en los tejidos de fetos de rata se hace a partir de sustratos maternos (4).

NECESIDADES NUTRICIONALES DEL FETO:

Las sustancias alimenticias son necesarias para que el embrión forme tejidos y órganos, y obtenga la energía necesaria para la vida y para los procesos de síntesis.

El feto recibe a través del cordón umbilical glucosa, lactato y aminoácidos que conducen a la acumulación de glucógeno en el hígado y músculos y de triglicéridos en el hígado y el tejido adiposo (4).

El feto, utiliza la glucosa como fuente de energía y como aporte de esqueletos carbonados para la síntesis de estructuras celulares (24,25,26). Los requerimientos de aminoácidos son altos debido a la acelerada velocidad de síntesis proteica. Aunque la mayor parte de los aminoácidos proceden del transporte transplacentario, el feto puede sintetizar glutamato y aspartato (24).

La embriogénesis requiere de nutrientes para cubrir las necesidades del mantenimiento, la diferenciación y el crecimiento del feto. Se sabe que los requerimientos para el mantenimiento y diferenciación son menores que para el crecimiento (26).

EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN ALIMENTARIA MATERNA SOBRE EL FETO:

La restricción alimentaria tiene consecuencias sobre la fertilidad de la madre, así como sobre el peso y sobrevivencia del embrión (19,29,30).

La disminución del aporte de sustratos al feto durante el último tercio del embarazo en la rata, ocasionado por la obstrucción parcial del flujo sanguíneo del útero, causa retardo en el crecimiento del feto (18).

El ayuno prolongado en la rata gestante puede producir retardo en el crecimiento del feto, ya que además de disminuir el flujo de nutrientes también disminuyen el flujo sanguíneo uterino y la captación de oxígeno por el útero y la placenta (24).

En la rata alimentada con una dieta sin proteínas durante el embarazo, aumenta la reabsorción de los fetos y hay una marcada disminución en el peso de la madre (1). Morgan y Winick encontraron que la disminución en el contenido de proteínas en la dieta de la rata gestante no modifica el contenido de DNA, RNA y proteínas en los fetos (31).

PLACENTA:

Es un órgano característico de los mamíferos superiores, formado por las vellosidades del corio, alantoides y la pared del útero.

Es el órgano de la nutrición y respiración fetal, trae las sustancias nutritivas, oxígeno, sales, agua y vitaminas; es también el órgano de excreción de los residuos y su permeabilidad es selectiva (15).

En los animales vivíparos, la naturaleza de los tejidos que

constituyen la placenta no es siempre la misma, y presentan diferencias anatómicas, histológicas, hemodinámicas, de permeabilidad, endócrinas y metabólicas entre las distintas especies.

Se distinguen dos tipos de placentas: las coriovitelinias y las corioalantoicas. En las primeras, la placentación implica por la parte fetal un corion tapizado por el saco vitelino; en las segundas, un corion revestido por el alantoides.

Estos dos tipos se subdividen a su vez en cuatro tipos de acuerdo a su organización histológica y son: La epitelio-corial, la conjuntivo-corial, la endotelio-corial y la placenta hemo-corial.

La epitelio-corial es aquella en donde el corion se localiza sobre el epitelio de la mucosa uterina, este tipo de placenta la presentan los paquidermos, los cetáceos, los caballos y el cerdo. La placenta conjuntivo-corial es donde la erosión local provocada por el trofoblasto afecta el epitelio y el tejido conjuntivo uterino, de manera que el contacto se establece entre el trofoblasto y el endotelio vascular materno. Ej. carnívoros. Finalmente la placenta hemo-corial es la cual la erosión llega incluso a destruir el endotelio de los vasos uterinos y el trofoblasto se encuentra en contacto directo con la sangre materna. Ej. quirópteros, insectívoros, roedores y primates particularmente el hombre (32).

En la placenta de los roedores, se forma una estructura denominada laberinto, en donde se entrecruzan íntimamente el

sistema lagunar de la sangre materna y el capilar de la sangre fetal (4) (Fig.1).

La placenta es un órgano metabólicamente activo, por su consumo o producción de sustratos modula la llegada de sustancias al feto, tanto cuantitativa como cualitativamente. La barrera placentaria además de separar las circulaciones sanguíneas materna y fetal, controla la transferencia de nutrientes ya que impide el paso libre e indiscriminado de moléculas (4,15).

Los roedores tiene una placenta de tipo hemocorial, formada por tres capas celulares trofoblásticas y la capilar fetal. Ya que la organización histológica es de tipo hemocorial, su erosión llega incluso a destruir el endotelio de los vasos uterinos de modo que el trofoblasto acaba por encontrarse en contacto directo con la sangre materna (32) (Fig. 2).

El peso, el contenido de proteína y RNA aumenta continuamente hasta el término de la gestación (22).

La placenta tiene una elevada tasa de síntesis protéica, ya sea para su función como glándula endócrina o para el mantenimiento de su propio crecimiento. El recambio protéico es en si mismo un fenómeno modulador del paso de aminoácidos de la madre al feto. La tasa de recambio de proteínas y de los distintos aminoácidos en la proteínas de los tejidos placentarios y fetales son superiores a la de los tejidos maternos (4). La placenta sintetiza sus propias proteínas pero no existe evidencia de que se transfieran al feto (22).

MECANISMOS DE TRANSPORTE PLACENTARIO:

Se han descrito diversos mecanismos de transporte placentario que se resumen a continuación (33):

Difusión: Regida por la ley de Fick, se refiere al desplazamiento de las moléculas de soluto provocado por un gradiente de concentración.

Difusión facilitada: Requieren de un transportador específico, este sistema de transporte coexiste con un componente de difusión simple. La glucosa es transportada por este mecanismo.

Transporte activo: Transporte contra gradiente de concentración, es específico para el soluto y depende de energía (ATP). Los aminoácidos son transportados por este mecanismo.

Procesos vesiculares: Mediados por el reconocimiento de receptores de membrana. Las moléculas grandes son internadas mediante este mecanismo.

EFFECTOS DE LA NUTRICION MATERNA SOBRE EL TRANSPORTE DE NUTRIENTES:

En la placenta de muchos mamíferos incluso en la del hombre hay una relación íntima entre el vaso embrionario y la sangre materna, de esta manera los nutrientes y el oxígeno son provistos por la madre al feto. La función de la placenta depende de la nutrición de la madre. El bajo peso de los fetos a término es

considerado como indicador de malnutrición o como un déficit en la función de la placenta (26).

La capacidad de transferir nutrientes de la madre al feto depende del estado nutricional de ésta y se relaciona con la integridad y habilidad de la placenta para concentrar, sintetizar y transportar nutrientes (27).

La placenta disminuye la utilización de glucosa y su transporte durante el ayuno como consecuencia de la disminución que ocurre en los niveles de glucosa en sangre (24).

En ratas sometidas a restricción alimentaria general el número de células de la placenta no se modifica, pero sí el tamaño y la capacidad de síntesis de proteínas evaluada por las concentraciones de RNA y la relación RNA:DNA (17). En animales sometidos a una dieta deficiente en proteínas, se observa que la concentración de proteínas en la placenta disminuye considerablemente así como su peso (5).

UTERO:

El útero es un órgano hueco de paredes musculo-membranosas, su porción anterior está situada en la cavidad abdominal, la posterior está en la pelviana (34). Es el sitio del aparato reproductor en donde se lleva a cabo la implantación y desarrollo del embrión (35).

Entre los mamíferos placentarios existe una tendencia a la fusión de las partes inferiores de los conductos reproductores

con objeto de formar un útero único. En roedores ambos elementos del útero se abren independientemente en la vagina, y se le denomina útero doble (35,36,37) (Fig. 3,4).

La pared uterina se compone de tres capas: la mucosa o endometrio, la muscular o miometrio y la serosa o perimetrio. La capa interna del útero o endometrio es rica en vasos sanguíneos y glándulas uterinas (38).

El útero crece inportantemente durante el embarazo. La hipertrofia del útero abarca todas sus capas, y en especial la muscular. Cada fibra muscular se hipertrofia y llega a medir de 7 a 11 su veces la longitud y de 3 a 5 veces el espesor que tenía antes del embarazo. Además de la hipertrofia se produce también un aumento en el número (hiperplasia) de las fibras musculares. La hipertrofia es debida a la acción de los estrógenos y a la distensión uterina (15). La mucosa uterina aumenta su espesor y su vascularización durante el embarazo (15).

En la rata, la longitud del útero aumenta mas de dos veces durante la gestación. El aumento mas importante en la longitud del útero se da entre el día 13 al 16 de gestación. Existe una correlación directa entre el número de implantes y la longitud del útero (36,39).

En los roedores, la cantidad total de RNA, DNA y proteínas aumenta en el útero durante el embarazo normal (40,41,42). Cuando se les somete a una dieta deficiente de proteínas, el peso del útero y las concentraciones de proteínas y RNA disminuyen

significativamente (1).

En la rata en ayuno, al mismo tiempo que ocurre la hipoglucemia se observa una disminución en la captación de glucosa por el útero, la placenta y el feto. En condiciones de ayuno el útero es capaz de utilizar cuerpos cetónicos como fuente de energía (26).

II. JUSTIFICACION DEL MODELO ANIMAL:

La rata de laboratorio desciende de las ratas domésticas. Es un roedor pequeño de hábitos nocturnos. Su comportamiento es definido, de fácil manejo, requiere de poco espacio, es muy prolífica y es la especie mejor conocida desde el punto de vista metabólico. Su periodo de gestación va de 21 a 22 días.

La rata tiene la ventaja, sobre el ratón, de proporcionar mayor cantidad de material experimental, características deseables dentro de la investigación. El estudio del metabolismo perinatal de la rata nos permite un acercamiento sustancial a la situación metabólica existente en el humano, debido a las concentraciones de los principales metabolitos, la evolución perinatal y el desarrollo de sus tejidos especialmente el cerebro, son parecidos al de la especie humana. (43)

III. CLASIFICACION TAXONOMICA DE LA RATA:

La clasificación taxonómica del animal que se utilizó en este estudio es la siguiente: (44,45)

REINO:	Animal
PHYLUM:	Chordata
CLASE:	Mammalia
INFRACLASE:	Eutheria
ORDEN:	Rodentia
SUBORDEN:	Nyomorpha
FAMILIA:	Muridae
SUBFAMILIA:	Murinae
GENERO:	Rattus
ESPECIE:	<u>NOCTURNICUS</u>
SUBESPECIE:	<u>NOCTURNICUS</u>
CEPA:	Sprague-Dawley

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

El crecimiento de la rata durante la gestación requiere del aporte de sustratos provenientes de la madre. La disminución en el aporte de nutrientes al feto ocasionado por el ayuno o la mala alimentación de la madre afecta negativamente el crecimiento de la cría.

Se desconoce el efecto de la restricción alimentaria establecida desde el inicio de la gestación sobre el crecimiento y composición química de los fetos de ratas con un adecuado estado nutricional previo.

En este trabajo se estudia el efecto de la restricción alimentaria de la rata embarazada sobre el crecimiento y composición de la unidad feto placentaria.

V. HIPOTESIS:

La restricción de alimento en la rata durante el embarazo retarda el crecimiento del feto.

La composición química del útero del feto y de la placenta evaluada con la determinación de proteínas, DNA y RNA se modifica en respuesta a la restricción alimentaria.

VI. OBJETIVOS:

A. Determinar el efecto de la restricción alimentaria en la rata embarazada sobre la composición química del útero, placenta y fetos mediante la determinación de peso seco, proteínas y ácidos nucleicos.

B. Comparar el crecimiento de los fetos de ratas bajo restricción alimentaria con el de las ratas alimentadas ad libitum.

VII. MATERIALES Y METODOS:

1. ANIMALES:

1.1. CARACTERISTICAS:

Se utilizaron 60 ratas hembras de la cepa Sprague-Dowley de 12 semanas de edad, las cuales se desparasitaron con metronidazol durante cuatro o cinco días y se dejaron reposar la semana siguiente. Para identificar a cada animal se marcaron en las orejas y se utilizó el sistema universal tal como se muestra en la figura 5.

Los animales se adaptaron durante dos semanas a ciclos de luz-obscuridad de 12 horas y a temperatura de 22 grados centígrados proporcionándoles agua y alimento ad libitum (Nutricubos purina Co. Cuadro 1).

Una semana antes de la cruce los animales se pesaron y se seleccionaron para los experimentos aquellos que tuvieran entre 220-270g.

Los animales se cruzaron a las catorce semanas de edad. Para tal efecto se colocaron 6 hembras en cajas colectivas con dos machos de la misma especie en edad reproductiva (14-48 semanas) y con fertilidad comprobada. Los machos se colocaron en las jaulas a las 16:00h y se retiraron a las 9:00h de la mañana siguiente. El apareamiento se realizó durante tres días consecutivos.

1.2. DIAGNOSTICO DE EMBARAZO:

El embarazo se diagnosticó mediante frotis vaginales.

Los frotis se realizaron a las 9:00 hrs. de la mañana siguiente a la cruce para observar la presencia de espermatozoides.

Para hacer los frotis se tomó a la rata como se muestra en la figura 6. Con una punta de pipeta de plástico se tomó un volumen pequeño (0.5 ml) de solución salina isotónica y se depositó en el orificio vaginal. El líquido vaginal así obtenido se colocó sobre un porta objetos limpio y debidamente etiquetado. La muestra se observó al microscopio óptico a 10X.

El día en que se identificó la presencia de espermatozoides en el frotis se tomó como primer día del embarazo. El animal fue transferido entonces a una jaula individual.

2. REGISTRO DEL CONSUMO DE ALIMENTO DE LA RATA:

A partir del primer día de embarazo, se registró diariamente el consumo de alimento y el peso de la rata hasta el día del parto.

Todos los días se proporcionó a cada animal 100g de preparado comercial alrededor de las 9:00 de la mañana y se recogió el alimento no consumido al día siguiente a la misma hora. La diferencia de peso entre el alimento colocado y el alimento residual fue considerada como el alimento consumido.

El alimento se pesó con una balanza granataria de dos platos marca OHAUS con sensibilidad de 0.1g.

3. GRUPOS DE ALIMENTACION:

Ocho días después del inicio del embarazo las ratas se separaron y se formaron dos grupos.

GRUPO I. Alimentado ad libitum

Se proporcionó a 12 ratas agua y alimento ad libitum durante todo el embarazo. Se registró el consumo de este grupo diariamente hasta el final del embarazo.

GRUPO II: Grupo con restricción alimentaria.

A otros 12 animales se les proporcionó diariamente el 70% del consumo promedio del grupo ad libitum a partir del 8o. día de embarazo con el objetivo de considerar las variaciones diarias que presenta la ingesta de las ratas durante el periodo de embarazo.

4. ETAPAS DE ESTUDIO:

Los días 14 y 20 de embarazo que corresponden a las etapas media y final de la gestación en la rata se sacrificaron 6 animales por cada grupo de alimentación por dislocación cervical aproximadamente a las 9:00 horas.

Mediante una sección media ventral se disecó el útero y su contenido como se muestra en la figura 7, el tejido se colocó en

vasos previamente tarados y se mantuvo en hielo.

Se registró el número de fetos, el sitio de implantación (derecho o izquierdo) y el número de reabsorciones.

Se definieron como reabsorciones aquellos sitios donde existían solo placentas o fetos muy pequeños, y con evidente retardo en su formación en relación con el tamaño y desarrollo de los demás miembros de la camada.

Se obtuvo el peso húmedo total del concepto (que incluye útero, placenta y fetos) después de que se eliminó la grasa parametrial, la longitud del útero se midió con una regla de sensibilidad de 0.1 cm.

Las placentas y los fetos se diseccionaron cuidadosamente, y se midieron y pesaron individualmente. Los fetos se midieron con una regla de la punta de la nariz a la base de la cola. Posteriormente se decapitaron y se eliminó la cabeza.

5. TRATAMIENTO DE LOS TEJIDOS:

El peso húmedo del útero, la placenta y los fetos se determinó con una balanza de un brazo marca OHAUS con sensibilidad de 0.01g.

El útero, la placenta y los fetos decapitados se picaron finamente por separado. Todos los tejidos se homogeneizaron en solución salina isotónica en proporción de 1:10 (p/v) durante un minuto, con un homogeneizador de tipo Politron. El vaso del homogenizado se mantuvo constantemente en hielo.

El homogeneizado mantenido a 4 grados centígrados se utilizó posteriormente para el análisis químico de los tejidos. Aproximadamente 0.1 g del tejido fresco se utilizó para determinar peso seco.

6. DETERMINACION DE PROTEINAS:

El método utilizado fue el descrito por Itzhaki y Gill (46) que es un método rápido que puede ser usado en muestras que contengan DNA.

El método se basa en la medición de la absorción en la región ultravioleta del complejo formado por la proteína y el cobre en una solución de sulfato de cobre 0.21% en hidróxido de sodio al 30%.

Los homogeneizados de los tejidos se diluyen 1:20 con agua destilada. Un mililitro de esta dilución se mezcla con un mililitro de NaOH 30% y otro mililitro de la dilución se mezcla con un mililitro de sulfato de cobre en hidróxido de sodio. A las dos mezclas se les adiciona un mililitro de tetracloruro de carbono para eliminar los lípidos que pueden interferir en la reacción. Se determina la absorbancia a 310nm, de las mezclas que contienen sulfato de cobre y se les resta la lectura proporcionada por las mezclas que solo contienen hidróxido de sodio para eliminar la interferencia de algunas sustancias que en presencia de hidróxido de sodio absorben luz inespecíficamente en la región ultravioleta del espectro .

La densidad óptica de las soluciones se determinó con un

espectrofotómetro marca Carl-Zeiss con celdas de cuarzo de 3.0 ml de capacidad y un centímetro de paso de luz.

La curva estandar se elaboró con albumina sérica bovina en un intervalo de concentración de 200-1000 ug.

Se preparó citosol de hígado de rata para utilizarlo como estandar externo. Las alícuotas de citosol mantenidas en congelación a -70 grados centígrados se diluyen 1:10 con agua destilada y se determina la cantidad de proteína de la misma manera que a los homogeneizados de tejido.

7. EXTRACCION DE ACIDOS NUCLEICOS:

El método utilizado fué el descrito por Schneider (47). La ventaja de este método es que permite obtener al DNA y RNA juntos mediante un sola extracción. Los ácidos nucleicos se determinan con reacciones colorimétricas específicas para el carbohidrato asociado a cada ácido nucleico en la misma muestra.

Para extraer y determinar los ácidos nucleicos es necesario eliminar previamente del tejido algunos compuestos que interfieren en la cuantificación.

El tejido se trata primero con ácido perclórico frío para eliminar pequeñas moléculas (nucleótidos libres) seguido de la extracción de lípidos con solventes orgánicos. Los ácidos nucleicos se extraen juntos con el uso de ácido caliente.

El procedimiento completo se describe a continuación.

1. Precipitación con ácido perclórico 0.2N final.

A una alícuota del homogeneizado del tejido se le añade ácido perclórico frío para obtener una concentración final de 0.2N. La mezcla se deja reposar durante 30 minutos después de lo cual se centrifuga durante 10 minutos a 3000rpm. El sobrenadante se decanta y elimina.

En este paso se precipitan las proteínas junto con los ácidos nucleicos y junto con el sobrenadante se eliminan moléculas de bajo peso molecular.

2. Extracción de lípidos:

El residuo que se obtuvo de la precipitación anterior se resuspende con Etanol al 95% amortiguado con acetato de sodio al 2%.

Se centrifuga la mezcla en las condiciones ya mencionadas y se decanta el sobrenadante.

El residuo se lava con Etanol 95%-Eter 3:1 y el sobrenadante se descarta.

3. Extracción con ácido perclórico caliente

Una vez que se eliminan los lípidos, el residuo se resuspende en ácido perclórico con una concentración final de 1.5N.

La mezcla se hidroliza a 70 grados C durante 20 min y se centrifuga.

El sobrenadante se conserva y el residuo se somete nuevamente a hidrólisis en las mismas condiciones. Después de centrifugar, se mezclan los sobrenadantes de las dos hidrólisis.

8. DETERMINACION DE ACIDOS NUCLEICOS:

Para determinar RNA y DNA en el mismo extracto se utilizan reacciones químicas colorimétricas específicas para la ribosa y la desoxiribosa.

8.1. DETERMINACION DE RNA:

El método utilizado fue el de Munro-Fleck (48) el cual depende de la formación de furfural a partir de la ribosa en medio ácido. Este furfural reacciona con el orcinol y forma un complejo colorido. La formación de este complejo se favorece con la presencia de iones cobre.

Una alícuota del extracto de ácidos nucleicos se mezcla con orcinol al 1% en ácido clorhídrico y con acetato cúprico al 0.5% en ácido acético glacial. La mezcla de reactivos se lleva a ebullición durante 20 minutos. Una vez que la mezcla de reacción se ha enfriado a temperatura ambiente, se determina la densidad óptica de la solución a 660nm utilizando un espectrofotómetro marca Carl-Zeiss con celdas de cuarzo de 3.0 ml de capacidad y un centímetro de paso de luz.

Se preparó una curva estándar con RNA de levadura en un intervalo de concentración entre 20-100ug.

Como estándar externo se utilizó la fracción microsomal obtenida de hígado de rata. A la fracción microsomal se le extraen los ácidos nucleicos por el mismo procedimiento descrito para los homogeneizados de los tejidos. El extracto de microsomas que se mantiene en congelación a -70 grados centígrados, se descongela y diluye para realizar la determinación de la concentración de RNA en la forma descrita previamente.

8.2. DETERMINACION DE DNA:

El método utilizado es el de Burton modificado por Giles-Myers (49).

La desoxiribosa reacciona con difenilamina en presencia de ácido y se forma un compuesto colorido con una longitud de onda de máxima absorción de 600nm. La presencia de acetaldehído en la mezcla de reacción estabiliza al compuesto colorido.

Para determinar la concentración de DNA en los tejidos se mezcla una alícuota del extracto de ácidos nucleicos con difenilamina al 4% en ácido acético glacial en presencia de acetaldehído (1.6mg/ml). La mezcla se incuba durante 24 horas a 37 grados centígrados, después de lo cual se determinó la densidad óptica de la solución a 600nm.

Se utilizó un espectrofotómetro marca Carl-Zeiss con celdas de cuarzo de 2.0 ml de capacidad y 0.5 cm de paso de luz.

Se preparó una curva estándar con DNA de timo de ternera en un intervalo de 20-100ug.

Como estandar externo se utilizó la fracción nuclear de hígado de rata la cual se sometió al mismo proceso de extracción que los tejidos y se mantuvo en congelación a -70 grados centígrados hasta su uso. Una alícuota de este extracto nuclear se diluyó con agua destilada para determinarle la concentración de DNA con el mismo procedimiento mencionado anteriormente.

9. PREPARACION DE LOS ESTANDARES EXTERNOS.

Se utilizó hígado de rata para obtener algunas fracciones subcelulares que fueron a su vez utilizadas en la preparación de los estandares externos.

La fracción nuclear fue utilizada para obtener el estándar de la determinación de DNA, la fracción microsomal para la determinación de RNA y el citosol en la determinación de proteínas.

El hígado obtenido de 2 ratas no embarazadas no lactantes se picó finamente y se colocó en el vaso del homogeneizador junto con 10 volúmenes de solución de sacarosa 0.25 M. El tejido se homogeneizó durante 30 segundos con un homogeneizador de tipo Polytron.

El homogeneizado se centrifugó a $1,000 \times g$ durante 10 minutos en la centrifuga Sorvall refrigerada modelo RC-5B utilizando un rotor 55-34. El sobrenadante se decantó y se conservó para su empleo posterior.

El residuo que contiene principalmente los núcleos, las fracciones grandes de membrana y las células intactas se resuspendió en sacarosa 0.25 M, se homogeneizó y se centrifugó nuevamente en las condiciones mencionadas.

El residuo ó fracción nuclear se resuspendió finalmente en 2 mililitros de sacarosa 0.25 M y se conservó en hielo hasta ser utilizado en la extracción de DNA.

El sobrenadante de la segunda centrifugación se combinó con el sobrenadante de la primera y se centrifugaron a 20,000 x g durante 20 minutos para eliminar mitocondrias, lisosomas y retículo endoplásmico liso. El residuo se descartó y el sobrenadante se centrifugó finalmente a 100,000 x g durante 60 minutos en una ultra centrifuga Beckman modelo L8-80 con un rotor 80 Ti.

El sobrenadante obtenido es utilizado como citosol y el residuo una vez resuspendido en sacarosa 0.25 M es utilizado para la extracción de RNA.

El citosol, los extractos de la fracción nuclear y microsomal se mantienen congelados en alícuotas a -70°C hasta su uso.

10. DETERMINACION DE PESO SECO:

Se determinó el peso seco de los tejidos por gravimetría.

Una fracción del tejido, (alrededor de 0.1g) se coloca en frascos de vidrio previamente tarados y con peso constante y se sometió a desecación a 70 grados C hasta peso constante en una

estufa Thelco.

El peso de los frascos con tejido se determinó con ayuda de una balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg.

CUADRO 1
COMPOSICION DE LA DIETA COMERCIAL (NUTRICUBOS, PURINA Co.)

POR 100 g DE PESO SECO			
NUTRIENTES	g	NUTRIENTES	g
Kilocalorias	372.01	Tiamina	0.0113
Proteinas	26.1	Riboflavina	0.091
Grasa	2.8	Niacina	1.07
Carbohidratos	55.1	Acido Pantotènico	0.26
Fibra	6.8	Acido Fòlico	0.067
Cenizas	9.9	Piridoxina	0.068
Calcio	1.1	Biotina	0.0079
Fosfato	0.68	B-12 mcg	2.5
Potasio	1.25	Vitamina A IU	125
Sodio	0.45	Vitamina D IU	300
Yodo	0.0225		
Zinc	0.0065		

VIII. ANALISIS ESTADISTICO:

Los resultados se reportan como promedio (\bar{X}) y desviación estandar (S). La prueba estadística utilizada es la prueba de T'Student (50) para comparar muestras independientes. Las series logitudinales de datos se analizaron mediante análisis de varianza (SI).

IX. RESULTADOS:

1. CONSUMO DE LA RATA DURANTE EL EMBARAZO:

El consumo de alimento no purificado (nutricubos Purina Co) se muestra en la figura (8).

Las ratas alimentadas ad libitum aumentan su ingesta a lo largo del periodo de embarazo. El consumo de los animales aumentó 36%, entre el día cero de embarazo (20.33 ± 2.35 gr.) y el día 18 de gestación (27.94 ± 4.91 gr). En este día se observó el mayor consumo. A partir del día 20 de gestación y hasta el día del parto el consumo disminuyó (tabla 1) hasta 15.88 ± 6.66 gr. en el día 22.

El grupo de ratas con restricción alimentaria consumió el 70% de la ingesta dietaria promedio de las ratas ad libitum a partir del día 8 de gestación.

2. PESO DE LA RATA MADRE:

En la figura 9 se muestra la evolución del peso corporal promedio de las ratas durante el embarazo.

El peso promedio de las ratas madres antes de la cruce fue de 240.17 ± 14.53 gr. y aumentó progresivamente en ambos grupos hasta alcanzar en el día 23 de embarazo 375.31 ± 30.39 en las ad libitum y 331.82 ± 14.81 g en el grupo restringido. El día del parto el peso en ambos grupos disminuyó alrededor de 70% (tabla 1). En total las ratas ad libitum aumentaron su peso corporal 56% mientras que las restringidas solo aumentaron 38%.

3. PESO NETO MATERNO:

El peso neto materno se refiere al peso total de la rata en el día del sacrificio menos el peso del concepto (fetos, placenta, líquido amniótico y membranas).

El día 14 de embarazo el peso neto materno fue ligeramente mayor en el grupo ad libitum que en el restringido, (265.88 ± 14.11 vs 249.25 ± 19.39 gr respectivamente) la diferencia no fue significativa ($p= 0.180881$). El día 20 de embarazo las diferencias fueron mayores entre los dos grupos, los animales ad libitum alcanzaron un peso de 297.65 ± 23.94 y los restringidos 228.65 ± 9.52 ($p= 0.00025$).

En la tabla (2) se muestra la ganancia neta del peso materno (peso neto materno menos el peso inicial de la rata). La ganancia neta de peso se refiere al peso total ganado por la rata desde el día 1 de embarazo hasta el día de sacrificio menos el peso del concepto (fetos, placentas y membranas) y representa las reservas acumuladas por la rata madre.

El día 14 de embarazo el grupo ad libitum tuvo una ganancia neta mayor que el grupo restringido (24.22 ± 9.30 vs 4.25 ± 5.80 gr. $p= 0.002$). En el día 20 de gestación las ratas alimentadas ad libitum tuvieron una ganancia neta de 61.16 ± 17.89 gr. mientras que las restringidas tuvieron una pérdida de 5.51 ± 10.28 gr. ($p= 0.000064$).

4. ESTUDIO DE LA COMPOSICION QUIMICA DE FETOS, UTERO Y PLACENTA.

El contenido de sólidos, proteínas, DNA y RNA se calculó para cada tejido tanto referido como miligramo por gramo de tejido como miligramo por órgano total.

En cada caso se calcularon las relaciones proteína/DNA y RNA/DNA que representan el tamaño y capacidad sintética por célula respectivamente.

5. UTERO:

El peso húmedo total del concepto no tuvo diferencias entre los dos grupos en el día 14 de embarazo sin embargo el día 20 el concepto fué menor en el grupo restringido (51.92 ± 4.14 vs 46.85 ± 5.16 gr.) ($p > 0.05$). Fig. (10)

El peso húmedo del útero aumentó 87% del día 14 al 20 de embarazo en ambos grupos de ratas (tabla 4 y figura 11). No se encontraron diferencias entre el peso húmedo y longitud del útero de los 2 grupos en ninguno de los días estudiados. Fig. (11,12).

El peso seco en mg/gramo de tejido se mantuvo constante durante el estudio y no mostró diferencias entre los grupos de animales ($p > 0.05$) tabla 3 y fig. 13. El peso seco por órgano total aumentó en ambos grupos entre los días 14 y 20 de embarazo debido principalmente al aumento en el tamaño del órgano tabla 3 y fig. 14.

La concentración de proteínas en mg/gramo de tejido aumentó en los animales ad libitum entre el día 14 y el 20 de gestación mientras que en el grupo restringido se mantuvo constante.

El día 14 de embarazo la concentración de proteínas en mg/gramo de tejido no presentó diferencias entre los grupos (89.63 vs 92.10 $p > 0.05$). Sin embargo en el día 20, el grupo restringido presentó una menor concentración de proteínas que el grupo control (111.42 ± 3.88 vs 87.32 ± 8.63) ($p = 0.0002$). Tabla 4 y fig. 15.

El contenido de proteínas por órgano total no fue diferente entre los 2 grupos en el día 14 de embarazo. En el día 20, el grupo restringido tuvo un menor contenido de proteínas por órgano (552.23 ± 36.28 vs 407.96 ± 47.29 $p = 0.0003$). Tabla 4 y fig 16.

La cantidad de RNA expresada en mg/gramo de tejido disminuyó entre el día 14 y el 20 en ambos grupos de animales mientras que el RNA por tejido total aumentó. No hubo diferencias en estos parámetros entre los 2 grupos en ninguno de los días estudiados. Tabla 4 y Fig 17 y 18.

La concentración de DNA en mg/gramo de tejido disminuyó entre el día 14 y el 20 de embarazo en ambos grupos, sin encontrarse diferencia significativa entre los grupos de estudio. Tabla 4, Figura 19

La cantidad de DNA por órgano total aumentó entre el día 14 y el 20 en ambos grupos, este aumento fue debido principalmente al aumento en el tamaño del órgano. Tabla 4 Fig. 20. La

capacidad de síntesis por célula evaluado mediante la relación RNA/DNA fué mayor en los animales restringidos 1.02 ± 0.09 vs 1.17 ± 0.15 mg. el día 14 y 0.92 ± 0.15 vs 1.02 ± 0.17 mg. el día 20; sin embargo la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p= 0.08$ y $p= 0.4$) Tabla 5 y Fig. 21.

La relación proteína/DNA índice del tamaño celular fué mayor en el grupo restringido el día 14 de embarazo (24.21 ± 2.50 vs 29.94 ± 7.53 mg.) y menor el día 20 (42.96 ± 8.24 vs 32.98 ± 6.29 mg.), pero las diferencias no fueron significativas ($p= 0.1$ el día 14 y $p= 0.056$ en el día 20). Tabla 5 Fig. 22.

6. PLACENTA:

El peso húmedo de la placenta el día 14 de embarazo fué de 0.12 gr. en los dos grupos de alimentación y aumentó el día 20 en ambos grupos con tendencia a ser mayor en el grupo alimentado ad libitum (0.53 ± 0.08 vs 0.46 ± 0.04 gr.) sin que las diferencias fueran significativas $p= 0.12$. Tabla 6 y Fig. 23.

El peso seco de la placenta expresado en mg/gramo de tejido se mantuvo constante a lo largo del estudio en ambos grupos. No se observaron diferencias entre los grupos. Tabla 6 y Fig 24.

El peso seco por órgano total aumentó cuatro veces el día 20 de gestación en los 2 grupos, pero las diferencia no fueron significativas entre los dos grupos de estudio. Tabla 6 y Fig. 25.

La concentración de proteínas en mg/gramo de tejido se mantuvo sin cambio a lo largo del estudio. El día 20 de embarazo

la concentración fué ligeramente menor en la placenta del grupo restringido (117.33 ± 21.51 vs 97.77 ± 11.80 mg/g tej. $p = 0.11$) pero la diferencia no fué significativa Tabla 7 y Fig. 26.

La concentración de proteínas por órgano total aumentó cuatro veces del día 14 al 20 de gestación en forma paralela al aumento en el tamaño del órgano. No hubo diferencias entre los grupos de alimentación en ninguno de los días estudiados, sin embargo en el día 20 de gestación las placentas de las ratas restringidas tendieron a presentar una menor concentración de proteínas (62.78 ± 18.81 vs 45.13 ± 5.33 $p = 0.07$). Tabla 7 y Fig. 27.

El grupo restringido mostró una mayor concentración de RNA en ambas etapas de estudio expresado tanto en mg/gramo tejido como en mg/órgano total. La diferencia fue significativa en los dos días de estudio solo cuando los resultados se expresan por mg/gramo de tejido ($p < 0.05$). Tabla 7 y Fig. 28,29.

Tanto el día 14 como el 20 de embarazo el grupo restringido presentó un menor contenido de DNA en mg/gramo de tejido (4.82 ± 0.42 vs 4.34 ± 0.56 en el día 14 y 4.81 ± 1.67 vs 4.82 ± 0.38 en el día 20 de embarazo) pero las diferencias no fueron significativas ($p = 0.19$ y $p = 0.32$). Tabla 7, Fig. 30

El DNA por tejido total aumentó el día 20 de embarazo en ambos grupos, y no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambos. Tabla 7 y Fig. 31.

La relación RNA/DNA índice de la capacidad de síntesis por célula en la placenta fué mayor en el grupo restringido el día

14 (0.94 ± 0.19 vs 1.21 ± 0.15 mg.) y en el día 20 (0.90 ± 0.16 vs 1.25 ± 0.09 mg.). Las diferencias fueron significativas con una $p < 0.05$. Tabla 5 Fig. 32.

El tamaño de las células de la placenta expresado por la relación Proteína:DNA aumentó el día 20 de la gestación en el grupo alimentado ad libitum mientras que disminuyó en el grupo restringido. Tabla 5 y Fig. 33.

El día 14 de embarazo la relación proteína/DNA fue mayor en el grupo restringido (22.35 ± 2.23 vs 26.70 ± 5.92 mg.) pero sin diferencia significativa ($p = 0.194128$).

El día 20 de embarazo esta relación fue menor en el grupo restringido (30.44 ± 4.49 vs 20.25 ± 9.68 mg.), sin que la diferencia fuera significativa ($p = 0.0527$).

7. FETOS:

El número de fetos vivos en los dos grupos y en las dos etapas de estudio fue en promedio de 12 fetos. Tabla 8.

El número de reabsorciones fue similar en los dos grupos tanto a los 14 como a los 20 días de embarazo.

Los fetos aumentaron dos veces su longitud del día 14 al 20 de gestación en ambos grupos de estudio. No hubo diferencias entre grupos. Tabla 9 Fig. 34.

El peso húmedo de los fetos aumentó notablemente entre el día 14 (0.06 ± 0.01 gr.) y el día 20 (2.44 ± 0.14 gr.). No hubo diferencias en el peso de los fetos entre los grupos en ninguno

de los días estudiados. El peso de las crías al nacimiento tampoco fué diferente entre ambos grupos de alimentación. Tabla 10 Fig 35.

El contenido de sólidos en mg/gramo de tejido de los fetos aumentó 40% entre el día 14 y el 20 de gestación en ambos grupos. El contenido de sólidos por gramo de tejido y por feto total fué significativamente menor en los fetos restringidos el día 20 de gestación 123.76 ± 1.75 vs 117.46 ± 4.42 mg/g tej. $p= 0.01$; y 301.58 ± 20.37 vs 245.14 ± 46.1 mg/feto total $p= 0.03$). Tabla 10 Fig. 36 y 37.

La concentración de proteínas en mg/gramo de tejido aumentó del día 14 al 20 de gestación en los fetos de ratas alimentadas ad libitum mientras que se mantuvo constante en los fetos de ratas con restricción alimentaria.

El día 20 la concentración de proteínas expresada en mg/gramo de tejido y en mg/tejido total fué significativamente menor en los fetos de ratas restringidas (78.25 ± 5.23 vs 65.88 ± 6.48 mg/g tej. $p= 0.0077$) y (191.12 ± 21.67 vs 137.62 ± 30.53 mg/org.tot $p= 0.009$) Tabla 11, Figs. 38 y 39.

La concentración de RNA expresada en mg/gramo de tejido ó por tejido total aumentó el día 20 de la gestación. No se encontró diferencia significativa al comparar los dos grupos de estudio en ninguna de las etapas. Tabla 11, Figs. 40 y 41.

El día 20 de la gestación la cantidad de DNA por órgano total aumentó en ambos grupos, sin embargo el grupo restringido

presentó una menor cantidad de DNA por feto total (17.73 ± 2.22 vs 13.3 ± 2.68 mg/feto total $p = 0.017$). Tabla 11, Figs. 42 y 43.

El tamaño de las células representado por la relación proteína:DNA aumentó en ambos grupos del día 14 al 20 de gestación. Esta relación fué ligeramente menor en el grupo restringido en todas las etapas sin ser estadísticamente significativo $p = 0.66$ Tabla 5, Fig. 44.

La capacidad de síntesis por célula expresado por la relación RNA/DNA en el día 20 fué mayor en los fetos de ratas restringidas (0.59 ± 0.07 vs 0.75 ± 0.13 mg. $p = 0.039$). La diferencia no fué significativa el día 14. Tabla 5, Fig. 45.

X. DISCUSION:

Este estudio fué diseñado para evaluar los efectos de la restricción alimentaria en la rata madre durante el periodo de embarazo sobre el crecimiento del feto y la composición química del feto, la placenta y el útero.

En algunos estudios se analiza el efecto de una dieta sin proteínas o sin carbohidratos proporcionada a la rata madre durante la gestación sobre la composición del hígado y del plasma materno (1,25). En otros, se analiza el efecto de la restricción de proteínas o de energía durante la gestación sobre el número de implantaciones y reabsorciones de los embriones (19,23). En nuestro conocimiento no existen estudios donde se analice el efecto de la restricción de energía en la rata madre sobre el crecimiento y composición del feto, conjuntamente con el crecimiento y composición del útero y la placenta.

El diseño experimental de este trabajo contempló el estudio de dos grupos de animales; el grupo control estaba formado por ratas alimentadas ad libitum con un preparado comercial no purificado y el grupo de animales restringidos formado por ratas sometidas a restricción energética global desde el día 8 de gestación. Se eligieron dos etapas de estudio, una que corresponde al periodo de mayor crecimiento del feto (14 días de gestación) y otra que respnde al final de la gestación (20 días).

Los animales fueron controlados estrictamente en su peso y su ingesta durante todo el periodo de estudio. El grupo

restringido recibió diariamente el 70% del consumo promedio del grupo control. Mediante este esquema, se toman en cuenta las variaciones diarias en la ingesta de los animales.

La restricción de alimento se inició al octavo día del embarazo para no afectar la implantación del huevo (19). En otros estudios, se inicia la restricción alimentaria el primer día de la gestación o semanas antes de la cruce lo cual tiene como resultado la reducción en el número de implantaciones y un aumento en la reabsorción de productos (19,23,52).

En el día 14 de gestación el grupo control y el grupo restringido presentaron en promedio dos reabsorciones por rata. En el día 20 de gestación no se detectaron reabsorciones en ninguno de los grupos de estudio esto tal vez se deba a que la inspección de reabsorciones se hizo macroscópicamente y al final de la gestación los sitios de reabsorción son imperceptibles. Es necesario realizar la observación microscópica en los animales estudiados en el día 20 de gestación para confirmar el hallazgo.

CONSUMO DE LA RATA MADRE DURANTE LA GESTACION:

El consumo de la rata aumentó progresivamente durante el embarazo y alcanzó un consumo máximo alrededor del día 18, estos resultados coinciden con lo descrito previamente (2.11,28).

El aumento en el consumo de la rata está relacionado con el aumento de las necesidades de la madre para mantener el crecimiento y sobrevivencia del producto.

En los últimos días de la gestación, el consumo de alimento de las ratas alimentadas ad libitum disminuyó notablemente, esta disminución en la ingesta de la rata en las cercanías del parto se ha relacionado con el aumento del espacio ocupado por el contenido del útero (8) y con los cambios hormonales que ocurren especialmente a la caída de las concentraciones de colecistoquinina, gastrina y secretina (4).

PESO DE LA RATA MADRE DURANTE EL EMBARAZO:

Durante la gestación, las ratas alimentadas ad libitum aumentaron su peso corporal en un 70%. Este aumento de peso fue más notorio hacia el final de la gestación. La semana previa al parto, la rata aumentó su peso corporal alrededor de un 40%. La unidad feto placentaria creció exponencialmente en el último tercio de la gestación lo que condiciona el aumento en el peso de la rata (4).

A diferencia de los animales alimentados ad libitum, el grupo restringido sólo aumentó su peso corporal durante la gestación un 38%.

Los dos grupos de animales disminuyeron su peso corporal un 60% en el día del parto.

Al calcular la ganancia neta del peso de la madre, es decir la ganancia de peso entre el primer día de gestación hasta el día del sacrificio menos el peso del concepto se observó que hasta el día 14 los dos grupos de ratas tuvieron una ganancia neta. Los animales con restricción alimentaria solo ganaron la sexta parte

de lo que ganaron las alimentadas ad libitum.

Hasta el día 20 de gestación, los animales alimentados ad libitum tuvieron una ganancia de peso de alrededor de 110 g, de los cuales el 60% correspondió a la ganancia neta del organismo materno, que representa las reservas energéticas acumuladas durante la gestación o bien a un aumento en la cantidad de agua extracelular (6). En el grupo restringido la ganancia en el peso corporal total fué de 60g pero no tuvo ganancia neta, por el contrario sufrió una pérdida de alrededor de 5.0 g en relación al peso pre-embarazo. Lo anterior sugiere que existe movilización del tejido de la madre para subsidiar el crecimiento de la unidad feto placentaria.

UTERO:

El peso húmedo y la longitud del útero aumentó a lo largo del periodo de gestación. La dilatación en el útero como resultado del crecimiento del feto y la placenta promueve su crecimiento acelerado y estimula la síntesis de proteínas (53).

No se encontraron diferencias en el peso húmedo y la longitud del útero entre los dos grupos de alimentación tal vez porque el crecimiento de los fetos fué igual en ambos grupos. Estudios previos muestran que las ratas alimentadas con una dieta baja en contenido de proteínas durante la gestación tienen un útero más pequeño comparadas con animales alimentados con una dieta adecuada (1,17), sin embargo no se comparó el tamaño de los fetos.

Las ratas sometidas a restricción alimentaria presentaron una menor concentración de proteínas por gramo de útero y por órgano total en el día 20 de gestación.

El número y el tamaño de las células del útero inferidos de la cantidad de DNA y de la relación proteína:DNA aumentó hacia el final de la gestación en ambos grupos de animales provocado principalmente por el aumento en el tamaño del tejido. El tamaño de las células del útero de las ratas restringidas tiende a ser menor que el de las ratas alimentadas ad libitum, sin embargo no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos debido en gran medida a la dispersión que muestran los valores.

La restricción alimentaria no tuvo efecto sobre la concentración de sólidos, RNA y DNA. Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura en ratas sometidas a una dieta libre de proteínas durante la gestación (1).

A pesar de que no se encontraron diferencias en la relación RNA:DNA en el útero entre los grupos de estudio, se observó una tendencia a ser mayor en las ratas restringidas. Es posible que debido al tamaño de la muestra (solo 6 animales) y a la dispersión de los valores en ambos grupos, no se encontraron diferencias en relación al tipo de alimentación. Si la capacidad de síntesis celular en el útero de las ratas restringidas aumentara realmente en comparación con las ratas alimentadas ad libitum, la disminución en el contenido de proteínas del útero de las ratas restringidas solo podría estar dada por un aumento importante en la velocidad de degradación proteica de este

tejido.

PLACENTA:

El peso húmedo de la placenta aumentó cuatro veces entre los días 14 y 20 de gestación en los dos grupos de animales, la placenta de las ratas restringidas tiende a ser menor que la de las control sin embargo no se encontró diferencia estadística debido a la dispersión de los valores en el grupo control.

La restricción alimentaria no tuvo efecto sobre las concentraciones de sólidos, proteína y DNA de la placenta expresadas tanto por gramo de tejido como por tejido total. Al igual que  húmedo, la concentración total de los componentes mencionados anteriormente tiende a ser menor en las ratas restringidas. La dispersión en los valores de peso húmedo en la placenta de los animales control no se puede explicar en función del procesamiento de la muestra ya que en las mismas condiciones y en el mismo día se sacrificaron los animales control y los animales restringidos. Es necesario aumentar el tamaño de la muestra para contrarrestar estas variaciones individuales.

La placenta de las ratas sometidas a restricción alimentaria presentó una mayor concentración de RNA y una mayor capacidad de síntesis por célula inferida por el aumento en la relación RNA:DNA. El aumento en la concentración de RNA y en la capacidad de síntesis proteica en las células de la placenta de las ratas restringidas podría ser un mecanismo adaptativo para compensar la

hipoplasia que presenta la placenta y que ayuda a mantener constante la concentración de proteínas necesarias para la integridad funcional del tejido.

El aumento en la capacidad de síntesis de proteínas por célula que presenta la placenta de las ratas restringidas no ha sido un hallazgo constante. Algunos autores sugieren que la restricción con una dieta deficiente en proteínas aumenta la relación RNA:DNA mientras que otros encuentran que esta relación disminuye o se mantiene sin cambios (17).

En la rata, la restricción en el consumo de proteínas durante la gestación conduce a la disminución en el peso total, el contenido de proteína y ácidos nucleicos de la placenta (1,17).

FETOS:

La restricción alimentaria general establecida después de la implantación del huevo (día 8 de gestación) no tuvo efectos sobre el número de fetos vivos ni sobre el número de reabsorciones. La restricción alimentaria iniciada antes del periodo de gestación provoca la disminución en el número de implantaciones y el aumento en el número de reabsorciones (19,23,25).

El peso húmedo de los fetos aumentó cuarenta veces entre el día 14 y 20 de gestación, este crecimiento exponencial del feto hacia el final de la gestación ha sido descrito previamente (4). La restricción alimentaria no tuvo consecuencias sobre el peso de los fetos en ninguno de los días de estudio ni tampoco influyó en

el peso de la cría al nacimiento.

La restricción alimentaria de la rata madre durante la gestación ocasionó la disminución en el contenido total de sólidos, proteínas y DNA de los fetos. Los resultados de este estudio coinciden con lo informado previamente (5,31).

A pesar de que la cantidad total de sólidos y proteínas es menor en los fetos de ratas restringidas en comparación con el grupo control aquellos no presentaron un menor peso corporal, lo que nos hace pensar que los fetos de las ratas restringidas contienen una mayor cantidad de agua.

XI. CONCLUSIONES:

La restricción alimentaria durante la gestación en la rata no tiene consecuencias sobre el peso de los fetos, utero y placenta, sin embargo si modifica la composición química de los tejidos de la madre y del feto.

Las ratas restringidas presentaron una menor cantidad de proteínas en el útero y un menor número de células en la placenta.

Los fetos de ratas restringidas durante la gestación presentaron un menor contenido de sólidos, DNA y proteínas en comparación con los fetos de ratas con una alimentación adecuada.

Los fetos y la placenta de las ratas restringidas presentaron una mayor capacidad de síntesis protéica por célula.

XII. SECCION DE TABLAS.

TABLA 1

PESO CORPORAL Y CONSUMO DIARIO DE DIETA NO PURIFICADA (NUTRICUBOS, PURINA Co)
DE LA RATA MADRE

DIAS DE EMBARAZO	PESO (g)						CONSUMO DIARIO GRAMOS/DIA		
	AD LIBITUM			RESTRINGIDAS			AD LIBITUM		
	X	SD	n	X	SD	n	X	SD	n
PRE-EMBARAZO	43	238.85	14.53	62	241.50	15.69	25	20.33	2.53
1	19	241.84	21.16	33	251.45	11.72	34	17.32	3.71
2	24	245.63	17.04	32	250.65	13.48	61	20.61	3.09
3	27	248.89	17.76	24	257.73	11.65	39	21.44	2.85
4	21	250.71	18.73	26	261.75	13.16	27	22.37	3.27
5	28	255.89	18.62	33	258.67	15.11	36	21.96	3.22
6	39	252.95	19.64	49	258.48	16.38	35	23.18	4.13
7	34	261.14	21.61	41	259.08	17.73	41	22.44	2.74
8	38	259.47	18.88	51	252.47	16.60	39	22.74	2.57
9	36	259.86	19.81	46	251.70	17.74	39	24.29	2.63
10	38	260.66	19.77	40	251.32	16.13	45	23.26	2.74
11	34	268.68	20.98	35	254.09	17.43	41	23.09	2.35
12	31	273.00	20.36	30	258.21	16.65	44	25.55	3.46
13	31	276.74	22.21	25	255.87	15.72	38	25.35	3.87
14	29	278.10	21.91	30	260.54	17.29	33	26.20	3.20
15	17	279.41	22.48	29	266.67	18.86	36	25.82	3.30
16	23	287.83	22.98	36	268.24	15.29	34	26.27	3.57
17	32	297.50	25.83	35	275.00	18.42	52	27.41	4.91
18	20	316.50	26.13	31	281.38	13.51	57	27.94	4.91
19	19	335.79	28.89	29	297.04	18.87	55	26.28	5.42
20	23	345.61	27.85	32	299.83	21.07	50	25.83	5.47
21	24	362.79	30.74	24	314.32	22.80	50	23.90	5.02
22	20	367.50	36.79	23	325.79	23.30	47	15.88	6.66
23	11	375.31	30.39	6	331.82	14.81	8	14.60	4.17
PARTO	19	269.09	22.54	24	244.55	21.63	--	----	----

TABLA 2

PESO CORPORAL Y GANANCIA DE PESO
DE LAS RATAS EN EL EMBARAZO

	P E S O				G A N A N C I A			
	T O T A L		N E T O		T O T A L		N E T O	
	AD LIB.	RESTRINGIDA	AD LIB.	RESTRINGIDA	AD LIB.	RESTRINGIDA	AD LIB.	RESTRINGIDA
n	6	6	6	6	6	6	6	6
14 DIAS \bar{X}	278.1	260.54	265.88	249.25	31.00	11.17*	24.22	4.25*
s	21.91	17.29	17.11	19.39	9.34	5.78	9.30	5.8
20 DIAS \bar{X}	345.61	299.83	297.16	228.65*	112.60	41.33*	61.16	(-)5.51*
S	27.85	21.07	23.94	9.52	19.37	11.17	17.9	10.28

* Diferente estadísticamente de la rata ad-libitum. ($p < 0.05$)

TABLA 3

PESO HUMEDO Y PESO SECO DEL UTERO

EMBARAZO DE		PESO HUMEDO (g)		PESO SECO			
		AD LIBITUM	RESTRINGIDAS	mg/g tej.		mg/org. tot.	
				AD LIBITUM	RESTRINGIDAS	AD LIBITUM	RESTRINGIDAS
	n	6	6	6	6	6	6
14 DIAS	\bar{X}	2.65	2.50	155.44	152.03	413.77	380.71
	S	0.39	0.30	10.21	6.99	77.94	59.10
20 DIAS	\bar{X}	4.97	4.67	158.11	158.26	784.05	738.70
	S	0.48	0.23	5.88	4.41	58.89	39.30

TABLA 4

PROTEINAS, RNA Y DNA DEL UTERO					
EMBARAZO					
		14 DIAS		20 DIAS	
		AD LIBITUM	RESTRINGIDAS	AD LIBITUM	RESTRINGIDAS
PROTEINAS	n	6	6	6	6
mg/g tej.	\bar{X}	89.63	92.10	111.42	87.32 *
	S	6.65	15.58	3.88	8.63
mg/org. tot.	\bar{X}	222.57	225.83	552.23	407.96 *
	S	61.78	18.34	36.22	47.29
RNA					
mg/g tej.	\bar{X}	3.77	3.67	2.41	2.71
	S	0.26	0.70	0.15	0.28
mg/org. tot.	\bar{X}	10.04	9.26	11.94	12.63
	S	1.90	2.39	1.27	1.31
DNA					
mg/g tej.	\bar{X}	3.74	3.15	2.68	2.73
	S	0.43	0.43	0.45	0.48
mg/org. tot.	\bar{X}	9.99	7.88	13.43	12.75
	S	2.33	1.51	3.06	2.39

* Diferente estadísticamente de la rata ad-libitum. ($p < 0.05$)

TABLA 5

TAMARO CELULAR Y CAPACIDAD DE SINTESIS POR CELULA

EMBARAZO DE		UTERO		PLACENTA		FETOS	
		AD LIBITUM	RESTRINGIDAS	AD LIBITUM	RESTRINGIDAS	AD LIBITUM	RESTRINGIDAS
14 DIAS	n	6	6	6	6	6	6
RNA/DNA mg/mg	\bar{X}	1.02	1.17	0.94	1.21*	0.57	0.63
	S	0.09	0.15	0.19	0.15	0.06	0.04
PROTEINA/DNA mg/mg	\bar{X}	24.21	29.94	22.35	26.70	8.47	7.96
	S	2.50	7.53	2.23	5.92	0.83	1.03
20 DIAS							
RNA/DNA mg/mg	\bar{X}	0.92	1.02	0.90	1.25*	0.59	0.75*
	S	0.15	0.17	0.16	0.09	0.07	0.13
PROTEINA/DNA mg/mg	\bar{X}	42.96	32.98	30.44	20.25	10.95	10.37
	S	8.24	6.29	4.49	9.68	1.89	2.20

* Diferente estadísticamente de la rata ad-libitum. ($p < 0.05$)

TABLA 6

PFSO HUMEDO Y PESO SECO DE LA PLACENTA

EMBARAZO DE	PESO HUMEDO				PESO SECO					
	(n)				mg/g tej.:				mg/org. tot.	
	AD LIBITUM		RESTRINGIDAS		AD LIBITUM		RESTRINGIDAS		AD LIBITUM	RESTRINGIDAS
	TOTAL	C/U	TOTAL	C/U	n	6	6	6	6	
14 DIAS	n	6		6						
	\bar{X}	1.32	0.12	1.30	0.12	145.48	145.20	16.78	17.14	
	S	0.26	0.01	0.30	0.02	7.35	7.83	1.83	3.00	
20 DIAS	\bar{X}	6.44	0.53	5.76	0.46	153.66	150.49	81.19	69.46	
	S	1.10	0.06	0.64	0.04	2.89	3.51	11.66	5.73	

TABLA 7

PROTEINAS, RNA Y DNA DE LA PLACENTA					
EMBARAZO					
		14 DIAS		20 DIAS	
		AD LIBITUM	RESTRINGIDAS	AD LIBITUM	RESTRINGIDAS
PROTEINAS	n	6	6	6	6
mg/g tej.	\bar{X}	105.00	113.76	117.33	97.97
	S	10.58	20.15	21.51	11.80
mg/org. tot.	\bar{X}	12.10	13.49	62.76	45.13
	S	1.55	3.69	18.81	5.53
RNA					
mg/g tej.	\bar{X}	4.23	5.21*	3.90	5.02*
	S	0.63	0.32	0.93	0.35
mg/org. tot.	\bar{X}	0.49	0.61	2.10	2.31
	S	0.10	0.09	0.74	0.17
DNA					
mg/g tej.	\bar{X}	4.62	4.34	4.81	4.02
	S	0.42	0.56	1.67	0.38
mg/org. tot.	\bar{X}	0.56	0.52	2.58	1.65
	S	0.07	0.11	1.11	0.12

* Diferente estadísticamente de la rata ad-libitum. ($p < 0.05$)

TABLA 8

NUMERO DE FETOS VIABLES Y FETOS REABSORBIDOS					
		EMBRIONES REABSORBIDOS		FETOS VIABLES	
		AD LIBITUM	RESTRINGIDOS	AD LIBITUM	RESTRINGIDOS
	n	6	6	6	6
14 DIAS DE GESTACION	\bar{x}	1.83	1.00	11.50	12.00
	S	1.57	0.82	1.61	0.58
20 DIAS DE GESTACION	\bar{x}	0.00	0.00	12.17	12.50
	S	0.00	0.00	0.69	0.50

TABLA 9

LONGITUD DE LOS FETOS

		EDAD GESTACIONAL	
		14 DIAS	20 DIAS
		Long. (cm)	Long. (cm)
<u>D LIBITUM</u>	n	6	6
	\bar{x}	1.49	3.21
	S	0.27	0.25
ESTRINGIDOS	\bar{x}	1.21	3.10
	S	0.26	0.18

TABLA 10

PESO HUMEDO Y PESO SECO DE LOS FETOS

		PESO HUMEDO				PESO SECO				
		(g)				mg/g tej.		mg/org. tot.		
		AD LIBITUM		RESTRINGIDOS		AD LIBITUM	RESTRINGIDOS	AD LIBITUM	RESTRINGIDOS	
		TOTAL	C/U	TOTAL	C/U	n	6	6	6	6
14 DIAS	n	6		6						
	\bar{X}	0.63	0.06	0.75	0.06		83.08	86.36	4.61	5.52
	S	0.12	0.01	0.06	0.01		4.79	5.84	0.88	0.61
20 DIAS	\bar{X}	29.62	2.44	26.00	2.07		123.76	117.46*	301.58	245.14*
	S	2.21	0.14	4.63	0.34		1.75	4.42	20.37	46.10

* Diferente estadísticamente de la rata ad-libitum. ($p < 0.05$)

TABLA 11

PROTEINAS, RNA Y DNA DE LOS FETOS

		EMBARAZO			
		14 DIAS		20 DIAS	
		AD LIBITUM	RESTRINGIDOS	AD LIBITUM	RESTRINGIDOS
PROTEINAS	n	6	6	6	6
mg/g tej.	\bar{X}	60.41	59.18	78.25	65.88 *
	S	4.83	5.38	5.23	6.48
mg/org. tot.	\bar{X}	3.35	3.71	191.12	137.62 *
	S	0.64	0.39	21.67	30.53
RNA					
mg/g tej.	\bar{X}	3.94	4.56	4.22	4.75
	S	0.57	0.78	0.17	0.51
mg/org. tot.	\bar{X}	0.22	0.30	10.26	9.70
	S	0.04	0.07	0.52	1.01
DNA					
mg/g tej.	\bar{X}	7.15	7.64	7.30	6.50
	S	0.49	0.51	0.93	1.18
mg/org. tot.	\bar{X}	0.39	0.49	17.73	13.30 *
	S	0.07	0.08	2.22	2.68

* Diferente estadísticamente de la rata ad-libitum. ($p < 0.05$)

XIII. SECCION DE FIGURAS.

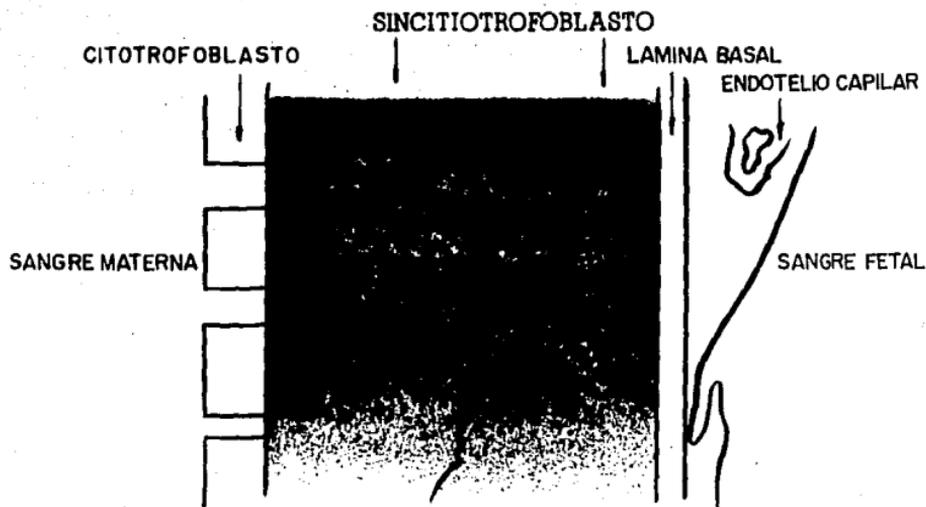


FIG.1 ESTRATOS RESPONSABLES DEL CONTROL DE LA TRANSFERENCIA PLACENTARIA DE METABOLITOS.

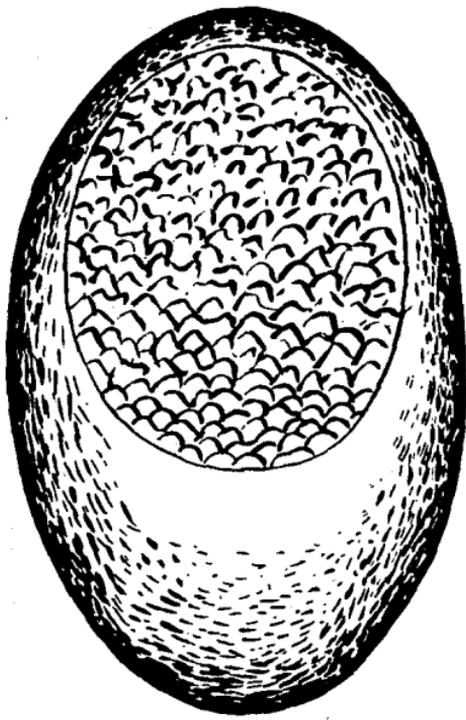


FIG. 2 PLACENTA HEMO - CORIAL

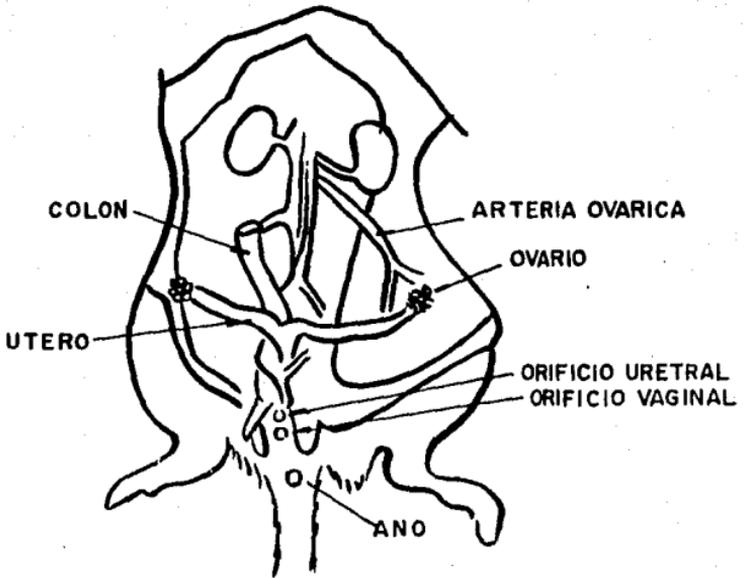


FIG.3 EN ESTA FIGURA SE MUESTRA EL UTERO DE ROEDORES.

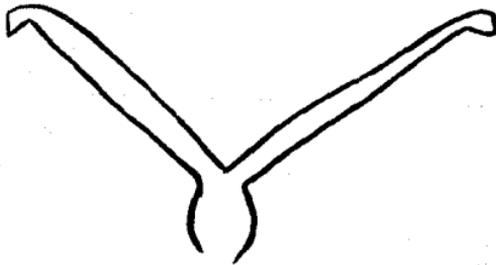


FIG. 4 UTERO DOBLE.

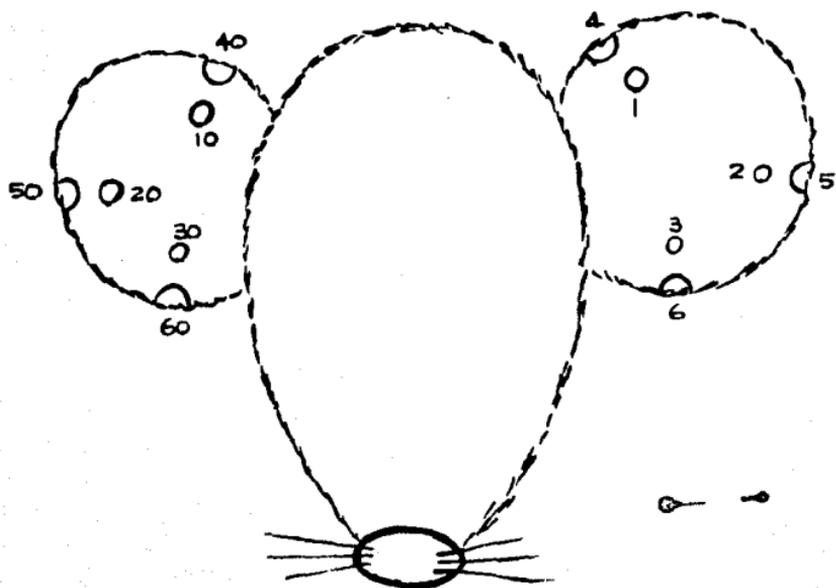


FIG. 5 SISTEMA UNIVERSAL DE MARCADO DE OREJAS.

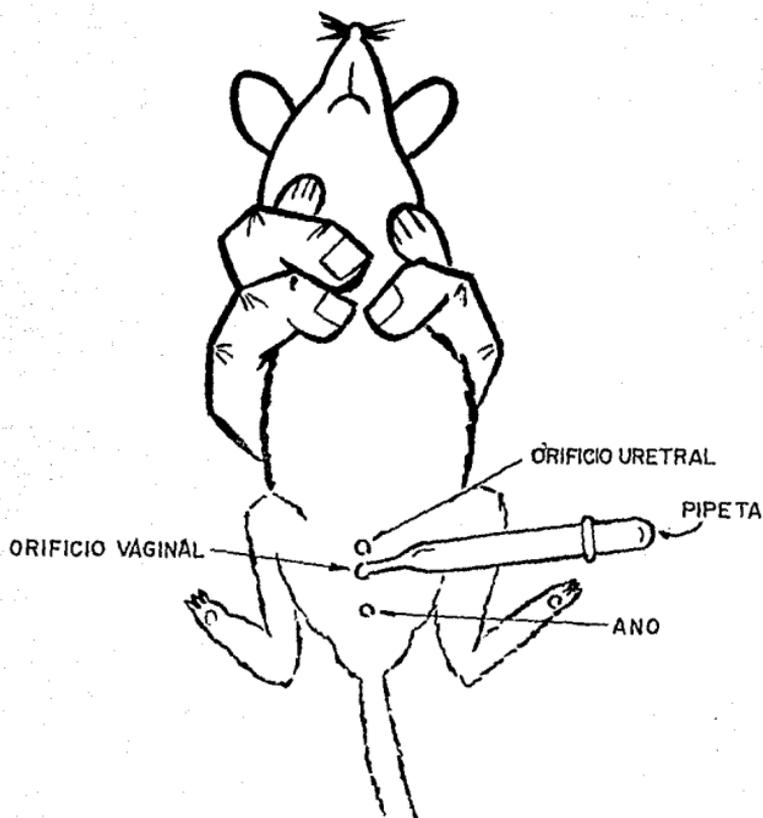


FIG.6 FORMA DE TOMAR A LA RATA PARA OBTENER FROTIS VAGINALES.



FIG. 7 SECCION MEDIA VENTRAL
DE LA RATA.

EMBARAZO

INGESTA MADRES

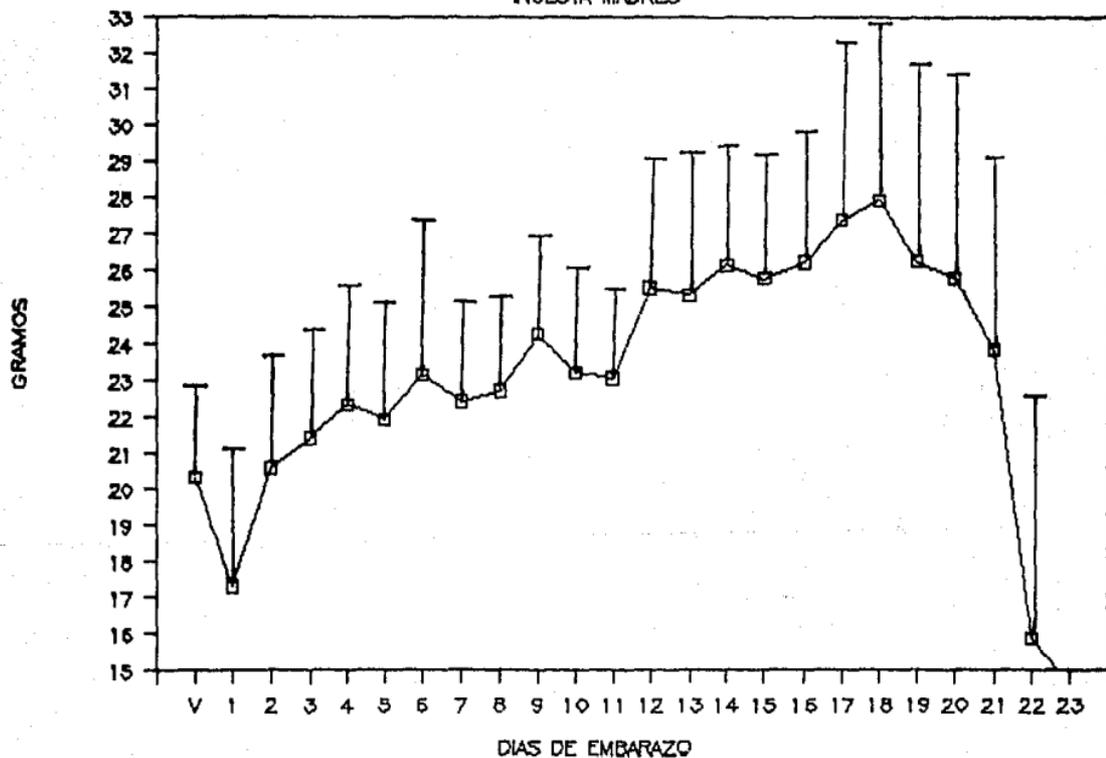


Fig. 8 INGESTA DE LA RATA ALIMENTADA AD LIBITUM DURANTE EL EMBARAZO.

EMBARAZO

PESO MADRES

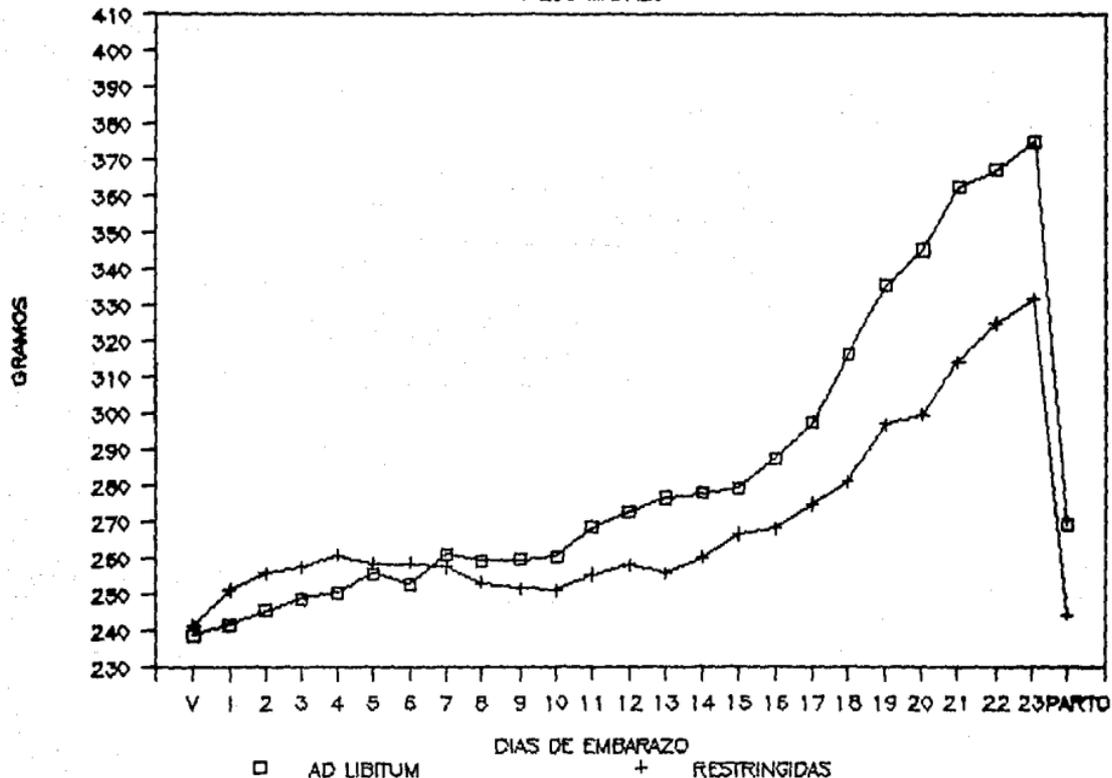


Fig. 9 PESO CORPORAL DE LA RATA DURANTE EL EMBARAZO.
Se muestran los valores del grupo alimentado ad libitum y del grupo restringido.

PESO CONCEPTO

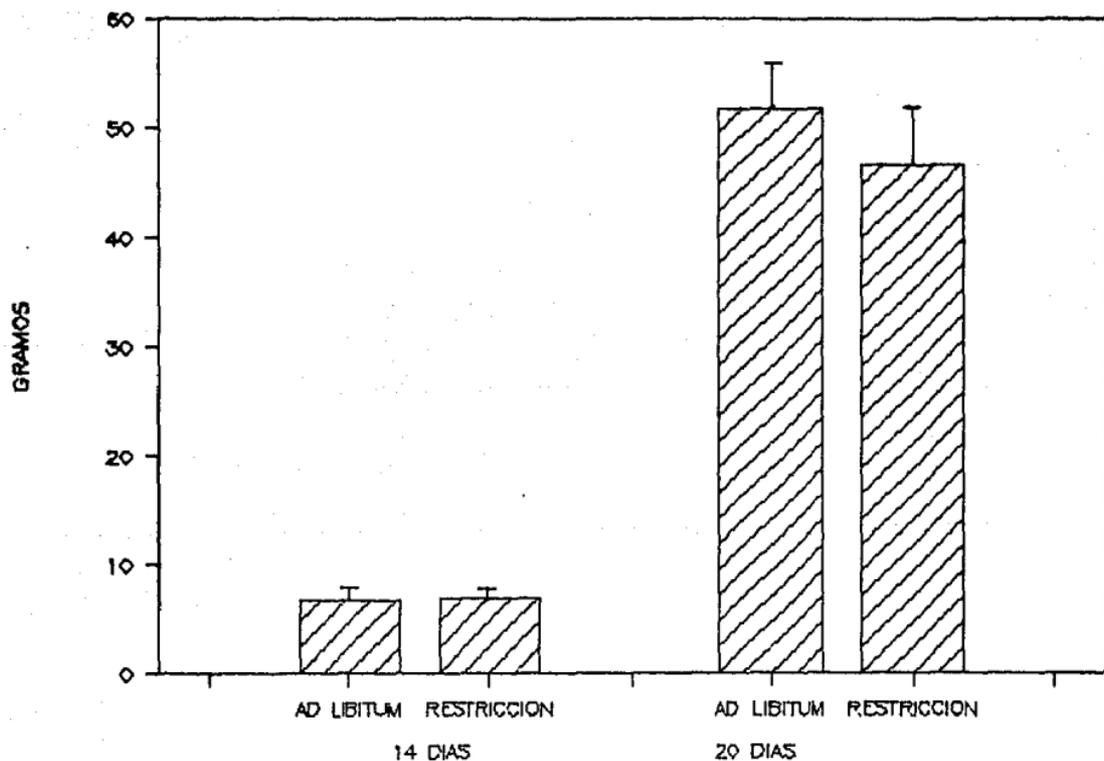


Fig. 10 PESO DEL CONCEPTO (UTERO, FETOS, PLACENTA Y LIQUIDO AMNIOTICO) DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS. Se muestran los resultados obtenidos en el día 14 y 20 de gestación.

PESO DEL UTERO

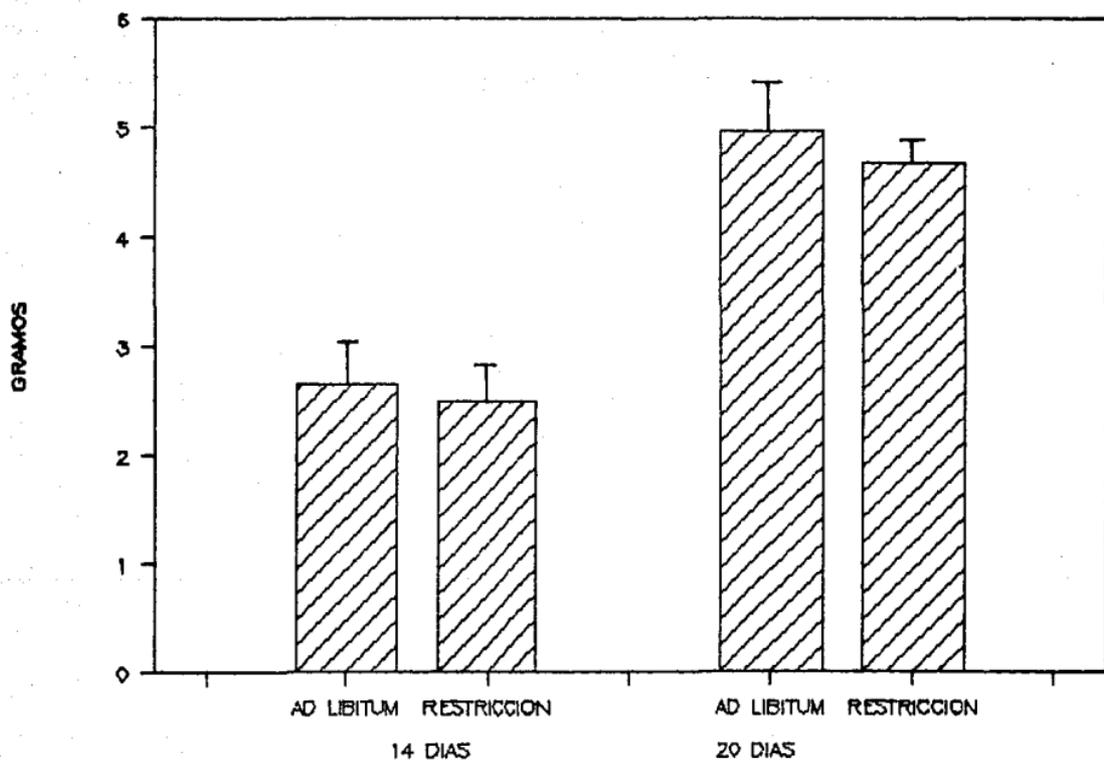


Fig. 11 PESO HUMEDO DEL UTERO A LOS 14 Y 20 DIAS DE EMBARAZO.

LONGITUD DEL UTERO

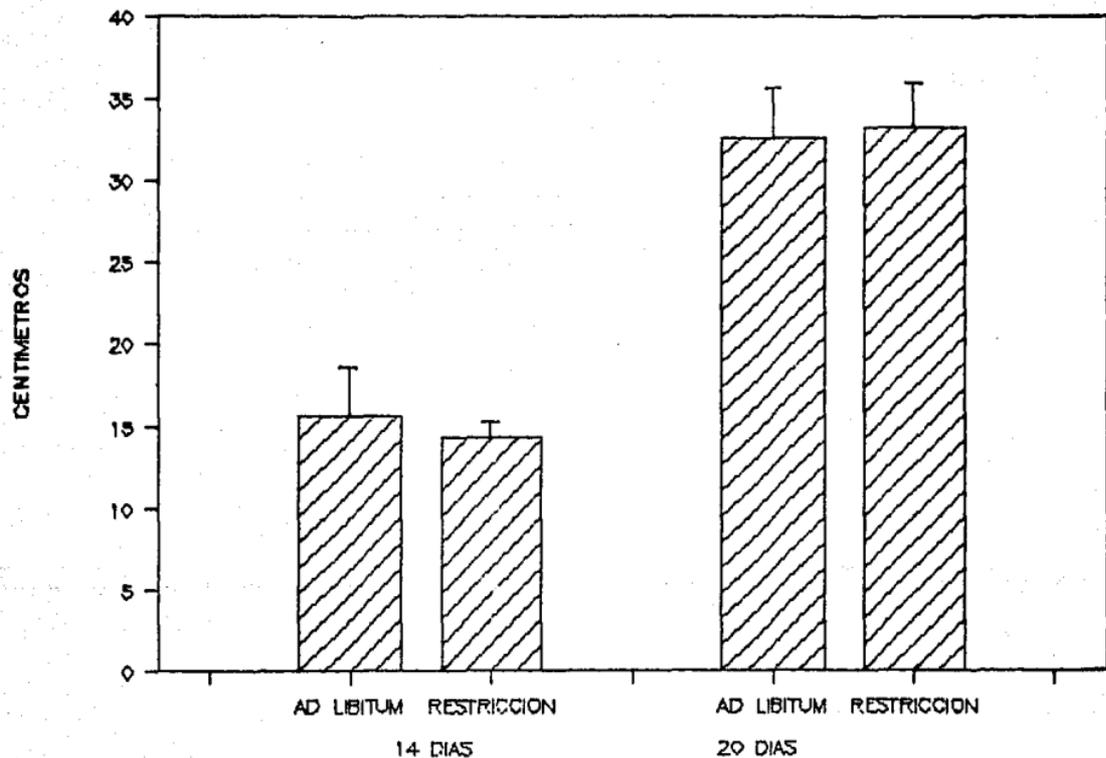


Fig. 12 LONGITUD DEL UTERO DURANTE EL EMBARAZO.

UTERO

PESO SECO

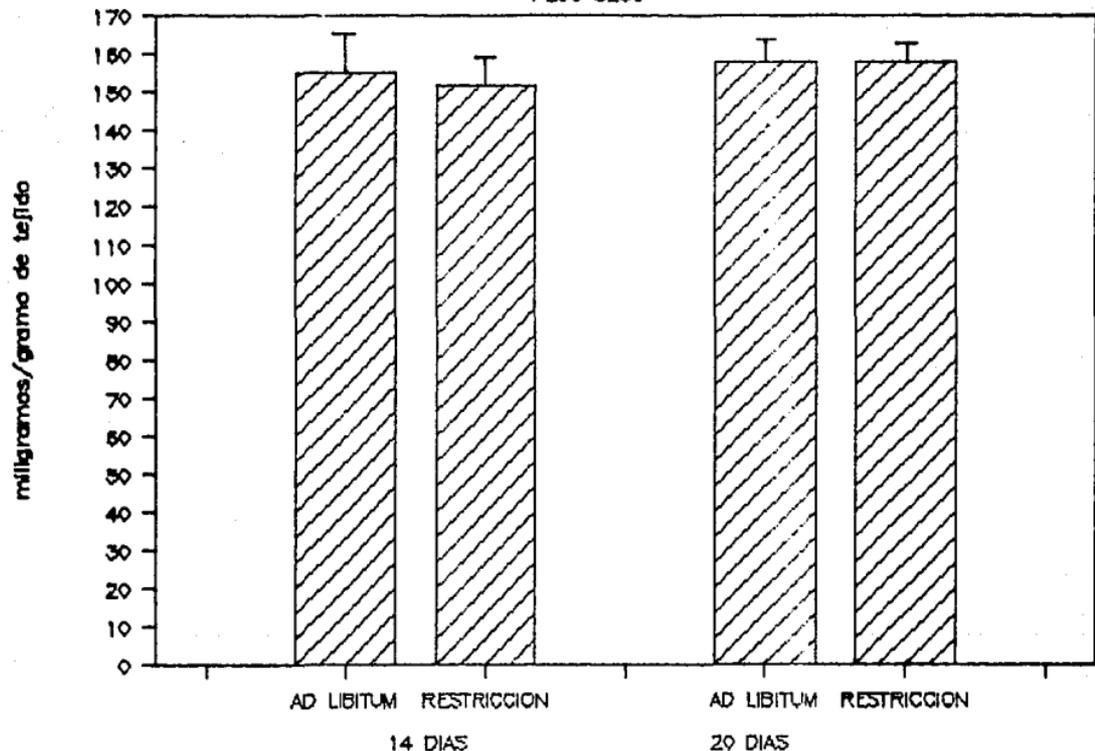


Fig. 13 CONCENTRACION DE SOLIDOS EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN EL UTERO. Se muestran los resultados de los dos grupos de alimentaci3n en los d1as 14 y 20 de gestaci3n.

UTERO
PESO SECO

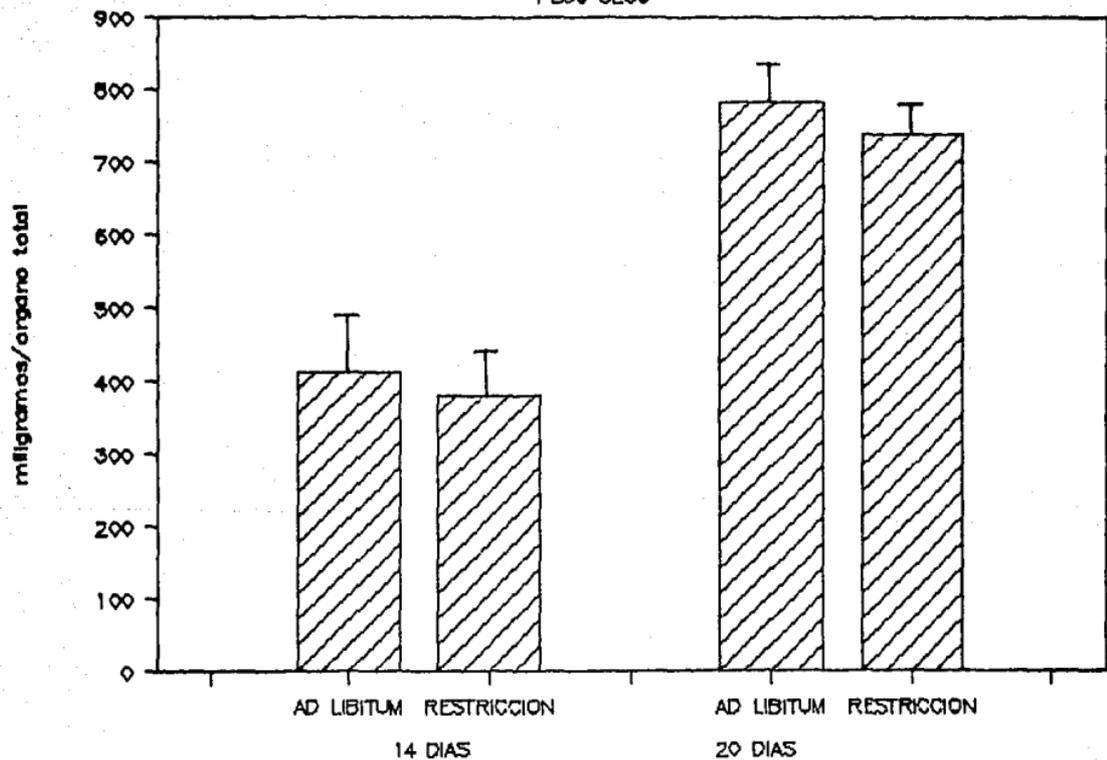


Fig. 14 CONCENTRACION DE SOLIDOS EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN UTERO. Se muestran los resultados de los dos grupos de alimentación en los días 14 y 20 de gestación.

UTERO
PROTEINAS

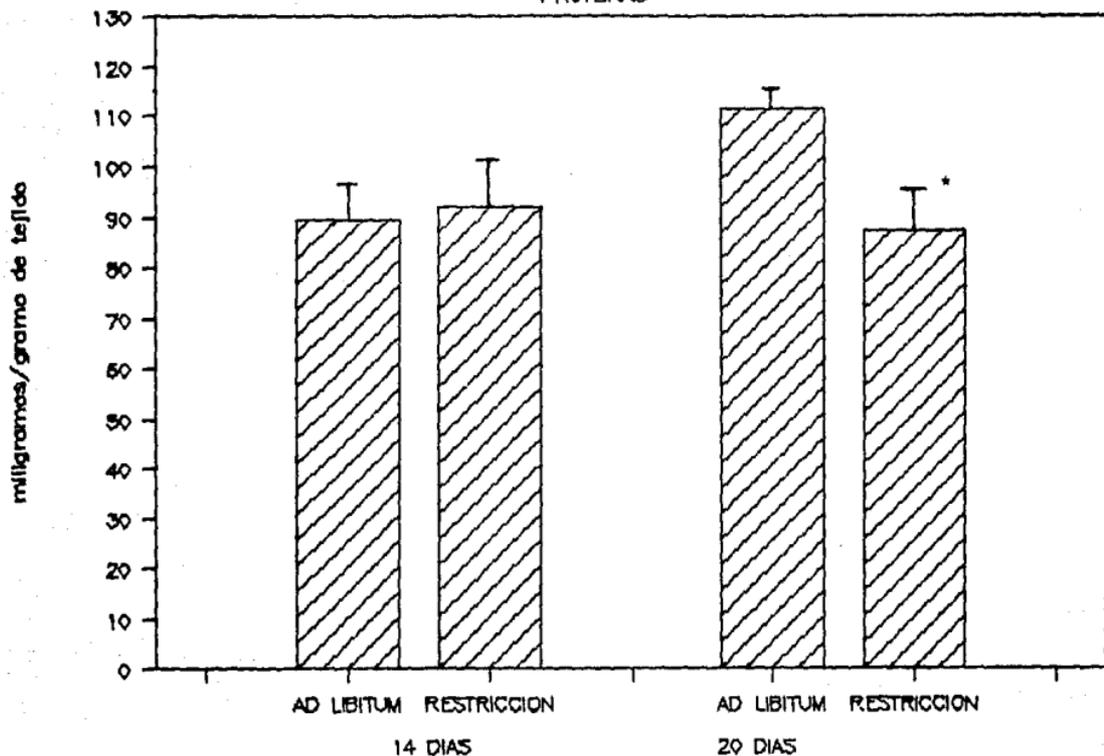


Fig. 15 CONCENTRACION DE PROTEINAS EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN UTERO DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS. Se muestran los resultados obtenidos en los días 14 y 20 de gestación.
* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

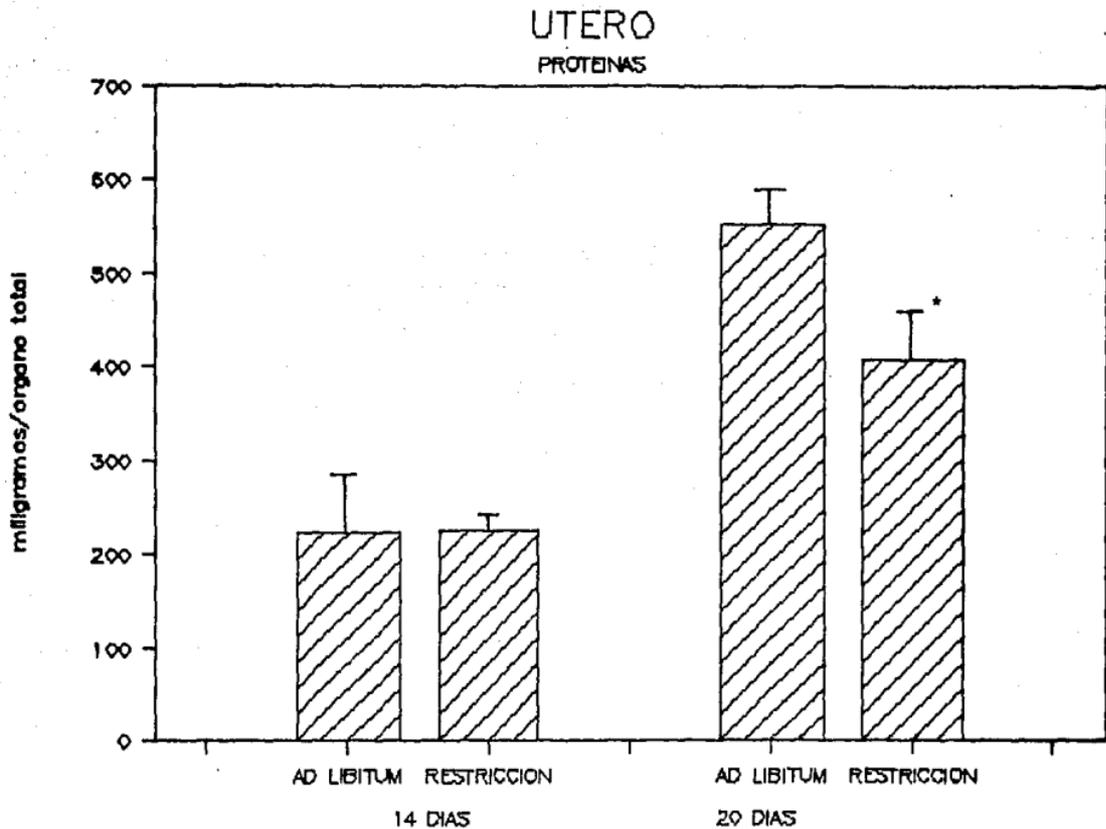


Fig. 16 CONTENIDO DE PROTEINAS EN MILIGRAMOS POR ORGAN TOTAL EN UTERO DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS. Se muestran los resultados obtenidos en los días 14 y 20 de gestación.
* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

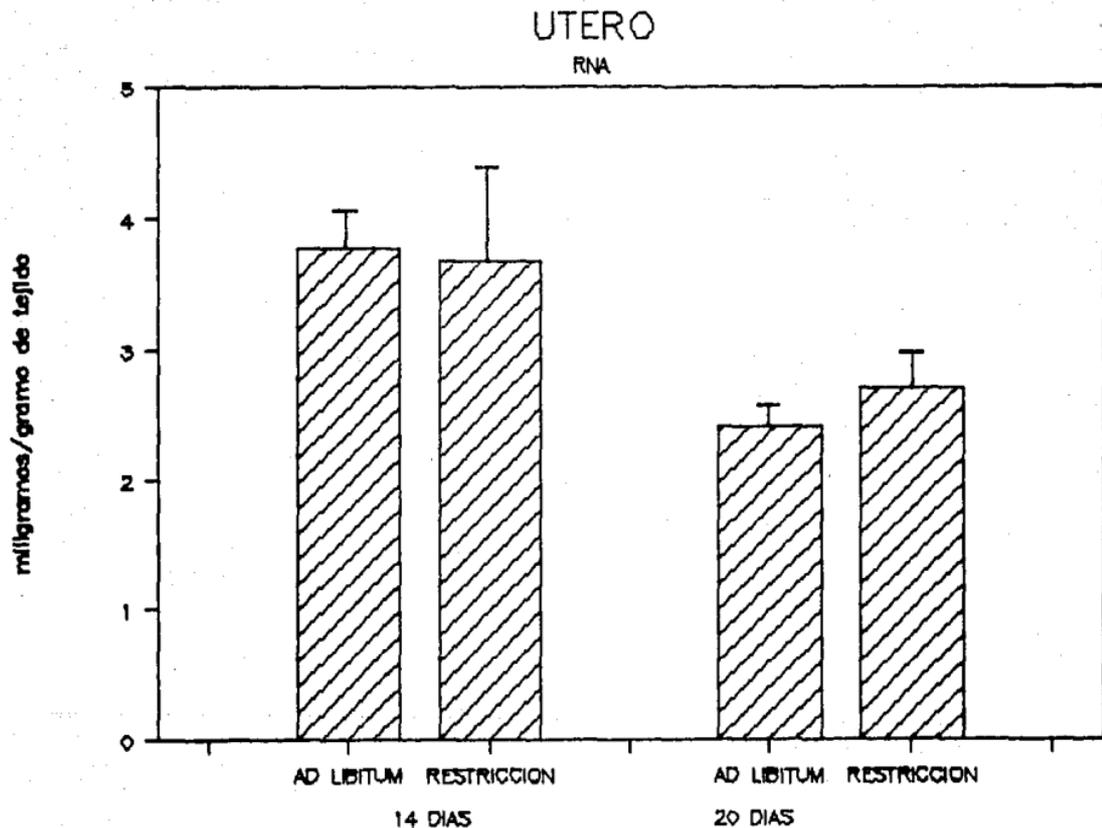


Fig. 17 CONCENTRACION DE RNA EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN UTERO DE RATAS. Se muestran los resultados de las ratas de ambos grupos de alimentación obtenidos los días 14 y 20 de gestación.

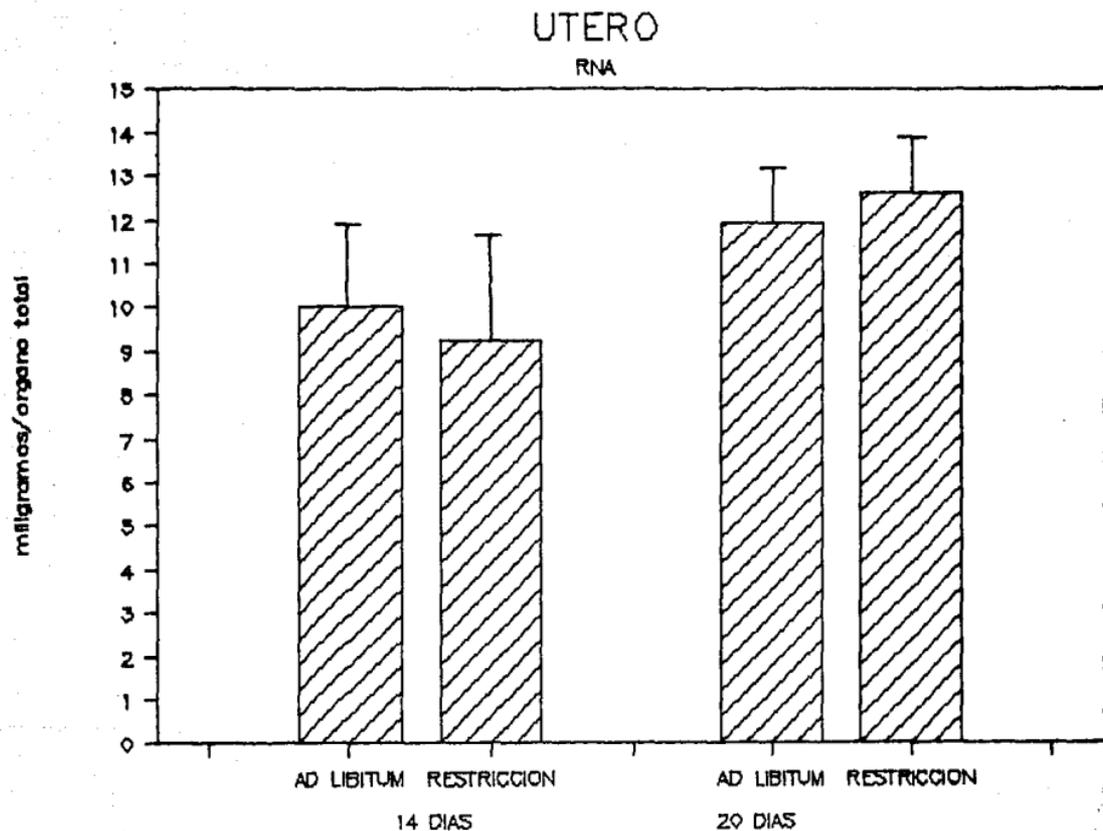
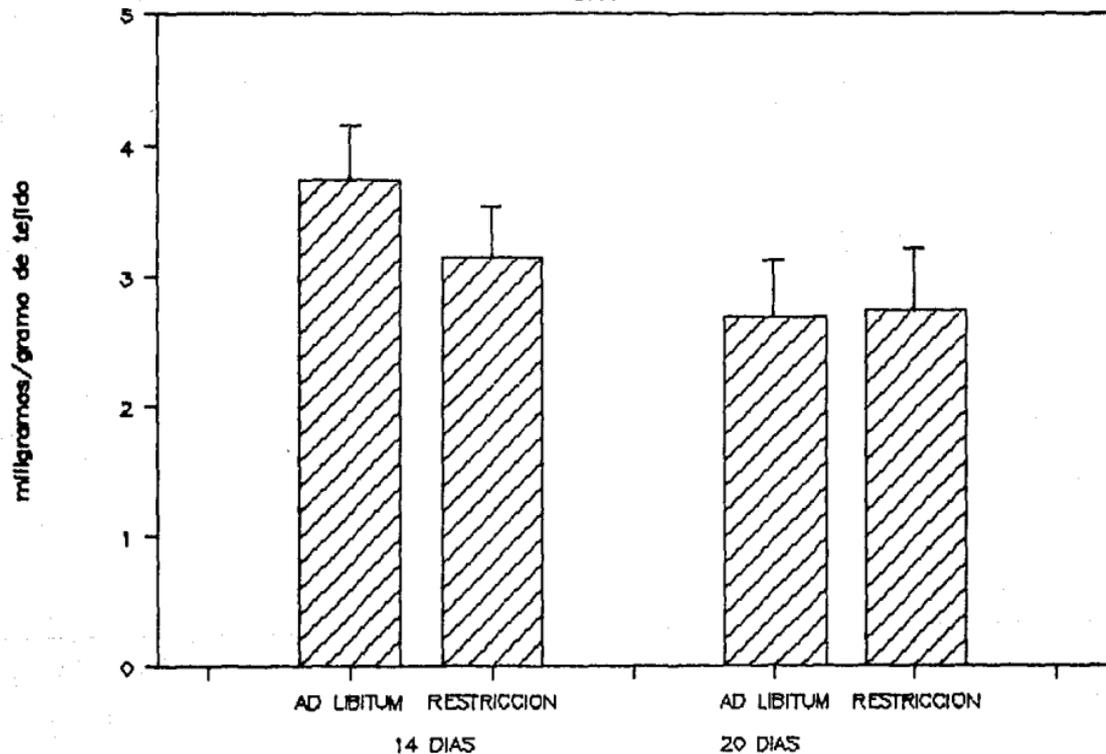


Fig. 18 CONCENTRACION DE RNA EN UTERO DE RATA ALIMENTADA AD LIBITUM Y RESTRINGIDA.
Los resultados se expresan en miligramos por organo total.

UTERO

DNA



-79-

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

Fig. 19 CONCENTRACION DE DNA EN UTERO DE RATAS EN LOS DIAS 14 Y 20 DE GESTACION. Los resultados se expresan en miligramos por gramo de tejido.

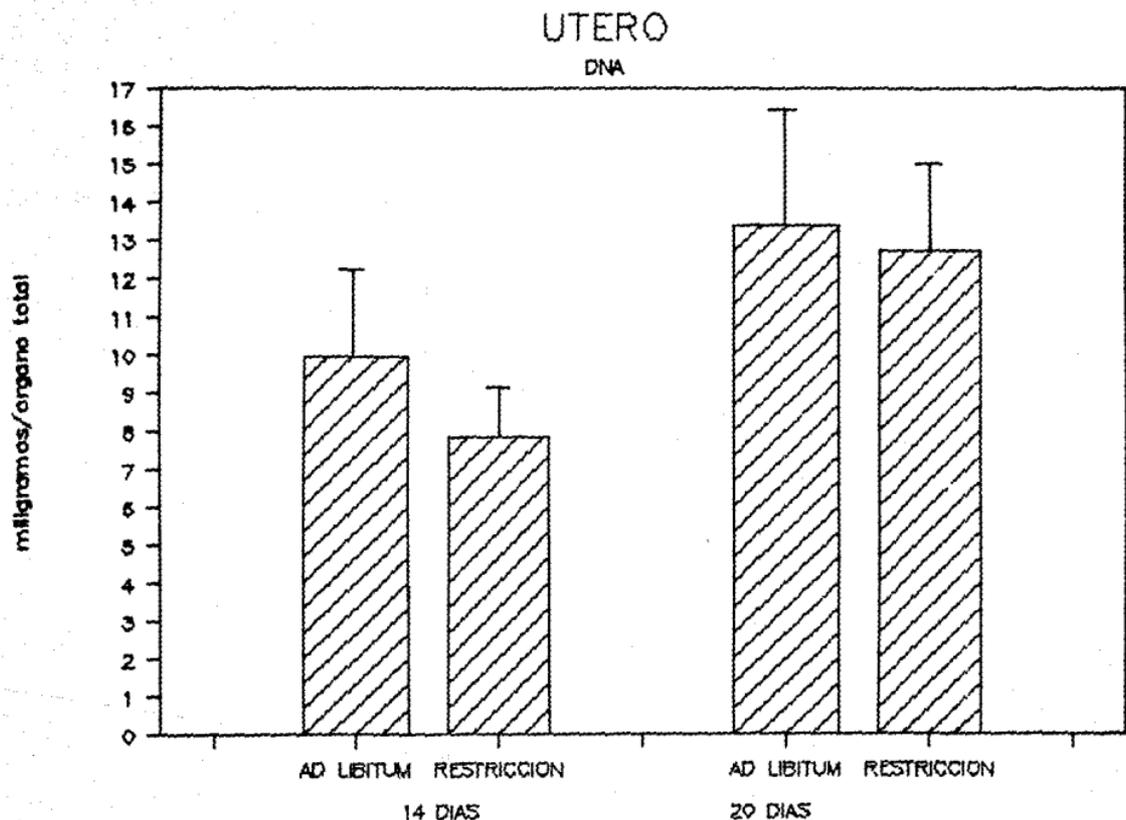


Fig. 20 CONTENIDO DE DNA EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN UTERO DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS. Se muestran los resultados obtenidos los días 14 y 20 de gestación.

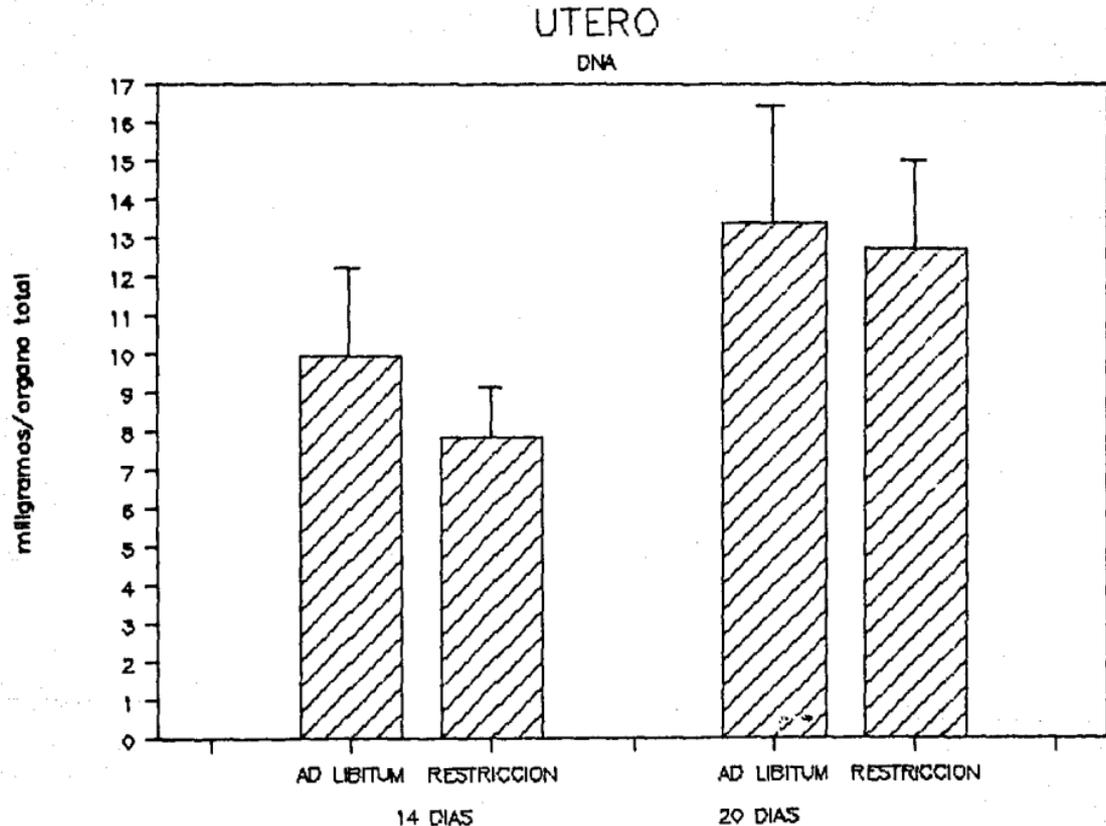


Fig. 20 CONTENIDO DE DNA EN MILIGRAMOS POR ORGANOS TOTAL EN UTERO DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.
Se muestran los resultados obtenidos los días 14 y 20 de gestación.

UTERO

RNA:DNA

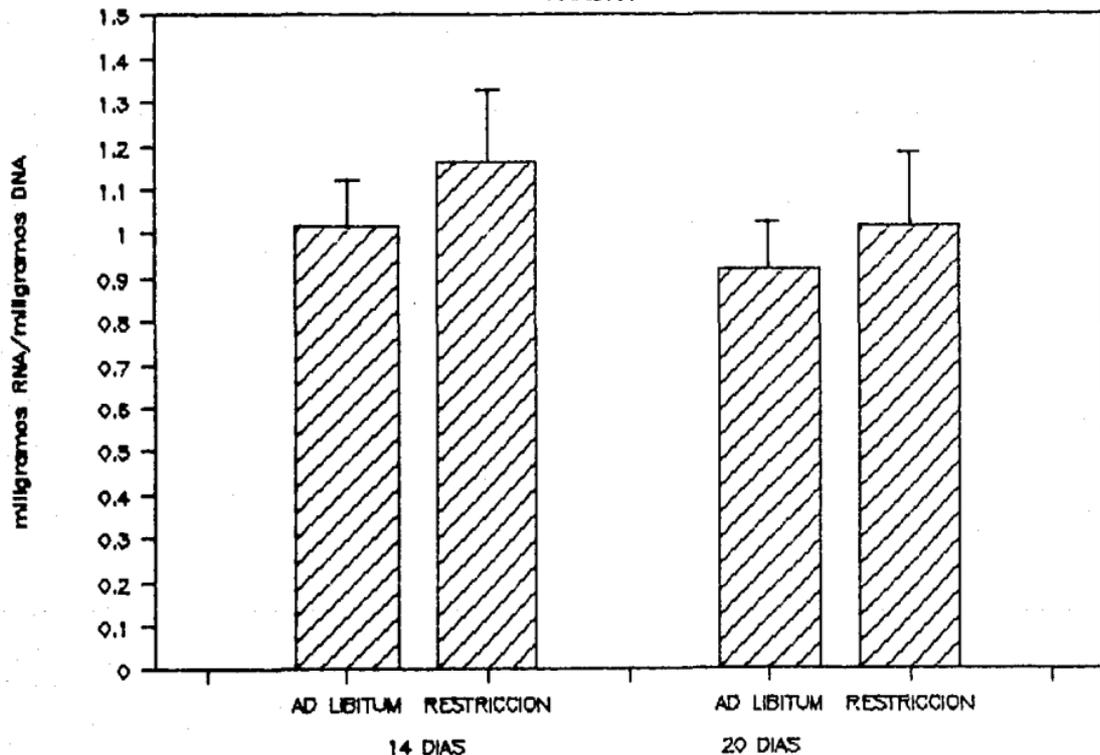


Fig. 21 RELACION RNA/DNA EN UTERO DE RATA.
Se muestran los valores obtenidos los días 14 y 20 de gestación en ratas alimentadas ad libitum y restringidas.

UTERO

PROTEINA:DNA

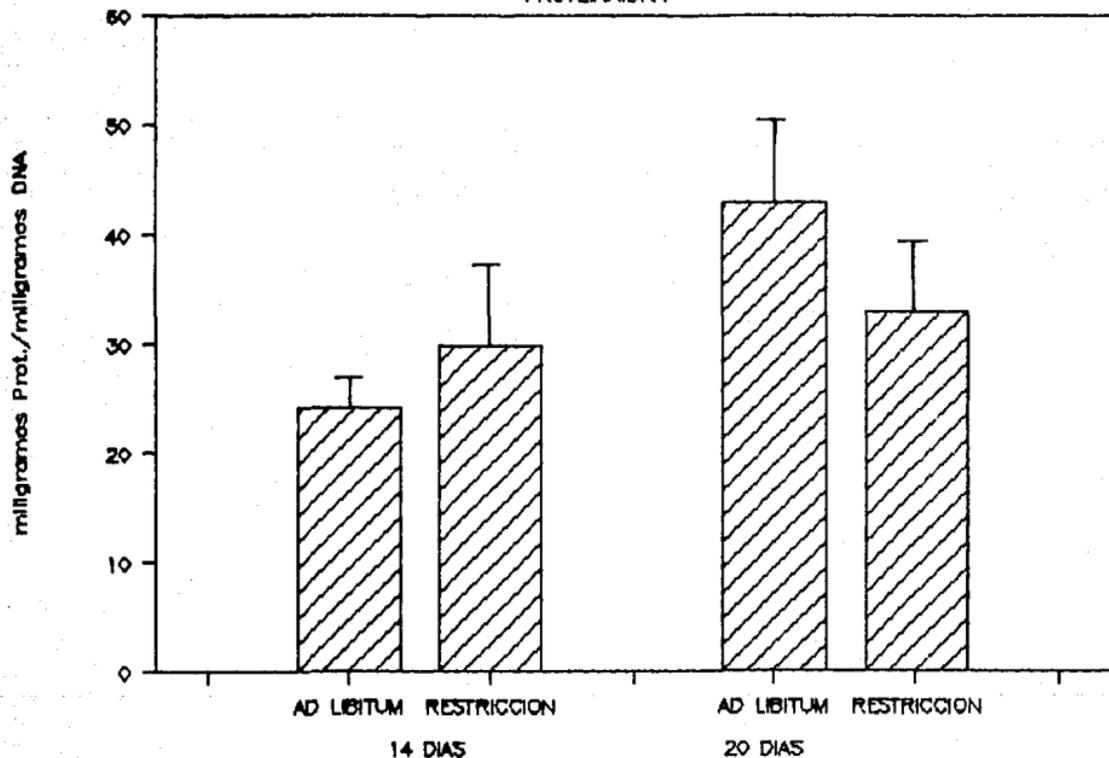


Fig. 22 RELACION PROTEINA/DNA EN UTERO DE RATA. Se muestran los valores obtenidos en ratas alimentadas ad libitum y restringidas en ambas etapas de estudio.

PLACENTA

PESO INDIVIDUAL

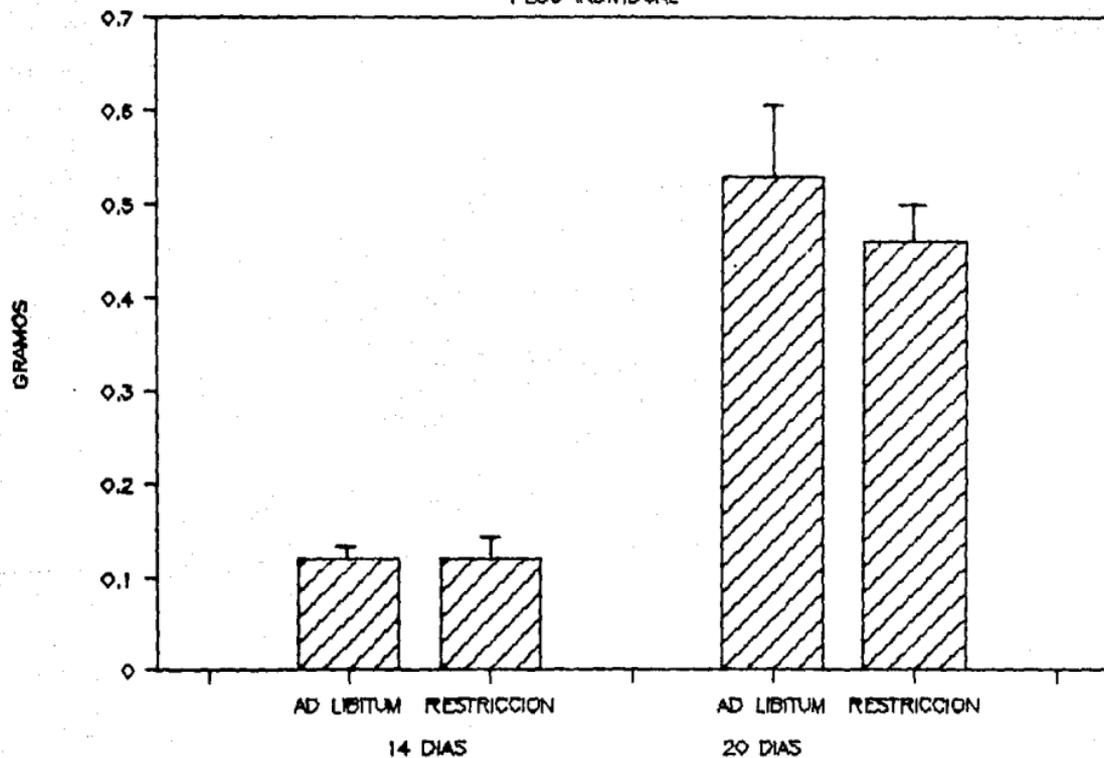
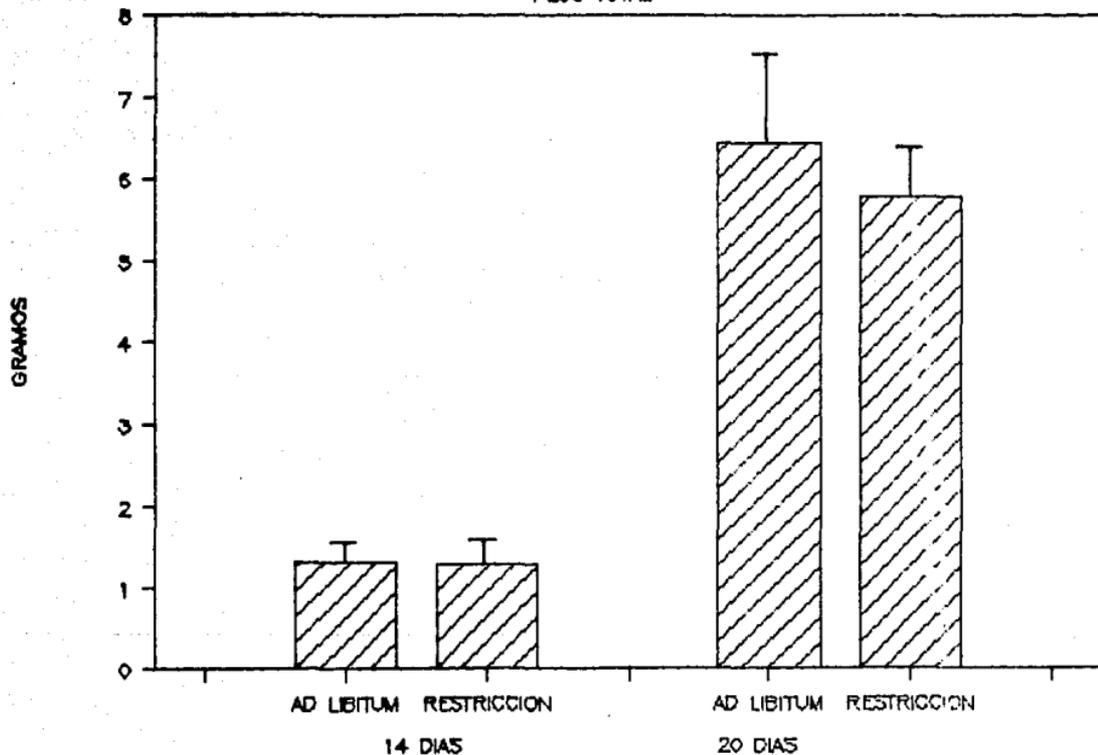


Fig. 23 PESO HUMEDO INDIVIDUAL DE LA PLACENTA DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.

PLACENTA

PESO TOTAL



-84-

Fig. 23' PESO HUMEDO TOTAL DE LA PLACENTA DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.

PLACENTA

PESO SECO

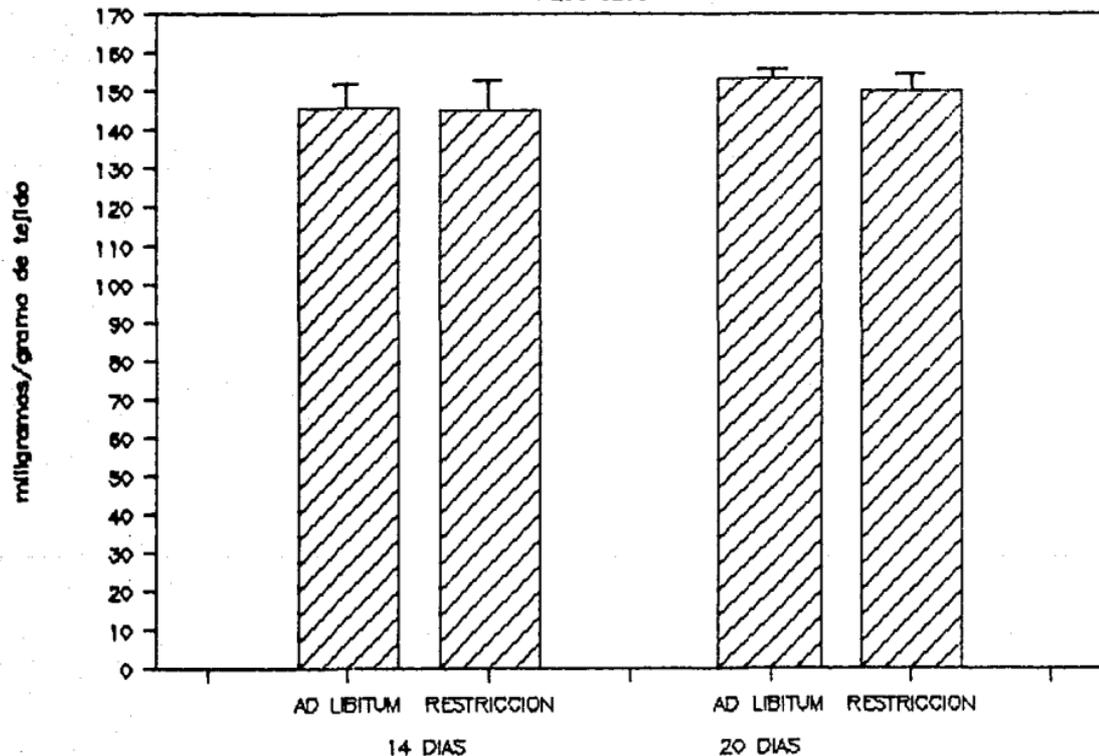


Fig. 24 CONCENTRACION DE SOLIDOS EN LA PLACENTA DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.
Los resultados se expresan en miligramos por gramo de tejido.

PLACENTA

PESO SECO

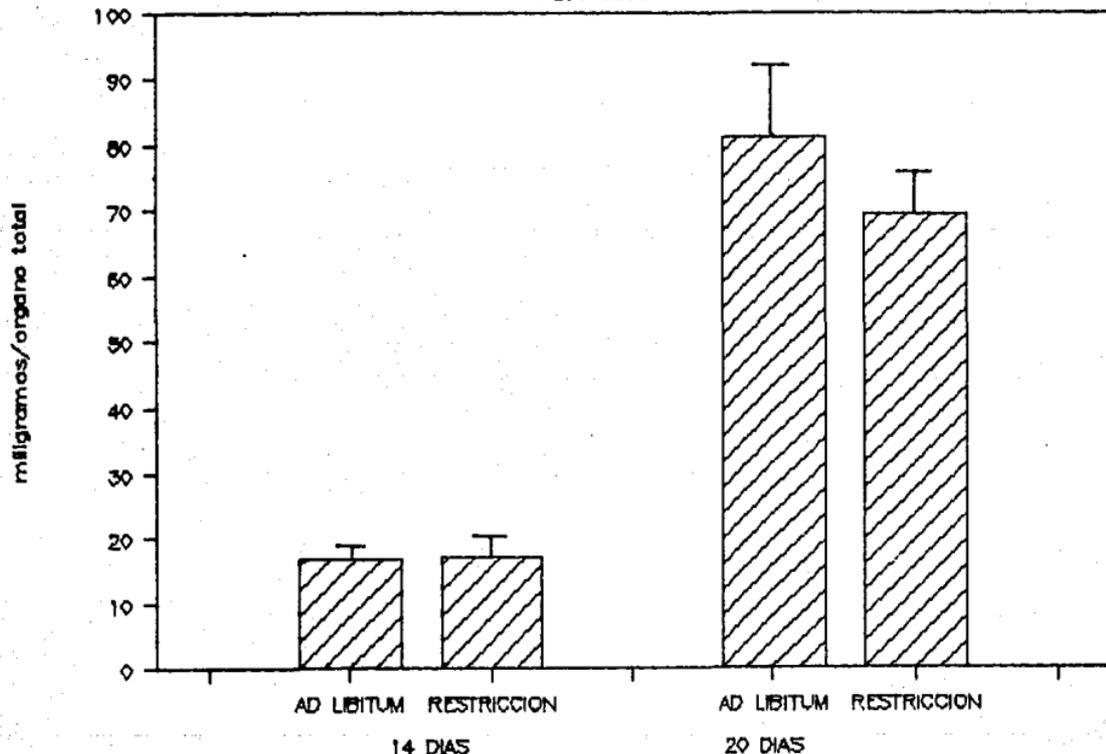


Fig. 25 CONCENTRACION DE SOLIDOS POR ORGANOS TOTAL EN LA PLACENTA DE RATA. Se muestran los valores de ratas alimentadas ad libitum y restringidas obtenidos en ambas etapas de estudio.

PLACENTA

PROTEINAS

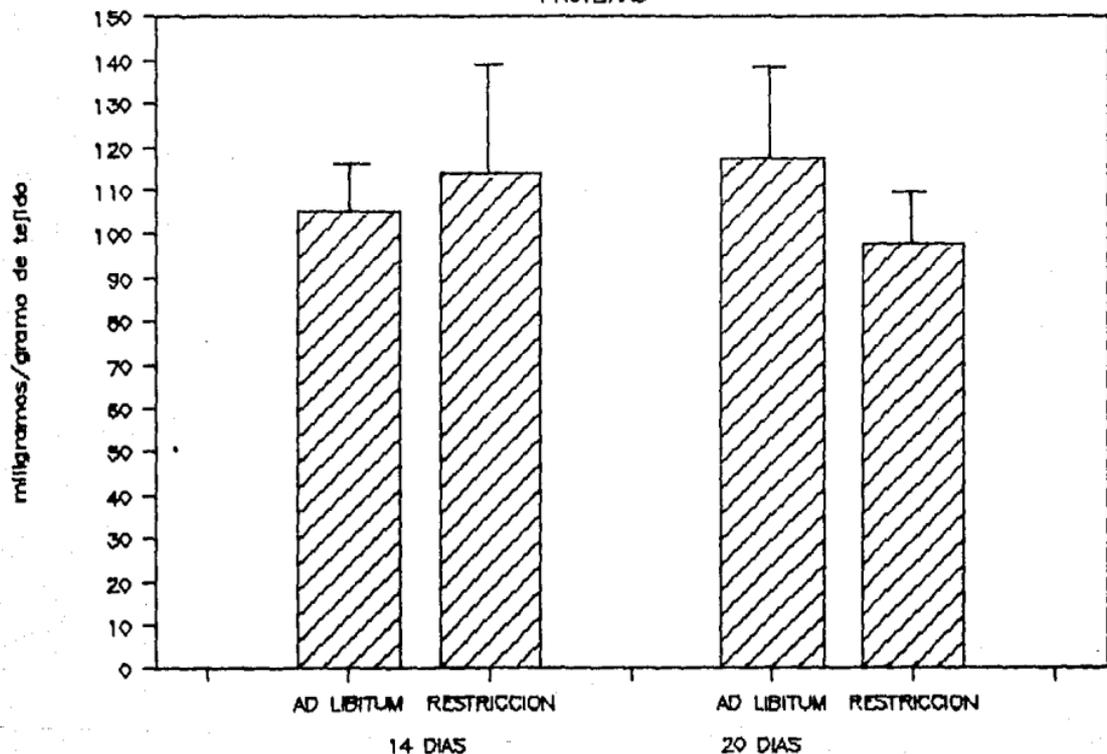


Fig. 26 CONCENTRACION DE PROTEINAS EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN LA PLACENTA DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.

PLACENTA

PROTEINAS

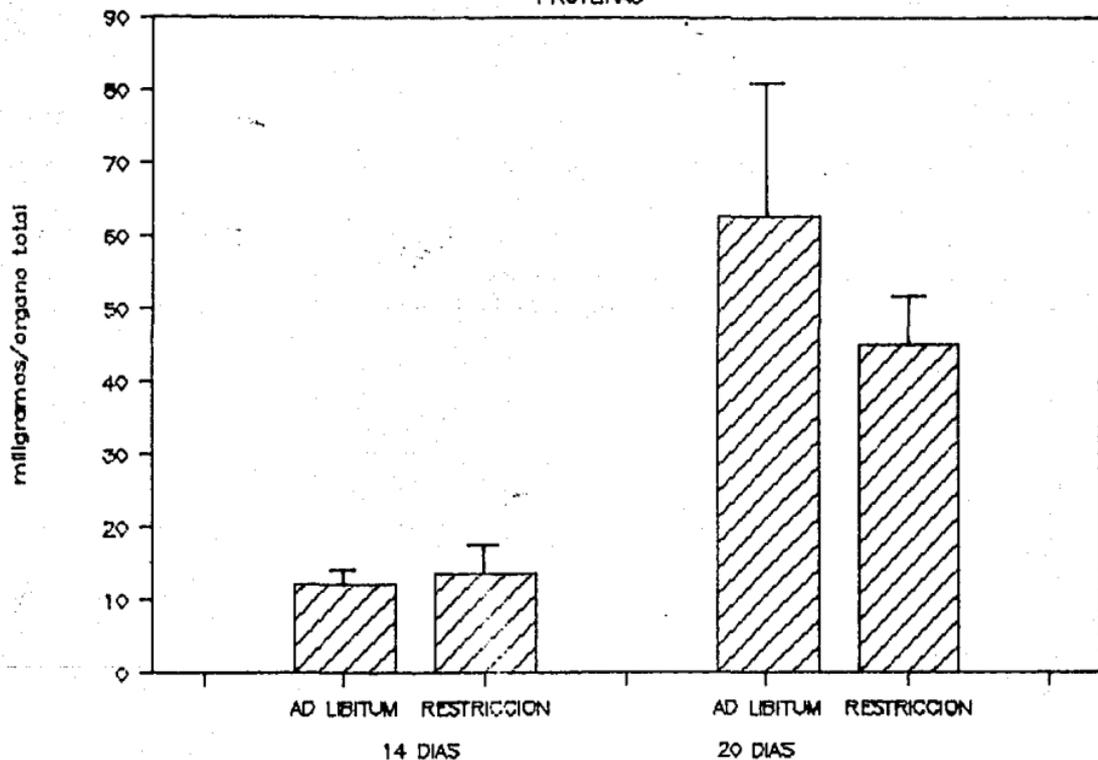


Fig. 27 CONCENTRACION DE PROTEINAS EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN LA PLACENTA DE RATAS. Se muestran los resultados de los animales restringidos y alimentados ad libitum.

PLACENTA

RNA

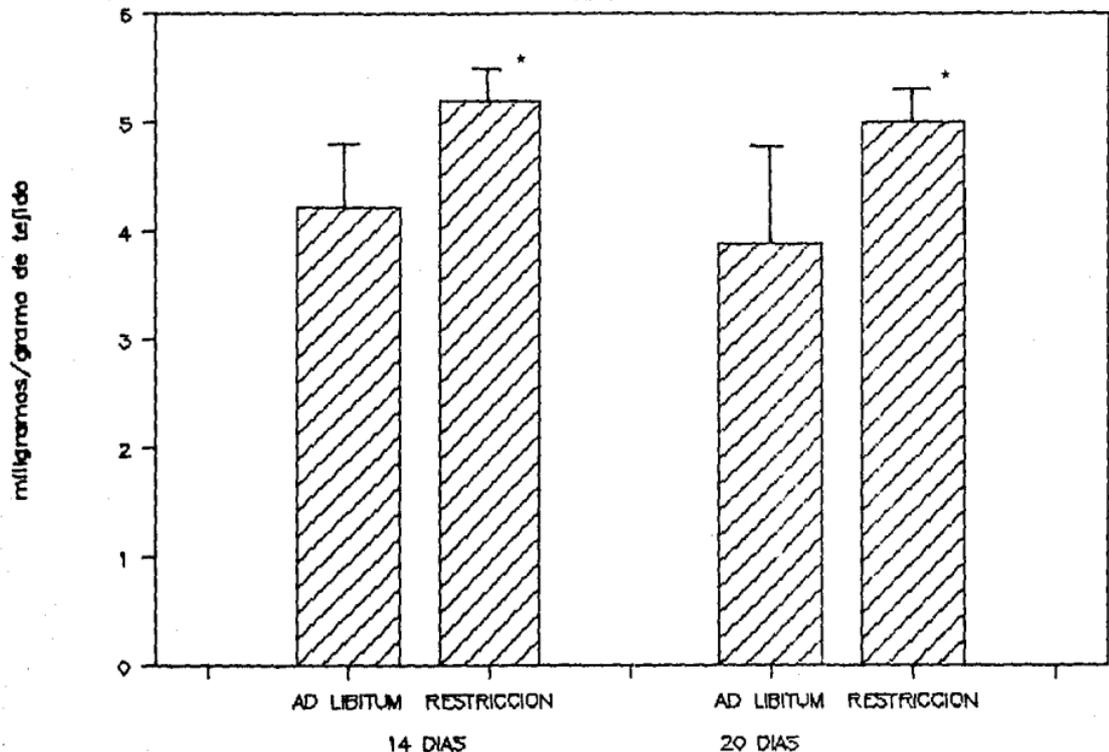
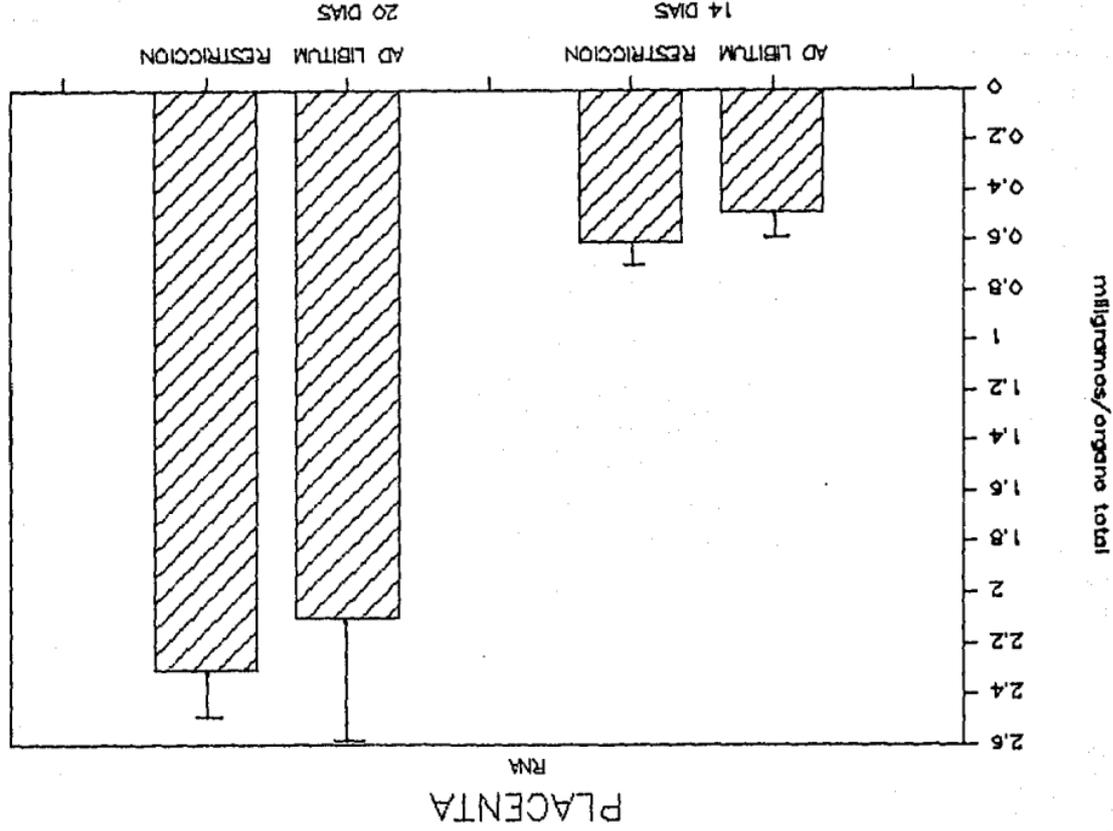


Fig. 28 CONCENTRACION DE RNA EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN LA PLACENTA DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.

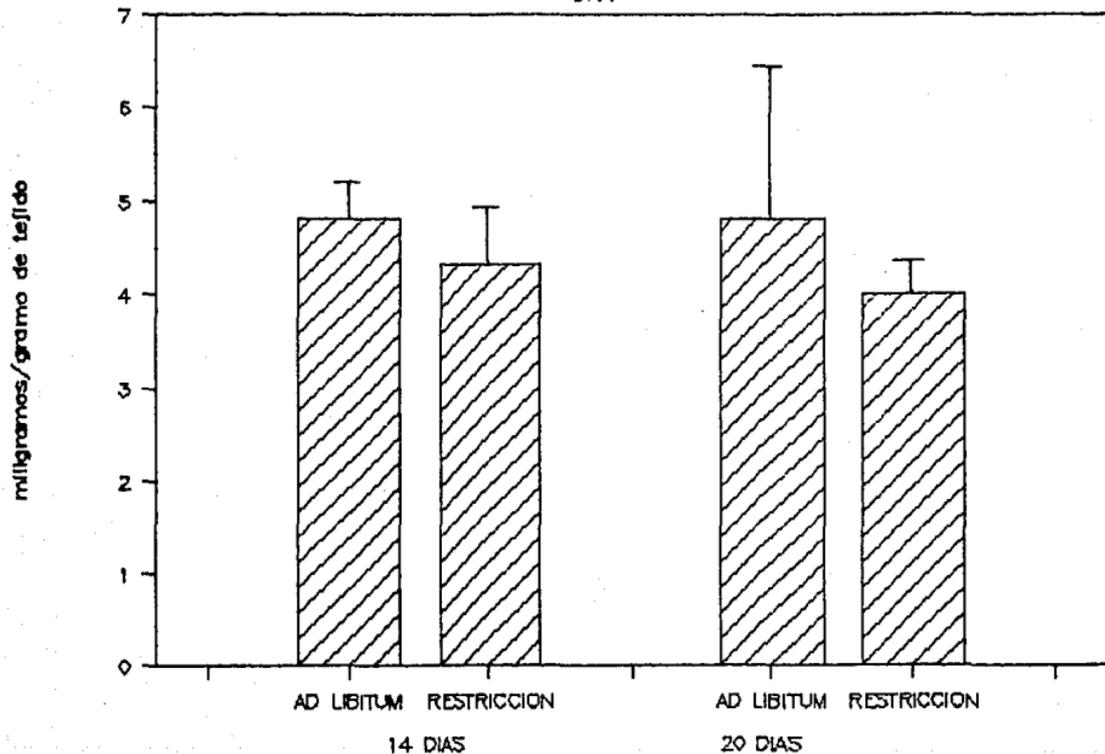
* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

Fig. 29 CONTENIDO DE RNA EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN LA PLACENTA DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.



PLACENTA

DNA



-91-

Fig. 30 CONCENTRACION DE DNA EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN LA PLACENTA DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.

PLACENTA

DNA

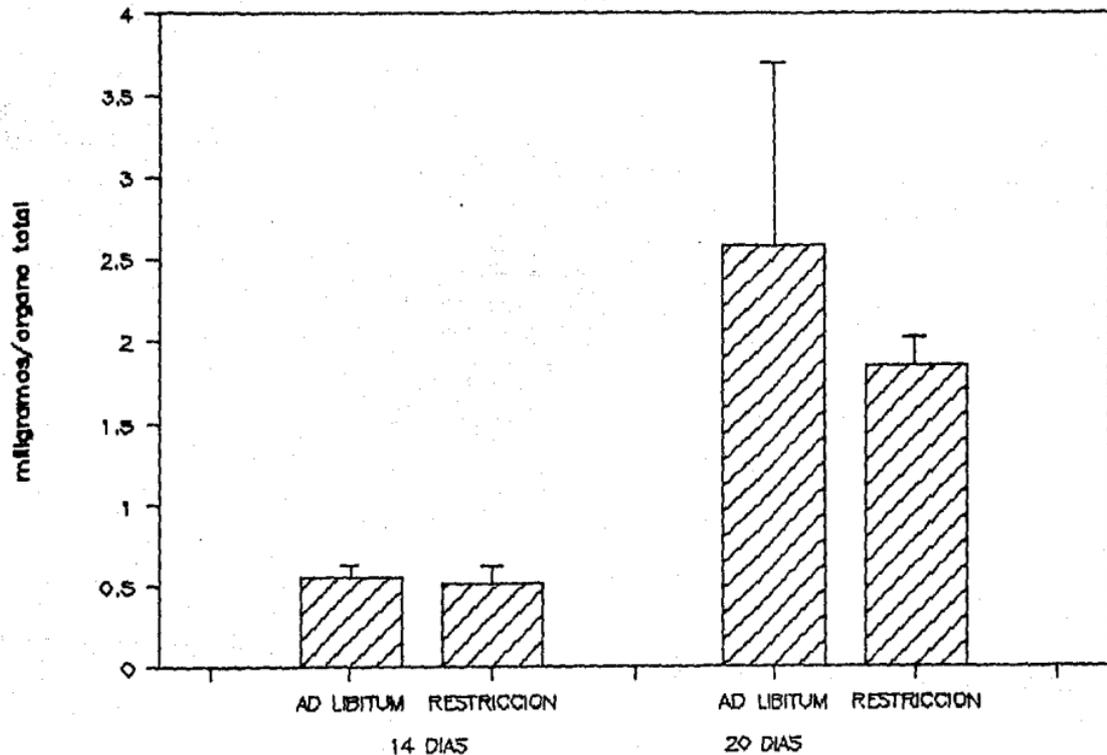


Fig. 31 CONTENIDO DE DNA EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN LA PLACENTA DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.

PLACENTA

RNA:DNA

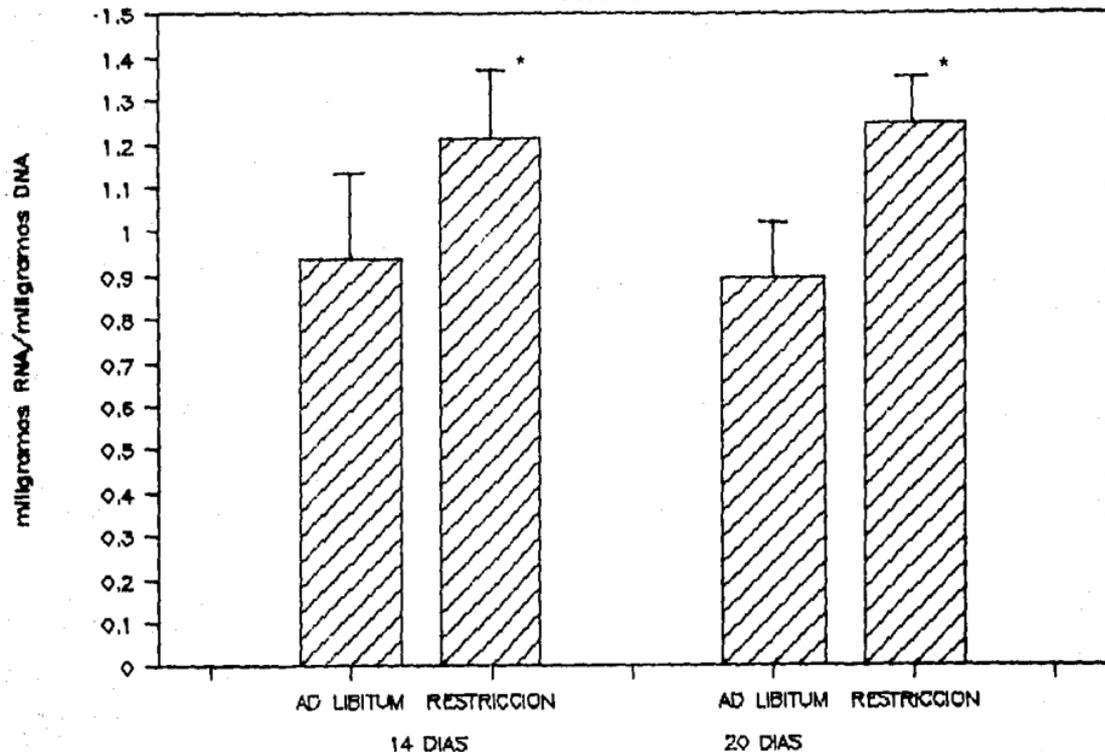


Fig. 32 RELACION RNA/DNA EN LA PLACENTA DE RATAS.
Se muestran los valores obtenidos en ambos grupos de alimentación.

* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

PLACENTA

PROTEINA:DNA

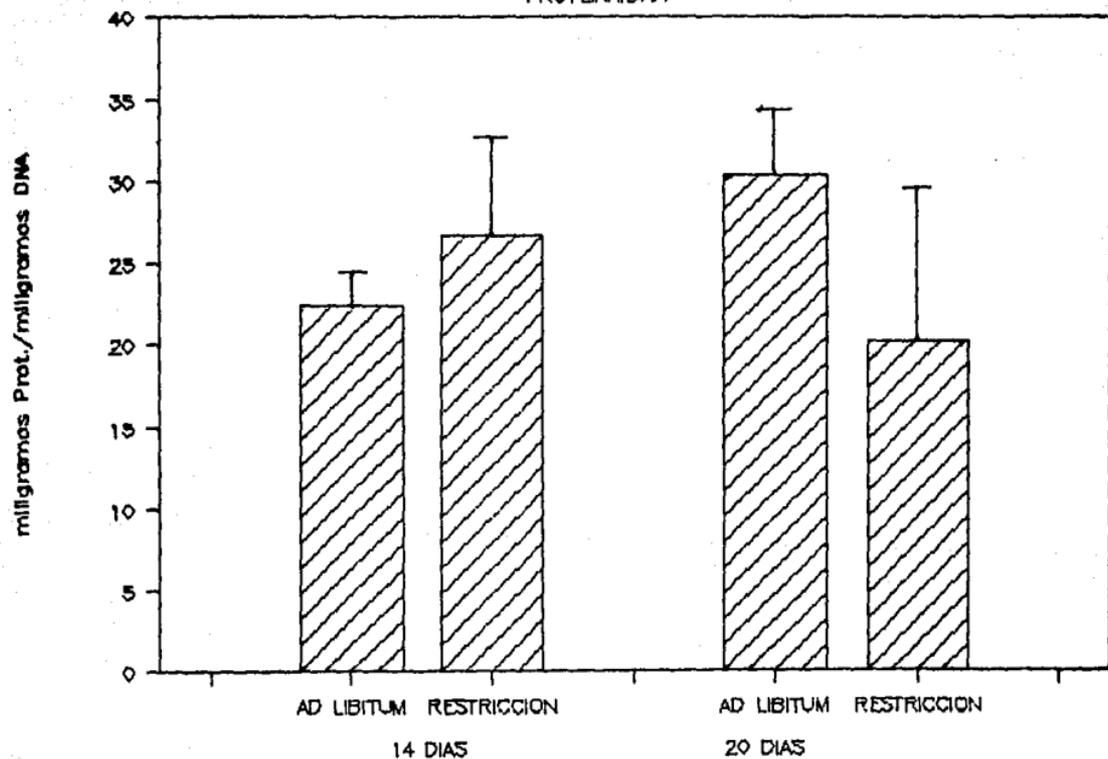


Fig. 33 RELACION PROTEINA/DNA EN LA PLACENTA.
Se muestran los valores obtenidos en ambos grupos de alimentación.

LONGITUD DEL FETO

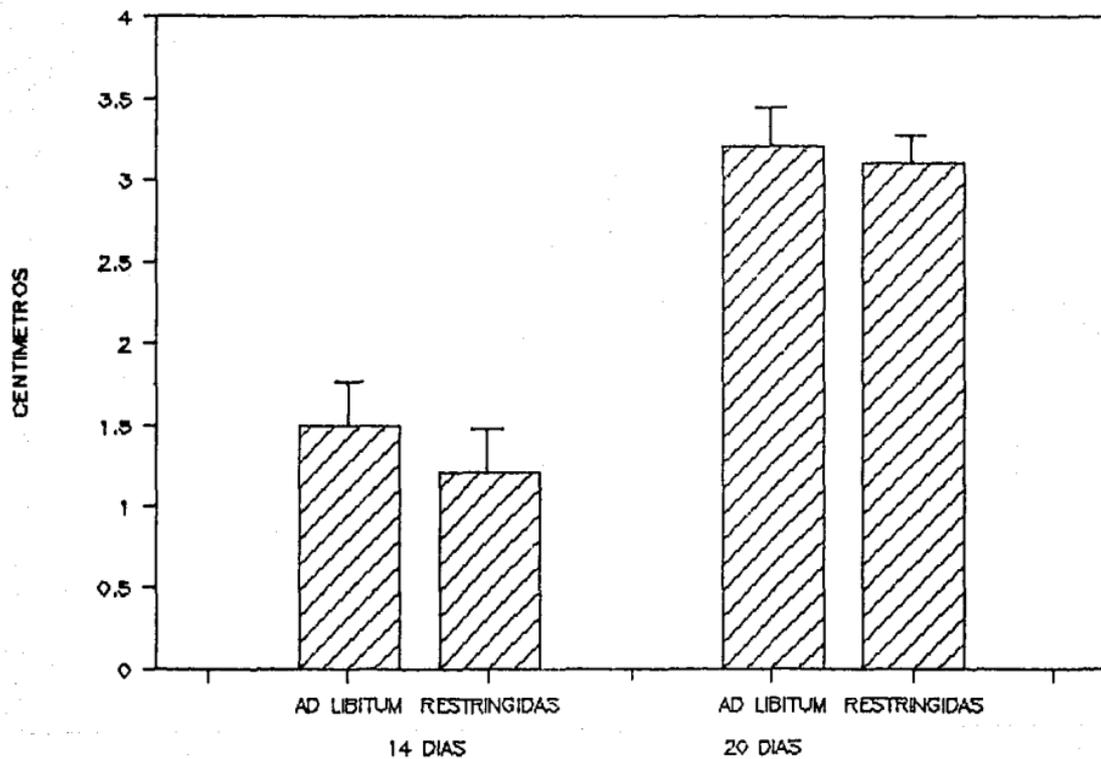


Fig. 34 LONGITUD DEL FETO A LOS 14 Y 20 DIAS DE GESTACION EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

PESO DE FETOS Y CRIAS

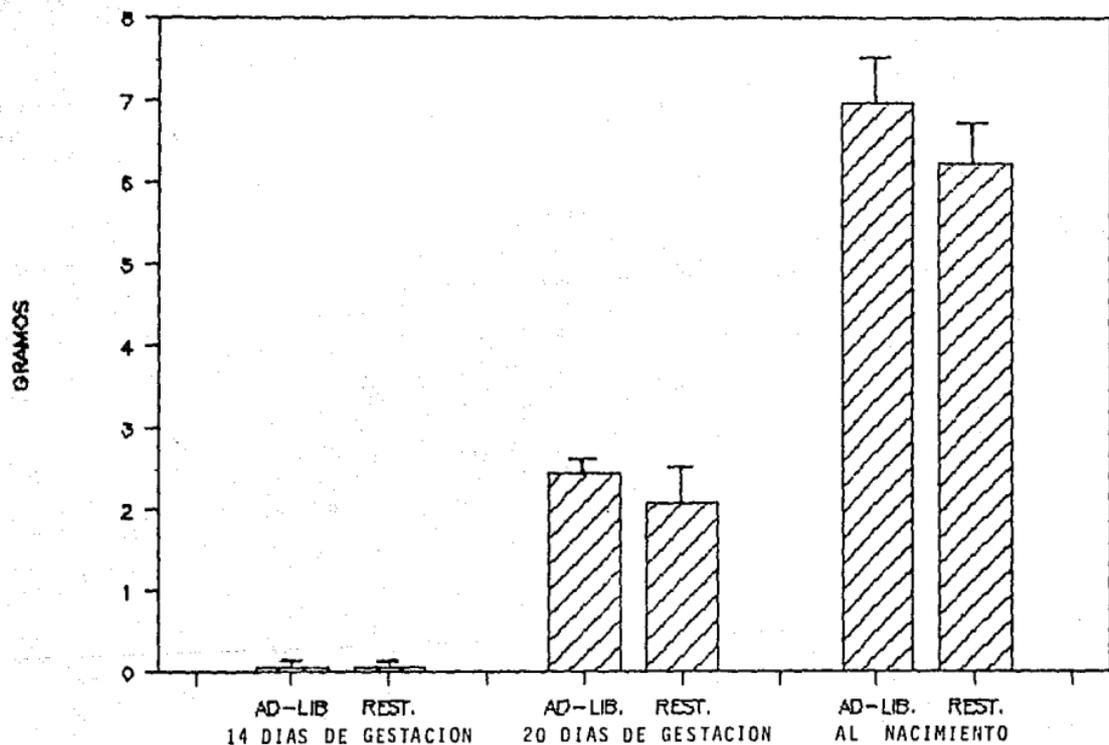


Fig. 35 PESO HUMEDO DE FETOS Y CRIAS AL NACIMIENTO.
Se muestran los valores de los dos grupos de alimentación.

FETOS

PESO SECO

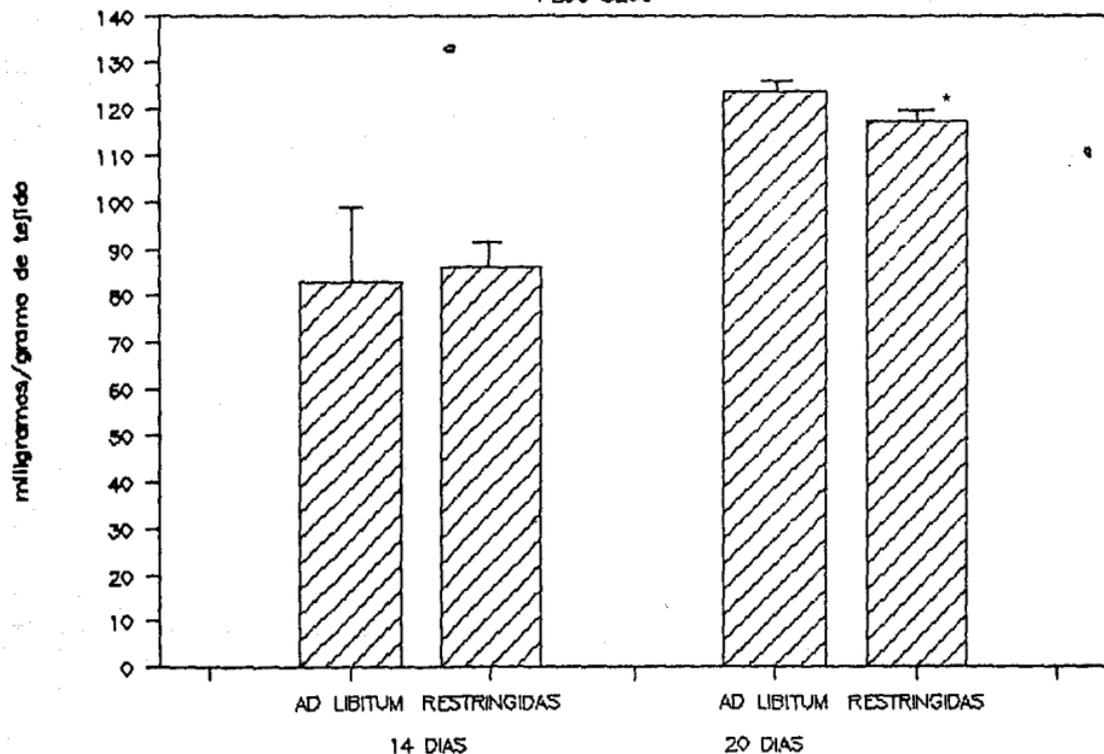


Fig. 36 CONCENTRACION DE SOLIDOS EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO DE LOS FETOS EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

FETOS
PESO SECO

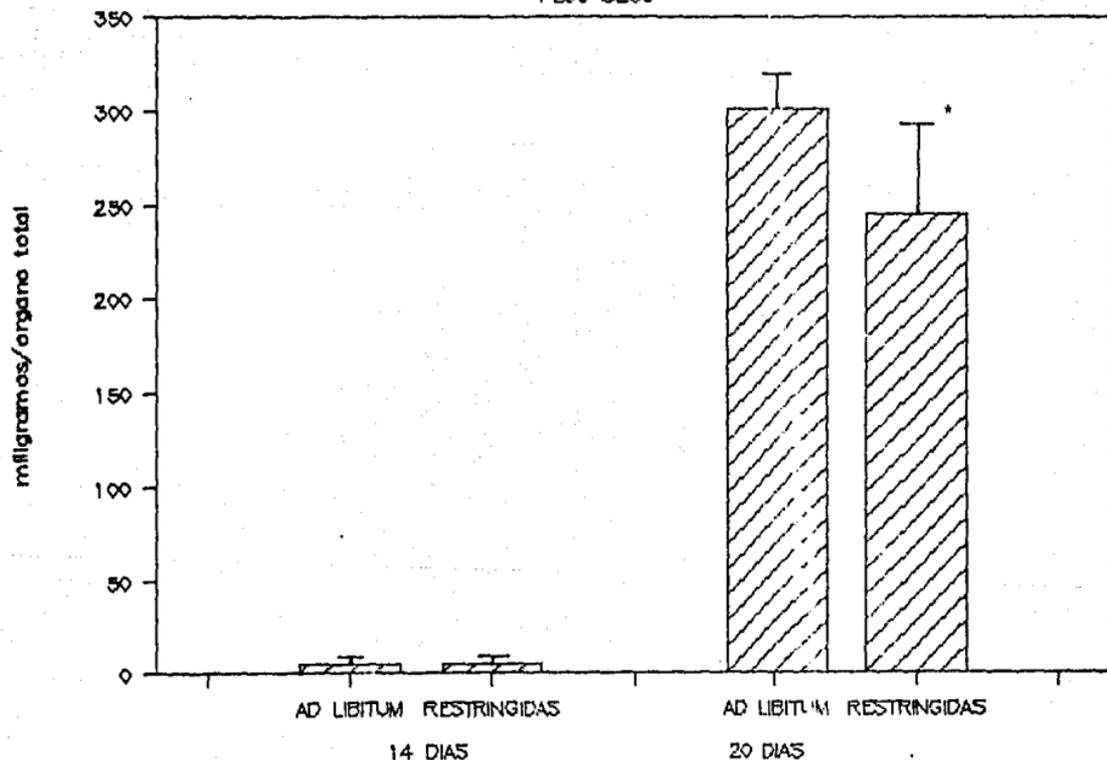


Fig. 37 CONCENTRACION DE SOLIDOS EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN LOS FETOS A LOS 14 Y 20 DIAS DE GESTACION EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

* Diferente estadisticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

FETOS

PROTEINAS

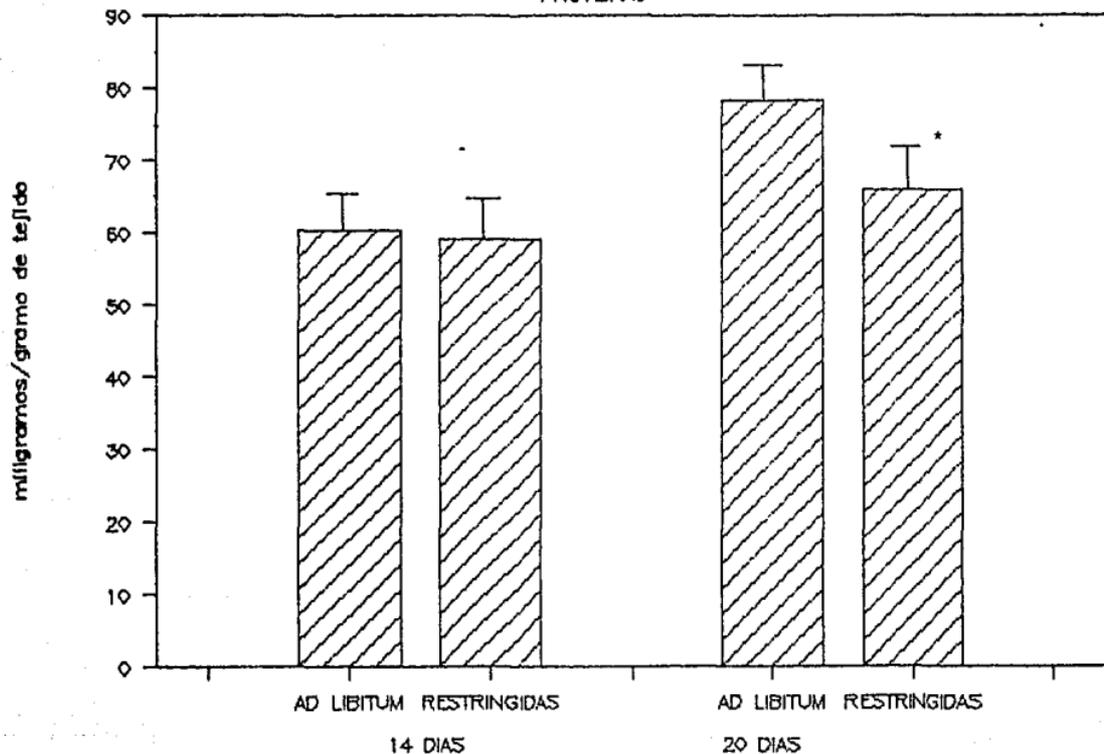
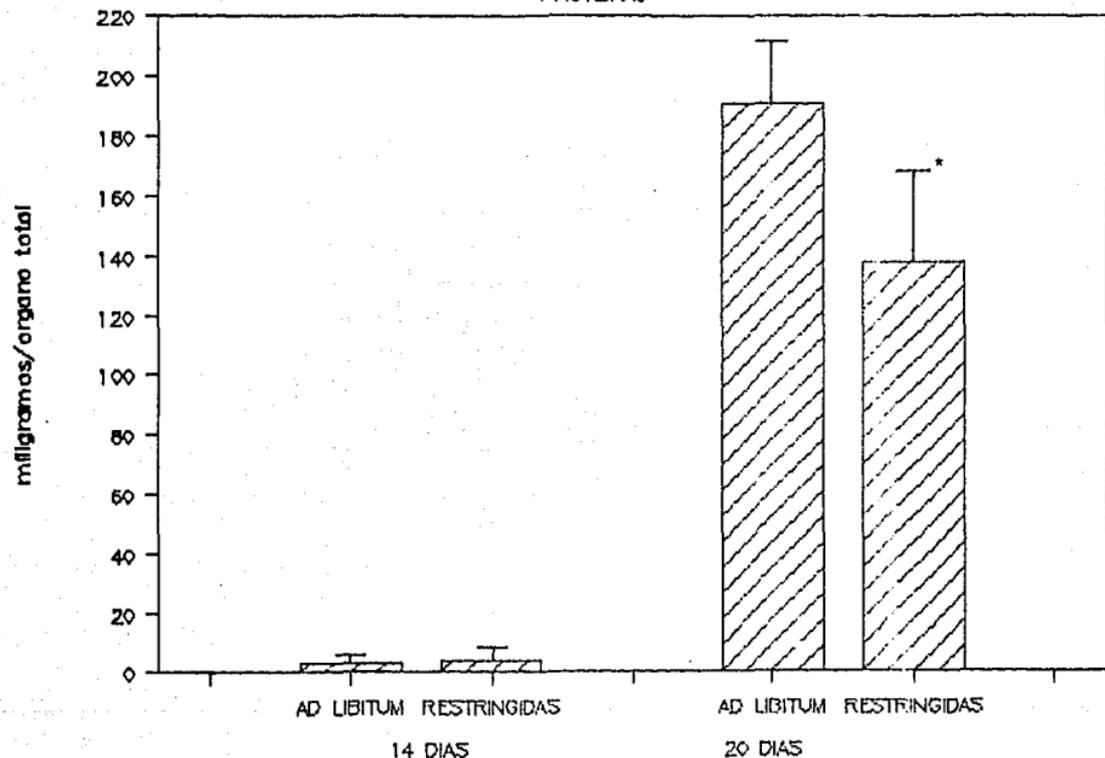


Fig. 38 CONCENTRACION DE PROTEINAS EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN LOS FETOS A LOS 14 Y 20 DIAS DE GESTACION EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

FETOS PROTEINAS



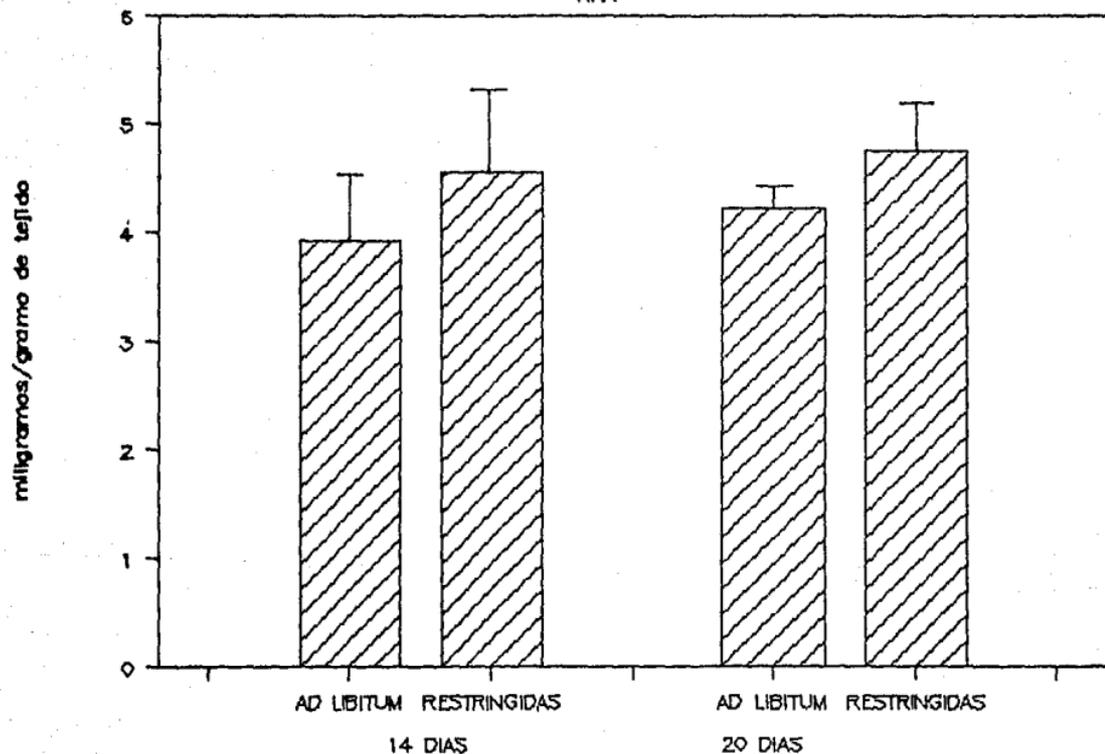
-100-

Fig. 39 CONTENIDO DE PROTEINAS EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN LOS FETOS A LOS 14 Y 20 DIAS DE GESTACION.

* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

FETOS

RNA

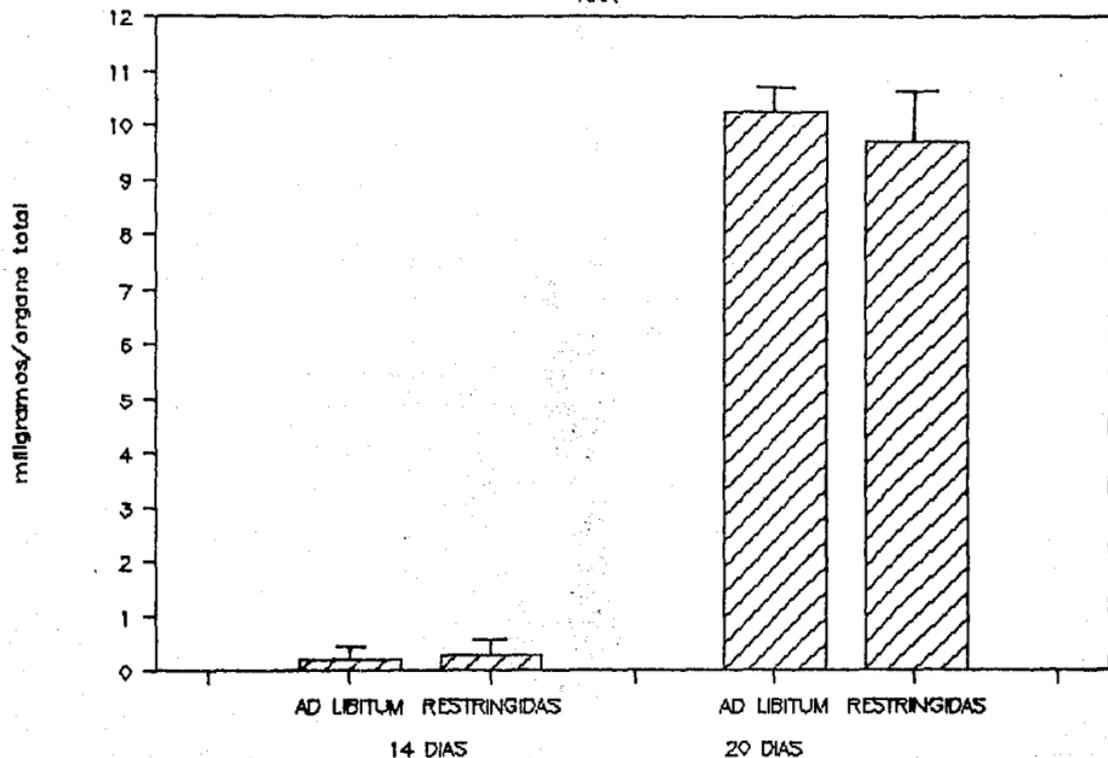


-101-

Fig. 40 CONCENTRACION DE RNA EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN LOS FETOS A LOS 14 Y 20 DIAS DE GESTACION EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

FETOS

RNA

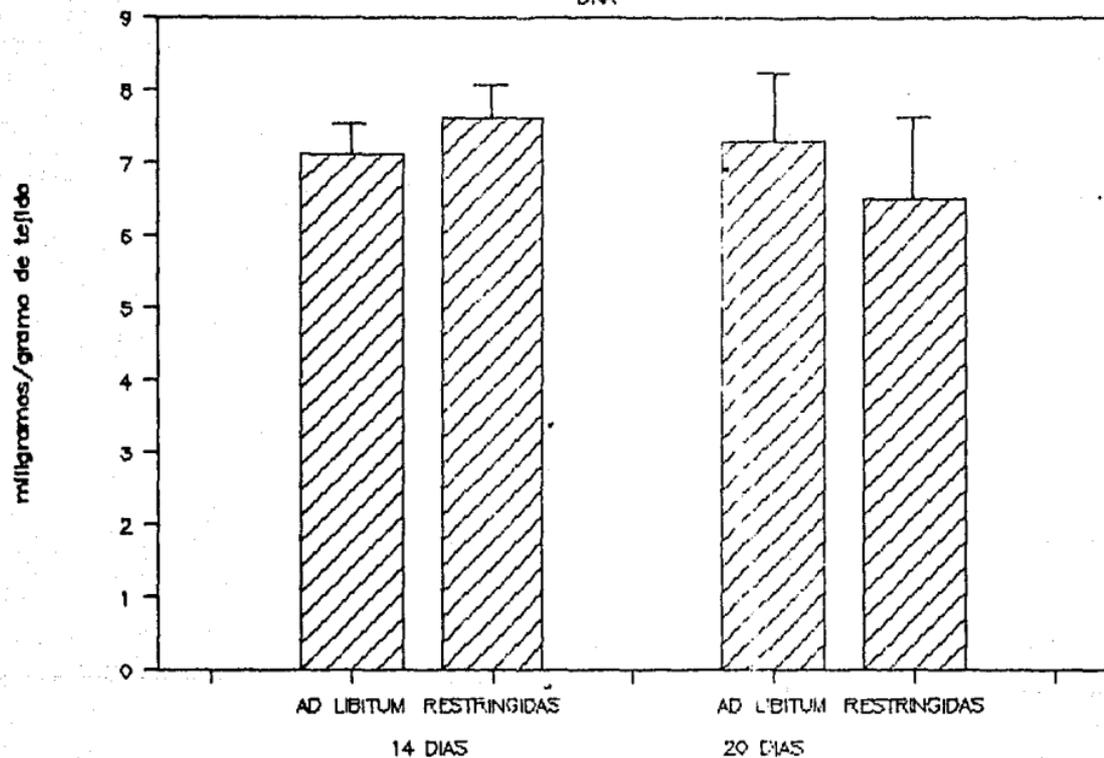


-102-

Fig. 41 CONTENIDO DE RNA EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN LOS FETOS A LOS 14 Y 20 DIAS DE GESTACION EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

FETOS

DNA

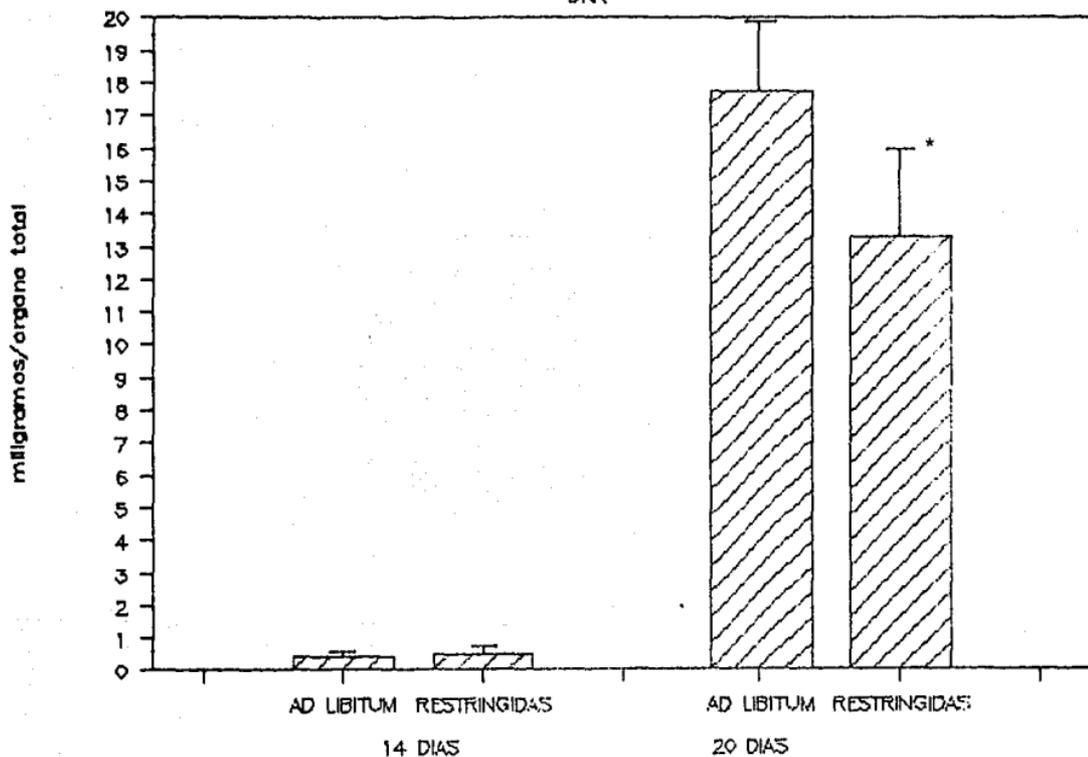


-103-

Fig. 42 CONCENTRACION DE DNA EN MILIGRAMOS POR GRAMO DE TEJIDO EN LOS FETOS A LOS 14 Y 20 DIAS DE GESTACION EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

FETOS

DNA



-104-

Fig. 43 CONTENIDO DE DNA EN MILIGRAMOS POR ORGANO TOTAL EN LOS FETOS A LOS 14 Y 20 DIAS DE GESTACION EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

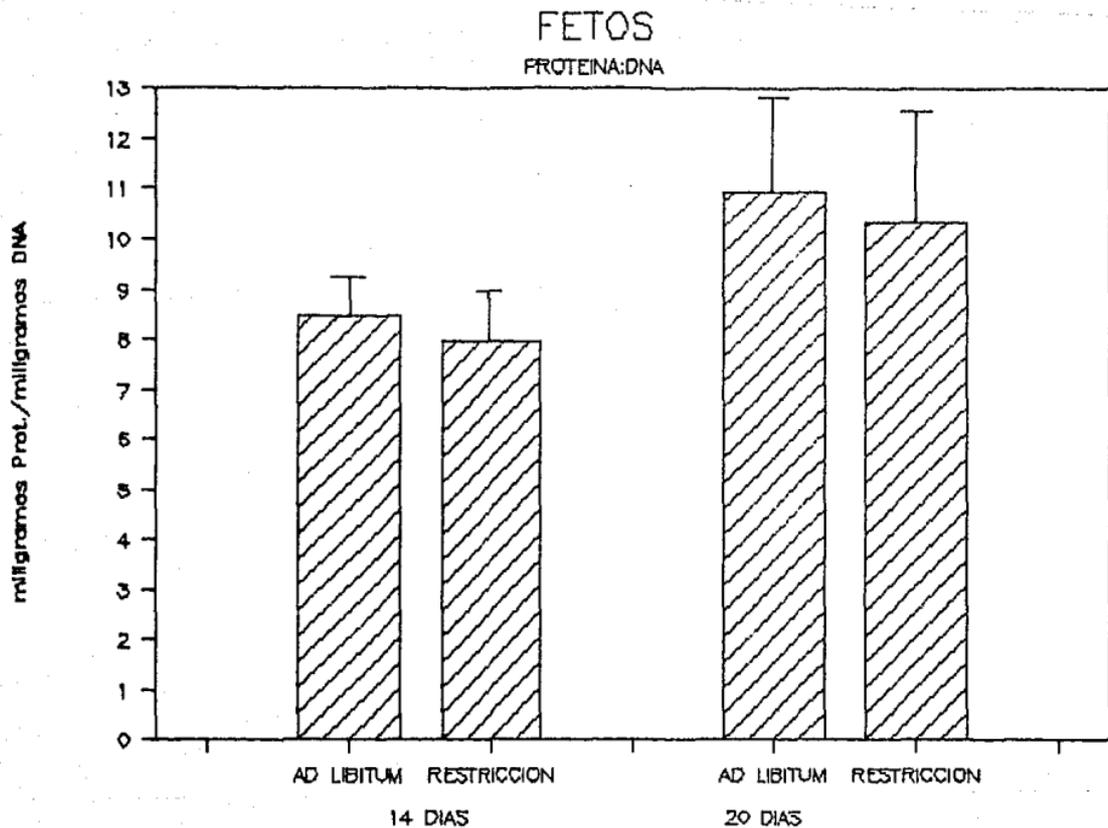


Fig. 44 RELACION PROTEINA/DNA EN LOS FETOS DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS.

FETOS

RNA:DNA

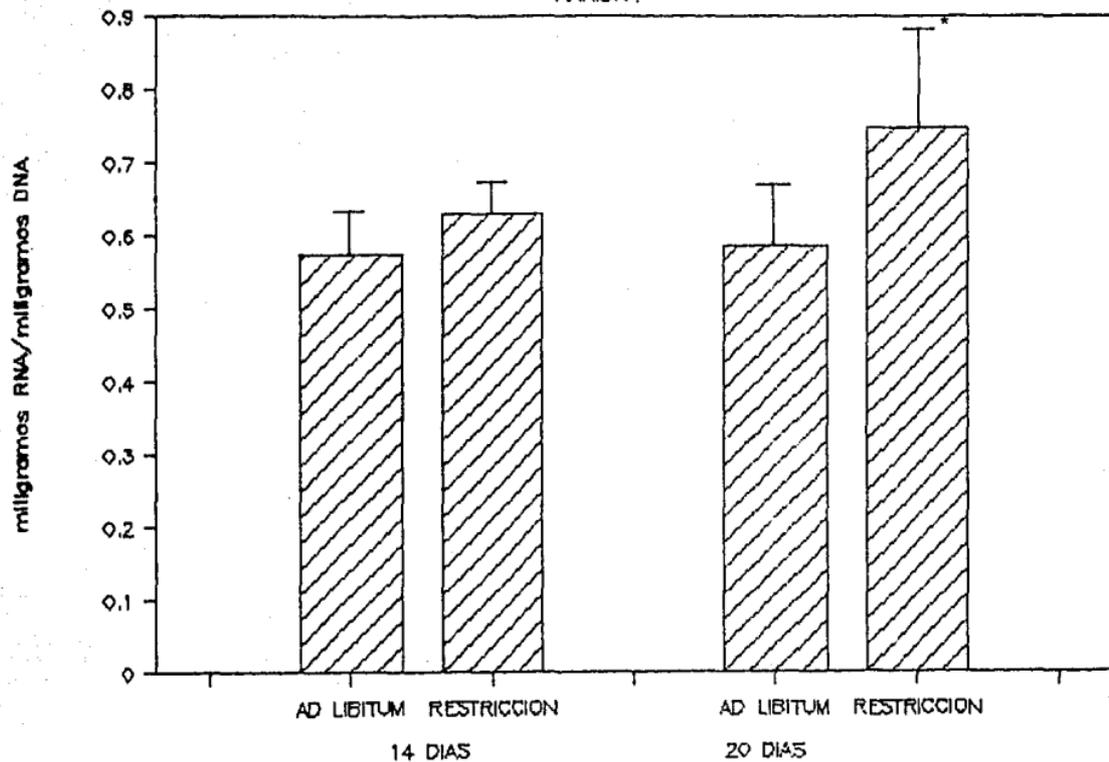


Fig. 45 RELACION RNA/DNA EN FETOS DE RATAS ALIMENTADAS AD LIBITUM Y RESTRINGIDAS

* Diferente estadísticamente de la rata ad libitum. ($p < 0.05$)

IV. RESUMEN:

La importancia de la nutrición en la reproducción es evidente a partir del hecho de que el tejido materno o fetal está formado de nutrientes provenientes de la dieta materna. Una dieta materna insuficiente conduce al retardo del crecimiento del feto y la placenta. El propósito de esta investigación fue evaluar la repercusión de la restricción en la ingesta calórica de la rata durante el embarazo sobre la composición de la unidad feto-placentaria. Se utilizaron dos grupos de ratas Sprague-Dowley, uno alimentado ad libitum y otro restringido al 70 % a partir del 8o. día de embarazo. Se registró diariamente el consumo de alimento y peso de animales. Los días 14 y 20 de embarazo se sacrificaron 6 ratas de cada grupo y se diseccionó útero, placenta y fetos determinando peso húmedo y seco, los tejidos se homogeneizaron determinando el contenido de proteínas, DNA y RNA. RESULTADOS: El consumo de alimento de la rata aumentó durante el embarazo un 36%. El peso corporal aumentó 56% en las ratas ad libitum y 38% en restringidas. UTERO: La restricción alimentaria no tuvo efecto sobre el peso húmedo, la longitud del útero ni la cantidad de DNA, RNA y peso seco, pero sí fue menor el contenido de proteínas en el día 20 de embarazo. PLACENTA: NO hubo diferencias entre los grupos de alimentación en el peso húmedo en el contenido de proteínas, DNA y RNA, sin embargo, la relación RNA/DNA aumentó en los días 14 y 20 en las ratas restringidas. FETOS: Los fetos de ratas restringidas presentaron un menor contenido de proteínas, peso seco y DNA en el día 20 de la gestación mientras la relación RNA/DNA fue mayor en esta etapa.

FALLA DE ORIGEN

CONCLUSION: La restricción alimentaria durante la gestación en la rata: a) No afecta el peso de los fetos, del útero ni de la placenta. b) Disminuye la cantidad de proteínas en útero. c) Disminuye el número de células en la placenta. e) Aumenta la capacidad de síntesis por célula en placenta y fetos.

XV. BIBLIOGRAFIA:

1. Fisher, C.J. and Leatham J.H.: Effect of a Protein - Free Diet on Protein Metabolism in the Pregnant Rat. *Endocrinology.*, 1965; 76: 454.
2. Knopp, R.H., Saudek, C.D., Arky, R.A. and O'sykkuvan, J.B.: Two Phases of Adipose Tissue Metabolism in Pregnancy: Maternal Adaptationes for Fetal Growth. *Endocrinology.*, 1973; 92: 984.
3. Jen, C., Juuhl, N., Lin, P.K.: Repeated pregnancy without lactation: effects on carcass composition and adipose tissue cellularity in rats. *J Nutr.*, 1988; 118: 93-98.
4. Herrera, E.: *Bioquímica Perinatal. España. Fundación Ramón Areces.* 1986.
5. Mayel-Afshar, S. and Grimble, R.F.: Changes in protein turnover during gestation in the foetuses, placentas, liver, muscle and whole body of rats given a low-protein diet. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1983; 756: 182-190.
6. Robinson J.J.: Changes in body composition during pregnancy and lactation. *Proceedings of the Nutrition Society.*, 1986; 45: 71-80.
7. Casado, J., Remesar X. and Pastor-Anglada M.: Hepatic uptake of amino acids in late-pregnant rats. *Biochem J.*, 1987; 248: 117-122.

8. Emery, R.S.: Feed Intake and Change in Body Composition of Lactating Mammals. *Isi Atlas of Science: Animal and Plant Sciences.*, 1988: 51-54.
9. Hamosh, M., Clary, T.R., Chernick, S.S., Scow, R.O.: Lipoprotein Lipase activity of adipose and mammary tissue and plasma triglycerides in pregnant and lactating rats. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1970; 210: 423-427.
10. Humprey, J.L., Childs, M.T., Montes, A., Knopp, R.H.: Lipid metabolism in pregnancy. Kinetics of chylomicron triglyceride removal in fed pregnant rat. *Am. J. Physiol.*, 1980; 239: E81-E87.
11. Wasfi, I., Weinstein, I., Heimerg, M.: Increased formation of triglyceride from oleate in perfused livers from pregnant rats. *Endocrinology.*, 1980; 107: 584-590.
12. Cuezva J.M., Valcarce, C., Chamorro, M., Franco, A. and Mayor, F.: Alanine and lactate as gluconeogenic substrates during late gestation. *F.E.B.S. 3212.*, 1986; 194(2): 219-223.
13. Steingrimsdottir, L., Brassel, J.A., Greenwood, M.R.C.: Diet, pregnancy, and lactation: effects on adipose tissue, lipoprotein lipase, and fat cell size. *Metabolism.*, 1980; 29(9): 837-841.
14. Montes, A., Humprey, J., Knopp, R.H., Childs, M.T.: Lipid metabolism in pregnancy. Lipoprotein composition and hepatic lipids in the fed pregnant rat. *Endocrinology.*, 1978; 103:

1031-1038.

15. Houssay, B.: *Fisiología Humana*. Buenos Aires, Argentina. El Ateneo, 1946.
16. Labhart, A.: *Clinical Endocrinology*. Berlin. Springer-Verlag New York. Heidelberg. 1974.
17. Mary, M., Hastings-Roberst, and Zeman, F.J.: Effects of Protein Deficiency, Pair-Feeding, or Diet Supplementation on Maternal, Fetal and Placental Growth in Rats. *J.Nutr.*, 1977; 107: 973-982.
18. Wigglesworth, J.S.: Experimental growth retardation in the foetal rat. *J. Path. Bact.*, 1964; 88: 1-13.
19. Zeman, F.J.: Growth and reproduction in the chronically nutrient-deprived rat. *Growth.*, 1984; 48: 234-253.
20. Uma Srivastava., My-lien Uv., and Goswami, T.: Maternal dietary deficiency and cellular development of Progeny en the rat. *J. Nutr.*, 1974; 104: 512-520.
21. Seymour, L.H.: *Manual de nutrición clínica*. México. Limusa. 1984.
22. Beal, V.A.: *Nutrición en el ciclo de vida*. México. Limusa. 1983.
23. Alexander, M.H., Lazan, K.B. and Rasmussen, K.M.: Effect of chronic protein-energy malnutrition on fecundability, fecundity and fertility in rats. *J. Nutr.*, 1988; 118: 883-

887.

24. Battaglia, F.C. and Meschia, G.: Fetal Nutrition. Ann. Rev. Nutr. 1988; 8: 43-61.
25. Chang, B-C. and Zeman, F.J.: Metabolic effects of a "carbohydrate-free" diet in the pregnant rat. Nutrition Research., 1987; 7: 1151-1160.
26. Giroud, A.: Nutrition of the embryo. Federation Proceeding., 1968; 27(1): 163-184.
27. Harry, B.: Intrauterine growth retardation. Ed: Mann, L.I. (Ed) Clinical obstetrics and gynecology New York, Harper & Row, Publishers., 1970; pp 511-525.
28. Moore, B.J., Brasel, J.A.: 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., 1984; 114: 1548-1559.
29. Allen, L.H., Zeman, F.J.: Influence of increased postnatal food intake on body composition of progeny of protein-deficient rats. J. Nutr. 1971; 101: 1311-1318.
30. Woodside, B., Colien, L.R. and Jans, J.E.: Effects of food restriction during concurrent lactation and pregnancy in the rat. Physiology & Behavior., 1987; 40: 613-615.
31. Morgan, B.L.G., and Winick, M.: Effects of malnutrition on some aspects of RNA metabolism in the maternal liver and

- fetal tissues at different stages of pregnancy in the rat. J. Nutr., 1977; 107: 1694-1701.
32. Dollander, A., y Fenart, R.: Elementos de embriología. Embriología general. México. Limusa. 1986.
33. Lehninger, A.: Bioquímica. Barcelona, España. Omega. 1981.
34. Gonzales, J. y Gonzales, A.R.: Anatomía comparada de los animales domésticos. España. Graficas Generales S.L. 1981.
35. Kowalsk, K., Blume, H.: Mamíferos. España ediciones. 1981.
36. Douglas, A.J., Clarke, F.W., and Goldspink, D.F.: Influence of mechanical stretch on growth and protein turnover of rat uterus. Am. J. Physiol., 1988; 254(Endocrinol. Metab. 17): E543-E548.
37. Farris, E.J., Griffith, J.Q.: The rat in laboratory investigation. U.S.A.. J.B. Lippincott Company. 1949, pp 35.
38. Montagna, W.: Anatomía Comparada. Barcelona, España. Omega. 1964, pp 284-287.
39. Rahima, A. and Bruce, N.N.: Spacing of conceptuses in the uterine horn and local effects on fetal and placental weights throughout gestation in the rats. J. Reprod. Fert., 1986; 78: 741-747.
40. Drasher, M.L.: Uterine and placental nucleic acids and protein during pregnancy in the mouse. J. Exp. Zool., 1953; 122(3): 385-408.



41. Poo, L., Lew, W. and Addis, T.: protein anabolism of organs and tissues during pregnancy and lactation. J. Biol. Chem., 1939; 128(1): 69-77.
42. Campbell, R.M., Innes, I.R., and Kosterlitz, H.W.: The role of hormonal and dietary factors in the formation of excess ribonucleic acids in the livers of pregnant rats. J. Endocr., 1953; 9(1): 52-67.
43. Renner, S.B.D., Manual de manejo de roedores utiles en el laboratorio. Tesis de Licenciatura. R.F.M. Mèxico, D.F. 1987.
44. Hall, E.R.: The mammals of north America. Second Edition. 1981. Volumen II.
45. Velasco, S.A. y Nava, N.R.: Ratas y ratones domèsticos. Mèxico. Limusa. 1988,
46. Itzhaki, R., Gill, A.M.: Amicro-biuret method for estimation proteins. Anal. Biochem., 1964; 9: 401-410.
47. Schneider, W.C.: A method for extraction of nucleic acids. J. Biol. Chem., 1945; 161: 293-298.
48. Munro, H.N., Fleck, A.: The determination of nucleic acids. Methods Biochem. Anal., 1956; 14: 114-176.
49. Biles, K.W., Myers, A.: An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. Nature (London), 1965; 206: 93.

50. Ostle, B.: Estadística Aplicada. México. Limisa. 7a edición. 1981.
51. Wilkinson, L.: SYSTAT: The system for statistics. Evanston, IL: SYSTAT, Inc. 1987.
52. Young, C.M; Rasmussen, K.M.: Effects of varying degrees of chronic dietary retriCTION in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups. Am. J. Clin. Nutr., 1985; 41: 979-987.
53. Godsink, D.F. and Douglas, A.J.: Protein turnover in gravid and nongravid horns of uterus in pregnant rats. Am. J. Physiol. 1988; 254(Endocrinol. Metab. 17): E549-E554.