



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

EFFECTO DE LA RESTRICCION ENERGETICO-PROTEINICA
SOBRE LA COMPOSICION CORPORAL Y LA PROTEOLISIS
MUSCULAR EN LA RATA MADRE LACTANTE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

MARIA DEL ROSARIO AYALA MORENO

MEXICO, D. F.

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Paginación

Discontinua

Jurado asignado :

Presidente : Prof. Angela Sotelo López
Vocal : Prof. Homero Hernández Montes
Secretario : Prof. Irma Ofelia Bernal Lugo
Primer suplente: Prof. Elpidio García Ramírez
Segundo suplente : Prof. Carmen Giral Barnés

Sitio donde se desarrolló el tema :

Unidad de Investigación Médica en Nutrición
Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional XXI.
Instituto Mexicano del Seguro Social.

Asesor del tema :


Dr. Homero Hernández Montes

Sustentante :


María del Rosario Ayala Moreno

Este trabajo fue realizado en la Unidad de Investigación Médica en Nutrición del Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI con la asesoría del Dr. Homero Hernández Montes.

Trabajo financiado por CONACyT 1054P-M9507.

Este trabajo esta dedicado a la memoria de mi madre :

Por llenar de amor el hogar en que crecí, por tus mimos y regaños, tus múltiples cuidados y atenciones porque nadie nunca me comprendió como tú, porque me brindaste un amor insustituible a pesar de todos mis defectos, porque siempre fuiste el más grande ejemplo de lucha, justicia y amor a la vida, por enseñarme a vivir con coraje y valor aún en las peores condiciones, a pelear por mis sueños y defender mis ideales, por enseñarme a apreciar la unión familiar y a saber brindar amor a quienes me rodean, porque a ti te debo todo lo que soy física, ideal y espiritualmente. Porque sé que desde donde estés celebrarás orgulosamente este logro que también es tuyo.

Por ser mi heroína y mi madre.

Agradezco a :

A mi **Dios**, por permitirme vivir la aventura de habitar este mundo y por iluminar cada día mi camino con la presencia de mi familia, familiares y amigos, por hacerme sentir tu presencia en todo momento.

A ti **papá**, por ser siempre un ejemplo impresionante de que con amor y esfuerzo puede cambiarse un ambiente triste y solitario en un mundo feliz, por ser al lado de mi madre ejemplo de unión familiar y de lucha, por todo tu amor, apoyo y por aceptarme con mis defectos, por hacer mi infancia feliz y enseñarme la humildad, la nobleza y el optimismo ante todo. Porque cada día aprendo más de ti.

A mis hermanas, **Julia, Rebeca y Belem**, por crecer conmigo y soportarme, por enseñarme las lecciones más valiosas de mi vida, por hacerme ver mis errores y por todo el amor que nos une.

A mis primos, **Rafael y Consuelo** por estar a mi lado todo el tiempo, por todo el amor de hermanos que hemos compartido, por preocuparse por mí, por sus consejos y su apoyo incondicional. A **Eric Alan** porque a pesar de tu corta edad me has dado el mejor ejemplo de fortaleza ante una de las pérdidas más dolorosas en mi vida.

A la memoria de mi tía **Consuelo Ortiz**, porque al lado de mi madre fuiste uno de los ejemplos más fuertes de lucha y valentía, por todo el amor que me brindaste, por alegrar mi infancia, consentirme, apoyarme y comprender mis sentimientos.

Con todo mi amor a **Febe (F.B.Q.G.)**, porque juntos hemos hecho crecer el amor que nos une y me has ayudado con cariño a realizar mis sueños, por preocuparte por mí en todo momento, por hacerme ver mis peores errores y comprenderme como nadie, por ser el mejor consejero y mi mayor influencia intelectual, porque eres una de las partes más importantes de mi vida.

Con mucho cariño a **Elsa Oralla G.** por hacerme sentir parte de su familia y por todo el amor que me ha brindado, por sus increíbles consejos y el gran apoyo que siempre me ha hecho sentir, por alegrarse de mis triunfos y por ser un gran ejemplo de fortaleza y amor.

A **Javier Q., Paco Q., Manuel y Katy**, por su cariño y amistad y por que indirectamente me siguen mostrando lecciones valiosas.

A mis amigos de toda la vida, **Miriam C., Jeanette B., Julieta R., Griselda A., Nancy A., Oscar M., Héctor S., Jacky**, por la amistad que compartimos, por alegrarse sinceramente de mis triunfos y estar a mi lado en los momentos mas tristes, por madurar conmigo y porque sé que siempre cuento con ustedes.

A todos mis compañeros de la **Facultad de Química** y especialmente a **Iliana, Lulú (Lucas), Juan Carlos, Vale**, por compartir conmigo su cariño y sus valiosos conocimientos, por su grandiosa amistad, consejos y apoyo, por los ratos de hambre, angustia, cansancio, decepción, tristeza, depresión, pero también por los momentos de gloria, diversión, felicidad, por compartir mis sueños y sobre todo por su inigualable comprensión.

A mis compañeros y amigos del **Laboratorio de Nutrición** :

Con cariño y admiración al **Dr. Salvador Villalpando**, por su apoyo, comprensión y cariño y por ser uno de los mejores ejemplos en mi vida profesional.

Con mucho cariño y admiración al **Dr. Homero Hernández**, porque le debo mucho de lo que he crecido profesionalmente, por todos los conocimientos y experiencias compartidas, por sus valiosos consejos y todo su cariño que conservaré siempre. Por ser uno de mis mejores ejemplos como profesional y como ser humano.

A **Mardya, Miguel, Irene, Barbarita, Fili, Vicki**, por compartirme sus conocimientos y su amistad, por enseñarme a ser más crítica y por sus comentarios que ayudaron a enriquecer este trabajo. Especialmente a **Martha del Prado** por tu cariñoso apoyo en los momentos difíciles, por tus valiosos consejos, por enseñarme a crecer profesionalmente.

A **Margarita, Amanda, Carmelita, Ceci, Mary, Lulú, Adriana, Alejandra, Elena, Mariela**, por su ayuda y consejos en la elaboración de esta tesis, por todo su cariño y los momentos divertidos que vivimos.

ÍNDICE GENERAL

	pag.
1. RESUMEN.	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES.	
3.1 Importancia de la lactancia.	4
3.2 Cambios fisiológicos del organismo materno durante la lactancia.	4
3.3 La glándula mamaria.	5
3.3.1 Morfología de la glándula mamaria.	6
3.3.2 Desarrollo de la glándula mamaria y control de la secreción de la leche.	7
3.4 Composición de la leche.	12
3.5 Síntesis de los componentes de la leche.	15
3.5.1 Reservas corporales maternas como sustratos para la síntesis de los componentes de la leche.	15
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	19
5. JUSTIFICACIÓN.	20
6. OBJETIVOS.	22
6.1 Objetivo general.	
6.2 Objetivos específicos.	
7. HIPÓTESIS.	24
7.1 Hipótesis general.	
7.2 Hipótesis específicas.	

8. MATERIAL Y MÉTODOS.

8.1 Organización y tratamiento de los animales de laboratorio	26
8.1.1 Periodos de estudio.	26
8.1.2 Alimentación de los animales control.	27
8.1.3 Alimentación de los animales restringidos.	27
8.2 Registro del peso corporal y del consumo de alimento.	28
8.3 Sacrificio de los animales.	28
8.4 Preparación semipurificada de la proteasa miofibrilar.	29
8.5 Determinación de la actividad de la proteasa miofibrilar.	30
8.6 Determinación de la concentración de proteínas en el homogeneizado de la proteasa miofibrilar.	30
8.7 Obtención de la carcaza de las ratas madre.	31
8.8 Manejo de la carcaza y determinación de humedad.	31
8.9 Determinación de nitrógeno proteínico en la carcaza seca.	32
8.10 Determinación de lípidos en la carcaza seca.	32
8.11 Análisis estadístico.	33
9. RESULTADOS.	
9.1 Consumo de alimento.	34
9.2 Peso corporal de las ratas.	34
9.3 Efecto de la restricción sobre la fertilidad de las ratas, el número de crías y peso de la camada al nacimiento.	37
9.4 Peso corporal de las crías.	37
9.5 Peso húmedo de la carcaza.	39
9.6 Peso seco de la carcaza.	39

9.7 Contenido de humedad en la carcaza.	40
9.8 Contenido de grasa corporal en la carcaza seca.	42
9.9 Contenido de proteína corporal en la carcaza seca.	46
9.10 Actividad de la proteasa miofibrilar en el músculo esquelético	49
10. DISCUSIÓN.	
10.1 Importancia del empleo de los animales de laboratorio.	51
10.2 Variación del consumo de alimento de las ratas vírgenes y lactantes.	52
10.3 Variación en el peso corporal de las ratas vírgenes.	53
10.4 Variación en el peso corporal de las ratas lactantes.	54
10.4.1 Ganancia de peso durante el embarazo.	54
10.4.2 Variación de peso durante la lactancia.	55
10.4.3 Efecto de la restricción sobre la tasa de fecundidad.	56
10.4.4 Variación en el número de crías al nacimiento y ganancia de peso corporal.	56
10.5 Peso y contenido de humedad de la carcaza.	57
10.6 Efecto de la restricción sobre el contenido de lípidos.	58
10.7 Efecto de la restricción sobre el contenido de proteínas.	60
10.8 Efecto de la restricción sobre la actividad de la proteasa miofibrilar.	61
10.9 General	62
11. CONCLUSIONES.	65
12. BIBLIOGRAFÍA.	66

ÍNDICE DE FIGURAS

	pag.
Figura 1. Sección sagital mostrando la distribución de los conductos y sus ramificaciones en la glándula mamaria de una mujer de 19 años no embarazada no lactante.	8
Figura 2. Dibujos del sistema de conductos, conductos lactóforos y el pezón de una mujer no embarazada no lactante de 21 años de edad y el de una mujer lactante.	10
Figura 3. Modelo de los alveolos mamarios y estructuras anexas en la glándula mamaria lactante.	12

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	pag.
Gráfica 1. Consumo de alimento de las ratas virgenes y lactantes alimentadas a libre demanda.	35
Gráfica 2. Peso corporal de las ratas virgenes <u>control</u> y <u>restringidas</u> .	36
Gráfica 3. Peso corporal de las ratas lactantes control y <u>restringidas</u> .	36
Gráfica 4. Peso corporal de las crías de ratas <u>control</u> y <u>restringidas</u> durante la lactancia .	38
Gráfica 5. Contenido de grasa en la carcaza de las ratas virgenes <u>control</u> y <u>restringidas</u> .	44
Gráfica 6. Contenido de grasa en la carcaza de las ratas lactantes <u>control</u> y <u>restringidas</u> .	44
Gráfica 7. Contenido de proteína en la carcaza de las ratas virgenes control y <u>restringidas</u> .	48
Gráfica 8. Contenido de proteína en la carcaza de las ratas lactantes <u>control</u> y <u>restringidas</u> .	47

ÍNDICE DE CUADROS

	pag.
Cuadro 1 Comparación del volumen de leche producido en el humano y la rata y su composición química.	14
Cuadro 2 Efecto de la restricción en la fertilidad de la rata, el número de crías y peso de la camada al nacimiento.	37
Cuadro 3 Comparación de los pesos húmedo y seco de las carcazas de las ratas lactantes y vírgenes restringidas y no restringidas	41
Cuadro 4 Efecto de la restricción energético-proteínica sobre el contenido de humedad de las ratas vírgenes y lactantes restringidas y no restringidas	42
Cuadro 5 Efecto de la restricción energético-proteínica sobre el contenido de lípidos en las ratas vírgenes y lactantes restringidas y no restringidas	45.
Cuadro 6. Efecto de la restricción energético-proteínica sobre el contenido de proteína corporal en las ratas vírgenes y lactantes restringidas y no restringidas	47
Cuadro 7. Efecto de la restricción energético-proteínica sobre la actividad de la proteasa miofibrilar en el músculo de la rata durante su adaptación a la dieta.	50

1. RESUMEN.

El organismo materno cubre las demandas de la lactancia a través de la dieta y la movilización de sus reservas corporales. En este trabajo se comparan los cambios producidos en la composición corporal materna durante la lactancia en la rata, cuando las madres fueron alimentadas con un alimento comercial: 1) a libre demanda o 2) con una restricción del 50%. En los grupos de estudio se determinó el contenido de humedad, grasa y proteína por gravimetría, Goldfisch y Kjeldhal, respectivamente.

Resultados. Se demuestra que, durante la lactancia, se movilizan las reservas de grasa del organismo materno, seguidas de la movilización de los depósitos de proteína, aún en los animales que fueron bien alimentados. La rata lactante alimentada a **libre demanda** movilizó una cantidad significativa de grasa en los días 14 y 21 de la lactancia (50%, $p < 0.05$), mientras que su control virgen incrementó su grasa corporal con la edad. La rata lactante **restringida**, con una reserva disminuida por la restricción, movilizó únicamente el 22% por efecto de la lactancia mientras que su control virgen presentó una pérdida significativa por la restricción (78% hasta la edad equivalente a 21 días de lactancia, $p < 0.001$).

En relación a las proteínas corporales, las ratas control **no restringidas** movilizaron durante la última semana de lactancia 24% de su proteína corporal ($p < 0.05$), mientras que los animales lactantes **restringidos** movilizaron el 5% de su proteína corporal, por efecto de la restricción y el 29% por efecto de la lactancia ($p < 0.05$).

La restricción también afectó la tasa de fecundidad y el peso de las crías. Las ratas **restringidas** tuvieron un porcentaje menor de embarazos que los controles (14.4% vs 69.2%), aunque el número de crías al nacimiento no se vio afectado (10.3 vs. 11.2 g). El peso de las crías al nacimiento fue 25% menor en las ratas **restringidas** ($p < 0.002$) diferencia que se vio acentuada hacia el final de la lactancia.

2. INTRODUCCIÓN

El período más importante de los mamíferos tras su nacimiento es la **lactancia**, la cual se caracteriza por la secreción de la leche materna por las glándulas mamarias de las hembras tras el nacimiento de la cría. La leche secretada es un alimento de composición química específica para los mamíferos jóvenes de cada especie, durante el período crítico de su existencia (1, 2).

La leche es un líquido de composición compleja, blanco opaco de pH cercano a la neutralidad. La gran complejidad de la composición de la leche responde específicamente a las necesidades nutricias de las crías y en algunas especies, también les confiere protección inmunológica (1, 2).

En la leche se identifican cuatro tipos de nutrimentos importantes: los lípidos, las proteínas (caseína, lactalbúmina y lactoglobulina), la lactosa y las sales. A ellos se añaden otros componentes como fosfatidilcolina, vitaminas, enzimas e inmunoglobulinas (1).

La composición de la leche varía en el transcurso del ciclo de la lactancia. En la etapa cercana al nacimiento la madre secreta el calostro, un líquido espeso, alcalino, de color amarillo limón intenso el cual posee un alto contenido de inmunoglobulinas y de otros factores protectores y está adaptado para la relativa inmadurez del sistema enzimático digestivo del recién nacido. Durante los primeros días después del parto, el grado de infiltración del estroma de la glándula por células linfoides se hace menos intenso y el calostro cede su lugar a la abundante secreción de la leche rica en lípidos.

Los lípidos, la lactosa y la mayor parte de las proteínas de la leche son sintetizadas a partir de precursores tomados de la sangre. Las proteínas específicas de la leche como son la caseína, la lactoferrina y la α -lactalbúmina se sintetizan por la glándula mamaria, pero algunas proteínas, como la albúmina sérica, se derivan de la sangre materna.

El nitrógeno y las proteínas totales tienen una mayor concentración en el calostro (2.0-5.5 g de proteína/dL), disminuyen rápidamente en el primer mes y luego lo hace más lentamente hasta alcanzar la leche madura (0.73-2.0 g de proteína/dL). En este tiempo el volumen de la leche aumenta por lo que la cría toma un mayor volumen de leche con un menor contenido de proteínas por unidad de volumen (2).

Los componentes proteínicos de la leche son sintetizados en el retículo endoplásmico rugoso en donde se observan numerosos gránulos densos (400 nm) vecinos al complejo de Golgi. Esas vesículas se fusionan con la membrana y liberan su contenido a la luz de los acinis. Los componentes lipídicos de la leche se originan en el citoplasma en forma de pequeñas gotas libres las cuales se fusionan, aumentan de tamaño y se mueven hacia la región apical donde son envueltas por una porción de la membrana celular y posteriormente liberadas (1).

Durante la lactancia la glándula mamaria demanda del organismo materno una gran cantidad de nutrimentos, necesarios para la síntesis de la leche. Esa demanda es cubierta por un aumento en la ingesta de alimentos y la movilización de las reservas corporales formadas durante el embarazo. También se observan cambios en el metabolismo de los principales tejidos maternos obteniéndose como resultado que una alta proporción de los sustratos disponibles (glucosa, triacilgliceroles, ácidos grasos no esterificados y cuerpos cetónicos) puedan ser utilizados por la glándula mamaria para la producción de la leche.

Varios grupos de investigación han mostrado que en los mamíferos (ratas, ratones, ovejas, vacas y cerdos) incluyendo al hombre, el organismo materno pierde masa proteínica muscular durante la lactancia con objeto de satisfacer la demanda de aminoácidos de la glándula mamaria (4, 15, 16). Sin embargo, otros autores no han obtenido los mismos resultados (7, 8).

3. ANTECEDENTES

3.1 Importancia de la lactancia.

El crecimiento mamario y la lactancia representan dos características importantes del ciclo reproductor de los mamíferos. El hecho de que estos organismos puedan alimentarse directamente de su madre durante el periodo más vulnerable de su vida es una gran ventaja ya que evita la búsqueda del alimento necesario en el medio ambiente y la exposición a las agresiones de individuos de otras especies (1)

Desde hace ya algún tiempo, se ha aceptado que la leche es un medio ideal y altamente digerible para satisfacer completamente las necesidades nutricionales del infante y que cuando se ven privados de ella, la tasa de mortalidad es muy alta. Esta característica persiste en nuestros días en zonas del mundo donde los compuestos nutricionales adecuados no existen o son inseguros para sustituir la leche humana. También, la falta de leche en la madre se relaciona con la incidencia de la desnutrición energético-proteínica y con la presencia de enfermedades entéricas en los niños. A su vez la desnutrición proteínico-calórica que afecta a las madres de zonas rurales principalmente, afecta también el desarrollo adecuado de sus hijos (2)

3.2 Cambios fisiológicos del organismo materno durante la lactancia.

Los cambios que ocurren en el organismo materno desde el embarazo y los mecanismos de adaptación están relacionados con los requerimientos nutricionales para realizar la síntesis de la leche. Durante la lactancia el organismo materno experimenta una serie de cambios hormonales y fisiológicos y por consiguiente adaptaciones metabólicas que le permiten el abastecimiento de los nutrimentos necesarios y en la cantidad ade-

cuada para realizar la síntesis de los componentes de la leche y poder llevar a cabo una lactancia exitosa (3). Dentro de esos cambios se incluyen: el incremento del gasto cardíaco, la hipertrofia del hígado, del estómago, del corazón, del intestino delgado, del corazón, del riñón y evidentemente de la glándula mamaria así como un incremento en el consumo de alimento (3-9, 24, 29, 33).

El resultado neto de estos cambios es que una gran proporción de sustratos viables en la circulación, como son la glucosa, los triacilgliceroles, los ácidos grasos no esterificados, los cuerpos cetónicos y los aminoácidos, son dirigidos hacia la glándula mamaria para la producción de leche (3,9).

El órgano metabólicamente más activo durante el periodo de la lactancia es la glándula mamaria, por lo cual a continuación se describen su fisiología y desarrollo.

3.3 La Glándula mamaria:

La presencia de estas glándulas especializadas ofrece grandes ventajas para los mamíferos pues permite a la madre cumplir con la alimentación de sus crías.

Filogenéticamente, la glándula mamaria proviene de la especialización de las glándulas sudoríparas cuyo número varía de acuerdo a la especie. Histológicamente se clasifica como un conjunto glandular túbulo-alveolar (1).

Típicamente, las glándulas mamarias se desarrollan como estructuras pares, cuyo número y posición varía con la especie. Los primates presentan un solo par de posición torácica, mientras que las ratas suelen tener seis pares de glándulas mamarias, de estos, tres pares son torácicos, uno es abdominal y dos son inguinales.

En las ratas lactantes no se pueden distinguir individualmente las mamas, el "complejo glandular mamario" se presenta como una tira de tejido que se extiende desde el cuello hasta el ano, solo interrumpida a nivel de las costillas posteriores (10).

3.3.1 Morfología de la glándula mamaria:

El tejido mamario difiere de casi todos los demás en que la mayor parte de su crecimiento ocurre al aproximarse la madurez del animal. La mama suele clasificarse como glándula accesoria del sistema reproductor ya que en condiciones normales, el tejido se desarrolla bajo control hormonal cuando el sistema reproductor comienza a ser funcional.

La llamada mama "madura en reposo", esta constituida por 15 o 20 **lóbulos** independientes entre sí, los que a su vez están formados por **lobulillos** y éstos por **acinos** o **alvéolos**. De cada alvéolo sale un conductillo lactóforo que se une a los conductillos cercanos formando conductos tubulares cada vez más grandes a manera de ramas de árbol, en el que el tronco sería la estructura tubular más gruesa o conducto lactóforo. Un poco antes de penetrar el pezón, los conductos lactóforos tienen dilataciones que se conocen con el nombre de **senos lactóforos**. Cada conducto lactóforo desemboca en su propio poro en el exterior del pezón (**figura 1 y 2**).

En la **figura 1** puede observarse un corte de la mama y en la **figura 2** se compara el sistema glandular de la mujer no embarazada (**fig 2a**) y de la mujer lactante. (**fig 2b**).

La unidad secretora básica de la glándula mamaria son los **acinos** o **alvéolos** que obtienen de la sangre los precursores para sintetizar los componentes de la leche y posteriormente secretarlos al lumen alveolar (**figura 3**).

Los alveolos están constituidos por tres tipos de células, las primeras en la luz del alvéolo se llaman **superficiales, luminales** o **células "A"**, a éstas sigue una capa de células denominadas **principales, basales** o **células "B"** y finalmente estas últimas están rodeadas por **células mioepiteliales** con capacidad contráctil, las cuales son sensibles a la presencia de oxitocina y participan con su contracción durante el proceso de

eyección de la leche. Cada alvéolo descansa en una membrana basal rodeada por una rica red de capilares sanguíneos, linfáticos y fibras elásticas.

Los conductos galactóforos están también envueltos por células mioepiteliales, tanto en sentido transversal como longitudinal y su funcionamiento es similar al descrito para las células de los alvéolos.

En la periferia de la areola existen pequeños **tubérculos** llamados de **Morgagni**, donde desembocan las **glándulas sebáceas** que durante la etapa de la lactancia secretan un líquido lubricante (1).

3.3.2 Desarrollo de la glándula mamaria y control de la secreción de leche:

El desarrollo y función de la glándula mamaria dependen de varios procesos de regulación endocrina y comprende cuatro etapas :

1) Desarrollo mamario (mamogénesis ó periodo mamotrófico). Durante este periodo ocurren cambios estructurales en varios tejidos y en la glándula que determinan la conformación del seno.

2) Secreción de la leche (el periodo lactogénico). Corresponde a la reorganización estructural y fisiológica que da lugar a la producción de la leche.

3) El periodo lactopoyético. En este periodo se mantiene la producción de la leche.

4) La involución. En el climaterio se inicia la involución de la mayor parte de las estructuras glandulares y de otros tejidos del seno.



Figura 1. Sección sagital que muestra la distribución de los conductos y sus ramificaciones en la glándula mamaria de una mujer de 19 años no embarazada no lactante (47).

El desarrollo de la glándula mamaria se inicia en la etapa fetal con la formación de un botón mamario ectodérmico, que se ramifica hacia el mesénquima formando los que serán más tarde los lóbulos. El desarrollo se detiene en esta fase y se reinicia durante la pubertad, periodo en el que aumenta la arborización de los ductos y aparecen los primeros folículos secretores, estos cambios se acompañan de una importante acumulación de tejidos conectivo y adiposo y el desarrollo del pezón con sus estructuras glandulares y sus nervios altamente especializados.

Después de la pubertad, la glándula mamaria puede experimentar diferentes estados funcionales :

1. El **estado inactivo**, que se presenta en la mujer no embarazada, no lactante y en el cual se observan pocos cambios.
2. El **estado activo o proliferativo**, que ocurre durante el embarazo y cuyo inicio es marcado por cambios hormonales. En los primeros meses se observa el crecimiento mamario y la diferenciación en los meses subsecuentes donde se observa la proliferación de las células del epitelio de los conductos con neoforación de numerosos acinos o alveólos y el aumento del tamaño y del número de las unidades tubulo-alveolares en cada lóbulo. Conforme el embarazo llega a término, se observa un incremento en la división celular, principalmente en las porciones alveolares de la glándula, inducida por la somatotropina. La combinación de estrógenos y progesterona interviene en el desarrollo alveolar mientras que los estrógenos lo hacen principalmente a nivel de los conductos galactóforos.

Las hormonas con mayor efecto mamogénico son los estrógenos, la somatotropina, la prolactina, la insulina y el cortisol. Todas ellas solas o en forma conjunta son capaces de estimular el crecimiento celular de la mama.

3. El **estado secretor** se presente durante la producción de leche y se conoce como lactogénesis. Esta etapa inicia durante las 12 primeras horas del posparto con cambios importantes en las células secretoras, las que desarrollan las características citológicas de una célula exócrina, mostrando numerosos ribosomas y gránulos de secreción. A las 48 horas posparto, aparece gran cantidad de vacuolas de lípidos y gránulos de secreción, desplazados hacia la zona apical. La luz de los alvéolos comienza a distenderse por el contenido de leche.



Figura 2. Dibujos del sistema de conductos, conductos lactóforos y el pezón de una mujer no embarazada no lactante de 21 años de edad (A). Observe como los conductos lactóforos convergen en el pezón. Los alveolos secretores se disponen a lo largo de los conductos intralobulares. El esquema B muestra el tejido en una mujer de 26 años, tres semanas después del parto (47).

La señal hormonal mas importante para iniciar la formación de la leche es la caída brusca en la concentración plasmática de **progesterona** después del parto. La síntesis de la leche es estimulada por la **prolactina** que es producida en los lactótrofos de la hipófisis e incrementa su concentración progresivamente durante la lactancia exitosa y con el estímulo de la succión alcanza concentraciones entre 100 y 200 ng/mL, las que mantienen la velocidad adecuada de producción de la leche (galactopoyesis).

La leche contenida en la mama se vacía gracias al reflejo de eyección láctea el que es producido por la oxitocina la cual, al vaciamiento de la mama, se libera a la circulación general y actúa sobre las células mioepiteliales de los alveolos produciendo la contracción de estas y por lo tanto la expulsión de la leche hacia los conductillos, a los conductos lactíferos más grandes y luego a los senos lactíferos, de donde sale al exterior. Si la leche no es expulsada, la secreción se frena y finalmente se detiene, lo que acarrea la total involución del tejido secretor.

4. Tras el pico de la lactancia y el destete de las crías ocurre la **involución** de la mama mostrando como resultado la disminución en el tamaño de los alveolos, el volumen de los lóbulos y el número de células por alvéolo, gracias a la participación de los lisosomas, lo que lleva a una reducción en la actividad celular (11).

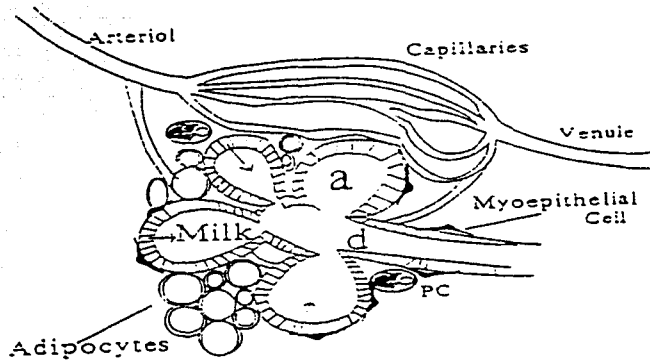


Figura 3. Modelo de los alveolos mamarios (a) rodeados por las estructuras de apoyo como son los conductos (d) a través de los cuales la leche es eyaculada por la contracción de las células mioepiteliales. Se muestra la vasculatura y el estroma compuesto de fibroblastos y adipocitos y las células plasmáticas (PC) (48).

3.4 Composición de la leche:

La duración del período de lactancia y la composición de la leche de cada especie está diseñada biológicamente para satisfacer las necesidades nutricionales de las crías de acuerdo a la condición y el grado de madurez metabólica que alcanzan al nacimiento.

La composición de la leche puede ser afectada por diversos factores como son: la edad y el estado nutricional de la madre, el número de lactancias previas, la etapa de la lactancia y la ingesta dietética (12)

La secreción de la glándula mamaria en los primeros días posparto se denomina calostro y es un líquido espeso, alcalino, de color amarillo limón intenso, rico en minerales y vitaminas y con una concentración de proteínas mayor que la de la leche madura (2). La variación en el contenido de nutrientes marca la transición del calostro a la leche madura (12).

La leche madura es un fluido complejo constituido por un gran número de componentes no solo los micro y macronutrientes (proteínas, lípidos, lactosa, minerales) sino también por otros componentes como son las enzimas, las hormonas y algunos factores inmunológicos que proporcionan a las crías la resistencia a infecciones respiratorias y enterales (2).

Las demandas impuestas por el tejido mamario al organismo materno durante la lactancia dependen en gran medida de la concentración de los nutrientes de la leche y del volumen en que ésta debe producirse. Comparando los datos de la composición de la leche humana y de la rata (23), se observa que la leche sintetizada por la rata muestra un mayor contenido de lípidos (10.3 vs 3.8) y proteína (8.4 vs 1.0) pero un menor contenido de lactosa (2.6 vs 7.0). También la producción de leche es diferente pues mientras que en el humano la producción es de 12 a 23 mL/ kg / día, la rata produce de 115 a 140 mL/ kg/día (Cuadro 1). Lo anterior muestra que las demandas de la lactancia son considerablemente más altas en la rata que en el humano y probablemente esos animales sean susceptibles a experimentar cambios más pronunciados en su composición corporal y en la velocidad de secreción de leche, por efecto de la dieta con la que son alimentados.

Cuadro 1. Comparación del volumen de leche producido en el humano y la rata y su composición química.

Especie	Lípidos (g / dL)	Proteína (g / dL)	Lactosa (g / dL)	Volumen producido (mL/24 h)
Humano	3.8	1.0	7.0	700
Rata	10.3	8.4	2.6	40

Fuente : Smith (1959) (12).

Con respecto a la influencia de la dieta sobre la composición de la leche, se ha reportado que la composición de ácidos grasos de la leche humana varía en función de la composición de ácidos grasos de la dieta materna. Los carbohidratos se ven afectados en menor proporción y las proteínas y los compuestos nitrogenados tienden a mantenerse más estables (13).

Entre los elementos que modifican su concentración en la leche al modificar la dieta se encuentran algunos oligominerales como el zinc, el selenio y el cobre así como algunas vitaminas, entre ellas la A, B, C y D (13). Sampson y Jansen han descrito variaciones circadianas en la concentración de lípidos y lactosa de la leche, sin embargo en términos absolutos, estos cambios no son significativos en relación al balance total de energía (5).

Los estudios realizados por varios grupos desde 1975, parecen demostrar que el estado nutricional de la madre, evaluado a través del nivel socioeconómico, antropometría o composición corporal, no afecta seriamente el volumen de leche producido en 24 horas ni la composición de la leche, excepto en los casos de desnutrición de tercer grado. La leche de madres con desnutrición marginal tiene una concentración ligeramente más baja de lípidos y de lactosa que la leche de las madres óptimamente nutridas (9).

3.5 Síntesis de los componentes de la leche.

Los sustratos utilizados por el tejido mamario para la síntesis de leche y el mantenimiento de sus funciones propias son obtenidos necesariamente de la circulación sanguínea, transformados en los componentes de la leche y posteriormente expulsados de las células alveolares empleando los diferentes mecanismos de secreción.

Se ha afirmado pero no sustentado que la mayor parte de esos sustratos proviene de la **dieta** pues se ha observado que las ratas lactantes alimentadas a libre demanda presentan un incremento gradual en el consumo de alimento conforme transcurre la lactancia, en la segunda semana de la lactancia la rata duplica el consumo de la rata no embarazada no lactante y en la última semana de lactancia triplica ese consumo (3, 4, 7, 9, 11, 14).

3.5.1 Reservas corporales como sustratos para la síntesis de los componentes de la leche.

Se ha calculado que la demanda energética que impone la lactancia, excede calóricamente la ingesta dietaria de la madre, por lo cual parte de la demanda de sustratos del tejido mamario debe ser cubierta por la movilización de biomoléculas de los tejidos maternos, lo que significa una pérdida de la masa corporal de la madre lactante (11).

Algunos autores han demostrado que durante el embarazo se forman **reservas corporales** maternas como prevención de las altas demandas que habrán de cubrirse durante la lactancia y que esas **reservas** son posteriormente movilizadas para aportar una cantidad de nutrimentos importante para garantizar la síntesis de los componentes de la leche.

Estudios de la composición corporal materna (contenido de grasa y proteína) realizados en diferentes especies (humano, cerdo, rata y ratón) han mostrado la formación de depósitos de grasa durante el embarazo y su movilización durante la lactancia para contribuir al costo energético de este periodo (4, 5, 15-18). En el caso particular de la rata lactante alimentada a libre demanda, se ha observado que a pesar del marcado incremento en el consumo de alimento antes mencionado, el 60% de la grasa corporal total de las madres es movilizadado durante la lactancia y que la formación de esa reserva y su posterior movilización ocurre independientemente del tipo de dieta proporcionada a la rata (4, 15, 18).

Es bien reconocido que durante el embarazo la rata madre forma una "reserva de proteínas" durante los dos primeros tercios del embarazo y que esta reserva es utilizada en el último tercio para apoyar el crecimiento rápido del feto (19, 20). Aunque no se ha descrito una ubicación exacta para esas proteínas de reserva, algunos autores han sugerido al músculo esquelético como el sitio posible ya que constituye cerca del 40% del peso corporal y el 25% de las proteínas totales del organismo (21, 22). Otros estudios en el embarazo refuerzan esta proposición pues en ellos se ha observado que al tiempo que el organismo materno acumula lípidos en el tejido graso, el músculo estriado aumenta la captación de aminoácidos y la síntesis de proteínas (4, 6, 18).

El hecho de que la movilización de la reserva de proteínas sea utilizada para apoyar el crecimiento fetal en el último tercio del embarazo, sugiere que la rata madre inicia-

ría el periodo de lactancia sin reserva de proteínas lo cual forzaría a las hembras lactantes a incrementar su ingesta de alimentos y a movilizar algunas proteínas de sus propios tejidos para cubrir las demandas de la lactancia. Sin embargo, el empleo de las proteínas propias de los tejido maternos, es un tema de controversia.

Millican y Vernon (8) no observaron una disminución importante de proteína en la carcaza de la rata lactante alimentada a libre demanda mientras que Siebrits y cols (7) no identificaron cambios en la velocidad de síntesis de proteínas en el músculo esquelético de la madre durante la lactancia. Esos resultados sugieren que no serían las proteínas del músculo las que se movilizan para cubrir las demandas de la lactancia y que estas son totalmente cubiertas con el incremento en el consumo de alimento observado en ese periodo.

Sin embargo, en varios estudios realizados en ratas y ratones lactantes se ha observado que durante el periodo de lactancia se promueve una pérdida importante de proteína materna en animales bien nutridos (4, 15, 16) y que cuando estos animales se someten a periodos de desnutrición proteínica (20) ó energético-proteínica (15) durante la gestación, la lactancia o ambas ; la pérdida de proteínas se acentúa lo que ocasionaría un abastecimiento deficiente de nutrientes a la glándula mamaria afectando con ello la producción de leche lo que puede verse reflejado en una menor ganancia de peso de las crías de esas ratas durante la lactancia (24).

La pérdida neta de masa proteínica corporal en estos animales, evaluada por el análisis de la composición de la carcaza podría estar relacionada con las modificaciones en el metabolismo de las proteínas que han sido observadas en algunos estudios en ratas lactantes, en los cuales se ha reportado un incremento en el recambio de proteína muscular (25) y una reducción en la concentración muscular de RNA (9). Todos estos indicadores relacionados con la pérdida de masa proteínica permite especular que durante la lactancia, el balance del recambio de proteínas está inclinado hacia la degra-

dación, aunque se ha sugerido que la degradación del músculo esté bajo control para evitar un catabolismo excesivo de proteínas (20, 26).

Adicionalmente se ha observado en los primeros días del destete, que el contenido de RNA del músculo de ratas que fueron lactantes se incrementa, lo cual sugiere que al cesar la demanda de aminoácidos por el tejido mamario, éstos pueden ser recapturados por el músculo para sintetizar proteínas y de esa forma el organismo materno podría recuperar parte de la proteína corporal perdida durante la lactancia (4, 9).

Las evidencias mencionadas sugieren que, durante la lactancia, una fracción de las proteínas musculares es hidrolizada y que los aminoácidos liberados son movilizados hacia la circulación de donde una parte son captados por la glándula mamaria para la síntesis tanto de las proteínas de la leche como de las enzimas indispensables para los procesos metabólicos y otras proteínas que intervienen en las estructuras del lactocito (28).

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Naismith y Morgan (19) han sugerido que durante el embarazo en la rata, la madre forma una reserva de proteínas durante los dos primeros tercios de embarazo y que esa reserva es utilizada durante el último tercio para apoyar el crecimiento fetal. Lo anterior nos permite suponer que la madre inicia la lactancia sin reserva de proteínas disponible para satisfacer las demandas de aminoácidos que le plantea la síntesis de las proteínas de la leche. Adicionalmente se ha demostrado en varias especies, que durante la lactancia, a pesar de que la madre bien alimentada incrementa su ingesta de alimentos, el organismo materno pierde proteína corporal (4, 15, 16) y que esa pérdida se acentúa cuando se restringe la ingesta de alimentos de la madre (20, 15).

Lo anterior muestra que durante el embarazo y la lactancia la madre realiza ajustes importantes en su metabolismo que aún no han sido completamente entendidos y que la formación de los componentes de "reserva" que pueden ser movilizados en casos de necesidad, depende de la nutrición de la madre. Sin embargo la formación de una reserva de proteínas materna que pueda ser empleada durante la lactancia para satisfacer las demandas en este periodo es aún controvertida y no hay reportes de la composición corporal de ratas madres lactantes que han sido crónicamente alimentadas con una restricción energético proteínica.

El conocimiento de que las madres lactantes pueden movilizar proteína de sus propios tejidos es importante ya que en los casos de desnutrición energético-proteínica grave se verá afectado el estado fisiológico de la madre y por lo tanto el crecimiento y desarrollo de las crías.

5. JUSTIFICACIÓN.

La lactancia es un proceso muy exigente para la madre, de modo que el organismo previene desde la gestación las necesidades que deberá cubrir durante la lactancia, creando reservas corporales (11), con lo cual, la madre almacena lípidos en el tejido adiposo (4-6, 15-18) y proteínas en el tejido muscular (4, 6, 15, 16) que posteriormente podrán ser movilizados para satisfacer las grandes demandas de este periodo. La cantidad de lípidos y proteínas que el organismo puede movilizar, depende directamente de la cantidad de proteínas y compuestos energéticos que la madre ingiera en su dieta.

Por lo tanto, aquellos organismos que reciben una dieta deficiente en proteínas y energía crean pobres almacenes de lípidos y proteínas por lo que la cantidad que pueden movilizar de esos compuestos es mínima lo que sin duda afectará el adecuado crecimiento y desarrollo de las crías.

Las madres que habitan en las zonas rurales y zonas marginadas tienen una dieta que presenta deficiencias en el contenido calórico y proteínico que proporcionan a sus organismos, se sabe además, que estas mujeres no modifican su dieta durante la gestación ni durante la lactancia y tampoco disminuyen su ritmo de trabajo (44), lo cual hace difícil satisfacer las necesidades de la madre y del feto durante el embarazo; sumado a lo anterior estas madres presentan embarazos más frecuentes y con periodos de lactancia muy prolongados (44). Todo lo anterior influye en la cantidad de proteínas que la madre conserva y en la concentración de proteínas que puede ofrecer en la leche y que afecta no solo su estado fisiológico, sino también el crecimiento del infante.

Conocer la forma en que la dieta influye en la formación de las "reservas" y si la madre debe movilizar proteínas de sus propios tejidos para cubrir una parte de la deman-

da impuesta por la lactancia, motiva la generación de programas encaminados a estudiar los procesos metabólicos en la población humana y a la búsqueda de soluciones específicas para intentar reparar o reducir algunos de los efectos de la desnutrición energético-proteinica.

6. OBJETIVOS.

6.1 Objetivo general.

Determinar el efecto de una restricción energético-proteínica del 50% administrada crónicamente sobre la tasa de fecundidad, el peso corporal de las madres y sus crías y la composición corporal de la rata madre durante el periodo de lactancia.

6.2 Objetivos específicos.

- 6.2.1** Medir el efecto de la restricción energético-proteínica del 50% sobre la tasa de fecundidad.
- 6.2.2** Determinar el efecto de la restricción energético-proteínica del 50% en el peso corporal de la rata madre desde el inicio de la adaptación hasta la conclusión de la lactancia.
- 6.2.3** Estudiar el efecto de la restricción energético-proteínica del 50% sobre el peso corporal de las crías desde el nacimiento hasta la tercera semana de lactancia.
- 6.2.4** Cuantificar el efecto de la restricción energético-proteínica del 50% sobre el contenido de proteína en la carcasa de las ratas al concluir la primera y segunda semanas de adaptación a la dieta y en los días 7, 14 y 21 de la lactancia.

6.2.5 Determinar el efecto de la restricción energético-proteínica del 50% sobre el contenido de lípidos en la carcasa de las ratas al término de la primera y segunda semanas de adaptación a la dieta y en los días 7, 14 y 21 de la lactancia.

7. HIPÓTESIS

7.1 Hipótesis general

La restricción energético-proteínica del 50% crónicamente ofrecida a la rata durante la lactancia afectará la tasa de fecundidad y el peso corporal de las madres y de las crías y acentuará la movilización de las reservas corporales de la madre cuando se compare con la movilización observada en una rata lactante no restringida.

7.2 Hipótesis específicas.

- 7.2.1** Las ratas madres alimentadas crónicamente con la restricción energético-proteínica del 50% disminuirán su tasa de fecundidad al compararse con las ratas alimentadas a libre demanda.
- 7.2.2** La restricción energético-proteínica del 50% afectará negativamente el peso corporal de las ratas madre.
- 7.2.3** Las crías de las ratas alimentadas crónicamente con la restricción energético-proteínica del 50% presentarán un menor peso corporal al nacimiento y una menor ganancia de peso durante el periodo de lactancia, que las crías de las ratas bien alimentadas.
- 7.2.4** Durante la lactancia, el organismo materno crónicamente alimentado con una restricción energético-proteínica del 50% movilizará una mayor cantidad de proteína corporal que una rata lactante no restringida.

7.2.5 La movilización de los lípidos corporales durante la lactancia de la rata alimentada con la restricción energético-proteínica del 50% será mayor que en los animales lactantes no restringidos.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 Organización y alimentación de los animales.

Se utilizaron ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley de 14 semanas de edad, con un peso de 240 ± 20 g, obtenidas del bioterio del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social. Los animales que cumplieron con el peso antes indicado fueron separados aleatoriamente en jaulas individuales para recibir uno de los dos tipos de alimentación (a libre demanda o restringida al 50%). Se utilizó Nutricubos de Purina como el alimento comercial, cuya composición, de acuerdo al productor, es la siguiente: 23% de proteína, 3% de lípidos, 47.4% de hidratos de carbono, 6% de fibra, 7% de ceniza, 1% de calcio, 0.6% de fósforo y 12% de humedad.

Durante todo el estudio el cuarto de los animales se mantuvo a una temperatura de 22 °C con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas iniciándose el periodo luminoso a las 7 :00 h.

8.1.1 Los animales fueron estudiados en los siguientes periodos:

8.1.1.1 Adaptación por dos semanas a la dieta correspondiente (semanas 14 y 15 de edad).

8.1.1.2 Cruza durante 6 días con machos de la misma cepa. (semana 16 de edad).

8.1.1.3 Periodo de gestación o embarazo (semanas 16, 17 y 18 de edad).

Los animales embarazados fueron identificados por el incremento en el peso corporal.

8.1.1.4 Período de lactancia (semanas 19, 20 y 21 de edad). Se consideró el día del parto como el primer día de lactancia. Este día se registró el peso y el número de crías de toda la camada e inmediatamente después se ajustó a 8 el número de crías que cada rata madre amamantó.

Los animales del estudio se organizaron de acuerdo a su alimentación en los siguientes grupos :

8.1.2 Animales control (no restringidos).

8.1.2.1 Ratas vírgenes : Animales no embarazados no lactantes alimentados a libre demanda con el alimento comercial desde la semana 14 de edad y hasta la semana 22.

8.1.2.2 Ratas lactantes : Las ratas de este grupo fueron alimentadas a libre demanda desde la primera semana de adaptación (semana 14), el período de cruce, la gestación (3 semanas) y la lactancia (3 semanas).

8.1.3 Animales restringidos.

8.1.3.1 Ratas vírgenes : Animales no embarazados no lactantes alimentados desde el período de adaptación y hasta el tiempo equivalente a la tercera semana de lactancia con el 50% del alimento consumido por las ratas vírgenes no restringidas pareadas en edad (grupo 8.1.2.1).

8.1.3.2 Ratas lactantes : Los animales de este grupo fueron alimentados diariamente, desde el periodo de adaptación hasta el término de la lactancia, con el 50% del alimento ingerido por los animales lactantes alimentados a libre demanda (grupo 8.1.2.2).

8.2 Registro del peso de los animales y consumo de alimento.

Durante todas las etapas del estudio, se registró diariamente, por medio de una balanza electrónica (Ohaus modelo Scout), el peso corporal de los animales y la cantidad de alimento consumido .

El peso de la camada y el número de crías por camada fueron registrados el primer día de la lactancia y después cada tercer día hasta el término de la lactancia. El día del parto, después de haberse registrado el peso y el número de crías de cada camada, todas las camadas (restringidas y no restringidas) fueron ajustadas para que cada madre amamante solo a 8 crías el resto del periodo de lactancia (3 semanas).

Los pesajes se obtuvieron siempre entre las 10 :00 y las 11:00 horas del día y fueron registrados en tarjetas individuales.

8.3 Sacrificio de los animales.

Los animales fueron sacrificados por dislocación cervical entre las 10 :00 y las 11 :00 horas.

Los sacrificios fueron realizados los siguientes días :

8.3.1 El último día de la **primera** semana de **adaptación**.

8.3.2 El último día de la **segunda** semana de **adaptación**.

8.3.3 Los días 7, 14 y 21 de la lactancia.

Las ratas lactantes fueron separadas de sus crías unos minutos antes de su sacrificio y las ratas vírgenes fueron sacrificadas en las fechas equivalentes a la edad de las ratas lactantes.

8.4 Preparación semipurificada de la proteasa miofibrilar:

La preparación del homogeneizado se realizó siguiendo el método descrito por Mayer y cols (30), con ligeras modificaciones sugeridas por Hall-Angeras y cols (31). Con ese propósito e inmediatamente después del sacrificio, se disecó la extremidad posterior derecha de la rata, se registró el peso del tejido y se eliminaron la grasa y el tejido conectivo del músculo.

Posteriormente el tejido se picó finamente con ayuda de unas tijeras, se pesó una muestra de 5 g del tejido picado y se homogeneizó en un homogeneizador tipo Polytron (Teckmar TR10), con 25 mL de una solución amortiguadora que contenía fosfato monobásico de potasio 0.01M y cloruro de potasio 0.05M a un pH de 7.7.

Para obtener la **fracción miofibrilar** el homogeneizado se centrifugó a 5.000 x g por 20 min (centrifuga Beckman J-B6). El sedimento obtenido se resuspendió en 10 mL de la solución amortiguadora centrifugando de nuevo a la misma velocidad por el mismo tiempo. Este proceso se repitió una vez más. El sobrenadante final fue eliminado y el sedimento pesado fue resuspendido en un volumen de amortiguador equivalente a cuatro veces el peso de la fracción miofibrilar. Esta última suspensión se mantuvo congelada a -20°C, en recipientes de plástico hasta la determinación de la actividad enzimática y de proteínas.

Todas las manipulaciones se realizaron manteniendo las muestras en hielo.

8.5 Determinación de la actividad de la proteasa miofibrilar:

En un volumen final de 1 mL se incubaron por 60 min en un baño de agua a 37°C, 0.5 mL de un amortiguador que contenía 0.1 M de glicina y 1.2 M de cloruro de potasio de pH 9.5, 0.2 mL de agua, 0.1 mL de azocaseína al 2% (como sustrato) y 0.2 mL de la fracción miofibrilar diluida 1:4 (como fuente de la enzima). La reacción fue detenida por la adición de 2 mL de ácido tricloroacético al 5% (27). Se prepararon tiempos cero en tubos conteniendo los mismos volúmenes mencionados en el párrafo anterior a los cuales se agregó el ácido tricloroacético antes de la fracción miofibrilar.

Una vez detenida la reacción, los tubos fueron centrifugados por 20 min a 3.300 g (centrífuga Beckman J-6B) y los productos liberados por la acción de la enzima fueron determinados en el sobrenadante por su absorbancia a 366 nm en un espectrofotómetro Philips PU 8700. Todas las incubaciones se realizaron por triplicado.

La actividad de la enzima se informa como las unidades de absorbancia a 366 nm (A_{366}) liberadas en 60 min de incubación por gramo de tejido húmedo.

8.6 Determinación de la concentración de proteínas en los homogeneizados.

La concentración de proteínas fue determinada siguiendo el método de Lowry, modificado por Hartree (47). Para eso los homogeneizados fueron previamente diluidos 1 :100 con agua (v/v).

Cuatrocientos microlitros del homogeneizado diluido fueron mezclados con 0.6 mL de agua y se les agregaron 0.9 mL de una solución que contenía 0.2% de tartrato de sodio y potasio y carbonato de sodio al 10% diluido en hidróxido de sodio 1N. La mezcla se

incubó a 50°C durante 10min e inmediatamente después se llevaron en un cuarto refrigerado a 4°C por 5 min. Posteriormente se les agregó 0.1mL de una solución que contenía tartrato de sodio y potasio al 0.2% y sulfato de cobre pentahidratado al 0.1%. Los tubos fueron agitados y se dejaron en reposo durante 10 min a temperatura ambiente. después de lo cual se les agregaron 3 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu (ácido tosfomolibdico fosfotúngstico, Sigma Chemical) diluido con agua 1:16 (v/v). Las mezclas fueron agitadas e incubadas por 10 min a 50°C e inmediatamente después enfriadas a 4°C por 10 min. Las absorbancias de los triplicados fueron leídas antes de 30 min a 740 nm e interpoladas en una curva estándar de albúmina de suero bovino la cual fue construida de 10 a 100 µg.

Todas las determinaciones y los puntos de la curva estándar fueron preparados por triplicado.

8.7 Obtención de la carcaza.

Una vez sacrificado el animal, se le despojó de la cabeza, las patas, la cola, la piel y las vísceras para obtener el conjunto de músculos y huesos, denominado carcaza. Este fue pesado inmediatamente después de obtenido, colocado en una bolsa de plástico y conservado en congelación (-20° C) para su posterior análisis de composición corporal.

8.8 Manejo de la carcaza y determinación de la humedad.

Las carcazas fueron descongeladas y cortadas en trozos con la ayuda de tijeras. Los fragmentos fueron molidos en una licuadora con un volumen indefinido de agua bidestilada por 2 min. Este procedimiento se repitió tres veces. El licuado resultante se colocó en una charola de papel aluminio, previamente forrada con plástico, puesta a peso

constante y se registró el peso del licuado, este se llevó a sequedad en un horno a 120°C hasta alcanzar el peso constante. Después de pesarse la charola con el residuo seco, éste se separó cuidadosamente del plástico, se fragmentó con un mazo y posteriormente se pulverizó en un Picatodo (Osterizer) por lapsos de 2 min. Este paso se repitió en 4 ocasiones. El polvo fino obtenido se colocó en frascos de plástico y se conservó en un refrigerador (4°C) hasta su uso.

8.9 Determinación del nitrógeno proteínico en la carcaza de la rata.

Para determinar el contenido de proteínas en la carcaza se empleó el método de Kjeldahl, en el cual se realiza una digestión ácida de las proteínas. Para lo cual, se pesaron muestras de entre 0.02 y 0.03g del polvo de la carcaza (obtenido en la sección 8.7) y fueron sometidas a digestión con 3 mL de ácido sulfúrico concentrado y 0.8 -1.0g de un catalizador de aluminio y selenio (Tekator). Después de calentar por 4 horas a 300°C, el sulfato de amonio formado se hizo reaccionar con hidróxido de sodio al 40% para formar amoniaco, cuya concentración fue determinada por titulación con HCl 0.03N en un digestor automático (Kjeltect auto sampler system 1035, Analyzer Tekator).

8.10 Determinación de lípidos en la carcaza de la rata.

Para esta determinación se pesó 1g de muestra del polvo de la carcaza en cartuchos de celulosa (Whatman), los cuales fueron colocados en un extractor de lípidos tipo Goldfish (LabConco). Los lípidos fueron extraídos por reflujo constante durante 4h con éter etílico y recibidos en recipientes de vidrio que fueron puestos previamente a peso constante. Transcurrido el tiempo de extracción el solvente se evaporó y los vasos con el residuo lipídico fueron llevados a peso constante. El peso del residuo lipídico se conoció por la diferencia en el peso entre los vasos vacíos y con los lípidos extraídos.

8.11 Análisis estadístico.

Los datos obtenidos de las ratas lactantes fueron contrastados con su grupo control virgen o bien se realizó la comparación de los resultados obtenidos entre los grupos alimentados a libre demanda y los animales que recibieron la restricción al 50%. Para eso se aplicó un análisis de varianza de dos vías y t de student y se eligió un valor mínimo de significancia de 0.05.

9. RESULTADOS.

9.1 Consumo de alimento:

En la **gráfica 1** se comparan las variaciones en el consumo de alimento de las ratas **vírgenes** y **lactantes** alimentadas a libre demanda. En los animales vírgenes se observó un consumo constante de alimento (en promedio 20 g/día), durante todo el tiempo de estudio. El consumo de alimento de las ratas embarazadas se incrementó típicamente durante el tiempo de la gestación alcanzando un máximo de 40% el día anterior a que concluyó el embarazo, después de lo cual los animales redujeron su ingesta o dejaron de comer como una clara indicación del día de parto. El día del parto se consideró el primer día de la lactancia. Durante este periodo, la demanda de alimento fue mayor incrementándose gradualmente hasta alcanzar, en la última semana de la lactancia, un 300% del consumo del animal virgen de la misma edad.

Como se indicó en la sección 8.1.3, las ratas **vírgenes** y **lactantes** restringidas, fueron alimentadas diariamente con el 50% de la cantidad de alimento consumido por los controles, pareados en edad, alimentados a libre demanda durante todo el tiempo de estudio.

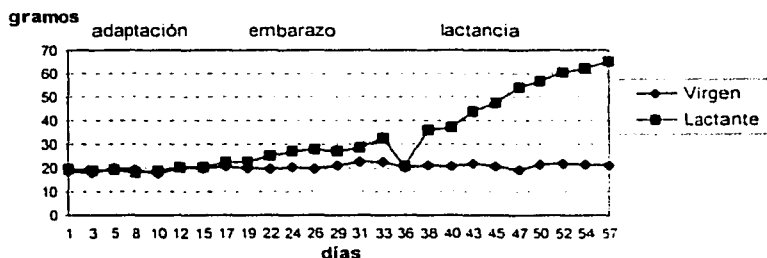
9.2 Peso corporal de las ratas.

El estudio inició con animales de 14 semanas de edad y un peso entre 220 y 260g.

En la **gráfica 2** se muestra la variación en el peso corporal de las ratas **vírgenes** no restringidas (control) y restringidas. Se observó que durante el tiempo de adaptación a la dieta las ratas alimentadas a libre demanda (control) incrementaron su peso progresi-

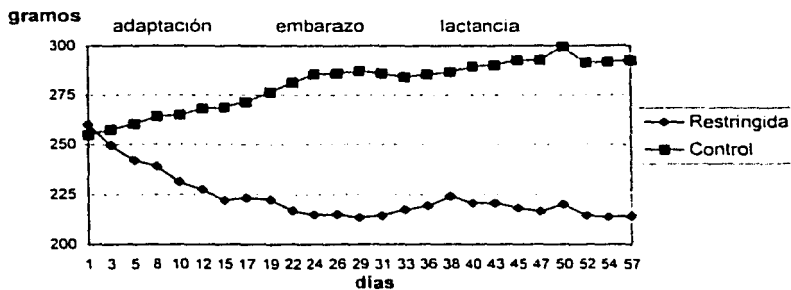
vamente durante el estudio, mientras que los animales que recibieron la restricción de alimento al 50% presentaron una marcada pérdida de peso durante las dos primeras semanas del estudio (-15%). La disminución posterior en el peso de estos animales fue menor, pero continua durante el resto del estudio.

Gráfica 1. Consumo de alimento de las ratas vírgenes y lactantes alimentadas a libre demanda

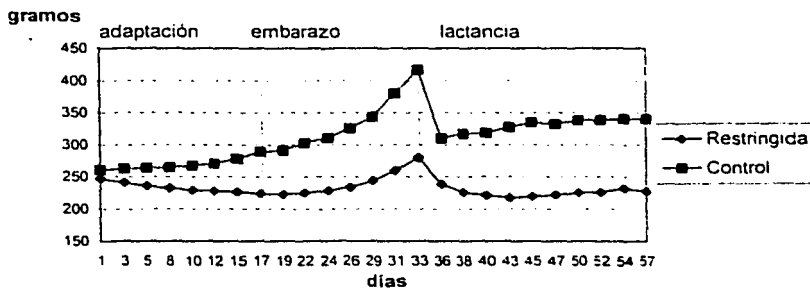


La **gráfica 3** muestra la variación en el peso corporal de las ratas **lactantes no restringidas** y **restringidas**. En el periodo de la **gestación** ambos grupos presentaron un comportamiento similar incrementando su peso conforme avanza la gestación, alcanzando su máximo el día del parto (cerca del día 33 del estudio), para observar posteriormente la caída en el peso de las ratas madre. Durante la **lactancia** las ratas **control** incrementaron su peso hasta que, al final de la lactancia, alcanzan un peso 35% mayor al peso de los animales al inicio del estudio. En este periodo las ratas **restringidas** perdieron peso gradualmente hasta que, al día 21 de la lactancia, el peso fue 15% menor al peso registrado para esos animales al inicio del estudio.

Gráfica 2. Peso de las ratas vírgenes control y restringidas



Gráfica 3. Peso de las ratas lactantes control y restringidas



9.3 Efecto de la restricción sobre la fertilidad de las ratas, número de crías y peso de la camada al nacimiento.

El efecto de proporcionar crónicamente a las ratas la restricción del 50% sobre la fertilidad, el número de crías al nacimiento y el peso de la camada, se muestra en el cuadro 2. Se observa que la restricción afecta negativamente la fertilidad de las ratas, presentándose apenas un 14.4% de embarazos exitosos contra un 69.2% que presentan los animales alimentados a libre demanda, este efecto dificultó la obtención de resultados en estos grupos de estudio. Aunque el número de crías al nacimiento no se vio afectado por la restricción, el peso de la camada al nacimiento sin ajustar, fue 20% menor en los animales restringidos si se compara con las crías de las ratas control ($p < 0.006$).

Cuadro 2. Efecto de la restricción en la fertilidad de la rata, el número de crías y peso de la camada sin ajustar al nacimiento.

Grupo	N	Tasa de Fecundidad ¹	Número de crías	Peso de la camada sin ajustar (g)
No restringido	52	69.2	11.2 ± 1.4	87.0 ± 14.3
Restringido	132	14.4	10.3 ± 1.2	66.6 ± 8.6
p			0.22	0.006

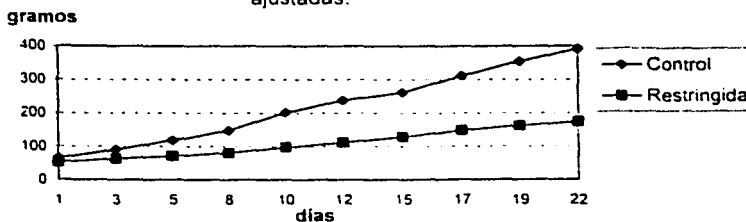
¹ Embarazos obtenidos / total de hembras expuestas al macho.

9.4 Peso corporal de las crías.

Ya que la producción de leche depende del peso y el tamaño de la camada, decidimos que el día del parto, después de pesar la camada completa y de contar el número de crías en cada una, se ajustaran todas las camadas a 8 crías por madre, lo que permite homogeneizar la comparación entre las diferentes ratas madre.

La **gráfica 4** presenta la variación en el peso corporal de las **camadas** ajustadas tanto de las ratas lactantes control (no restringidas) como de las restringidas: Aunque el patrón de crecimiento de las crías de ambos grupos fue similar, el peso de las crías de las ratas restringidas se encontró siempre por debajo del peso de las crías de los animales control. La diferencia se hizo evidente desde el nacimiento, donde las crías de las ratas restringidas mostraron un peso 19% menor al de las crías control hasta el final de la lactancia cuando el peso de las crías de los animales restringidos fue 55% menor al de las crías amamantadas por las ratas control.

Gráfica 4. Variación en el peso corporal de las camadas ajustadas.



9.5 Peso húmedo de la carcaza.

En el **cuadro 3** se presenta el peso húmedo de la carcaza de todos los grupos estudiados. Los animales **virgenes** y **lactantes** que recibieron la restricción energético-proteínica, mostraron siempre un peso húmedo mucho menor ($p < 0.001$), al compararse con sus controles alimentados a libre demanda.

Se observa que el peso húmedo de la carcaza de las ratas **virgenes restringidas** muestra un ligero incremento en la semana equivalente a la primera semana de lactancia (semana 19 de edad) y se mantiene sin variación en las dos siguientes semanas lo cual contrasta con el peso de la carcaza del grupo lactante restringido el cual muestra una pérdida constante haciéndose más significativa en la última semana de la lactancia ($p < 0.001$).

Las ratas **lactantes** alimentadas a libre demanda mostraron una ligera ganancia de peso en las dos primeras semanas de lactancia y una pequeña pérdida de peso en la última semana de lactancia, mientras que sus respectivos controles virgenes pareados en edad ganaron peso. La diferencia entre ambos grupos solo fue significativa el día 21 de la lactancia ($p < 0.02$).

9.6 Peso seco de la carcaza.

El **cuadro 3** presenta también, los pesos secos de las carcazas de las ratas **virgenes** y **lactantes restringidas** y **no restringidas**. Las ratas **virgenes** alimentadas a libre demanda mostraron una tendencia a incrementar el peso seco de su carcaza en el periodo equivalente a la primera semana de lactancia manteniéndose sin cambio en las dos siguientes semanas, en cambio, los animales **lactantes** alimentados a libre demanda no mostraron ningún incremento en el peso seco durante las dos primeras semanas de la lactancia y se nota una pequeña reducción no significativa en la última semana de la

lactancia. Si el peso seco de las carcazas de los animales **lactantes no restringidos** se compara con el de sus controles vírgenes se identifica una pérdida significativa del 23% ($p < 0.001$).

Las carcazas de los animales **vírgenes restringidos** mostraron poca variación en su peso seco desde la primera semana de adaptación hasta la semana 22 de restricción que equivale a la tercera semana de lactancia. El peso seco de la carcaza de los animales **lactantes restringidos** presenta desde la primera semana de lactancia una diferencia importante con el peso seco de la carcaza de los animales **vírgenes restringidos** ($p < 0.001$) y mas aún con referencia a las **lactantes no restringidas** ($p < 0.05$), sin embargo no se observó diferencia entre los valores del peso seco en las tres semanas de la lactancia.

9.7 Contenido de humedad en la carcaza.

En el **cuadro 4** se presenta el contenido de humedad cuantificado en las carcazas de todos los grupos estudiados. En los animales **vírgenes control** no se modifica el contenido de agua de las carcazas sin embargo, en los animales **lactantes** se observa un incremento paulatino conforme transcurre la lactancia observándose una diferencia significativa con respecto a los animales vírgenes ($p < 0.05$)

Resultados similares se presentaron cuando se comparó el contenido de humedad entre los animales **vírgenes y lactantes** alimentados con la **restricción**, sin embargo los valores encontrados en todos los animales restringidos fueron siempre mayores que los observados en los animales control con la mayor diferencia el día de la máxima producción de leche (día 14 de lactancia, $p < 0.02$).

Cuadro 3. Comparación de los pesos húmedos y secos de las carcazas de las ratas lactantes y vírgenes, restringidas y no restringidas¹

Estado fisiológico		Peso de la carcaza húmeda (gramos)		Peso de la carcaza seca (gramos)	
		Control	Restringida	Control	Restringida
Previa adaptación		111.95 ± 7.41	---	32.6 ± 1.3	---
<u>Adaptación</u>	Semana 1	113.2 ± 2.3	100.3 ± 8.2 ^a	33.1 ± 0.5	29.8 ± 4.6
	Semana 2	115.3 ± 6.0	98.7 ± 9.5 ^a	32.9 ± 2.0	28.2 ± 2.7 ^a
<u>Lactancia</u>	Virgen	123.3 ± 7.2	107.2 ± 9.3 ^a	41.2 ± 3.8	29.6 ± 4.5 ^a
	7 días Lactante	123.1 ± 7.6	92 ± 11.9 ^{a, c}	32.6 ± 3.0 ^b	21.9 ± 3.2 ^{a, c}
14 días	Virgen	124.7 ± 8.1	106.3 ± 6.7 ^a	37.2 ± 2.3	28.1 ± 3.6 ^a
	Lactante	121.7 ± 8.7	89.52 ± 6 ^{a, c}	32.5 ± 3.2 ^b	22.4 ± 1.3 ^{a, c}
21 días	Virgen	131.7 ± 6.3	105.9 ± 9 ^a	38.8 ± 4.0	26.4 ± 2.5 ^a
	Lactante	114.7 ± 9.4 ^b	81.1 ± 5.7 ^{a, c}	29.5 ± 4.3 ^b	22.2 ± 2.3 ^{a, c}

¹ Los valores se presentan como el promedio ± la desviación estándar para 6 animales por cada grupo. El valor de mínima significancia estadística es $p < 0.05$. Las comparaciones que se presentan tienen el siguiente significado: a= Restringida vs Control, b= Control Lactante vs Control Virgen, c = Restringida Lactante vs Restringida Virgen.

Cuadro 4. Efecto de la restricción energético-proteínica sobre el contenido de humedad de las ratas vírgenes y lactantes restringidas y no restringidas¹.

Estado fisiológico		% de humedad en la carcaza		Significación (p)		
		Control	Restringida	C / R ²	LC / VC ³	LR / VR ³
Previo a la adaptación		70.84 ± 1.57	—	—	—	—
Adaptación	Primera semana	71.22 ± 0.51	70.86 ± 0.59	0.25	—	—
	Segunda semana	71.43 ± 0.62	72.94 ± 0.64	0.0009	—	—
Lactancia 7 días	Virgen	69.76 ± 1.74	71.23 ± 3.25	0.36	—	—
	Lactante	71.45 ± 4.31	74.48 ± 1.05	0.15	0.039	0.066
14 días	Virgen	69.17 ± 3.21	72.83 ± 0.90	0.027	—	—
	Lactante	72.70 ± 2.12	75.44 ± 1.53	0.028	0.039	0.016
21 días	Virgen	69.88 ± 1.74	72.84 ± 1.13	0.028	—	—
	Lactante	73.64 ± 1.15	74.25 ± 1.71	0.43	0.0003	0.082

¹ Los valores se presentan como el promedio ± la desviación estándar para 6 animales por cada grupo. Las comparaciones que se presentan en la tabla son: C/R = Control vs Restringida; LC/VC = Lactante Control vs Virgen Control y LR/VR = Lactante Restringida vs Virgen Restringida.

9.8 Contenido de grasa corporal en la carcaza seca total.

El cuadro 5 muestra los resultados del contenido de grasa corporal en las ratas **virgenes** y **lactantes**, controles y restringidas. Los cambios significativos en el estudio fueron mejor identificados cuando los resultados se expresan como los gramos de lípidos contenidos en la carcaza seca total.

Se puede observar que las carcazas de los animales **virgenes no restringidos** incrementan su contenido de lípidos con la edad, hasta alcanzar un incremento de 40% en las semanas 20 a 22 que equivalen a las tres semanas de lactancia. En contraste las ratas **virgenes restringidas** pierden 40% de los lípidos en las dos semanas de adaptación ($p < 0.001$) y al transcurrir el tiempo continúa la pérdida de grasa corporal observándose pérdidas cercanas al 60, 70 y 80% al final de las semanas 20, 21 y 22, respectivamente.

Estos resultados se ilustran en la **gráfica 5**.

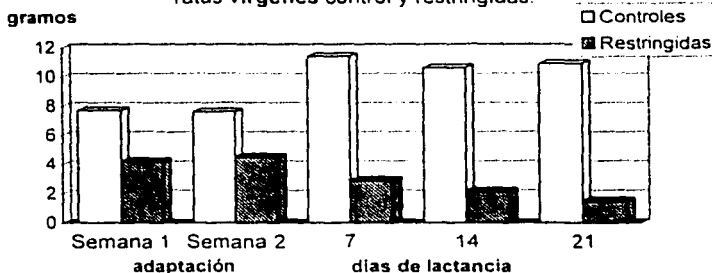
Cuando se comparan los datos de las ratas **lactantes no restringidas** con sus respectivos controles **virgenes** pareados en edad se observa que, durante la lactancia los animales control movilizaron cerca de 20% de los lípidos de su reserva corporal en la primera semana de lactancia, dicha movilización se incrementó al 58% en la segunda semana de lactancia (periodo que incluye la máxima producción de leche, $p < 0.001$), mientras que en la tercera semana de lactancia (semana 22 de vida) no se observó un incremento adicional en la movilización.

Las ratas **lactantes restringidas**, que iniciaron la lactancia con un menor contenido corporal de grasa mostraron una movilización del 50% de su grasa corporal en la primera semana de lactancia y un 30% adicional en la segunda semana ($p < 0.05$) con respecto a sus controles **virgenes**. De manera semejante a lo ocurrido en las ratas **lactantes no**

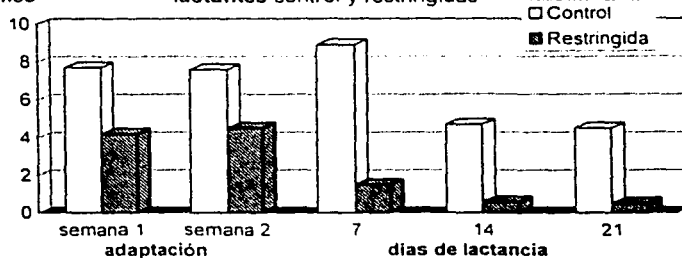
restringidas, no se observó ningún cambio en el contenido de grasa al finalizar la tercera y última semana de la lactancia.

Si consideramos el contenido de lípidos de las carcazas al inicio del estudio (7.1 ± 0.8 g) la restricción movilizó aproximadamente el 60% de los lípidos hasta el final de la semana 20 mientras que durante la lactancia se movilizó el 30%. Los resultados anteriores se ilustran en la **gráfica 6**.

Gráfica 5. Contenido de grasa en las carcazas secas de las ratas vírgenes control y restringidas.



Gráfica 6. Contenido de grasa en las carcazas secas de las ratas lactantes control y restringidas



Cuadro 5. Efecto de la restricción energético-proteínica sobre el contenido de grasa corporal en las ratas vírgenes y lactantes restringidas y no restringidas¹.

Estado fisiológico		Grasa en la carcaza seca total (g)		Significación (p)		
		Control	Restringida	C/R ¹	LC/VC ¹	LR/R ¹
Previo a la adaptación		7.1 ± 0.8	-----	-----	-----	-----
Adaptación	Primera semana	7.7 ±	4.2 ± 1.5	0.000	-----	-----
	Segunda semana	7.6 ± 1.55	4.5 ± 1.4	0.007	-----	-----
Lactancia	Virgen	11.4 ± 2.5	2.9 ± 0.7	0.000	-----	-----
	Lactante	8.9 ± 2.8	1.5 ± 0.7	0.000	0.156	0.028
14 días	Virgen	10.6 ± 1.6	2.16 ± 0.7	0.000	-----	-----
	Lactante	4.7 ± 1.1	0.6 ± 0.08	0.000	0.000	0.000
21 días	Virgen	10.9 ± 1.7	1.5 ± 0.5	0.0000	-----	-----
	Lactante	4.5 ± 1.06	0.5 ± 0.04	0.001	0.000	0.014

¹ Los valores se presentan como el promedio ± la desviación estándar para 6 animales por cada grupo. Las comparaciones que se presentan en la tabla son: C/R = Control vs Restringida; LC/VC = Lactante Control vs Virgen Control y LR/VR = Lactante Restringida vs Virgen Restringida.

9.9 Contenido de proteína corporal en la carcaza seca total.

En el cuadro 6 se comparan las variaciones en el contenido de proteína corporal de las ratas vírgenes control y restringidas. Los resultados se expresan como los gramos de proteína contenidos en la carcaza seca total, para apreciar con mayor claridad los cambios.

Aunque las ratas vírgenes no restringidas mostraron una ligera tendencia a incrementar el contenido de proteína en su carcaza al avanzar el estudio, los cambios no fueron estadísticamente significativos. Los animales vírgenes restringidos por el contrario, mostraron la tendencia a reducir el contenido de proteínas corporal con la edad, pero los cambios son pequeños y no identificamos diferencias significativas, sin embargo, si los valores de proteína corporal de los animales vírgenes restringidos se comparan con los de las ratas vírgenes no restringidas se puede observar que en la primera semana de adaptación no hay una diferencia significativa entre los valores pero, conforme avanza el estudio la diferencia se hace más importante. Estos resultados se ilustran en la **gráfica 7**.

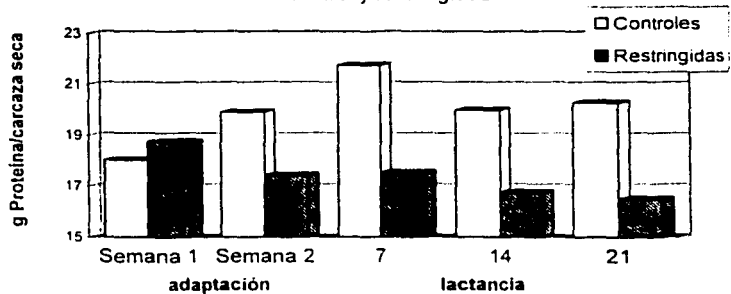
Los valores del contenido de proteínas en las carcazas de los animales **lactantes no restringidos** no mostraron diferencias significativa con respecto a su grupo **virgen** al terminar la primera y la segunda semana de lactancia, sin embargo en la última semana de la lactancia identificamos una pérdida de 20% ($p < 0.005$), mientras que en las ratas **lactantes restringidas** la reducción en el contenido de proteína corporal con referencia a su grupo **virgen restringido** pareado en edad, son significativas en las tres semanas estudiadas (aproximadamente 30%) siendo la mayor movilización debida a la lactancia. Los datos antes mencionados se ilustran en la **gráfica 8**.

Cuadro 6. Efecto de la restricción energético-proteínica sobre el contenido de proteína corporal en las ratas vírgenes y lactantes restringidas y no restringidas¹.

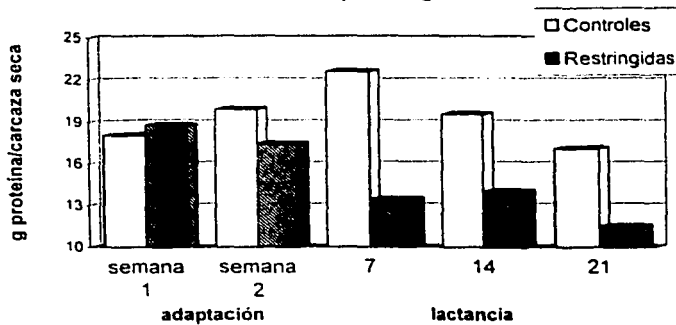
Estado fisiológico		g de proteína en la carcaza seca total		Significación (p)		
		Control	Restringida	C / R ²	LC / VC ³	LR / VR ⁴
Previo a la adaptación		18.76 ± 1.56	-----	-----	-----	-----
Adaptación	Primera semana	18.04 ± 2.37	18.76 ± 1.18	0.53	-----	-----
	Segunda semana	19.91 ± 1.9	17.43 ± 1.59	0.033	-----	-----
7 días	Virgen	21.75 ± 1.54	17.53 ± 1.48	0.0018	-----	-----
	Lactante	22.62 ± 3.15	13.44 ± 1.32	0.0006	0.57	0.0014
14 días	Virgen	19.99 ± 1.27	16.76 ± 2.74	0.035	-----	-----
	Lactante	19.58 ± 0.91	14.00 ± 1.28	0.000	0.56	0.061
21 días	Virgen	20.28 ± 1.61	16.5 ± 0.99	0.0001	-----	-----
	Lactante	17.10 ± 1.94	11.48 ± 2.76	0.0031	0.0057	0.0080

¹ Los valores se presentan como el promedio ± la desviación estandar para 6 animales por cada grupo. Las comparaciones estadísticas que se presentan en la tabla son C/R = Control vs Restringida; LC/VC = Lactante Control vs Virgen Control y LR/VR = Lactante Restringida vs Virgen Restringida.

Gráfica 7. Contenido de proteína corporal en las ratas vírgenes control y restringidas



Gráfica 8. Contenido de proteína corporal de las ratas lactantes control y restringidas



En resumen, cuando se comparan los valores obtenidos en los animales **lactantes** con sus respectivos controles **virgenes**, de ambos grupos, restringidos y control, es posible observar que si bien los animales **lactantes** tienen un mayor contenido de humedad, también presentan una menor proporción de grasa y proteína corporal. Lo anterior indica que en estos animales se incrementa la hidratación del tejido, pero pierden proteína y grasa de sus reservas para satisfacer las demandas de la lactancia, aún cuando las madres han incrementado su ingesta de alimento.

9.10 Actividad de la proteasa miofibrilar en el músculo esquelético.

En los resultados anteriores se observó que aún en animales alimentados a libre demanda y a pesar de incrementar su consumo de alimento hay una movilización de proteína de la carcasa durante el periodo de **lactancia**, lo cual solo puede explicarse por la hidrólisis de proteínas del tejido muscular y su movilización como aminoácidos, por lo cual se hizo necesario la identificación en el tejido de algunas de las enzimas que son responsables de realizar la hidrólisis de las proteínas del músculo durante este periodo entre las que se encuentra la **proteasa miofibrilar**. Esta enzima no lisosomal ha sido involucrada en procesos donde hay una pérdida importante de masa muscular como en la distrofia muscular, sepsis, el ayuno, la diabetes (31, 32) y ha sido demostrada, en nuestro laboratorio, su participación en la hidrólisis de proteínas en la lactancia de ratas alimentadas a libre demanda (27), por lo que decidimos evaluar los cambios en la actividad de esta enzima en el músculo de la rata lactante sujeta a la restricción energético-proteínica al término de la primera y de la segunda semanas de adaptación a la dieta.

El cuadro 7 muestra los cambios en la actividad enzimática que presentaron los animales vírgenes control y restringidos al finalizar la primera y segunda semana de restricción. Los resultados se presentan como Unidades/g de tejido.

Los resultados indican que las ratas alimentadas a libre demanda incrementaron con la edad la actividad enzimática ($p < 0.03$). Los animales que fueron alimentados con la restricción presentaron actividades mayores ($p < 0.04$) al compararse con sus controles alimentados a libre demanda.

Cuadro 7. Efecto de la restricción energético-proteínica sobre la actividad de la proteasa miofibrilar en el músculo de la rata durante su adaptación a la dieta*

Estado fisiológico		Actividad Enzimática (U / g de tejido)		Significación (p)		
		Control	Restringida	C / R *	R1 / R2 *	C1 / C2 *
Adaptación	Primera semana	3.07 ± 0.73	4.78 ± 0.54	0.011		
	Segunda semana	4.54 ± 0.35	6.615 ± 0.87	0.021	0.021	0.021

* Los valores se presentan como el promedio ± la desviación estándar para 5 animales por cada grupo. Los símbolos que se presentan en la tabla tienen el siguiente significado C/R = Control vs Restringida; LC/VC= Lactante Control vs Virgen Control; LR/VR = Lactante Restringida vs Virgen Restringida

10. DISCUSIÓN.

10.1 Importancia del empleo de los animales de laboratorio para el estudio.

Las implicaciones éticas de la experimentación durante los periodos de crecimiento han restringido el estudio en humanos, de las etapas comprendidas entre la concepción y la maduración.

En el tema que nos ocupa, el peligro de crear un daño permanente al someter a mujeres y a niños a dietas deficientes ha originado que se excluyan los estudios de dicha naturaleza por lo que los estudios en animales de experimentación han contribuido de forma importante a la comprensión de las funciones fisiológicas y bioquímicas de los nutrientes y han aportado mucho del conocimiento actual de los nutrimentos sobre la reproducción, la lactancia y el crecimiento. Esto subraya la importancia de los estudios en animales dadas las restricciones para realizar la experimentación en humanos.

Se pueden señalar muchas ventajas en el uso de animales de laboratorio para los estudios de la nutrición entre ellas podemos mencionar :

- 1.1 Control cuali y cuantitativo de la dieta pudiendo crearse deliberadamente deficiencias específicas y observar sus resultados en tiempos relativamente cortos.
- 1.2 Los animales pueden sacrificarse para realizar diferentes tipos de análisis en sus tejidos y poder identificar cambios químicos y funcionales (enzimáticos).
- 1.3 La metodología utilizada en los estudios con animales es mucho más flexible que la que puede utilizarse con los humanos.
- 1.4 En ocasiones pueden controlarse factores genéticos y ambientales que permiten la evaluación de variables específicas y que muchas ocasiones es imposible controlar en los estudios en seres humanos (2).

En nuestros estudios del efecto de la restricción energético-proteínica sobre el organismo materno de la rata lactante hicimos uso de ciertas ventajas del trabajo con esa especie como son el ciclo de vida corto y el alto porcentaje de fertilidad. Además, la rata presenta camadas con un elevado número de crías (11.2 ± 1.4) lo que genera una mayor demanda al organismo materno y por lo tanto una mayor producción de leche por día que en el humano, lo cual permite amplificar los efectos de una dieta deficiente sobre el organismo (2, 23).

Aunque todas estas ventajas dan mucha mayor libertad de experimentación, las respuestas psicológicas del humano a la alimentación son más complejas que las de los animales inferiores, por lo tanto, aunque los estudios en animales son indispensables para la mejor comprensión de las funciones y de las interrelaciones metabólicas a nivel tisular, celular y molecular, los hallazgos en animales de experimentación no pueden ser aplicados directamente a los humanos, sin embargo, los resultados obtenidos, permiten comprender mejor los mecanismos involucrados en las adaptaciones metabólicas del organismo materno (2).

10.2 Variación del consumo de alimento de los animales vírgenes y lactantes.

Los animales vírgenes alimentados a libre demanda, mantuvieron su consumo de alimento prácticamente sin variaciones durante todo el estudio (22 ± 3 g). Dado que los animales vírgenes restringidos fueron alimentados con el 50% de la cantidad consumida diariamente por sus controles alimentados a libre demanda, su consumo de alimento tampoco presentó cambios importantes.

El ligero incremento observado en el consumo de alimento durante el embarazo en los animales alimentados a libre demanda, en comparación con su respectivo control

virgen no parece ser tan grande (24), como el incremento que se presentó durante el periodo de la **lactancia**, en el cual las ratas madres bien alimentadas, llegaron a incrementar su ingesta de alimento hasta en un 300% (65.3 ± 3.2 g/ día) hacia el final de la lactancia. este dato coincide con los reportes de otros investigadores (3, 4, 7, 28, 29, 46) y estudios previos realizados en este mismo laboratorio (9, 33).

Se ha propuesto que ese incremento en la ingesta de alimento puede atribuirse a la necesidad de mantener el funcionamiento óptimo de los órganos maternos que experimentan hipertrofia, como el hígado, el riñón, la glándula mamaria, etc., los cuales incrementan su actividad metabólica durante la lactancia (7).

Durante este periodo los animales restringidos fueron alimentados con una cantidad de alimento que fue incrementándose en la misma proporción que sus controles no restringidos. Sin embargo, en esos animales el incremento en la ingesta de alimento parece no haber cubierto las necesidades del periodo de la lactancia, lo cual se refleja en la disminución del peso corporal de estos animales como se describirá mas adelante.

10.3 Variaciones en el peso corporal de los animales vírgenes.

Los animales vírgenes alimentados a libre demanda presentaron una tígera ganancia de peso corporal en las últimas semanas del estudio (+30g). El efecto contrario se observó en los animales que recibieron la restricción energético-proteínica, los cuales presentaron, durante el periodo de adaptación a la dieta, una caída rápida en su peso corporal, pérdida que continuó lentamente durante la etapa equivalente al embarazo y alcanzó un valor prácticamente constante durante el periodo equivalente a la lactancia. Lo anterior parece indicar que los animales sometidos a una restricción de alimento desarrollan mecanismos de adaptación y que desde el inicio, el organismo utilizó sus reservas de

grasa y proteínas para amortiguar la deficiencia de nutrimentos, lo cual provocó la caída inicial en el peso corporal de los animales. La movilización de las reservas corporales disminuyó conforme se prolongó el periodo de restricción hasta que el organismo se adaptó al uso de una menor cantidad de nutrimentos con la cual siguió realizando sus actividades y el peso corporal permaneció prácticamente constante.

10.4 Variaciones en el peso corporal de las ratas lactantes.

10.4.1 Durante el embarazo el organismo materno experimenta una serie de cambios fisiológicos que ocasionaron un aumento en el peso corporal materno gracias a las modificaciones en un gran número de órganos.

Las ratas preñadas de ambos grupos, control y restringidas, presentaron un aumento progresivo de peso hasta el día anterior al parto. Los animales restringidos mostraron siempre pesos menores a los de los controles no restringidos.

El aumento en el peso corporal en este periodo, se debe al desarrollo de la unidad feto-placentaria y de las glándulas mamarias, al incremento del volumen sanguíneo materno, a la presencia del líquido amniótico y al incremento de las reservas de grasa y proteína (4, 15, 16, 18, 29). La ganancia de peso corporal fue más rápida en la última semana de gestación en la cual el feto alcanza su máximo desarrollo (46).

La pobre ganancia de peso de los animales restringidos durante el embarazo se puede explicar porque la restricción disminuye la expansión del volumen de plasma sanguíneo y limita tanto la acumulación de los depósitos de grasa como el crecimiento y desarrollo de la unidad feto-placenta (34, 35, 40, 41, 46). Nuestros resultados coinciden con las observaciones de otros grupos de investigación (42, 46).

10.4.2 La variación en el peso corporal durante la lactancia, fue diferente entre los grupos estudiados, mientras que los animales alimentados a libre demanda ganaron peso (+90g) las hembras lactantes restringidas lo perdieron (-20g).

La ganancia de peso de los animales **lactantes** alimentados a libre demanda reflejó cambios en el organismo materno que le permiten asegurar una lactancia adecuada, esos cambios incluyen : el incremento en el volumen sanguíneo y el aumento en el peso de órganos que directa o indirectamente pueden relacionarse con la síntesis de la leche como son las glándulas mamarias, el hígado, el intestino delgado, el estómago, el corazón y los riñones (3-6, 8, 37, 38).

Se ha observado también que durante **lactancia** ocurre un incremento significativo en el contenido de humedad de la carcaza que también contribuye al incremento del peso corporal de los animales lactantes (15).

La pérdida de peso de las madres **lactantes** restringidas puede explicarse en función de que la hipertrofia de algunos de los órganos mencionados en el párrafo anterior, como el estómago, el intestino y el hígado, se presenta como resultado del incremento en el consumo de alimento por lo que el efecto no se observa en los animales restringidos (4, 5, 18, 24, 41). Además, la pérdida de peso puede asociarse con la movilización de reservas corporales que se hace necesaria para mantener la síntesis de leche (15).

El mayor peso mostrado por los animales **lactantes** de ambos grupos al compararlos con sus respectivos controles **virgenes**, puede también explicarse por el incremento en el contenido de humedad de la carcaza que ha sido observado en los animales durante este periodo y a la existencia de las reservas corporales maternas (15).

10.4.3 Efecto de la restricción sobre la tasa de fecundidad de las ratas.

Una de las principales dificultades que se presentaron en la realización de este proyecto fue el efecto negativo de la restricción energético-proteínica sobre el número de ratas que pudo concluir exitosamente el embarazo (14.4% en el grupo restringido vs. 69.2% en el grupo control, respectivamente).

Se ha reportado que la restricción de alimento en diferentes grados (40%, 50 y 75%) afecta la reproducción en la rata (34, 35) y que la disminución en el porcentaje de fertilidad de las hembras puede deberse a la reabsorción fetal (34). Esto parecería funcionar como un mecanismo que impide al organismo materno desnutrido, alcanzar situaciones de demanda excesiva como lo es el embarazo y posteriormente la lactancia..

10.4.4 Variaciones en el número de crías al nacimiento y la ganancia de peso corporal.

Ya que durante la lactancia, la demanda que experimenta el organismo materno depende en gran medida del estímulo de succión que realizan las crías en las tetas, en este estudio controlamos el número de crías de la camada (ocho por rata lactante) para homogeneizar la demanda en todos los animales **lactantes**.

Aunque el número de crías parido por cada rata no se vio afectado por la restricción (10.3 ± 1.2 para los restringidos vs 11.2 ± 1.4 para los no restringidos), el peso de la camada al nacimiento, se vio afectado negativamente. Este efecto podría ser el resultado de ajustes realizados por el organismo materno durante la gestación para asegurar su propia estabilidad a expensas de un desarrollo deficiente de los fetos. Algunos autores han propuesto que en las ratas **lactantes restringidas** en proteína o en energía y proteína, la expansión del volumen plasmático es inadecuada lo que resulta en un suministro

deficiente de nutrimentos al feto, lo que ocasiona el menor crecimiento fetal (40, 46). Otros grupos de investigación han obtenido resultados similares (24, 26, 34, 35, 40, 42).

El estudio mostró que la restricción afectó la producción de la leche ya que las crías de las ratas restringidas presentaron desde el nacimiento un peso menor al de sus controles ($p < 0.05$) y concluyendo la lactancia con un peso 50% menor. Este resultado refleja las dificultades de la madres para poder sintetizar el volumen de leche necesario que le permita cubrir las demandas de sus crías conforme estas adquieren mayor peso y tamaño. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios (16, 29, 35).

10.5 El peso y contenido de humedad de la carcaza.

La alimentación con la dieta restringida produjo una disminución tanto del peso húmedo como del peso seco de las carcazas de los animales vírgenes y lactantes, si se compara con sus controles alimentados a libre demanda.

El peso húmedo de la carcaza de las ratas lactantes alimentadas a libre demanda fue significativamente menor al de sus controles vírgenes el día 21 de la lactancia. Ya que el contenido de humedad de esas carcazas (hidratación del tejido) fue mayor, la reducción en el peso de la carcaza puede deberse a la pérdida de grasa y proteína corporales.

En contraste, las carcazas de los controles vírgenes mostraron un peso húmedo mayor pero con un menor porcentaje de humedad lo cual indica que la ganancia de peso húmedo de la carcaza con la edad de los animales, representa un aumento en el contenido de grasa ó de proteínas o de ambas. El incremento en el contenido de humedad de la carcaza de los animales lactantes confirma las observaciones de otros investigadores (15, 35).

La restricción afectó el peso seco de la carcaza de los animales **virgenes** pero de mayor importancia fue la pérdida en los animales **lactantes** quienes perdieron hasta un 33% de su peso ($p < 0.05$), en la primera semana de lactancia. Ya que posteriormente no se observaron pérdidas importantes, se puede pensar que las madres restringidas **lactantes** no consumen mas sus propios componentes corporales para mantener la producción de leche.

10.6 Efecto de la restricción sobre el contenido de lípidos.

Aunque varios grupos de investigación han descrito algunos efectos en el organismo materno por la administración de dietas deficientes en energía y proteína, la mayoría de esos estudios aplican la deficiencia o la restricción de forma aguda en la gestación o en la lactancia por lo que nuestro interés se enfocó en estudiar el efecto de la **administración crónica** de la restricción sobre los almacenes lipídicos y relacionar sus posibles cambios con el contenido de humedad y proteína de la carcaza para intentar explicar la secuencia en que ocurren los cambios metabólicos de los principales componentes de la carcaza, de las ratas lactantes.

Para diferenciar los cambios que ocurren en el contenido de **lípidos** de la carcaza ocasionados por la adaptación del organismo materno a la restricción de aquellos que son respuesta al estrés provocado por la **lactancia**, se determinó la composición corporal desde la primera y segunda semana de adaptación, previas a la gestación, observando que en la primera semana, los animales restringidos mostraron pérdidas muy importantes de lípidos (41%, $p < 0.05$) sin cambios en la segunda semana lo que sugiere que durante la primera semana de la restricción el organismo de la rata realizó los ajustes necesarios para adaptarse a la ingesta limitada de energía.

Los resultados mostraron que, mientras los animales virgenes restringidos perdieron el 79% de la grasa corporal en todo el periodo de estudio desde la adaptación, los animales virgenes no restringidos incrementaron el contenido de lípidos con la edad (53%), entonces, ya que la restricción afecta de forma tan importante la cantidad de lípidos corporales, la cantidad de estos que el organismo materno pueda almacenar durante la gestación y que moviliza en la lactancia se ve muy reducida en los animales restringidos (1.5 ± 0.7 g lactante restringida vs 8.9 ± 2.8 g de la lactante no restringida al séptimo día de lactancia).

Por efecto de la lactancia las ratas lactantes control movilizaron cantidades importantes de lípidos de su carcasa (4.4 g, 50%) a pesar del incremento en el consumo de alimento observado en este periodo; sin embargo, en las madres restringidas la movilización observada fue mayor en proporción (1 g, 66%).

Los animales virgenes no restringidos incrementaron su contenido de lípidos hasta un máximo que no se modifica en las tres semanas equivalentes a la lactancia (semanas 19-21), si este valor (~ 11 g) se considerará como la capacidad máxima de almacenaje, las ratas lactantes consumen el 20% en la primera semana, un 37% adicional en la segunda semana y un 2% en la tercera mientras que las ratas lactantes restringidas iniciaron la lactancia con solo el 25% (2.9 g) de los lípidos acumulados por los animales no restringidos y cada semana disminuyeron su contenido por la restricción hasta un 50% y de esa cantidad se moviliza el 48% en la primera semana y un 31% en la segunda semana sin observarse modificaciones en la tercera semana.

Nuestros resultados confirman las observaciones de otros investigadores respecto a la formación, durante el embarazo, de una importante reserva corporal de grasa utilizable durante la lactancia, periodo en el que las demandas energéticas son muy altas

y no pueden ser cubiertas totalmente por el incremento en el consumo de alimento y que la movilización de esos depósitos de grasa ocurre a pesar del tipo de dieta que consumen los animales (17, 26, 22, 16, 49). Sin embargo los datos difieren de otros reportes en los que la cantidad de grasa movilizada es similar, sin importar si los animales fueron o no alimentados con una restricción (4, 18). El hecho de haber aplicado en este estudio la administración crónica de la dieta restringida puede explicar las diferencias en la cantidad de grasa movilizada por estos animales, ya que esto significó una mayor pérdida de las reservas corporales (35).

10.7 Efecto de la restricción sobre el contenido de proteínas.

Para este estudio consideramos como reserva de proteínas la porción de nitrógeno corporal que puede ser movilizada de los tejidos del cuerpo sano de la rata en condiciones en las cuales la dieta no proporciona la cantidad suficiente de aminoácidos para realizar las actividades normales del organismo.

Los animales **virgenes** no restringidos mostraron una tendencia a incrementar su contenido corporal de proteínas (8%) aunque el incremento no mostró ser estadísticamente significativo. Los animales **virgenes** que recibieron la restricción mostraron una disminución constante en el contenido de proteínas de la carcaza durante todo el estudio sin mostrar una adaptación a esas pérdidas como ocurrió en el caso de los lípidos. La movilización total de proteínas representó el 12% del contenido proteínico al inicio del estudio ($p < 0.04$).

La movilización de proteínas de la carcaza de los animales **lactantes** no restringidos no fue de la misma magnitud que la movilización de los lípidos ; durante las dos primeras semanas de la lactancia no se identificó diferencia ni con respecto a las semanas iniciales del estudio ni con sus controles virgenes pareados en edad, sin embargo en la

tercera semana de lactancia se observó una reducción en el contenido de proteínas corporales de aproximadamente 3.7 g que representa el 17% del contenido mostrado por los animales **lactantes** en los días 7 y 14 de lactancia o sus controles no embarazados no lactantes pareados en edad ($p < 0.006$). Esos resultados sugieren que el organismo materno conserva al máximo sus proteínas musculares sin embargo, la demanda energética y de nutrimentos en la tercera semana de la lactancia es tal que le es imposible cubrirla con el aumento en la ingesta de alimento (300%) y moviliza parte de su reserva corporal.

En los animales **lactantes restringidos** la movilización de proteínas fue más acentuada, identificamos una reducción del 36% ($p < 0.05$) de la proteína corporal, del cual solo el 8% se puede atribuir a la restricción y el resto (28%) a la lactancia. Es importante hacer notar que en estos animales la movilización de lípidos mostró tener un límite a diferencia de la movilización de lípidos y que el catabolismo de proteínas parece estar bajo controles muy estrictos (26).

Aunque la existencia de una reserva de proteínas es actualmente un tema de controversia, nuestros resultados apoyan la idea de la movilización de proteínas corporales del organismo materno durante la lactancia para satisfacer las demandas que se le presentan en ese periodo ante la imposibilidad de cubrirlas con las proteínas aportadas por la dieta (4,7, 8,15, 16, 20,35).

10.8 Efecto de la restricción sobre la actividad de la proteasa miofibrilar.

Los resultados muestran que la restricción energético-proteínica incrementó 56% la actividad enzimática en el músculo de las ratas en la primera semana de restricción con respecto a su control ($p < 0.02$) y que el incremento se mantuvo en la segunda semana ($p < 0.03$).

Estos resultados coinciden con nuestra observación de que durante la lactancia hay movilización de proteínas corporales de la madre y que esa movilización fue mayor en las ratas restringidas. Nuestros datos mostraron una mayor movilización de proteínas en la última semana de la lactancia tanto en las ratas lactantes restringidas como no restringidas. esas observaciones coinciden con los resultados obtenidos en esta Unidad por Prado Uribe quien observó un incremento de la actividad enzimática en la última semana de la lactancia. en la rata (33). Otros autores han observado incrementos en la actividad de esta enzima en procesos donde hay una pérdida importante de masa muscular (31, 43).

10.9 General.

Aunque es muy difícil poder extrapolar los resultados obtenidos en animales de experimentación a las dimensiones y condiciones en que ocurren en los seres humanos; estudios como el realizado en esta tesis nos ayudan a comprender los complejos mecanismos que emplea el organismo materno para cubrir la gran demanda que representa la lactancia y favorecer através de la leche el correcto crecimiento y desarrollo de sus crias.

Estudios realizados en mujeres sanas han confirmado la formación de depósitos de grasa durante el embarazo y su movilización durante la lactancia (36, 37), así como una disminución significativa de la masa seca libre de grasa (39). Sin embargo es difícil interpretar adecuadamente esos resultados ya que el número de individuos involucrados en esos estudios no es suficiente para representar datos estadísticamente significativos y además, el periodo en el cual se realizan los estudios debe ser muy corto con el fin de no arriesgar el estado de salud de las madres y sus hijos. Por esto es necesario proponer estudios que eviten, del mejor modo posible, las dificultades que presenta la experimentación en humanos.

Los resultados que presentamos confirman que el periodo de la lactancia implica una situación de gran demanda para el organismo materno, la cual no pueden ser cubierta completamente por la dieta aún cuando esta sea de buena calidad y se incremente su consumo, lo que hace necesaria la movilización de reservas corporales (grasa y proteínas) acumuladas en los tejidos maternos. En el caso de madres bien nutridas, ese reto no debería representar ningún problema para ser cubierto y pueden realizar una lactancia exitosa ya que esos organismos deberían contar con buenas reservas de grasa y proteínas, sin embargo en el caso de mujeres con alimentación marginal o deficiente enfrentarán la lactancia con reservas inadecuadas y alimentación deficiente lo cual redundará, como lo mostraron nuestros resultados, en un crecimiento y desarrollo deficiente de sus crías. En el caso del organismo materno Moore y Brasel (4) han propuesto que la proporción de tejido movilizado durante la lactancia se recupera en el tiempo posterior a ella, por lo que es importante conocer mas detalles de las movilizaciones de las reservas porque se pueden identificar alguna o algunas opciones de riesgo para el organismo materno en situaciones críticas como son:

- a) madres desnutridas;
- b) madres adolescentes cuyos requerimientos se incrementan por su estado de desarrollo o
- c) madres con partos consecutivos, cuyos periodos interparto son insuficientes para "repletar" las reservas corporales, agotadas en cada parto y periodo de lactancia.

El problema se agrava si consideramos que las mujeres que se encuentran en alguno de estos casos forman parte en su mayoría de la población de menores recursos y que tiene poco acceso tanto a alimentos de buena calidad como a la información necesaria para corregir su estado de nutrición y, aún contando con esa información, su condición

económica difícilmente les permite incrementar el consumo de alimentos ó disminuir sus actividades cotidianas para ahorrar energía, con lo cual disminuyen sus posibilidades de formar almacenes adecuados de grasa y proteína para poder desarrollar con éxito sus procesos de reproducción y la alimentación del lactante (45).

También es importante señalar que nuestros resultados nos permiten visualizar que si los almacenes lipídicos formados durante el embarazo tienen la finalidad de ser movilizados durante la lactancia, la ignorancia de este hecho por parte de la madre y sus familiares, puede provocar una ingesta excesiva y por lo tanto la acumulación excesiva de tejido adiposo que puede también, afectar la salud de la mujer.

11. CONCLUSIONES.

- 11.1 La restricción energético-proteinica del 50% produjo una importante disminución del peso de los animales virgenes en un tiempo corto, luego del cual lograron adaptarse a la ingesta limitada de nutrimentos.
- 11.2 La restricción afectó la fertilidad de las ratas y la ganancia de peso durante el periodo del embarazo.
- 11.3 La restricción del 50% del alimento no alteró el número de crías por camada pero provocó un crecimiento deficiente de los fetos in utero, afectando su peso al nacimiento.
- 11.4 La restricción durante la lactancia provocó una pobre ganancia de peso por las crías, lo cual refleja probablemente una deficiente producción de leche de la madre.
- 11.5 Durante la lactancia las madres no restringidas movilizaron cantidades importantes de grasa (50%) y proteína (24%) para satisfacer las demandas de la lactancia, a pesar del importante incremento en la ingesta de alimento (300%).
- 11.6 La restricción acentuó la movilización de grasa y proteína en la rata madre y afectó por lo tanto, la formación de las reservas corporales (grasa y proteína) y su movilización durante la lactancia.
- 11.7 La reserva de grasa fue movilizado principalmente durante las dos primeras semanas de la lactancia.
- 11.8 La reserva proteinica se movilizó en la tercera semana de la lactancia cuando la reserva de grasa prácticamente se ve agotada, esto es, cuando el tiempo de la demanda es muy prolongado.

12. BIBLIOGRAFÍA.

1. Arrieta R, Cravioto J (1985) Lactancia Materna : Análisis crítico. Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia (DIF). México, D.F. pp 9-25.
2. Beal VA (1983) Nutrición en el ciclo de la vida. Editorial Limusa. México pp 200-203.
3. Williamson DH (1980) Integration of metabolism in tissues of the lactating rat. FEBS Letts 117 Suppl : K93-K105.
4. Moore BJ, Brassel A (1984) One cycle of reproduction consisting of pregnancy, lactation or no lactation, and recovery : effects on carcass composition in ad libitum-fed and food restricted rats. J Nutr 114 :1548-1559.
5. Sampson DA, Jansen GR (1984) Protein synthesis during lactation : No circadian variation in mammary gland and liver fed diets varying in protein quality and level of intake. J Nutr 114 :1470-1478.
6. Remesar X, Arola LI, Palou A, Alemany M (1981) Body and organ size and composition during the breeding cycle of rats. Lab Anim Sci 13 : 67-70.
7. Siebrits F, Martínez JA, Buttery PJ (1985) The effect of lactation on the fractional synthetic rate of protein in the liver and muscle of rats. J Biochem 17 :731-732.
8. Millican EP, Vernon RG, Pain VM (1987) Protein metabolism in the mouse during pregnancy and lactation. Biochem J 248 :251-257.
9. De Santiago S, Hernández- Montes, Flores-Huerta S, Villalpando S (1991) Changes in the composition of mammary tissue, liver and muscle of rat dams during lactation and weaning. J Nutr 121 :37-43.
10. Stanbenfeldt CH (1992) Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México pp 517-535.
11. Villalpando S, De Santiago S (1993) Bases biológicas de la lactancia materna. Bol Med Hosp Infant Mex 50 :889-897.
12. Schmidt GH (1974) Anatomía de la glándula mamaria y La glándula mamaria y su secreción. En Biología de la lactancia. Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp 11-42
13. Del Prado M, Villalpando S, Hernández-Montes H, Gordillo J (1999) A high dietary lipid intake during pregnancy and lactation enhances mammary gland lipid uptake and lipoprotein lipase activity in rats. J Nutr 129 : 1574-1578.
14. Naismith DJ, Robinson SM (1987) Adaptations in protein metabolism during lactation in the rat. J Nutr 58 :533-538.

15. Kanto U, Clawson AJ (1980) Effect of energy intake during pregnancy and lactation on body composition in rats. *J Nutr* 110 :1829-1839.
16. Spray CM (1950) A study of some aspects of reproduction by means of chemical analysis. *Br J Nutr* 54 :291-304.
17. Beaton GH, Beare J, Ryu MH, McHenry W (1954) Protein metabolism in the pregnant rat. *J Nutr* 54 :291-304.
18. Naismith DJ, Richardson DP, Pritchard AE (1982) The utilization of protein and energy during lactation in the rat, with particular regard to the use of fat accumulated in pregnancy. *J Nutr* 48 :433-441.
19. Naismith DJ, Morgan BLG (1976) The biphasic nature of protein metabolism during pregnancy in the rat. *Br J Nutr* 36 :536-566.
20. Pine AP, Jessop NS, Oldham JD (1994) Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. *Br J Nutr* 71 :13-27.
21. Young VR (1970) The role of skeletal and cardiac muscle in the regulation of protein metabolism. En Munro HN, Allison JB (eds) *Mammalian protein metabolism*. Vol.4, Academic Press, London pp 586-674.
22. Kettelhut IC, Wing SS, Goldberg AL (1988) Endocrine regulation of mice during successive pregnancies and lactations. *J Endocr* 56 :37-46.
23. Williamson DH, Munday MR, Jones RG (1984) Biochemical basis of dietary influences on the synthesis of the macronutrients of rat milk. *Fed Proc* 43 :2443-2447
24. Glone SR, Layman DK (1985) Loss of tissues in female rats subjected to food restriction during lactation or during both gestation and lactation. *J Nutr* 115 :233-242.
25. Sainz Rd., Calvert CC, Baldwin RL (1984). 3-methylhistidina excretion by lactating and non lactating rats. *J Anim Sci* 59 : suppl1. 505A.
26. Pine A, Jessop NS, Allan GF (1994) Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats 4. Tissue protein synthesis and turnover associated with mobilization of maternal protein. *J Nutr* 72 :831-844.
27. Nájera Martínez MM (1995) La actividad de la proteasa miofibrilar en el músculo de la rata lactante. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México pp 17-49.
28. Villalpando S, De Santiago S (1990) La lactancia y el metabolismo de proteínas. *Boi Med Hosp Infant Mex* 47 : 181-185.
29. Grigor MR, Allan JE, Carrington JM, Carne A, Geursen A, Young D, Thompson MP, Haynes EB, Coleman RA (1987) Effect of dietary protein and food restriction on milk production and composition, maternal tissues and enzymes in lactating rats. *J Nutr* 117 :1247-1258.

30. Mayer RJ, Doherty F (1986) Intracellular protein catabolism: state of the art. *FEBS Letters* 198:181-193.
31. Hall-Angeras M, Hasselgren PO, Dimlich RVW, Fischer JE (1991) Myofibrillar proteinase, cathepsin B, and protein breakdown rates in skeletal muscle from septic rats. *Metabolism* 40 :302-306.
32. Mayer M, Amin R, Milholland RJ, Rosen F (1976) Possible significance of myofibrillar protease in muscle catabolism. Enzyme activity in dystrophic, tumor-bearing, and glucocorticoid-treated animals. *Exp Mol Pathol* 25 : 9-19.
33. Prado Uribe C (1997) Efecto de la restricción energético-proteínica sobre el catabolismo de las proteínas en la rata lactante. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. México pp 18-42.
34. Berg BN (1965) Dietary restriction and reproduction in the rat. *J Nutr* 87 :344-348.
35. Young CM, Rasmussen KM (1985) Effects of varying degrees of chronic dietary restriction in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups. *Am J Clin Nutr* 41 :979-987.
36. Butte NF, Garza C, Stuff JE, Smith E, Nichols BL (1984) Effect of maternal diet and body composition on lactational performance. *Am J Clin Nutr* 39 :296-306.
37. Souders HJ, Morgan AF (1957) Weight and composition of organs during the reproductive cycle in the rat. *Am J Physiol* 191 :1-7.
38. Campbell RM, Fell BF (1964) Gastro-intestinal hypertrophy in the lactating rat and its relation to food intake. *J Physiol* 171:90-97.
39. Forsum E, Kabir N, Sadurskis A, Westerterp K (1992) Total energy expenditure of healthy Swedish women during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 56 :334-342.
40. Rosso P, Streeter MR (1979) Effects of food or protein restriction on plasma volume expansion in pregnant rats. *J Nutr* 109 :1887-1892.
41. Robinson JJ (1986) Changes in body composition during pregnancy and lactation. *Proc Nutr Soc* 45 :71-80.
42. Anderson GD, Ahokas AA, Lipshitz J, Dilts PV Jr (1980) Effect of maternal dietary restriction during pregnancy on maternal weight gain and fetal birth weight in the rat. *J Nutr* 110 :883-890.
43. Amin R, Shafir E (1983) Effect of pregnancy and diabetes on myofibrillar protease activity in maternal and fetal muscles. *Biol Neonate* 44 :102-107.
44. Cravioto J, Ortega R, Arrieta R (1990) Desnutrición en la infancia. En Subirán S, Arroyo P, Avila H (Eds) *La nutrición y la salud de las madres y niños mexicanos*. Secretaría de Salud - Fondo de Cultura Económica. México, pp 251-273.

45. Lederman SA, Rosso P (1980) Effects of food restriction on fetal and placental growth and maternal body composition. *Growth* 44 :77-88.
46. Hartree EF (1972) Determination of protein : a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal Biochem* 48 :422-427.
47. Gould SF (1983) Anatomy of the breast. En Neville MC, Neifert MR (Eds) *Lactation. Physiology, nutrition and breast-feeding*. Plenum Press, New York. pp 23-47.
48. Neville MC (1997) *Mammary gland Biology and Lactation : a short course*. International Society for Research in Human Milk and Lactation. Plymouth, Hampshire. pp 2

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA