



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**“RESPUESTAS METABÓLICAS Y DE ALGUNOS ÓRGANOS  
EN RATAS REHABILITADAS DE UNA DESNUTRICIÓN  
TEMPRANA”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIOLOGA**

**P R E S E N T A:**

**MARÍA DEL CARMEN MIÑANA SOLIS**

**DIRECTOR DE TESIS: M en C. LETICIA PARRA GAMEZ.**



**FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM**

**MEXICO, D. F.**



**FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR**

---

**2004**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis 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.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

A la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: María del Carmen Miñana Solís

FECHA: Enejo 31 2005

FIRMA: [Firma manuscrita]

**DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA**  
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

**“RESPUESTAS METABÓLICAS Y DE ALGUNOS ÓRGANOS EN RATAS REHABILITADAS DE UNA DESNUTRICIÓN TEMPRANA”.**

realizado por **MARÍA DEL CARMEN MIÑANA SOLÍS** con número de cuenta **9560364-7** quien cubrió los créditos de la carrera de **BIOLOGÍA**.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

M en C. LETICIA PARRA GÁMEZ

[Firma manuscrita]

Propietario

DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES

[Firma manuscrita]

Propietario

M en C. MIGUEL ANGEL PALOMINO GARIBAY

[Firma manuscrita]

Suplente

DR. MAURICIO DÍAZ MUÑOZ

[Firma manuscrita]

Suplente

DR. RADÚ-GHEORGHE RACOTTA POULIEFF

[Firma manuscrita]

**Consejo Departamental de Biología**

[Firma manuscrita]  
M en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA  
DE BIOLOGÍA

ESTA TESIS FUE REALIZADA EN EL LABORATORIO DE **RITMOS BIOLÓGICOS Y METABOLISMO** EN LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO Y FINANCIADA POR CONACYT CON EL PROYECTO 33033-N, BAJO LA DIRECCIÓN DE LA DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES

Caminando voy sin saber muy bien  
qué sendero andar, hacia dónde ir.  
Hoy me pregunté si sé dónde estoy,  
dónde comencé, cuál será mi fin, para qué vivir.  
Como el río soy que hacia el mar se va  
donde va a morir y resucitar.  
Quiero hacer el bien en mi caminar,  
que a mi paso dé flores el jardín, panes el trigal.  
En mi corazón lucha sin cesar  
lo que quiero ser y la realidad.  
En mi corazón quiso Dios sembrar  
Ansias de vivir, sed de plenitud y felicidad.

A mi PADRE

## RESUMEN

La desnutrición principalmente en los niños es un problema que afecta a muchas comunidades a nivel mundial y provoca alteraciones en el crecimiento y maduración de órganos y sistemas, debido a que el individuo queda “programado” metabólicamente para funcionar bajo ciertos límites que le impone la desnutrición. Así mismo, se plantea que la desnutrición temprana sumada a un cambio en la dieta ya sea hiperlipídica o hipercalórica en la edad adulta tiene repercusiones tales como la diabetes tipo 2 o el síndrome metabólico que se caracteriza por hiperlipidemia, hiperglicemia, cetonemia y alteraciones cardiovasculares entre otras. De ahí la importancia de explorar estrategias de rehabilitación nutricional que permitan al individuo desnutrido en edades tempranas y rehabilitado posteriormente, tener un manejo metabólico y hormonal semejante a un individuo alimentado de manera balanceada.

El objetivo de este trabajo fue evaluar en ratas adultas jóvenes, desnutridas durante la gestación y la lactancia con una dieta hipoproteínica del 6% de caseína, los efectos de una rehabilitación nutricional al destete (al alimentar a los animales con una dieta chow 23% de caseína) sobre el peso corporal, el peso de órganos como el hígado, el estómago, la grasa gonádica y retroperitoneal, las concentraciones en plasma de glucosa, glucógeno, ácidos grasos, triacilglicéridos y hormonas como la insulina y el glucagón, en tres condiciones metabólicas *ad libitum*, ayuno y realimentación (saciedad). Así como también evaluar si existen diferencias entre hembras y machos en las mismas variables. Para lo anterior se utilizaron ratas hembras y machos de la cepa Wistar que fueron divididas en dos grupos: control y rehabilitado con  $n=6$  para cada grupo y condición metabólica.

Los resultados indicaron que los animales logran rehabilitarse en cuanto al peso corporal y de los órganos evaluados, los metabolitos y la insulina, debido a que mostraron una dinámica similar al grupo control en dichas variables en las tres condiciones metabólicas. Esto se observó tanto en machos como en hembras. Sin embargo, en cuanto al glucagón, aparentemente existe una variación en la secreción que se ve reflejado en la concentración de la hormona. También se observó una diferencia entre sexos en cuanto al peso corporal y en las concentraciones de ácidos grasos, glucógeno e insulina.

Este estudio muestra que los animales desnutridos en edad temprana y rehabilitados bajo este protocolo pueden llegar a responder fisiológicamente de manera similar a individuos alimentados de manera balanceada. Es importante seguir en esta línea de investigación evaluando los efectos de la desnutrición seguida de una rehabilitación balanceada para observar si el individuo, una vez “programado” durante el periodo de desnutrición, tiene o no la capacidad de modular sus puntos de regulación o si los eventos que suceden en la vida temprana sólo son una huella metabólica capaz de modificarse a largo plazo permitiendo al individuo adecuarse a una nueva alimentación. Además la importancia de realizar estudios comparativos entre hembras y machos se ve reflejada en este trabajo al existir una respuesta diferencial en algunos parámetros que explicaría la susceptibilidad de uno u otro sexo que se tiene para sufrir algunas patologías en la edad adulta.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1. Definición de Nutrición y Desnutrición	1
1.2. Grados y Tipos de Desnutrición	2
1.2.1. -Importancia de las proteínas en la dieta	3
1.3. Etapas Vulnerables a la Desnutrición	4
1.3.1. - Teoría del “Genotipo Frugal”	5
1.3.2. - Teoría del “Fenotipo Frugal”	6
1.3.3. - Teoría de la “Programación”	6
1.3.4. - Teoría del “Salvamento Fetal”	8
1.4. Metabolismo	8
1.4.1. - Metabolismo Intermedio	9
1.4.1.1. -- Estado Postprandial	10
1.4.1.2. -- Ayuno Temprano	14
1.4.1.3. -- Ayuno Prolongado	16
1.4.1.4. -- Ayuno – Realimentación (Saciedad)	19
1.4.2. - Regulación Hormonal del Metabolismo Intermedio	21
1.4.2.1. -- Insulina	21
1.4.2.2. -- Glucagón	22
1.4.2.2.1. --- Relación Insulina – Glucagón	22
1.4.3. - Adaptaciones Metabólicas a la Desnutrición	23
1.5. Antecedentes de Rehabilitación Nutricional	24
1.5.1. - Peso corporal y de algunos órganos	25

1.5.2. - Metabolismo	25
1.5.3. - Condiciones Metabólicas de Ayuno – Realimentación (Saciedad)	26
1.5.4. - Diferencias Genéricas	27
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>28</b>
2.1. Hipótesis General	29
2.1.1. - Hipótesis Específicas	29
2.2. Objetivo General	30
2.2.1. - Objetivos Específicos	30
<b>3. MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>31</b>
3.1. Sujetos	31
3.2. Tratamiento Nutricional	31
3.3. Diseño Experimental	34
3.3.1. - Condiciones Metabólicas	34
3.4. Cuantificación de Metabolitos y Hormonas	36
3.4.1. - Métodos colorimétricos	36
3.4.1.1. --Determinación de Glucosa	36
3.4.1.2. --Determinación de Glucógeno Hepático	36
3.4.1.3. --Determinación de Ácidos Grasos	37
3.4.1.4. --Determinación de Triacilglicéridos	37
3.4.2. - Métodos de radioinmunoanálisis (RIA)	37
3.4.2.1. --Determinación de Insulina	37
3.4.2.2. --Determinación de Glucagón	38

3.5. Análisis Estadístico	38
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>39</b>
4.1. Respuesta del peso corporal a la desnutrición	39
4.2. Peso de algunos órganos frente a las tres condiciones metabólicas	42
4.3. Respuesta Metabólica	45
4.3.1. - Triacilglicéridos	45
4.3.2. - Ácidos Grasos	46
4.3.3. - Glucógeno	49
4.3.4. - Glucosa	49
4.4. Respuesta Hormonal	53
4.4.1. - Insulina	53
4.4.2. - Glucagón	53
4.4.2.1.-- Índice Insulina-Glucagón	54
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>59</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>70</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>71</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

La desnutrición es un problema que afecta actualmente a muchas comunidades del mundo, principalmente a niños en sus primeros años de vida siendo un periodo crítico de crecimiento y maduración de órganos y sistemas (Onis *et al.* 2000).

Muchos trabajos de investigación se han dado a la tarea de demostrar la manera en que la desnutrición afecta el desarrollo y más aún cuales son las secuelas en la vida adulta. Estudios epidemiológicos muestran que los efectos a largo plazo de la desnutrición son principalmente el riesgo a padecer enfermedades tales como la intolerancia a la glucosa, la diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDDI) o el síndrome metabólico que se caracteriza básicamente por hipertensión, hiperlipidemia y enfermedades vasculares (Phillips, 1998). Sin embargo, la etiología de estas enfermedades es complicada, debido a que una amplia variedad de factores ambientales pueden influenciar su desarrollo y confundir su aparición con una historia genética.

En investigaciones recientes con modelos experimentales en animales de laboratorio se ha encontrado, que la desnutrición modifica el crecimiento y el metabolismo de los individuos permanentemente, llevándolos a manifestar alteraciones en el desarrollo y en el funcionamiento de órganos en la edad adulta, principalmente del hígado y del páncreas (Hales *et al.* 1996).

Debido a lo anterior se han venido desarrollando modelos experimentales para valorar cuales son los efectos a largo plazo de una desnutrición temprana. En ellos se aplican diversos tipos de desnutrición que al variar la cantidad y la calidad de la dieta en diferentes etapas del desarrollo se observan los efectos en el animal adulto valorándose a nivel orgánico, funcional y metabólico (Resnick *et al.* 1982 y Hales *et al.* 1996).

### **1.1. Definición de Nutrición y Desnutrición**

La nutrición incluye aspectos económicos, políticos, sociales, culturales y religiosos; que influyen de manera directa en la alimentación de las comunidades a nivel mundial,

afectando o favoreciendo la disponibilidad, utilización y el consumo de los alimentos el cual a su vez, está determinado por los hábitos alimenticios. Podemos definir así a la nutrición como “el conjunto de procesos que incluye la ingestión, digestión, absorción, transporte y utilización de sustancias alimenticias”, que tiene por objeto el asegurar al organismo un desarrollo óptimo así como la integridad de todos sus mecanismos fisiológicos (Icaza & Béhar, 1981). En contraparte, la desnutrición es un estado patológico que surge de una ingesta de alimento inadecuada en cantidad o proporción por un periodo considerable de tiempo y cuya principal manifestación es una reducción en el peso corporal. Diversos tipos y grados de desnutrición se han identificado, dependiendo del o los elementos faltantes en la dieta siendo una de las más severas la carencia de proteínas (Srinivasan, 1983).

## **1.2. Grados y Tipos de Desnutrición**

Una de las clasificaciones usadas para catalogar los grados de desnutrición en niños es por el nivel de déficit del peso corporal con respecto a su edad y se dividen en tres grados según la Secretaría de Salud y Asistencia (NOM-031-SSA2-1999):

Grado leve: son los que tienen un déficit entre el 10 y 25% por debajo de su peso.

Grado agudo: tienen un déficit entre 26 y 40% de su peso.

Grado grave: con un 40 o más porcentaje por debajo de su peso.

La desnutrición grave puede presentar una amplia variedad de modalidades siendo los extremos el Marasmo y el Kwashiorkor que se caracterizan por los signos de la siguiente manera:

- MARASMO.** Generalmente se presenta cuando la dieta es insuficiente en cantidad, pero sin alteraciones en las proporciones de los distintos nutrimentos. Se presenta en lactantes que no reciben la cantidad suficiente de leche materna o bien reciben leche de vaca muy diluida, así como suplementos alimenticios en mínima cantidad o ninguno. Los niños que presentan marasmo, muestran: severa detención en el crecimiento, disminución de la masa muscular, ausencia de grasa subcutánea, decoloraciones del pelo, frecuentes diarreas, baja

actividad física y estado mental irritable, dermatosis y, ocasionalmente crecimiento del hígado.

•KWASHIORKOR. Se presenta principalmente cuando la dieta es deficiente en proteínas pero alta en energía o cuando la dieta consiste básicamente en harinas, cereales, raíces y frutas. Se observa primordialmente en preescolares. A diferencia del marasmo, estos niños presentan: menor detención del crecimiento, presencia de grasa subcutánea, generalmente presentan edema, dermatosis, hígado graso, baja actividad física y estado mental apático (Icaza & Béhar, 1981).

Dentro de los diferentes tipos de desnutrición, la naturaleza, severidad y reversibilidad de los efectos dependen sobre todo de la edad y del periodo durante el cual ocurre, así como de la duración de la misma y del tipo de carencia que origina la desnutrición (Read, 1982).

Los grados así como los tipos de desnutrición que se dan principalmente en los países en desarrollo son debidos a dietas insuficientes en minerales o vitaminas, o por deficiencia calórico-proteínica. Las carencias de estos elementos dan como resultado diversos efectos en el individuo que van desde anemias por la carencia de hierro o vitamina B<sub>12</sub>, hasta el síndrome de deficiencia calórico-proteínica, dónde existe por lo regular una asociación directa entre la carencia de proteínas en la dieta y un déficit calórico (Icaza & Béhar, 1981). Así mismo, uno de los elementos esenciales en el crecimiento y desarrollo de un individuo son las proteínas, ya que casi todo lo que sucede en la célula requiere la intervención de ellas. Las proteínas proporcionan estructura y forman parte de membranas celulares, catalizan reacciones, son transportadoras de moléculas, etc. y su papel central en la célula queda reflejado en el hecho que la información genética se expresa en último término en forma de proteínas

(Lehninger *et al.* 1995).

### **1.2.1. Importancia de las proteínas en la dieta**

Debido a que las proteínas son esenciales para el crecimiento y desarrollo de un individuo, la cantidad necesaria para vivir en una condición saludable varía de acuerdo con la edad, el peso y el estado fisiológico del individuo. Un adulto necesita recibir aproximadamente 1

gramo de proteína por cada kg de peso al día. Un niño tiene un requerimiento aproximado del doble del adulto. El adolescente, la madre embarazada y la madre que amamanta, tienen requerimientos menores que el niño, pero más altos que el adulto. Estas diferencias son debidas a que existen periodos esenciales en la formación de nuevos tejidos (Icaza & Béhar, 1981).

Por lo anterior, se han realizado diversos estudios en animales de laboratorio para observar los efectos de la carencia de las proteínas en la dieta, en los cuales el protocolo de desnutrición varía en la cantidad de proteína, en el periodo y en la duración de la aplicación de la desnutrición. Se ha encontrado que los efectos son significativos en el crecimiento, peso corporal así como en el peso de órganos como el cerebro si el aporte de proteína es del 6% (cantidad mínima de proteína) pero si es del 8% los efectos son moderados (Resnick *et al.* 1982), lo que demuestra que la cantidad de estos elementos en la dieta es esencial para el correcto crecimiento y desarrollo. Además, la etapa en la cual se aplica la desnutrición es de suma importancia debido a que existen periodos de rápido crecimiento y maduración de órganos en los cuales el aporte energético y de nutrimentos debe de ser mayor que en otros, siendo algunos de estos periodos críticos, la gestación, la lactancia y la infancia. Y la desnutrición en estas etapas puede tener graves consecuencias en la edad adulta (Grantham-Mc Gregor *et al.* 2000).

### **1.3. Etapas Vulnerables a la Desnutrición**

Se ha encontrado una posible relación de la desnutrición pre y postnatal con alteraciones permanentes en la vida adulta en el metabolismo del hígado y el deterioro de la tolerancia a la glucosa (Desai & Hales, 1997).

Mediante modelos experimentales se han estudiado los efectos de la exposición a una desnutrición hipoproteínica durante la gestación y/o lactancia para observar las consecuencias del retraso en el crecimiento así como los efectos en los órganos y en el metabolismo a largo plazo (Godfrey & Barker, 2000). Sin embargo, se ha demostrado que aun bajo los efectos de una desnutrición en estos periodos, existen órganos que están

relativamente protegidos como son el cerebro y los pulmones mientras que otros como el hígado, páncreas, músculo, etc. se ven afectados en relación a su metabolismo, peso y tamaño (Desai & Hales, 1997).

Con base en estudios epidemiológicos y trabajos realizados en laboratorios se ha encontrado que existe la posibilidad de una relación entre algunas enfermedades en la edad adulta como la intolerancia a la glucosa, la hiperlipidemia, la hiperinsulinemia, etc. con el historial del individuo con bajo peso al nacer o lo que se conoce como retraso en el crecimiento intrauterino (RCIU) (Cianfarani *et al.* 1999). Así se ha explorado la posibilidad de la existencia de periodos o “ventanas” críticas en el desarrollo y el de una “programación”, la cual determina el funcionamiento de los sistemas y los órganos de un individuo (Petry *et al.* 1997). Así mismo, se ha llegado a postular una serie de teorías que tratan de explicar el funcionamiento orgánico y metabólico del individuo adulto basándose en la historia de vida pre y post natal.

### **1.3.1. Teoría del “Genotipo Frugal”**

La teoría del “genotipo frugal” fue postulada por Neel en 1962. Primero se le denominó teoría del genotipo diabético. Se basó en estudios epidemiológicos en el Oeste de Norteamérica, en los cuales se observó un incremento en la frecuencia y en la predisposición genética de ciertos grupos de individuos a desarrollar diabetes mellitus no dependiente de insulina o DMNDDI y la posible relación con los cambios en la alimentación.

El genotipo “frugal” (llamado así coloquialmente más adelante), planteó la posibilidad de una eficiencia en la toma y/o la utilización del alimento (glucosa) en cierta etapa de la vida (temprana), que conlleva en la vida adulta a un agotamiento orgánico (páncreas), por el cual se dejan de satisfacer las necesidades metabólicas (producción de insulina) esto sumado, a un cambio constante en la calidad y en la cantidad de alimento ingerido (Neel, 1962).

Más recientemente se manejó al genotipo “frugal” como un genotipo “adaptativo”, dónde su funcionamiento está comprometido por los estilos de vida, los cambios drásticos en la alimentación, las costumbres, etc. (Neel, 1999).

### **1.3.2. Teoría del “Fenotipo Frugal”**

Basados en estudios epidemiológicos de los indios Pima, y en experimentos con modelos animales, Hales y Barker propusieron en 1992, la hipótesis del fenotipo “frugal”. En ella se analiza la relación entre la restricción en el crecimiento fetal, debido a condiciones de desnutrición materna y la susceptibilidad en la vida adulta de desarrollar una intolerancia a la glucosa, una resistencia a la insulina, así como la manifestación de DMNDDI entre otras alteraciones.

Este fenotipo se plantea como una adaptación que lleva acabo el feto en las condiciones adversas en las que se desarrolla. Esta incluye la posibilidad de una redistribución del flujo sanguíneo hacia el cerebro a costa de otros órganos como hígado, músculo y páncreas. Estas “adaptaciones” permiten la supervivencia a corto plazo con un crecimiento visceral lento y una reducción en el requerimiento de nutrientes para el crecimiento y desarrollo.

En los experimentos con animales, se observó que la vida postnatal es metabólicamente “frugal” para almacenar nutrientes cuando la alimentación es balanceada, y una preferencia de los tejidos no neurales a utilizar otros sustratos en vez de la glucosa cuando la nutrición es pobre, para que esta sea utilizada por el cerebro (Hales & Barker, 1992).

Con las teorías anteriores se llega a plantear la existencia de una “programación” en el individuo que se lleva acabo durante la vida temprana y que marca los parámetros bajo los cuales va a funcionar el resto de su vida.

### **1.3.3. Teoría de la “Programación”**

En 1991 se utilizó por primera vez el término de “programación” por Lucas, para designar el proceso por el cuál un estímulo o una agresión en una etapa crítica del desarrollo puede influir en el desarrollo hasta la vida adulta.

Se plantea la existencia de ajustes, principalmente metabólicos, en los mamíferos que les ayudan a sobrevivir cuando son escasos los nutrientes. Pero de esta manera los cambios

afectan el tamaño y funcionamiento de varios órganos quedando así permanentemente alterados (“programados”) (Lucas, 1991).

La teoría de la “programación”, se ha probado en modelos experimentales con ratas al ser desnutridas durante la gestación y/o la lactancia, teniendo diversos efectos como: un retraso en el crecimiento, cambios permanentes y selectivos en el crecimiento de órganos. A la vez, órganos como el cerebro y los pulmones están relativamente protegidos de la reducción en el tamaño a expensas de órganos viscerales como hígado, páncreas, músculo y bazo (Desai *et al.* 1996).

A la vez que se han realizado estudios a nivel morfológico en donde también se ha tratado de demostrar la existencia de una “programación metabólica”, en órganos como el hígado y el páncreas, en los que se ha demostrado que el hígado refleja cambios permanentes en las enzimas de la glucólisis y gluconeogénesis (glucocinasa y fosfoenol piruvato carboxilasa respectivamente), y se propone que lo anterior podría ser resultado de una alteración en las regiones periportal y perivenosa (Desai & Hales 1997). En el páncreas se ha encontrado que se reduce el tamaño y la cantidad de células  $\beta$  así como la vascularización (Snoeck *et al.* 1990).

A partir de 1999, el término de “programación” se trata de replantear, basándose en la hipótesis de la “huella metabólica”, acuñada por Waterland para describir las bases biológicas de las relaciones entre las experiencias de ajuste nutricional en la vida temprana y las enfermedades en la vida adulta, bajo cuatro conceptos:

- 1) la susceptibilidad está limitada a una ventana crítica en el desarrollo ontogenético, en donde el individuo es más vulnerable a agresiones medioambientales como la desnutrición.
- 2) efectos persistentes hasta la vida adulta del individuo.
- 3) efectos específicos, que dependen del tipo de agresión.
- 4) dosis-respuesta, dónde va involucrada tanto la duración como el tiempo en el cual es aplicada la agresión (Waterland & Garza, 1999).

La teoría de la “huella metabólica” lleva a construir la teoría del “salvamento fetal”, como la manera en la cual el individuo en sus primeras etapas de vida logra sobrevivir a condiciones adversas.

#### **1.3.4. Teoría del “Salvamento Fetal”**

La teoría del “salvamento fetal”, postulada por Hofman y colaboradores en 1997, plantea que el gestante, bajo condiciones de desnutrición materna, desarrolla una resistencia a la insulina periférica, la cuál permite una redistribución de los nutrientes, como la glucosa a favor de unos órganos (cerebro y pulmones) a expensas de otros (músculo, hígado, etc) en los cuales se observa una reducción en la toma y el transporte de la glucosa (Hofman *et al.* 1997). Esta reducción en la sensibilidad a la insulina periférica estimula a las células  $\beta$  pancreáticas a producir grandes cantidades de insulina para poder alcanzar una glicemia normal. Esto puede llevar a la extenuación del órgano que más adelante en la vida adulta del individuo se puede mostrar como el síndrome DMNDDI (Cianfarani *et al.* 1999).

De esta manera, el beneficio de una adecuación en la vida temprana, puede tener el costo de una respuesta no tan benéfica en la vida adulta, debido a que las necesidades energéticas van cambiando según el estado metabólico, la edad y la condición nutricional de cada individuo.

#### **1.4. Metabolismo**

El metabolismo se define como la suma de todas las reacciones del organismo concernientes al almacenamiento y generación de energía a partir de los alimentos ingeridos (Lehninger *et al.*, 1995).

Del estado nutricional del individuo, ya sea postprandial (de 0-4 h después de la alimentación), en ayuno temprano (postabsortivo) o prolongado (entre 12 h y 16 días en el humano), o bien en la condición de ayuno-realimentación, dependerá la ruta metabólica utilizada para la obtención de la energía necesaria para la realización de las funciones celulares para cada órgano (Benyon, 1999)

### 1.4.1. Metabolismo Intermedio

El metabolismo que se encarga del almacenamiento o de la generación de energía, comúnmente conocido como metabolismo intermedio, se puede dividir en dos procesos fundamentales el *anabólico*, que conduce a la síntesis de moléculas necesarias para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento de las estructuras del organismo; y el *catabólico* que son la serie de procesos relativos a la degradación de moléculas de nutrientes que producen energía. De esta manera las vías metabólicas anabólicas y catabólicas para la obtención de la energía necesaria se ejemplifican en la **Tabla 1** (Benyon, 1999).

Las moléculas que son utilizadas en el organismo para la obtención de energía y que son aportadas por la dieta son en orden de utilización: los hidratos de carbono (generalmente glucosa), las grasas y las proteínas (Benyon, 1999), dependiendo del estado metabólico del que se trate la utilización va a variar.

Las condiciones para la utilización de los energéticos en el organismo en los diferentes estados metabólicos, se pueden observar en la **Tabla 2** (Benyon, 1999).

**Tabla 1.** Ejemplos de las vías metabólicas

Vías anabólicas	Vías catabólicas
Glucogenogénesis: síntesis de glucógeno	Glucogenolisis: hidrólisis del glucógeno
Proteogénesis: síntesis de proteínas	Proteolisis: hidrólisis de las proteínas
Lipogénesis: síntesis de ácidos grasos	Lipólisis: hidrólisis de los triacilglicéridos
Gluconeogénesis: síntesis de glucosa	Glucólisis: oxidación de la glucosa

Tomado de Benyon, 1999.

**Tabla 2.** Resumen de los metabolitos y los estados metabólicos.

Estado	Curso temporal (en el humano)	Principales combustibles usados
Posprandial	tras una comida 0-4 h	la mayoría de los tejidos utilizan glucosa
Ayuno temprano	4 -12 h tras alimentarse	<b>cerebro:</b> glucosa <b>músculo e hígado:</b> ácidos grasos
Ayuno prolongado	12h - 16 días	<b>cerebro:</b> glucosa y algunos cuerpos cetónicos <b>hígado:</b> ácidos grasos <b>músculo:</b> principalmente ácidos grasos y algunos cuerpos cetónicos
Ayuno-alimentación (saciedad)	-----	Prácticamente se utiliza la glucosa en la mayoría de los tejidos y se comienzan a restablecer los depósitos depletados en el ayuno.

Tomado de Benyon, 1999.

#### 1.4.1.1. Estado postprandial

Los nutrientes que son ingeridos por el individuo en la dieta en un estado postprandial son utilizados por el organismo de la siguiente manera:

La glucosa es utilizada principalmente para la producción de energía en forma de adenosín trifosfato (ATP).

La glucosa pasa del estómago directamente al intestino, y a través de las células epiteliales del mismo a la vena porta. Se dirige al hígado donde una parte es degradada por la glicólisis con la obtención de piruvato y ATP. El piruvato, es oxidado en acetil coenzima A (acetil CoA), la cual entra al ciclo de Krebs y es utilizada en la síntesis de ácidos grasos que pasan

al torrente sanguíneo en forma de lipoproteínas de baja densidad (VLDL), las cuales son almacenadas en el tejido adiposo en forma de triacilglicéridos.

La glucosa que no es utilizada en el hígado o convertida en grasa, pasa al torrente sanguíneo y se dirige a órganos como el cerebro (en dónde es la principal fuente energética) y músculo esquelético para la producción de ATP, CO<sub>2</sub> y agua mediante el ciclo de Krebs. A la vez, también se dirige a los glóbulos rojos en dónde es degradada a lactato y este es transportado al hígado para convertirse de nuevo a piruvato el cual puede ser transformado en grasa por la lipogénesis y ser almacenada.

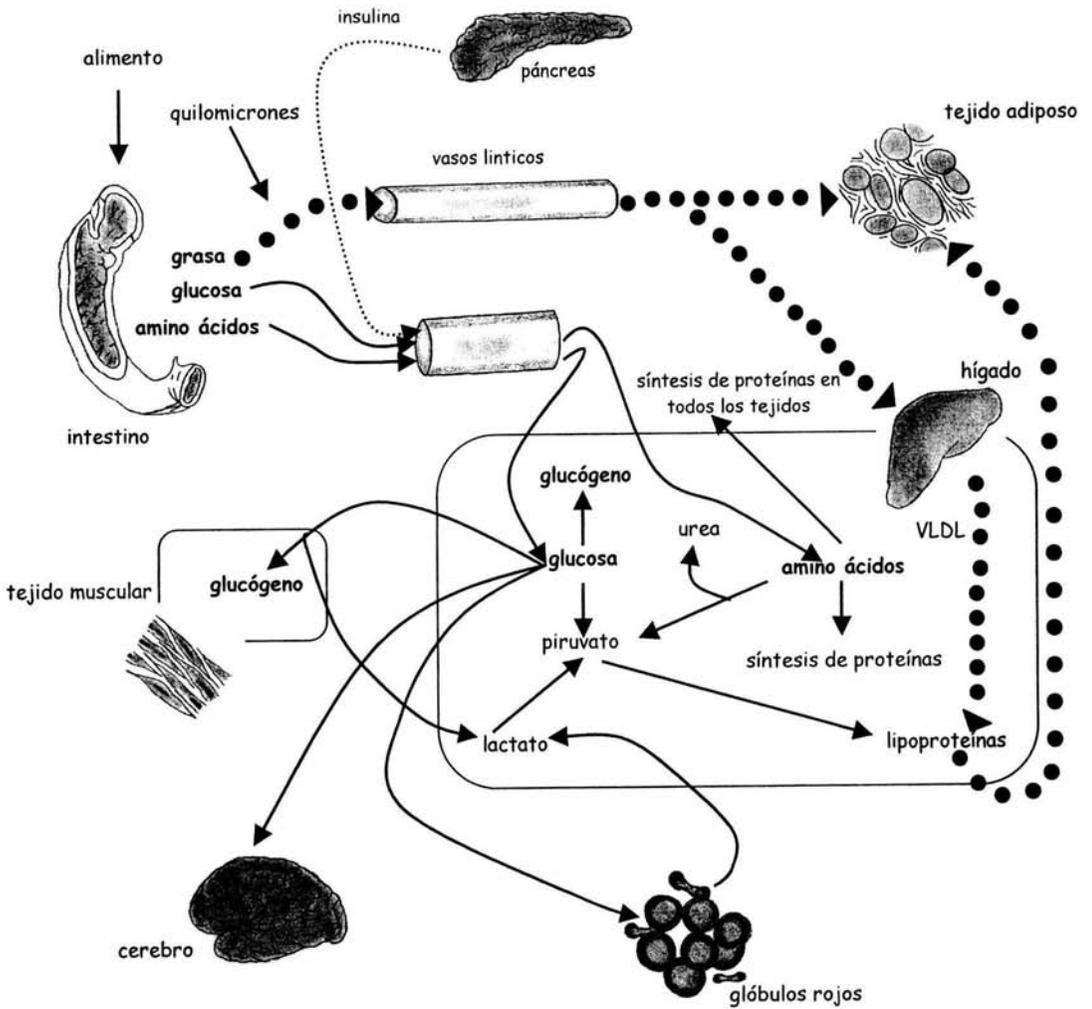
Una vez cubiertos los requerimientos energéticos, la glucosa que no fue utilizada o almacenada en el tejido adiposo, es almacenada en el hígado o el músculo esquelético en forma de glucógeno por la ruta de la glucogenogénesis.

La grasa que aporta la dieta llega al intestino y en las células epiteliales de éste se forman los quilomicrones que son proteínas plasmáticas que contienen las moléculas grasas aportadas por la dieta y que se conforman de esta manera para evitar su coalescencia y facilitar su transporte. Una vez formados los quilomicrones pasan al sistema linfático y más tarde al torrente sanguíneo a través del conducto torácico y son transportados a los tejidos como el músculo esquelético o el tejido adiposo. Una vez ahí, son hidrolizados por la enzima lipoproteín lipasa, para dar lugar a glicerol y ácidos grasos libres. Los ácidos grasos son tomados por los adipocitos reesterificados a triacilglicéridos y almacenados en la célula, o bien, los ácidos grasos pueden ser oxidados por la  $\beta$ -oxidación para la obtención de acarreadores de electrones cuya reoxidación genera ATP en el ciclo de Krebs.

Las proteínas que se ingieren en la dieta, son hidrolizadas por proteasas para ser degradadas en aminoácidos en el intestino. Este utiliza la mayoría de los aminoácidos como fuente energética y los restantes pasan a través de la vena porta al hígado donde pueden ser transaminados para constituir otros aminoácidos o llevar a cabo una deaminación oxidativa y ser degradados cuando hay un exceso mediante el ciclo glucosa-alanina y se produce urea que es desechada por los riñones. También en el hígado pueden ser oxidados completamente a CO<sub>2</sub> y agua y los intermediarios producidos como el piruvato utilizados como sustrato para producir glucosa por la gluconeogénesis.

Los aminoácidos en el hígado o en otros tejidos pueden ser utilizados para la síntesis o recambio de proteínas (Devlin, 1997).

Un resumen de los procesos que se llevan a cabo durante el estado post prandial se pueden observar en la **Figura 1**.



**Figura 1.** Esquematación metabólica y hormonal del estado postprandial. Modificado de Devlin, 1997 y Benyon, 1999.

- secreción hormonal del páncreas
- formación de quilomicrones o de VLDL
- rutas metabólicas

#### 1.4.1.2. Estado de Ayuno Temprano

En el ayuno temprano debido a que el aporte de energéticos por la dieta se detiene entre 4 y 12 h (en el humano), la glucogenólisis hepática es muy importante para mantener una homeostasis de la glucosa en la sangre bajo esta condición. La lipogénesis en el hígado y tejido adiposo se detiene, mientras que el lactato, el piruvato y los aminoácidos son utilizados para la formación de glucosa. La glucosa es producida en una parte por el lactato en el hígado y ésta, es convertida de *novo* en lactato por la glucólisis en los tejidos periféricos como en los glóbulos rojos y el músculo esquelético por el ciclo de Cori.

El catabolismo de los aminoácidos para la obtención de energía es menor debido a que su disposición en el intestino está disminuida ya que no existe el aporte por la dieta.

El ciclo de la alanina en el cual el piruvato producido en el músculo por la glicólisis es convertido en alanina forma parte importante también de este estado; parte de la alanina viaja al hígado vía torrente sanguíneo donde es convertida de *novo* en piruvato y sirve como sustrato para la gluconeogénesis, y una vez producida la glucosa, el sistema circulatorio la transporta al músculo esquelético de *novo* para ser utilizada como sustrato energético. Parte también de la alanina que entra al hígado es desechada como urea por los riñones. De esta manera el cerebro sigue utilizando la glucosa como fuente energética primaria (Devlin, 1997). Ver **Figura 2**.

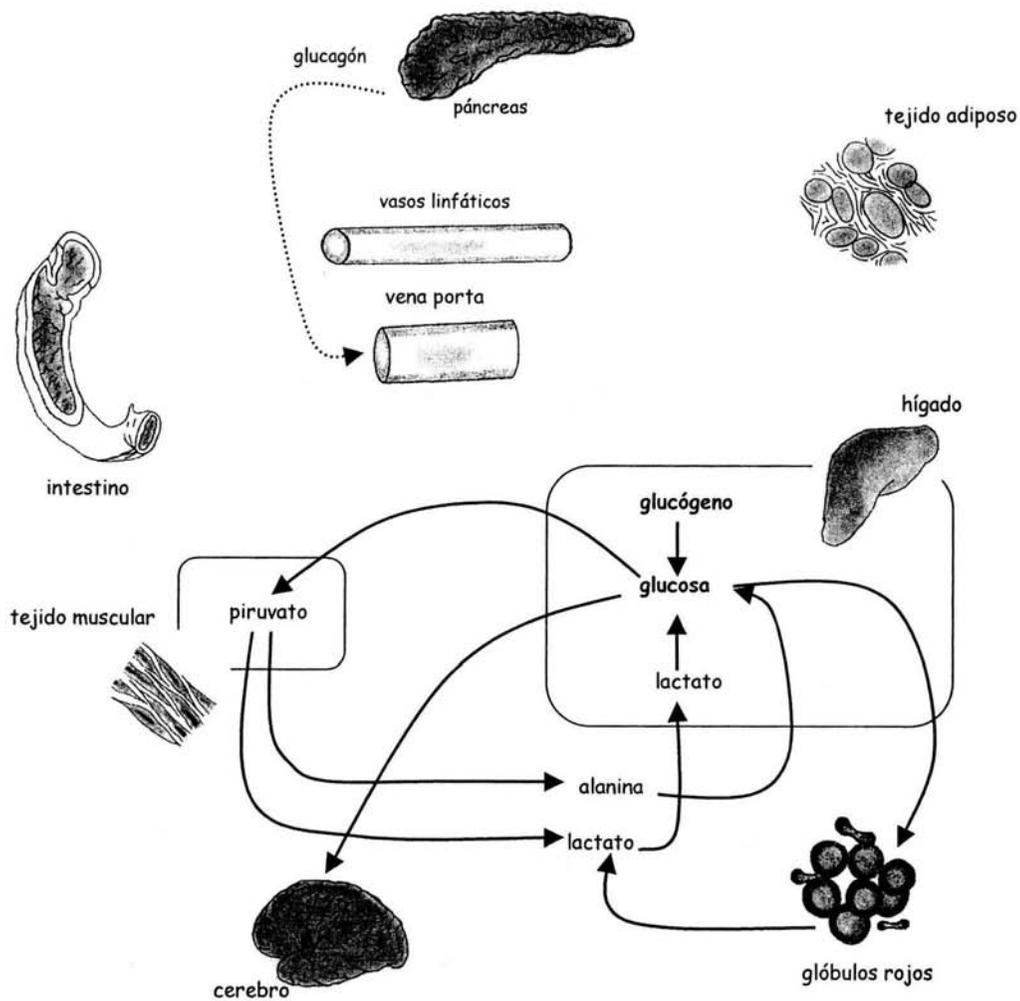


Figura 2: Esquematización metabólica y hormonal del estado de ayuno temprano. Modificado de Devlin, 1997 y Benyon, 1999.

----- secreción hormonal del páncreas  
 ——— rutas metabólicas

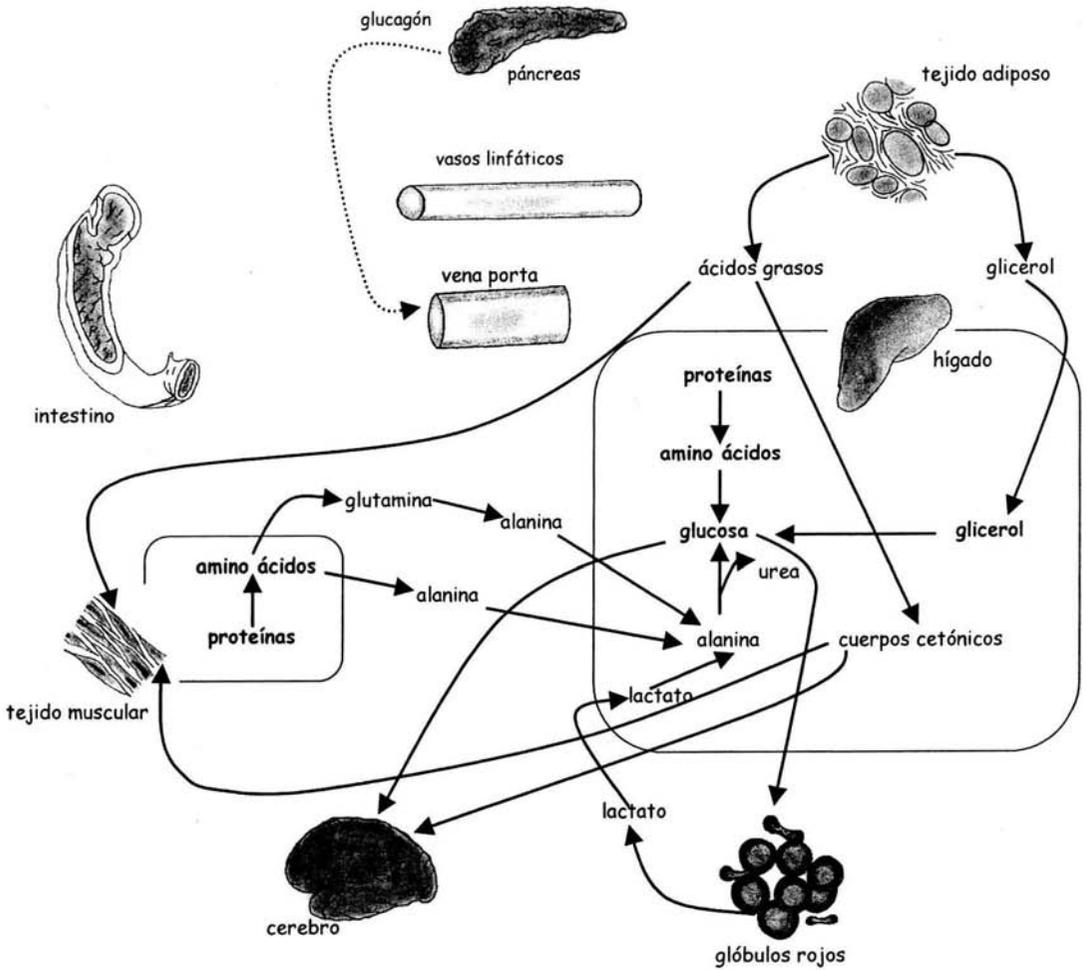
### 1.4.1.3. Estado de Ayuno Prolongado

En la condición metabólica de ayuno prolongado que puede durar hasta varios días en el humano, y en el cual no existe ningún aporte de nutrientes por la dieta, las reservas de glucógeno en el hígado y en el músculo son mínimas. Los tejidos como el cerebro que utilizan como fuente primaria de energía la glucosa, dependen principalmente de la que es aportada por la gluconeogénesis, a partir del lactato, el glicerol y la alanina.

Los ciclos de Cori y la alanina juegan un papel importante en esta etapa aunque no proveen el carbono necesario para la síntesis directa de glucosa. En el músculo esquelético se lleva a cabo la formación de aminoácidos a partir de la proteólisis, ya que en esta etapa las proteínas se utilizan como fuente energética. Algunos de estos aminoácidos son parcialmente metabolizados en el tejido como la alanina, la glutamina y la glicina. Otros, son metabolizados para dar intermediarios como piruvato y  $\alpha$  - cetoglutarato para después formar alanina y glutamina los cuales se dirigen al torrente sanguíneo y son tomados por el hígado y los riñones para la formación de glucosa.

El tejido adiposo es muy importante en esta etapa y por tanto la lipólisis tiene una gran activación. En el torrente sanguíneo la cantidad de ácidos grasos se eleva debido a que muchos tejidos como el corazón y el músculo esquelético los utilizan como fuente energética por medio de la  $\beta$  - oxidación y en estos órganos se inhibe la glicólisis. A la vez el glicerol que se produce de la lipólisis en el tejido adiposo viaja al hígado donde es utilizado en la síntesis de glucosa por la gluconeogénesis. Por otro lado, el cerebro no puede oxidar los ácidos grasos debido a que no pueden cruzar la barrera hemato encefálica, por lo tanto parte de la acetil CoA que se produce en el hígado por la  $\beta$  - oxidación de las grasas almacenadas en el órgano, y sólo en el hígado es convertida a cuerpos cetónicos y estos pueden cruzar la barrera hemato encefálica y servir como fuente energética al igual que en otros tejidos como el corazón. Los cuerpos cetónicos también pueden dirigirse al músculo esquelético disminuyendo la proteólisis y el desgaste del órgano y es por esta razón que la oxidación de los ácidos grasos en el hígado se ve aumentada. En el hígado también se utilizan las proteínas como fuente energética para producir aminoácidos y éstos glucosa (Devlin, 1997).

En el ayuno prolongado, los niveles de glucosa se encuentran disminuidos y la interrelación entre hígado, músculo esquelético y tejido adiposo se torna muy importante para mantener un nivel de glucosa en sangre y también en el suministro de energéticos principalmente al cerebro como se puede observar en la **Figura 3**.



**Figura 3:** Esquematación metabólica y hormonal del estado de ayuno prolongado. Modificado de Devlin, 1997 y Benyon, 1999.

----- secreción hormonal del páncreas  
 ————— rutas metabólicas

#### 1.4.1.4. Estado de Ayuno – Realimentación (Saciedad)

En esta etapa en la cual se lleva a cabo una alimentación después de un estado prolongado de ayuno, la grasa es metabolizada como en el estado de alimentación postprandial es decir, pasa a los vasos linfáticos como quilomicrones se dirige a restablecer los depósitos en el tejido adiposo o bien es utilizada como fuente energética en el músculo esquelético. Sin embargo los depósitos de grasa en el hígado no se restablecen rápidamente.

Los aminoácidos se dirigen por la vena porta al hígado, ahí se lleva a cabo la síntesis de proteínas, formación de glucógeno y el exceso una producción de urea. En contraste la glucosa que entra al hígado es poco metabolizada aquí, ya que se dirige al cerebro para suministrarlo de energía, al tejido adiposo para almacenarse, al músculo esquelético para su utilización o almacenamiento como glucógeno y la producción de lactato que regresa al hígado para la formación de glucógeno. Pero la glucosa que pasa directamente al hígado vía torrente sanguíneo, no es un buen precursor de la síntesis de glucógeno hepático. La glicólisis en el hígado se estabiliza paulatinamente ya que permanece la condición gluconeogénica por varias horas aún después de la alimentación. Si se mantiene el estado de alimentación por varias horas las interrelaciones metabólicas del estado postprandial se restablecen, la velocidad de la gluconeogénesis va disminuyendo y comienza a elevarse la velocidad de depósito de la glucosa en el hígado y comienza a sostenerse la formación de glucógeno hepático por esta vía (Devlin, 1997). **Ver Figura 4.**

Por otro lado los estados metabólicos del organismo están estrechamente relacionados con el estado hormonal es decir, las concentraciones de hormonas como la leptina, insulina y glucagón entre otras, están vinculadas directamente con la disposición y el uso de los metabolitos.

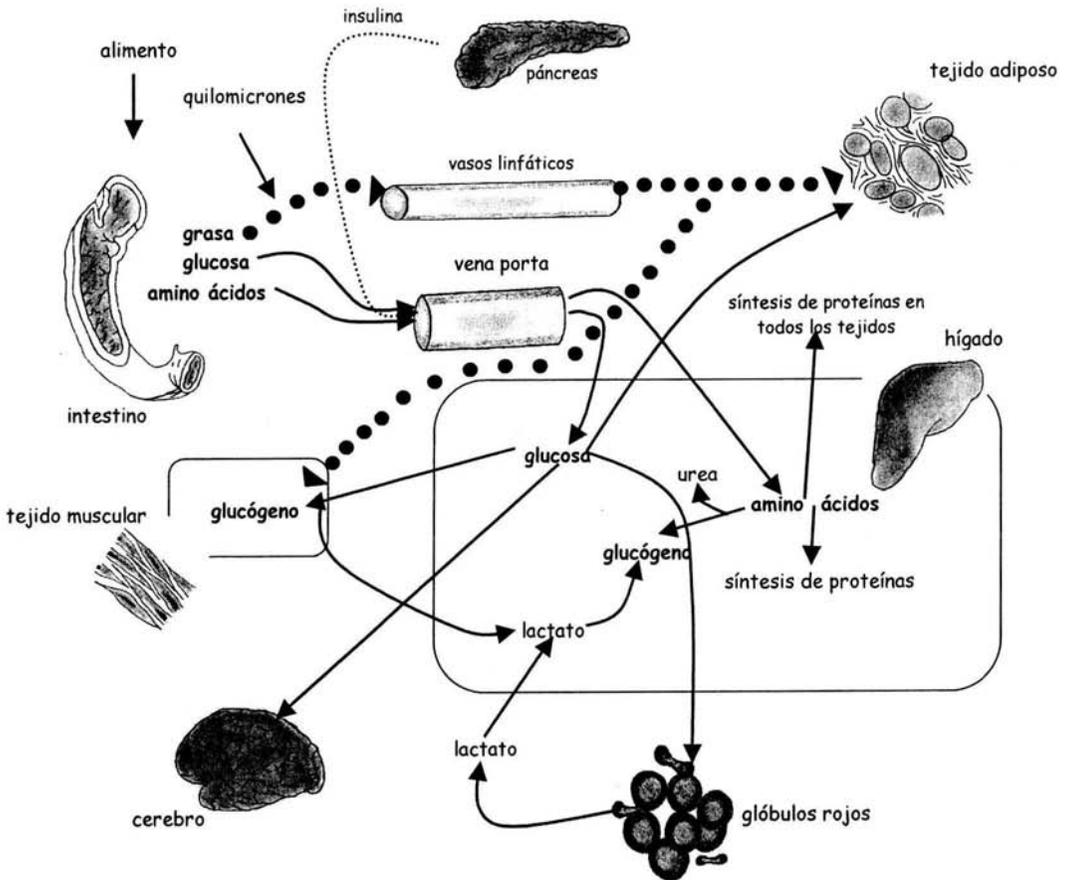


Figura 4: Esquematización metabólica y hormonal del estado de ayuno-realimentación (Saciadad). Modificado de Devlin, 1997 & Benyon, 1999.

- ..... secreción hormonal del páncreas
- rutas metabólicas
- ..... formación de quilomicrones

### **1.4.2. Regulación Hormonal del Metabolismo Intermedio**

Todos los tejidos del organismo trabajan en conjunto para mantener una disposición de energéticos constante y a esto se le conoce con el término de homeostasis. Es por esto que además de los energéticos, la condición hormonal del individuo es importante para regular dicha homeostasis. Los cambios en la concentración de la relación insulina/glucagón, dos hormonas secretadas por células especializadas del páncreas endócrino y que están directamente relacionadas con la concentración de glucosa en sangre (Hadley, 1996), son parte de esta homeostasis y pueden ser consideradas como un índice del estado energético del individuo.

#### **1.4.2.1. Insulina**

La insulina es una hormona anabólica secretada por las células  $\beta$  del páncreas, que promueve la captación de glucosa por las células y la síntesis de glucógeno, así como la lipogénesis (Benyon, 1999). Su principal efecto se observa sobre las células hepáticas, musculares y el tejido adiposo. En cada uno de estos tejidos la principal acción de estimulación se dirige al ingreso de glucosa a las células donde es metabolizada y almacenada, o usada como sustrato energético en la síntesis de proteínas o de grasas (Hadley, 1996).

En el hígado, la insulina promueve la glucogenogénesis y la formación de VLDL, mientras que en el músculo se favorece la glucogenogénesis y la glucólisis. También se da el transporte de aminoácidos para la síntesis de proteínas en diversos tejidos.

En el tejido adiposo, se favorece la síntesis y almacenamiento de triacilglicéridos así como la inhibición de la lipólisis (Norris, 1997).

### 1.4.2.2. Glucagón

El glucagón es una hormona catabólica, que es secretada por las células  $\alpha$  del páncreas. Su efecto, al igual que la de insulina también se da sobre las células hepáticas, las musculares y las del tejido adiposo principalmente (Benyon, 1999).

La función biológica del glucagón es esencialmente opuesta a la de la insulina y se lleva a cabo cuando baja el nivel de glucosa en la circulación debido a un estado de ayuno.

El hígado es el primer órgano blanco para elevar la concentración de glucosa en sangre. En este, el glucagón promueve la glucogenólisis, la síntesis de cuerpos cetónicos a partir de los ácidos grasos y la gluconeogénesis a partir del glicerol, ambos provenientes de los triacilglicéridos almacenados en el tejido adiposo (Hadley, 1996).

En el músculo, se lleva a cabo la proteólisis, para que los aminoácidos (principalmente la alanina) formen glucosa en el hígado por medio de la gluconeogénesis. A su vez también se promueve que cuerpos cetónicos formados en el hígado y ácidos grasos sean utilizados en el músculo para la obtención de energía (Benyon, 1999).

#### 1.4.2.2.1. Relación Insulina – Glucagón

La finalidad de ambas hormonas es mantener la concentración de glucosa en el torrente sanguíneo, bajo límites fisiológicos. De esta manera las propiedades quimostáticas de las células pancreáticas  $\alpha$  y  $\beta$  dirigidas a la concentración prevaleciente de la glucosa en la sangre son interdependientes (Norman & Litwack, 1997).

El efecto de estas dos hormonas es antagonico y se autorregulan. Mientras la concentración plasmática elevada de insulina señala a los tejidos blanco que la concentración de glucosa en sangre es más elevada de lo necesario e indica a las células de estos tejidos ingresar el exceso de glucosa para procesarlo o almacenarlo, la concentración de glucagón está disminuida. De manera inversa si la concentración de glucosa en sangre baja, la concentración de glucagón se eleva e indica a las células de los tejidos blanco que deben de llevar a cabo procesos para la síntesis de glucosa y elevar su concentración plasmática (Lehninger *et al.* 1995).

Es así como la autorregulación de estas hormonas entre otras mantienen una homeostasis calórica como se puede observar en la **Tabla 3** (Benyon, 1999).

**Tabla 3.** Resumen de los principales efectos de la Insulina y del Glucagón

Vía	Insulina: anabólica	Glucagón: catabólico
<b>Metabolismo de los carbohidratos</b>		
glucógeno	aumenta la síntesis de glucógeno en músculo e hígado	aumenta la hidrólisis del glucógeno hepático.
glucólisis/gluconeogénesis	aumenta la glucólisis	aumenta la gluconeogénesis
captación de glucosa	mayor captación por los tejidos periféricos, no por el hígado	sin efecto
<b>Metabolismo de los lípidos</b>		
lipólisis y $\beta$ - oxidación	inhibe	activa
síntesis de cuerpos cetónicos	inhibe	activa
lipogénesis	activa	inhibe
<b>Metabolismo de las proteínas</b>		
captación de aminoácidos por los tejidos	aumenta la captación por la mayoría de los tejidos	aumenta la captación hepática para la gluconeogénesis
síntesis de proteínas	aumenta en la mayoría de los tejidos	disminuye
degradación de proteínas	disminuye	estimula la hidrólisis

Tomado de Benyon, 1999.

#### 1.4.3. Adaptaciones Metabólicas a la Desnutrición

Desde el punto de vista biológico, cada organismo que sobrevive y se reproduce está por definición adaptado a su ambiente. Existen mecanismos conductuales, fisiológicos, metabólicos etc. que llevan al individuo a ese punto de equilibrio pero implicando límites y costos (Waterlow, 1996). En este caso, la adecuación a la alimentación tiene como finalidad la conservación de una composición sanguínea y tisular más o menos constante a pesar de

las deficiencias o excesos de algunos nutrimentos provenientes de los alimentos. Cualquier cambio en la dieta que provoque una condición de estrés nutricional es decir, que no se cubran todas las necesidades metabólicas indispensables o que se exceda alguna función, es “identificado” por el organismo, acoplándose al mismo tratando de mantener una constancia en la composición orgánica. Un consumo deficiente de los nutrimentos provoca una reducción o un exceso en la actividad de las vías o rutas asociadas con su metabolismo (Icaza & Béhar 1981). En modelos animales se ha encontrado que la respuesta metabólica a la desnutrición debida a este proceso de adecuación se da de manera distinta dependiendo de la etapa en la cual se aplica y de la duración de la desnutrición (Joshi *et al.* 2003 y Hales *et al.* 1996). De esta manera se ha observado que una restricción proteico-calórica aplicada postnatalmente da como resultado disminución en las concentraciones de glucógeno hepático, glucosa plasmática, así como en la cetogénesis hepática (Yeh *et al.* 1982). Esta misma desnutrición pero aplicada pre y postnatalmente da como resultado una disminución en la glucosa plasmática junto con un incremento en la cetonemia (Escrivá *et al.* 1985). Con ello se demuestra que son necesarias diversas adecuaciones metabólicas a la desnutrición que enfrenta un individuo ya que deberá de seguir diferentes estrategias para así poder llevar a cabo todas sus funciones.

### **1.5. Antecedentes de Rehabilitación Nutricional**

Los modelos experimentales de rehabilitación nutricional, aplicando diferentes protocolos de desnutrición y rehabilitación, han sido de gran ayuda en el estudio de problemas epidemiológicos como los que se observan en las comunidades de los indios Pima (Hales & Barker, 1992). Debido a que se puede controlar una serie de variables que en las poblaciones humanas es difícil como por ejemplo la influencia cultural, las costumbres, así como el factor económico.

### 1.5.1. Peso corporal y de algunos órganos

Algunos trabajos de rehabilitación nutricional, ya sea al nacimiento o al destete, reflejan en el peso corporal que los animales previamente desnutridos con una dieta 6 u 8% de caseína, no alcanzan un peso similar al de sus controles (Resnick *et al.* 1982 y Shepherd *et al.* 1997). De igual manera, al evaluar el peso del hígado y del cerebro con respecto al peso corporal de los animales, se ha observado la selectividad de órganos a sufrir los efectos de la desnutrición, ya que el peso del hígado con respecto al peso corporal se encuentra por debajo de su control y el peso del cerebro sí mantiene una proporción con respecto al peso corporal semejante a lo que sucede con los respectivos controles (Desai *et al.* 1996).

Otros modelos animales, usando una dieta 8% de caseína durante la gestación y una recuperación durante la lactancia y hasta los 2 meses alimentados con comida balanceada, han encontrado que también se observan diferencias en los paquetes adiposos como el epididimal en el cuál el tamaño de los adipositos es menor al de sus controles, y esto se refleja en un tamaño inferior del paquete adiposo (Shepherd *et al.* 1997).

### 1.5.2. Metabolismo

Al mismo tiempo que se presentan alteraciones en el crecimiento corporal y de algunos órganos, protocolos de rehabilitación nutricional, en los cuales se han evaluado parámetros metabólicos, han encontrado alteraciones funcionales. Por ejemplo se menciona que las enzimas involucradas de manera importante en el metabolismo energético, como la glucocinasa y la fosfoenol piruvato carboxinasa, las cuales están reguladas diferencialmente por la insulina y el glucagón, se encuentran alteradas en sus concentraciones con respecto a sus controles nutricionales (Desai *et al.* 1995). Esto hace que sea de suma importancia el estudio del metabolismo en individuos rehabilitados para conocer qué tan eficaz es esa rehabilitación y sus limitaciones dando a conocer de una manera integral (metabólica y hormonal) los efectos de la recuperación.

### 1.5.3. Condiciones Metabólicas de Ayuno – Realimentación (Saciedad)

La condición metabólica de ayuno en la cual los recursos energéticos disponibles o circulantes se agotan y el organismo busca la manera de resolver el déficit energético por medio de la sobre expresión, o la supresión de alguna o varias rutas metabólicas mediante el control hormonal, obliga al organismo a entrar a un estado catabólico o de desgaste, en el cual las reservas son utilizadas como fuente energética. Al pasar a la condición de realimentación (saciedad) el organismo permanece en el estado catabólico y después de cubrir las necesidades momentáneas, se pasa a la condición anabólica (Benyon, 1999).

En animales desnutridos durante la gestación y la lactancia con una dieta 8% de caseína y que después de la lactancia son alimentados con una dieta balanceada; después de una perfusión con glucosa, encuentran que la concentración plasmática de glucosa es elevada lo que relacionan con la hiperglicemia postprandial en los diabéticos tipo 2 que sugieren los autores podría estar vinculada con un daño en la toma de glucosa en la zona perivenosa del hígado, debido a que la desnutrición provocó un daño en el desarrollo hepático. A la vez, también encuentran que la síntesis de glucógeno en el hígado, no alcanza concentraciones similares a los valores de animales control después de 2 h de realimentación (Murphy *et al.* 2003).

En animales desnutridos evalúan la concentración plasmática de triacilglicéridos, insulina y de  $\beta$ -hidroxibutirato las cuales se encuentran significativamente por debajo de las concentraciones de los controles a las 24 h de ayuno. Esto aparentemente está relacionado con una resistencia a la cetosis que se presenta en algunas formas de diabetes humanas (World Health organization, 1985).

Lo anterior sugiere que la desnutrición temprana puede tener efectos a largo plazo en el metabolismo (Ozanne *et al.* 1998).

En ese sentido es importante conocer como responde un individuo rehabilitado de una desnutrición temprana ante un reto metabólico e identificar si las vías para resolver sus necesidades energéticas son las mismas que un individuo desnutrido crónicamente o uno alimentado de manera balanceada.

#### **1.5.4. Diferencias Genéricas**

La velocidad del crecimiento corporal y orgánico así como el funcionamiento metabólico en hembras y machos es diferente. Sin embargo la mayoría de los estudios en ratas se realizan en machos y pocos datos se han reportado evaluando las diferencias entre sexo. Las diferencias son evidentes, reflejadas en el peso corporal, debido a que los machos alcanzan una mayor talla y un mayor peso antes que las hembras y conservan esta diferencia hasta la edad adulta (Desai, 1997).

Así mismo, se menciona que las ratas macho tienden a ser más resistentes a la insulina que las hembras y esto se observa en las poblaciones humanas (Desai *et al.* 1997).

Se ha demostrado también que la desnutrición materna influye en la longevidad de las crías de forma diferencial en las hembras y en los machos, ya que las hembras incrementan significativamente su longevidad comparada con los machos (Hales *et al.* 1996).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es conocido que la desnutrición en edades tempranas de desarrollo, afecta el crecimiento de los individuos y modifica los valores de regulación metabólica. En este trabajo se evaluaron animales rehabilitados nutricionalmente con una dieta balanceada al destete, y se propone que la rehabilitación podría revertir los efectos de la desnutrición pre y postnatal en relación al peso corporal y de algunos órganos así como algunas funciones vinculadas con el metabolismo intermedio. La recuperación fue analizada siguiendo el incremento de peso corporal y el peso de algunos órganos, así como la respuesta metabólica en tres condiciones funcionales que reflejan el balance energético de los individuos siendo: el libre acceso al alimento o *ad libitum*, el ayuno prolongado y después de la realimentación (saciedad). También se analizó una posible respuesta diferente entre género en los parámetros evaluados.

## **2.1 Hipótesis General**

La desnutrición pre y postnatal produce disminución en el crecimiento, además de daños en diversos órganos y sistemas. La rehabilitación nutricional al destete permitirá revertir los efectos de la desnutrición temprana sobre el incremento de peso de los individuos y de algunos órganos así como sobre algunos parámetros del metabolismo intermedio. Esta respuesta pudiera ser diferencial entre género.

### **2.1.1. Hipótesis Específicas**

1. La rehabilitación nutricional al destete permitirá a los animales incrementar su peso corporal, así como obtener un peso proporcional de algunos órganos con respecto a su peso corporal.
2. Los animales rehabilitados manejan valores metabólicos y hormonales semejantes a sus controles nutricionales en las tres condiciones metabólicas de *ad libitum*, ayuno y realimentación (saciedad).
3. Los machos y las hembras incrementan su peso de forma diferencial, ganando más peso y de una manera mas rápida los machos en comparación con las hembras, así como también difieren en el peso de algunos órganos y en el manejo metabólico y hormonal.

## **2.2. Objetivo General**

Evaluar en ratas adultas jóvenes los efectos de una rehabilitación nutricional al destete sobre el peso corporal y de algunos órganos, así como cuantificar el manejo de parámetros metabólicos en tres estados energéticos diferentes, *ad libitum*, ayuno y realimentación (saciedad).

### **2.2.1. Objetivos Específicos**

1. Determinar mediante el seguimiento del peso corporal a partir del nacimiento y el peso de algunos órganos a los 90 días de edad, la recuperación que alcanzan los animales desnutridos pre y post natalmente y rehabilitados a partir del destete.
2. Cuantificar la concentración de glucosa, glucógeno, triacilglicéridos, ácidos grasos, insulina y glucagón, en ratas rehabilitadas nutricionalmente ante tres condiciones metabólicas (*ad libitum*, ayuno y realimentación (saciedad)).
3. Determinar diferencias en la respuesta funcional y de los órganos evaluados originadas por el género.

### 3. MATERIAL Y MÉTODO

#### 3.1. Sujetos

Se utilizaron crías nacidas de 16 ratas *Rattus norvegicus albinus* var. Wistar, 10 hembras (260 a 280 g) y 6 machos (300 a 320 g), proporcionadas por el bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Se mantuvieron en cajas jumbo de acrílico bajo condiciones de luz - oscuridad 12:12 horas, con temperatura de 22 a 24°C, humedad de 40 a 50%, comida y agua *ad libitum* (bajo las normas establecidas en el artículo 47 de la ley de protección a los animales de laboratorio publicada en la gaceta oficial el día 26 de febrero del 2002).

#### 3.2. Tratamiento Nutricional

Para la obtención de los sujetos experimentales, las hembras se dividieron en dos grupos, el desnutrido (R) n = 6, alimentado con dieta hipoproteínica con 6% de caseína, (Harlan TD 92090) y el grupo control (C) n = 4, el cual fue alimentado con dieta estándar (Purina chow 5001) 23.4% de la misma proteína. Con el fin de lograr la adaptación metabólica a la dieta, se mantuvieron dos semanas antes del apareamiento con el alimento asignado a su grupo (**Tabla 4**). Para el apareamiento, se colocó un macho por 2 hembras en cada caja, consumiendo éstos el alimento correspondiente a cada grupo y fueron retirados a los 7 días. Por medio de la palpación realizada a las hembras y por el aumento de peso se comprobó que estaban embarazadas. Tres días antes del parto las hembras fueron colocadas en cajas individuales para la elaboración del nido. Transcurridas 24 horas después del parto las camadas fueron reajustadas aleatoriamente dentro de cada grupo a 8 críos por madre (4 hembras y 4 machos). A los 25 días de edad se destetaron los animales.

Los críos del grupo C continuaron su alimentación con la dieta chow (formando así el grupo 23/23%), y los del grupo R se les cambió la dieta al alimento chow formando así el

grupo rehabilitado (6/23%) hasta los 90 días (**Fig 5**). El peso de cada individuo a lo largo de todo el experimento se monitoreo cada diez días.

**Tabla 4**  
Composición de la dieta (g/kg)

	Control (%)	Experimental (%)
Proteína	23.4	6.0
Sucrosa	3.68	51.17
Grasa	12.13	15.18
Fibra	6.0	6.73
L- metionina	---	0.37
Otros componentes	54.79	20.55
kcal/g	4.0	4.3

La dieta baja en proteína es adicionada con hidratos de carbono para lograr que ambas dietas sean isocalóricas. La caseína al ser baja en aminoácidos sulfatados, es suplementada con L-metionina.

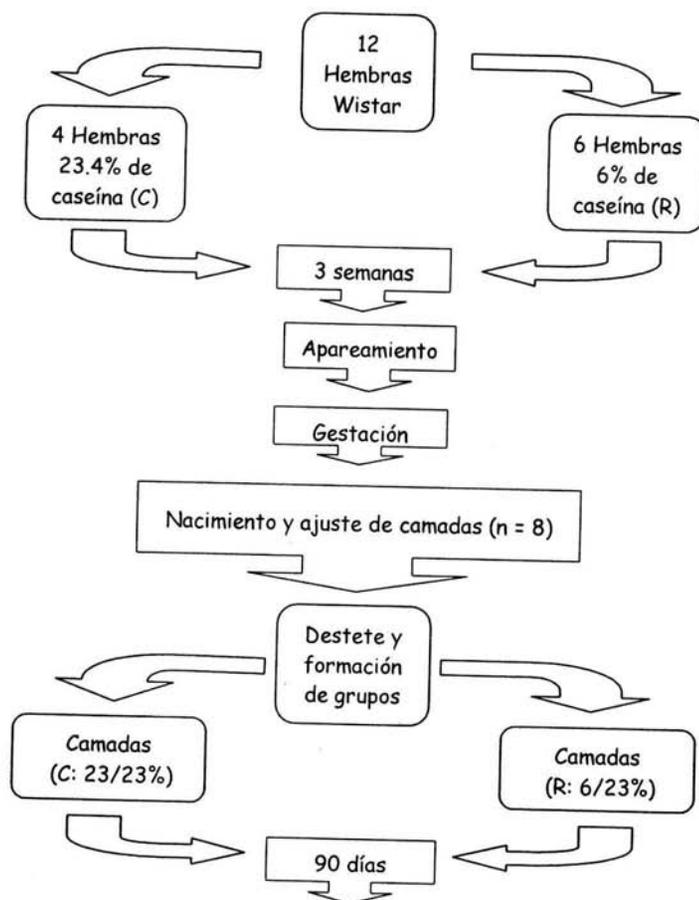


Fig. 5. Protocolo del tratamiento nutricional que incluye los animales (C) y (R).

### **3.3. Diseño Experimental**

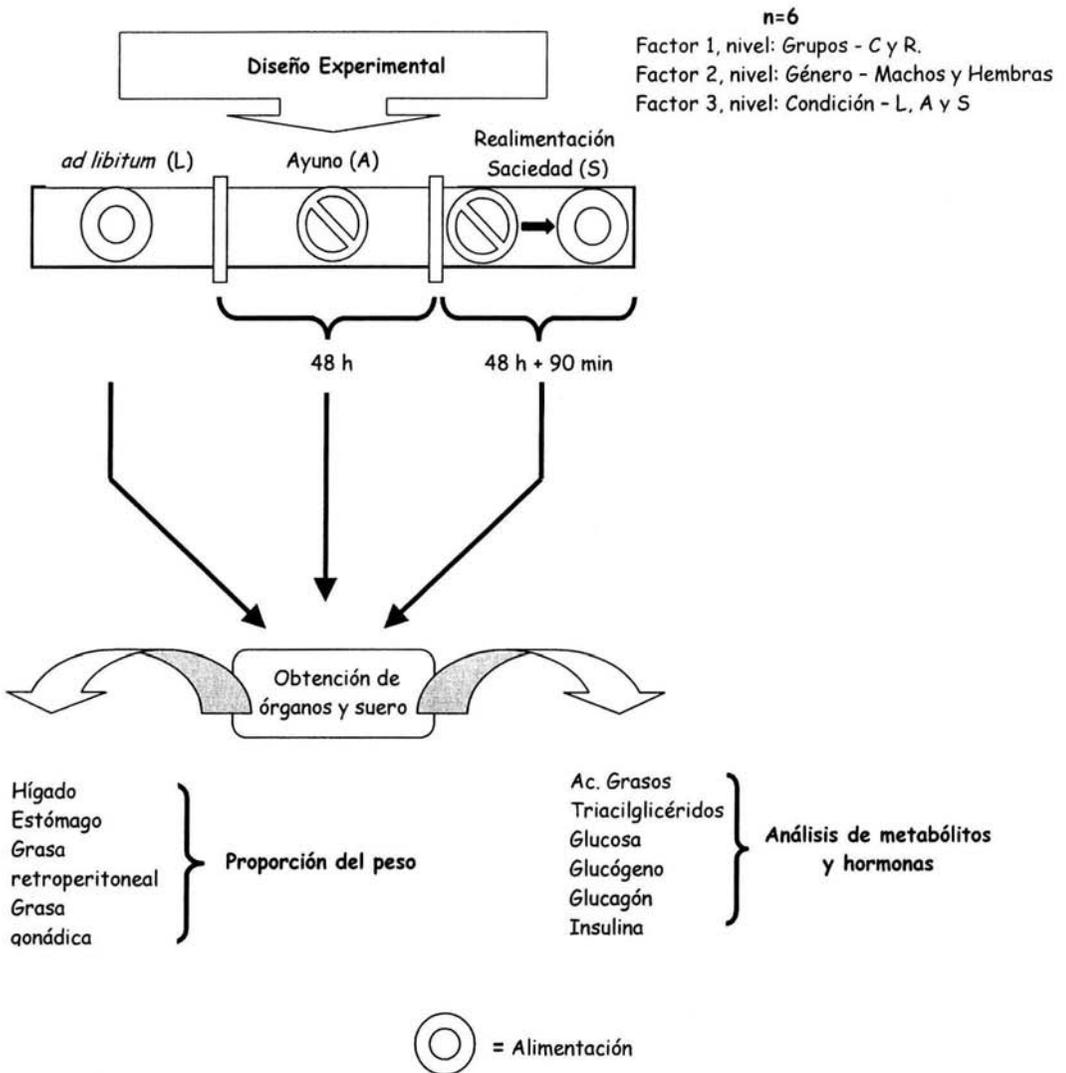
Se utilizó un diseño estadístico de 3 factores para muestras independientes (2x2x3x6). El primer factor está constituido de dos niveles que son los grupos C y R (n = 6). El segundo factor se divide en dos niveles que son el sexo (machos o hembras). El tercer factor se refiere a la condición metabólica y consta de tres niveles que son las condiciones de *ad libitum*, ayuno y realimentación (saciedad).

#### **3.3.1. Condiciones Metabólicas**

Para lograr las tres condiciones metabólicas, los grupos C y R, de 90 días de edad, se dividieron en tres condiciones experimentales con una n = 6 animales por grupo y sexo:

*ad libitum* (L) aquellos animales que tenían libre acceso al alimento, ayuno (A) de 48 h previas al sacrificio, y realimentación (saciedad) (S) con acceso libre al alimento durante 90 min posteriores al ayuno de 48 h. Los animales de las tres condiciones contaron con libre acceso al agua.

El grupo de animales (L) y (A) fueron sacrificados a las 16:00 h, y el grupo (S) a las 17:30 h por decapitación. Se colectó rápidamente la sangre, se colocó en un tubo de ensayo, se centrifugó a 500 rpm para extraer el suero, y formar alícuotas de 200  $\mu$ L en tubos eppendorf conservadas a -45° C, hasta la cuantificación de los metabolitos y hormonas. Se disecaron el hígado, estómago, grasas retroperitoneal y gonádica, se pesaron con el fin de obtener la proporción de peso húmedo con respecto al peso corporal. El hígado se congeló a -45° C para cuantificar el glucógeno hepático (**Fig. 6**).



**Fig. 6.** Diseño experimental. Se muestran las tres condiciones metabólicas del diseño experimental, los tiempos de sacrificio, la obtención de órganos y suero para la cuantificación de metabolitos y hormonas.

### **3.4. Cuantificación de metabolitos y hormonas**

#### **3.4.1. Métodos Colorimétricos**

##### **3.4.1.1. Determinación de Glucosa**

Se determinó la glucosa en suero, mediante el método de Glucosa Oxidasa-Peroxidasa con un kit comercial de Hycel, (catálogo 70408), basado en el método de Pennock (1973). Se toman 1.25 mL de la solución stock, se colocan en un tubo de vidrio y se adicionan 10  $\mu$ L de las muestras problema así también se realiza la curva estándar con la glucosa del kit. Se dejan incubando por 10 min en agua a 37°C. Posteriormente se realiza la lectura de la absorbancia a 520 nm.

##### **3.4.1.2. Determinación de Glucógeno Hepático**

Se determinó mediante el método de Hassid y Abraham (1957), el cuál se basa en la hidrólisis del glucógeno. Un gramo de hígado, es colocado en un tubo de centrifuga de 12 mL con 3 mL de KOH al 30%. Los tubos con la solución y el tejido se colocan en un baño de agua hirviendo por 20 min. Una vez digerido el tejido, se añade 0.5 mL de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  saturado, y 1.2 vol. de etanol al 95%. Se calientan ligeramente los tubos hasta antes de hervir y se dejan enfriar para ser centrifugados a 5000 rpm por 15 minutos. Se decantan y se dejan escurrir. El precipitado se disuelve en 2 mL de agua destilada y se añaden 2.5 mL de etanol al 95%. Se centrifuga, decanta y escurre nuevamente. El glucógeno se hidroliza por 150 min en agua hirviendo con 6 mL de HCl 0.6 N.

Posteriormente se lleva a un pH de 7-7.5. Se toman 10  $\mu$ L de la muestra, y se sigue el mismo procedimiento para la determinación de la glucosa.

### **3.4.1.3. Determinación de Ácidos Grasos**

Se cuantificaron por el método de Novák (1965) por colorimetría mediante el complejo de cobalto y el  $\alpha$ -nitroso- $\beta$ -naftanol. Se colocan 100  $\mu$ L de muestra en un tubo de vidrio. Se agrega 1 mL de solución Dole, se agita fuertemente y se adicionan 500  $\mu$ L de heptano, se agita, se adiciona 1 mL de H<sub>2</sub>O destilada se agita de nuevo y se colocan en hielo durante 5 minutos. Se toman 350  $\mu$ L de la fase superior, se agregan 400  $\mu$ L de cloroformo-heptano, 500  $\mu$ L de reactivo de cobalto. Se agita vigorosamente por 3 min hasta que se torna negra la reacción. Se centrifuga 15 min a 5000 rpm. Se toman 200  $\mu$ L de la fase de arriba y se agrega 1 mL del indicador. Se deja reposar 30 min y se determina la concentración a 500 nm. de absorbancia.

### **3.4.1.4. Determinación de Triacilglicéridos**

Se determinaron por medio del kit comercial de Bayer (SERA-PAK® Plus, catálogo B01-4551-0). Mediante la hidrólisis de los triacilglicéridos, se obtiene peróxido de hidrógeno que oxida el cromógeno a un compuesto de color rojo. La concentración se lee a una longitud de onda de 500 nm de absorbancia.

## **3.4.2. Métodos de Radioinmuno análisis (RIA)**

### **3.4.2.1. Determinación de la Insulina**

Se hizo la cuantificación de la hormona por medio de un kit comercial de Diagnostic Products Corporation (catálogo TKIN1). Es un procedimiento de fase sólida, en donde la insulina marcada con <sup>125</sup>I compete con la insulina de la muestra por sitios específicos en el anticuerpo. Debido a que el anticuerpo es inmovilizado en las paredes del tubo de polipropileno, al decantar el sobrenadante es suficiente para que la competencia finalice y

aislar la fracción de la unión del anticuerpo de la insulina marcada. Las lecturas se realizan en un contador de rayos gamma con 40,000 cuentas por minuto aproximadamente.

#### **3.4.2.2. Determinación del Glucagon**

Se llevó a cabo la cuantificación mediante un kit comercial de Diagnostic Products Corporation (catálogo KGND1). Se trata de un procedimiento de doble anticuerpo secuencial, en el cual después de la preincubación de la muestra con un anticuerpo antiglucagón, el glucagón marcado con  $^{125}\text{I}$  compete con el de la muestra por sitios en el anticuerpo. Después de la incubación, la separación de la unión es activada por el método de doble anticuerpo acelerado seguido por una centrifugación. El precipitado que contiene la fracción de la unión con el anticuerpo es cuantificado en un contador de rayos gamma.

### **3.5. Análisis Estadístico**

Los valores de peso corporal antes del destete se analizaron con un ANOVA de dos vías para los factores grupo (C y R) y tiempo (días evaluados).

Las demás mediciones fueron evaluadas con un análisis de varianza (ANOVA/MANOVA) de dos y tres vías (en algunos casos) para muestras independientes, para determinar las diferencias por grupos, género y condición metabólica. Los ANOVAs fueron seguidos por una prueba post hoc de Tuckey para comparar pares de grupos y determinar en donde se dan las diferencias, con un grado de confiabilidad  $p < 0.05$ . El programa de computo utilizado fue Statistica (versión 4.5 de 1993) y para graficar los resultados se utilizó el programa de Sigma Plot 2001.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Respuesta del peso corporal a la desnutrición

El peso de los animales tanto del grupo control (C) como el rehabilitado (R), que en esta etapa recibía la dieta 6% de caseína, se incrementó a lo largo del tiempo. El incremento fue menor en el grupo R, ya que a los 6 días de edad representaban el 54.88% y a los 25 días el 39.15% del grupo C lo cual indicó que la dieta 6% de caseína tuvo un efecto significativo sobre el incremento de peso (**Fig. 7**).

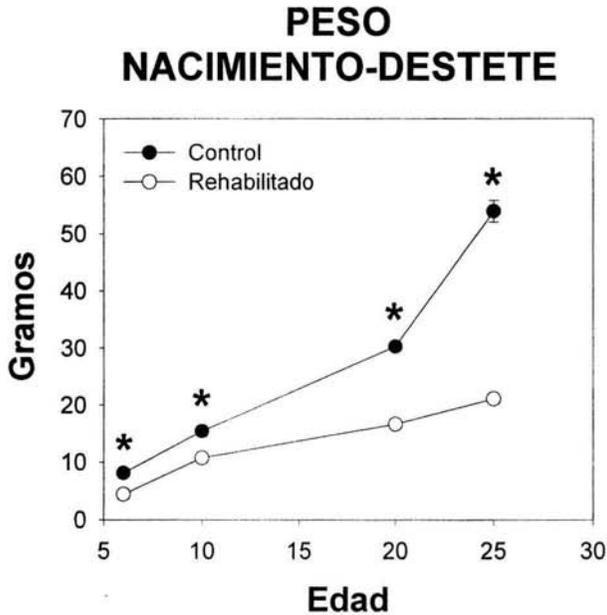
El ANOVA de dos vías indicó una diferencia significativa debida al factor grupo, al tiempo y a la interacción de ambos factores (**ver Tabla 5**). La prueba post hoc mostró que a partir de los 6 días de vida y hasta el destete existió una diferencia significativa en el incremento de peso del grupo C con respecto al grupo R con una  $p < 0.001$ , y a lo largo del tiempo el incremento mostró una diferencia en ambos grupos con una  $p < 0.001$ .

Las ratas de los grupos C y R de ambos sexos, mostraron un incremento de peso a partir del destete y hasta los 90 días de vida. Sin embargo, al final del experimento el peso del grupo R de machos representa el 79.49% y el grupo R de las hembras el 77.72% de sus respectivos grupos control. A la vez, también se observó una diferencia en el incremento de peso entre machos y hembras tanto en los grupos C como los R a partir de los 60 días de vida y hasta el final del experimento ya que a los 60 días de edad el peso de las hembras de los grupos C y R representó el 77% del peso de los machos y a los 90 días el 67.2% (grupo C) y el 70.15% (grupo R) con respecto a los grupos C y R de machos. De esta manera se observó que a pesar de la rehabilitación la exposición a una dieta 6% de caseína en edades tempranas influyó sobre el crecimiento posterior de los sujetos, sin distinción de género (**Fig. 8**).

El ANOVA de tres vías indicó diferencias significativas debidas al factor sexo, grupos, tiempo y las interacciones entre ellos (**ver Tabla 6**).

La prueba post hoc indicó que el incremento de peso en los grupos C es mayor que en los R a lo largo de todo el experimento en ambos grupos con una  $p < 0.001$ . También la prueba

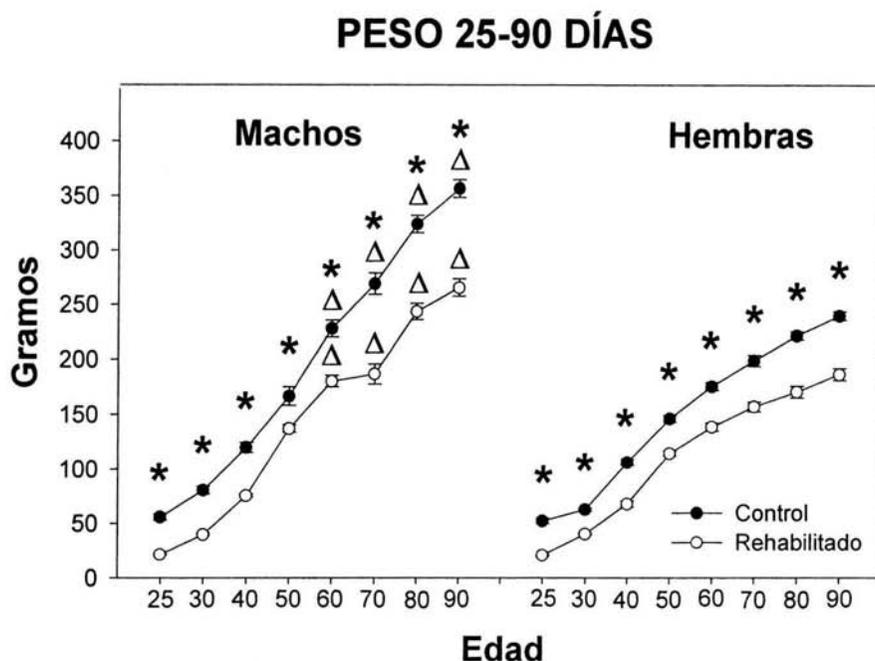
mostró que la diferencia significativa dada por el sexo, que se observa a partir de los 60 días y hasta el final del experimento tiene una  $p < 0.001$ .



**Fig 7.** El peso corporal de las ratas a partir del nacimiento y hasta el destete aumentó significativamente a lo largo del tiempo  $p < 0.001$ . El incremento fue más evidente en el grupo C al compararlo con el R.  $p \leq 0.04$  (\*). Se graficaron los datos con una  $n=36$  para cada grupo  $\pm$  ES.

**Tabla No 5.** Resultados del análisis de ANOVA de dos vías para los valores obtenidos en el peso de los animales del nacimiento al destete.

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,70)	583.91	0.001
Tiempo	(3,210)	520.21	0.001
G X T	(3,210)	128.30	0.001



**Fig 8.** El incremento de peso corporal a partir del destete y al final del experimento fue significativo en todos los grupos  $p < 0.001$ . Los grupos R aumentaron en una proporción menor a los grupos control  $p < 0.001$  (\*)=(C vs R). Los machos de los grupos C y R aumentaron en una proporción mayor a las hembras de los mismos grupos a partir de los 60 días y hasta el final del experimento  $p < 0.001$  ( $\Delta$ )=(machos vs hembras). Se graficaron los datos con una  $n=18$  para cada grupo  $\pm$  ES.

**Tabla No 6.** Resultados del Análisis de ANOVA de tres vías para los valores obtenidos en el peso de los animales del destete a los 90 días de vida.

FACTOR	G.L.	F	p<
Sexo	(1,68)	324.29	0.001
Grupos	(1,68)	436.52	0.001
Tiempo	(7,476)	1149.45	0.001
S X G	(1,68)	15.61	0.001
S X T	(7,476)	54.74	0.001
G X T	(7,476)	11.55	0.001
S X C X T	(7,476)	2.734	0.001

#### **4.2. Peso de algunos órganos frente a las tres condiciones metabólicas**

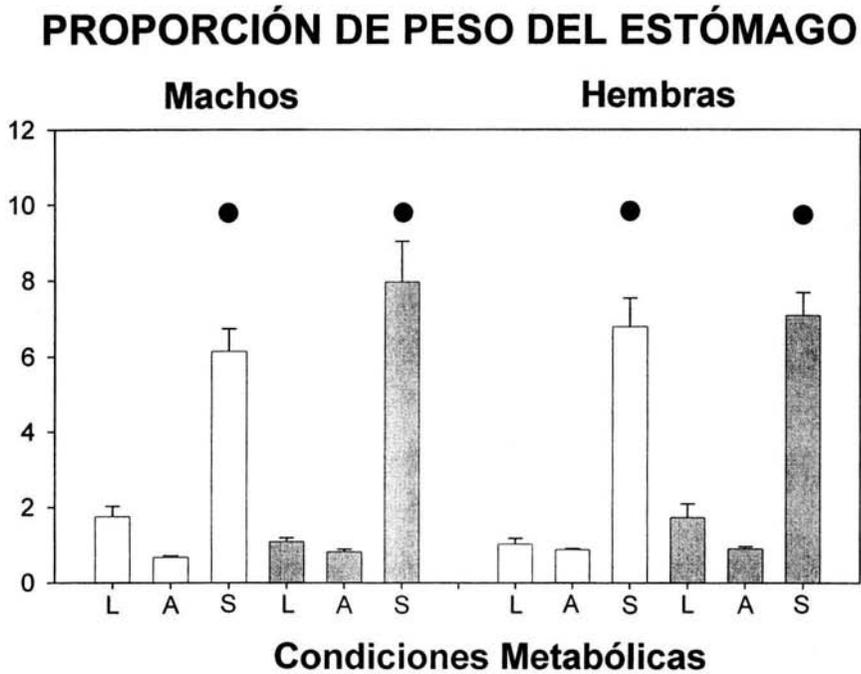
La proporción del peso de los órganos evaluados con respecto al peso corporal, hígado, estómago, grasa gonádica y retroperitoneal al ser pesados en las tres condiciones metabólicas, muestran una dinámica similar tanto en los grupos C como los R no existiendo diferencias significativas por grupos o por sexo. Sólo se presentaron diferencias significativas entre las condiciones metabólicas, en el estómago y en el hígado de ambos grupos C y R y en ambos sexos.

El peso del estómago partiendo de la condición L, tras el ayuno de 48 horas disminuye sin ser significativo, y se incrementa de forma significativa en la condición S al ser realimentadas las ratas (**Fig 9**).

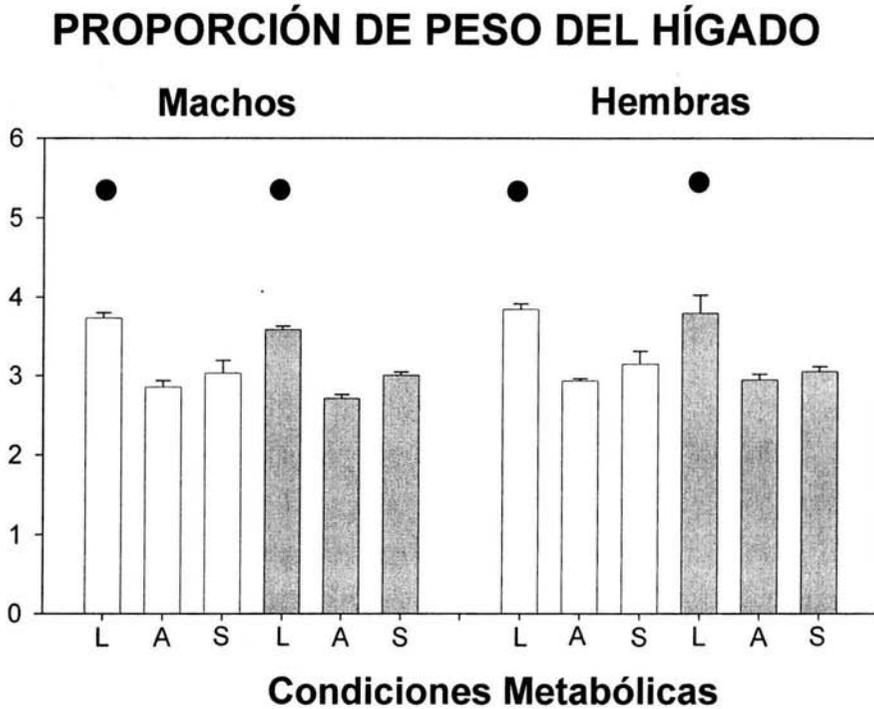
El hígado tiene un peso inicial en la condición L el cuál desciende en la condición A y en S, el peso no se incrementa mas allá del valor obtenido en A (**Fig. 10**).

La grasa gonádica y retroperitoneal en las tres condiciones metabólicas no mostró cambios significativos debido a que permaneció con los mismos valores en todos los grupos y en ambos sexos, por lo cual no se muestran los datos.

El ANOVA de tres vías mostró un efecto significativo debido a las condiciones metabólicas en el estómago y en el hígado (**Tabla 7**). Con la prueba post hoc de Tuckey se observó que las diferencias eran estadísticamente significativas entre las condiciones de *ad libitum*, ayuno y realimentación (saciedad)  $p < 0.001$ .



**Fig 9.** Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R. La proporción de peso del estómago con respecto al peso corporal mostró, una diferencia dada por la prueba post hoc entre la condición S y las demás en todos los grupos con una  $p < 0.001$  y está representada por •. Se graficaron los datos con una  $n=6$  para cada grupo  $\pm$  ES.



**Fig 10.** Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R.

La proporción de peso del hígado con respecto al peso corporal mostró, una diferencia dada por la prueba post hoc entre las condiciones L y las demás en todos los grupos con una  $p < 0.001$  y está representada por •. Se graficaron los datos con una  $n=6$  para cada grupo  $\pm$  ES.

**Tabla No 7.** Resultados del Análisis de ANOVA de tres vías para los valores obtenidos en las condiciones metabólicas del hígado y el estómago. Los resultados de los paquetes adiposos y de los demás factores evaluados no se muestran debido a que ninguno es estadísticamente significativo.

FACTOR (Condición Metabólica)	G.L.	F	p<
Hígado	(2,60)	70.79	0.001
Estómago	(2,60)	207.72	0.001

### **4.3. Respuesta Metabólica**

#### **4.3.1. Triacilglicéridos**

La concentración de triacilglicéridos circulantes evaluada en las ratas varió dependiendo de la condición metabólica en la cual se encontraban. En general, la concentración fue mayor en la condición L, después del ayuno de 48 h la concentración disminuyó y en S se observó una variación en la concentración de los grupos debido a que no todos reaccionaron de igual forma como se observa en la **Figura 11**.

En el grupo C de machos la concentración basal de 128 mg/dL descendió un 50% tras el ayuno de 48 h y después de la realimentación aumentó 123% con respecto a la condición A. Al comparar los grupos C y R de machos se encontró que tenían concentraciones similares en las condiciones L y A. Sin embargo en la condición S el grupo rehabilitado no logra alcanzar un valor semejante al control y se observó que la concentración no se eleva más allá del valor obtenido en A y por lo tanto representó el 69% del grupo C en la condición de realimentación (saciedad). La diferencia no resultó estadísticamente significativa.

En el grupo C de hembras la dinámica fue semejante al grupo C de machos. En el grupo R de las hembras se observó que manejaron en L y A valores un poco más elevados que el grupo C sin ser significativa la diferencia y en la condición S la concentración, baja un poco más que en A sin ser significativo.

El ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas en el grupo de machos debidas a las condiciones metabólicas y la interacción entre los factores grupos y condiciones metabólicas (**ver Tablas 8 A y B**) machos y hembras, respectivamente. El grupo de las hembras no se encontraron diferencias significativas.

En el grupo C de machos, la prueba post hoc indicó que la condición metabólica A es diferente a las condiciones L y S  $p < 0.01$ . Y en el grupo R de los machos la condición A es diferente a la condición L ( $p < 0.03$ ).

### 4.3.2. Ácidos Grasos

La dinámica en la concentración de ácidos grasos en las tres condiciones metabólicas fue semejante en todos los grupos (**Fig. 12**).

Partiendo de la concentración basal L, al pasar a la condición de ayuno, la concentración se incrementó y en S disminuyó a valores cercanos a los encontrados en L en general en todos los grupos, excepto en el grupo control de machos.

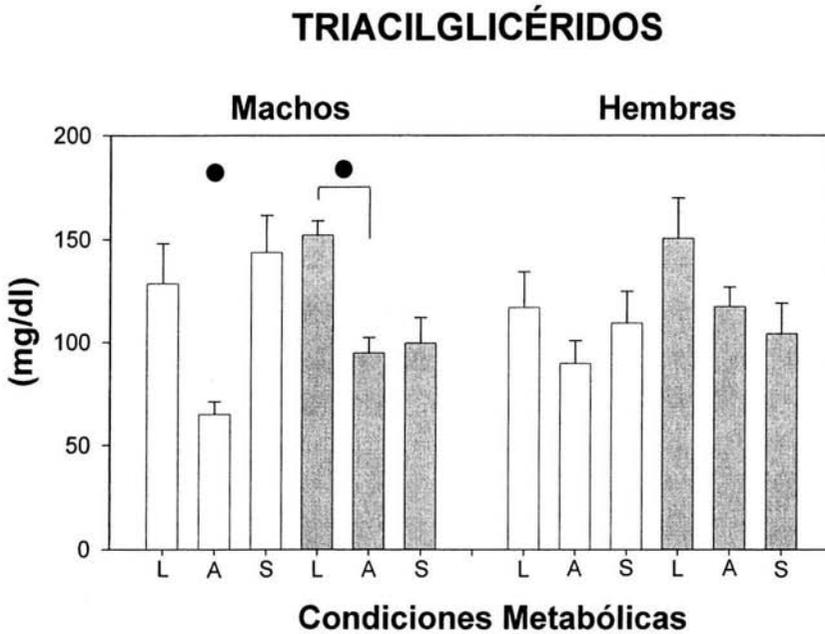
Al comparar los grupos C y R de machos, encontramos que el grupo R presentó en la condición A una concentración 52% mayor con respecto al grupo C en la misma condición. Siendo esta diferencia estadísticamente significativa. En las otras dos condiciones L y S, presentaron ambos grupos valores similares.

En los dos grupos de hembras, la manera de responder en las tres condiciones metabólicas se asemejó al grupo R de los machos manejando valores altos durante el ayuno y siendo esta condición tanto en el grupo C como en el R estadísticamente diferente a las otras dos condiciones (L y S).

Así mismo debido a la alta concentración que se encontró en el grupo C de hembras en la condición A, existió una diferencia del 77% entre género en esta condición.

El ANOVA de tres vías mostró una diferencia significativa debido a las condiciones metabólicas, la interacción entre sexo y condiciones metabólicas así como la interacción entre grupos y condiciones metabólicas (**Tabla 9**).

La prueba post hoc de Tuckey indicó que las diferencias debidas a las condiciones metabólicas se encontraron en el grupos R de machos y en los dos grupos de hembras  $p < 0.04$ . La diferencia que se observó entre sexos en los grupos C en la condición A tiene una  $p < 0.02$ .



**Fig. 11.** Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R. Las diferencias en las concentraciones de triacilglicéridos debidas a las condiciones metabólicas en el grupo C de machos dónde  $A \neq L$  y  $S$ , y en el grupo R en el cuál  $L \neq A$  están representadas por • con  $p < 0.03$ . En los grupos de hembras no se encontraron diferencias significativas. Se graficaron los datos con una  $n=6$  para cada grupo  $\pm$  ES.

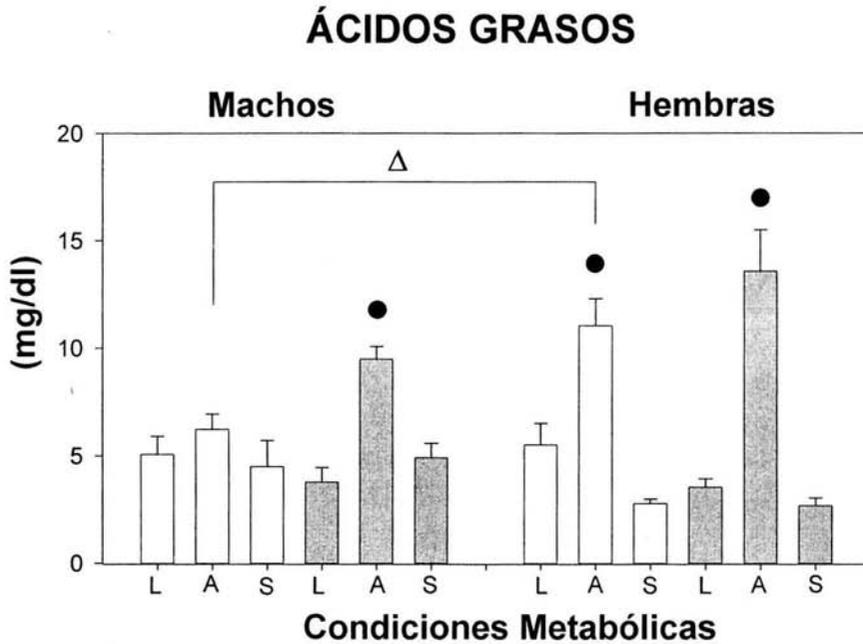
**Tablas No 8 A y B.** Resultados del Análisis de ANOVA de dos vías para los valores obtenidos en la concentración de Triacilglicéridos (A y B machos y hembras, respectivamente).

#### A

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,30)	.08	NS
Condición Metabólica	(2,30)	11.67	0.001
G X CM	(2,30)	5.12	0.01

#### B

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,30)	2.35	NS
Condición Metabólica	(2,30)	2.46	NS
G X CM	(2,30)	0.98	NS



**Fig. 12.** Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R. La variación en la concentración de ácidos grasos en las tres condiciones metabólicas fue diferente y estadísticamente significativa en los grupos: R de machos y los dos grupos de hembras representados por ● con  $p < 0.04$ . La diferencia debida al sexo entre los grupos C en la condición A está representada por Δ con  $p < 0.02$ . Se graficaron los datos  $\pm$  ES.

**Tabla No 9.** Resultados del Análisis de ANOVA de tres vías para los valores obtenidos en la concentración de Ácidos Grasos para ambos sexos.

FACTOR	G.L.	F	p<
Sexo	(1,58)	2.36	NS
Grupos	(1,58)	0.71	NS
Condición Metabólica	(2,58)	53.92	0.001
S X G	(1,58)	0.33	NS
S X CM	(2,58)	12.14	0.001
G X CM	(2,58)	5.55	0.001
S X G X CM	(2,58)	0.002	NS

### 4.3.3. Glucógeno

En la **Figura 13** se muestran las concentraciones del glucógeno hepático. Todos los grupos presentaron una respuesta similar en las tres condiciones metabólicas. Así se observó, que en la condición L se encuentran las concentraciones más altas, en A prácticamente desaparece y en S la concentración aumenta con respecto a la condición A.

En los grupos de machos se encontró una diferencia en la condición metabólica basal L debido, a que el grupo R tuvo una concentración 68% mayor que el grupo C. Las otras dos condiciones (L y S) mostraron valores similares.

De esta manera se encontró en todos los grupos que la condición metabólica L es diferente al ayuno y la realimentación (saciedad).

Los grupos C y R de hembras manejaron prácticamente las mismas variaciones en las concentraciones de las tres condiciones metabólicas.

En la condición metabólica L se encontró una diferencia significativa entre género, ya que el grupo C de hembras representa el 35% del mismo grupo de machos y el grupo R el 21% del grupo R de machos. Lo anterior indica que la relación se mantiene tanto en el grupo control como en el rehabilitado de las hembras y por lo tanto reaccionan de la misma manera.

El ANOVA de tres vías mostró una diferencia significativa debida al factor sexo, grupos, condición metabólica y la interacción de los factores (**Tabla 10**).

La prueba post hoc mostró que las diferencias entre los grupos C y R de machos en la condición L, tienen una  $p < 0.001$ . Las diferencias encontradas en las condiciones metabólicas entre L, A y S tienen una  $p < 0.04$ . Y la diferencia genérica con una  $p < 0.001$  entre los respectivos grupos C y R.

### 4.3.4. Glucosa

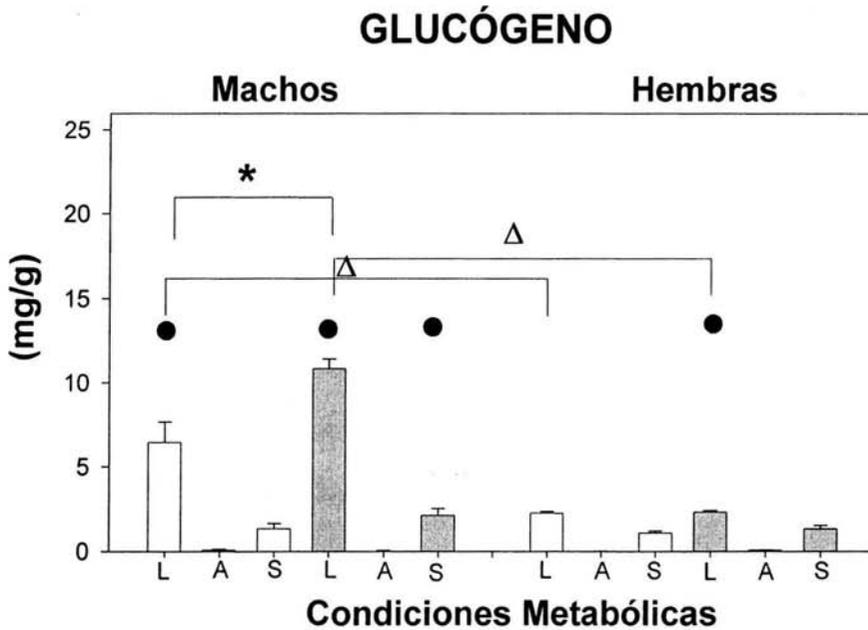
Las concentraciones plasmáticas de glucosa presentaron dinámicas semejantes en todos los grupos en las tres condiciones metabólicas. Al pasar de la condición basal L al ayuno la concentración baja y en S aumenta hasta alcanzar valores similares a la condición L (**Fig. 14**).

Los grupos C y R de machos, presentaron valores similares en las tres condiciones metabólicas así como en la dinámica al pasar de una condición a otra. Así mismo se observó una diferencia entre condiciones metabólicas que se presentó en ambos grupos, ya que la condición A fue diferente a las condiciones L y S.

El grupo C de las hembras presentó valores y una dinámica prácticamente igual a los dos grupos de machos. El grupo R de las hembras presentó una dinámica semejante al grupo control sin embargo, al pasar del ayuno a la condición S se observó un incremento en la concentración del 50% lo que hizo una diferencia al comparar la concentración con el grupo C que tan sólo aumentó 13%. Lo cual dio como resultado una diferencia entre grupos C y R.

El ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas en machos debido al factor condición metabólica y en las hembras el análisis mostró diferencias debidas al factor grupo y condición metabólica (**ver Tabla 11 A y B**) machos y hembras, respectivamente.

La prueba post hoc de Tuckey indicó que las diferencias entre las condiciones metabólicas tanto en los grupos de machos como en el grupo R de hembras tienen una  $p < 0.002$  donde la condición metabólica de Ayuno es diferente a L y a S. La diferencia en hembras entre los grupos C y R en la condición S tiene una  $p < 0.02$ .



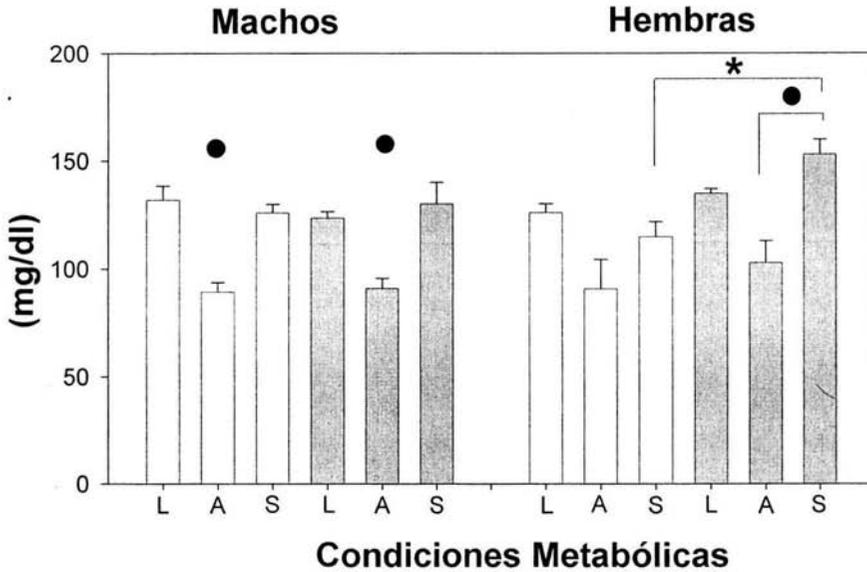
**Fig. 13.** Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R

La diferencia que existe entre grupos C y R en machos está representada por (\*) con  $p < 0.001$ . (●) representa la diferencia entre las condiciones metabólicas (L  $\neq$  A  $\neq$  S) con  $p < 0.04$ . Las diferencias genéricas están representadas por ( $\Delta$ ) con  $p < 0.001$ . Se graficaron los datos  $\pm$  ES.

**Tabla No 10.** Resultados del Análisis de ANOVA de tres vías para los valores obtenidos en la concentración de Glucógeno hepático.

FACTOR	G.L.	F	p<
Sexo	(1,58)	84.86	0.001
Grupos	(1,58)	13.75	0.001
Condición Metabólica	(2,58)	163.65	0.001
S X G	(1,58)	9.90	0.002
S X CM	(2,58)	64.17	0.001
G X CM	(2,58)	6.90	0.002
S X G X CM	(2,58)	7.70	0.001

## GLUCOSA



**Fig 14.** Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R. La prueba post hoc indicó que las diferencias encontradas entre las condiciones metabólicas en las cuales la condición A  $\neq$  L y S o A  $\neq$  S, están representadas por • con  $p < 0.002$ . La diferencia en las hembras entre el grupo C y R en la condición S está representada por \* con  $p < 0.02$ . Se graficaron los datos  $n=6$  para cada grupo  $\pm$  ES.

**Tablas No 11 A y B.** Resultados del Análisis de ANOVA de dos vías para los valores obtenidos en la concentración de Glucosa machos y hembras respectivamente.

### A

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,30)	0.02	NS
Condición Metabólica	(2,30)	27.82	0.001
G X CM	(2,30)	0.62	NS

### B

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,30)	8.62	0.006
Condición Metabólica	(2,30)	12.40	0.001
G X CM	(2,30)	1.91	NS

## **4.4. Respuesta Hormonal**

### **4.4.1. Insulina**

En la **Figura 15** se observa la concentración de insulina en las ratas de los diferentes grupos en las tres condiciones metabólicas.

Parten de una concentración basal en L, la cuál descende en A y aumenta al pasar a la condición S.

En los machos la dinámica en las concentraciones fue la misma tanto en el grupo C como en el R. Sin embargo el grupo C de machos en la condición L presentó una concentración 24% mayor al grupo R siendo esta diferencia significativa. En las condiciones A y S tuvieron valores similares.

El grupo C de hembras manejó en la condición L una concentración que representa el 54% de la concentración del mismo grupo de machos en la condición L siendo esta diferencia significativa. En las condiciones A y S manejan valores similares al mismo grupo C de machos. El grupo R de las hembras presentó la valores y una dinámica semejante a su grupo control.

El ANOVA de tres vías indicó diferencias debidas al factor de condición metabólica y a la combinación de los factores de sexo y grupos (**Tabla 12**).

La prueba posta hoc mostró que la diferencia significativa que se encontró en los machos entre los grupos C y R en la condición L tiene una  $p < 0.04$ . La diferencia en la concentración de la hormona entre los grupos C de ambos sexos en la condición L fue significativa con  $p < 0.01$ . La diferencia en los grupos C y R de machos entre las condiciones metabólicas donde A es diferente de L y S tiene una  $p < 0.001$ .

### **Glucagón**

La concentración de la hormona en los diferentes grupos de animales fue heterogénea (**Fig 16**). Aunque la dinámica fue semejante en algunos grupos, al pasar de la condición L al ayuno la concentración aumenta y en S disminuye pero no en todos los grupos.

Los grupos C y R de los machos presentaron la misma dinámica en las condiciones metabólicas sin embargo, el grupo R maneja concentraciones más elevadas que el grupo C sin ser estadísticamente significativo.

El grupo C de las hembras presentó la misma dinámica que ambos grupos de machos aunque con respecto al grupo C de machos presentaron en las tres condiciones metabólicas valores más elevados en las concentraciones sin que esto fuese estadísticamente significativo. En cambio grupo R de las hembras mostró una dinámica diferente al pasar del ayuno a la realimentación (saciedad) con valores más altos en S en comparación al grupo C. Esta diferencia entre grupos no fue significativa.

El ANOVA de dos vías no indicó diferencias significativas en los grupos de machos. En las hembras el análisis indicó una diferencia significativa debida a la interacción de los factores grupos y condiciones metabólicas  $p < 0.01$  **Tabla 13 A y B** machos y hembras respectivamente.

La prueba post hoc de Tuckey mostró la diferencia en el grupo R de las hembras entre las condiciones L y S  $p < 0.02$ .

#### 4.4.2.1. Índice Insulina-Glucagón

El índice de la relación de la concentración de la insulina y el glucagón que se observa en la **Figura 17**, en general mostró una dinámica semejante pero con concentraciones variables. En la condición L la relación tuvo el valor más alto mientras en A disminuye y en S aumenta aunque no en todos los grupos a valores semejantes a los encontrados en la condición L.

En los grupos de machos se observó que la dinámica fue similar en ambos grupos aunque con valores del índice más elevados en las condiciones L y S en el grupo C. Lo anterior dio como resultado en la condición S una diferencia entre grupos C y R debido a que el grupo C tuvo una relación 44% mayor que el grupo R siendo esta diferencia significativa.

En los grupos de hembras la dinámica en las condiciones L y A fueron semejantes sin embargo, en la condición S la relación fue 13% mayor en el grupo C en comparación al grupo R sin que esta diferencia fuese significativa.

El análisis de ANOVA de dos vías mostró una diferencia significativa debida al factor de grupos y condiciones metabólicas en machos. En hembras se encontró una diferencia significativa debido al factor de condición metabólica ver **Tabla 14 A y B** machos y hembras, respectivamente.

La prueba post hoc indicó que en el grupo C de machos la diferencia debida a la condición metabólica entre la condición A, L y S tiene una  $p < 0.001$ . A la vez se encontró que la diferencia en los grupos C y R de machos observada en la condición S tiene una  $p < 0.01$ .

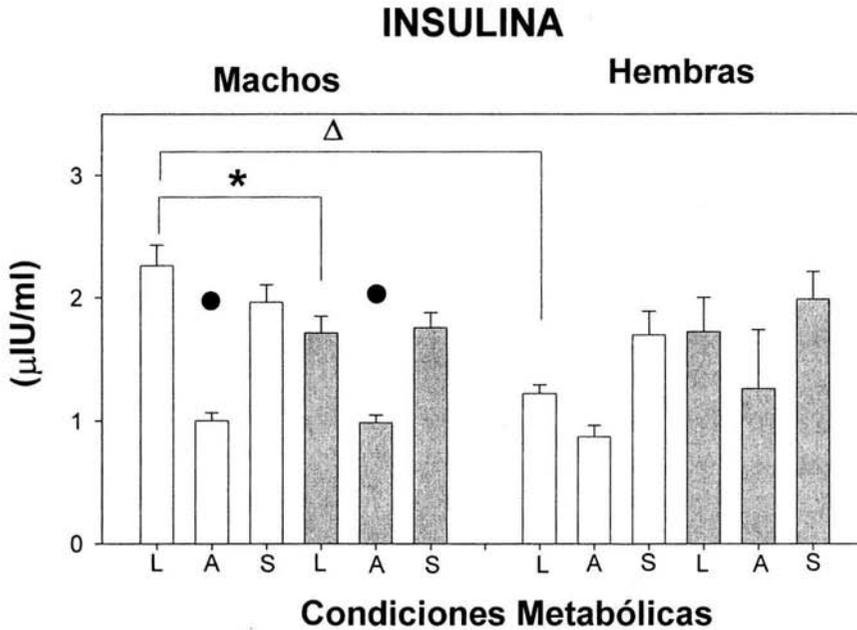
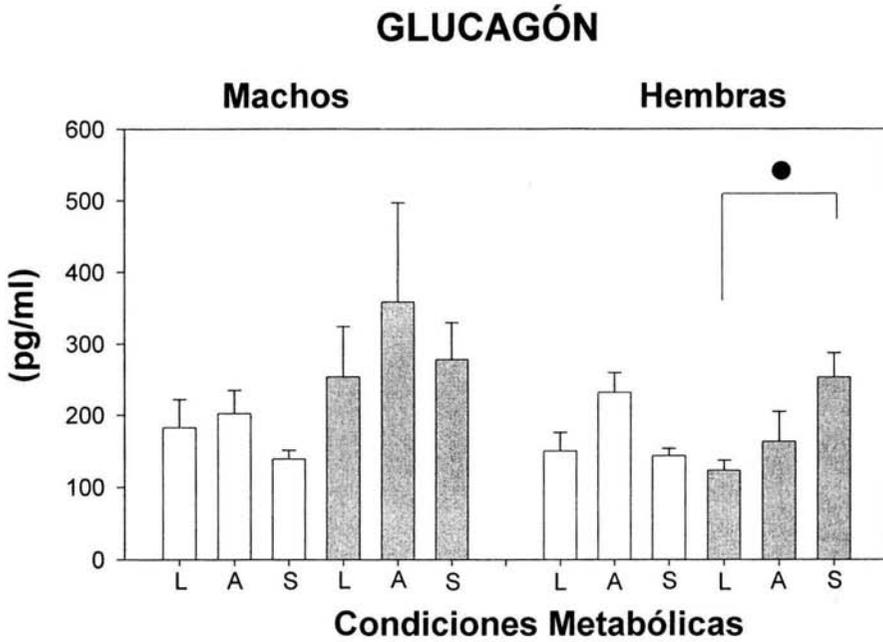


Fig. 15. Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R. La diferencia entre los grupos C y R de machos en la condición L está representada por \* con  $p < 0.04$ . La diferencia genérica entre los grupos C en la condición L se representa por  $\Delta$  con  $p < 0.01$ . • representa las diferencias entre condiciones metabólicas donde A  $\neq$  L y S con  $p < 0.001$ . Se graficaron los datos  $\pm$  ES.

**Tabla No 12.** Resultados del Análisis de ANOVA de tres vías para los valores obtenidos en la concentración de Insulina.

FACTOR	G.L.	F	p <sup>c</sup>
Sexo	(1,67)	1.89	NS
Grupos	(1,67)	0.38	NS
Condición Metabólica	(2,67)	21.58	0.001
S X G	(1,67)	8.48	0.004
S X CM	(2,67)	2.62	NS
G X CM	(2,67)	0.30	NS
S X G X CM	(2,67)	0.79	NS



**Fig. 16.** Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R. La diferencia observada con la prueba post hoc de Tukey en el grupo R de las hembras entre la condición metabólica L y S está representada con • con  $p < 0.02$ . Se graficaron los datos  $\pm$  ES.

**Tablas No 14 A y B.** Resultados del Análisis de ANOVA de dos vías para los valores obtenidos en la concentración de Glucagón machos y hembras respectivamente.

**A**

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,27)	4.07	NS
Condición Metabólica	(2,27)	0.56	NS
G X CM	(2,27)	0.83	NS

**B**

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,26)	0.035	NS
Condición Metabólica	(2,26)	0.079	NS
G X CM	(2,26)	5.280	0.01

## ÍNDICE INSULINA-GLUCAGÓN

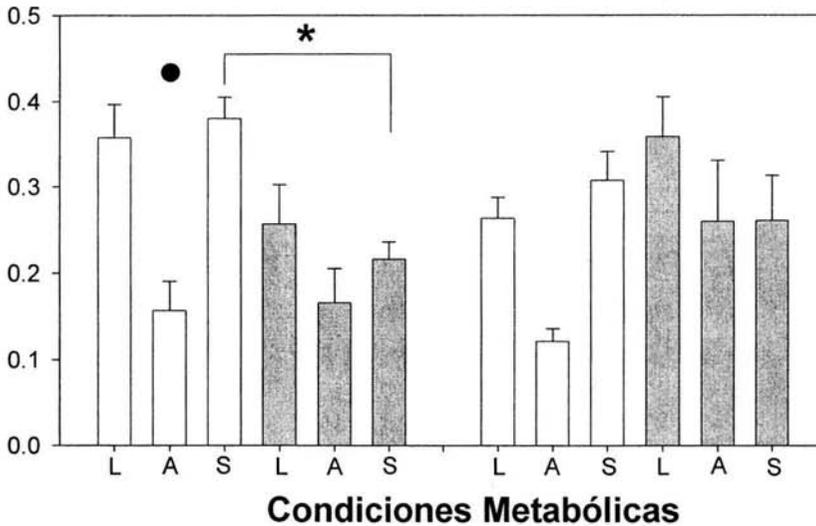


Fig. 17. Las barras claras corresponden a los grupos C y las oscuras a los grupos R. En el grupo C la diferencia encontrada en la prueba post hoc entre la condición metabólica donde A  $\neq$  L y S se representa por  $\bullet$  con  $p < 0.001$ . La diferencia debida a la condición nutricional en el grupo de machos en la condición metabólica S está representada por \* con  $p < 0.01$ . Se graficaron los datos de cada grupo  $\pm$  ES.

Tablas No 14 A y B. Resultados del Análisis de ANOVA de dos vías para los valores obtenidos en el Índice Insulina-Glucagón machos y hembras respectivamente.

### A

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,26)	9.14	0.005
Condición Metabólica	(2,26)	10.75	0.001
G X CM	(2,26)	3.25	NS

### B

FACTOR	G.L.	F	p<
Grupos	(1,25)	2.43	NS
Condición Metabólica	(2,25)	3.45	0.04
G X CM	(2,25)	1.98	NS

## 5. DISCUSIÓN

En este experimento los sujetos sometidos a desnutrición previa a la rehabilitación nutricional presentaron un peso disminuido y similar a lo reportado previamente (Resnick *et al.* 1982 y Perez-Torrero *et al.* 2003), por lo tanto consideramos que nuestro modelo efectivamente replicó un estado de desnutrición.

A partir del destete y hasta los 90 días de edad, periodo durante el cual se llevó a cabo la rehabilitación nutricional, se observó que el efecto de la desnutrición pre y postnatal sobre el incremento de peso se mantiene a largo plazo, ya que los animales rehabilitados tanto machos como hembras a los 90 días de edad pesaron significativamente menos que sus controles nutricionales. Lo anterior coincide con datos ya publicados (Woodall *et al.* 1996).

Así mismo, se observó que las hembras de ambos grupos incrementaron su peso con un valor significativamente menor que los respectivos grupos de machos a partir de los 60 y hasta los 90 días de vida. Esto confirma que el incremento de peso corporal se da de manera distinta entre machos y hembras, observándose un dimorfismo sexual (Stewart & German, 1999). Esta diferencia significativa fue igual en los grupos control y rehabilitados de ambos sexos.

Por otro lado, el parámetro de peso corporal es un buen indicador de rehabilitación dado que el déficit de peso se marcó desde la gestación y la lactancia pero los animales sí incrementan su peso durante todo el experimento. Es probable que el déficit de peso sea debido a factores como disminución en la masa muscular o tejido adiposo.

El peso de los órganos evaluados hígado, estómago, grasa retroperitoneal y gonádica a los 90 días de edad no mostró cambios respecto al peso corporal entre los grupos control y rehabilitado.

Lo anterior sugiere que la rehabilitación nutricional evaluada a través del peso de algunos órganos, sí revierte los efectos de la desnutrición temprana ya que los animales rehabilitados logran alcanzar un peso de los órganos proporcional a su peso corporal, de manera similar a lo observado en los grupos control tanto en machos como en hembras.

El peso de órganos como el hígado y la grasa gonádica al ser evaluado durante el periodo de desnutrición, se ha encontrado que es menor que en animales bien nutridos, pero después de un periodo de rehabilitación nutricional de 12 y 63 días los órganos alcanzan valores semejantes a sus controles nutricionales (Winick *et al.* 1995 y Muaku *et al.* 1996). Lo anterior apoya lo observado en este trabajo en el cual el peso de los órganos es similar entre los animales rehabilitados y controles. Con base en estos datos podríamos decir que una ventaja de este trabajo fue haber evaluado las ratas adultas jóvenes de ambos sexos y al menos en cuanto al peso de algunos órganos se refiere si se rehabilitan.

La respuesta de los órganos de animales controles y rehabilitados de ambos sexos a las tres condiciones metabólicas, mostró una dinámica similar al no existir diferencias entre grupos o sexo.

El peso del hígado disminuyó al pasar de la condición *ad libitum* al ayuno, debido a que no existe la entrada de nutrientes y sí un desgaste metabólico del órgano por el ayuno lo cual obliga a la movilización de glucógeno, etc. (Beyon, 1999). En la realimentación (saciedad) se observó un incremento no significativo y esto puede deberse a que 90 minutos de alimentación es muy poco tiempo para la recuperación del órgano, ya que el hígado repleta el glucógeno gastado como energético durante las 4 horas después de la realimentación (Devlin, 1997) y por lo tanto pasa tiempo antes de recuperar su peso basal.

La diferencia significativa en el peso del hígado entre condiciones metabólicas se observó de la misma magnitud tanto en los grupos control como en los rehabilitados. Esto muestra que al haber una rehabilitación nutricional, los animales pueden adquirir estrategias similares ante diferentes condiciones metabólicas.

El peso del estómago por su parte mostró en los grupos control y rehabilitados de ambos sexos un patrón similar en las tres condiciones metabólicas. Es importante resaltar que el peso del estómago refleja en gran parte la cantidad de alimento y agua contenidos en la condición de ayuno se observa básicamente el peso del órgano, ya que en esas condiciones las ratas no habían ingerido alimento por 48 horas.

Se sabe que las ratas son animales nocturnos (Jensen *et al.* 1983) con lo cual se asume que su alimentación es principalmente en la fase de oscuridad. Los animales fueron sacrificados a las 16:00 h y por lo tanto prácticamente no habían comido. Al comparar los valores obtenidos del peso del estómago en la condición de *ad libitum* y en el ayuno se

puede decir que el valor obtenido en ambas condiciones corresponde al peso del órgano. En la condición de realimentación (saciedad) después de tener 90 minutos de acceso al alimento, el peso del estómago se incrementa significativamente con respecto a la condición de *ad libitum* y ayuno con valores similares en los 4 grupos. Esto indica que responden de la misma manera.

En cuanto al peso del órgano (observado en las condiciones *ad libitum* y ayuno), se puede decir que no fue afectado por la desnutrición a largo plazo debido a que no existen diferencias significativas entre los grupos controles y rehabilitados. Se ha reportado que la desnutrición afecta la proporción del peso del estómago con respecto al peso corporal, si éste es evaluado durante el periodo en el cual se lleva a cabo la desnutrición o inmediatamente después de ésta, pero tras un periodo de rehabilitación nutricional el valor de la proporción se recupera (Weaver *et al.* 1998). Lo anterior coincide con lo observado en este trabajo. De esta manera, el estómago refleja una recuperación por la rehabilitación nutricional.

Los dos paquetes adiposos evaluados, el retro-peritoneal y el gonádico, no mostraron diferencias en la proporción del peso con respecto al peso corporal entre animales control y rehabilitado, entre género o entre condición metabólica.

Anteriormente se ha publicado que el paquete adiposo epididimario sufre cambios en el peso y tamaño, debido a la desnutrición (Shepherd, *et al.* 1997). En este trabajo se observó que tras el periodo de rehabilitación no hay diferencias entre animales control y rehabilitados.

Es importante mencionar que no se evaluó el paquete adiposo abdominal, que según la literatura está asociado con un incremento en el riesgo a padecer resistencia a la insulina, diabetes y el síndrome X (Gasteyger & Tremblay, 2002 y Kreier *et al.* 2002). Este paquete es una grasa que se moviliza con mayor facilidad ante el ayuno y podría reflejar estrategias diferentes en el manejo energético en las tres condiciones metabólicas. En cuanto a las diferencias entre género se ha mencionado que las hembras tienden a acumular más grasa que los machos (Anguita *et al.* 1993), lo cual no se observó en este trabajo con los paquetes adiposos y a la edad evaluada. Por lo anterior, se propone evaluar la grasa abdominal ya que tal vez ésta sería un mejor indicador de la rehabilitación nutricional así como de las condiciones metabólicas y el dimorfismo sexual.

Los triacilglicéridos son moléculas que se que provienen de la dieta, la síntesis de novo, particularmente en el hígado o los almacenes en los adipositos (Mathews *et al.* 1999). En ayuno la concentración disminuye, y después de la ingesta de alimento la concentración aumenta debido a que cerca del 90% de las grasas procedentes del alimento son triacilglicéridos (Schmidt & Thews, 1993).

La concentración de triacilglicéridos entre grupos controles y rehabilitados en las tres condiciones metabólicas y entre género no fue estadísticamente diferente. Sin embargo, se observó que mientras en las condiciones *ad libitum* y ayuno, la dinámica y las concentraciones fueron muy similares en todos los grupos, en la condición de realimentación (saciedad) los grupos control aumentaron la concentración con respecto a la condición de ayuno, debido a la ingesta de alimento, mientras que en los grupos rehabilitados se obtuvieron valores bajos semejantes a los observados en ayuno. Lo anterior podría sugerir que los animales rehabilitados después del ayuno y la realimentación, son sumamente eficientes en el manejo de las grasas para repletar los depósitos de grasa que son utilizados bajo condiciones de ayuno y por tanto pueden movilizar e ingresar más rápidamente las grasas hacia algún paquete adiposo. Esto se ha estudiado en animales que han sido sometidos a periodos de desnutrición seguidos de restricción de alimento y realimentación, lo cual ha comprobado esta eficiencia para el manejo de las grasas (Dullo & Girardier, 1992).

Suponiendo que esta manera particular de reaccionar sea una adecuación del individuo a tener una capacidad de absorción intestinal más rápida, se deberían observar en la acumulación de grasa. Entonces para comprobar lo anterior podría pesarse la grasa abdominal, como se mencionó anteriormente, que parece ser la grasa que se moviliza con mayor facilidad y evaluar su peso en ambas condiciones y observar si hay un incremento considerable después de la realimentación (saciedad). Otra opción podría ser evaluar las concentraciones de triacilglicéridos en intervalos menores a los 90 minutos ya que se esperaría que se modifican más rápidamente que en los grupos control.

Los ácidos grasos normalmente se encuentran en circulación en concentraciones bajas debido a que están acumulados principalmente en el tejido adiposo en forma de triacilglicéridos y son liberados al torrente sanguíneo en caso de ser necesarios debido al ayuno como fuente energética (Schmidt & Thews, 1993).

La respuesta de los ácidos grasos bajo las tres condiciones metabólicas fue la misma en todos los grupos. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre género en los grupos control.

Se ha reportado en estudios preliminares una diferencia debida al género en el manejo de los ácidos grasos. (Triscari, *et al.* 1980 y Hevener *et al.* 2002).

En este trabajo se observó una diferencia entre los grupos control al presentarse una mayor concentración en las hembras en la condición de ayuno en comparación con los machos. Este manejo se mantiene también en el grupo rehabilitado de las hembras. Lo cual indica que el grupo rehabilitado tiene un punto de regulación de los ácidos grasos semejante al grupo control y pudiera ser que no hay daño debido a la desnutrición temprana o bien que la rehabilitación resultó benéfica para recuperar el punto de regulación.

El grupo control de los machos manejó en las tres condiciones metabólicas concentraciones de ácidos grasos similares y a pesar de que en la condición de ayuno aumentan la concentración este incremento no fue significativo. Pudiera ser que la concentración mas elevada de los ácidos grasos en estos animales se diera antes que en los otros grupos o después dependiendo del manejo metabólico de las reservas en estos animales. En el grupo rehabilitado de los machos se observó una dinámica similar a su grupo control sin embargo, se encontró que en el ayuno la concentración aumenta significativamente con respecto a las condiciones de *ad libitum* y realimentación (saciedad) pareciéndose la respuesta a lo observado en ambos grupos de hembras. Al parecer el punto de regulación de estos animales se ve modificado por la desnutrición temprana y la rehabilitación no les da la posibilidad de revertir los efectos de la desnutrición o simplemente regulan a otros valores para cubrir sus necesidades energéticas.

El glucógeno hepático es una reserva energética primaria. En este trabajo encontramos en la condición *ad libitum* de todos los grupos los valores más altos debido a que no es necesaria su movilización para la obtención de energía. En la condición de ayuno prácticamente no se encuentra glucógeno, debido a que todo lo almacenado se utiliza para la liberación de glucosa y la obtención de energía en respuesta a la baja en la concentración plasmática de insulina y glucosa así como un incremento en el glucagón y lípidos (Claeysens *et al.* 1992).

En la condición de realimentación (saciedad) se observó el inicio del proceso de repleción del glucógeno utilizado en el ayuno.

En este sentido el estado basal de la concentración de glucógeno en la condición *ad libitum*, la disminución en la condición de ayuno y el ligero aumento en la condición de realimentación (saciedad), se ven reflejadas en el peso del hígado que muestra el mismo patrón de desgaste y recuperación en las diferentes condiciones metabólicas.

La dinámica mencionada fue prácticamente la misma tanto en los animales control como en los rehabilitados y en ambos sexos. Sin embargo, en los grupos de machos en la condición *ad libitum* encontramos una diferencia en la concentración entre los grupos control y rehabilitado debido a que el grupo rehabilitado tuvo una concentración significativamente mayor al grupo control. Se menciona en la literatura que la concentración de glucógeno en animales desnutridos es mayor que en animales alimentados balanceadamente debido a que se incrementa la cetonemia y baja la glicemia en los desnutridos y con el tiempo llegan a tener concentraciones iguales del glucógeno hepático (Gamallo *et al.* 1989). Sin embargo esto no se observa en el grupo rehabilitado de machos y parece ser que estos animales logran almacenar grandes cantidades de glucógeno y es probable que la rehabilitación haya hecho que tengan un punto de regulación diferente al grupo control, ya que la manera de responder al ayuno y a la saciedad es la misma en ambos grupos.

En las hembras la dinámica en las concentraciones en las tres condiciones metabólicas fue la misma tanto en el grupo control como en el rehabilitado.

Se han reportado diferencias en las concentraciones de glucógeno hepático entre machos y hembras ya que los machos suelen manejar concentraciones más elevadas que las hembras (Triscari, *et al.* 1980; Teutsch, 1984). En este trabajo se observó que se la diferencia en la concentración entre machos y hembras se presenta entre los grupos control y se mantiene en los grupos rehabilitados en la condición de *ad libitum*.

La concentración plasmática de glucosa, mostró el mismo manejo en todos los grupos de animales bajo las tres condiciones metabólicas.

Mientras en *ad libitum* tuvimos los valores basales a esa hora del día, en ayuno bajan debido a que no hay aporte por la dieta y en la realimentación (saciedad) las

concentraciones alcanzan valores similares a los observados en *ad libitum* debido a la ingesta de alimento, como ya se ha reportado (Dallman *et al.* 1999).

Se encontró una diferencia significativa entre los grupos control y rehabilitado de las hembras en la condición de realimentación (saciedad), ya que los animales del grupo rehabilitado presentaron una concentración mayor que los controles. Esta diferencia podría deberse a un mecanismo diferente por parte de las hembras rehabilitadas para el manejo de la glucosa pero sólo después de alimentarse tras un ayuno prolongado. Lo anterior representa una hiperglicemia post prandial (es decir una concentración elevada de glucosa por arriba de lo normal después de la alimentación) que según la literatura podría deberse a una hiperfagia (Maeda *et al.* 2001). Sin embargo en este caso es difícil debido a que en el peso corporal evaluado así como en el peso del estómago después de la realimentación no existieron diferencias significativas entre grupos. La otra alternativa es que las hembras de este grupo presenten una intolerancia a la glucosa post prandial. Esto está relacionado con trabajos en los cuales después de un ayuno prolongado no existen diferencias entre los animales control y desnutridos en las concentraciones de glucosa (Desai & Hales, 1997), pero si después del ayuno se realiza una prueba de tolerancia a la glucosa los animales previamente desnutridos y rehabilitados son menos tolerantes con la edad, pero esto sólo es significativo en los primeros minutos después de iniciar la prueba, después se comportan de la misma manera (Hales *et al.* 1996). Esto podría ser aplicable a los datos obtenidos en este trabajo al elevarse 90 minutos después de tener acceso al alimento, pero no se realizó un análisis posterior a los 90 minutos para ver como respondían los animales.

El manejo de la glucosa está directamente relacionado con la secreción de insulina y en estos animales no se observó una respuesta diferente a los controles en la hormona, que pudiera estar relacionada con este incremento en la concentración de glucosa en estos animales.

Por lo anterior, valdría la pena llevar a cabo diversos experimentos en los cuales se enfrentara al animal previamente desnutrido y rehabilitado, a varios periodos de ayuno y realimentación y evaluar la concentración de glucosa o realizar una prueba de tolerancia a la glucosa y evaluar la concentración de insulina y observar qué tan tolerantes son a la glucosa y verificar si con la edad la tolerancia disminuye. De tal manera que se forzara al animal a mostrar si es que existe un daño en el manejo de la glucosa y este permanece a

pesar de la rehabilitación nutricional. Ya que la hiperglicemia después de la alimentación está relacionada con el desarrollo de la diabetes tipo 2 y el síndrome metabólico en la edad adulta (Phillips, 1998).

Cabe mencionar también que se ha reportado que la tolerancia a la glucosa en hembras adultas jóvenes es menor que en los machos y conforme avanza la edad esto se invierte y los machos se vuelven más susceptibles (Hales *et al.* 1996), de ahí la importancia de realizar los estudios tanto en machos como en hembras.

En las concentraciones de insulina encontramos que los datos obtenidos corresponden con lo reportado anteriormente (Claeysens *et al.* 1992). Presentando todos los grupos la misma dinámica. En la condición basal de *ad libitum* dado que existe glucosa circulante, las concentraciones de insulina se mantienen, en el ayuno disminuyen debido a que los niveles plasmáticos de glucosa bajan y después de la alimentación, la concentración de la hormona se incrementa. Esto está en relación con la dinámica observada en las concentraciones de glucosa.

Sin embargo, encontramos una diferencia significativa en los grupos de machos entre el grupo control y el rehabilitado en la condición *ad libitum*. Los animales control tienen una concentración basal significativamente mayor al grupo rehabilitado. Parece ser que los animales rehabilitados con esa concentración tienen un buen manejo de la glicemia dado que no se observa una mayor concentración de ésta en el grupo que pudiera estar reflejando una resistencia a la insulina, y este es el valor de regulación de estos animales rehabilitados que puede reflejar un reajuste hormonal debido a la desnutrición previa o a la rehabilitación. Datos publicados anteriormente (Dollet *et al.* 1985) mencionan y coinciden con este trabajo en que los animales previamente desnutridos manejan concentraciones más bajas que los animales control. Al igual que con la glucosa, para poder acercarnos más a observar si realmente existe un daño debido a la desnutrición previa, se podría realizar la prueba de tolerancia a la glucosa y a la par se tomar muestras de sangre para evaluar la concentración plasmática de insulina a diferentes edades y observar si es que existe un daño en el manejo de la insulina conforme pasa la edad.

En la literatura se ha reportado que animales machos alimentados de manera balanceada y rehabilitados, manejan concentraciones de insulina más elevadas que las hembras en las mismas condiciones (Desai & Hales, 1997). En este trabajo, lo anterior sólo se encontró

entre los grupos control y las hembras rehabilitadas presentaron una concentración similar al grupo rehabilitado de los machos. Pero al igual que lo que se mencionó anteriormente en el grupo rehabilitado de los machos, el valor obtenido en las hembras rehabilitadas parece ser el punto de regulación adecuado para estos animales a pesar de que no mantienen la relación como entre los grupos control.

La concentración de glucagón mostró dinámicas semejantes en los grupos de machos y en el grupo control de las hembras. La dinámica esperada era, partiendo de los niveles basales en *ad libitum*, al ayuno un aumento debido a la disminución en la circulación de la concentración de glucosa y dado que el glucagón promueve la síntesis de glucosa debe incrementarse la concentración de la hormona, para aumentar la gluconeogénesis e inhibir la síntesis de glucógeno principalmente en el hígado (Devlin, 1997).

En el grupo control de machos se encontró una concentración menor a la encontrada en el grupo rehabilitado sin que esto fuese estadísticamente significativo.

Trabajos previos han reportado valores en las concentraciones de glucagón más altas en animales desnutridos, pero sólo en ciertas etapas en la vida de los animales sin ser significativo (Dollet *et al.* 1985). Por lo general tienen concentraciones muy semejantes ambos grupos, lo cual coincide con nuestros datos y los reportados un poco más recientemente con los cuales las concentraciones son prácticamente las mismas en las condiciones *ad libitum* y ayuno en machos (Claeyssens *et al.* 1992). En la realimentación (saciedad) era de esperarse una baja de esta hormona debido a que la concentración de glucosa se eleva por la ingesta y entonces se inhibe la producción del glucagón. Esta misma respuesta se observó en el grupo control de las hembras aunque con concentraciones más elevadas sin ser significativo con respecto a los demás grupos.

En el grupo rehabilitado de las hembras la dinámica fue muy diferente a los demás grupos ya que existe una diferencia significativa entre las condiciones *ad libitum* y realimentación (saciedad) debido a que en la última condición, la concentración aumenta en vez de disminuir como lo reporta la literatura (Devlin, 1997). Esta desregulación en la secreción de glucagón podría estar relacionada con la hiperglicemia que se observó en el mismo grupo y en la misma condición. Lo cual sería en el sentido en que la secreción de glucagón continúa a pesar del aumento en la concentración de insulina y ello debido al aumento de glucosa aportada por la ingesta.

Aunque no se observaron diferencias genéricas estadísticamente significativas, pudiera ser que las hembras manejen concentraciones más elevadas como se observa en el grupo control, pero no se ha reportado nada al respecto como se ha hecho con la insulina con el manejo diferente entre machos y hembras.

En el índice insulina/glucagón, encontramos que en *ad libitum* hay mayores niveles de insulina que de glucagón y por lo tanto el índice es alto. En ayuno la insulina disminuye y el glucagón aumenta, así el índice disminuye, y en la realimentación (saciedad) el índice de nuevo vuelve a aumentar. Lo anterior concuerda con la literatura (Dollet *et al.* 1985; Claeysens *et al.* 1992).

Se ha reportado que los animales desnutridos manejan un índice inferior a sus controles (Claeysens *et al.* 1992), lo cual se observó entre los grupos controles y rehabilitados de machos pero fue significativo sólo en la condición de realimentación (saciedad).

El grupo control de las hembras mostró una dinámica similar a ambos grupos de machos, lo cual se refleja en las concentraciones obtenidas de la insulina y el glucagón. Sin embargo, en el grupo rehabilitado de las hembras en la condición de realimentación (saciedad) encontramos que el valor del índice es prácticamente igual a la condición de ayuno debido como ya se mencionó a la elevada concentración de glucagón aun después de la alimentación.

En este estudio se observó una similitud entre las ratas desnutridas-rehabilitadas y sus controles. En el se utilizaron adultos jóvenes y para evaluar si estas adecuaciones anatómicas, metabólicas y hormonales perduran a lo largo de la vida del individuo, se modifican a lo largo del tiempo o son afectadas por la edad, sería importante evaluar las variables de este estudio así como algunas otras a diversas edades del animal pero sobre todo en la edad adulta. Este aspecto resulta importante ya que el desarrollo del síndrome metabólico y la diabetes tipo 2, se han observado en adultos maduros o viejos (en el ser humano a partir de los 40 años en general) (Phillips, 1998).

Un aporte importante de este trabajo fue haber evaluado las variables tanto en machos como en hembras, debido a que la mayoría de los trabajos solamente evalúan a los machos y se han reportado, como se mencionó anteriormente, que existen variables como los

ácidos grasos, que se manejan de manera diferente en machos y hembras. En general hay pocos estudios que realicen un trabajo comparativo entre ambos sexos.

Por esta razón este trabajo resulta completo puesto que se sabe que hay mayor susceptibilidad en machos o en hembras a ciertas patologías como la resistencia a la insulina. En este sentido esta línea de trabajo tiene una perspectiva muy amplia para seguir investigando las adecuaciones que los animales sufren debido a una desnutrición temprana, tal como se mencionó en la introducción, si el individuo una vez “programado” tiene o no tiene la capacidad de modular sus puntos de regulación, o si los eventos que suceden en la vida temprana sólo son una “huella metabólica” capaz de modificarse a largo plazo.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, mi postura es apoyar la teoría de la “huella metabólica” propuesta por Waterland, ya que los animales rehabilitados aumentaron de peso, presentaron un peso de órganos proporcional a su peso y un manejo metabólico y hormonal semejante a los animales control. Pero no se puede dejar a un lado la etapa que pasaron en la cual fueron desnutridos y que ya se ha reportado deja secuelas a largo plazo. Lo importante es en este caso evaluar que tan benéfica puede resultar una rehabilitación y que tanto los animales pueden rehabilitarse.

## 6. CONCLUSIONES

- El peso corporal reflejó una rehabilitación nutricional.
- Los órganos evaluados son un indicador positivo de la rehabilitación nutricional y de que la desnutrición temprana no tiene efectos a largo plazo al menos en cuanto a la proporción de los órganos respecto al peso corporal.
- En general los metabolitos evaluados reflejan una rehabilitación nutricional y los animales muestran un manejo metabólico tan eficiente como sus controles.
- En las hormonas evaluadas, el glucagón muestra una concentración elevada en la condición de realimentación (saciedad) en las hembras rehabilitadas, que se manifiesta también el índice insulina/glucagón.
- Existe una diferencia entre machos y hembras en el peso corporal y las concentraciones de ácidos grasos, glucógeno e insulina.

---

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Anguita, R. M; Sigulem, D. M. & Azuaya, L. 1993. Intrauterine food restriction is associated with obesity in young rats. *The Journal of Nutrition*. 123 (8): 1421-1428.
- Benyon, S. 1999. Lo Esencial en Metabolismo y Nutrición. Harcourt. España. 244p.
- Cianfarani, S; Germani, D. & Branca, F. 1999. Low birthweight and adult insulin resistance: the "catch-up growth" hypothesis. *Archives of Disease in Childhood Fetal & Neonatal Edition*. 81: F71-F73.
- Claeyssens, S; Lavoinne, A; Vaillant, C; Rakotomanga, J. A; Bois-Joyeux, B. & Peret, J. 1992. Metabolic changes during early starvation in rats fed a low-protein diet in the postweaning growth period. *Metabolism*. 41 (7): 722-727.
- Dallman, M. F; Akana, S. F; Bhatnagar, S; Bell, M. E; Choi, S; Chu, A; Horsley, C; Levin, N; Meijer, O; Soriano, L. R; Strack, A. M. & Viau, V. 1999. Starvation: Early signals, sensors and sequelae. *Endocrinology*. 140 (9):4015-4023.
- Desai, M; Crowther, N. J; Ozanne, S. E; Lucas, A. & Hales, C.N. 1995. Adult glucose and lipid metabolism may be programmed during fetal life. *Biochemical Society Transactions*. 331-335.
- Desai, M; Crowther, N. J; Lucas, A. & Hales, N. 1996. Organ-selective growth in the offspring-restricted mothers. *British Journal of Nutrition*. 76: 591-603.
- Desai, M; Byrne, C. D; Meeran, K; Martenz, N. D; Bloom, S. R. & Hales, N. 1997. Regulation of hepatic enzymes and insulin levels in offspring of rat dams fed a reduced-protein diet. *American Journal of Physiology*. 273 (Gastrointestinal, Liver Physiology. (36): G899-G904.
- Desai, M. & Hales, C. N. 1997. Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life. *Biology Review*. 72: 329-348.
- Devlin, Th. 1997. Textbook of biochemistry: with clinical correlation. 4a. Wiley-Liss. New York. 1186p.

- Dollet, J-M; Beck, B; Christian, V, Max, J-P. & Debry, G. 1985. Progressive adaptation of the endocrine pancreas during long-term protein deficiency in rats: effects on blood glucose homeostasis and on pancreatic insulin, glucagon and somatostatin concentrations. *Journal of Nutrition*. 115: 1581-1588.
- Dulloo, A. G. & Girardier, L. 1992. Influence of dietary composition on energy expenditure during recovery of body weight in the rat: implications for catch-up growth and obesity relapse. *Metabolism*.41 (12): 1336-1342.
- Escrivá, F; Rodríguez, C. & Pascual-Leone, A. M. 1985. Glicemia, ketonemia, and brain enzymes of ketone body utilization in suckling and adult rats undernourished from intrauterine life. *Journal of Neurochemistry*. 44: 1358-1362.
- Gamallo, J. L; Perry, M. L; Trindade, V. M; Pereira, I. R. & Bernard, E. A. 1989. Effect of pre- and postnatal protein undernutrition on glycemia, ketonemia and liver glycogen concentration in suckling rats. *Annals of Nutrition Metabolism*. 33(5): 266-70.
- Gasteyger, C. & Tremblay, A. 2002. Metabolic impact of body fat distribution. *Journal of Endocrinology Investigation*. 25 (10): 876-83.
- Godfrey, K. M. & Barker, D. J. P. 2000. Fetal nutrition and adult disease. *American Journal of Clinic Nutrition*. 71 (suppl): 1344S-1352S.
- Grantham- Mc Gregor, S.M; Walker, S. P. & Chang ,S. 2000. Nutritional deficiencies and later behavioural development. *Proceedings of the Nutrition Society*. 59: 47-54.
- Hadley, M. 1996. *Endocrinology*. 4ª. Prentice Hall. N J. 518p.
- Hales, C. N. & Barker, D. J. P. 1992. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 35: 595-601.
- Hales, C. N; Desai, M. Ozanne, S. E. & Crowther, N. J. 1996. Fishing in the stream of diabetes: From measuring insulin to the control of fetal organogenesis. *Biochemical Society Transactions*. 341-349.
- Hassid, W. Z. & Abraham, S. 1957. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. In: *Methods in Enzymology*. vol.III. Colowick and C. Kaplan. New York. p. 34-50.

- Hevener, A; Reichart, D; Janez, A. & Olefsky, J. 2002. Female rats do not exhibit free fatty acid-induced insulin resistance. *Diabetes*. 51: 1907-1912.
- Hofman PL; Cutfiel WS; Robinson EM; Bergman, RN; Menon, R K; Sperling M A. & Gluckman PD. 1997. Insulin resistance in short children with intrauterine growth retardation. *Journal Clinic of Endocrinology Metabolism*. 82: 402-406.
- Icaza, S. & Béhar, M. 1981. Nutrición. 2a. Interamericana. México. 250p.
- Jensen, G. B; Collier, G. H. & Medvin, M. B. 1983. A cost-benefit analysis of nocturnal feeding in the rat. *Physiology & Behavior*. 31: 555-559.
- Joshi, S; Garole, V; Daware, M; Girigosavi, S. & Rao, S. 2003. Maternal protein restriction before pregnancy affects vital organs of offspring in Wistar rats. *Metabolism*. 52 (1): 13-18.
- Kreier, F; Fliers, E; Voshol, P. J; Van Eden, C. G; Havekes, L. M; Kalsbeek, A; van Heijningen, C. L; Sluiter, A. A; mettenleiter, T. C; Romijn, J. A; Sauerwein, H. P. & Buijs, R. M. 2002. Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat-Funtional implications. *The journal of Clinical Investigation*. 110 (9): 1243-1250.
- Lehninger, A; Nelson, D. & Cox, M. 1995. Principios de Bioquímica. 2ª. Omega. Barcelona. 910p.
- Lucas, A. 1991. Programming by early nutrition in man. *Ciba Foundation Symposium*. 156: 38-50.
- Maeda, T; sakita, R. Kaihatsu, T. & Miwa, M. 2001. Sustained hyperglycemia and insulin resistance induced by dietary restriction. *Biology Pharmacology*. Bulletin. 24 (8): 950-953.
- Mathews, Ch; Holde, K. E; Ahern, K. 1999. Biochemistry. 3a. Wesley Longman. New York. 1185p.
- Muaku, S. M; Beauloye, V; Thissen, J; Underwood, L. E; Fossion, C; Gérard, G; Ketelslegers, M. & Maiter, D. 1996. Longg-term effects of gestational protein malnutrition on postnatal growth, insulin-like growth factor (IGF)-I, and IGF-binding proteins in rat progeny. *Pediatric Research*. 39 (4): 649-655.

- Murphy, H.C; Regan, G; Bogdarina, I. G; Clark, A. J. L; Iles, R. A; Cohen, R. D; Hitman, G. A; Berry, C. L; Coade, Z; Petry, C. J. & Burns S. P. 2003. Fetal programming of perivenous glucose uptake reveals a regulatory mechanism governing hepatic glucose output during refeeding. *Diabetes*. 52 (6): 1326-1332.
- Neel, J. V. 1962. Diabetes mellitus: A "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *American Journal of Human Genetic*. 14: 353-360.
- Neel, J. V. 1999. The "Thrifty Genotype" in 1998. *Nutrition Reviews*. 57 (5): S2-S9.
- Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA2-1999, Para la atención a la salud del niño
- Norman, A. & Litwack, G. 1997. Hormones. 2ª. Academic Press. San Diego. 558p.
- Norris, D. 1997. Vertebrate Endocrinology. 3ª. Academia Press. San Diego. 634p.
- Novak, M. 1965. Colorimetric ultramicro method for the determination of free fatty acids. *Journal of Lipid Research*. 6: 431-433.
- Onis, M; Frongillo, E. & Blössner, M. 2000. ¿Está disminuyendo la malnutrición? Análisis de la evolución del nivel de malnutrición infantil desde 1980. *Bulletin of the World Health Organization*. 78 (10): 1222-1233.
- Ozanne, S. E; Wang, C. L; Petry, C. J; Smith, J. M. & Hales, C. N. 1998. Ketosis resistance in the male offspring of protein-malnourished rat dams. *Metabolism*. 47 (12): 1450-1454.
- Pennock, C. A. et al. 1973. *Clinical Chemistry Acta*. 48 (193).
- Petry, C. J; Desai, M; Ozanne, S. E. & Hales, N.C. 1997. Early and late nutritional windows for diabetes susceptibility. *Proceeding of the Nutrition Society*. 56: 233-242.
- Perez-Torrero, E; Torrerob, C; Collado, P. & Salas, M. 2003. A paradigm of undernourishing and neonatal rehabilitation in the newborn rat. *Nutrition and Neuroscience*. 6 (2): 113-5.
- Phillips, D. I. 1998. Birth weight and the future development of diabetes: A review of the evidence. *Diabetes Care*. 21 (2S): 150B-155B.

- Read, M. S. 1982. Malnutrition and behavior. *Applied Research in Mental Retardation*. 3: 279-291.
- Resnick, O; Morgane, P; Hasson, R. & Miller, M. 1982. Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 6: 55-75.
- Schmidt, R. F. & Thews, G. 1993. Fisiología Humana. 24<sup>a</sup>. Interamericana. México. 906p.
- Shepherd, P.R; Crowther, N. J; Desai, M; Hales, C.N. & Ozanne, S. E. 1997 Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. *British Journal of Nutrition*. 78: 121-129.
- Snoeck, A; Remacle, C; Reusens, B. & Hoet, J. J. 1990. Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. *Biology of Neonate*. 57, 107-118.
- Srinivasan, T. N. 1983. Measuring malnutrition. *Ceres*. Mar-Apr; 16 (2): 23-27.
- Stewart, S. A. & German, R. Z. 1999. Sexual dimorphism and ontogenetic allometry of soft tissues in *Rattus norvegicus*. *Journal of Morphology*. 242: 57-66.
- Teutsch, H. F. 1984. Sex-specific regionalism of liver metabolism during starvation; with special reference to the heterogeneity of the lobular periphery. *Histochemistry*. 81 (1): 87-92.
- Triscari, J; Bryce, G. F. & Sullivan, A. C. 1980. Metabolic consequences of fasting in old lean and obese Zucker rats. *Metabolism*. 29 (4): 377-85.
- Waterland, R. A. & Garza, C. 1999. Potential mechanism of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *American Journal of Clinic Nutrition*. 69: 179-97.
- Waterlow, J.C. 1996. Malnutrición Proteico-Energética. Organización Mundial de la Salud. Washington. 501p.
- Weaver, L. T; Desai, M; Austin, S; Arthur, H. M. L; Lucas, A. & Hales, N. 1998. Effects of protein restriction in early life on growth and function of the gastrointestinal tract of the rat. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 27: 553-559.

- Winick, M; Fish, I. & Rosso, P. 1995. Cellular recovery in rat tissues after a brief period of neonatal malnutrition. *Journal of Nutrition*. 95: 623-626.
- Woodall, S. M; Breier, B. H; Johnson, B. M. & Gluckman, P. D. 1996. A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth. *Journal of Endocrinology*. 150: 231-242.
- World Health Organization (1985) Diabetes mellitus. A report of a WHO Study Group. Technical Report Series no. 844, pp. 20-25.
- Yeh, Y; Zee, P; Owen, G. & Walker, E. 1982. Effect of postnatal undernutrition on ketone metabolism and its relation to metabolic changes in brain and liver of rats. *Journal of Nutrition*. 112 (6): 1162-1168.