



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTO DE LA ALIMENTACION "AD LIBITUM"
POSTDESTETE SOBRE LAS CRIAS PROVENIEN-
TES DE RATAS SOMETIDAS A RESTRICION
ALIMENTARIA DURANTE EL EMBARAZO Y
LA LACTANCIA**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G I A
P R E S E N T A :
NORMA ROSA GARCIA GUTIERREZ**

MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

	páginas
I. INTRODUCCION	
1. Metabolismo de la rata madre.	1-3
2. Etapas de transición nutricional.	4-13
3. Importancia de la alimentación durante el periodo perinatal.	14-16
5. Rata de laboratorio.	17-19
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	20
III. HIPOTESIS.	21
IV. OBJETIVOS.	22
V. MATERIAL Y METODO.	
1. Animales.	23-25
2. Grupos de alimentación.	25-26
3. Registro de peso de la rata madre.	26
4. Destete.	27-28
5. Valoración del crecimiento postdestete.	28
6. Valoración de la composición de los tejidos	29
7. Determinación de peso seco.	30
8. Cuantificación de proteínas.	30-31
9. Extracción de los acidos nucleicos.	31-33
10. Determinación de los acidos nucleicos.	34-36
11. Preparación de los estandares externos.	36-37

VI. ANALISIS ESTADISTICO.	38
VII. RESULTADOS.	
1. Consumo de la rata madre.	39
2. Peso corporal de la rata madre.	40-41
3. Consumo de las crías durante el destete.	41-42
4. Crecimiento de las crías durante el destete.	42
5. Valoración de la composición química de los tejidos de las ratas durante el destete.	43
6. Composición química del hígado.	43-44
7. Composición del músculo.	45-46
VIII. DISCUSION.	47-56
IX. CONCLUSION.	57
X. RESUMEN.	58-59
XI. SECCION DE TABLAS.	60-72
XII. SECCION DE FIGURAS.	73-100
XIII. BIBLIOGRAFIA.	101-111

I. INTRODUCCION:

1. METABOLISMO DE LA RATA MADRE.

1.1 Gestación.

Los dos primeros tercios de la gestación se caracterizan por ser anabólicos para la madre, antes de que se inicie el rápido crecimiento del concepto, la madre acumula reservas energéticas, en particular aumenta la cantidad de su grasa corporal. Esta acumulación de grasa se debe a una activa lipogénesis unida a una hiperfagia y es inducido por cambios hormonales entre los que cabe destacar la hiperinsulinemia y el progresivo aumento de las hormonas de origen placentario, tales como el HPL, la progesterona y los estrógenos (1-3).

La situación metabólica de la madre cambia en el último tercio de la gestación, el factor que condiciona gran parte de tales cambios es el rápido crecimiento de la unidad feto-placentaria. La degradación de la insulina por la placenta facilita el rápido recambio de esta hormona en la circulación materna; existe además una gran sensibilidad de la célula pancreática a los estímulos insulino-trópicos (1).

La unidad feto-placentaria utiliza glucosa y precursores gluconeogénicos, lo cual trae como consecuencia una disminución de los niveles circulantes de glucosa en la rata madre (4,5). Esta disminución de la glucemia materna puede ser responsable de

su hiperfagia, la cual le proporciona una mayor disponibilidad de sustratos que junto con la hiperinsulinemia permiten a la madre mantener su anabolismo. La hipoglucemia materna puede ser también responsable de una mayor movilización de sus reservas lipídicas (activa lipólisis). La lipólisis junto con la disminución de la captación de lípidos circulantes por el tejido adiposo, y el incremento de lípidos de la dieta conducen a la madre a una hiperlipemia (6). El aumento en la disponibilidad lipídica de la madre, garantiza el aporte de sustratos derivados de su catabolismo al feto. La hiperlipemia de la madre al final de la gestación le sirve también como reserva inmediata para la síntesis de leche, en preparación para la lactancia (1).

1.2. Lactancia.

En la rata durante la lactancia aumenta el gasto cardiaco, se hipertrofian el hígado, el corazón, el intestino y la glándula mamaria, también aumenta su ingesta dietaria de manera importante. El intestino delgado aumenta en peso y longitud, hay hiperplasia del epitelio y un aumento en la capacidad absorptiva total (7).

En la glándula mamaria ocurre un aumento en la utilización de glucosa, triglicéridos y aminoácidos que son dirigidos a la síntesis de lactosa, lípidos y proteínas (7,8).

La hipertrofia del hígado se acompaña de cambios en la actividad de algunas enzimas asociadas al metabolismo de carbohidratos y lípidos.

En el tejido adiposo blanco disminuye la lipogénesis, la captación de triacilglicéridos, y la utilización de glucosa mientras que aumenta la lipólisis (9,10).

Se conoce muy poco en relación con el metabolismo proteico durante el periodo de lactancia.

1.3. Destete.

Al dejar de alimentar a la cría, la glándula mamaria acumula leche ocasionando la distensión del órgano e inhibiendo la síntesis de los componentes de la leche. Por otro lado al no recibir el estímulo de succión se disminuye la liberación de oxitocina y prolactina por la hipófisis del animal lactante lo que conduce también a la disminución en la síntesis y secreción de leche. Los sustratos no utilizados deben ser reorganizados, almacenados o utilizados posteriormente por otros órganos. Los niveles sanguíneos de insulina aumentan hasta en 200% (11). La disminución de prolactina permite que aumente la lipogénesis en el tejido adiposo por lo que las reservas lipídicas movilizadas durante la lactancia se restablecen (12). En la rata destetada el tejido adiposo es uno de los principales sitios de captación de triglicéridos que ya no son utilizados por la glándula mamaria.

2. ETAPAS DE TRANSICION NUTRICIONAL DE LA CRIA.

2.1. Gestación-Parto.

2.1.1 Suministro de nutrientes.

Durante el embarazo de los mamíferos euterianos, existe una relación entre los vasos del embrión y la sangre materna al través de la placenta. Este sistema permite suministrar nutrientes y oxígeno al embrión (4).

La glucosa constituye el principal sustrato para el feto, y la utiliza como fuente de energía, sus esqueletos carbonados son utilizados también para la síntesis de estructuras celulares (4,13). Los aminoácidos y los ácidos grasos esenciales cruzan la barrera placentaria mediante transporte activo (1,13).

Los requerimientos fetales de aminoácidos son grandes, ya que la proliferación celular exige una alta velocidad de síntesis de proteínas, además el feto utiliza los aminoácidos como fuente de energía (1).

Otro posible sustrato fetal es el lactato, que parece ser utilizado al menos por el feto del cordero (1).

Alrededor de la mitad de los ácidos grasos que acumulan los fetos de rata son suministrados por la madre (14-16).

2.1.2. Cambios metabólicos y bioquímicos.

En la rata, la lipogénesis está destinada principalmente a la síntesis de estructuras celulares, ya que esta especie carece de reservas lipídicas. La síntesis de lípidos es muy activa en hígado durante el último periodo de la gestación y disminuye drásticamente en las cercanías del parto (1).

Durante el último periodo de la gestación (último 10% en la mayoría de las especies), todos los tejidos fetales acumulan elevadas cantidades de glucógeno. Los dos principales reservorios de glucógeno son el músculo y el hígado, pero no son utilizados como fuente de energía sino hasta poco antes del parto (17-19).

Durante el periodo preparto, la cetogénesis se activa con el propósito de preparar al neonato para la síntesis de cuerpos cetónicos, que serán la principal fuente de energía del cerebro durante el desarrollo postnatal (1).

2.1.3 Cambios hormonales.

Alrededor de los 100 días de gestación en humano se encuentran diferencias en las células del hipotálamo, y por el estudio de la secreción de hormonas hipofisarias fetales en plasma durante la gestación se ha podido establecer que el feto comienza por secretar los factores hipotalámicos estimuladores de las hormonas hipofisarias. La hormona de crecimiento está

elevado en plasma e hipófisis fetal y disminuye en plasma al final de la gestación. La prolactina también se encuentra alta en el feto, tanto en hipófisis como en plasma durante la gestación (1).

La insulina sólo interviene al final de la gestación (en el último día, en el caso de la rata) en la regulación de la glucógeno sintetasa. En el último día de la gestación los niveles plasmáticos de insulina disminuyen mientras que los de glucagón siguen aumentando hasta el momento del parto (1).

Al nacimiento, la catecolaminas del plasma aumentan causando movilización de sustratos, así activan la glucogenólisis del hígado y del músculo y la lipólisis en el tejido adiposo, esto sucede poco después del nacimiento (20).

2.2 Parto-Lactancia.

2.2.1 Alimentación.

Hasta el momento del parto, todos los requerimientos de nutrientes que mantienen el crecimiento y diferenciación en mamíferos euterianos son proporcionados por el organismo materno. Al nacimiento la ruta de alimentación al través de la placenta se suprime y el animal neonato empieza a alimentarse exclusivamente de leche (21). El feto pasa en pocos minutos de la dependencia materna más estricta a la plena autonomía metabólica. Al mismo tiempo que ocurre esta adaptación, el futuro neonato sufre

hipoxia durante el parto, un severo ayuno inmediatamente después del nacimiento, tras de lo cual recibe una dieta rica en grasa durante la lactancia (1). En mamíferos, durante el periodo de lactancia, del 50%-70% del consumo calórico es en forma de lípidos (20).

La lactancia es determinada por la presencia y conducta de las crías y por la intensidad y duración de la succión los cuales desencadenan un conjunto de reacciones hormonales y metabólicas que terminan en la síntesis y eyección de la leche (22).

La leche de la rata proporciona alrededor del 69% de la energía en forma de lípidos, 8% como carbohidratos y 23% en forma de proteínas (23) (Tabla 1).

Tabla 1.

Valores representativos de la composición de macronutrientes y producción diaria de leche humana y de rata.

Macronutrientes y Producción de leche	Humanos	Rata
Lactosa, g/100 ml leche	7.0	2.6
Lípidos, g/100 ml leche	3.8	10.3
Proteína, g/100 ml leche	1.0	8.4
Producción diaria de leche, ml/24 h	700	40

2.2.2 Cambios metabólicos y bioquímicos.

Prácticamente todas las especies disponen en el momento del nacimiento de reservas de tejido adiposo café y este se encarga de la termogénesis del recién nacido. En la mayoría de las especies, los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo café tienen origen fetal, son sintetizados a partir de la glucosa materna.

Casi todas las especies carecen de tejido adiposo blanco al momento del nacimiento. Sin embargo en el neonato humano 15% de su peso total está constituido por tejido adiposo blanco al momento del nacimiento, lo cual le permite sobrevivir aún si el ayuno postnatal se prolonga.

Las primeras dos horas de vida del humano, se caracterizan por la utilización de glucosa circulante y el consiguiente desarrollo de hipoglucemia, movilización del glucógeno muscular, que traen apareado el aporte y utilización de lactato con fines oxidativos, como sustrato alternativo a la glucosa. Entre la segunda y la sexta hora de vida, el metabolismo se caracteriza por la inducción de la gluconeogénesis, con el restablecimiento de la glucemia al derredor de las tres horas de vida (1).

Inmediatamente tras el nacimiento, la concentración de ácidos grasos se eleva extraordinariamente en sangre tanto en humanos como en ratas (20). Estos ácidos grasos, proceden de los triglicéridos lácteos y sustituyen a la glucosa como sustrato para todos aquellos tejidos capaces de utilizarlos.

El gasto de glucosa que tiene lugar tras el nacimiento es tan intenso que no permite la recuperación de las concentraciones normales de glucosa hasta que tiene lugar la inducción de la gluconeogénesis. (1)

La velocidad de glucólisis y lipogénesis disminuye durante este periodo, mientras que la gluconeogénesis, y la glucogenólisis están elevadas (21). Los cuerpos cetónicos aumentan en sangre inmediatamente tras el parto, y se mantiene a concentraciones muy elevadas durante toda la lactancia. El cerebro del neonato tiene que utilizar los cuerpos cetónicos no solamente como fuente de energía, sino también como proveedores de esqueletos carbonados necesarios para su crecimiento y desarrollo (20).

2.2.3 Cambios hormonales

Existe una elevación de corticosterona (glucocorticoide principal en la rata) libre plasmática que comienza alrededor de las 48 horas después del nacimiento (1).

Los niveles circulantes de tiroxina se elevan significativamente durante la segunda semana de vida postnatal (1).

La obliteración del cordón umbilical provoca un aumento de la presión sanguínea y esta es detectada por los barorreceptores fetales que ordenan la secreción de catecolaminas. Por último,

estas hormonas provocan a nivel pancreático la secreción de glucagon y la inhibición de insulina. El resultado es la caída drástica de la relación insulina/glucagon que produce entre otras cosas la glucoenolisis y cetogénesis (13,20,23).

3. Lactancia-Destete.

3.1 Definición e inicio.

Al iniciar el destete, el aporte dietario de la leche se complementa con la ingesta de cantidades crecientes de alimento sólido, hasta que la leche ya no es consumida (24).

Se denomina destete al periodo de transición alimentaria que sufre el lactante al pasar en forma progresiva o abrupta de alimentarse exclusivamente con leche materna a la alimentación sólida (25) o en términos de nutrición, el destete representa una transición de una dieta rica en grasas y pobre en carbohidratos a una dieta pobre en grasa y rica en carbohidratos (1,23).

El proceso espontáneo del destete incluye otros cambios dietarios importantes, tales como la cantidad de hierro ingerido. La leche de rata, así como la humana y la de vaca, son pobres en hierro, a diferencia de la dieta sólida (1).

A partir de los días 15 al 17 de vida, las crías de rata empiezan a roer alimento sólido y gradualmente disminuyen el consumo de leche hasta que ingieren 100% de sólidos alrededor del día 23 (21-24) Fig. 1.

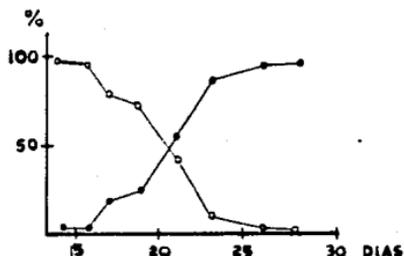


Fig 1. Patrón de destete en la rata: (O)leche, (●)Chow.

2.3.2 Cambios fisiológicos en la cría durante el destete.

La transición entre lactancia y destete en ratas involucra a numerosos cambios bioquímicos y fisiológicos. Estos incluyen no solamente la primera aparición de ciertas enzimas y alteración en las actividades de otras, sino también la maduración de algunas funciones endócrinas (26, 27).

El destete coincide con la maduración del sistema nervioso central e inhibe la actividad de las estructuras neurales que regulan la succión y la conexión gradual de los sistemas de regulación alimentaria (22).

El cambio en la composición de la dieta durante el destete estimula la maduración del tracto gastrointestinal, que se caracteriza por un aumento en la altura del vello, cripta

profunda, aumento en la migración de células, volumen de la mucosa y aumento en el contenido de DNA y RNA, también varias enzimas de la mucosa aumentan su actividad rápidamente (24,28) el cambio cuantitativo en el contenido de hierro de la dieta animal es crítico para la maduración final de la sacarasa yeyunal (1).

A la cuarta semana de edad el grado de madurez del tracto gastrointestinal es comparable con el del animal adulto. Algunos estudios sugieren que la proteína contenida en la dieta de destete inicia los cambios que conducen a la maduración del tracto gastrointestinal (24,28).

2.3.3 Cambios bioquímicos y metabólicos.

La alta capacidad de oxidación de ácidos grasos y cuerpos cetónicos propia de la lactancia decrece rápidamente, se incrementa de modo proporcional las actividades lipogénica y colesterogénica. Se instaura una maquinaria metabólica principalmente orientada al uso de carbohidratos, en contraste con la importante utilización de lípidos que representó la lactancia (29-32).

La capacidad oxidativa de ácidos grasos no esterificados permanece elevada en el corazón y disminuido en el músculo esquelético (33,34).

La glucosa cinasa, enzima que permite al hígado captar grandes cantidades de glucosa; se induce durante el destete, a medida que se ingieren altas cantidades de carbohidratos (1,23).

3.4 Cambios hormonales durante el destete.

En el destete disminuye el glucagón en plasma, mientras que la insulina y los corticoides se elevan (20,23,35-40).

La concentración de hormonas tiroideas aumenta en la circulación justo antes de la iniciación del destete y permanece alta hasta la cuarta semana de edad (41).

Los glucocorticoides pueden ser las hormonas responsables de la regulación del desarrollo intestinal ya que las concentraciones circulantes de corticosterona aumentan notablemente al comienzo de la tercera semana de vida postnatal (24). También la tiroxina (T4) ha recibido una gran atención como posible candidato para la regulación del desarrollo intestinal en la rata, porque sus concentraciones circulantes se elevan significativamente durante la segunda semana de vida postnatal (21).

La insulina actúa directamente sobre la maduración enzimática (24,42) y sobre la proliferación de las células epiteliales del intestino del ratón lactante, sin embargo, se desconoce su mecanismo de acción a nivel de la mucosa intestinal (24).

Se ha demostrado que la concentración de gastrina a nivel antral alcanza los niveles del adulto a los 21 días de vida postnatal, fecha que corresponde al comienzo del destete y a la iniciación de los cambios del desarrollo intestinal (1,28).

3. IMPORTANCIA DE LA ALIMENTACION DURANTE EL PERIODO PERINATAL.

3.1 Efectos de la restricción alimentaria.

La disminución en el consumo de proteínas y energía tiene un profundo efecto sobre el crecimiento de ratas (43-45). La velocidad de crecimiento alcanza su máximo cuando la cantidad de proteína en la dieta es de 25%, si se aumenta más la cantidad de proteína, la velocidad de crecimiento disminuye (43).

Es posible retrasar el crecimiento fetal si se limita el consumo de alimento, o bien, la proporción de proteínas en la dieta materna. Al disminuir la velocidad de crecimiento disminuyen progresivamente la cantidad de células de todos los órganos. La reducción en la cantidad de células cerebrales es proporcional a la de otros órganos (46).

Numerosos estudios han sugerido que las alteraciones nutricionales sufridas en los primeros días de vida pueden provocar efectos prolongados sobre la madurez del organismo (47-51).

Algunos de los métodos más comunes que se utilizan para desnutrir crías de rata durante la lactancia (52) son los siguientes:

1. Aumento en el número de individuos por camada.
2. Bajo contenido protéico en la dieta de la rata madre.
3. Consumo limitado de alimento por la rata madre.
4. Colocar las crías con una hembra no-lactante.

5. Colocar las crías en una incubadora.

6. Reducción del número de tetas.

Al modificar el patrón de nutrición durante el periodo de lactancia se altera el desarrollo subsecuente de las ratas. Los animales con acceso no limitado de leche en las primeras semanas de vida llegan a ser adultos más grandes que las camadas con un suministro limitado de leche a pesar de ser alimentadas ad libitum en el destete (47). Las crías restringidas dan prioridad al mantenimiento de su crecimiento longitudinal (48).

Algunos autores (49-51) han mostrado que la composición corporal materna, la producción de leche y el crecimiento de las camadas se afectan cuando se somete a los animales a restricción dietaria y es más pronunciada en los aquellos que se restringen por primera vez durante la lactancia que cuando sus madres fueron desnutridas crónicamente.

3.2 Recuperación del crecimiento y composición corporal.

Cuando la velocidad de crecimiento de animales o niños ha sido retardada por una restricción alimentaria durante la gestación o la lactancia, la velocidad de recuperación del crecimiento es más rápida después de desaparecer la restricción (53-55).

Las ratas que se realimentan después de ayuno o de un periodo de restricción alimentaria consumen más alimento y ganan

más peso que las ratas alimentadas "ad libitum" ya que el crecimiento de las alimentadas ad libitum es mas lento pero continuo (47, 56). Este crecimiento compensatorio ha sido informado por varios autores (57, 58), junto con tal aceleración del crecimiento, la rata muestra cambios en su composición corporal que incluyen un aumento del contenido tisular de proteínas y acumulación de agua (52,53).

La restricción alimentaria inhibe la acumulación de DNA, RNA y proteínas, pero aumenta dos veces al realimentarse. La restricción alimentaria además de inhibir la acumulación de RNA disminuye la concentración del mismo (55). La deficiencia dietaria de proteínas disminuye la concentración de RNA en músculo esquelético de aves (59) y ovejitas (60). Después de realimentarse, la concentración de RNA aumenta rápidamente.

El peso del músculo esquelético, la cantidad de DNA y proteínas, la relación prot/DNA se reducen importantemente con una severa restricción alimentaria pero esto no ocurre cuando la restricción alimentaria es moderada (48,55,61,62).

Mendez y Waterlow (1958) (63) observaron un periodo de latencia entre la realimentación de ratas con depleción de proteínas y la recuperación del crecimiento del músculo. La restricción de energía no afecta el metabolismo basal, ni el almacenamiento de proteínas pero produce una disminución en el acumulo y recambio de lípidos (44) en ratas en crecimiento. A diferencia de lo anterior en animales y humanos adultos el metabolismo basal se afecta significativamente durante la

restricción de energía.

5. RATA DE LABORATORIO.

5.1. Características de la rata de laboratorio.

La clasificación taxonómica que se utilizó en este estudio según Hall (1981) (64,65), es la siguiente:

REINO:	ANIMAL
PHYLUM:	Chordata
CLASE:	Mammalia
INFRACLASE:	Eutheria
ORDEN:	Rodentia
SUBORDEN:	Myomorpha
FAMILIA:	Muridae
SUBFAMILIA:	Murinae
GENERO:	<u>Rattus</u>
ESPECIE:	<u>norvegicus</u>
SUBESPECIE:	<u>norvegicus</u>
CEPA:	Sprague-Dowley

La rata de laboratorio desciende de las ratas domésticas. Es un roedor pequeño de aspecto curioso, hábitos nocturnos, inteligente y de gran docilidad. Su comportamiento es bien definido, de fácil manejo, requiere de poco espacio y es muy prolifera. Su periodo de gestación es de 21 o 22 días (66).

Las primeras razas de ratas que fueron utilizadas en el laboratorio son: Rattus rattus y Rattus norvegicus de cepa Wistar blanca, Long Evans Hooded y Sprague Dawley.

La rata tiene la ventaja, sobre el ratón, de proporcionar una mayor cantidad de material experimental, características deseables dentro de la investigación. El estudio del metabolismo

perinatal de la rata nos permite un acercamiento sustancial a la situación metabólica existente en la especie humana. Además de que las concentraciones de los principales metabolitos es parecido al de la especie humana, la evolución perinatal parece ser idéntica, el desarrollo de sus tejidos especialmente el cerebro, coincide aproximadamente en el tiempo, con el de la especie humana (1).

La rata es la especie mejor conocida desde el punto de vista metabólico (1). Presenta un estró postparto diapausa facultativo, cuya duración está relacionada con el número de crías y la duración de la lactancia (66).

5.2. Sexaje y crianza.

Antes de la cruce de cualquier animal es muy importante saber diferenciar al macho de la hembra, por lo que se debe tener conocimiento sobre el sexaje de los mismos Fig 2.

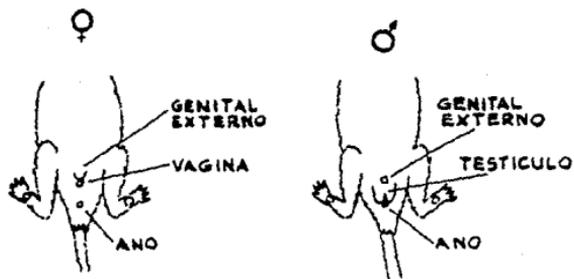


Fig 2. Genitales externos de la rata hembra y macho.

La hembra juega un papel muy importante en la crianza, pues es ella la que dará crías de calidad si se le mantiene en buenas condiciones de vida, sana y bien alimentada (66).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Cuando la velocidad de crecimiento ha sido retardada por una restricción alimentaria, al suspender la restricción alimentaria se provoca un aumento en la velocidad de crecimiento. La velocidad de crecimiento en el periodo de recuperación es más rápida que la de ratas bien alimentadas de manera permanente.

Se desconoce como se modifica la composición del hígado y el músculo de la rata cría sometida a restricción alimentaria durante la gestación y la lactancia cuando se le alimenta de manera ad libitum en el destete.

III. HIPOTESIS.

Las ratas cuyas madres fueron restringidas durante el periodo de gestación y lactancia y posteriormente sometidas a una alimentación ad libitum durante el destete adquieren una velocidad de crecimiento mayor que la de animales cuyas madres fueron alimentadas permanentemente ad libitum, sin alcanzar el tamaño final de estas.

La composición del hígado y del músculo de las ratas en recuperación, hijos de madres restringidas, es diferente al de ratas mantenidas en condiciones normales de alimentación.

IV. OBJETIVOS.

1. Estudiar el efecto de la alimentación ad libitum durante el destete sobre el crecimiento de las crías de ratas sometidas a restricción alimentaria durante el embarazo y la lactancia.

2. Conocer las modificaciones en la composición de hígado y músculo que se presentan en estas mismas condiciones.

V. MATERIAL Y METODOS:

1. ANIMALES:

1.1. CONDICIONES DE ADAPTACION:

Se utilizaron 61 ratas de la cepa Sprague-Dowley hembras adultas de 12 semanas de edad adaptadas a un ciclo de luz-oscuridad de 12 h. (0700-1900) y a una temperatura de 22 grados C. Las ratas se desparasitaron con metronidazol durante cuatro ó cinco días a las trece semanas de edad y se mantuvieron en reposo durante una semana. Los animales tuvieron acceso a agua y a dieta no purificada (Nutricubos, Guadalajara; México) ad libitum.

1.2. APAREAMIENTO:

Una semana antes del apareamiento los animales se marcaron en las orejas para su identificación y se registró su peso. El marcaje se llevó acabo mediante el método Universal que se muestra en la figura 3.

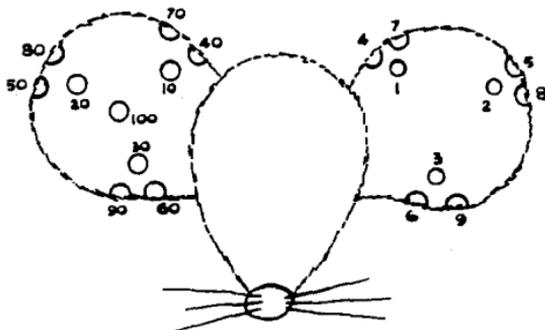


Fig 3. Método Universal de marcaje de orejas para rata.

En la siguiente semana se aparearon sólo aquellas hembras cuyo peso estuviera entre los 220 y 270 g.

Cuando los animales tuvieron de 14-16 semanas de edad se aparearon con machos de la misma especie en edad reproductiva (14-48 semanas de edad). Se colocaron en jaulas colectivas de cinco a seis hembras con dos machos a las 16:00h y se retiraron los machos a las 9:00 h de la mañana siguiente.

La crua se realizó durante tres días consecutivos.

1.3. DIAGNOSTICO DE EMBARAZO:

El diagnóstico de embarazo se realizó a las 9:00 h del día siguiente de la crua mediante frotis vaginal.

Con una punta de pipeta de plástico desechable se tomó un poco de solución salina y se introdujo en la vagina de la rata como se muestra en la fig 4. El líquido depositado en la vagina se succionó y se colocó una gota de la muestra en un portaobjetos limpio y debidamente etiquetado. La muestra se observó al microscopio óptico a 10 x para detectar la presencia de espermatozoides.



Fig. 4 Métodos de sujeción y Frotis vaginal de la rata.

El día en que se detectaron espermatozoides en el fluido vaginal se denominó día uno de embarazo.

Las ratas embarazadas se separaron en jaulas individuales y se alimentaron ad libitum durante siete días.

2. GRUPOS DE ALIMENTACION:

Al octavo día de embarazo se formaron dos grupos de ratas al azar:

GRUPO I: Alimentados ad libitum. Se utilizaron 33 ratas y se les proporcionó agua y alimento ad libitum, la composición del alimento se muestra en el cuadro 1.

El consumo de alimento de este grupo se registró diariamente para controlar la ingesta del grupo II.

GRUPO II: Con restricción alimentaria. Se utilizaron 28 ratas y se les proporcionó 70% del consumo promedio del grupo I en el día anterior. Con este procedimiento se toman en cuenta las variaciones diarias que presenta la ingesta de las ratas durante el embarazo, la lactancia y el destete.

A las ratas de ambos grupos se les permitió llevar a término su embarazo.

TABLA 1
COMPOSICION DE LA DIETA (NUTRICUBOS (R) PURINA Co.)
POR 100 g DE PESO SECO

NUTRIENTES	g	NUTRIENTES	mg
Kilocalorias	372.01	Tiamina	0.0113
Proteinas	26.1	Riboflavina	0.091
Grasa	2.8	Niacina	1.07
Carbohidratos	55.1	Acido Pantotenico	0.26
Fibra	6.8	Acido F6lico	0.067
Cenizas	9.9	Piridoxina	0.068
Calcio	1.1	Biotina	0.0079
Fosfato	0.68	B-12 mcg	2.5
Potasio	1.25	Vitamina A UI	125
Sodio	0.45	Vitamina D UI	300
Hierro	0.0225		
Zinc	0.0065		

3. REGISTRO DE PESO DE LA RATA MADRE:

El peso de las ratas madre se registr6 diariamente desde el primer dia de embarazo, durante toda la lactancia y el destete.

El dia del parto se tom6 como el primer dia de lactancia y la camada se ajust6 a 8 crias colocando 5 machos y 3 hembras.

4. DESTETE:

El día 21 de la lactancia se separaron las crías de la madre en ambos grupos, se consideró al día siguiente como día 1 de destete.

Se determinó el sexo de cada cría y se separó machos de hembras y se les colocó en jaulas individuales.

El estudio de la cría fué realizado solamente en los machos de cada camada, ya que el crecimiento de los machos y las hembras es diferente y esto ocasiona dispersión de los datos y confusión en las conclusiones. Las hembras del grupo control además se utilizaron para la reproducción de la colonia.

Se marcaron las orejas por el método descrito anteriormente. Las crías de ratas control se mantuvieron separadas de las crías de ratas restringidas.

GRUPO Crías Ad libitum: Se utilizaron 66 crías provenientes de ratas alimentadas ad libitum durante el embarazo y la lactancia.

GRUPO Crías en Recuperación: Se utilizaron 56 crías provenientes de ratas que se sometieron a restricción alimentaria del 70% durante el embarazo y la lactancia y se denominaron crías restringidas en recuperación.

Los dos grupos de crías fueron alimentadas ad libitum desde el momento del destete con el mismo preparado comercial

mencionado anteriormente. Tuvieron agua disponible todo el tiempo y se les mantuvo con ciclos de luz-oscuridad de 12 hrs (7:00-19:00 hrs).

5. VALORACION DEL CRECIMIENTO POST DESTETE:

La valoración del crecimiento durante el destete se llevó a cabo mediante el registro de la longitud de la cola y el peso corporal de la cría.

Los animales del grupo control y del grupo en recuperación se pesaron tres veces por semana con una balanza granataria de marca OHAUS con sensibilidad de 0.01 g.

La longitud se midió de la base a la punta de la cola también tres veces por semana con ayuda de un vernier con una precisión de 0.1 cm.

El consumo diario de alimento se cuantificó desde el día 21 hasta los 42 días de edad (3 semanas post-destete). A cada camada se le colocaron diariamente 150 g del alimento comercial alrededor de las 9:00 de la mañana y se recogió el alimento no consumido al día siguiente a la misma hora.

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

6. VALORACION DE LA COMPOSICION DE LOS TEJIDOS:

6.1. SACRIFICIO DE LOS ANIMALES:

Se sacrificaron por dislocación cervical dos miembros de cada una de las 6 camadas de cada grupo, los días 22, 28, 35 y 42 de edad (1, 7, 14, 21 días postdestete).

6.2. TEJIDOS:

A cada animal se le disecó el hígado y el músculo de la extremidad posterior derecha, se registró el peso húmedo del tejido con una balanza de marca OHAUS de un brazo con una sensibilidad de 0.01g. Inmediatamente los tejidos se colocaron en hielo y se picaron con ayuda de unas tijeras para homogeneizarlos posteriormente.

6.3. HOMOGENEIZACION DE LOS TEJIDOS:

Cada uno de los tejidos se homogeneizó en solución salina isotónica fría en proporción 1:10 (p/v) con un homogeneizador Polytron. El tiempo de homogeneización fue de un minuto para ambos tejidos. El tejido se mantuvo en hielo durante todo el procedimiento.

Los homogeneizados se utilizaron para determinar la concentración de proteína y ácidos nucleicos.

7. DETERMINACION DE PESO SECO:

Un gramo del tejido se utilizó para determinar el peso seco por gravimetría. Para ello el tejido se colocó en frascos de vidrio con capacidad de 5.0 ml se sometieron a desecación a 90 grados C en una estufa de marca Thelco hasta obtener peso constante.

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

8. CUANTIFICACION DE PROTEINAS:

La concentración de proteína de los tejidos se determinó con el método descrito Itzhaki y Gill (67). Que se basa en la medición de la absorción en la región ultravioleta del complejo formado entre la proteína y el cobre en una solución de sulfato de cobre 0.21% en hidróxido de sodio al 30%.

Los tejidos previamente homogeneizados se diluyeron en diferente proporción con agua destilada, para tener densidades ópticas dentro de los límites de sensibilidad de la curva estándar. Un mililitro de cada dilución se hace reaccionar con la solución alcalina de sulfato de cobre 0.21% en hidróxido de sodio al 30%. Una vez que la proteína reacciona con el cobre durante 10 minutos, la mezcla de la reacción se extrae con dos mililitros de tetracloruro de carbono para eliminar los lípidos que pueden interferir en la reacción.

A otro mililitro de la dilución del tejido se le añade solución de hidróxido de sodio al 30%, la densidad óptica de esta mezcla se le resta a la densidad óptica de la mezcla que contiene sulfato de cobre con el fin de eliminar la interferencia provocada por algunos compuestos que pueden reaccionar con la solución alcalina y absorban luz inespecíficamente en la región ultravioleta del espectro.

La curva estándar se elabora con albúmina sérica bovina con límites de concentraciones entre 0.1-1.0 mg/ml.

Las lecturas se realizaron con un espectrofotómetro de marca Carl-Zeiss a 310 nm con celdas de cuarzo con capacidad de un mililitro y paso de luz de un centímetro.

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

9. EXTRACCIÓN DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS:

Los ácidos nucleicos se extrajeron del tejido utilizando el método descrito por Schneider (49). La ventaja de este método es que permite la extracción simultánea del DNA y RNA para determinarlos mediante reacciones colorimétricas específicas del carbohidrato asociado a cada ácido nucleico.

El tejido se trata primero con ácido perclórico frío para eliminar moléculas pequeñas y después con solventes que eliminan

los lípidos que puedan interferir en la reacción; posteriormente ambos ácidos nucleicos se extraen con ácido en caliente.

1.- Precipitación con HClO₄ 0.2N final:

En este paso se precipitan las proteínas y los ácidos nucleicos, para eliminar compuestos de bajo peso molecular.

A una alícuota del homogeneizado del tejido (hígado y músculo) se le añade ácido perclórico en frío y se deja reposar durante 30 min a -4 grados C. Después de este tiempo se centrifuga 3000 rpm durante 10 min.

El sobrenadante obtenido después de la centrifugación se descarta.

2.- Eliminación de lípidos:

El residuo obtenido en el paso anterior se resuspende en etanol 95% amortiguado con acetato de sodio al 2% y se centrifuga nuevamente en las condiciones antes mencionadas.

El residuo de la segunda centrifugación se lava con una mezcla de etanol éter y se centrifuga.

3.- Hidrólisis Ácida:

Una vez que se eliminan los lípidos, el residuo se disuelve en HClO₄ para obtener una concentración final de 1.5N. Esta suspensión se hidroliza durante 20 minutos a 70 grados C. La suspensión se centrifuga y el residuo se somete nuevamente a

hidrólisis en las mismas condiciones.

Después de centrifugar, los sobrenadantes de las hidrólisis se mezclan y se determina en ellos por triplicado la concentración de DNA y RNA.

Se hicieron pruebas de recuperación para lo cual a una alícuota del homogeneizado de cada tejido se le añadió 200 ul de una solución estándar que contuvo 200 ug de DNA, 400 ug de RNA y 1 mg de albúmina y se procesó de la misma manera que los tejidos (Fig.5).

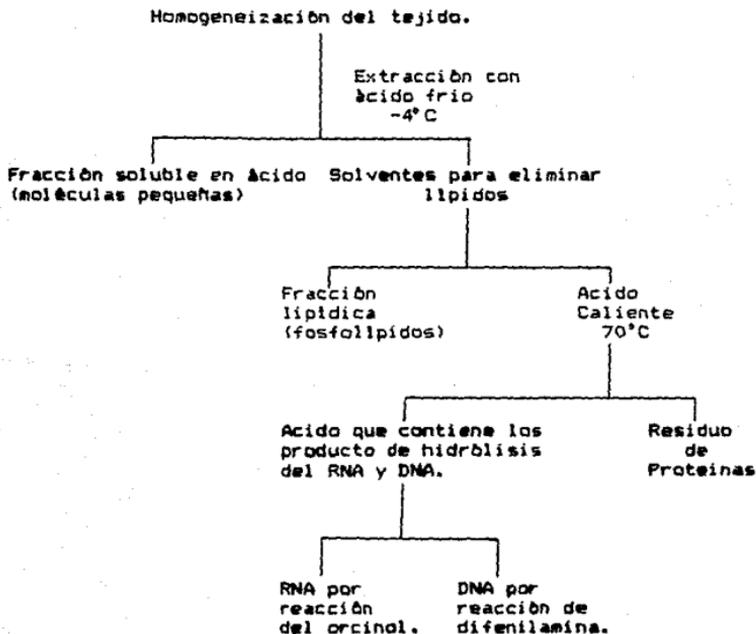


Fig. 5 Extracción de ácidos nucleicos.

10. DETERMINACION DE LOS ACIDOS NUCLEICOS:

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

10.1. CUANTIFICACION DE DNA:

Para la cuantificación de DNA se utilizó el método descrito por Giles-Myers (69). Que se basa en la reacción de la desoxiribosa con difenilamina en un medio ácido para producir un compuesto colorido con un máximo de absorbancia a 600nm. La presencia de acetaldehído estabiliza el compuesto colorido.

Una alícuota del extracto de ácidos nucleicos se hace reaccionar con difenilamina al 4% en ácido acético glacial, se añade acetaldehído con una concentración de 1.6 mg/ml para estabilizar el compuesto formado. Los tubos de reacción se mantienen a 37 grados centígrados durante 17-24 h después de lo cual se determina la absorbancia de la solución a 600 nm con un espectrofotómetro de marca Carl-Zeiss con celdas de cuarzo de 2.0 ml de capacidad y paso de luz de 0.5 cm.

Se prepara la curva estándar con DNA de timo de ternera en un intervalo de concentración de 0-100ug/ml.

Como estándar externo se utilizó la fracción nuclear de hígado de rata. A la fracción microsomal se le extrajeron los ácidos nucleicos por el mismo proceso de extracción de los

tejidos. El extracto de microsomas se mantuvo en congelación a -70 grados centígrados hasta su uso. Se descongeló y se tomó una alícuota de este extracto nuclear y se diluyó 1:5 y este a su vez 1:10 con agua destilada para determinarle la concentración de DNA con el mismo procedimiento mencionado anteriormente.

10.2. CUANTIFICACION DE RNA:

La concentración de RNA se determinó mediante el método descrito por Munro-Fleck (70). En medio ácido la ribosa del ácido ribonucleico se convierte en furfural que reacciona con orcinol para formar un complejo colorido. La formación de este complejo es favorecida por la presencia de iones de cobre. El compuesto colorido presenta un máximo de absorción a 660 nm.

Una alícuota del extracto de ácidos nucleicos se hace reaccionar con orcinol en ácido clorhídrico al 1% en presencia de acetato cuprico 0.1% en ácido acético glacial. La mezcla de reacción se somete a ebullición durante 20 minutos, se deja enfriar y se determina la densidad óptica a 660 nm con un espectrofotómetro de marca Carl-Zeiss en celdas de cuarzo con capacidad de 3.0 ml y paso de luz de 1.0 cm.

Se preparó la curva estándar con RNA de levadura con límites de concentración entre 20-100ug/ml.

Como estándar externo se utilizó la fracción ribosomal obtenida del hígado de rata la cual se sometió al mismo proceso

de extracción que los tejidos y se mantuvo a congelación a -70 grados centígrados, se descongeló y diluyó 1:10 para realizar la determinación de la concentración de RNA en la forma descrita previamente.

11. PREPARACION DE LOS ESTANDARES EXTERNOS.

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

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

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

El homogeneizado se centrifugó a 1,000 xg durante 10 min en una centrifuga Sorvall refrigerada modelo RC-SB utilizando un rotor SS-34. El sobrenadante se decantó y se conservó para su empleo posterior.

El residuo que contiene principalmente los núcleos, las fracciones grandes de membrana y las células intactas se

resuspendió en sacarosa 0.25 M, se homogeneizó y se centrifugó nuevamente en las condiciones mencionadas. El residuo o fracción nuclear se resuspendió finalmente en 2 ml de sacarosa 0.25 M y se conservó en hielo hasta ser utilizado en la extracción del DNA.

El sobrenadante de la segunda centrifugación se combinó con el sobrenadante de la primera y se centrifugaron a 20,000 xg durante 20 min para eliminar mitocondrias, lisosomas y retículo endoplásmico liso. El residuo se descartó y el sobrenadante se centrifugó finalmente a 100,000 xg durante 60 min en una ultracentrifuga Beckman modelo L8-80 usando un rotor 80 Ti. El sobrenadante obtenido es utilizado como citosol y el residuo una vez resuspendido en sacarosa 0.25 M es utilizado para la extracción de RNA.

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

VI. ANALISIS ESTADISTICO:

Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Los datos obtenidos entre los grupos de alimentación en la valoración del crecimiento se compararon por análisis de varianza de dos vías (71) y para comparar los datos de composición química se utilizó la prueba T de Student (72).

Para la representación gráfica de las figuras de crecimiento se realizó ajuste polinomial por el método de paso a paso se utilizó regresión polinomial (71) y se eligió el mejor ajuste.

Se utilizó el análisis de varianza de una vía y la prueba de Scheffé (73), para comparar la composición química entre los días de estudio.

El nivel de significancia establecido fue de 0.05.

VII. RESULTADOS.

1. Consumo de la rata madre:

El consumo promedio de alimento de las ratas madres desde el embarazo hasta el destete se muestra en la gráfica 1.

Las ratas antes de la cruce consumieron alrededor de 20 g diarios del preparado comercial y aumentó durante el embarazo hasta el día 18 en donde los animales consumieron en promedio 37% más que los animales no embarazados no lactantes. En los días previas al parto (20-22 días de embarazo) las ratas disminuyeron notablemente su ingesta (ver tabla 3).

Durante la lactancia el consumo de alimento por las ratas madres aumentó progresivamente llegando a ser 3 veces mayor que el de los animales no embarazados no lactantes.

El primer día de destete las ratas madres disminuyen su consumo pero aún fué mayor (2 veces más) que el de las ratas vírgenes sin embargo fué 40% menor que el de los animales lactantes. A lo largo del periodo de destete, el consumo de las ratas madres disminuyó paulativamente hasta que en el día 14 su ingesta fué similar a la anterior a la cruce (21.58 ± 4.44 vs 20 ± 2.35 g).

2. Peso corporal de la rata madre:

El peso corporal promedio de las ratas durante el embarazo, la lactancia y el destete se muestra en la gráfica 2.

Los animales alimentados ad libitum aumentaron de peso a lo largo del periodo de gestación. Al final del embarazo el peso de las ratas ad libitum aumentó 50% con relación a su peso preembarazo. El día del parto las ratas disminuyeron un 25% su peso corporal (tabla 4, gráfica 2).

El peso de las ratas lactantes alimentadas ad libitum fué mayor que el de las ratas no embarazadas no lactantes (ver tabla 4) y se mantuvo constante alrededor de 270 g durante todo este periodo.

Los 3 primeros días después de separar a las crías, el peso corporal de las ratas madre alimentadas ad libitum aumentó ligeramente, pero a partir del día 4 se mantuvo constante.

El peso corporal de la rata al finalizar los 14 días del destete reproductivo fué mayor que el de las no embarazadas no lactantes 272.33 ± 27.29 vs 238.85 ± 14.53 (ver tabla 4).

Las ratas madres sometidas a restricción alimentaria presentaron un patrón de crecimiento en peso corporal semejante a los alimentados ad libitum, sin embargo en términos absolutos los animales restringidos tuvieron una menor ganancia de peso corporal durante la gestación; mientras que las ratas alimentadas ad libitum ganaron 128 g, el grupo restringido sólo ganó 80 g.

Durante la lactancia y el destete el peso corporal del grupo restringido fué en promedio 9-15% menor que el del grupo alimentado ad libitum (ver tabla 4).

Las ratas sometidas a restricción no aumentaron de peso en los primeros días postdestete y su peso después de todo el ciclo reproductivo fué similar a su peso preembarazo.

3. Consumo de las crías durante el destete:

El patrón de ingesta de las crías durante el destete se muestra en la gráfica 3.

Las crías de ratas alimentadas ad libitum aumentaron su ingesta de 5.6g el primer día de destete hasta 22 gramos al día 21 post destete (Tabla 5). Su consumo por kg de peso aumentó de 130g/kg el primer día, hasta 180g/kg el quinto día post destete. A partir del séptimo día, se mantuvo constante alrededor de 160g/kg hasta el día 21 postdestete (gráfica 4).

El consumo de las crías de rata restringidas aumentó a lo largo del periodo de estudio de 4.9 g el primer día hasta 14.0 g el día 21 post destete, y se mantuvo durante todo el estudio por abajo del consumo absoluto de las crías de ratas ad libitum; el grupo de crías de ratas restringidas aumentó su ingesta entre el día 1 y el día 21 postdestete en 286%, mientras que las crías de ratas ad libitum aumentaron 390% en el mismo periodo. Sin embargo, su consumo por kilogramo de peso fué mayor que el de las

crias de ratas ad libitum durante los primeros trece días post destete. A partir del día 16 la cantidad de alimento consumido por kilogramo de peso corporal fué similar en los dos grupos.

4. Crecimiento de las crias durante el destete:

En la gráfica 5 se muestran los cambios en el peso corporal de ambos grupos. Las crias de ratas restringidas tuvieron desde el primer día un menor peso corporal que el de las crias de ratas ad libitum, alcanzando solamente el 67% del peso corporal de aquellas. Esta diferencia se mantuvo durante todo el periodo de estudio. El peso corporal de las crias de ratas ad libitum aumentó de $44.6 \pm 6.06g$ a las 24 h de destete hasta $144.3 \pm 16.46g$ a los 21 días postdestete. El grupo de crias ratas restringidas tuvieron un peso corporal de 34.2 ± 5.49 el primer día de destete se alcanzó 109.15 ± 7.17 el día 21 postdestete (Tabla 6).

La longitud de la cola de las ratas valora indirectamente el crecimiento longitudinal de la rata. Al igual que con lo observado en el peso corporal, (gráfica 6) la longitud de la cola de las crias mostró diferencias entre los dos grupos. Las crias de ratas restringidas presentaron una longitud de la cola menor que las crias de los animales control.

El día 21 postdestete la longitud promedio de la cola fué de 16.12 ± 0.53 y de 15.87 ± 0.58 respectivamente (Tabla 7).

5. Valoración de la composición química de los tejidos de las ratas durante el destete.

Se calculó el contenido de proteínas, DNA, RNA y sólidos por gramo de tejido y por tejido total. En el caso del músculo se consideró como tejido total el peso de la masa muscular de la extremidad posterior derecha.

Para cada tejido se calculó además la relación proteína:DNA y la relación RNA:DNA que son indicadores del tamaño celular y de la capacidad sintética por unidad nuclear.

6. Composición química del hígado:

El peso húmedo del hígado de ambos grupos de ratas aumentó progresivamente a lo largo del tiempo de estudio (gráfica 7).

Fue menor en las crías de ratas restringidas que en las crías de ratas ad libitum los días 14 y 21 de destete (5.12 ± 6.9 vs 4.05 ± 0.87 ($P < 0.015$) y 7.7 ± 0.43 vs 5.81 ± 0.54 ($P < 0.004$) respectivamente). El patrón de crecimiento del hígado fue similar en ambos grupos, la diferencia de peso entre el día 1 y el día 21 post destete fue de 5.79 g para el grupo de crías de ratas ad libitum y de 4.21 g para el grupo de crías de ratas restringidas (Tabla 8).

El peso seco (gráfica 8, tabla 8), la concentración de proteínas (gráfica 9, tabla 9), por gramo de tejido fue similar

en ambos grupos, sólo se encontraron diferencias en el DNA el día 21 (gráfica 10, tabla 9) y en el RNA el día 7 de destete (gráfica 11, tabla 9). Cuando los resultados se expresan en relación al órgano total el peso seco, el contenido de proteínas y RNA fué menor en el hígado de las crías de ratas restringidas comparado con el grupo control en los días 14 y 21 post destete (Gráfica 12, 13, 15 respectivamente y Tabla 8,10). El contenido de DNA por órgano total sólo fué menor en el día 14 en las crías de ratas restringidas (Gráfica 14 y Tabla 10) ($P < 0.05$).

La concentración de proteínas, RNA y peso seco expresadas como mg/g tej se mantuvo constante durante todo el periodo de estudio en ambos grupos. La concentración de DNA disminuyó con la edad lo que representa un aumento en el tamaño de las células, que indica la existencia de un menor número de unidades nucleares por gramo.

La relación proteína:DNA, indicador del tamaño celular, aumentó del día uno al catorce de destete en ambos grupos de animales (Tabla 11, Gráfica 16). Solo el primer día de destete se observó que el tamaño de las células en el hígado de las crías de ratas restringidas fué mayor que el de las crías de ratas ad libitum 36.25 ± 0.91 vs 48.2 ± 12.05 . En el día 21 postdestete el tamaño celular fué menor en las crías de ratas restringidas comparado con el grupo control (58.4 ± 2.4 vs 46.0 ± 6.9) ($P = 0.05$)

La relación RNA:DNA aumentó hacia el día 21 de destete. Sólo hubo diferencia entre los dos grupos los días 7 y 21 postdestete. Ver gráfica 17 y Tabla 11.

7. Composición del músculo:

El peso húmedo del músculo de las crías de ratas restringidas fué menor que el de las crías de ratas ad libitum a partir del primer día de destete y se mantuvo así durante todo el periodo de estudio. Gráfica 18 y tabla 12 (71% en el primer día postdestete y 87.1% a los 21 días postdestete).

El peso seco y la concentración de proteína por gramo de tejido fué similar en ambos grupos y se mantuvo constante a lo largo del periodo de estudio. Ver tabla 12, 13 y gráfica 19, 20. La concentración de RNA y DNA disminuyó con la edad lo que representa aumento en el tamaño de las células, sin embargo no hubo diferencias entre los dos grupos (DNA 1.11 ± 0.27 vs 1.34 ± 0.18 y RNA 1.49 ± 0.18 vs 1.27 ± 0.16 en el día 21). Tabla 13 y gráfica 21, 22.

El contenido total (mg/tejido total) de sólidos fué menor en las crías de ratas restringidas los días 1, 14 y 21 de destete (gráfica 23 y tabla 12). El contenido total de proteínas y DNA sólo fué diferente entre los grupos el primer día de destete (gráfica 24, 26 y tabla 14). Las crías de ratas restringidas presentaron un menor contenido de RNA sólo en el día 21 de destete (gráfica 25 y tabla 14). El contenido total de sólidos, proteínas RNA y DNA aumentaron en relación a la edad del animal, debido a la diferencia en el tamaño del órgano.

La relación proteína:DNA (gráfica 27) y RNA:DNA (gráfica 28) índices del tamaño y de la capacidad sintética por unidad nuclear respectivamente, aumentaron con la edad.

La relación proteína:DNA fué significativamente mayor ($P=0.006$) en las crías de ratas restringidas en el primer día de destete sin mostrar diferencias en las otras etapas (tabla 15).

La relación RNA:DNA fué significativamente mayor en las crías de ratas restringidas, el primer día mientras que el día 21 esta relación se invirtió (tabla 15).

VIII. DISCUSION:

Este estudio fue diseñado para caracterizar los efectos de la restricción alimentaria durante el embarazo y la lactancia en la rata madre seguida de la restauración de una alimentación ad libitum durante el destete sobre el crecimiento y composición de los tejidos de las crías.

Algunos estudios en ratas analizan el efecto de la restricción alimentaria de la madre durante la lactancia sobre el desarrollo de la cría después del destete (61), sin embargo no existen estudios en donde se analice el efecto de la restricción alimentaria durante toda la gestación y la lactancia y menos aún seguida de alimentación ad libitum durante el destete sobre el crecimiento y composición de los tejidos de las crías.

El diseño de este trabajo incluyó el estudio de dos grupos de animales. El grupo control estaba formado por crías de ratas alimentadas ad libitum durante el embarazo y la lactancia con un preparado comercial no purificado. El grupo experimental estaba formado por crías de ratas cuya alimentación fue restringida de manera global en 30% de la ingesta de los animales control desde el día 8 de embarazo y hasta el final de la lactancia. En el periodo postdestete ambos grupos de animales fueron alimentados ad libitum. Mediante este esquema se toman en cuenta las variaciones diarias del consumo de los animales. En otros estudios se proporciona a las ratas en restricción alimentaria una cantidad constante de alimento durante todo el periodo de

estudio sin tener en cuenta las variaciones en el consumo durante el embarazo y la lactancia mencionadas por otros autores (74, 75) y confirmadas en este estudio. Tal procedimiento pone en desventaja a los animales restringidos durante los periodos de mayor demanda energética.

La restricción de alimento se inició el octavo día del embarazo para no afectar la implantación del huevo. Otros autores han informado que cuando la restricción alimentaria se inicia desde primer día de la gestación tiene como resultado una reducción en el número de implantaciones y un aumento en la reabsorción de productos (76).

1. Consumo de la rata madre:

El consumo de alimento de las ratas madres alimentadas ad libitum aumentó durante la gestación hasta en un 37% comparado con el grupo de ratas no embarazadas, no lactantes. Se ha descrito que durante los dos primeros tercios de la gestación la rata aumenta el consumo de alimento para aumentar sus reservas corporales y en el último tercio del embarazo el aumento en la ingesta está condicionada principalmente por el rápido crecimiento de la unidad fetoplacentaria (1).

Durante la lactancia las ratas alimentadas ad libitum aumentan progresivamente su consumo de alimento y llegan consumir tres veces más alimento que las ratas no embarazadas no lactantes. Esta hiperfagia de la rata durante la lactancia ha

sido descrita previamente (7).

Durante el periodo de destete se presenta una disminución paulatina en el consumo de alimento por la rata madre, provocado por la disminución en las necesidades de la rata ya que su producción láctea disminuye y llega a detenerse (7). En el primer día después de la separación de las crías, la rata madre disminuye su ingesta en un 40% con relación al animal lactante pero comparada con las ratas vírgenes consume todavía dos veces más alimento. Es solo hasta dos semanas después del destete que la rata madre consume una cantidad similar de alimento que el animal no embarazado no lactante. Williamson reportó una disminución similar en el consumo de alimento al separar a las crías de la madre durante 24 h el día 14 de lactancia (10).

2. Peso corporal de la rata madre:

Durante la gestación las ratas alimentadas ad libitum aumentaron su peso corporal en un 50%. La unidad feto placentaria crece exponencialmente en el último tercio de la gestación por lo cual el peso de la rata aumenta de un modo paralelo durante este periodo.

Los animales alimentados ad libitum presentaron durante la lactancia un incremento del 20% en su peso corporal comparado con la rata virgen. A pesar de la hiperfagia, la rata mantiene constante su peso corporal durante los 21 días de lactancia. La producción de leche de la rata es de alrededor de 40ml por día,

para cubrir esta alta producción láctea, la rata aumenta tres veces su ingesta de alimento y moviliza las reservas energéticas acumuladas durante el embarazo (7). El aumento de peso de la rata se debe al crecimiento de algunos órganos como la glándula mamaria, el hígado, el intestino, el corazón y el volumen circulante.

Los tres primeros días después del destete, el peso corporal de la rata madre alimentada ad libitum aumenta ligeramente. Después del destete la rata aumenta la lipogénesis en el tejido adiposo con el fin de restablecer las reservas lipídicas movilizadas durante la lactancia (10).

Los animales sometidos a restricción tuvieron una menor ganancia de peso corporal durante el embarazo comparados con los alimentados ad libitum. La disminución en la ingesta de la rata durante este período pudo haber ocasionado una menor acumulación de reservas lipídicas y aún más conducir a la movilización del tejido materno para mantener el crecimiento del producto. Durante la lactancia, el peso corporal de los animales restringidos fue importantemente afectado. Estos animales permanecen con un peso corporal similar al de las ratas no embarazadas no lactantes, en promedio 15% por abajo del grupo lactante alimentado ad libitum, no es de extrañar esta diferencia si se toma en cuenta el gran gasto energético que representa la lactancia.

Es notable que a diferencia del grupo alimentado ad libitum, las ratas restringidas no aumentaron de peso durante los primeros días de destete, no existe información acerca del patrón que

sigue el restablecimiento de reservas energéticas después de la lactancia en ratas restringidas.

3. Consumo de las crías durante el destete:

En algunos estudios se ha informado que los animales alimentados ad libitum después de un período corto de restricción consumen más alimento que los animales alimentados ad libitum permanentemente; sin embargo cuando los animales son sometidos a períodos largos de restricción, durante el período de recuperación (alimentación ad libitum) consumen menos alimento que los animales control alimentados constantemente ad libitum (47, 62).

En este trabajo, las crías de ratas restringidas al ser destetadas, a pesar de ofrecerles alimento a libre demanda mantuvieron su ingesta por abajo de la del grupo control.

Los animales alimentados ad libitum después de un período de restricción alimentaria, tienen una eficiencia metabólica (ganancia de peso/ ingesta) mayor que los animales alimentados ad libitum durante toda su vida (56,62,71,77,78). Tal es el caso de las crías de ratas restringidas en nuestro estudio, las cuales presentaron en la tercer semana después del destete una eficiencia metabólica mayor que la de los animales control (33.3 % vs 13.3%).

4. Crecimiento de las crías durante el destete:

El crecimiento longitudinal de las ratas se valoró indirectamente mediante la medición de la longitud de la cola, este método representa la forma más práctica y de mayor precisión para evaluar el crecimiento longitudinal.

La longitud de la cola mostró diferencias significativas entre los dos grupos de alimentación al igual que el peso corporal. Los animales restringidos pesaron al final del estudio alrededor de solo el 70% del grupo control. Estos resultados no coinciden con los reportados previamente acerca de que los animales preservan su crecimiento longitudinal a pesar de la restricción alimenticia (98). Se explica esta discrepancia en función de la gran dispersión que muestran las mediciones de crecimiento longitudinal, ya que en otros trabajos se estudia una muestra muy pequeña.

5. Valoración de la composición química de los tejidos de las ratas durante el destete:

Para valorar el efecto de la restricción crónica global sobre la composición de los tejidos de las ratas se seleccionaron dos tejidos. El hígado porque representa el órgano central en el metabolismo de numerosos nutrientes. El tejido muscular se seleccionó porque representa el 40% del peso corporal del animal y porque algunos estudios señalan que una nutrición inadecuada

puede modificar el crecimiento de este tejido (45).

La proporción entre el tamaño de algunos órganos y el peso corporal total no se modifica como respuesta a la restricción alimentaria, tal es el caso del hígado, el corazón, los riñones y el estómago (47,62). Por otra parte, el peso del tejido adiposo disminuye importantemente en condiciones de restricción en relación al peso corporal del animal (62).

Al comparar la proporción entre el peso del hígado y del tejido muscular con relación al peso corporal total en los animales de nuestro estudio se observó que ninguno de estos la modifica como respuesta a la restricción alimentaria. El hígado y el paquete muscular de la extremidad posterior derecha representaron siempre en ambos grupos de ratas el 4 y 3% del peso corporal total respectivamente.

5.1. Hígado:

El peso húmedo del hígado aumentó en los dos grupos de ratas a lo largo del periodo de estudio, sin embargo al menos en el día 21 post destete fue un 25% menor en las ratas restringidas que en el del grupo control. Esta disminución en el peso húmedo del hígado ha sido observada previamente en animales sometidos a restricción alimenticia durante la lactancia y realimentados durante el destete (2).

Las concentraciones de sólidos, proteínas y RNA en mg/g de tejido se mantienen constantes durante todo el estudio y no muestran diferencias entre los dos grupos de alimentación, en contraste, la concentración de DNA mg/g de tejido disminuye con la edad del animal en ambos grupos. La disminución de la concentración del DNA con la edad del animal no representa una disminución en el número de células sino mas bien representa la disminución en el número de núcleos por gramo de proteína condicionado por el aumento en el tamaño celular.

5.2. Músculo:

La alimentación ad libitum de las crías a partir del destete después de haber sufrido la restricción de la madre desde la gestación hasta la lactancia fue incapaz de restablecer el crecimiento de su tejido muscular. Las crías de ratas restringidas presentaron en el día 21 post destete sólo el 80% del peso húmedo del músculo de los animales alimentados ad libitum, estos resultados coinciden con la disminución en la masa muscular en ratas que han sido sometidas a restricción durante la lactancia (1).

En algunos estudios realizados para examinar el efecto de la restricción alimentaria sobre el desarrollo celular del músculo esquelético se han utilizado la determinación de la concentración del DNA como un estimado del número de células y la relación proteína/DNA como un estimado del tamaño de las mismas. Ya que el

contenido de DNA por núcleo es constante (alrededor de 6.2pg), el número de células es igual al número de núcleos en tejidos que están formados de células mononucleadas; sin embargo esta aproximación no es adecuada para estimar el número de células del tejido muscular ya que estas son multinucleadas (12).

La determinación de la concentración de DNA y de la relación de proteína/DNA en el músculo sólo nos dan información acerca del número de núcleos y de la proteína asociada a cada uno de ellos. Cheek en 1971 introdujo el término unidad nuclear como un estimado de la área citoplásmica asociada a cada núcleo (79).

El contenido de proteínas y sólidos por gramo de tejido se mantuvo constante a lo largo del estudio en los dos grupos de ratas. Es importante notar que ninguno de estos parámetros fué afectado por la restricción alimentaria.

Nuestros resultados coinciden con estudios previos que muestran que durante el crecimiento normal de la rata la concentración de DNA (mg/g tejido) en el tejido muscular disminuye mientras que la cantidad total de DNA (mg/tejido total) aumenta (14).

Una restricción alimentaria del 50% durante la gestación o la lactancia disminuye el contenido total de DNA y de proteínas en el tejido muscular por lo menos hasta los primeros cinco días después de suspender la restricción (1). Los resultados muestran que la cantidad de proteínas y DNA (mg/tejido total) es menor en las ratas restringidas sólo en el primer día después del destete y se recupera posteriormente.

La relación proteína:DNA aumentó con la edad en ambos grupos de ratas y no es modificada con la restricción alimentaria. Este resultado coincide con trabajos previos (12).

La relación RNA:DNA en el músculo representa la capacidad sintética por unidad nuclear. Se ha observado que esta relación aumenta en el tejido muscular de las ratas que fueron sometidas a restricción alimenticia y que son alimentadas posteriormente ad libitum (1). En nuestro estudio la relación RNA:DNA fue mayor en las ratas restringidas solo en el primer día después de la suspensión de la restricción alimenticia (primer día postdestete), esto sugiere que el tejido muscular de estos animales responde agudamente a la realimentación y aumenta su capacidad sintética.

IX. CONCLUSION:

La restricción alimentaria global durante la gestación y la lactancia tiene profundos efectos sobre el crecimiento y composición de los tejidos de las crías. La suspensión de la restricción en el periodo de destete no permite la recuperación por lo menos hasta el día 21 del peso corporal, la longitud de la cola, el peso húmedo del hígado y músculo de las crías cuyas madres fueron restringidas previamente.

La restricción alimentaria durante la gestación y la lactancia aun después de un periodo de alimentación ad libitum disminuye el tamaño, el número y la capacidad sintética celular del hígado de las crías, en contraste, el tejido muscular no presenta una disminución en el número de núcleos ni en la cantidad de proteína asociada a cada núcleo sin embargo la capacidad sintética por unidad nuclear es menor que las de crías de ratas alimentadas ad libitum permanentemente.

X. RESUMEN.

Disminuir la ingesta calórica durante el periodo de embarazo o lactancia de la rata madre tiene como consecuencia una disminución en la velocidad del crecimiento de la cría y en su crecimiento del músculo y del hígado. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la alimentación ad libitum post destete en la composición del hígado y del músculo de crías provenientes de ratas sometidas a restricción alimentaria durante el embarazo y la lactancia. Se utilizaron dos grupos de ratas Sprague-Dowley, uno alimentado ad libitum (AL) y otro restringido al 70% durante el embarazo y la lactancia (R); a partir del destete las crías machos de ambos grupos se alimentaron ad libitum. Se registró diariamente el consumo de alimento y peso de las crías hasta 21 días post destete. Los días 1, 7, 14, y 21 post destete se sacrificaron 6 ratas de cada grupo y se diseccionó hígado y músculo, determinando pesos húmedo y seco y en los tejidos el contenido de proteínas, DNA y RNA. RESULTADOS: El consumo absoluto en las ratas R fue menor, pero el consumo por Kg de peso corporal fue mayor. El crecimiento longitudinal al igual que el peso corporal fue menor en las ratas R que el de las ratas AL. El peso húmedo del hígado fue menor en las ratas R, pero creció a una velocidad similar en ambos grupos. La cantidad de proteínas, sólidos, DNA y RNA por gramo de tejido fue similar en ambos grupos y menor por tejido total en las ratas R, reflejando la diferencia en el tamaño del órgano. La concentración de DNA por mg/g de tejido tendió a disminuir con la edad representando la

disminución en el número de núcleos por gramo de proteína condicionado por el aumento en el tamaño celular. El peso húmedo del músculo fué menor en las ratas R. El contenido de sólidos y proteínas por gramo de tejido fué similar en ambos grupos con tendencia a ser menor al expresarse por órgano total, reflejando la diferencia en el tamaño del órgano. La concentración de DNA y RNA por gramo de tejido disminuyó con la edad, sin embargo no hubo diferencia entre los grupos. La cantidad total de DNA y RNA aumentó con la edad. CONCLUSION: La restricción alimentaria durante la gestación y la lactancia tiene como consecuencia la disminución en el crecimiento longitudinal, del peso corporal, hígado y músculo que no pudieron recuperarse con la alimentación ad libitum durante el destete. Sin embargo la cantidad de proteínas, sólidos, RNA y DNA por gramo de tejido no mostró diferencias.

XI. SECCION DE TABLAS

TABLA 3. CONSUMO DIETARIO DE LA RATA MADRE
(gramos por día)

DIAS	Ad libitum		Restringidas	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
Virgen	20.3	2.4		
Embarazo				
1	17.3	3.7		
8	22.7	2.6	15.9	1.8
14	26.2	3.2	18.3	2.2
21	23.9	5.0	16.7	3.5
22	15.88	6.7	11.1	4.7
Lactancia				
1	19.8	5.9	13.9	4.1
7	47.1	7.7	33.0	5.4
14	62.2	7.5	43.5	5.3
20	66.6	7.3	48.0	5.1
Destete				
1	45.4	7.8	31.8	5.5
2	27.6	5.9	19.5	4.2
3	27.0	3.3	18.9	2.3
4	26.3	7.9	18.4	5.6
5	26.8	5.3	18.8	3.7
6	26.7	4.6	18.7	3.2
7	23.9	4.1	16.7	2.9
8	22.3	3.8	15.6	2.7
9	25.1	6.5	17.6	4.5
10	22.2	2.8	15.6	2.0
11	21.2	2.5	14.9	1.8
12	21.1	3.5	14.8	2.4
13	21.9	5.0	15.3	3.5
14	21.6	4.4	15.1	3.1

TABLA 4. PESO CORPORAL DE LA RATA MADRE
(gramos)

	DIAS	Ad libitum		Restringidas	
		\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
Virgen		238.9	14.5	241.5	15.7
Embarazo					
	1	241.8	21.2	251.2	11.7
	7	261.1	21.6	259.1	17.7
	14	278.1	21.9	260.5	17.3
	22	367.5	36.8	325.0	23.3
Lactancia					
	1	277.8	26.6	250.7	15.7
	7	276.2	18.4	245.9	18.5
	14	278.4	17.3	250.9	15.4
	20	276.5	19.3	233.0	13.2
Destete					
	1	274.7	19.4	247.8	19.0
	2	293.6	20.3	248.6	13.9
	3	261.4	2.5	247.6	13.3
	4	273.1	25.4	238.3	7.6
	5	270.0	28.9	235.1	7.0
	6	267.0	16.2	239.2	11.6
	7	275.3	19.0	234.4	10.0
	8	272.1	21.8	249.2	8.1
	9	270.7	20.3	241.6	7.6
	10	267.8	21.4	244.1	9.1
	11	272.3	23.0	238.3	3.3
	12	271.7	25.5	243.5	3.8
	13	272.8	26.2	-	-
	14	272.3	27.3	237.5	14.3

TABLA 5. CONSUMO DIETARIO DE LAS CRIAS
DESPUES DE DESTETARLAS
(gramos por dia)

DIAS	Ad libitum		Restringidas	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
1	5.6	1.6	4.8	2.3
2	7.5	1.3	5.7	2.1
3	9.0	0.9	6.9	1.7
4	9.8	1.4	8.0	2.5
5	11.7	1.5	7.6	2.5
6	11.7	1.4	8.2	1.5
7	11.3	2.5	9.2	1.6
8	12.1	2.3	9.4	1.6
9	13.2	2.0	10.6	2.2
10	12.5	1.5	11.3	2.0
11	14.1	2.4	11.4	2.2
12	14.9	1.8	12.4	2.9
13	14.9	1.8	13.1	3.1
14	16.2	2.3	12.6	2.7
15	15.7	2.4	12.3	2.6
16	19.6	5.0	12.3	2.1
17	18.8	3.2	13.9	2.2
18	19.4	3.0	15.2	2.7
19	21.9	4.8	13.9	2.0
20	22.3	3.2	14.2	2.2
21	21.9	1.9	14.4	2.5

TABLA 6. PESO CORPORAL DE LAS CRIAS
 DESPUES DEL DESTETE
 (gramos)

DIAS	Ad libitum		Restringidas	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
1	44.6	6.1	34.2	5.5
2	51.0	6.1	36.3	4.3
3	52.3	7.1	40.2	4.4
4	56.0	8.6	43.7	5.2
5	63.2	7.5	45.2	5.6
6	64.0	8.0	47.4	6.6
7	72.4	7.3	51.3	7.3
8	76.4	14.9	56.0	7.1
9	80.2	11.3	60.6	5.9
10	82.7	13.1	63.2	6.3
11	88.6	14.1	65.9	7.3
12	101.1	16.9	70.9	8.8
13	94.8	10.1	77.8	7.1
14	103.8	18.3	80.4	8.0
15	125.6	21.5	84.7	9.7
16	125.6	21.3	91.1	9.8
17	124.2	22.6	98.3	8.3
18	120.2	17.6	96.7	8.8
19	157.3	16.0	105.5	7.1
20	146.9	21.4	109.2	7.2
21	144.3	16.5	116.5	9.1

TABLA 7. LONGITUD DE LA COLA DE LAS CRIAS
 DESPUES DEL DESTETE
 (gramos)

DIAS	Ad libitum		Restringidas	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
1	9.3	0.6	8.7	0.8
2	9.7	0.6	8.9	0.7
3	10.0	1.0	9.4	0.5
4	10.4	0.9	9.9	0.6
5	10.8	0.6	9.8	0.8
6	11.1	0.8	10.6	1.2
7	11.7	0.6	10.6	1.0
8	11.6	0.8	11.4	0.8
9	12.0	0.6	11.7	1.0
10	12.4	0.9	12.3	0.7
11	13.0	1.0	12.2	1.0
12	13.7	1.2	12.7	0.8
13	13.7	0.9	13.1	1.0
14	14.2	0.7	13.5	0.9
15	14.3	1.1	14.1	0.7
16	15.3	0.6	14.3	0.8
17	15.5	0.7	14.8	0.6
18	15.7	0.6	14.9	0.7
19	16.4	0.4	15.3	0.5
20	16.5	0.8	15.6	0.6
21	16.1	0.5	15.9	0.6

TABLA 8

HIGADO. Peso húmedo, Peso seco por gramo de tejido y por órgano total.

DIAS POSTDEESTETE	Peso Húmedo					Peso Seco							
	g					mg/g tejido				mg/órgano total			
	Ad libitum		Restringidas			Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD		\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
	n												
1	6	1.9	0.2	1.6	0.4	258.1	17.5	257.9	12.7	494.5	59.7	413.1	98.9
7	9	2.6	0.6	2.6	0.6	260.1	6.8	274.4*	7.7	732.6	154.4	719.8	176.7
14	10	5.1	0.7	4.1*	0.9	268.3	14.6	252.2	19.3	1376.0	117.1	1016.2*	194.2
21	8	7.7	0.4	5.8*	0.5	257.8	10.5	268.4	14.9	1987.3	150.1	1558.5	145.1

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

TABLA 9

HIGADO. Proteínas, DNA y RNA por gramo de tejido

DIAS POSTDESTETE	Proteínas mg/g tejido				DNA mg/g tejido				RNA mg/g tejido				
	Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas		
	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	
	n												
1	6	195.2	20.4	205.7	11.6	5.4	0.6	4.5	1.1	6.2	1.3	6.5	1.6
7	9	210.4	17.5	218.6	37.9	4.2	0.4	4.0	0.8	5.7	0.9	7.4*	0.8
14	10	211.3	18.5	206.8	14.6	3.6	0.2	3.4	0.5	7.7	0.8	7.0	1.1
21	8	219.6	15.2	221.9	18.7	3.8	0.4	4.9*	0.5	7.6	0.7	7.2	0.5

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

TABLA 10

HIGADO. Proteínas, DNA y RNA por órgano total

DIAS POSTDESTETE	Proteínas mg/órgano total				DNA mg/órgano total				RNA mg/órgano total			
	Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
1	371.8	46.3	326.8	69.7	10.2	1.2	7.1*	1.8	11.9	3.0	9.9	2.3
7	591.1	126.0	582.1	215.8	11.9	3.4	10.6	3.6	15.4	3.8	19.0	3.6
14	1063.0	72.7	633.5*	168.2	18.4	0.5	13.8*	2.9	39.1	0.8	27.7*	4.3
21	1690.5	128.6	1292.1*	171.1	29.1	3.1	28.3*	2.7	57.5	3.6	41.6*	4.6

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

TABLA 11

PROTEINA:DNA Y RNA:DNA EN EL HIGADO

DIAS POSTDESTETE	PROTEINA:DNA				RNA:DNA			
	Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
1	36.3	0.9	48.2*	12.1	1.2	0.2	1.5	0.3
7	51.1	5.7	55.9	12.4	1.3	0.1	1.9*	0.6
14	58.5	3.7	59.1	3.1	2.1	0.1	2.0	0.2
21	58.4	2.4	46.0*	6.9	2.0	0.2	1.5*	0.1

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

TABLA 12

MUSCULO. Peso húmedo, Peso seco por gramo de tejido y por órgano total

DIAS POSTDESTETE	Peso Húmedo					Peso Seco							
	g					mg/g tejido				mg/órgano total			
	Ad libitum		Restringidas			Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas	
	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	
	n												
1	6	1.1	0.1	0.8*	0.1	215.4	10.7	219.5	20.0	244.6	30.9	178.3*	41.0
7	9	1.5	0.3	1.4	0.3	220.9	16.1	221.2	11.2	326.5	76.1	304.3	74.8
14	10	2.5	0.5	1.9*	0.3	231.7	8.7	233.9	5.8	511.3	117.1	450.1*	59.2
21	8	4.3	0.6	3.7*	0.2	236.2	7.7	227.3*	6.2	1014.4	162.7	847.6*	52.7

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

TABLA 13

MUSCULO. Proteínas, DNA y RNA por gramo de tejido

DIAS POSTDESTETE	Proteínas mg/g tejido				DNA mg/g tejido				RNA mg/g tejido				
	Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas		
	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	
	n												
1	6	160.5	21.4	164.9	24.2	2.6	0.2	2.0	0.2	1.7	0.3	1.8	0.4
7	9	163.4	22.1	156.5	34.0	1.7	0.5	2.0	0.5	1.6	0.3	1.9	0.3
14	10	146.7	28.0	166.6	31.3	1.2	0.2	1.3	0.3	1.5	0.1	1.7	0.4
21	8	167.8	15.5	172.4	25.6	1.1	0.1	1.3*	0.2	1.5	0.2	1.3*	0.2

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

TABLA 14

MUSCULO, Proteinas, DNA y RNA por órgano total

DIAS POSTDEESTETE	Proteinas				DNA				RNA			
	mg/organo total				mg/organo total				mg/organo total			
	Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas	
	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
1	192.6	26.5	130.1*	14.4	3.3	0.3	1.6*	0.3	1.9	0.3	1.5	0.6
7	239.3	51.8	225.4	77.9	2.5	0.8	2.9	1.2	2.4	0.7	2.7	0.7
14	365.9	72.7	312.8	54.3	2.9	0.5	2.5	0.6	3.6	0.8	3.1	0.7
21	720.6	127.2	646.8	119.5	4.7	0.2	5.0	0.7	6.5	0.9	4.7*	0.5

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

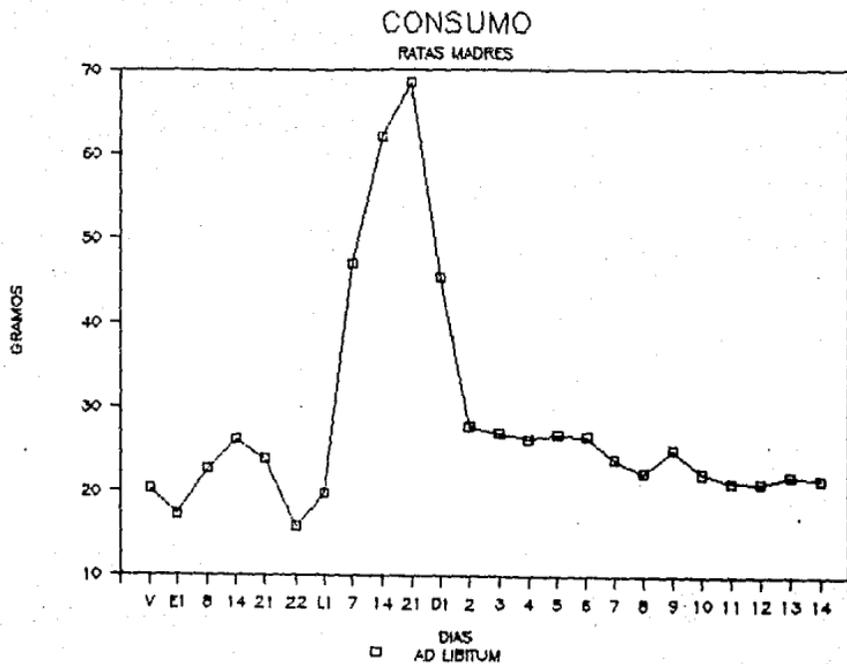
TABLA 15.

PROTEINA:DNA Y RNA:DNA EN EL MUSCULO

DIAS POSTDESTETE	PROTEINA:DNA				RNA:DNA			
	Ad libitum		Restringidas		Ad libitum		Restringidas	
	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
1	61.1	8.6	81.9*	10.4	0.7	0.1	0.9*	0.2
7	104.0	36.7	82.2	17.8	1.0	0.3	1.1	0.4
14	125.0	18.6	113.5	22.1	1.3	0.1	1.3	0.2
21	155.8	29.3	129.6	20.8	1.3	0.1	1.0*	0.1

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

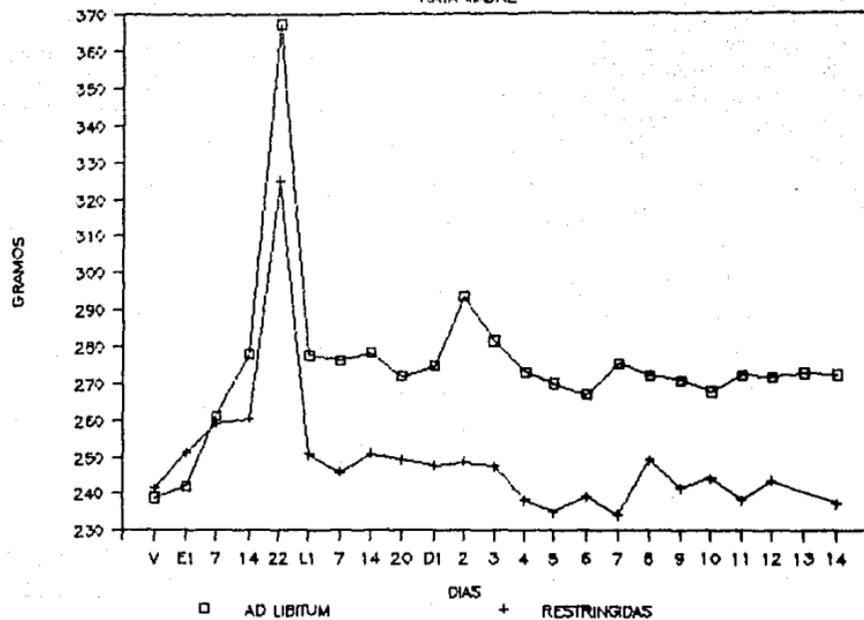
XII. SECCION DE FIGURAS



GRAFICA 1. CONSUMO DE LA RATA MADRE EXPRESADO EN GRAMOS. I

PESO CORPORAL

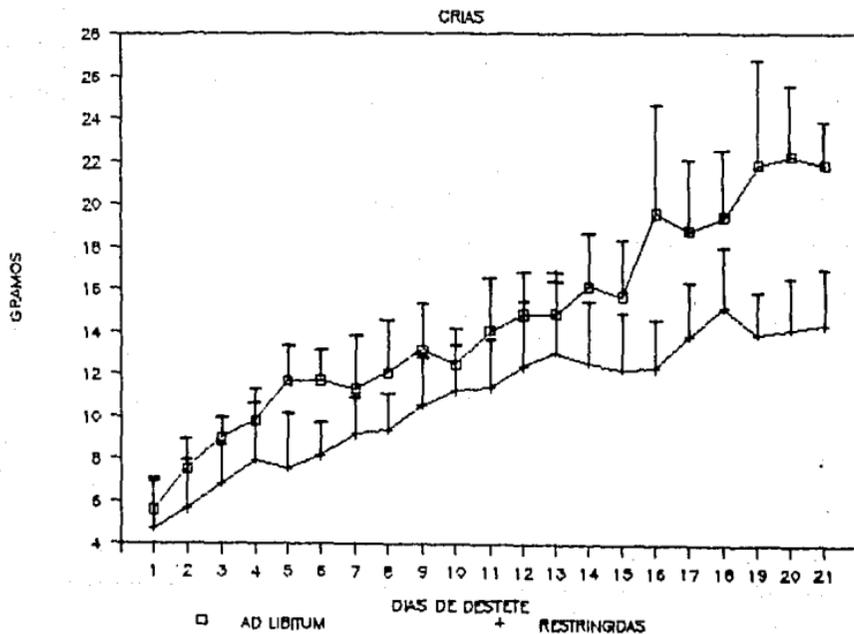
RATA MADRE



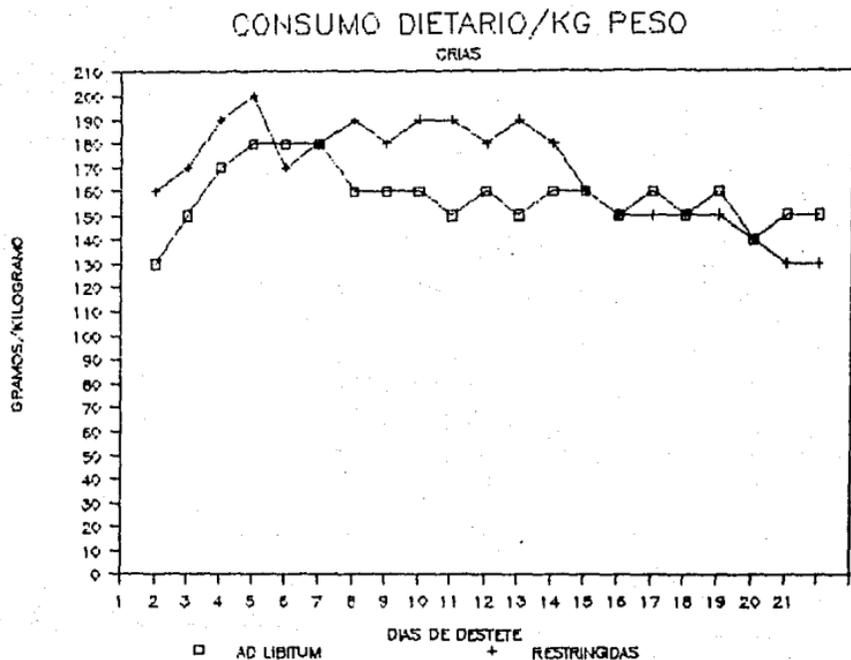
-74-

GRAFICA 2. PESO CORPORAL DE LA RATA MADRE EXPRESADO EN GRAMOS.

CONSUMO DIETARIO EN EL DESTETE

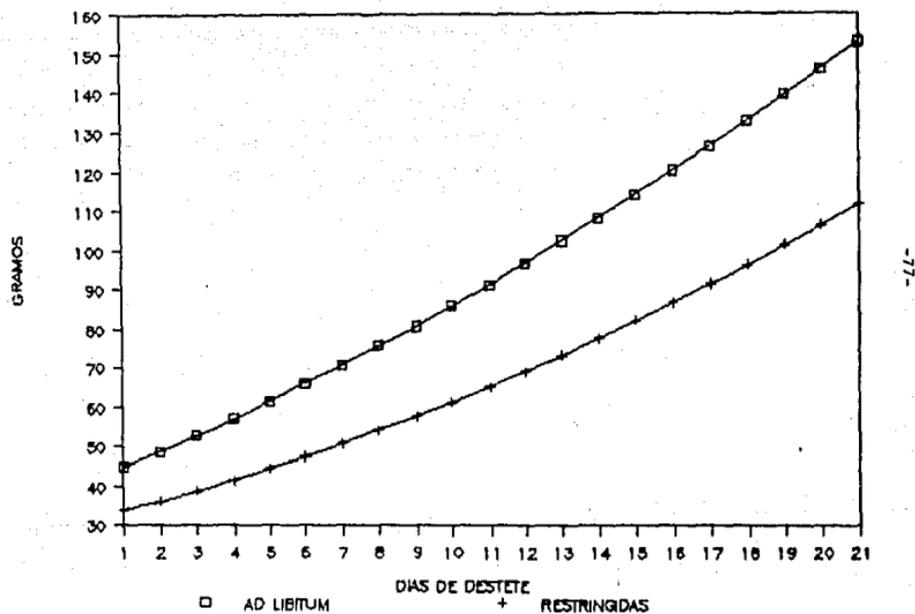


GRAFICA 3. CONSUMO DE ALIMENTO DE LAS CRIAS POSTDESTETE.!



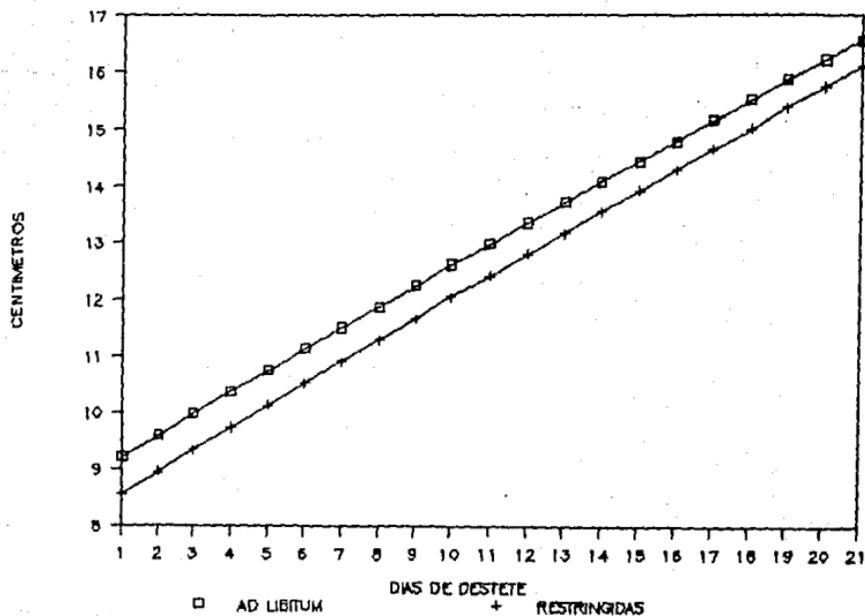
GRAFICA 4. CONSUMO DE ALIMENTO POR KG DE PESO CORPORAL EN LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE.

PESO DE LA CRIA EN DESTETE



GRAFICA 5. PESO CORPORAL DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE.

LONGITUD DE LA COLA DE CRIAS EN DESTETE

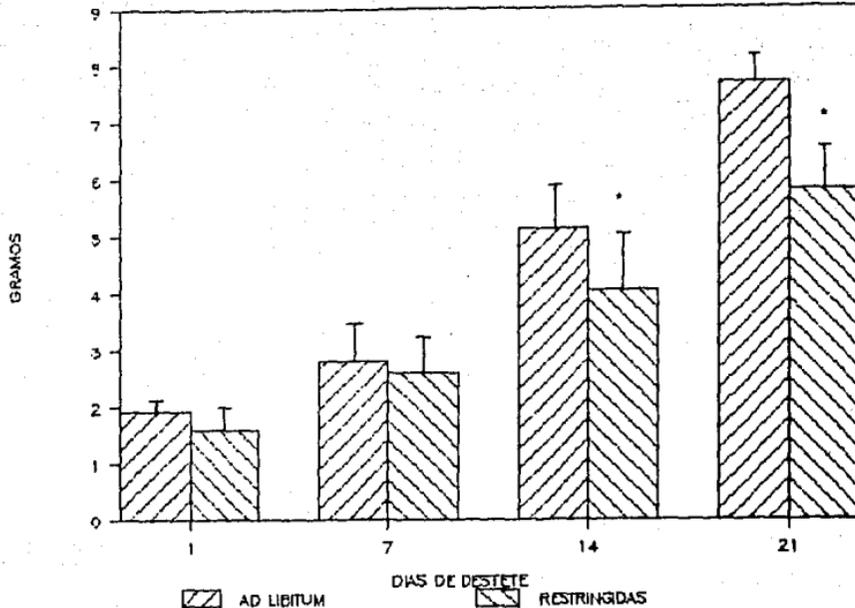


-78-

GRAFICA 6. LONGITUD DE LA COLA DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE.

HIGADO

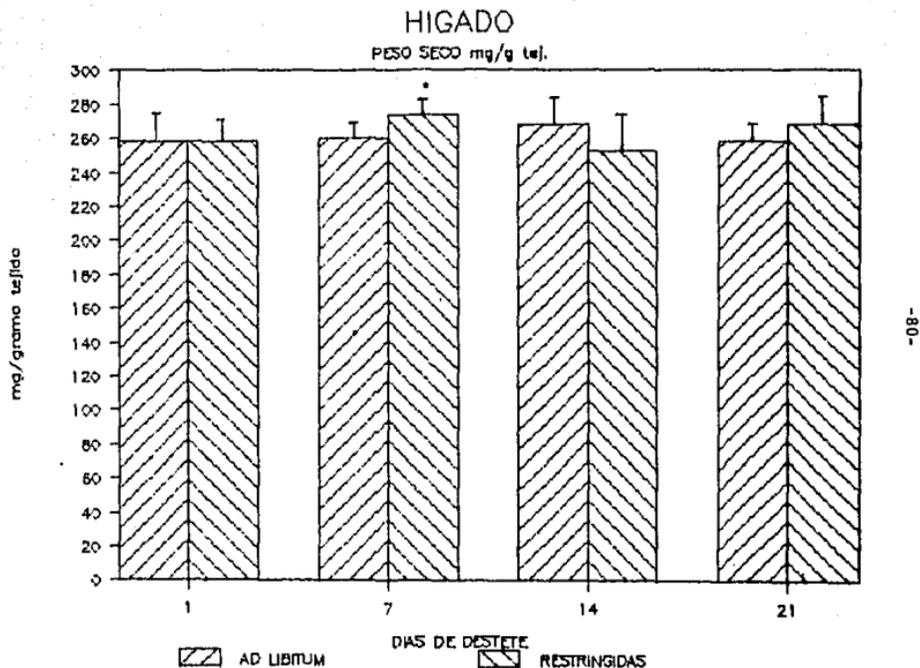
PESO HUMEDO



GRAFICA 7. PESO HUMEDO DEL HIGADO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE.

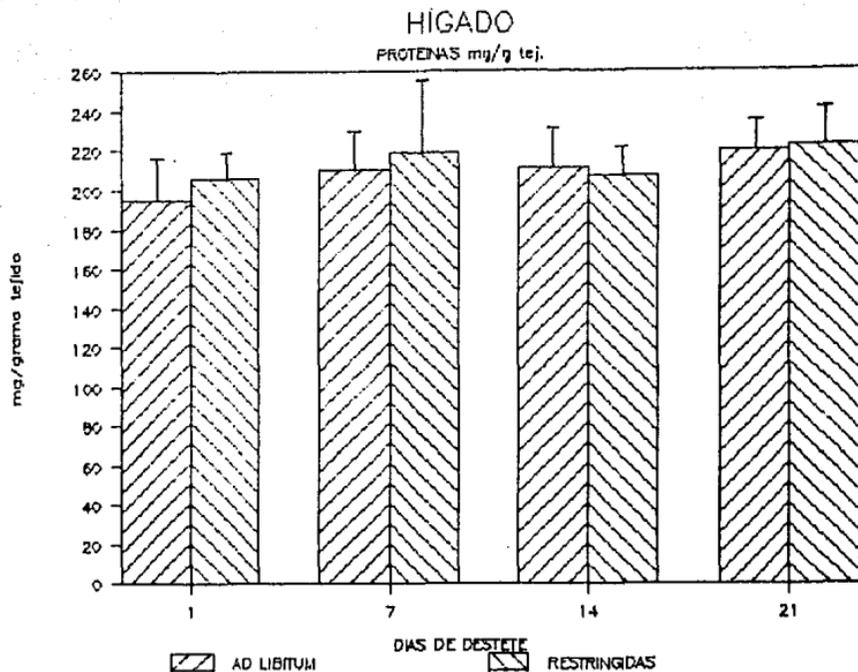
*diferencia significativa contra el grupo control (P < 0.05)

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA



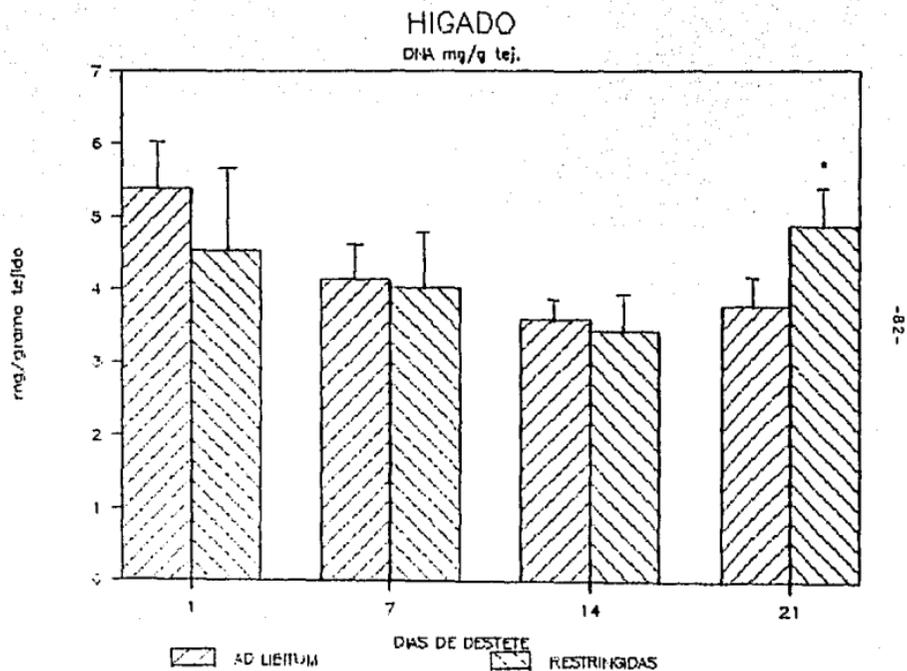
GRAFICA D. PESO SECO DEL HIGADO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/GRAMO DE TEJIDO.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0,05).



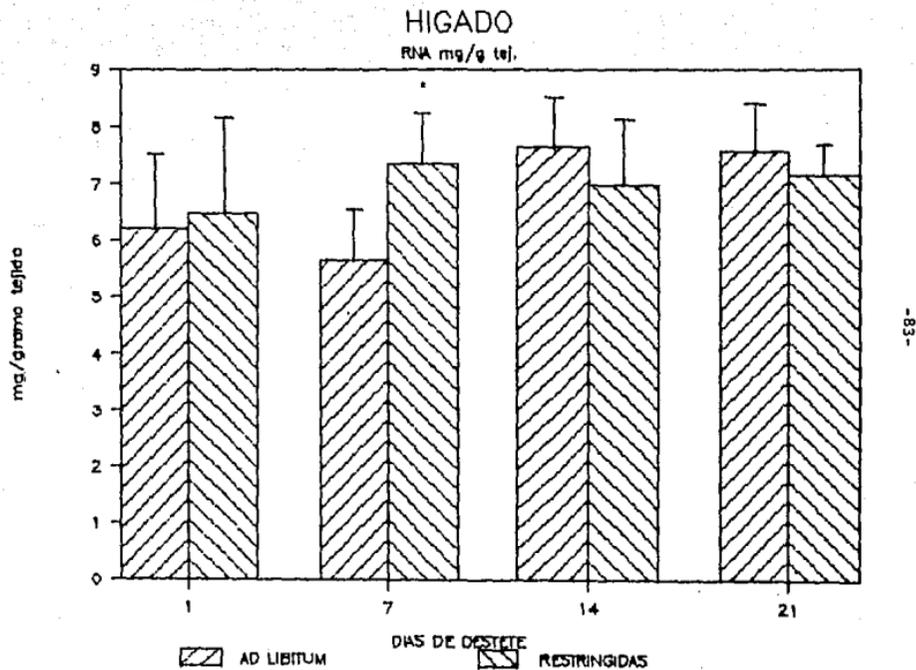
-81-

GRAFICA 9. PROTEÍNAS DEL HIGADO DE CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPLSADO EN MG/GRAMO DE TEJIDO.



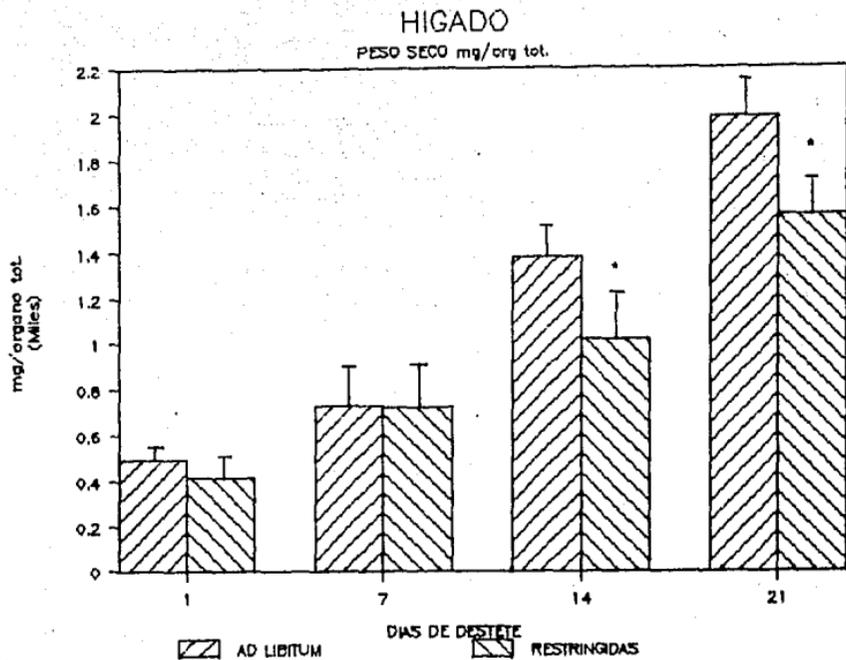
GRAFICA 10. DNA DEL HIGADO DE CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/GRAMO DE TEJIDO.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



GRAFICA 11. RNA DEL HIGADO DE CRÍAS DESPUES DEL DESETE
EXPRESADO EN MG/GRAHO DE TEJIDO.

*Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

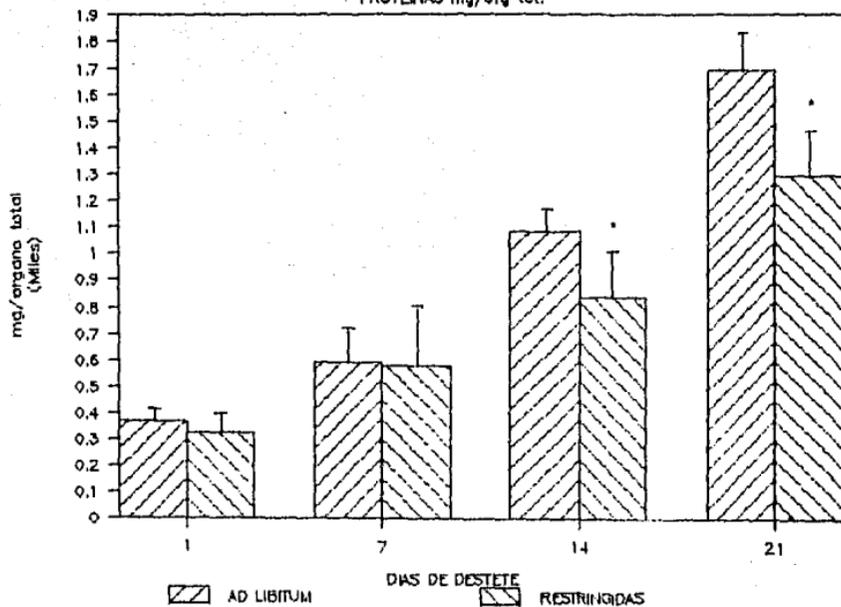


GRAFICA 12. PESO SECO DEL HIGADO DE CRÍAS DESPUÉS DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/ORGANO TOTAL.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

HIGADO

PROTEINAS mg/erg tot.

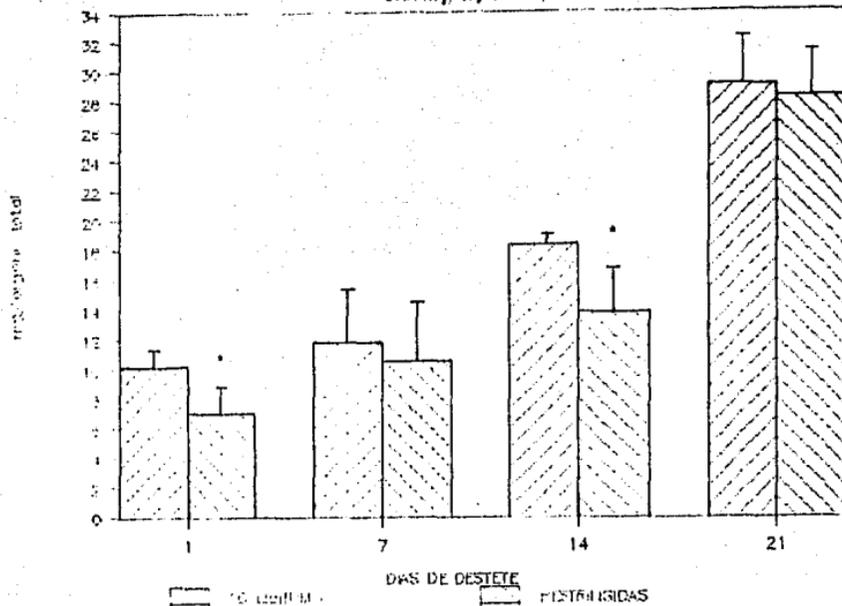


GRAFICA 13. PROTEINAS DEL HIGADO DE CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/ORG/NO TOTAL.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

HIGADO

DHA mg/org. tot.

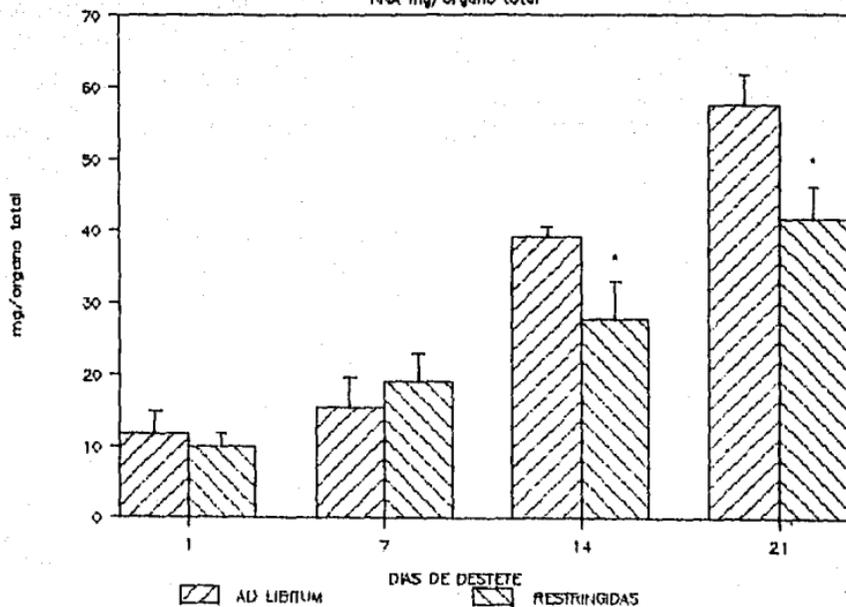


GRAFICA 14. DHA DEL HIGADO DE CRIAS DESPUES DEL DESTIETE
EXPRESADO EN HG/ORGANO TOTAL.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

HIGADO

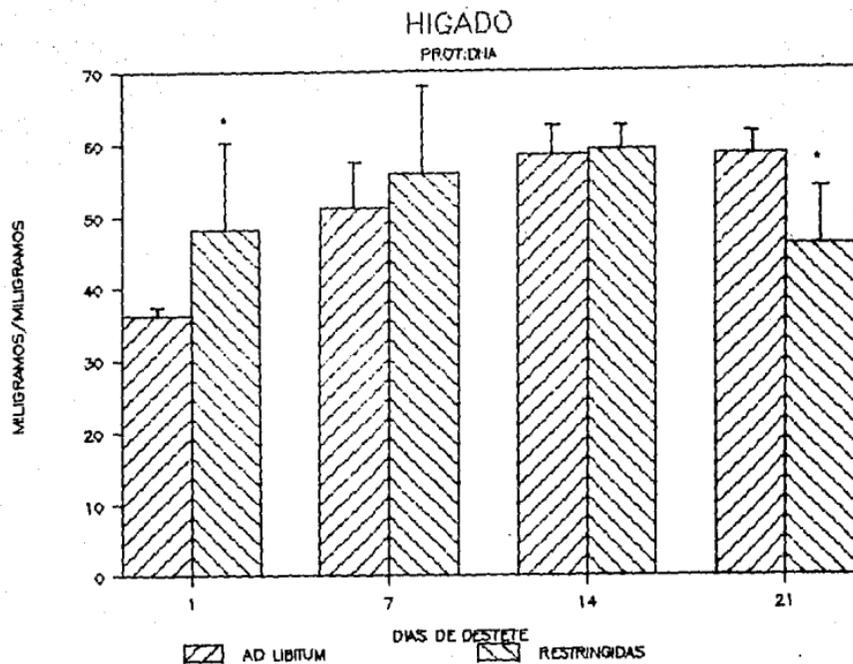
RNA mg/organo total



-87-

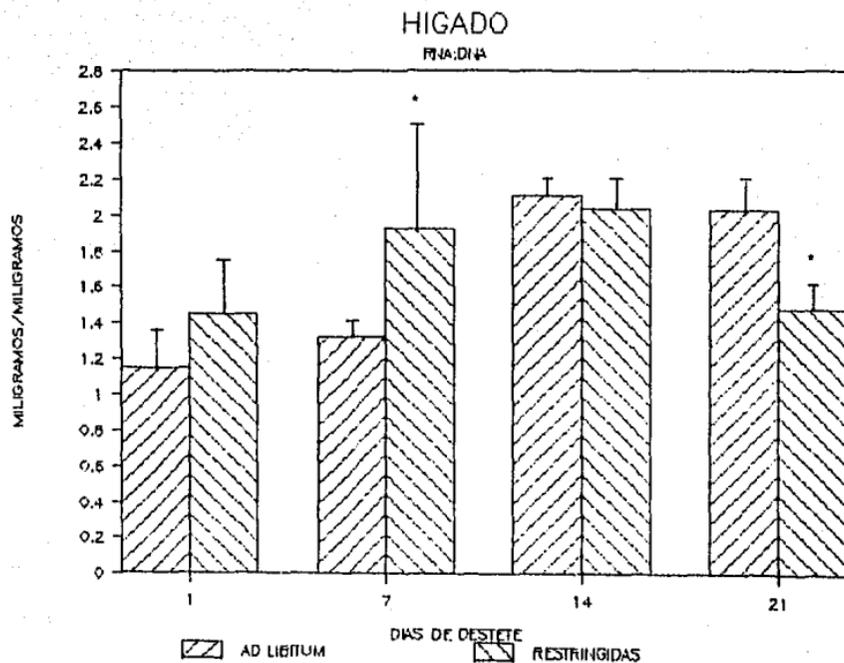
GRAFICA 1a. RNA DEL HIGADO DE CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/ORGANO TOTAL.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



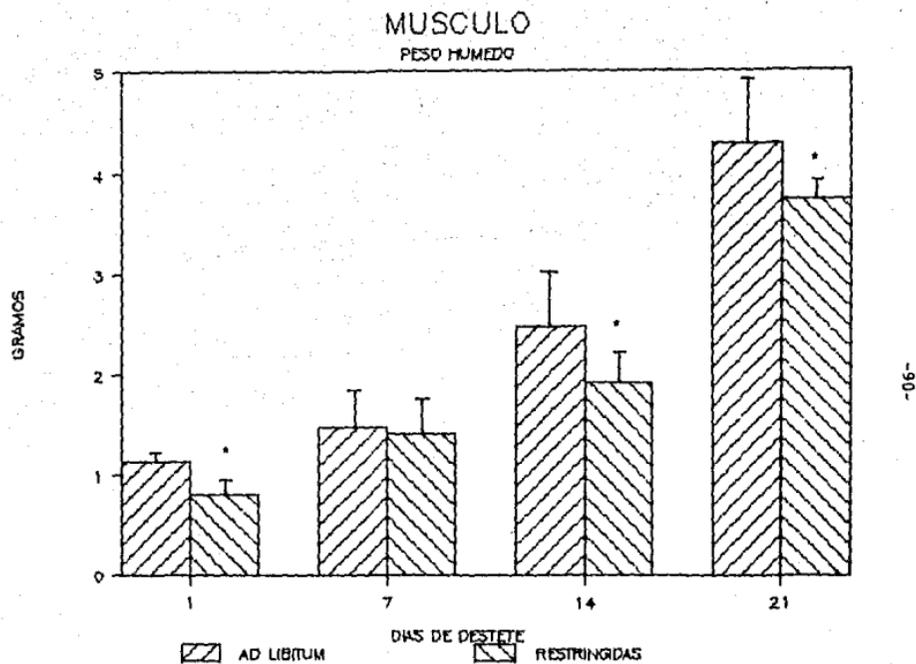
GRÁFICA 16. PROTEÍNA:DNA DEL HIGADO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE.

* diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



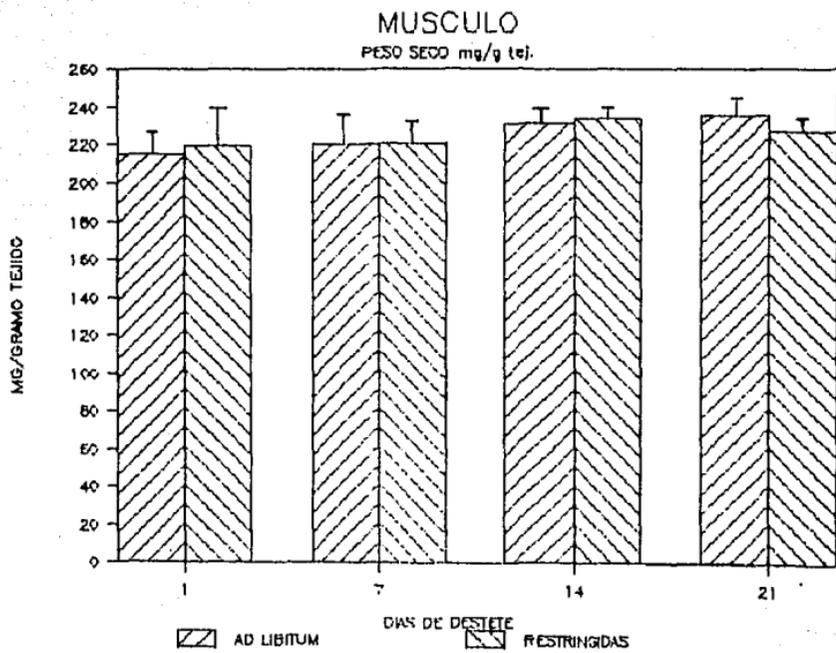
GRAFICA 17. RNA:DNA DEL HIGADO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0,05).



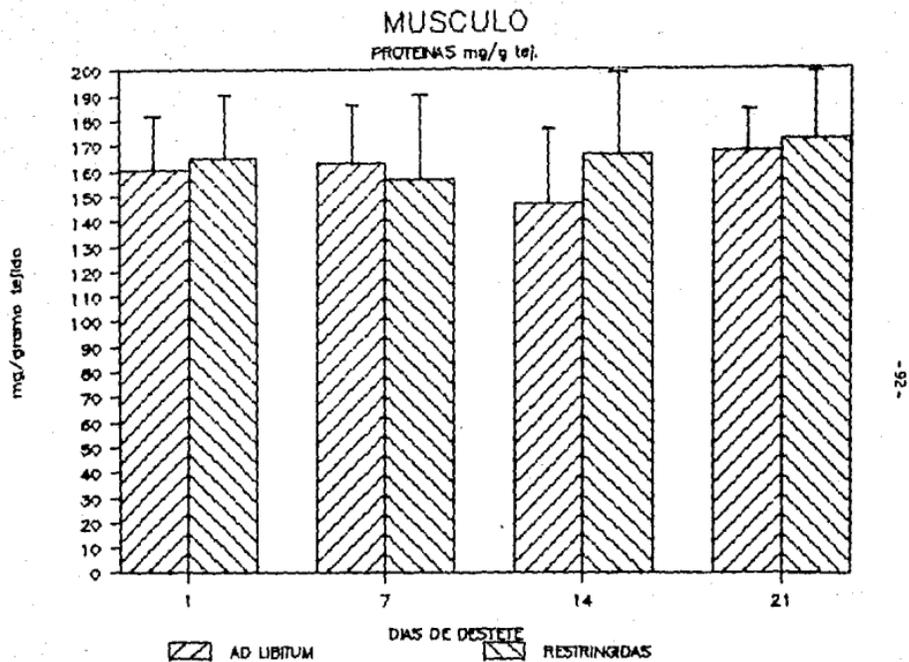
GRAFICA 16. PESO HUMEDO DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



GRAFICA 19. PESO SECO DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE EXPRESADO EN MG/GRAMO DE TEJIDO.

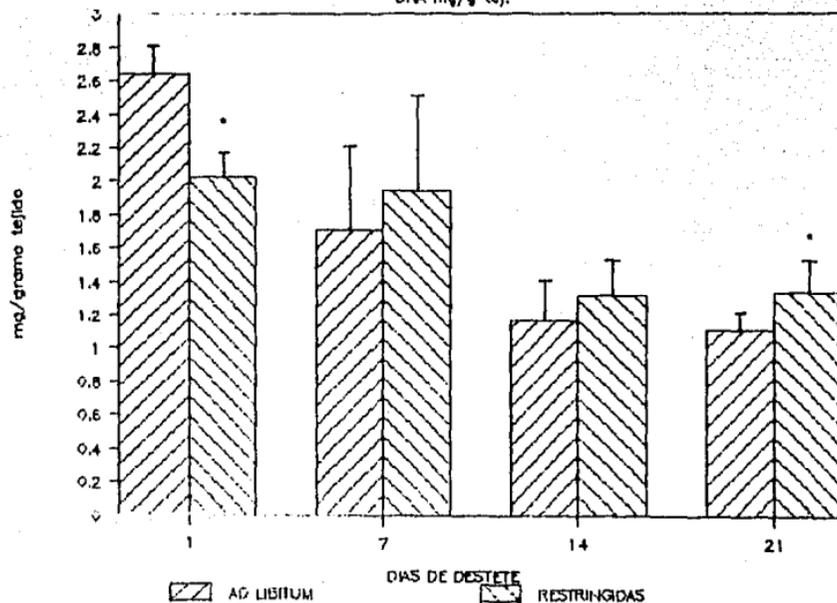
* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



GRAFICA 20. PROTEINAS DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/GRAMO DE TEJIDO.

MUSCULO

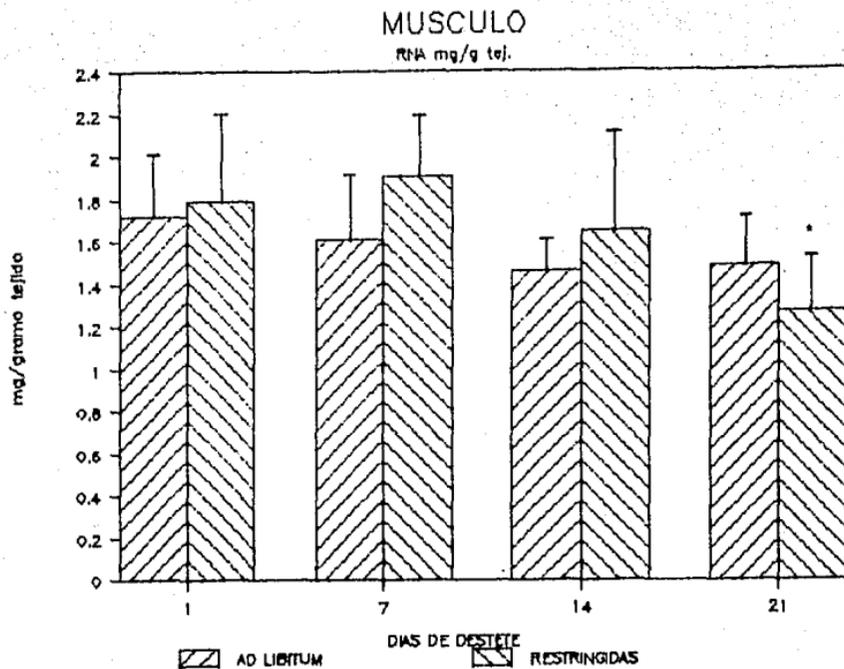
DHA mg/g tej.



-93-

GRAFICA 21. DIA DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/GRAMO DE TEJIDO.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

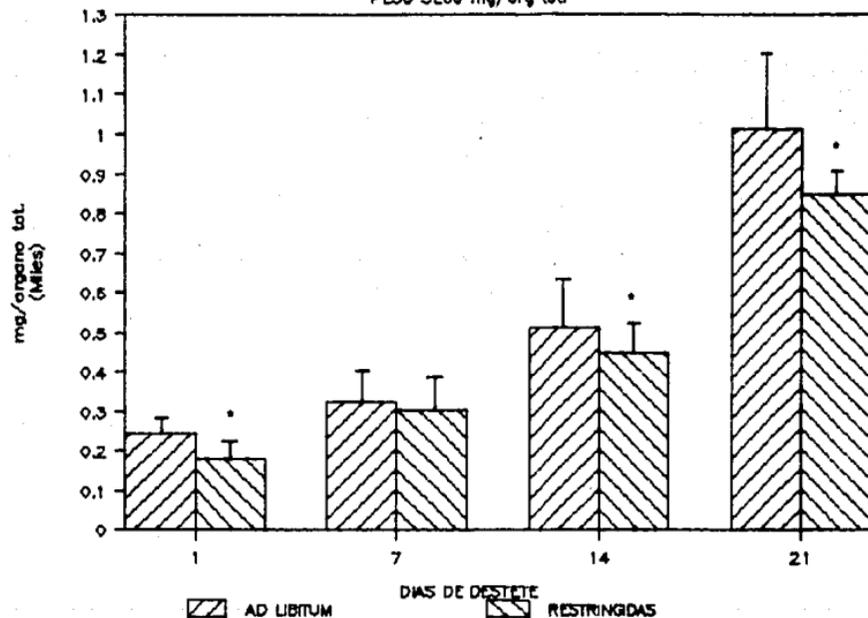


GRAFICA 22. RIA DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/GRAMO DE TEJIDO.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

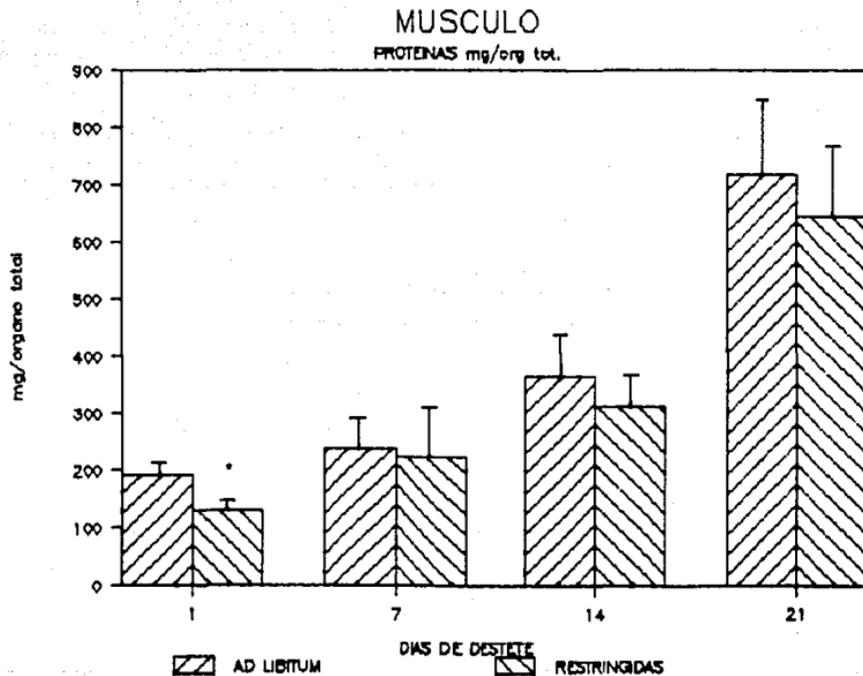
MUSCULO

PESO SECO mg/org tot.



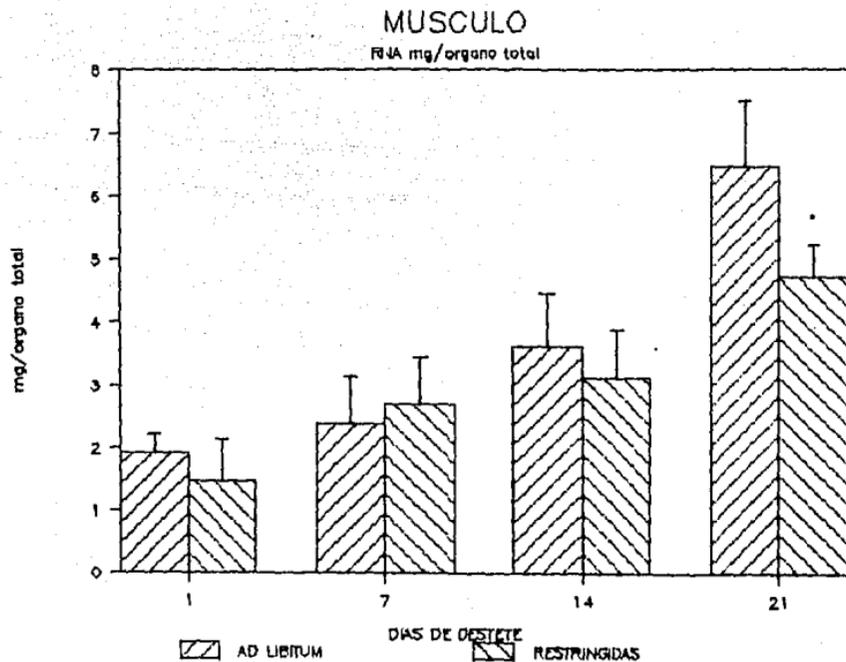
GRAFICA 23. PESO SECO DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/ORGANISMO TOTAL.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



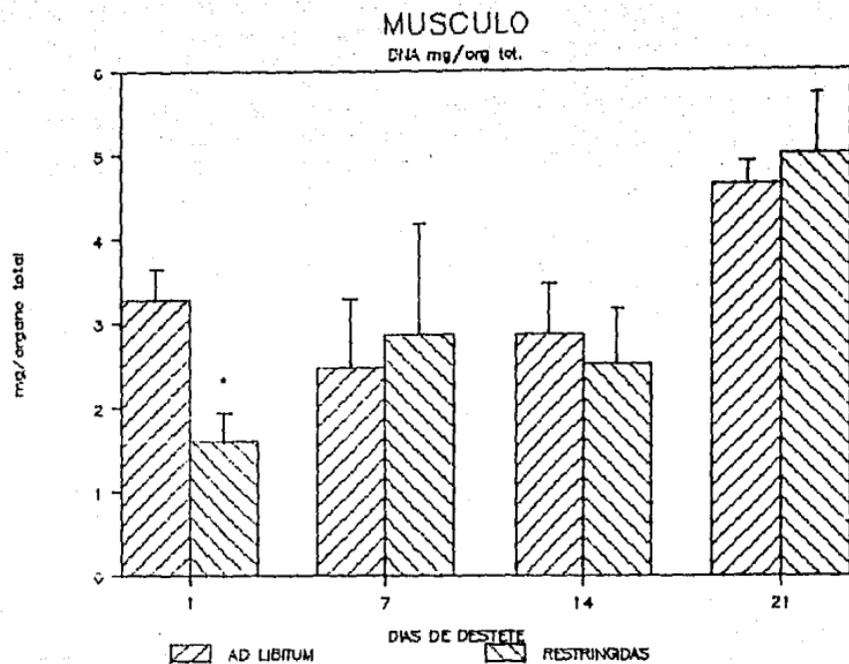
GRAFICA 24. PROTEINAS DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE EXPRESADO EN MG/ORGANO TOTAL.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



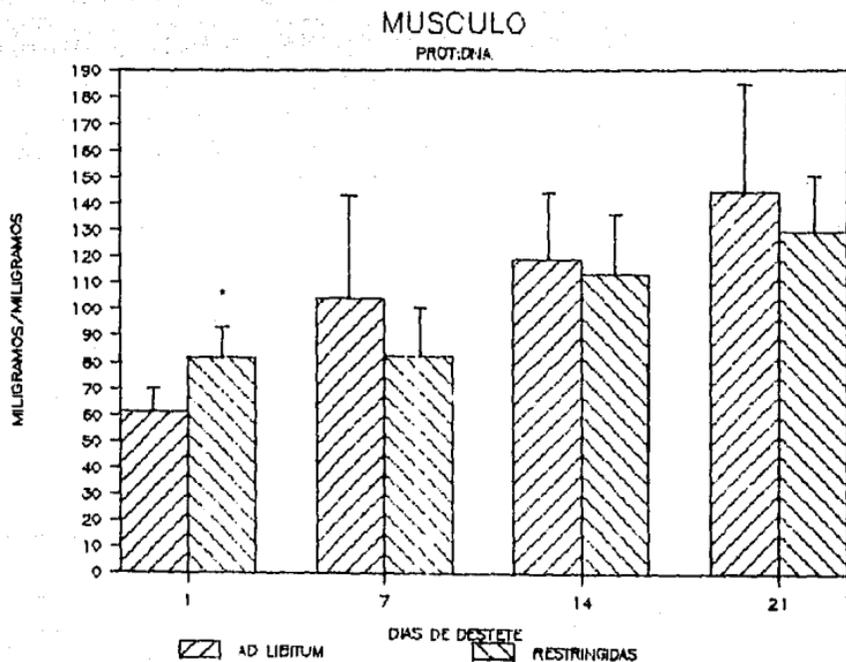
GRAFICA 25. RNA DEL MUSCULO DE LAS CRÍAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/ORGANO TOTAL.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



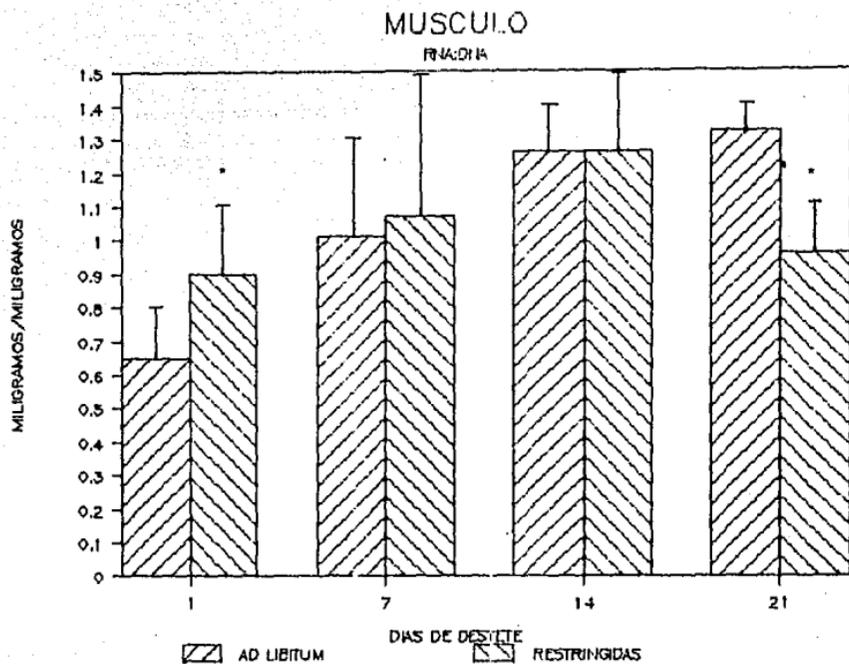
GRAFICA 26. DNA DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE
EXPRESADO EN MG/ORGANO TOTAL.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).



GRAFICA 27. PROTEINA:DNA DEL MUSCULO DE LAS CRÍAS DESPUES DEL DESTETE.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05)



GRAFICA 2b. RNA:DNA DEL MUSCULO DE LAS CRIAS DESPUES DEL DESTETE.

* Diferencia significativa contra el grupo control (P 0.05).

XIII. BIBLIOGRAFIA:

1. Herrera, E. (1986). Bioquímica perinatal. España. Fundación Ramón Areces. pág. 501.
2. Knopp, R.H., Saudek, C.D., Arky, R.A. and O'Sullivan, J.B. (1973). Two phases of adipose tissue metabolism in pregnancy maternal adaptations for fetal growth. *Endocrinol.* 92: 984-988.
3. Streingrimsdottir, L., Brasel, J.A. and Greenwood, M.R.C. (1980). Diet, pregnancy and lactation: Effects on adipose tissue, lipoprotein lipase, and fat cell size. *Metabolism.* 29(9): 837-841.
4. Giroud, A. (1968). Nutrition of the embryo. *Fed Proc.* 27(1): 163-184.
5. Battaglia, F.C., and Meshia, G. (1988). Fetal nutrition. *Ann Rev Nutr.* 8: 43-61.
6. Hamosh, M., Clary, T.R., Chernick, S.S. and Scow, R.D. (1970). Lipoprotein lipase activity of adipose and mammary tissue and plasma triglyceride in pregnant and lactating rats. *Biochem Biophys Acta.* 210: 473-482.
7. Williamson, D.H. (1980). Integration of metabolism in tissue of the lactating rat. *FEBS Letters.* 117: Suppl. K93-K105.

8. Page, T. and Kuhn, N.J..(1986). Arteriovenous glucose differences across the mammary gland of the fed, starved, and re-fed lactating rat. *Biochem J.* 239: 269-274.
9. Farid, M., Baldwin, R.L., Yang, Y.T., Osborne, E. and Grichting, J.. (1978). Effects of age, diet and lactation on lipogenesis in rat adipose, liver and mammary tissues. *J Nutr.* 108: 514-524.
10. Oller do Nascimento, C.M., Ilic, V. and Williamson, D.H.. (1989). Re-examination of the putative roles of insulin and prolactin in the regulation of lipid deposition and lipogenesis in vivo in mammary gland and white and brown adipose tissue of lactating rats and litter-removed rats. *Biochem J.* 258: 273-278.
12. Zinder, O., Hamosh, M., Fleck, T.R.C. and Scow, R.O.. (1974). Effect of prolactin on lipoprotein lipase in mammary gland and adipose tissue of rats. *Am J Physiol.* 226(3): 744-748.
13. Battaglia, F.C. and Meschia G..(1978). Principal substrates of fetal metabolism. *Physiol Rev.* 58: 499-527.
14. Hummel, L., Schwartze, A., Schirremeister, W., and Wagner, H. (1976). Maternal plasma triglycerides as a source of fetal fatty acids. *Acta Biol Med Germ.* 35: 1635-1641.
15. Hummel, L., Schirremeister, W., and Zimmermann, T.. (1975). Transfer of maternal plasma free fatty acids into the rat fetus. *Acta Biol Med Germ.* 34: 603-605.

16. Hummel, L., Zimmermann, T., and Wagner, H. (1978). Quantitative evaluation of the fetal fatty acids synthesis in the rat. *Acta Biol Med Germ.* 37: 229-232.
17. Devos, P., and Hers, H.G. (1974). Glycogen metabolism in the liver of the foetal. *Biochem J.* 140: 331-340.
18. Watts, C., and Gain, K.R. (1976). Glycogen metabolism in the liver of the developing rat. *Biochem J.* 160: 265-270.
19. Khandelwal, R.L. (1982). Glycogen metabolizing enzyme activities in the developing rat liver. *Int J Biochem.* 14: 1067-1073.
20. Challiss, R.A.J., Ferrè, P. (1988). Integration of carbohydrate and lipid metabolism in skeletal muscle during postnatal development. *Reprod Nutr Develop.* 28(4B): 805-815.
21. Angel, J.F., and Donald, W.B. (1985). Weaning and metabolic regulation in the rat. *Can J Physiol Pharmacol.* 63: 538-545.
22. Babický, A. and Nováková, V. (1986). Protein malnutrition of the lactating female rat: effect on maternal behavior and spontaneous weaning of young rats. *Physiol Bohemoslov.* 35(5): 456-463.

23. Ferré, P., Decaux, J.T., Issad, T., Girard, J. (1986). Changes in energy metabolism during the suckling and weaning period in the newborn. *Reprod Nutr Develop.* 26(2B): 619-631.
24. Buts, J.D., Mutijima N. (1985). Role of dietary protein adaptation at weaning in the development of the rat gastrointestinal tract. *Pediatr Res.* 19(8): 857-862.
25. Whitehead, R.G. and Fibiol, Ph.D.. (1985). The human weaning. *Proc Pediatr.* 75: 189-193.
26. Hann, P., Girard, J., Assan, R., Frohlich, J., Kervran, A., and Koldosvsky, O.. (1978). Late effects of premature weaning to different diets in the rat. *J Nutr.* 108: 1783-1787.
27. Hann, P., and Hassanali, S.. (1982). The effects of 3, 5, 3-triiodothyronine on phosphoenolpyruvate carboxylase, fatty acid synthetase and malic enzyme activity of liver and brown fat of foetal and neonatal rats. *Biol Neonate.* 41: 1-7.
28. Buts, J.D., De Meyer, R.. (1984). Intestinal development in the suckling rat: effects of weaning, diet composition and glucocorticoid on thymidine kinase activity and DNA synthesis. *Pediatr Res.* 18: 145-150.
29. Benito, M., Whitelaw, E., and Williamson, D.H.. (1979). Regulation of ketogenesis during the suckling-weaning transition in the rat. *Biochem J.* 180: 137-144.

30. Madving, P., and Abraham, S.. (1980). Relationship of malic enzyme activity to fatty acid synthesis and the pathways of glucose metabolism in developing rat liver. *J Nutr.* 110: 90-99.
31. Page, M.A., Krebs, H.A. and Williamson, D.A.. (1971). Activities of enzymes of ketone body utilization in brain and other tissues of suckling rats. *Biochem J.* 121: 49-53.
32. Sly, M.R., and Walker, D.G.. (1978). A comparison of lipids metabolism in hepatocytes isolated from fed and starved neonatal and adult rats. *Comp Biochem Physiol.* 61: 510-516.
33. Glatz, J.F.C., Veerkomp, J.H..(1982). Postnatal development of palmitate oxidation and mitochondrial enzyme activities in rat cardiac and skeletal muscle. *Biochem Biophys Acta.* 711: 327-335.
34. Werner, J.C., Whitman, U., Musselman, J., Shuler, H.G.. (1982). Perinatal changes in mitochondrial respiration of the rabbit heart. *Biol Neonate.* 42: 208-216.
35. Beaudry, M. A., Chiasson, J.L., and Exton, J.H.. (1977). Gluconeogenesis in the suckling rat. *Am J Physiol.* 233: E175-E180.
36. Girard, J.R., Cuedvet, G.S., Marliss, E.B., Kervran, A., Rieutort, M., and Assan, R.. (1973). Fuels, hormones and liver metabolism at term and during the early postnatal period in the rat. *J Clin Invest.* 52: 3190-3200.

37. Hann, P., Girard, J., Assan, R., Frohlich, J., Kervran, A., and Koldovsky, O. (1977). Control of blood cholesterol levels in suckling and weanling rats. *J Nutr.* 107: 2062-2066.
38. Blazquez, E., Lipshaw, L.A., Blazquez, M., and Foa, P.P. (1975). The synthesis and release of insulin in fetal, nursing and young adult rats. *Pediatr Res.* 9: 7-25.
39. Blazquez, E., Montoya, E. and Quijada, C.L.. (1970). Relationship between insulin concentrations in plasma and pancreas of foetal and weaning rats. *J Endocrinol.* 48: 553-560.
40. Henning, S.J. (1978). Plasma concentrations of total and free corticosterone during development in the rat. *Am J Physiol.* 235: E451-E456.
41. Wakelam, M.J., Aragon, C., Gimenez, C., Allen, M.B. and Walker. (1979). Thyroid hormones and the precocious induction of hepatic glucokinase in the neonatal rat. *Eur J Biochem.* 100: 467-475.
42. Geisler, R.W., Roggeveen, A.E. and Hansen R.J. (1978). The effects of insulin on the turnover of glucose-6-phosphate dehydrogenase in epididymal adipose tissue of the rat. *Biochim Biophys Acta.* 544: 284-293.
43. Edozien, J.C. and Switzer, B.R..(1978). Influence of diet on growth in the rat. *J Nutr.* 108: 282-290.

44. Mohan, P.F., Narasinga, R.B.S.. (1983). Adaptation to underfeeding in growing rats effect of energy restriction at two dietary protein levels on growth, feed efficiency, basal metabolism and body composition. J Nutr. 113: 79-85.
45. Smith, C.K., Dyrschlag, R.P., Layman, D.K.. (1982). Response of skeletal muscle protein synthesis and breakdown to levels of dietary protein and fat during growth in weanling rats. J Nutr. 112: 255-262.
46. Halpern, S.L. (1984). Manual de Nutrición clínica. México. Limusa, S.A. pp 434-435.
47. Widdowson, E.M. and McCance, R.A.. (1963). The effect of finite periods of undernutrition at different ages on the composition and subsequent development of the rat. Proc Royal Soc. 153: 329-342.
48. Glore, S.R. and Layman, D.K.. (1983). Cellular growth of skeletal muscle in weanling rats during dietary restrictions. Growth. 47: 403-410.
49. Rasmussen, K.M., Warman, N.L.. (1983). Effects of maternal malnutrition during the reproductive cycle on growth and nutritional status of suckling rats pups. Am J Clin Nutr. 38: 77-83.
50. Warman, N.L., Rasmussen, K.M.. (1983). Effects of malnutrition during the reproductive cycle on nutritional status and lactational performance of rat dams. Nutr Res. 3: 527-545.

51. Young, C.M., and Rasmussen, K.M. (1985). Effects of varying degrees of chronic dietary restriction in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups. *Am J Clin Nutr.* 41: 979-987.
52. Crinc, L.S., and Chase, P.. (1978). Models of infantile undernutrition in rats: Effects on milk. *J Nutr.* 108: 1755-1760.
53. Wilson, P.N. and Osbourn, D.F.. (1960). Compensatory growth after undernutrition in mammals and birds. *Biol Rev.* 35:324.
54. Miller, D.S. and Wise, A.. (1976). The energetics of "catch up" growth. *Nutr Metab.* 20: 125-134.
55. Howarth, R.E. and Baldwin, R.L.. (1971). Synthesis and accumulation of protein and nucleic acid in rat gastrocnemius muscles during normal growth, restricted growth, and recovery from restricted growth. *J Nutr.* 101: 477-484.
56. Ozelci, A., Romsos, D.R., and Leveille, G.A.. (1978). Influence of initial food restriction on subsequent body weight gain and body fat accumulation in rats. *J Nutr.* 108: 1724-1732.
57. Mendez, J. (1966). Effect of acute starvation and refeeding in body composition of rats fed previously at different levels of dietary protein. *J Nutr.* 89: 513-519.

58. Robinson, D.W., Hadgson, D., Bradford, G.E., Rabb, J., and Peterson, D.W.. (1975). Effects of dietary restriction and fasting on the body composition of normal and genetically obese mice. *J Anim Sci.* 40: 1058-1062.
59. Ashley, J.H. and Fisher, H. (1967). Protein reserves and muscle constituents of protein-depleted and repleted coxs. *Brit J Nutr.* 21: 661-670.
60. Masters, C.J. (1963). Nucleic acids and protein stores in the merino sheep. *Aust J Biol Sci.* 16: 192-205.
61. Glore, S.R and Layman, D.K.. (1983). Cellular development of skeletal muscle during early periods of nutritional restriction and subsequent rehabilitation. *Pediatr Res.* 17: 602-605.
62. Glore, S.R., and Layman, D.K.. (1987). Cellular development of skeletal muscle of rats during recovery from prolonged undernutrition. *J Nutr.* 117: 1767-1774.
63. Mendes, C.B., and Waterlow, J.C.. (1958). The effect of a low protein diet and of refeeding on the composition of liver and muscle in the weanling rat. *Brit J Nutr.* 12: 74.
64. Hall, E.R. (1981). *The mammals of North America.* Second Edition. Volumen II p.p. 838-840.
65. Velasco, S.A. y Nava, N.R.. (1988). *Ratas y ratones domésticos.* México. Limusa, S.A. p.p. 11-17.

66. Renner, S.B. Manual de manejo de roedores útiles en el laboratorio. Tesis. Técnico laboratorista clínico. México. 1987.
67. Itzhaki, R. and Gill, A.M.. (1964). A micro-biuret method for estimating proteins. *Anal Biochem.* 9: 401-410.
68. Schneider, W.C. (1945). A method for extraction of nucleic acids. *J Biol Chem.* 161: 293-298.
69. Giles, K.W., and Myers, A.. (1965). An improved diphenylamine method for the estimation of deoxiribonucleic acid. *Nature (London).* 206: 93.
70. Munro, H.N. and Fleck, A.. (1956). The determination of nucleic acids. *Methods Biochem Anal.* 14: 114-176.
71. Wilkinson, Leland. SYSTAT: The system for Statistics. Evanston, IL: SYSTAT, Inc., 1987.
72. Ostle, B. (1981). Estadística aplicada. México. Limusa 7a edición. pp 47-62.
73. Keppel, G. (1973). Design and analysis. A researcher's handbook. New Jersey. Prentice-Hall, Inc. 657 pág.
74. Strubbe, J.H. and Gorissen, J. (1980). Meal patterning in the lactating rat. *Physiol Behav.* 25: 775-777.
75. Tachi, N., Tomogane, H. and Yokoyama, A.. (1980). Diurnal Patterns of food intake and plasma corticosterone levels in lactating rats. *Physiol Behav.* 27: 481-486.

76. Woodside, B., Cohen, L.R. and Jans J.E. (1987). Effects of food restriction during concurrent lactation and pregnancy in the rat. *Physiol Behav.* 40: 613-615.
77. Hill, J.O., Fried, S.K., DiGirolamo, M. (1984). Effects of fasting and restricted refeeding on utilization of ingested energy in rats. *Am J Physiol.* 247: R318-R327.
78. Bjorntorp, P., Yang, M. (1982). Refeeding after fasting in the rat: effects on body composition and food efficiency. *Am J Nutr.* 36: 444-449.
79. Cheek, D.B., Holt, A.B., Hill, D.E., Talbert, J.L. (1971). Skeletal muscle cell mass and growth: The concept of the deoxiribonucleic acid unit. *Pediatr Res.* 5: 312-328.