

00570

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

1
28



CAMBIOS METABOLICOS Y EFECTO DE LA NUTRICION
DURANTE EL DESARROLLO DEL NIÑO MEXICANO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS QUIMICAS
(FARMACIA-SINTESIS DE FARMACOS)
P R E S E N T A
Q.F.B. ROSA MARIA ARGOTE ESPINOSA

MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN



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.

JURADO

Presidente: Dr. Homero Hernández.
Primer Vocal: Dr. José Pedraza.
Secretario: M. en C. Helgi Jung.
Primer Suplente: Dr. Adalberto Parra.
Segundo Suplente: Dra. Angélica Salas V.

Tutor M. en C. Angela Sotelo L.
Profesor Titular C tiempo completo
Coordinadora del Programa de Apoyo
a la Investigación y el Posgrado
Facultad de Química

Alumno: Q.F.B. Rosa María Argote Espinosa

Sitio donde se desarrollo el trabajo: Jefatura de Servicios de Investigación Médica
Centro Médico Nacional Siglo XXI,
Instituto Mexicano del Seguro Social

Quiero expresar mi agradecimiento a mis colaboradores de la Sección de Hormonas Proteicas del IMSS, y en especial, al Dr. Adalberto Parra C., jefe de ese grupo con quienes desarrollé la primera parte de esta tesis

Deseo expresar mi reconocimiento a mis compañeros de la Unidad de Investigación Médica en Nutrición del IMSS y, particularmente, al Dr. Salvador Villalpando H., jefe de ese grupo con quienes realicé la segunda parte de esta tesis.

Mi gratitud por las facilidades y apoyo que me brindó para la culminación de este trabajo el Dr. Fabio Salamanca G., jefe de la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana del IMSS.

Con mi profundo agradecimiento a la M. en C. Angela Sotelo L. por su asesoría en esta tesis; a la maestra y amiga por su apoyo de siempre.

Con sincero agradecimiento por su apoyo profesional y moral a la Dra. Graciela Delhumeau A.

Con amor y gratitud a:
mis padres, Guillermo y Engracia,
mis tíos, Clodoveo y Consuelo,
toda mi familia.

INDICE

	Página
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	1
OBJETIVOS	10
MATERIAL Y METODOS	12
RESULTADOS Y DISCUSION	16
RESUMEN DE RESULTADOS	43
CONCLUSIONES	48
GLOSARIO	50
BIBLIOGRAFIA	51
ANEXOS	55

ANEXOS

Pág

Publicación

Interrelación materno-fetal de sustratos energéticos
insulina, hormona del crecimiento y glucagón.

1. Embarazo normal a término 1.1.1 55

Publicaciones. Endocrine Aspects of Malnutrition

61

Insulin-Growth hormone adaptations in marasmus
and Kwashiorkor as seen in Mexico

1.2.1 65

Studies of daily urinary catecholamine excretion
in Kwashiorkor as observed in Mexico

1.2.2 78

Thyroid hormones and energy
metabolism in marasmus and Kwashiorkor,
as seen in Mexico

1.2.3 88

Publicación

Body Composition in Hypopituitary Dwarfs
Before and During Human Growth
Hormone Therapy

1.3.1 102

Manuscrito

Contenido de macronutrientes y energía de la leche de
madres lactantes de una comunidad rural mexicana

2.1.1 109

Resumen

Relevance of Oligosaccharides in Human Colostrum

2.1.2 122

Manuscrito

Relevancia de los oligosacáridos en el calostro humano

2.1.2 123

Publicación

Depuración plasmática de etanol y su excreción en la
leche de mujeres rurales que consumen pulque

2.2.1 140

Publicación

Effects of ethanol consumption during pregnancy and
lactation on the outcome and postnatal growth of the offspring.

2.2.2 146

CAMBIOS METABOLICOS Y EFECTO DE LA NUTRICION DURANTE EL DESARROLLO DEL NIÑO MEXICANO

INTRODUCCION

Los primeros meses de vida (período perinatal), son esenciales para para la sobrevivencia de los seres humanos, ya que en un lapso relativamente corto se suceden eventos importantes que pueden marcar, en forma indeleble, la vida del individuo. Se dividen en tres etapas: la gestación, la lactancia y el destete, todas con características muy diferentes entre sí. La primera está separada de las demás por el parto, que es un momento crucial y representa una auténtica convulsión bioquímica.

El estudio del metabolismo energético en esas etapas, es importante, porque nos permitirá entender la vulnerabilidad metabólica del neonato y, por consiguiente, la morbilidad que ocurre durante éste período perinatal. Además, aumentará extraordinariamente la eficacia y eficiencia del manejo del feto y del recién nacido, y cuando sea necesario, el uso correcto de cualquier terapia hormonal o medicamentosa.

GENERALIDADES

Metabolismo energético

En las etapas perinatales los mecanismos de la homeostásis energética son vitales para la sobrevivencia. El concepto de homeostasis energética incluye el conjunto de mecanismos que poseen los organismos superiores para mantener constante, cualquiera que sean las

circunstancias externas (ayuno, ejercicio etc.), el suministro de sustratos metabólicos a los diferentes tejidos, respetando el sustrato más adecuado para las exigencias de cada uno de ellos. Así se explica cómo pequeñas variaciones en la concentración de glucosa en la sangre, pueden afectar en sentido inverso la concentración de sustratos alternativos, como son los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos. Estos procesos son regulados delicadamente por el sistema neuroendócrino.

Metabolismo energético en las etapas perinatales

Etapa prenatal

Aun cuando existe abundante información acerca de los principales sustratos energéticos y de las hormonas que controlan el metabolismo energético durante la gestación, tanto en la madre como en el feto,¹ son escasos los estudios simultáneos de los compartimientos de interrelación metabólica materno-fetal-líquido amniótico que nos muestren la integración del metabolismo energético durante la gestación en humanos.²

Se debe destacar que los principales rasgos metabólicos del período fetal tardío son: aporte materno de glucosa³ y aminoácidos, síntesis fetal de sus reservas energéticas constituidas de lípidos⁴ y glucógeno.^{5,6} Esta síntesis es independiente de insulina y se regula por la disponibilidad de glucosa. Se ha sugerido que cuando disminuye el aporte materno de glucosa el feto utiliza otros sustratos, como los cuerpos cetónicos^{7,8} y probablemente lactato,⁹ cuya concentración se eleva al final de la gestación. Estadísticamente, el peso de los niños al nacimiento varía directamente con la composición corporal de la madre antes de la concepción y la ganancia de peso durante el embarazo. Se ha comprobado que algunas mujeres marginalmente desnutridas durante el embarazo y la lactancia, por un consumo bajo de nutrientes y energía (1800 kcal/día), tienen hijos con pesos adecuados, saludables y que prosperan durante el amamantamiento, y sin embargo, la ingesta de nutrientes de estas

madres permanece por debajo de las recomendaciones de los organismos internacionales (2100-2300 kcal/día para una mujer no embarazada no lactante, 2400-2600 kcal/día y 2700-2900 kcal/día para mujeres embarazadas y lactantes respectivamente).^{10,11,12}

Etapa de lactancia

Inmediatamente después del parto, el neonato dependerá de sus reservas de energía hasta la iniciación de la lactancia.^{13,14,15} Al nacimiento, el contenido corporal graso es muy alto (18%) comparado con otras especies y esas reservas pueden ser movilizadas en función de catecolaminas, glucagon y hormona de crecimiento.^{5,16} La lactancia se caracteriza por la adaptación del recién nacido a la dieta láctea rica en lípidos observándose una disminución en la síntesis y un incremento en su oxidación, además, se establece la producción y consumo de cuerpos cetónicos,^{17,18} la gluconeogénesis,¹⁹ la mielinización muy activa²⁰ y la maduración progresiva de numerosos receptores.

La leche es un fluido biológico extremadamente complejo. Su composición química cambia a lo largo de la lactancia y asegura, en cada momento, un aporte de energía y otros nutrientes esenciales para mantener una nutrición satisfactoria. El calostro y la leche humana contienen una serie de compuestos relacionados directamente con la defensa antiinfecciosa y el fenómeno de impermeabilización de la mucosa intestinal. Estos compuestos no están presentes, o lo están en muy pequeña cantidad, en la leche de otras especies, por lo que la leche humana es inimitable y en ese sentido insustituible.²¹ Sobre todo, el calostro, es especialmente rico en oligosacáridos libres y complejos unidos a proteínas o lípidos. Se ha sugerido que estos carbohidratos juegan un papel muy importantes para el desarrollo neuronal, la proliferación celular y su organización en tejidos específicos, sobre todo durante la gestación y en los primeros meses de la vida extrauterina del niño.²²

Las madres bien alimentadas, que generan reservas adecuadas antes y durante el embarazo, y aquellas bien alimentadas durante la lactancia, son capaces de amamantar a sus hijos durante 4 a 6 meses. Los niños nacidos a término, que son saludables y con reservas fetales adecuadas, no requieren ninguna suplementación previa a los 4 meses; suplementar tempranamente interfiere con el proceso de la lactancia e incrementa la frecuencia de enfermedades infecciosas. La leche es adecuada como alimento único para los infantes durante 2 a 4 meses.²³

Aun cuando el volumen y el contenido energético de la leche de las mujeres mal alimentadas es semejante al de las bien nutridas, parte del contenido energético se produce a expensas de los tejidos maternos.²⁴ Esas madres pueden producir leches que contienen menos grasa, proteínas y vitaminas que las de madres bien alimentadas, y frecuentemente el volumen producido es bajo. Sin embargo, aún después de introducir otros alimentos a la dieta del infante, la leche materna puede continuar aportando cantidades importantes de proteína de alta calidad, grasa, calcio y vitaminas. Se ha observado que algunas madres, que han dado a luz niños pequeños para su edad gestacional, produjeron leche con bajo contenido de lípidos.²⁵ Aun cuando la leche materna cubra las necesidades mínimas energéticas del lactante, los cambios cualitativos en su composición pueden tener repercusión en el crecimiento y desarrollo del lactante.

Respecto al desarrollo físico y la composición corporal del neonato amamantado, no hay a la fecha suficientes estudios para determinar las diferencias con los no amantados; sin embargo, se ha sugerido que los niños amamantados por un año o más, son más delgados que los alimentados con fórmula,²⁶ debido a que aquéllos tienen menor cantidad de grasa corporal. La razón de la carencia de tales estudios estriba en parte en que se da un valor desmedido al peso corporal como medida de crecimiento e indicador del estado de nutrición, sin considerar que es la suma de la masa magra, más la energía de los triacilglicéridos acumulados en los adipocitos.

El embarazo, y sobre todo la lactancia, obligan a la madre a cubrir demandas fisiológicas y nutricionales elevadas por tiempos prolongados. Por lo tanto, la relación entre estado nutricional materno y un embarazo y lactancia adecuados es un problema muy importante desde el punto de vista de salud pública, particularmente en países del tercer mundo como México.

No menos importante es la alta morbilidad y la mortalidad, en niños menores de 5 años, causada por enfermedades diarreicas y por la desnutrición, que frecuentemente se inician durante el período de ablactación o destete de los niños.^{27,28}

Etapa preescolar (Destete)

El destete es otra etapa crítica del niño durante la cual se suprime el amamantamiento; representa una transición de una dieta rica en grasa y pobre en carbohidratos, a una dieta pobre en grasa y rica en carbohidratos.

La alta capacidad de oxidación de ácidos grasos y cuerpos cetónicos que se presenta durante la lactancia, disminuyen rápidamente. En cambio, aumentan las actividades lipogénicas y colesterogénicas y se instaura un metabolismo de los carbohidratos regulado por el sistema insulina-glucagón. Además, al final de la lactancia, aumenta la producción de urea²⁹ debido al aumento de los glucocorticoides. Al término del período de destete (15 ± 3 meses) el niño debe tener una dieta variada, acorde con las necesidades de energía y proteínas que determinan la etapa a que se ha llegado en su desarrollo físico y psicosocial, ya que disminuyen sus incrementos de peso y talla en forma gradual, entre los 15 y los 48 meses de edad, y se mantienen constantes de los 4 a los 6 años, que abarcan la llamada edad preescolar. Hay una disminución en el crecimiento verdadero, esto es, en los incrementos, no en el tamaño.

En cuanto a la composición corporal, se inicia un aumento progresivo de la masa magra, medida por el área muscular del brazo, la que no varía hasta los 9 años de edad. En cuanto al área grasa, los incrementos son mayores en las niñas que en los niños, se igualan a los 4 y medio años, para descender hasta valores negativos entre los cinco y seis años de edad.³⁰

Desnutrición en el periodo perinatal

La alimentación es un factor de suma importancia en la composición y funcionamiento del organismo. Entre las diversas circunstancias que influyen en el estado de nutrición pueden citarse a los siguientes: potencial genético dotado por los progenitores, características neuroendócrinas de las personas, infecciones, habitat, ejercicio físico, capacidad económica, ocupación etc.

El primer requisito que debe cumplir la dieta del niño es proveerle de energía. Si la dieta es escasa en energía, y a menudo monótona y desequilibrada, por lo general muestra un aporte reducido de otros nutrimentos de interés metabólico.

Dentro de la población mundial es frecuente que en las familias urbanas marginadas se establezca a través de las generaciones el "ciclo de la pobreza". Si no mueren en los primeros años, los hijos de padres pobres transcurren en condiciones precarias que afectan su crecimiento y desarrollo.³¹ La dieta insuficiente origina desnutrición en varios grados, y en casos extremos, es causa directa o indirecta de su muerte. Así, en países como México la mortalidad infantil (menores de 5 años), por causas relacionadas con la desnutrición, es elevada: 1.55 % (en la población usuaria del Instituto Mexicano del Seguro Social en 1983) y de las 794 defunciones, 754 fueron clasificadas como desnutrición calórica o proteica y 40 como marasmo.³²

La desnutrición proteínica calórica tiene características clínicas diferentes de un lugar del mundo a otro, debido a factores nutricionales, culturales y socioeconómicos. Se han demostrado anomalías tanto en el metabolismo energético, como en la función endócrina y la composición corporal,³³ así como alteración de la concentración de los electrolitos musculares.³⁴ La desnutrición tipo marasmo es prevalente en países donde la alimentación al seno dura poco tiempo. Los niños con marasmo se desnutren desde los primeros meses de vida por la disminución en la producción de leche materna, con muy poco o ningún aumento de talla o del peso. No presenta hipoproteïnemia o signos clínicos de edema, ni hígado graso, y no se observaron cambios en la piel o membranas mucosas. Hay pérdida de grasa subcutánea y además, estos niños no presentan ningún problema orgánico (parasitismo o enfermedad metabólica etc.).

Los niños con kwashiorkor tienen una historia más corta de desnutrición proteínica, con una ingesta adecuada o elevada de calorías. Presentan hipoproteïnemia, edema, crecimiento hepático y cambios severos de la piel y membranas mucosas. Una de las características de éste tipo de desnutrición es la elevada concentración de hormona de crecimiento,³⁵ a diferencia de los niños marasmáticos que muestran niveles casi normales.

En todo el mundo se ha tratado de estudiar la relación entre el metabolismo energético alterado y los perfiles hormonales que se presentan en la desnutrición grave para dar un mejor manejo terapéutico a los niños. En general, si los infantes son de menor edad, requerirán de períodos más largos de tratamiento antes de mostrar un aumento consistente de peso. Sin embargo, los niños pequeños muestran una velocidad de crecimiento mayor durante la fase temprana de rehabilitación nutricional, que la de los infantes y niños con un estado nutricional adecuado. Se piensa que éste es un fenómeno de crecimiento compensatorio (catch-up growth), un mecanismo homeostático que opera acelerando la restauración de los tejidos corporales. Se ha demostrado que estos niños muestran un aumento corporal de la grasa antes que de la proteína, en comparación con niños bien nutridos de la misma edad.³⁶

Aun cuando en las zonas urbanas y rurales la desnutrición durante la vida fetal y la lactancia se origina por una ingesta inadecuada de energía y frecuentes infecciones tanto intestinales como de las vías respiratorias etc., se pueden conjugar otros factores, como la ingestión materna de bebidas alcohólicas, que pueden reforzar los efectos negativos sobre el crecimiento fetal y del lactante. Existe mucha información con relación al efecto teratogénico del etanol sobre el feto.^{37,38} Sin embargo, durante el período de lactancia en humanos, existe muy poca información sobre su influencia en el desarrollo del niño. Se sabe que el etanol es excretado a través de la leche en concentraciones muy semejantes a la encontrada en el plasma. En el caso de México existe muy poca información sobre la incidencia de alcoholismo en las mujeres. En las áreas rurales y semirurales del centro de la República Mexicana, desde épocas prehispánicas la bebida alcohólica más usual ha sido el pulque, que en promedio tiene una concentración de alcohol de 3.0 g/dL. Además, contiene escasas concentraciones de carbohidratos, proteínas, vitaminas etc.³⁹ En estas zonas, cerca del 27 % de las mujeres consumen el pulque con sus alimentos⁴⁰ y contribuye en parte a sus requerimientos energéticos. La comunidad favorece este hábito en las mujeres embarazadas y lactantes, debido a la creencia de que el pulque estimula la producción de leche. No existe información sobre los efectos potencialmente negativos sobre el crecimiento y desarrollo del lactante o sobre la lactancia materna.

Terapia hormonal con Hormona de Crecimiento Humana (HCH) en alteraciones del crecimiento

Cuando se presentan alteraciones del crecimiento de los niños debidas a la disminución de la secreción de hormonas de la hipófisis anterior, en especial la hormona de crecimiento, se ha utilizado la terapia hormonal, aplicando tanto la de origen humano (HCH) como la obtenida, recientemente, por ingeniería genética. Se ha pretendido revertir las alteraciones del crecimiento y aprovechar los efectos fisiológicos de la hormona, que tiende a promover un crecimiento más rápido, aumentar la eficiencia de la alimentación y que el carcass contenga

más proteína y menos grasa, efectos que han sido demostrado cuando la hormona se ha administrado a animales.⁴¹

La aplicación a niños marasmáticos, los cuales presentan una disminución de la secreción de la hormona, se ha observado un aumento de la retención de nitrógeno, potasio y fósforo debido a una mejor utilización de esos elementos; sin embargo, al suspender la administración no se reinstaló el crecimiento normal.⁴²

Por más de treinta años se ha utilizado la hormona de crecimiento para promover el crecimiento lineal de niños con enanismo secundario a hipopituitarismo⁴³ y pocos son los estudios sobre la influencia del tratamiento con hormona de crecimiento sobre la composición corporal de niños hipopituitarios.⁴⁴⁻⁴⁶

Con base en lo anterior, y en un intento de conocer más a fondo el metabolismo, y el efecto de la nutrición sobre el crecimiento y desarrollo de los niños mexicanos, las investigaciones informadas en esta tesis fueron realizadas unas, en la población derechohabiente del Instituto Mexicano del Seguro Social en el D.F. y las que abordan aspectos nutricionales de la lactancia se realizaron en la población rural de San Mateo Capulhuac en el Estado de México.

OBJETIVOS

Objetivo general

Estudiar los cambios bioquímicos y clínicos que ocurren en niños mexicanos normales durante el crecimiento, y sus modificaciones por la desnutrición y por fallas hormonales.

Objetivos particulares

1. Relacionados con el metabolismo energético en niños de la Ciudad de México:

- 1.1 Investigar los cambios hormonales y de los principales sustratos energéticos en el período perinatal.
- 1.2 Estudiar el efecto de la desnutrición infantil.
- 1.3 Analizar el efecto de la terapia hormonal en la composición corporal de niños con alteraciones del crecimiento.

2. En relación con aspectos nutricionales de la lactancia en una zona rural del Estado de México:

- 2.1 Determinar la composición y volumen de la leche de las madres que alimentan a sus hijos exclusivamente al seno, en diferentes etapas de la lactancia.
 - 2.1.1 Estudiar el efecto de la dieta materna sobre el volumen, y concentración en la leche madura de lactosa, lípidos totales, proteínas totales, así como su contenido calórico.
 - 2.1.2 Analizar los cambios durante el día en el contenido de oligosacáridos, lactosa, glucosa y carbohidratos totales.

- 2.1.3 Determinar los cambios en el contenido de oligosacáridos, lactosa, glucosa y carbohidratos totales en la leche, en diferentes etapas de la lactancia: calostro, leche de transición y madura.

- 2.2 Investigar la influencia que pueda tener la ingestión de alcohol, durante la lactancia, sobre el crecimiento infantil.
 - 2.2.1 Estudiar la concentración prevalente de etanol en el pulque consumido en Capulhuac, Estado de México.
 - 2.2.2 Analizar la farmacocinética del etanol en el plasma y leche de madres lactantes que consumen pulque.
 - 2.2.3 Investigar el efecto, sobre el crecimiento infantil, de la ingestión de etanol durante la lactancia.

MATERIAL Y METODOS

La metodología empleada en las diferentes investigaciones en que la autora de la tesis ha participado, puede ser consultada en las copias de los manuscritos y de los artículos publicados que se incluyen en el anexo. El orden de presentación no es cronológico y se organizó de acuerdo con el siguiente diseño experimental.

DISEÑO EXPERIMENTAL

ESTUDIOS BIOQUIMICOS Y CLINICOS REALIZADOS DURANTE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE NIÑOS MEXICANOS

-
- ```
graph TD; A[] --- B[1. Estudio del metabolismo energético en niños de la Ciudad de México]; A --- C[2. Aspectos nutricionales de la lactancia en una zona rural del Estado de México]; B --- B1[1.1 Interrelación de la madre y el feto con respecto al metabolismo energético y su control hormonal.]; B --- B2[1.2 Cambios hormonales en niños con desnutrición proteínico-calórica.]; B --- B3[1.3 Efecto de la terapia hormonal sobre las alteraciones del crecimiento.]; C --- C1[2.1 La relación de la composición y el volumen de la leche materna con el crecimiento del infante.]; C --- C2[2.2 Efecto del alcohol ingerido por la madre durante la lactancia, sobre el crecimiento del niño lactante.];
```
- 1. Estudio del metabolismo energético en niños de la Ciudad de México**
    - 1.1 Interrelación de la madre y el feto con respecto al metabolismo energético y su control hormonal.
    - 1.2 Cambios hormonales en niños con desnutrición proteínico-calórica.
    - 1.3 Efecto de la terapia hormonal sobre las alteraciones del crecimiento.
  - 2. Aspectos nutricionales de la lactancia en una zona rural del Estado de México**
    - 2.1 La relación de la composición y el volumen de la leche materna con el crecimiento del infante.
    - 2.2 Efecto del alcohol ingerido por la madre durante la lactancia, sobre el crecimiento del niño lactante.

Los estudios experimentales que integran esta tesis se describen brevemente a continuación. Cada número corresponde al señalado en la primera página del manuscrito o publicación (ver anexo) a que se refiere el resumen:

## **1. Estudio del metabolismo energético de niños de la Ciudad de México**

1.1.1 Se estudió un grupo de mujeres residentes en el D.F., con embarazo normal a término y sin trabajo de parto, que serían sometidas a cesárea. Se determinaron las concentraciones simultáneas de los principales sustratos energéticos (glucosa, lactato, piruvato, ácidos grasos libres, cuerpos cetónicos, glicerol) y hormonas involucradas en su metabolismo (insulina, hormona de crecimiento y glucagon), en los compartimientos de interrelación materno (sangre venosa)-fetal (sangre venosa y arterial de cordón umbilical) y en el líquido amniótico.

1.2.1 En un grupo de niños de la ciudad de México, que sufrían de desnutrición proteínico-calórica del tipo marasmo o kwashiorkor, se realizó un estudio dividido en dos fases: una al ingreso y otra al final del tratamiento. Este estudio consistió en obtener el primer día una biopsia de tejido muscular, donde se analizó la concentración de glucógeno, adenosintrifosfato (ATP) y fosfocreatina (FC); además, se efectuó una prueba de estimulación con L-arginina. Se administró una infusión de L-arginina y se tomaron muestras de sangre a tiempos preestablecidos; en cada una de las muestras se determinó la concentración de Insulina, hormona de crecimiento, glucosa y ácidos grasos libres.

El segundo día del estudio, después de una noche de ayuno, se obtuvo sangre venosa para la determinación de la captación de triyodotironina ( $T_3$ ), tiroxina ( $T_4$ ) sérica e índice de tiroxina libre, proteínas totales y albúmina, prueba de tolerancia i.v. a la glucosa y se estimó su velocidad de depuración. En esta publicación se analizaron las adaptaciones de insulina y de hormona de crecimiento.

1.2.2 En el grupo de niños con desnutrición de tipo kwashiorkor del estudio anterior se colectó, además, la orina de 24 horas tres veces por una semana, y en cada una se determinó dopamina, norepinefrina, epinefrina, y ácidos vanililmandélico. Con los resultados se abordó el papel de las catecolaminas en éste tipo de desnutrición.

1.2.3 En los niños con desnutrición proteínico-calórica en sus dos tipos marasmo y kwashiorkor, se analizó, en relación con el metabolismo energético, hormonas tiroideas y composición del tejido muscular y la excreción de creatinina urinaria diaria.

Durante el estudio se obtuvieron otros índices como consumo de oxígeno, producción de CO<sub>2</sub>, ingestión diaria de calorías, carbohidratos, proteínas, lípidos y mediciones antropométricas.

1.3.1 Se determinó la composición corporal de un grupo de niños con enanismo, secundario a hipopituitarismo antes y después de un tratamiento de 6 y 12 meses con hormona de crecimiento humana (HCH). Se determinó agua corporal total (ACT), la masa corporal magra (MCM), el agua extra (AEC) e intracelular (AIC), la masa muscular (MM) e, indirectamente, la grasa corporal (GC).

## **2. Estudios relacionados con algunos aspectos nutricionales de la lactancia en una zona rural de México**

2.1.1 En un grupo de madres de San Mateo Capulhuac, Edo. de México, que alimentaban a sus hijos exclusivamente al seno se determinó la composición proximal de su leche, (proteínas totales, lípidos totales y carbohidratos totales), contenido energético, volumen de leche producido en 24 hrs. y su relación con la velocidad de crecimiento de los lactantes a los 4 y 6 meses de edad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### 1. Metabolismo energético de niños de la Ciudad de México

En este capítulo se tratará de integrar la investigación en la que participó la autora de esta tesis, como miembro de dos grupos de investigación, para ampliar el conocimiento del metabolismo energético del niño y de su madre, sobre todo en las etapas perinatales en las que el infante tiene gran dependencia del aporte de nutrimentos maternos, que le permitirá sobrevivir, crecer y desarrollarse adecuadamente.

Las investigaciones fueron realizadas en una población urbana derechohabiente del Instituto Mexicano del Seguro Social en el D.F. que incluye grupos de clase media baja, y en San Mateo Capulhuac en el Edo. de Méx. que es una comunidad de un nivel socioeconómico bajo dedicada a la agricultura. En ambos casos, los resultados se compararon con datos de la literatura, obtenidos en poblaciones semejantes. Los estudios realizados en el periodo perinatal y en la edad escolar de niños de la población urbana, abordaron los temas del metabolismo energético, tanto de los sustratos como del efecto de las hormonas. En cambio, los estudios realizados en la población rural abordaron únicamente aspectos nutricionales durante la etapa de la lactancia.

#### 1.1 Interrelación materno-fetal al final de la gestación.

El estudio en la etapa prenatal del metabolismo energético en los compartimentos de interrelación metabólica madre-feto-líquido amniótico, nos permite conocer el estado fetal, al final del embarazo normal, y contrastarlo con embarazos en los que se sospeche que la nutrición fetal es inadecuada, o con embarazos de alto riesgo en los cuales el feto puede presentar alteración del metabolismo energético que ponen en riesgo su sobrevivencia.

Para ello se estudiaron 20 madres con embarazo a término, sometidas a cesarea y en las cuales se midieron los sustratos energéticos y algunas hormonas. Las determinaciones que se informan en la tabla 1 fueron realizadas en la sangre materna, en la arteria y vena umbilicales y en el líquido amniótico.

**Tabla 1. Concentraciones de los sustratos energéticos y de hormonas en los diferentes compartimientos estudiados.**

|                                       | Sangre materna | Vena umbilical | Arteria umbilical | Líquido amniótico |
|---------------------------------------|----------------|----------------|-------------------|-------------------|
| Glucosa (mmol/L)                      | 3.1 ± 0.2      | 2.7 ± 0.2      | 2.2 ± 0.1         | 0.4 ± 0.1         |
| Piruvato (mmol/L)                     | 37.9 ± 7.5     | 135.0 ± 8.5    | 158.2 ± 9.8       | 94.4 ± 9.0        |
| Lactato (mmol/L)                      | 1.4 ± 0.1      | 1.7 ± 0.1      | 1.8 ± 0.1         | 8.9 ± 2.5         |
| AGNÉ (mmol/L)                         | 1.0 ± 0.1      | 0.5 ± 0.0      | 0.5 ± 0.0         | 0.1 ± 0.0         |
| Glicerol (mmol/L)                     | 2.9 ± 0.2      | 0.3 ± 0.0      | 0.3 ± 0.0         | 0.1 ± 0.0         |
| Acetoacetato (mmol/L)                 | 70.8 ± 7.1     | 62.4 ± 3.9     | 62.4 ± 2.9        | 19.4 ± 2.4        |
| Hidroxibutirato (mmol/L)              | 273.3 ± 25     | 231.1 ± 12     | 190.9 ± 8.8       | 163.5 ± 8.9       |
| Insulina (pmol/L)                     | 93.9 ± 9.0     | 122.8 ± 11.3   | 125.0 ± 10.5      | 145.0 ± 10.2      |
| Hormona de crecimiento humana (ng/mL) | 0.0 ± 0.0      | 5.5 ± 0.8      | 4.8 ± 0.6         | 4.8 ± 0.6         |
| Glucagon (pg/mL)                      | 312.4 ± 31     | 209.3 ± 27     | 217.0 ± 22        | 53.9 ± 10         |

*Los valores representan el promedio ± error estándar*

### *Adaptaciones metabólicas materno-fetal*

Los resultados mostraron que en la madre los niveles de insulina son menores y los de glucagon mayores que los del feto, lo que permite un aumento de lipólisis del tejido adiposo materno, que se manifiesta por las concentraciones elevadas de ácidos grasos libres y glicerol. Estos son utilizados como sustratos energéticos para sus tejidos periféricos y para la gluconeogénesis respectivamente. De esta manera se economiza glucosa, que es canalizada al feto. Además, estos cambios en la distribución de los sustratos energéticos son una preparación para la producción de la leche.

Los resultados confirman que en condiciones normales el feto cubre sus necesidades energéticas a partir de la glucosa materna, ya que la diferencia de la concentración arterio - venosa del cordón umbilical fue de 0.58 mM/L, lo cual permite calcular, como se muestra en la tabla II, una utilización de este sustrato del orden de 0.0463 mmol/kg/min. Estos resultados concuerdan con lo informado por otros autores,<sup>47</sup> y le permiten cubrir íntegramente sus necesidades energéticas.

Tabla II. Utilización de la glucosa por el feto

|                             |                                          |
|-----------------------------|------------------------------------------|
| Correlación entre VU y AU   | (r = 0.866, p < 0.001)                   |
| Glucosa, diferencia VU - AU | 0.58 mM                                  |
| Flujo sanguíneo             | 4.8 L/kg/hr.                             |
| Utilización por el feto     | 66.8 mmol/kg/24 hrs. = 188 kJ/kg/24 hrs. |

#### *Adaptaciones metabólicas en el recién nacido*

Inmediatamente después del parto, el neonato tiene que hacer uso de las reservas de glucógeno hepático y muscular para mantener el aporte de glucosa al cerebro en las primeras horas de vida. Otro sustrato producido por el feto es el lactato, cuyas concentraciones en arteria y vena umbilicales se encontraron tan elevadas como en la sangre materna y en el líquido amniótico, donde se presentó la concentración más elevada (p < 0.001).

Probablemente para evitar la acidosis fetal, el exceso de lactato es eliminado al líquido amniótico. Esta elevación en la producción fetal del lactato apoya la teoría de que en las primeras horas nacimiento, el cerebro neonatal utiliza el lactato como sustrato energético. Se ha sugerido, también, que este lactato puede ser utilizado como fuente de carbono para la síntesis de mielinas.

No están bien establecidas las señales hormonales que dirigen la inducción de la glucogenolisis, sin embargo se ha sugerido que las catecolaminas provocan (a nivel pancreático) una

elevación del glucagon hasta alcanzar niveles de  $209 \pm 27.4$  y  $217 \pm 21.9$  pg/ml en vena y arteria umbilicales respectivamente, en el momento del parto, lo que se considera una hiperglucagonemia, ya que rebasan los 200 pg/ml. Los niveles de insulina se inhiben, la razón insulina/glucagon disminuye y el resultado es la glucogenolisis.

Se ha informado que el hígado fetal es refractario a la acción del glucagon, y sólo después del parto, actúa junto con catecolaminas y hormona de crecimiento, movilizandolos depósitos grasos del neonato como principal fuente de energía para los tejidos que los pueden utilizar en vez de glucosa, y así ésta es utilizada por el cerebro hasta que se instaura la gluconeogénesis y la alimentación láctea.

Es importante mencionar que existe una correlación significativa entre la concentración de ácidos grasos libres y D- $\beta$ -hidroxibutirato y hormona de crecimiento en vena y arterias umbilicales y líquido amniótico. Es posible que en los embarazos que cursan con sufrimiento fetal crónico, el feto tenga que movilizar sus reservas de grasa y, por lo tanto, aumentar la concentración de los metabolitos de la lipólisis en el líquido amniótico.

Ya que los hijos de las madres estudiadas tuvieron un peso adecuado (3.0 kg) para su edad gestacional, se puede inferir que la nutrición fetal fue conveniente durante la gestación.

## 1.2 Metabolismo energético y desnutrición infantil

Para el recién nacido es fundamental la alimentación al seno inmediatamente después del parto, porque le proporciona los nutrimentos en calidad y cantidad que, en condiciones normales, requiere para su crecimiento óptimo. Para el neonato, el período de prelactancia y lactancia son críticos, porque implican una adaptación metabólica a la vida extrauterina, y si la alimentación al seno dura poco tiempo, es frecuente que se origine una desnutrición proteínico-calórica tipo marasmo, que se presenta en niños menores de un año con una desnutrición de tercer grado. Cuando se



suprime el amamantamiento y se proporciona una dieta deficiente en proteínas, es frecuente que se presente una desnutrición tipo Kwashiorkor en niños entre los 15 y 30 meses, la cual se manifiesta en forma aguda, y es desencadenada frecuentemente por infecciones constantes. En éste caso también se dan cambios hormonales de adaptación correspondientes al período de destete, por lo que probablemente aumenta la gravedad de las alteraciones.

Aun cuando éste tipo de desnutrición se presenta en todo el mundo, en cada país se manifiestan diferencias en las interacciones entre los diferentes anormalidades del metabolismo energético, la composición corporal y la función endócrina.

#### *Adaptaciones en la desnutrición tipo marasmo*

En términos generales, se puede decir que los niños marasmáticos han tenido una disminución importante de la ingestión calórica y proteica durante varios meses; por lo tanto, representan un estado crónico de privación calórica. Esto implica la existencia de mecanismos de adaptación sumamente eficientes para asegurar la supervivencia del paciente. Los hechos que apoyan éste concepto son:

- a) Los niveles plasmáticos de hormona de crecimiento e insulina se encontraron dentro de los límites fisiológicos, los niveles de glucosa se mantuvieron dentro de límites normales durante las pruebas de estimulación con arginina, tanto al ingreso como en la recuperación (fig 1).
- b) Las variaciones observadas en la depuración plasmática de la glucosa se encontraron dentro de los límites normales.
- c) Durante la curva de tolerancia a la arginina realizada al inicio del estudio hubo una reacción lenta de los niveles plasmáticos de la insulina. Los niveles máximos de insulina se presentaron simultáneamente con el aumento máximo de hormona de crecimiento plasmática (fig 1). Durante el estudio de recuperación la concentración máxima de hormona del crecimiento disminuyó y la de insulina aumentó (fig 2).

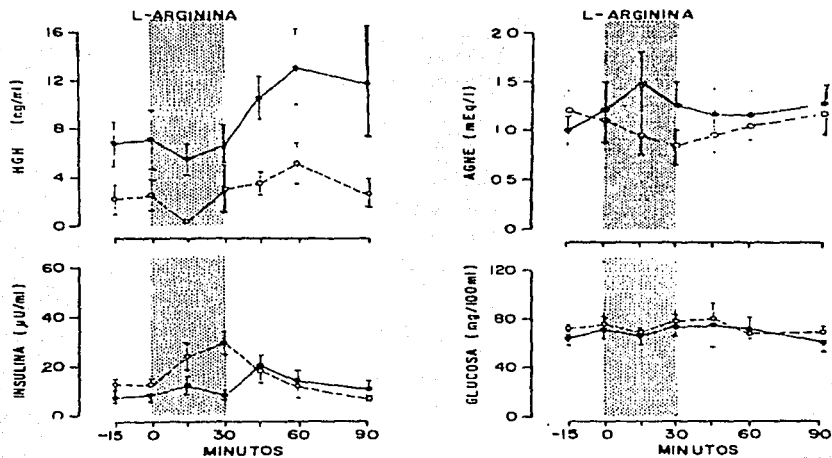


Figura 1. Curva de tolerancia endovenosa a la l-arginina en los niños marasmáticos. Niveles plasmáticos de hormona de crecimiento humana (HCH), insulina, ácidos grasos no esterificados (A.G.N.E.) y glucosa en el estudio de admisión (I) y durante el estudio de recuperación (O). El área sombreada indica la duración de la infusión de la l-arginina. Los valores representan el promedio  $\pm$  error estándar.

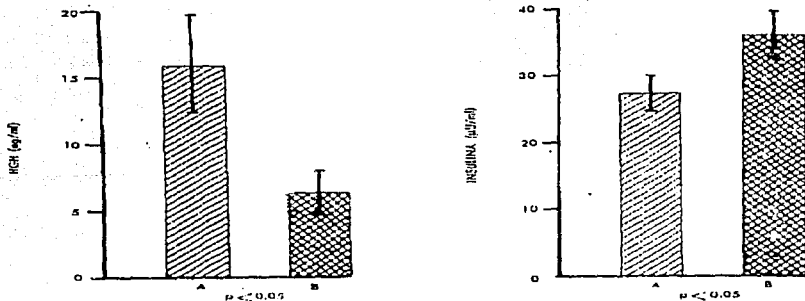


Figura 2. Concentraciones plasmáticas máximas de hormona de crecimiento (HGH) e insulina durante la infusión endovenosa de l-arginina, en niños marasmáticos durante el estudio de ingreso (A) y el de recuperación (B). Los valores representan promedio  $\pm$  error estándar.

El resultado neto de estos cambios es la disminución de los efectos metabólicos de la insulina. De este modo, la glucosa sanguínea se usó principalmente para el metabolismo del cerebro, en tanto que los ácidos grasos no ésterificados pueden ser utilizados por otros tejidos (músculo esquelético y corazón) o como fuente potencial de cuerpos cetónicos, que pueden ser utilizados como combustible por el cerebro en condiciones de ayuno.

La coincidencia cronológica de los niveles máximos de hormona de crecimiento e insulina plasmática representaría una situación óptima para incrementar la síntesis de proteínas, aunque el ingreso de sustratos energético sea precario.

El resultado final de estas adaptaciones en el niño marasmático son: normoglicemia, aumento en la lipólisis para conservar constante la disponibilidad de sustratos energéticos, y de esta manera permitir la conservación de los depósitos tisulares de proteínas a un nivel mínimo compatible con la vida.

Estudiamos también la relación de hormonas tiroideas y algunos aspectos de la composición del tejido muscular. Los niños marasmáticos presentaron al ingreso un gasto calórico basal reducido de  $38.5 \pm 2.7$  kcal/kg de peso corporal, que representa un ajuste necesario por la deprivación crónica de alimentos, y de esta manera poder sobrevivir.

Conforme su ingesta calórica es mayor, el gasto calórico basal se eleva a un nivel máximo de  $48.0 \pm 3.3$  kcal/kg de peso corporal en el período 3, sin incrementos posteriores.

Paralelamente se observaron incrementos en area muscular del brazo medio y los pliegues cutáneos. El incremento del grosor del pliegue cutáneo del triceps fue mayor durante el período 4, y se presenta simultáneamente con la meseta en el gasto calórico basal (fig 3).

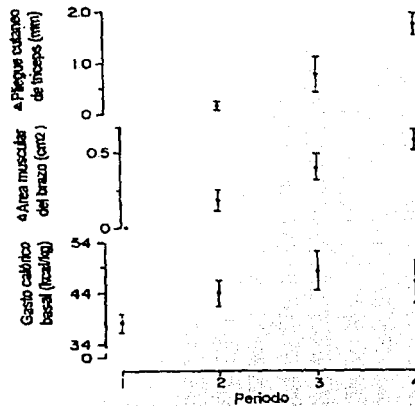


Figura 3. Cambios en gasto calórico basal, área muscular del brazo y grosor del pliegue cutáneo de tríceps de niños marasmáticos. Cada punto representa el valor promedio de períodos de 10 a 12 días consecutivos (promedio ± error estándar).

Estos cambios en los parámetros estudiados, probablemente se deban a que al inicio de la recuperación, los niños marasmáticos recobran músculo (por el aumento del gasto calórico basal) y en períodos posteriores, como se ha informado, se acumule grasa.

Aun cuando se ha sugerido que los niños marasmáticos tienen una función tiroidea subnormal, los resultados muestran niveles normales de hormonas tiroideas mientras que los niveles de insulina son bajos; además, las concentraciones bajas de glucógeno muscular reflejan el consumo de sus reservas energéticas endógenas, probablemente desde el nacimiento.

La rápida respuesta de las alteraciones metabólicas y endócrinas a la realimentación sugieren que esos cambios representan un mecanismo secundario de adaptación, en un esfuerzo para mantener las estructuras musculares lo más cercano a lo normal.

## Adaptaciones en la desnutrición tipo kwashiorkor

Por lo general, en los niños con kwashiorkor, una infección aguda precipita la desnutrición. Por lo tanto, consideramos que se encuentran en un estado agudo de deprivación calórica, lo que aunado a la infección, lleva a estos niños a un cuadro de estrés agudo.

Basados en lo descrito anteriormente y en los conocimientos que se tienen respecto al uso y disponibilidad de sustratos energéticos endógenos en el periodo perinatal, consideramos que la disminución de la utilización periférica de la glucosa, mostrada por la disminución en la depuración plasmática de la glucosa en el estudio de ingreso (fig 4), representaría un mecanismo para evitar un gasto innecesario de glucosa y permitir que éste sustrato sea utilizado por el sistema nervioso central.

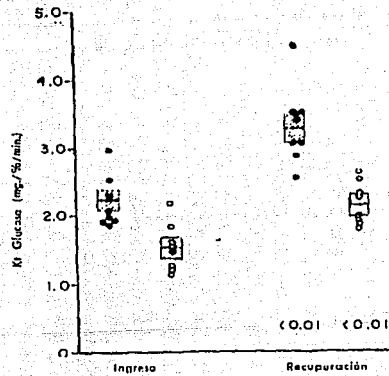


Figura 4. Depuración plasmática de glucosa (K t de glucosa) en niños con marasmo (●) y kwashiorkor (○), tanto al ingreso como durante la recuperación. Los valores representan el promedio  $\pm$  error estándar.

Durante la prueba de estimulación con L-arginina (fig.5) se observó:

1. Niveles de insulina basal subnormales, y mínima reacción insulínica al estímulo en el ingreso, lo que facilitaría: a) un catábolismo proteico para suministrar aminoácidos para la gluconeogénesis; b) una lipólisis continua, y por lo tanto, una disponibilidad constante de ácidos grasos no ésterificados, los cuales pueden ser usados como fuente de energía por los tejidos periféricos; c) la acción de hormonas lipolíticas como la hormona de crecimiento, y epinefrina.
2. Los niveles de hormona de crecimiento al ingreso se mantienen elevados, (como los niveles basales) y no responden al estímulo de la arginina. Los niveles constantes y no reprimibles de esta hormona, mantienen la lipólisis. Cuando los niños se recuperan, sus niveles de hormona de crecimiento bajan y responden al estímulo.

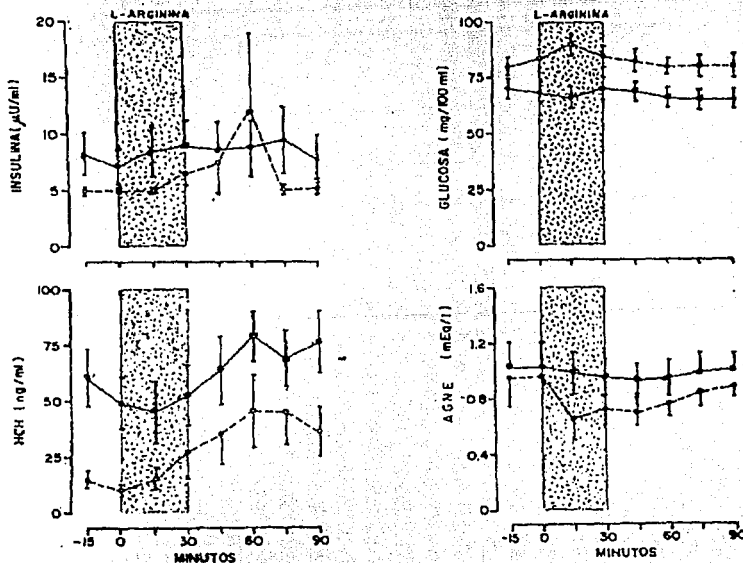


Figura 5. Curva de tolerancia endovenosa a la l-arginina en niños con kwashiorkor. Niveles plasmáticos de hormona de crecimiento humana (HCH), insulina, ácidos grasos no esterificados (AGNE) y glucosa al ingreso (●) y durante la recuperación (○). El área sombreada indica la duración de la infusión de l-arginina. Los valores indican el promedio ± error estándar.

En el estudio de la excreción urinaria diaria de catecolaminas, (fig.6) se observó que la excreción de dopamina disminuyó al ingreso y aumentó marcadamente con la recuperación. Desde el ingreso la excreción de epinefrina estuvo relativamente elevada (epinefrina/norepinefrina), y así se mantuvo durante todo el estudio. De las catecolaminas analizadas solamente los incrementos de dopamina (del período 3 en adelante) fueron significativamente diferentes del nivel basal.

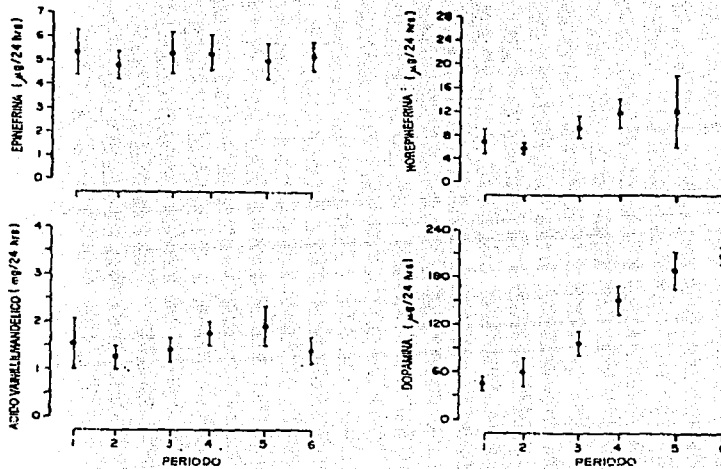


Figura 6. Cambios en la excreción urinaria diaria de las diferentes catecolaminas y ácido vainillilmandélico durante el estudio (promedio±error estándar).

La excreción urinaria de dopamina y el gasto calórico basal ( $r=0.557$ ,  $p<0.001$ ) mostraron una correlación significativa.

Aun cuando nuestro estudio no fue diseñado para explicar el mecanismo relacionado con el metabolismo de las catecolaminas, existe la posibilidad de que la baja excreción de dopamina se deba entre otras causas a bajos niveles sanguíneos de tirosina, o bien a una baja concentración

de enzimas o co-factores. El aumento relativo de la excreción de epinefrina urinaria, al ingreso, puede ser el resultado de la respuesta de la médula suprarrenal al estrés a que están sujetos estos niños, por ejemplo, una reducción brusca de la ingesta de alimentos, infecciones, hospitalización.

Es ampliamente conocido que la epinefrina y norepinefrina están involucradas en funciones como: control de la temperatura, control del afecto, disposición de ánimo y regulación neuroendócrina del funcionamiento de la pituitaria. Tomando en cuenta estas funciones, es probable que la dopamina tenga propiedades termogénicas en estas circunstancias, puesto que se observó una correlación positiva con el gasto calórico basal.

Cuando el cerebro de las ratas se depleta de catecolaminas, les produce letargia, actividad motora disminuida, y la apariencia de estar sedadas. Estos síntomas también los presentan las ratas desnutridas, y los niños con kwashiorkor presentan un patrón de comportamiento similar, por lo que se podría especular que están depletadas sus catecolaminas cerebrales; la excreción urinaria de catecolaminas elevadas no excluye esta hipótesis.

Se ha informado que la infusión de dopamina en el ventrículo lateral del cerebro de la rata origina la disminución significativa de los niveles plasmáticos de hormona de crecimiento; en cambio, la epinefrina intravenosa tiene un efecto estimulante de la excreción de hormona de crecimiento. Como la barrera sanguínea cerebral para catecolaminas no existe en el hipotálamo, los niveles elevados de epinefrina secretados por la médula suprarrenal estimulada por el estrés, pueden ser parcialmente responsables del aumento de la hormona de crecimiento plasmática. Con base en estas observaciones, los niveles bajos de dopamina junto con los elevados de epinefrina, pueden originar el incremento en los niveles elevados de hormona de crecimiento observados en los niños con kwashiorkor.

En relación con la función tiroidea (captación de  $T_3$ ,  $T_4$ , índice de tiroxina libre), tanto en el estudio de admisión como en el de recuperación, estuvieron dentro de los límites normales.



Cuando se analizaron los incrementos en masa muscular, se observó un patrón semejante al de los incrementos en gasto calórico basal, lo que sugiere, que éstos últimos fueron originados por la acumulación de masa muscular. Durante la recuperación se observó una correlación lineal significativa entre el incremento de masa muscular y el incremento de área muscular del brazo (fig 7).

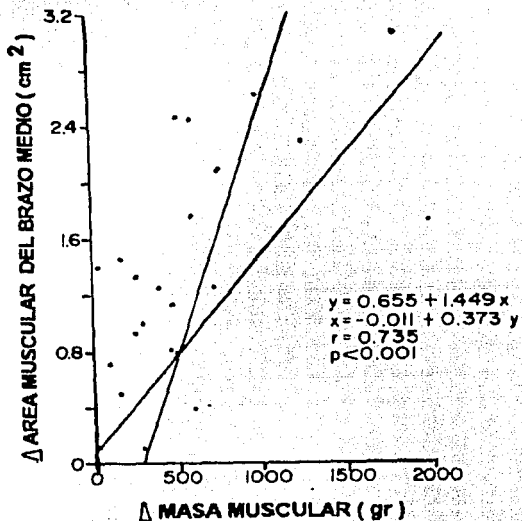


Figura 7. Correlación entre incrementos de masa muscular e incrementos en el área muscular del brazo de niños con kwashiorkor.

Los resultados sugieren que en los niños con kwashiorkor, el tejido muscular no está tan depletado de sustratos energéticos como en el marasmo, y que los depósitos de grasa y proteína se recuperan simultáneamente en el organismo; por lo mismo, no es necesario un aumento, dentro de límites fisiológicos, en los niveles de hormonas tiroideas. Las concentraciones de fosfocreatina y adenosintrifosfato muscular fueron similares en los dos estudios; sin embargo, las reservas de glucógeno muscular están disminuidas en el marasmo. Esta contradicción aparente se explica porque durante el ayuno prolongado el aporte de sustratos energéticos no depende en parte de glucógeno o de las proteínas, sino fundamentalmente de grasa.

En el metabolismo energético de estos niños, los niveles relativamente elevados de epinefrina pueden ser responsables, en parte, de la baja depuración plasmática de la glucosa, de los niveles bajos de insulina, tanto en ayunas como en respuesta a diferentes estímulos, y además, de los niveles elevados de hormona de crecimiento. Estas dos últimas hormonas juntas, provocan una liberación mayor de ácidos grasos libres para ser usados como sustratos energéticos por los tejidos periféricos. Todos estos cambios pueden actuar juntos y constituir un mecanismo homeostático para regular la mezcla de sustratos disponibles por la circulación a los tejidos corporales.

Con base en los resultados obtenidos, es obvio que la elevada mortalidad perinatal está íntimamente relacionada con el estado de nutrición de la madre y del producto, mostrando éste último una habilidad especial para adquirir resistencia a los cambios del medio interno y externo.

La correcta adaptación, frente a una dieta precaria y/o frecuentes padecimientos infecciosos, significa una mayor probabilidad de supervivencia.

La adaptación del niño sobreviviente de estos casos extremos de desnutrición, se puede apreciar tomando como indicador a la talla, que no se expresa en todo su potencial y es menor a la de niños sanos, bien alimentados y de igual edad.

### 1.3 Utilización de la hormona del crecimiento de origen humano en alteraciones del crecimiento.

Existen alteraciones del metabolismo hormonal en las que se afecta la talla de los niños y en las que se involucra a la hormona de crecimiento. Estas alteraciones pueden no relacionarse con las adaptaciones metabólicas descritas en párrafos anteriores, y cuyo conocimiento permite entender y tratar mejor este tipo de patología, que se presenta con relativa frecuencia

en los niños que acuden a la consulta de Instituto Mexicano del Seguro Social. Tal es el caso del enanismo secundario a hipopituitarismo en el que existe deficiencia de la hormona del crecimiento.

Con terapia hormonal se trató de promover el crecimiento lineal de los niños administrando dos unidades internacionales de hormona de crecimiento en forma continua, tres veces por semana. Se analizaron sus características clínicas y la composición corporal, antes y después de los 6 y 12 meses de terapia. Antes del tratamiento su velocidad de crecimiento era de  $1.8 \pm 0.7$  cm/año, la talla para su edad fluctuaba entre 2.0 y 12.8 años menos y la edad ósea entre 2.0 y 11.1 años menos que la edad cronológica. Durante los primeros seis meses de terapia la velocidad de crecimiento fue de  $7.1 \pm 1.6$  cm/año y de  $7.8 \pm 1.4$  cm/año durante los siguientes 6 meses. Al analizar la composición corporal (agua corporal total, agua extra e intracelular y masa corporal magra) de los pacientes, aun cuando fue anormal para su edad cronológica, se encontró dentro de límites normales para su talla, excepto por la masa muscular, que era menor a lo esperado para la talla (fig 8).

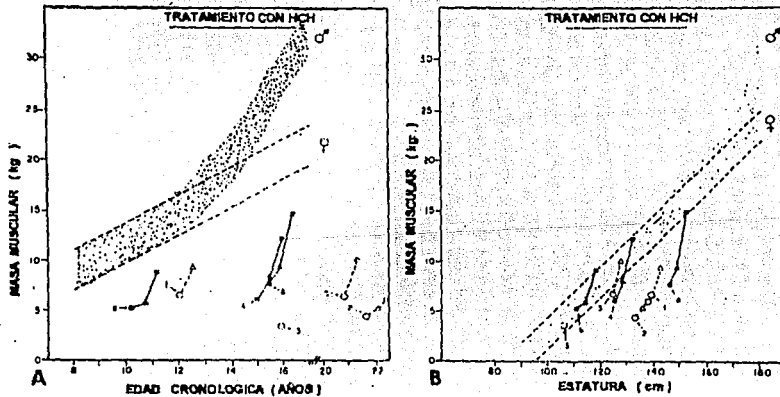


Figura 8. Masa muscular de niños (símbolos oscuros) y niñas (símbolos claros) hipopituitarios de acuerdo a la edad cronológica (A) y estatura (B). Los valores antes de la terapia con hormona de crecimiento están representados por círculos, después de 6 meses de terapia por triángulos, y después de 12 meses de terapia por cuadrados. Los valores normales (promedio  $\pm$  DE) de niños están representados por las áreas sombreadas y los de las niñas por las áreas dentro de las líneas discontinuas.

Durante la terapia con la hormona de crecimiento se observaron cambios en la composición corporal correspondientes a los incrementos de talla, con excepción, nuevamente, de la masa muscular, que fue mayor a lo esperado para los incrementos de talla. Estos resultados en la masa muscular son consistentes con los cambios inducidos por hormona de crecimiento, tanto en el número y tamaño de células musculares de enanos hipopituitarios tratados con la hormona, como por las observaciones de los efectos a corto plazo de la hormona de crecimiento, en la retención de potasio, principalmente a nivel de músculo. De los parámetros estudiados, la masa muscular es el tejido que mejor refleja, no solo la falta de hormona de crecimiento sino sus beneficios terapéuticos.

En el caso de los niños con sobrepeso, se produjo una reducción de peso significativa durante los primeros 6 meses de tratamiento, con una pérdida absoluta de grasa corporal total. En los otros pacientes, la grasa corporal total permaneció constante, pero aumentó el peso corporal, lo que sugiere una pérdida relativa de grasa corporal, lo que indica que la pérdida de grasa representa una acción biológica de la hormona de crecimiento. Los resultados de esta investigación muestran la importancia que tiene el estudio de la composición corporal de los niños tratados con hormona de crecimiento, ya que revelan aspectos que no se pueden evaluar utilizando únicamente el peso y la talla de los pacientes.

## **2. Aspectos nutricionales de la lactancia en una zona rural del Estado de México.**

Para las investigaciones de los aspectos nutricionales de la lactancia se escogió una comunidad rural cercana al Distrito Federal donde existe una alta prevalencia de alimentación al seno de los recién nacidos; además, las mujeres no salen a trabajar fuera del hogar, aunque ayudan en las faenas del campo. Las encuestas en la comunidad de San Mateo Capulhuac, en el Edo. de Méx. revelan que las mujeres no embarazadas, embarazadas y lactantes de esta zona, al igual que de otras partes del mundo, tienen una ingesta calórica (aproximada-

mente de 1750 kcal diarias) que no cubre las recomendaciones en cantidad y calidad, ya que su dieta es rica en carbohidratos y pobre en lípidos y proteínas, como se muestra en la tabla III.

**Tabla III. Composición de la dieta diaria de la zona rural de Capulhuac**

|                   | g     | Kcal | %    |
|-------------------|-------|------|------|
| Proteínas totales | 45.5  | 182  | 10.3 |
| Lípidos totales   | 31.9  | 287  | 16.3 |
| Carbohidratos     | 321.8 | 1287 | 73.3 |

### *2.1 Composición y volumen de la leche materna y su relación con el crecimiento de sus hijos.*

Aun cuando se les considera marginalmente desnutridas, estas madres dieron a luz niños con peso adecuado para su edad gestacional; sin embargo, amamantando a sus hijos exclusivamente, estos empezaron a desacelerar su crecimiento casi desde un mes de edad y fue más evidente a los 3 meses. La causa de esta desaceleración podría deberse a un aporte deficiente de leche materna, sin embargo, el volumen de leche producido por estas madres ( $850 \pm 42$  mL) está en niveles normales o superiores al de mujeres bien alimentadas, a los 6 meses postparto ( $801 \pm 22$  mL).<sup>48</sup> Se ha reportado una reducción del volumen de leche producido por mujeres rurales, probablemente, con una desnutrición muy aguda;<sup>49</sup> sin embargo, las madres de Capulhuac tienen un grado de desnutrición menor, y se ignoran las causas de estas diferencias en el volumen de la leche. En cambio, cuando se analizó la concentración de los principales macronutrientes y de energía (tabla IV y V) por el volumen de leche producido en 24 h., se pudo observar que la concentración de lactosa fue mayor que la encontrada en la leche, a los seis meses postparto, de mujeres bien alimentadas,<sup>21, 48</sup> mientras que la concentración de proteínas y lípidos de la leche de las madres rurales fue menor (tabla VI).

**Tabla IV. Concentración de proteínas totales, lactosa y lípidos totales en leche de madres de San Mateo Capulhuac.\***

| Meses Postparto | n  | Proteínas  | Lactosa    |            | Lípidos |
|-----------------|----|------------|------------|------------|---------|
|                 |    |            | g/dL       |            |         |
| 4               | 17 | 0.72 ± 0.1 | 7.57 ± 0.3 | 2.74 ± 0.3 |         |
| 6               | 14 | 0.72 ± 0.1 | 7.50 ± 0.4 | 2.61 ± 0.1 |         |

\* Los valores expresan promedio ± DE

**Tabla V. Contenido energético de la leche de madres de San Mateo Capulhuac.**

| Meses Postparto | n  | Proteínas <sup>a</sup> | Lípidos <sup>b</sup> | Lactosa <sup>c</sup> | Calorimetría        |                     |
|-----------------|----|------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
|                 |    |                        |                      |                      | Calculada           | Experimental        |
| kcal/dL         |    |                        |                      |                      |                     |                     |
| 4               | 17 | 4.1 ± 0.9              | 25.8 ± 8             | 31.0 ± 1             | 60.9 ± 9<br>(95.5%) | 63.8 ± 9<br>(100%)  |
| 6               | 14 | 4.1 ± 0.9              | 24.1 ± 7             | 30.8 ± 2             | 58.9 ± 8<br>(98.5%) | 59.8 ± 10<br>(100%) |

a= 5.65 kcal/g, b= 4.1 kcal/g, c= 9.4 kcal/g

**Tabla VI. Concentración promedio de los principales macronutrientes y energía de la leche de las madres de Capulhuac<sup>c</sup> y Urbanas,<sup>ab</sup> a los 6 meses postparto.**

|                    |          | Urbanas |       | Rurales |  |
|--------------------|----------|---------|-------|---------|--|
|                    |          | a       | b     | c       |  |
| Proteínas totales  | g/día    | 6.76    | 7.80  | 6.12    |  |
| Lactosa            | g/día    | 52.50   | 54.40 | 63.80   |  |
| Lípidos totales    | g/día    | 30.00   | 46.70 | 22.10   |  |
| Contenido calórico | kcal/día | 525     | 560   | 508     |  |
| Volumen            | ml/día   | 750     | 801   | 850     |  |

a = Blanc B. (1981), b = Allen J.C. (1991).

Sin embargo, parece que la baja concentración de los nutrientes se compensa en parte aumentando el volumen y la energía que reciben los niños rurales a través de la leche, representando entre un 91 y 97% de lo que proporciona una madre mejor alimentada.

En cuanto a la cantidad de proteínas, ésta varía poco en la leche madura y se ha informado que tampoco varía mucho entre mujeres bien y mal alimentadas; sin embargo, en éstas últimas sí se encuentra disminuida su concentración.

Estos resultados sugieren que la dieta deficiente de las madres rurales les origina desnutrición, que a su vez influye en la composición de su leche, la cual, en parte, puede contribuir al retraso del crecimiento de sus hijos alimentados exclusivamente al seno.

A pesar de que los cambios observados en la composición de la leche fueron parcialmente compensados por el volumen, el contenido de energía de la leche no se redujo en un porcentaje tan importante como para que fuera el único factor responsable de la reducción del crecimiento.

Es importante investigar el impacto que tienen las infecciones, sobre todo de vías respiratorias, que son frecuentes en estos niños, ya que San Mateo Capulhuac es un lugar frío la mayor parte del año.

Aun cuando la leche de las madres rurales cubre aproximadamente en un 94 % los requerimientos energéticos de los lactantes, se ignora si los cambios en la composición de la leche materna tienen repercusión en el lactantes, a nivel celular.

### Variación de la composición de los carbohidratos de la leche.

Ya que existen pocos estudios clínicos que aborden los cambios cuali y cuantitativos de la composición de los carbohidratos de la leche humana en las diferentes etapas de la lactancia, se estudió la composición de los principales carbohidratos de la leche humana en las madres rurales. Debido a que en esta población se conoce bien el patrón de amamantamiento, esto permitió coleccionar las muestras de leche representativas del volumen de la producción de 24 h.

Lo más relevante de los cambios en la composición de los principales carbohidratos (glucosa, lactosa, oligosacáridos y carbohidratos totales) es que, efectivamente, la leche humana es rica en oligosacáridos, que presentan variación durante el día, como se muestra en la tabla VII; con una mayor concentración a las 10 horas, y alcanzando el valor mínimo a las 18 h, mientras que la concentración de lactosa permanece constante. Viverge y cols.<sup>50</sup> informan que durante los primeros 7 días de lactancia el valor mínimo de lactosa se observó a las 19 horas y simultáneamente se presentó un aumento brusco de oligosacáridos.

Estudios posteriores de nuestro laboratorio incluirán muestras obtenidas entre las 18 y 24 horas.

Tabla VII. Cambios durante el día en la concentración de los oligosacáridos de la leche en función de la edad postparto.

| Días post parto | n  | 10          | Horas 14    | 18              |
|-----------------|----|-------------|-------------|-----------------|
|                 |    | g / dL      |             |                 |
| 4               | 6  | 2.54 ± 1.72 | 1.44 ± 1.13 | 1.30 ± 0.78     |
| 16              | 6  | 1.53 ± 0.82 | 1.30 ± 0.24 | 0.58 ± 0.44 *   |
| 120             | 10 | 2.07 ± 1.37 | 1.32 ± 1.24 | 0.73 ± 0.75 **  |
| 180             | 10 | 1.30 ± 0.79 | 0.75 ± 0.41 | 0.58 ± 0.45 *** |

10 vs 18 hrs. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.025$



A las 10 horas del cuarto día postparto, el lactante recibe a través del calostro  $8.53 \pm 1.19$  g/dL de carbohidratos totales, ( $5.91 \pm 0.86$  g/dL corresponden a la lactosa, y  $2.54 \pm 1.72$  a los oligosacáridos); esta concentración disminuye significativamente en el curso del día.

Conforme avanza la lactancia la concentración de carbohidratos totales de la mañana y la tarde van siendo semejantes y a los 180 días esta diferencia ya no es significativa.

En la fig. 9 se muestran los cambios observados en la concentración de los diferentes carbohidratos de la leche a través de las etapas de la lactancia donde la concentración de lactosa y glucosa aumentan significativamente mientras que la de oligosacáridos disminuye; el resultado de los cambios es que durante todas las etapas estudiadas, el lactante recibe una cantidad constante de carbohidratos totales (8.53 g/dL).

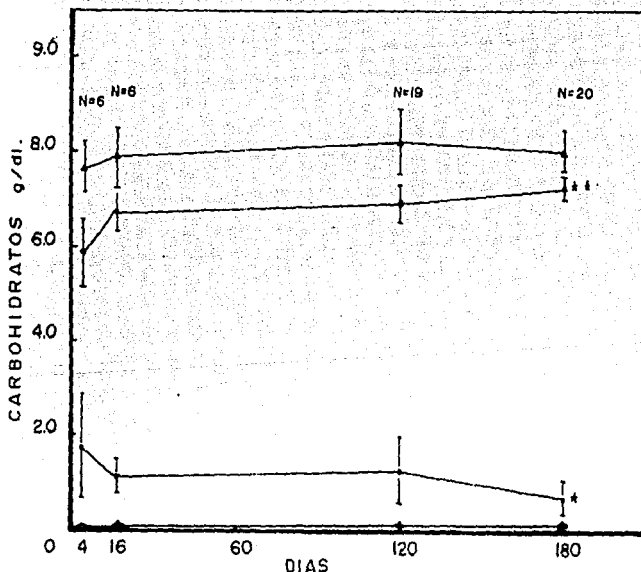


Figura 9. Cambios en la concentración de los carbohidratos de la leche en función de la etapa de lactancia. Carbohidratos totales  $\Delta-\Delta$ , Lactosa  $\bullet-\bullet$ , Oligosacáridos  $o-o$ , Glucosa  $+ - +$ . Los valores representan promedio  $\pm$  DE, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.02$ , \*\*\*  $p < 0.01$  al comparar 4 vs 16 vs 120 vs 180 días.

Es importante resaltar que a pesar de que las madres rurales incluidas en éste estudio tienen una dieta rica en carbohidratos, la concentración de lactosa al inicio de la lactancia (calostro) es muy parecida ( $5.85 \pm 0.82$  g/dL) a la de mujeres con una dieta más balanceada<sup>46,51</sup>; sin embargo, a los 6 meses<sup>52</sup> la concentración de lactosa de las madres rurales es mayor en un 11%.

En el caso de los niveles de oligosacáridos (tabla VIII) la concentración disminuyó lentamente (31%) entre los 4 y los 120 días, mientras que a los 180 días la disminución fue más brusca (58%). Sin embargo Viverge y cols,<sup>51</sup> observaron, en madres bien alimentadas, que la disminución (62 %) en la concentración de oligosacáridos ocurrió entre 1 y 90 días de la lactancia. Estos autores relacionan la variación de la cantidad de oligosacáridos y lactosa en la leche con el grupo sanguíneo materno; sin embargo, se sabe que no todos los tipos de oligosacáridos se relacionan con las sustancias de los grupos sanguíneos.

**Tabla VIII. Variación de la concentración de oligosacáridos de la leche de madres rurales a través de la lactancia.**

| Días Post parto | n  | g / dL             |
|-----------------|----|--------------------|
| 4               | 6  | $1.75 \pm 1.15$ *  |
| 16              | 6  | $1.13 \pm 0.39$    |
| 120             | 19 | $1.29 \pm 0.73$ ** |
| 180             | 20 | $0.74 \pm 0.36$    |

Los valores representan promedio  $\pm$  DE. \*\* 120 vs 180  $p < 0.01$ , \* 4 vs 16 vs 120 vs 180  $p < 0.02$ .

Además, en esta investigación es probable que la dieta y el estado nutricional materno influyan para que la lactosa aumente y los oligosacáridos lacteos permanezcan más tiempo elevados que los de mujeres con una dieta con menor cantidad de carbohidratos.

Actualmente se desconoce la razón de estos cambios en la composición de la leche, aunque pueden interpretarse como una adaptación para cubrir las necesidades del recién nacido sobre todo al inicio de la vida, y no sólo para cubrir las necesidades energéticas, sino como

es el caso de los oligosacáridos que, además de tener una función protectora contra infecciones de enterobacterias patógenas, se ha sugerido que participan como precursores de los oligosacáridos ricos en aminoazúcares de la membrana celular de tejidos en maduración, como el cerebro y aparato digestivo del recién nacido, durante la lactancia.

Por estas razones parece necesario seguir investigando su función en el desarrollo del lactante alimentado al seno, pues los niños alimentados con fórmulas a base de leche de vaca, por ejemplo, reciben una cantidad mínima de ellos, los cuales además son estructuralmente diferentes de los contenidos en la leche de la mujer. En relación con los niños rurales es importante la alimentación al seno para proporcionarle este tipo de carbohidratos e iniciar la ablactación más tempranamente para evitar la desaceleración del crecimiento infantil.

## *2.2 Influencia de la ingestión materna de alcohol sobre el crecimiento del lactante.*

En las comunidades rurales del centro de la república existe la creencia de que la ingestión de aguamiel o pulque estimula la producción de leche. Ya que el pulque contiene cantidades variables de alcohol, su ingesta durante el período de lactancia podría ser un factor que influya negativamente en el crecimiento de sus niños, ya que el alcohol contenido en el pulque es secretado a través de la leche. Aun cuando existe mucha información del efecto del alcohol durante la gestación, pocos son los artículos donde se estudia el efecto sobre el crecimiento del lactante del etanol ingerido por la madre durante la lactancia, por lo que se decidió realizar una investigación sobre este efecto.

Se confirmó que el aguamiel es más rico en carbohidratos (9.6 g/dL) que el pulque (1g/dl), sin embargo, este último contiene etanol (promedio  $3.08 \pm 1.09$  g/dL) y el aguamiel carece de él.

El pulque proporciona además minerales, algunas vitaminas y proteínas; suministra 43 kcal/dL. Las mujeres que lo beben tienen un consumo energético mayor en promedio de 350 kcal/día

en comparación con las que no lo toman; podemos especular que éste hábito representa una suplementación energética para la madre.

Algunos datos de las madres lactantes son importantes, por ejemplo, en la población de San Mateo Capulhuac el 27 % de las madres acostumbran ingerir pulque con sus alimentos. Se observó que el volumen de la leche producido por estas madres no es diferente del que producen las madres que no ingieren pulque, y se calculó que las mujeres que beben pulque tienen un consumo extra de 350 kcal/día, lo que representa un aporte energético mayor y un mejor estado nutricional.

Se demostró, en un grupo de madres lactantes que acostumbraban ingerir pulque (0.12-0.55 g/kg de peso corporal), que todas eliminaron etanol en la leche alcanzando entre 9 y 27 mg/dL a los 60 minutos de la ingestión (tabla IX) y que cuando la dosis de pulque fue mayor, la eliminación del etanol del plasma y de la leche fue más lenta (Tabla X).

Tabla IX. Características maternas y concentración de etanol en el pulque ingerido por las madres rurales lactantes.

| Madres                   | Postparto (meses) | Peso (kg) | Pulque (mL) | Etanol ingerido (g totales (g/kg) |      |
|--------------------------|-------------------|-----------|-------------|-----------------------------------|------|
| <b>Grupo dosis bajas</b> |                   |           |             |                                   |      |
| 1                        | 3                 | 58.7      | 500         | 6.90                              | 0.12 |
| 2                        | 4                 | 50.6      | 375         | 7.35                              | 0.15 |
| 3                        | 3                 | 51.4      | 500         | 10.30                             | 0.20 |
| 4                        | 3                 | 62.0      | 500         | 12.35                             | 0.20 |
| 5                        | 7                 | 54.9      | 500         | 16.04                             | 0.30 |
| 6                        | 7                 | 55.4      | 500         | 17.50                             | 0.31 |
| Promedio                 | 4.5               | 55.5      | 479         | 11.80                             | 0.21 |
| DE                       | 2.0               | 4.3       | 51          | 4.50                              | 0.08 |
| <b>Grupo dosis altas</b> |                   |           |             |                                   |      |
| 7                        | 4                 | 54.9      | 500         | 15.90                             | 0.29 |
| 8                        | 4                 | 55.5      | 500         | 21.00                             | 0.38 |
| 9                        | 9                 | 57.1      | 750         | 23.80                             | 0.42 |
| 10                       | 12                | 65.7      | 1000        | 36.10                             | 0.55 |
| 11                       | 4                 | 64.0      | 800         | 35.20                             | 0.55 |
| Promedio                 | 6.6               | 59.4      | 710         | 26.40                             | 0.44 |
| DE                       | 3.7               | 5.0       | 213         | 8.90                              | 0.11 |

**Tabla X. Variación de la concentración de etanol en el plasma y en la leche de madres lactantes después de la ingestión de pulque.\***

| Madres                   | Dosis (g/kg) | Etanol mg/dL |       |            |       |        |       |
|--------------------------|--------------|--------------|-------|------------|-------|--------|-------|
|                          |              | 60           |       | Minutos 90 |       | 120    |       |
|                          |              | Plasma       | Leche | Plasma     | Leche | Plasma | Leche |
| <b>Grupo dosis bajas</b> |              |              |       |            |       |        |       |
| 1                        | 0.12         | 10.5         | 11.5  | 3.3        | 3.1   | 0.5    | 0.0   |
| 2                        | 0.15         | 4.5          | 3.5   | 3.1        | 3.2   | 3.0    | 3.2   |
| 3                        | 0.20         | 9.4          | 9.7   | 7.4        | 7.4   | 0.3    | 0.5   |
| 4                        | 0.20         | 13.4         | 11.6  | 6.6        | -     | 3.6    | 2.5   |
| 5                        | 0.30         | 9.5          | 7.7   | 4.5        | 3.9   | 5.0    | 8.2   |
| 6                        | 0.31         | 6.5          | 6.6   | 3.8        | 3.1   | 7.4    | 7.2   |
| Promedio                 | 0.21         | 9.0          | 8.4   | 4.8        | 4.1   | 3.3    | 3.6   |
| DE                       | 0.10         | 3.1          | 3.0   | 1.8        | 1.9   | 2.7    | 3.4   |
| <b>Grupo dosis altas</b> |              |              |       |            |       |        |       |
| 7                        | 0.29         | 22.0         | 20.8  | 17.3       | 15.0  | 10.1   | 9.7   |
| 8                        | 0.38         | 21.4         | 20.1  | 15.8       | 11.2  | -      | -     |
| 9                        | 0.42         | 38.5         | 38.6  | 41.0       | 40.6  | 33.2   | 24.5  |
| 10                       | 0.55         | 25.2         | 22.7  | 30.3       | 23.8  | 32.6   | 24.5  |
| 11                       | 0.55         | 30.0         | 31.6  | 29.4       | 30.8  | 27.6   | 29.4  |
| Promedio                 | 0.44         | 27.4*        | 26.1* | 26.7*      | 24.3* | 25.8*  | 22.0* |
| DE                       | 0.11         | 7.1          | 7.0   | 10.4       | 11.9  | 10.8   | 8.5   |

\*  $p < 0.01$  diferencia significativa entre grupos.

Los niveles de etanol en la leche de las madres fueron menores que los informados para madres que ingieren dosis semejantes de etanol pero en ayunas.<sup>53</sup> Estas concentraciones de etanol son menores a las concentraciones que señala la literatura producen inhibición de la lactancia (> 100 mg/dL).<sup>54</sup>

Se ha demostrado que el recién nacido tiene baja capacidad de metabolizar el etanol, debido a que su deshidrogenasa alcohólica tiene una actividad menor que la del adulto; aun así, es probable que pueda metabolizar las concentraciones que recibe durante el a mamantamiento. Por ejemplo,

estimando el promedio de consumo de leche en 850 mL/día y una concentración máxima de etanol de 32.57 mg/dL, un niño de 7 kg de peso corporal, alimentado al seno recibió a través de la leche 277 mg de etanol por día (40 mg/kg de peso/día). Aun cuando es una concentración baja, era necesario investigar si afectaba el crecimiento de los lactantes.

Nuestros estudios demuestran (Fig.10) que las madres que ingirieron pulque durante el embarazo y la lactancia y las que no lo hicieron tuvieron hijos con peso semejante al nacimiento ( $2.98 \pm 0.26$  kg y  $3.12 \pm 0.34$  kg respectivamente); sin embargo, cuando se comparó el crecimiento de ambos grupos contra el crecimiento de grupos de referencia (NCHS),<sup>55</sup> el peso y la talla fueron menores a partir de los 3 meses de edad, lo que refleja la influencia de otros factores en el medio rural, independientes del etanol.

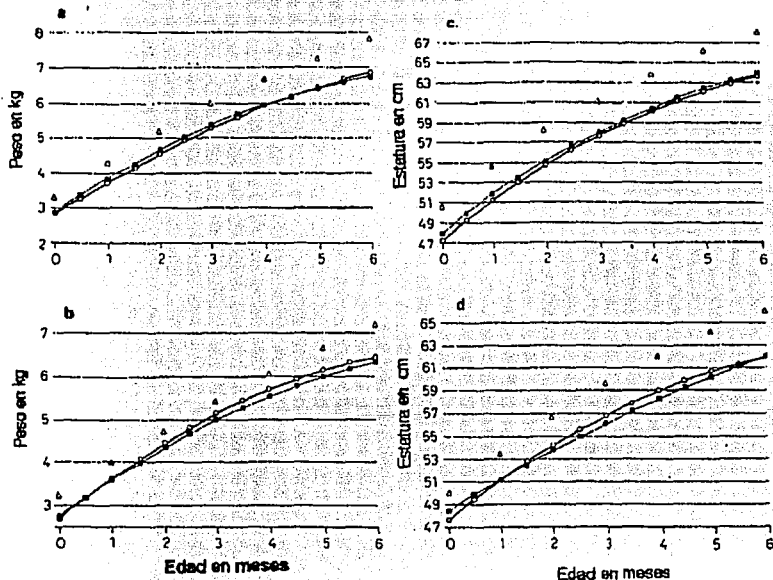


Figura 10. Peso corporal promedio de hijos (a) e hijas (b) de bebedoras de pulque (□) y controles (■), comparados a pesos que corresponden a los de la percentila 50 de las tablas del NCHS (Δ)\*. Existe diferencia significativa entre los grupos de estudio y los valores de referencia. c, d. Identificados por los mismos símbolos, estatura promedio de niños (c) y niñas (d) de los dos grupos de estudio y los valores de referencia. La estatura promedio de ambos grupos corre debajo de la referencia, pero no se encontró diferencia entre los dos grupos de estudio. \* National Center for Health Statistics.

El consumo materno de pulque durante el embarazo representa un mayor riesgo de que sus hijos presenten bajo peso al nacimiento.

Aun cuando la lactancia exclusiva permite el crecimiento adecuado de los niños por los tres primeros meses, y fuera necesario ofrecer a los niños alimentos adicionales, es importante mantener la lactancia, ya que los niños reciben proteínas de buena calidad, aun en cantidad reducida. Esto evita la desnutrición en grados más avanzados, como es el marasmo, el cual se presenta en niños menores de un año con desnutrición de tercer grado y ocurre frecuentemente en regiones donde la alimentación al seno dura poco tiempo; en cambio, si se suprime la lactancia y se proporciona una dieta deficiente en proteínas y calorías se puede presentar, en niños mayores, la desnutrición tipo Kwashiorkor, la cual se desencadena por infecciones constantes y se manifiesta en forma aguda.

## RESUMEN DE RESULTADOS

### 1. Metabolismo energético en niños de la Ciudad de México.

- 1.1 El estudio de la salud materno-infantil en la población mexicana es una de las prioridades en salud pública, por lo que es importante conocer su interrelación desde el momento de la concepción. Nuestros estudios en madres sanas de la Ciudad de México sugieren que, al final del embarazo, los niveles de insulina y glucagón plasmáticos observados en la sangre materna, favorecen la producción de glucosa y la lipólisis también maternas. El aumento en la movilización de los depósitos endógenos de lípidos se utiliza para satisfacer la autodemanda creciente de energía, para sostener el embarazo y sobre todo la lactancia. Al final de la gestación, la glucosa materna constituye la principal fuente de energía fetal.

En el neonato los niveles de lactato sanguíneo se encuentran elevados, lo que sugiere fuertemente que es posible que lo utilice, además del glucógeno, como fuente de energía en las primeras horas de vida. El aporte energético en el período fetal fue el adecuado, ya que ningún recién nacido presentó peso bajo en el momento del parto.

- 1.2 Cuando la alimentación de los recién nacido no es adecuada en energía y proteínas pueden presentar desnutrición en grados extremos, como es el caso de niños pequeños con desnutrición de tipo marasmo, o los de tipo Kwashiorkor, en niños un poco mayores.

Hay controversia respecto a cuales son las alteraciones del metabolismo energético, composición corporal y función endócrina en otras partes del mundo. Los resultados que se presentan aquí son de niños de la Ciudad de México. Se sugiere que los niños marasmáticos representan un estado de estrés crónico y, por lo mismo, sus mecanis-



mos de adaptación hormonal son menos dramáticos, pero más estables. Los niños con kwashiorkor representan un estado de estrés agudo, con adaptaciones hormonales más bruscas e inestables. En ambas condiciones, dichas adaptaciones hormonales están encaminadas a mantener constante la disponibilidad de sustratos energético, así como a la conservación de los depósitos tisulares de proteína a un nivel mínimo compatible con la vida. Es importante insistir que en poblaciones tanto urbanas como rurales de México, es fundamental que los niños pequeños tengan una alimentación adecuada para evitar que se presenten estos casos de desnutrición tan avanzada que van a repercutir en el desarrollo posterior, no solo durante la niñez sino en la vida adulta.

- 1.3 En los casos de alteraciones del crecimiento ha sido muy útil la terapia hormonal, en especial en los casos de niños hipopituitarios tratados con hormona de crecimiento humana, para promover su crecimiento lineal. Antes del tratamiento tenían una velocidad de crecimiento de  $1.8 \pm 0.7$  cm/año; después de 6 meses de tratamiento tuvieron una velocidad de crecimiento de  $7.1 \pm 1.6$  cm/año y durante los siguientes 6 meses  $7.8 \pm 1.4$  cm/año.

Se sugiere: (1) que en los parámetros de composición corporal estudiados, agua corporal total, masa corporal magra, agua extra e intracelular, grasa corporal total y masa muscular, ésta última es el tejido que más claramente refleja la falta de hormona de crecimiento humana y también sus beneficios terapéuticos. (2) La evaluación de la composición corporal en enanos hipopituitarios en respuesta a la terapia con hormona de crecimiento, muestra cambios estrictos que no se reflejan sólo en la estatura y peso corporal.

## **2. Aspectos nutricionales de la lactancia en una zona rural del Estado de México.**

- 2.1 En cuanto al estudio de los aspectos nutricionales de la lactancia se escogió la comunidad rural de San Mateo Capulhuac, en el Estado de México, donde la lactancia exclusiva al seno se prolonga por más tiempo que en la Ciudad de México. La dieta de

Las mujeres rurales es rica en carbohidratos (73 %) y pobre en lípidos (16 %) y proteínas (10 %) y tienen un consumo energético promedio de 1753 kcal/día, que no cubre las recomendaciones de organismos internacionales de energía para el embarazo y lactancia. Las madres están marginalmente desnutridas y sus hijos desaceleran su crecimiento desde el primer mes de lactancia y es significativamente menor que el de niños urbanos a partir de los 3 meses.

La producción de leche en 24 horas de estas madres no es diferente al de mujeres de nivel socioeconómico mejor, a los 4 y 6 meses postparto; en cambio, su composición sí es diferente en cuanto a los principales nutrimentos y energía: Muestra aumento de la concentración de lactosa y reducción de la de lípidos totales y proteínas totales; el contenido calórico total de la leche no se ve tan afectado. La desaceleración del crecimiento de los niños rurales probablemente tenga su origen, en parte, en los cambios en la composición de la leche materna.

Aún con estos resultados, es importante la alimentación al seno de los niños, sobre todo al inicio de la lactancia, ya que además de lactosa y glucosa, existe una fracción de oligo-sacáridos que componen los principales carbohidratos de la leche humana. Se ha sugerido que los oligosacáridos tienen importantes funciones biológicas en el desarrollo del lactante. Los datos mostraron que:

- Independientemente de la etapa de la lactancia, la concentración de lactosa no varió significativamente en el curso del día.
- La concentración de glucosa aumentó significativamente sólo a los 180 días postparto.
- La concentración de oligosacáridos de la leche disminuyó de las 10 a las 18 horas del día, en todas las etapas de lactancia que se estudiaron.
- Las variaciones observadas en la concentración de carbohidratos totales durante el día, fue sólo un reflejo de las variaciones de los oligosacáridos.

- La concentración de carbohidratos totales durante la lactancia permaneció sin variaciones. Sin embargo, la glucosa y lactosa aumentaron y los oligosacáridos disminuyeron. Nuestros datos mostraron que en el calostro los oligosacáridos constituyen un 23 % de los carbohidratos totales, mientras que en la leche madura contribuyen con un 9 %, lo que sugiere que los oligosacáridos tienen una gran importancia durante los primeros días de la lactancia.

2.2 En esta comunidad de San Mateo Calpulhuac, el 27 % de las mujeres embarazadas y lactantes acostumbran a tomar pulque durante el embarazo y la lactancia, por la creencia de que aumenta la producción de leche, lo cual no se confirmó. El pulque de la región es una bebida con una concentración de etanol de  $3.08 \pm 1.09$  g/dL con un mínimo de 1.35 y un máximo de 4.70 g/dL, dependiendo del grado de fermentación. Se midió el etanol ingerido con el pulque y la concentración en el plasma y leche maternos. En todas las mujeres se excretó etanol por la leche; la máxima concentración, tanto en plasma y leche, se alcanzó a los 60 minutos, y la concentración en ambos fluidos fué semejante.

Las dosis promedio de etanol que ingirieron las madres fue de 0.30 g/día y la concentración promedio de etanol excretado en la leche por las mujeres que consumen más pulque fue de  $26.2 \pm 7.0$  mg/dL; a los 120 minutos solamente se había eliminado el 11% de esa concentración. El pulque proporcionó a las madres 350 kcal/día a su dieta habitual, en comparación con las madres que no lo consumen, lo cual representa una suplementación energética para las primeras.

Para evaluar el efecto de este hábito en el crecimiento de los niños, se investigó un grupo de mujeres que consumían pulque y otro de las que no lo consumían. Sus hijos no presentaron ningún signo de prematurez ni síntomas de alcoholismo fetal y su velocidad de crecimiento fue igual en los dos grupos; sin embargo, las madres que toman pulque tienen un riesgo mayor (3.39 veces) de que sus hijos presenten bajo

peso al nacimiento, y aun cuando no se demostró que las pequeñas cantidades de etanol que recibe el niño amamantado influyan en su velocidad de crecimiento, no se conoce si ocasionan algún problema a nivel molecular.

Con todo lo anterior se puede concluir que la lactancia exclusiva al seno, de los recién nacidos de madres marginalmente desnutridas de esta comunidad estudiada, origina que aproximadamente a partir de los 3 meses su leche no sea suficiente para sostener el crecimiento adecuado de sus hijos. Sin embargo, es importante iniciar la introducción de otros alimentos y continuar el amamantamiento, que le proporciona al lactante nutrimentos específicos de la leche humana, como son los oligosacáridos, proteínas de buena calidad etc. En cuanto al consumo de pulque, no se cuenta con estudios suficientes como para recomendar su ingestión en madres que no lo acostumbran, aun cuando sea una fuente adicional de energía materna.

## CONCLUSIONES

### 1. Metabolismo energético de niños en la Ciudad de México.

#### *Interrelación materno fetal al final de la gestación.*

- Los niveles plasmáticos maternos de insulina y glucagon facilitaron la lipólisis, permitiendo que diferentes sustratos energéticos quedaran disponibles para sus tejidos periféricos y para el feto.
- La glucosa materna constituyó la principal fuente de energía fetal.
- La sangre de cordón umbilical mostró niveles elevados de lactato, lo que sugiere que este sustrato puede ser utilizado por el neonato como fuente de energía.

#### *Adaptaciones en la desnutrición.*

Se propone que la desnutrición tipo kwashiorkor representa un estado de estrés agudo, en el cual, el infante mostró adaptaciones hormonales bruscas e inestables, mientras que en la desnutrición tipo marasmo, que representa un estrés crónico, las adaptaciones hormonales fueron menos dramáticas pero más estables.

#### *Promoción del crecimiento y composición corporal de niños tratados con hormona del crecimiento humana.*

- La masa muscular reflejó claramente tanto la falta de hormona de crecimiento como los beneficios de su administración terapéutica en niños que mostraban enanismo, secundario a hipopituitarismo.
- La evaluación del crecimiento, a través de la composición corporal, mostró cambios que no se identificaron con la sola determinación del peso y la talla.

## 2. Aspectos nutricionales de la lactancia en una zona rural de México.

### *La relación entre la composición y el volumen de la leche materna, y el crecimiento del lactante.*

- La producción de leche durante 24 hrs. por madres rurales Mexicanas no fue diferente a la de mujeres de nivel socioeconómico mejor.
- A pesar de que su leche mostró mayor concentración de lactosa y una concentración menor de lípidos totales y proteínas totales, el contenido calórico total se vió poco afectado.
- La composición de los carbohidratos de la leche de madres rurales mostró variaciones durante el día, las cuales refleja el cambio de la concentración de oligosacáridos.
- El calostro mostró una mayor concentración de oligosacáridos que la leche madura.

### *Influencia del alcohol en la nutrición durante la lactancia.*

- La ingesta de pulque por las madres rurales durante el embarazo y la lactancia no afectó la maduración fetal, ni el crecimiento del lactante.
- La ingesta de pulque incrementó el riesgo materno de que sus hijos presentaran bajo peso al nacimiento.

## GLOSARIO

**Ablactación:** Situación en que la leche deja de ser el alimento único o predominante en la dieta del niño.

**Alimentación:** Se refiere a la serie de actos relacionados con la adquisición de nutrimentos por el organismo.

**Destete:** Supresión del amamantamiento del lactante.

**Homeostasis energética:** Incluye el conjunto de mecanismos que poseen los organismos superiores para mantener constante, cualquiera que sean las circunstancias externas (ayuno, ejercicio), el suministro de sustratos metabólicos a los diferentes tejidos, respetando el sustrato más adecuado para las exigencias de cada uno de ellos.

**Kwashiorkor:** Enfermedad por deficiencia crónica de energía y principalmente de proteínas. Se observa más a menudo en el niño después del destete con alimentos insuficientes. Se presenta retardo del crecimiento, déficit de masa corporal magra y de tejido adiposo, edema, cambios en el cabello. La distorsión del funcionamiento metabólico involucra no sólo la energía y las proteínas, sino también los carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas.

**Marasmo:** Enfermedad por deficiencia crónica de proteínas y energía. Es común en niños pequeños, con ausencia de tejido adiposo, enflaquecimiento, retardo en el crecimiento como resultado de una insuficiencia global en la ingesta de alimentos, ya sea por amamantamiento o con alimentos sustitutivos.

**Nutrición:** El conjunto de fenómenos involucrados en la obtención por el organismo, y en la incorporación y utilización por las células, de la energía y los materiales estructurales y catalíticos necesarios para la vida.

## BIBLIOGRAFIA

1. **Williamson DH.** Regulation of the utilization of glucose and ketone bodies by brain in the perinatal period. In *Early Diabetes in Early Life*. New York: Academic Press 1975;195-202.
2. **Sabata VH, Wolf H, Lausmann S.** The role of free fatty acids, glycerol, ketone bodies and glucose in the energy of the mothers and fetus during delivery. *Biol Neonate (Basel)* 1968;13:7-17.
3. **Kalhan SC.** Glucose metabolism in the mothers and newborn infant. *Indian J Pediatr* 1991;58:37-41.
4. **Hay WW Jr.** The role of placental-fetal interaction in fetal nutrition. *Seminar Perinatol* 1991;15:424-433.
5. **Shelly HJ, and Neligan GA.** "Neonatal hypoglycaemia" *Br Med Bull* 1966;22:34-39.
6. **Dasgupta J, Datta C, Sengupta T, De S, Sengupta D.** Age-related changes in glycogen metabolism in human fetal heart. *Indian J Biochem Biophys* 1989;26:123-125.
7. **Patel MS, Jhonson CA, Rajan R, Owen DE.** The metabolism of ketone bodies in developin human brain: Developmen of ketones-bodies utilizing enzymes and ketones bodies as precursors for lipid synthesis. *J Neurochem* 1975;25:905-908.
8. **Seccombe DW, Harding PGR, Possmayer F.** Fetal utilization of maternally derived ketone bodies for lipogenesis in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1977;488:402-416.
9. **Shambaugh GE, III Koehler RR, Freinkel N.** Fetal fuels. II. Contributions of selected carbon fuels to oxidative matabolism in rat conceptus. *Am J Physiol* 1977;233:E457.
10. **Blackburn MW, Calloway DH.** Energy expenditure and consumption of mature pregnant and lactating women. *J Am Diet Assoc* 1976;69:29-37.
11. **Geissler C, Calloway DH.** Lactation and pregnancy in Iran: II. Diet and nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1978;31:341-354.
12. **FAO/WHO/UNU Expert Consultation.** Energy and protein requeriments. WHO Tech Rep Ser 1985;724:1-206.
13. **Girard J, Ferre P.** Metabolic and hormonal changes around birth. In Jones CT, ed. *The Biochemical Development of the Fetus and Neonate*. New York: Elsevier Biochemical Press, 1982;551-571.
14. **Medina JM, Cuezva JM and Mayor F.** Non-gluconeogenic fate of lactate during the early neonatal period in the rat. *FEBS Lett* 1980;114:132-134.



15. **Medina JM.** The role of lactate as an energy substrate for the brain during the early neonatal period. *Biol Neonate* 1985;48:237-244.
16. **Menon RK, Sperling MA.** Carbohydrate metabolism. *Semin Perinatol* 1988;12:157-162.
17. **Bougnères PF, Lemmel C, Ferré P, Bier DM.** Ketone body transport in the human neonate and infant. *J Clin Invest* 1986;72:42-48.
18. **Williamson DH, Bucley BM.** The role of ketone bodies in brain development. In Homes and Van der Berg, Eds. *Inborn Errors of Metabolism*. London: Academic Press, 1973: 81-96.
19. **Girard J.** Gluconeogenesis in late fetal and early neonatal life. *Biol Neonate* 1986;50: 237-258.
20. **Vanier MT, Holm M, Ohman R.** Developmental profiles of gangliosides in human and rat brain. *J Neurochem* 1971;18:581-592.
21. **Blanc B.** Biochemical aspects of human milk. Comparison with bovine milk. *Wld Rev Nutr Diet* 1981;36:1-89.
22. **Schauer R.** Chemistry, metabolism and biological function of sialic acids. *Adv carbohydr Chem Biochem* 1982;40:131-234.
23. **Waterlow JC, Ashwort A, Griffiths M.** Faltering in infant growth in less developed countries. *Lancet* 1980;2:1176-1179.
24. **Schutz Y, Lechtig A, Bradfiel RB.** Energy expenditures and food intakes of lactating women in Guatemala. *Am J Clin Nutr* 1980;33:892-9025.
25. **Garza C.** Comunicación personal, 1981.
26. **Dewey KG, Heinig MJ, Nommsen LA, Peerson JM, Lönnerdal B.** Breast-fed infants are leaner than formula-fed infants at 1 y of age: the DARLING study. *Am J Clin Nutr* 1993;57:140-145.
27. **Mata L, Kronmal RA, Villegas H.** Diarrheal diseases: a leading world health problem. In Onchlerlony and Holmgren, eds. *Cholera and related diarrheas*. S. Karger, Basel, 1880.
28. **Guerrant RL, Kirchoff LV, Shields DS, Nations MK, Leslie J, deSousa MA, Araujo JG, Correia LL, Sauer KT, McClelland KE, Trowbridge FL, Huges JM.** Prospective study of diarrheal illness in Northeastern Brazil: Patterns of disease, nutrition im pact, etiologies and risk factors. *J Infectious Diseases* 1983;148:986.
29. **Raiha NCR, Kekomaki M.** Development of the ornitine-urea cycle. In Uwe Stave, ed. *Perinatal Physiol*, New York: Plenum Medical Book Co 1978;547-553.

30. **Ramos R.** Alimentación Normal en Niños y Adolescentes. México DF: Editorial El Manual Moderno 1985;656-657.
31. **Ramos R.** Desnutrición y crecimiento físico. *Biol Méd Hosp Infantil México*, 1964;21 (Sup. 1):11-26.
32. **Ramos R.** Alimentación Normal en Niños y Adolescentes. México DF: Editorial el Manual Moderno 1985;743.
33. **Gardner, L.I.; Amacher, P.,** eds. Endocrine aspects of malnutrition. Santa Ynez, California: The Kroc Foundation, 1973.
34. **Nichols BL, Garza C, Klish W, Hazlewood C, Argote RM, García G, Parra A.** Muscle electrolytes in malnutrition syndromes of children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:50-56.
35. **Parra A, Klish W, Cuellar A, Serrano P, García G, Argote RM, Canseco L, Nichols BL.** Energy metabolism and hormonal profile in children with edematous protein-calorie malnutrition. *J Pediatr* 1975;87:307-314.
36. **Ashworth A.** Growth rates in children recovering from protein-calorie malnutrition. *Br J Nutr* 1969;23:835-845.
37. **Streissguth AP, Landesman-Dwyer S, Martin JC, Smith DW.** Teratogenic effects of alcohol in human and laboratory animals. *Science* 1980;209:353-361.
38. **Abel EL.** Prenatal effects of alcohol on growth: a brief overview. *Fed Proc* 1985;44: 2318-2322.
39. **Hernandez H, Chávez A, Bourges H.** Valor nutritivo de los alimentos mexicanos. Tablas de uso práctico. México: Inst Nal Nutr : 1977:20-27.
40. **Natera G, Orozco C.** Opiniones sobre el consumo de alcohol en una comunidad semirural. *Sal Publ Méx.* 1981;23:473-482.
41. **Bauman DE, Eisemann JH, Currie WB.** Hormonal effects on partitioning of nutrients for tissue growth: role of growth hormone and prolactin. *Fed Proc* 1982;41:2538-2544.
42. **Beas F, Muzzo S.** Growth Hormone and Malnutrition: The Chilean Experience, In Gardner LI, Amacher P eds: Endocrine aspects of malnutrition. Santa Inez, California: The Kroc Foundation, 1973;1-18.
43. **Raben MS.** Treatment of a pituitary dwarf with human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1958;18:901-903.
44. **Collipp JP, Curti V, Thomás J, et al.** Body composition changes in children receiving human growth hormone. *Metabolism* 1973;22: 589-595.

45. **Cheek DB, Graystone JE, Reba RC.** Body composition in endocrine disease before and after therapy. In Cheek DB ed: Human Growth. Philadelphia: Lea & Febiger, 1968;198-206.
46. **Tanner JM, Whitehouse RH, Huges PCR, et al :** Effect of human growth hormone treatment for 1 to 7 years on growth of 100 children, with growth hormone deficiency, low birthweight, inherited smallness, Turner's syndrome, and other complaints. Arch Dis Child 1971;46:745-782.
47. **Meschia G, Battaglia FC, Hay WW Jr, et al.** Utilization of substrates by the ovine placental in vivo. Fed Proc 1980;39:245-249.
48. **Allen JC, Keller RP, Archer PC, Neville MC.** Studies in human lactation: milk composition and daily secretion rates of macronutrients in the first year of lactation. Am J Clin Nutr 1991;54:81-92.
49. **Bailey KV.** Quality and composition of breast milk in some New Guinea populations. J Trop Pediatr 1965;11:35-49.
50. **Viverge D, Grimmonprez L, Cassanas G, Bardet L, Solère M.** Diurnal variation and within the feed in lactose and oligosaccharides of human milk. Ann Nutr Metab 1986;30:196-209.
51. **Viverge D, Grimmonprez L, Cassanas G, Bardet L, Bonnet H, Solère M.** Variation of lactose and oligosaccharides in milk from women of blood types secretor A or H, secretor Lewis, and secretor H/nonsecretor Lewis during the course of lactation. 1985;29:1-11.
52. **Neville MC, Allen JC,, Archer PC, Casey CE, Seacat J, Keller RP, Lutes V, Rasbach J, Neifert M.** Studies in human lactation: milk volume and nutrient composition during weaning and lactogenesis. Am J Clin Nutr 1991;54:81-92.
53. **Kesaniemi YA.** Ethanol and acetaldehyde in the milk and peripheral blood of lactating woman after ethanol administration. J Obstet Gynecol Br Commonw 1974;81:1875-1879.
54. **Jatlow P.** Acute toxicology of ethanol ingestion. Am J Clin Pathol 1980;74:721-724.
55. **National Center of Health Statics: NCHS Growth curves for children birth-18 years.** Hyattsville National Center for Health Statics. 1977, Ser 11 No. 165.

# ANEXOS

Arch. Invest. Méd. (Méx.), 1982, 13: 239

Recibido: 24 de mayo de 1982

Aceptado: 24 de junio de 1982

**GUILLELMO GONZALEZ-VILLAMAR  
ROSA MA. ARGOTE-ESPINOSA  
JOSE NIZ-RAMOS  
LUIS NORIEGA-GUERRA  
GUADALUPE GARCIA-BULNES  
CARLOS CERVANTES-CAMPOS  
SALVADOR VILLALPANDO-HERNANDEZ  
ADALBERTO PARRA-COVARRUBIAS**

*Guillermo González-Villamar y José Niz-Ramos.* Departamento de Perinatología, Hospital de Gineco-Obstetricia Núm. 2, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

*Rosa Ma. Argote-Espinosa, Guadalupe García-Bulnes, Carlos Cervantes-Campos y Adalberto Parra-Covarrubias.* División de Endocrinología y Reproducción, Unidad de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

*Salvador Villalpando-Hernández.* Servicio de Endocrinología, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

*Luis Noriega-Guerra.* Hospital T-1 del Instituto Mexicano del Seguro Social, Matamoros, Tamaulipas, México.

Solicitud de sobretiros: *José Niz-Ramos,* Departamento de Perinatología, Hospital de Gineco-Obstetricia Núm. 2, Centro Médico Nacional, IMSS, Ave. Cuauhtémoc Núm. 330, Col. Doctores, Deleg. Cuauhtémoc, 06725, México, D.F.

## Resumen

Se estudiaron 20 mujeres (22 a 38 años de edad) clínicamente sanas, con embarazo normal a término, sin trabajo de parto y que serían sometidas a cesárea iterativa. Ninguna tenía antecedentes familiares o personales de diabetes mellitus. En sangre materna (SM), vena umbilical (VU), arteria umbilical (AU) y líquido amniótico (LA) se determinaron, por duplicado, glucosa, piruvato, lactato, ácidos grasos no esterificados (AGNE), glicerol, acetoacetato (AC), D- $\beta$ -hidroxibutirato (OH- $\beta$ ), insulina (INS), glucagon y hormona de crecimiento (hGH). Se observó una diferencia VU-AU ( $p < 0.001$ ) en glucosa de 0.58 mmol/l, de lo que se derivó una utilización fetal de 0.0463 mmol/kg/min. Los niveles de AGNE, glicerol, AC y OH- $\beta$  en SM fueron los más elevados ( $p < 0.01$ ), y lo mismo sucedió con el de lactato en LA ( $p < 0.001$ ). Los niveles de INS y hGH en SM fueron los más bajos ( $p < 0.01$ ), y ocurrió lo opuesto con los de glucagon ( $p < 0.01$ ). Existió una correlación lineal entre SM-VU, SM-AU o ambos para la glucosa, piruvato, AC y OH- $\beta$ , y entre VU y LA para

## interrelación materno-fetal de substratos energéticos, insulina, hormona del crecimiento y glucagon. I. embarazo normal a término

AGNE, OH- $\beta$  y hGH. Estos resultados sugieren que: 1) Los niveles de INS y glucagon observados en SM favorecen la producción materna de glucosa, la cual constituye la fuente principal de energía fetal; 2) como consecuencia, en la madre existe una movilización de los depósitos endógenos de grasa para satisfacer las demandas crecientes de energía.

Los cambios que ocurren en las reservas maternas de energía, así como en su utilización, se ven influidos en forma importante por el metabolismo del feto a medida que progresa la gestación.<sup>1</sup> Las concentraciones en líquido amniótico de los substratos energéticos y de las hormonas que regulan su utilización permiten evaluar de manera indirecta el balance energético materno-fetal.

En condiciones normales, las principales fuentes de energía fetal son la glucosa y los cuerpos cetónicos.<sup>1,2</sup> Sin embargo, existe abundante información acerca de la participación de otras sustancias como posibles fuentes de energía fetal, como los ácidos láctico y pirúvico,<sup>3,4</sup> el glicerol y los ácidos grasos no esterificados (AGNE),<sup>5,6</sup> y sobre la función que algunas hormonas, como la insulina,<sup>7</sup> el glucagón<sup>8</sup> y la hormona de crecimiento humana (hGH)<sup>9</sup> desempeñan sobre este aspecto del metabolismo energético. Aún más, se han intentado establecer algunas interrelaciones entre substratos y hormonas durante el transcurso de la gestación.<sup>10-12</sup>

Sin embargo, esta información es parcial y no conocemos ningún estudio en el que se hayan considerado estos substratos simultáneamente en los diferentes compartimentos de interrelación entre madre y feto: sangre materna (SM), vena umbilical (VU), arteria umbilical (AU) y líquido amniótico (LA). Este estudio tuvo como finalidad estudiar de manera simultánea las concentraciones de algunos substratos y hormonas relacionados con el metabolismo energético en los diversos compartimentos de interrelación materno-fetal en mujeres con embarazo normal a término y sin trabajo de parto.

## Material y métodos

### Sujetos

Se estudiaron 20 mujeres sanas de 22 a 38 años de edad, con embarazo a término y sin trabajo de parto, asistentes a la consulta externa del Hospital de Gineco-Obstetricia No. 2 del Centro Médico Nacional, IMSS. Los requisitos necesarios para su inclusión fueron los siguientes: 1) Pacientes que serían sometidas a cesárea iterativa, 2) sin antecedentes heredo-familiares de diabetes mellitus, 3) con biometría hemática y concentración de proteínas séricas normales, y 4) curva de tolerancia a la glucosa oral de 3 horas (100 g de glucosa) dentro de los límites establecidos como normales en el IMSS (ayuno, 5.83; 60 minutos, 10.55; 120 minutos, 9.16; 180 minutos, 8.05 mmol/l).

### Protocolo de estudio.

Previo autorización, se interrogó a las pacientes sobre sus antecedentes ginecoobstétricos y se valoraron algunos aspectos somatométricos (cuadro I).

Las pacientes se hospitalizaron 24 horas antes de realizarse la operación cesárea. Al ingreso al quirófano, y con 12 a 14 horas de ayuno previo, aprovechando la punción para venoclisis (solución de cloruro de sodio al 0.90 por ciento) se obtuvieron 10 ml de SM. Durante la operación y bajo bloqueo epidural, teniendo a la vista el útero, se puncionó éste para obtención de 10 ml de LA. A continuación se extrajo el producto e inmediatamente se pinzó y cortó el cordón umbilical. En el segmento placentario del cordón se procedió a identificar la vena y las arterias umbilicales y se obtuvieron muestras de 10 ml de sangre de cada una.

Cada una de las muestras de sangre (SM, AU y VU), así como la de LA se recibieron en cuatro tubos diferentes, los cuales se encontraban en un baño de hielo. Del tubo número 1 se separó el suero en centrífuga refrigerada y se congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$  para la determinación posterior de glicerol total mediante un estuche comercial (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Alemania Occidental). De la muestra del tubo número 2, que contenía anticoagulante (EDTA al 10 por ciento), se tomó inmediatamente una parte alícuota y se desproteinizó en frío; con el sobrenadante se hicieron las determinaciones de acetoacetato, D- $\beta$ -hidroxibutirato, lactato y piruvato.<sup>13</sup> Del tubo número 3, que contenía anticoagulante (EDTA al 10 por ciento) se separó el plasma en centrífuga refrigerada y se dividió en partes alícuotas que se congelaron individualmente a  $-20^{\circ}\text{C}$  para la determinación ulterior de AGNE,<sup>14</sup> glucosa (por el método de glucosa-oxidasa usando reactivos Boehringer Mannheim GmbH), insulina<sup>15</sup> y hGH.<sup>16</sup> Para la determinación de los niveles de glucagón la muestra se colocó en el tubo número 4 que contenía anticoagulante (EDTA, 6.4 mg/ml de sangre) y Trasylol (500 U.I.K/ml); inmediatamente después, se centrifugó en frío, y el plasma se separó y congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su procesamiento posterior.<sup>17</sup> Todas las determinaciones se hicieron por duplicado.

El análisis estadístico se realizó calculando los promedios y desviaciones estándar de cada

CUADRO I  
DATOS SOMATOMETRICOS DE 20 MUJERES CLINICAMENTE SANAS  
CON EMBARAZO NORMAL A TERMINO Y SIN TRABAJO DE PARTO

| Caso N <sup>o</sup> m. | Edad (años) | Peso corporal Al inicio del embarazo (kg) | Peso corporal Al final del embarazo (kg) | Incremento del peso corporal (kg) | Estatura (m) | Perímetro del brazo (cm) | Perímetro del codo (cm) | Plegue tricipital (mm) | Plegue bicipital (mm) | Plegue subescapular (mm) |
|------------------------|-------------|-------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|--------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 1                      | 30          | 51.0                                      | 58.0                                     | 7.0                               | 1.43         | 26.5                     | 46.0                    | 13.6                   | 5.0                   | 15.0                     |
| 2                      | 34          | 37.0                                      | 68.0                                     | 11.0                              | 1.50         | 27.0                     | 31.0                    | 18.0                   | 7.0                   | 25.0                     |
| 3                      | 23          | 38.0                                      | 70.0                                     | 12.0                              | 1.49         | 28.5                     | 56.0                    | 35.0                   | 11.6                  | 29.0                     |
| 4                      | 27          | N.R.                                      | 62.0                                     | N.R.                              | 1.44         | 26.5                     | 46.5                    | 16.8                   | 8.4                   | 24.0                     |
| 5                      | 24          | 48.0                                      | 58.5                                     | 10.5                              | 1.48         | 25.5                     | 45.5                    | 10.0                   | 9.6                   | 22.8                     |
| 6                      | 37          | 51.5                                      | 61.5                                     | 10.0                              | 1.63         | 25.0                     | 44.0                    | 14.0                   | 4.6                   | 18.0                     |
| 7                      | 23          | 39.0                                      | 74.5                                     | 15.5                              | 1.66         | 28.0                     | 32.5                    | 22.0                   | 11.5                  | 24.4                     |
| 8                      | 30          | 49.0                                      | 60.0                                     | 11.0                              | 1.52         | 26.5                     | 47.0                    | 17.0                   | 5.2                   | 20.0                     |
| 9                      | 38          | 56.0                                      | 58.5                                     | 2.5                               | 1.48         | 27.5                     | 45.5                    | 13.8                   | 4.6                   | 18.0                     |
| 10                     | 25          | 60.0                                      | 72.0                                     | 12.0                              | 1.53         | 28.0                     | 49.0                    | 29.2                   | 10.0                  | 31.6                     |
| 11                     | 26          | 50.0                                      | 57.5                                     | 7.5                               | 1.51         | 26.0                     | 41.0                    | 12.2                   | 3.0                   | 17.6                     |
| 12                     | 26          | 52.0                                      | 60.0                                     | 8.0                               | 1.53         | 28.0                     | 48.0                    | 14.2                   | 5.6                   | 19.0                     |
| 13                     | 27          | 58.0                                      | 71.0                                     | 13.0                              | 1.49         | 28.5                     | 55.0                    | 24.6                   | 10.2                  | 25.0                     |
| 14                     | 29          | 52.0                                      | 55.0                                     | 3.0                               | 1.48         | 24.0                     | 45.5                    | 16.4                   | 5.6                   | 26.4                     |
| 15                     | 34          | 48.0                                      | 60.5                                     | 12.5                              | 1.59         | 29.0                     | 48.5                    | 23.0                   | 5.4                   | 27.0                     |
| 16                     | 28          | N.R.                                      | 48.5                                     | N.R.                              | 1.41         | 24.0                     | 42.5                    | 10.0                   | 2.8                   | 12.2                     |
| 17                     | 22          | 47.0                                      | 57.0                                     | 10.0                              | 1.55         | 27.0                     | 36.5                    | 11.0                   | 4.4                   | 14.0                     |
| 18                     | 22          | 48.2                                      | 54.5                                     | 6.3                               | 1.51         | 26.5                     | 42.5                    | 15.0                   | 4.6                   | 16.0                     |
| 19                     | 33          | 46.0                                      | 37.0                                     | 11.0                              | 1.49         | 27.0                     | 47.5                    | 13.6                   | 5.2                   | 14.0                     |
| 20                     | 24          | 55.0                                      | 68.25                                    | 13.25                             | 1.52         | 29.5                     | 47.0                    | 19.4                   | 5.6                   | 25.6                     |
| Intervalo              | 22-38       | 46-90                                     | 48.5-74.5                                | 2.5-15.5                          | 1.41-1.66    | 24-29.5                  | 41-56                   | 10-33                  | 2.8-11.6              | 12.2-31.6                |

N.R.: No registrado.

uno de los grupos de las muestras de SM, LA, VU y AU. Se calcularon también las correlaciones lineales entre cada dos de los compartimentos estudiados. Las comparaciones entre grupos se efectuaron por medio de la prueba de Bartlett para la homogeneidad de varianzas, y la prueba de comparaciones múltiples de Scheffe como análisis paramétrico. Para el análisis no paramétrico se usaron las pruebas de análisis de la varianza de dos clasificaciones por rango ("two way layout") de Friedman y la de comparaciones múltiples del mismo autor.<sup>18</sup>

#### Resultados

Las concentraciones de los diferentes substratos y hormonas se presentan en el cuadro II.

**Glucosa.** La concentración en SM fue superior a la encontrada en LA y en AU ( $p < 0.001$ ),

pero similar a la observada en VU; a su vez, la concentración en AU fue mayor que en LA ( $p < 0.001$ ). Se observaron correlaciones lineales entre SM y VU ( $r = 0.866$ ,  $p < 0.001$ ), SM y AU ( $r = 0.742$ ,  $p < 0.001$ ), SM y LA ( $r = 0.608$ ,  $p < 0.01$ ), VU y AU ( $r = 0.812$ ,  $p < 0.001$ ) y VU y LA ( $r = 0.566$ ,  $p < 0.05$ ).

**Piruvato.** Los niveles en SM, VU y AU fueron similares entre sí, pero superiores a los de LA ( $p < 0.01$ ). Existió una correlación lineal entre SM y VU ( $r = 0.458$ ,  $p < 0.05$ ) y VU y AU ( $r = 0.900$ ,  $p < 0.001$ ).

**Lactato.** En LA la concentración fue mayor que en SM, VU y AU ( $p < 0.001$ ), pero en estos tres últimos compartimentos fueron semejantes entre sí. Se observó una correlación lineal entre SM y LA ( $r = 0.648$ ,  $p < 0.01$ ) y VU y AU ( $r = 0.854$ ,  $p < 0.001$ ).

**AGNE.** La concentración en SM fue superior a la observada en AU y VU ( $p < 0.01$ ). En estos

CUADRO II  
CONCENTRACIONES DE LOS SUBSTRATOS ENERGETICOS Y DE HORMONAS  
EN LOS DIFERENTES COMPARTIMIENTOS ESTUDIADOS  
(Promedio  $\pm$  error estándar)

|                                            | Sangre materna   | Vena umbilical   | Arteria umbilical | Líquido amniótico |
|--------------------------------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Glucosa (mmol/l)                           | 3.1 $\pm$ 0.2    | 2.7 $\pm$ 0.2    | 2.2 $\pm$ 0.1     | 0.4 $\pm$ 0.1     |
| Piruvato ( $\mu$ mol/l)                    | 137.9 $\pm$ 7.5  | 135.0 $\pm$ 8.5  | 138.2 $\pm$ 9.8   | 94.4 $\pm$ 9.0    |
| Lactato (mmol/l)                           | 1.4 $\pm$ 0.1    | 1.7 $\pm$ 0.1    | 1.8 $\pm$ 0.1     | 6.9 $\pm$ 0.5     |
| A.G.N.E. (mmol/l)                          | 1.0 $\pm$ 0.1    | 0.5 $\pm$ 0.0    | 0.5 $\pm$ 0.0     | 0.1 $\pm$ 0.0     |
| Glicerol (mmol/l)                          | 2.9 $\pm$ 0.2    | 0.3 $\pm$ 0.0    | 0.1 $\pm$ 0.0     | 0.1 $\pm$ 0.0     |
| Acetoacetato ( $\mu$ mol/l)                | 70.8 $\pm$ 7.1   | 62.4 $\pm$ 3.9   | 52.4 $\pm$ 2.9    | 19.4 $\pm$ 2.4    |
| D- $\beta$ -Hidroxiaceto ( $\mu$ mol/l)    | 273.3 $\pm$ 24.9 | 231.1 $\pm$ 12.0 | 190.9 $\pm$ 8.8   | 163.5 $\pm$ 8.9   |
| Insulina (pmol/l)                          | 93.9 $\pm$ 9.0   | 122.6 $\pm$ 11.3 | 125.0 $\pm$ 10.5  | 146.0 $\pm$ 10.2  |
| Hormona humana de crecimiento ( $\mu$ g/l) | 0.0 $\pm$ 0.0    | 5.5 $\pm$ 0.8    | 4.8 $\pm$ 0.6     | 4.8 $\pm$ 0.6     |
| Glucagon (pg/ml)                           | 312.4 $\pm$ 31.1 | 209.3 $\pm$ 27.4 | 217.0 $\pm$ 21.9  | 59.3 $\pm$ 10.1   |

dos últimos compartimentos fue similar entre sí, pero superior a la detectada en LA ( $p < 0.01$ ). Hubo una correlación lineal entre VU y AU ( $r = 0.721$ ,  $p < 0.01$ ), VU y LA ( $r = 0.794$ ,  $p < 0.001$ ) y AU y LA ( $r = 0.592$ ,  $p < 0.01$ ).

**Glicerol total.** Los niveles en AU y VU fueron similares entre sí, mayores que en LA ( $p < 0.01$ ) y menores que en SM ( $p < 0.01$ ). Se observó una correlación lineal únicamente entre VU y AU ( $r = 0.819$ ,  $p < 0.001$ ).

**Acetoacetato.** Los niveles en SM, VU y AU fueron similares entre sí, pero superiores a los de LA ( $p < 0.01$ ). Existió una correlación lineal entre SM y VU ( $r = 0.742$ ,  $p < 0.001$ ), SM y AU ( $r = 0.625$ ,  $p < 0.01$ ) y VU y AU ( $r = 0.889$ ,  $p < 0.001$ ).

**D- $\beta$ -hidroxiaceto.** La concentración en LA y AU fue similar, y entre AU, VU y SM tampoco se observaron diferencias significativas; sin embargo, en LA fue menor que en SM y VU ( $p < 0.001$ ). Se observó una correlación lineal entre SM y VU ( $r = 0.639$ ,  $p < 0.01$ ), SM y LA ( $r = 0.650$ ,  $p < 0.01$ ), VU y AU ( $r = 0.568$ ,  $p < 0.05$ ), VU y LA ( $r = 0.713$ ,  $p < 0.001$ ), y AU y LA ( $r = 0.487$ ,  $p < 0.05$ ).

**Insulina.** En SM los niveles fueron inferiores a los de LA ( $p < 0.01$ ). Las concentraciones en VU, AU y LA fueron similares entre sí. Se observó una correlación lineal entre SM y LA

( $r = 0.558$ ,  $p < 0.05$ ) y VU y AU ( $r = 0.840$ ,  $p < 0.001$ ).

**Hormona humana de crecimiento (hGH).** Los niveles fueron similares entre sí en VU, AU y LA, pero mayores que los observados en SM ( $p < 0.001$ ); en este último compartimento, las concentraciones de hGH fueron inferiores al límite de sensibilidad del radioinmunoanálisis ( $< 1.5$  ng/ml). Existió una correlación lineal entre VU y AU ( $r = 0.525$ ,  $p < 0.05$ ) y entre AU y LA ( $r = 0.548$ ,  $p < 0.05$ ).

**Glucagon.** Los niveles en SM fueron mayores que en VU, AU ( $p < 0.01$ ) y LA ( $p < 0.001$ ); fueron similares entre sí en VU y AU y éstos superiores a los encontrados en LA ( $p < 0.05$ ). Existió una correlación lineal entre SM y VU ( $r = 0.863$ ,  $p < 0.001$ ), SM y AU ( $r = 0.888$ ,  $p < 0.001$ ) y VU y AU ( $r = 0.933$ ,  $p < 0.001$ ).

## Discusión

De los substratos y hormonas estudiados durante esta investigación, se sabe que únicamente glucosa, piruvato, lactato, acetoacetato y el D- $\beta$ -hidroxiaceto pasan la barrera placentaria.<sup>1,19</sup> Las concentraciones de estos substratos en la VU fueron semejantes a las detectadas en



la AU, excepto la de glucosa. La diferencia entre VU y AU fue de 0.58 mmol/l para la glucosa, lo cual permite calcular<sup>19</sup> que la utilización fetal de este sustrato es del orden de 0.0463 mmol/kg/min, cifra muy similar a los de 0.040 mmol/kg/min descrita por otros autores.<sup>1,19</sup> Este hecho, unido a la existencia de correlaciones muy significativas entre las concentraciones en VU y AU para todos los sustratos, confirma una vez más que el feto cubre íntegramente sus demandas energéticas a partir de la glucosa materna.<sup>1,19</sup> Lo anterior facilita que el feto aumente sus reservas endógenas de grasa al final del embarazo<sup>19</sup> para poder hacer frente al incremento brusco en sus demandas energéticas durante el periodo neonatal inmediato.<sup>20</sup>

Este requerimiento fetal de glucosa materna ocasiona en la mujer embarazada un ligero estado de hipoglucemia en ayunas,<sup>1,21,22</sup> por lo cual, durante el tercer trimestre del embarazo, se observa una movilización de energía proveniente fundamentalmente de los depósitos de grasa materna. De ahí que en SM se haya observado una concentración relativamente mayor que en AU y LA de ácidos grasos no esterificados, glicerol, acetoacetato y D-β-hidroxibutirato. Simultáneamente, en SM las concentraciones de insulina fueron relativamente inferiores y las de glucagón superiores a las observadas en VU, AU y LA. Estos cambios opuestos de insulina y glucagón parecerían contribuir a la conservación de la homeostasia energética en el organismo materno, probablemente por medios de uno o varios de los siguientes mecanismos: a) aumentar la glucogenólisis y disminuir la glucogenogénesis hepática,<sup>23,24</sup> b) favorecer la gluconeogénesis a partir de lactato, piruvato y aminoácidos,<sup>25</sup> c) inhibir la cinasa del piruvato y la deshidrogenasa del piruvato y, por lo mismo, disminuir la oxidación aerobia de la glucosa,<sup>26</sup> dando como consecuencia una elevación en las concentraciones maternas de piruvato, y d) incrementar la lipólisis.<sup>27</sup>

La existencia de una correlación lineal significativa en las concentraciones de piruvato, acetoacetato y D-β-hidroxibutirato en SM y VU, SM y AU o ambos concuerda con el hecho de que estas sustancias tienen una difusión simple al través de la placenta.<sup>1,19</sup> El lactato atraviesa también fácilmente la placenta; sin embargo, en

este grupo de pacientes no se observó una correlación significativa entre SM y VU y SM y AU. Probablemente, la causa esté en que la placenta efectúa una función importante evitando el paso excesivo de este sustrato hacia el feto, ya que un exceso del mismo sería perjudicial y, por lo mismo, se excreta hacia el LA (compartimiento en el cual su concentración fue claramente superior), evitándose así el riesgo potencial de acidosis láctica. La concentración de hGH en SM fue mínima o no detectable, probablemente por la inhibición de su síntesis, su liberación o ambas cosas a nivel hipofisario, inducida por la somatomatotropina de origen placentario.<sup>28</sup> Por otra parte, puesto que la hipófisis fetal es capaz de producir hGH a partir de la semana 12 de gestación,<sup>29</sup> fueron claramente detectables las concentraciones de esta hormona en AU y VU.

Finalmente, un dato importante es que sólo se observó una correlación significativa entre VU y LA, así como entre AU y LA para las concentraciones de AGNE, D-β-hidroxibutirato y hGH. Por lo mismo, es posible que en los embarazos que cursan con sufrimiento fetal crónico, el feto tenga que movilizar sus reservas de grasa y, por lo tanto, aumentar en el LA la concentración de los metabolitos de la lipólisis.

## Referencias

1. FELIG, P.: *Body fuel metabolism and diabetes mellitus in pregnancy*. Med. Clin. N. Am., 1977, 61, 43.
2. ROBINSON, A.M.; WILLIAMSON, D.H.: *Physiological roles of ketone bodies as substrates and signals in mammalian tissues*. Physiol. Rev., 1980, 60, 143.
3. HENDRICKS, Ch.H.: *Studies on lactic acid metabolism in pregnancy and labor*. Am. J. Obstet. Gynecol., 1957, 73: 492.
4. LOW, J.A.; PANCHAM, S.R.; WORTHINGTON, D.; BOSTON, R.W.: *Acid-base, lactate, and pyruvate characteristics of the normal obstetric patient and fetus during the intrapartum period*. Am. J. Obstet. Gynecol., 1974, 120: 862.
5. KIM, V.J.; FELIG, P.: *Maternal and amniotic fluid substrate levels during caloric deprivation in human pregnancy*. Metabolism, 1972, 21: 507.
6. ELPHICK, M.C.; HULL, D.; SANDERS, R.R.: *Concentrations of free fatty acids in maternal and umbilical cord blood during elective caesarean section*. Brit. J. Obstet. Gynecol., 1976, 83: 939.
7. TZINGOUNIS, V.; KATSILAMBROS, N.; PREVEODOURAKIS, C.; PAPAANGELOU, G.: *Insulin levels in the amniotic fluid and in maternal and fetal blood*. J. Rep. Med., 1977, 19: 259.
8. LEBLANC, H.; ANDERSON, J.R.; YEN, S.S.C.: *Glucagon secretion in late pregnancy and the puerperium*. Am. J. Obstet. Gynecol., 1976, 125: 708.

9. LARON, Z.; MANNHEIMER, S.; NITZAN, M.; GOLDMANN, J.: *Growth hormone, glucose, and free fatty acid levels in mother and infant in normal, diabetic, and toxæmic pregnancies*. Arch. Dis. Childh., 1967, 42:24.
10. LIND, T.; GILMORE, E.A.; McCLARENCE, M.: *Cord plasma glucose and insulin concentrations and maternal-fetal relations*. Brit. J. Obstet. Gynaecol., 1975, 82:362.
11. SPILLACY, W.N.; BUHI, W.C.: *Chicago, insulin and glucose levels in maternal and umbilical cord plasma with studies of placental transfer*. Obstet. Gynecol., 1976, 47: 291.
12. EDSTROM, K.; PERSSON, B.; CERASHI, E.; LUFT, R.: *Patterns of free fatty acids, glycerol, D-β-hydroxybutyrate and insulin in pregnant women and their newborn infants*. Acta Obstet. Gynecol. Scand., 1973, 54:347.
13. OLSEN, Ch.: *An enzymatic fluorometric micro-method for the determination of acetoacrylate, β-hydroxybutyrate, pyruvate and lactate*. Clin. Chim. Acta, 1971, 33:293.
14. LAURELL, S.; TIBBLING, G.: *Colorimetric micro-determination of free fatty acids in plasma*. Clin. Chim. Acta, 1967, 16:57.
15. HERBERT, V.; LAN, K.S.; GOTTLIEB, C.W.; BLECHER, S.J.: *Coated charcoal immunoassay of insulin*. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1965, 25:1375.
16. SCHALCH, D.S.; PARKER, M.L.: *A sensitive double antibody immunoassay for human growth hormone in plasma*. Nature, 1968, 203:1038.
17. AGUILAR-PARADA, E.; EISENTRAUT, A.; UNGER, R.H.: *Pancreatic glucagon secretion by normal and diabetic subjects*. Am. J. Med. Sci., 1969, 257:415.
18. MILLER, R.: *Simultaneous statistical inference*. McGraw Hill, Nueva York, 1966.
19. SABATA, V.: *Carbohydrate and lipid metabolism of the human fetus*. Academia Nákladatelství Československé, Akademie Ved, Praha, 1973.
20. CHRISTENSEN, N.Ch.: *Lipids in cord serum and free fatty acids in plasma in healthy newborn term infants*. Acta Paediat. Scand., 1974, 63:711.
21. TREHARNE, L.A.L.; SUTHERLAND, H.W.; STOWERS, J. M.; ROSS, L.S.: *Maternal plasma glucose and free fatty acid concentrations related to infant birth weight*. Brit. J. Obstet. Gynaecol., 1977, 84:272.
22. FAIRWEATHER, D.V.L.: *Changes in levels of serum non-esterified fatty acid and blood glucose in pregnancy*. J. Obstet. Gynaecol. Brit. Commonwealth, 1971, 78:707.
23. HEMS, D.A.; WHITTON, P.D.: *Control of hepatic gluco-genolysis*. Physiol. Rev., 1980, 60:17.
24. UNGER, R.H.: *Glucagon physiology and pathophysiology*. N. Engl. J. Med., 1971, 283:443.
25. GERICH, J.E.; CHARLES, M.A.; GRODSKY, G.M.: *Regulation of pancreatic insulin and glucagon secretion*. Ann. Rev. Physiol., 1976, 38:353.
26. GRODSKY, G.M.: *Química y funciones de las hormonas. I. Tiroides, páncreas, suprarrenales y sistema digestivo*. En: Manual de Química Fisiológica, Editorial El Manual Moderno, S.A., México 11, D.F., 1980, pág. 561.
27. SCHADE, D.S.; EATON, R.P.: *The contribution of endogenous insulin secretion to the ketogenic response to glucagon in man*. Diabetologia, 1975, 11:555.
28. KAPLAN, S.L.; GRUMBACH, M.M.: *Serum chorionic "growth hormone-prolactin" and serum pituitary growth hormone in mother and fetus at term*. J. Clin. Endocr., 1965, 25:1370.
29. SPILLACY, W.N.; BUHI, W.C.; BRADLEY, D.; HOLSINGER, K.K.: *Maternal, fetal and amniotic fluid levels of glucose, insulin and growth hormones*. Obstet. Gynecol., 1973, 41:323.

---

#### Agradecimientos

---

Los autores expresan su gratitud a la Srta. Silvia Alatorre por su ayuda en el análisis estadístico, y a la Srta. Esperanza Cárdenas por su ayuda secretarial.

**KROC FOUNDATION SYMPOSIA  
NUMBER 1**

**ENDOCRINE ASPECTS  
OF MALNUTRITION**

**MARASMUS, KWASHIORKOR AND  
PSYCHOSOCIAL DEPRIVATION**

---

---

**Proceedings of a Symposium  
Sponsored by The Foundation;  
Held in May, 1973  
At its Headquarters in the Santa Ynez Valley, California**

**Editors  
Lytt I. Gardner  
Peter Amacher**

**The Kroc Foundation, Santa Ynez, California 1973**

# TABLE OF CONTENTS

|                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| PARTICIPANTS . . . . .                                                                                                                                                        | ix |
| FOREWORD . . . . .                                                                                                                                                            | xi |
| INTRODUCTION . . . . .                                                                                                                                                        | xv |
| SECTION 1: GROWTH HORMONE AND MALNUTRITION                                                                                                                                    |    |
| Growth Hormone and Malnutrition: The Chilean<br>Experience . . . . .                                                                                                          | 1  |
| Francisco Beas and Santiago Muzzo                                                                                                                                             |    |
| Plasma Growth Hormone Levels in Severe Infantile<br>Malnutrition in Bolivia . . . . .                                                                                         | 19 |
| C. Godard                                                                                                                                                                     |    |
| Insulin-Growth Hormone Adaptations in Marasmus and<br>Kwashiorkor As Seen in Mexico . . . . .                                                                                 | 31 |
| Adalberto Parra; Cutberto Garza; William Klish;<br>Guadalupe García; Rosa Ma. Argote; Lidia Canseco;<br>Alfredo Cuellar; and Buford L. Nichols                                |    |
| Fasting and Postprandial Levels of Plasma Insulin<br>and Growth Hormone in Malnourished Jamaican<br>Children, During Catch-up Growth and After<br>Complete Recovery . . . . . | 45 |
| H. Robinson; T. Cocks; D. Kerr; and D. Picou                                                                                                                                  |    |
| Human Growth Hormone and Sulphation Factor in Protein-<br>Calorie Malnutrition . . . . .                                                                                      | 73 |
| B. L. Pimstone; D. J. Becker; J. D. L. Hansen                                                                                                                                 |    |
| Growth Hormone and Insulin Secretion in Protein-Calorie<br>Malnutrition, As Seen in India . . . . .                                                                           | 91 |
| Kamala S. JayaRao and N. Raghuramulu                                                                                                                                          |    |
| Interrelationships Between Growth Hormone and Amino<br>Acid Metabolism in Protein-Calorie<br>Malnutrition . . . . .                                                           | 99 |
| Robert Suskind; Kosin Amatayakul; Claus<br>Leitzmann, and Robert E. Olson                                                                                                     |    |

TABLE OF CONTENTS

SECTION 2: PSYCHOSOCIAL DEPRIVATION

Review of Findings in Patients with Emotional  
Deprivation . . . . . 115  
Jo Anne Brasel

Endocrines and Nutrition in Psychosocial Deprivation  
in the U.S.A.: Comparison with Growth Failure  
Due to Malnutrition on an Organic Basis . . . . 129  
Ingeborg Krieger

SECTION 3: CATECHOLAMINES AND MALNUTRITION

Some Aspects of Catecholamines in Undernutrition . . . . 163  
B. Bourgeois; B. J. Schmidt; and R. Bourgeois

Studies of Daily Urinary Catecholamine Excretion in  
Kwashiorkor As Observed in Mexico . . . . . 181  
Adalberto Parra; Pedro Serrano; Beatriz Cñavez;  
Guadalupe Garcia; Rosa Ma. Argote; William Klish;  
Alfredo Cuellar; and Buford L. Nichols

SECTION 4: THE THYROID AND MALNUTRITION

The Effects of Hormones and Malnutrition on Mitochondrial  
Oxygen Consumption and DNA Synthesis in Rat  
Brain . . . . . 191  
Santiago J. Muzzo; Francisco Beas; Jo Anne Brasel;  
and Lytt I. Gardner

Thyroid Hormonal Studies in Severely Malnourished  
Peruvian Infants and Small Children . . . . . 205  
George G. Graham and Robert M. Blizzard

Plasma Thyrotropin Levels in Severe Infantile  
Malnutrition . . . . . 221  
C. Godard

Thyroid Hormones and Energy Metabolism in Marasmus  
and Kwashiorkor, As Seen in Mexico . . . . . 229  
Adalberto Parra; William Klish; Cutberto Garza;  
Rosa Ma. Argote; Guadalupe Garcia; Rodrigo  
Rodriguez; Alfredo Cuellar; Lidia Canseco; and  
Buford L. Nichols

TSH Response to Synthetic TRH in Human Protein-Calorie  
Malnutrition . . . . . 243  
Bernard Pimstone; Dorothy Becker; Salie Hendricks

**COPYRIGHT © 1973 BY THE KROC FOUNDATION  
ALL RIGHTS RESERVED  
NO PART OF THIS BOOK MAY BE REPRODUCED IN ANY FORM  
WITHOUT WRITTEN PERMISSION FROM THE PUBLISHER  
THE KROC FOUNDATION, SANTA YNEZ, CALIFORNIA 93460**

---

**LIBRARY OF CONGRESS CATALOG CARD NUMBER 73-88110  
PRINTED IN THE UNITED STATES OF AMERICA**

# INSULIN-GROWTH HORMONE ADAPTATIONS IN MARASMUS AND KWASHIORKOR AS SEEN IN MEXICO

ADALBERTO PARRA; CUTBERTO GARZA; WILLIAM KLISH;  
GUADALUPE GARCÍA; ROSA MA. ARGOTE; LIDIA CANSECO;  
ALFREDO CUELLAR; AND BUFORD L. NICHOLS

THE SECTION OF PROTEIN HORMONES, DEPARTAMENTO DE  
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, CENTRO MÉDICO NACIONAL,  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL; THE DEPARTMENT  
OF PEDIATRICS, SECTION OF NUTRITION AND GASTROENTEROLOGY,  
BAYLOR COLLEGE OF MEDICINE AND CLINICAL RESEARCH CENTER,  
TEXAS CHILDREN'S HOSPITAL; AND HOSPITAL DE PEDIATRÍA,  
CENTRO MÉDICO NACIONAL, INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

---

---

Despite the significant number of reports demonstrating abnormalities in energy metabolism, body composition, and endocrine function in children with calorie malnutrition, the interaction of these factors is still poorly understood. Consequently, we have undertaken the present study in an effort to understand the relationship between altered intake and expenditure of calories, certain aspects of muscle energy metabolism and some of the hormones involved in the modulation of energy metabolism in children with the two extreme clinical pictures of protein-calorie malnutrition: marasmus and kwashiorkor. All patients were studied at the Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social in Mexico City. The marasmic group consisted of 10 male infants, ages 2.5 to 9.0 months with advanced third-degree malnutrition (1). Striking muscle wasting and loss of subcutaneous fat were characteristic and none had any acute cutaneous or mucosal lesions of the type seen in kwashiorkor. Mean weight for height was 73.7 percent and mean weight for age was 50.8 percent, according to standards for the Mexican population (2). Serum proteins and albumin were normal. At admission to the study, mean calorie intake was 155 kcal/kg/day and protein

#### A. PARRA

intake was 4.4 gm/kg/day. The amount of food ingested was liberally increased throughout the study according to the infant's appetite, so that at the end of the study the mean calorie intake was 240 kcal/kg/day, and protein intake was 7.4 gm/kg/day. More extensive clinical data related to these infants has been published elsewhere (3).

The kwashiorkor group consisted of 5 males and 3 females, ages 15.1 to 28.5 months, with advanced protein-calorie malnutrition. All had body weights and heights far below the third percentile (2). Moderate to marked edema was present in all the cases, as well as hair changes, and the typical skin and mucosal lesions. No marked muscle wasting was observed in any case. Mean weight for height was 72 percent and mean weight for age was 53 percent (2). Serum proteins were below 5.0 gm per 100 ml, and serum albumin less than 2.5 gm per 100 ml in all cases. At admission to the study, mean calorie intake was 83 kcal/kg/day and protein intake was 2.8 gm/kg/day, while at the end of the study, patients were taking 135 kcal/kg/day and 4.1 gm of protein/kg/day.

The first or admission study, in both groups, was performed within the first 24-48 hrs after hospital admission. The second or discharge study was made when the marasmic infants had a weight for height equal or greater than 85 percent and, in children with kwashiorkor when weight for height was equal or greater than 90 percent. At each time, the studies were done in a similar fashion in both groups, according to the following protocol:

The night before day 1, a polyethylene catheter was placed in the superficial femoral vein and kept permeable with a slow intravenous drip of saline solution. This procedure was performed in order to obtain blood samples during the different tests without repeated venipunctures.

Day 1: After an eight-hr overnight fast, a percutaneous needle muscle biopsy (quadriceps) was performed according to the Nichols' technique. Muscle tissue was immediately weighed and frozen in liquid nitrogen. Glycogen, adenosine triphosphate (ATP) and creatine phosphate (CP) concentrations were measured. These three determinations on each patient were performed on the same day the sample was obtained.



## INSULIN-GH ADAPTATIONS IN MEXICO

One hr after the muscle biopsy, 0.5 gm per kg body weight of L-arginine monohydrochloride\* was infused over 30 min through the polyethylene catheter. Heparinized blood samples were obtained through the catheter at minus 15, 0, 15, 30, 45, 60, and 90 min. The first 0.2 ml of blood at each sampling time was discarded to avoid a dilution error. Blood samples were immediately centrifuged and the plasma separated and kept frozen at -20°C for future analysis. Plasma immunoreactive insulin (IRI) was determined using the method of Yalow and Berson, and growth hormone (GH) according to Schalch and Parker, using a slight modification. Plasma glucose was determined by a glucose-oxidase method. Free fatty acids (FFA) were measured using the method of Laurell and Tibbling. The measurements were done in duplicate, and all plasma samples for GH and IRI were analyzed in one single radioimmunoassay.

Day 2: After an eight hr overnight fast, venous blood was obtained through the polyethylene catheter located in the superficial femoral vein to determine serum T<sub>3</sub> binding capacity using the <sup>125</sup>I Res-O-Mat-T<sub>3</sub> (Mallinckrodt Chemical Works, St. Louis, Mo.). Serum thyroxine levels were measured using a resin sponge technique, and the free thyroxine index was then calculated. Total serum proteins and albumin concentrations were measured by cellulose acetate electrophoresis. After the initial blood sample was obtained, an intravenous glucose tolerance test (1.0 gm of glucose per kg body weight) was performed and venous blood samples were obtained at 0, 5, 10, 20, 30, 45, and 60 min. Glucose was determined by a glucose-oxidase method and clearance rates were estimated as described by Loeb. The methods used for each one of the above-mentioned determinations have been published elsewhere (3).

\*L-arginine monohydrochloride was infused as a sterile 10 percent aqueous solution. L-arginine was kindly supplied by Sica, S.A., and processed by Abbott Laboratories of México.

## MARASMIC GROUP

In this group, fasting HGH at admission varied between 6.0 and 7.0 ng per ml, while on recovery the values dropped to 2.5 ng per ml ( $p < 0.05$ ). Fasting IRI was 5-10  $\mu$ U per ml at admission and 9-14  $\mu$ U per ml on recovery ( $p > 0.05$ ). Fasting plasma glucose and FFA at admission ranged between 65 and 80 mg per 100 ml and 1.0 to 1.2 mEq per L, respectively; no significant changes were observed on recovery in the two latter parameters. Fig. 1 shows

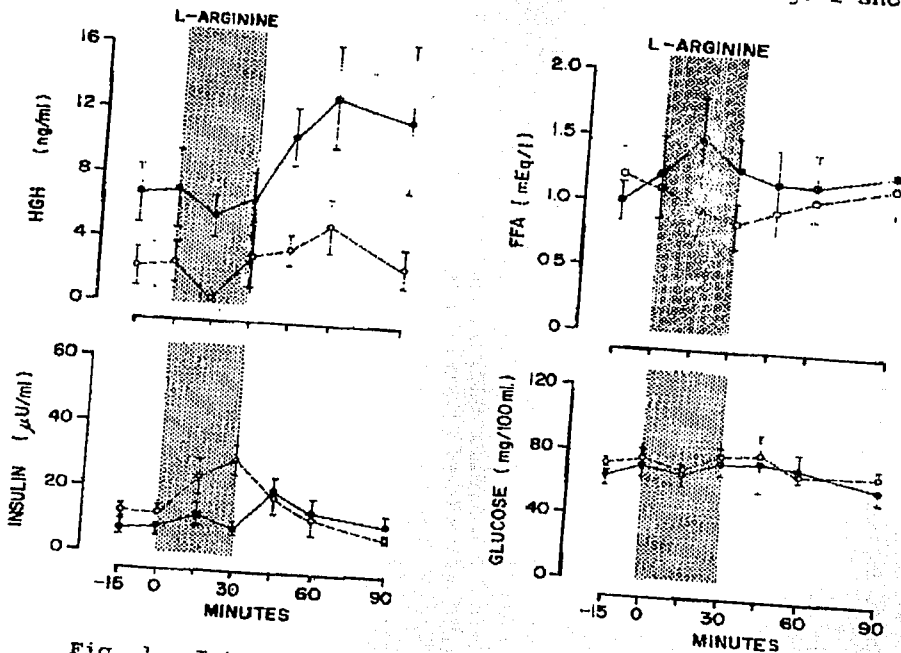


Fig. 1. Intravenous arginine tolerance test in marasmic infants. Plasma levels of human growth (HGH), insulin, free fatty acids (FFA) and glucose at admission ( $\bullet$ ), and on recovery ( $\circ$ ). The shaded area represents the duration of arginine infusion (mean  $\pm$  SEM).

that during arginine stimulation, plasma HGH was higher on admission than on recovery, at 15, 45, and 60 min ( $p < 0.05$  to  $p < 0.005$ ). On the other hand, plasma IRI levels were lower on admission at 30 min ( $p < 0.001$ ). However, the IRI response

## INSULIN-GH ADAPTATIONS IN MEXICO

was also sluggish, reaching its peak levels at 45 and 60 min. This retarded response disappeared at recovery. Despite the significant changes in plasma GHG and IRI levels occurred during recovery, plasma glucose and FFA levels were similar in both studies; nevertheless, it is obvious that on recovery FFA showed a tendency to an early fall simultaneously with the peak IRI plasma levels. As shown in Fig. 2, peak GHG response was  $15.8 \pm 3.6$  ng per ml on admission and

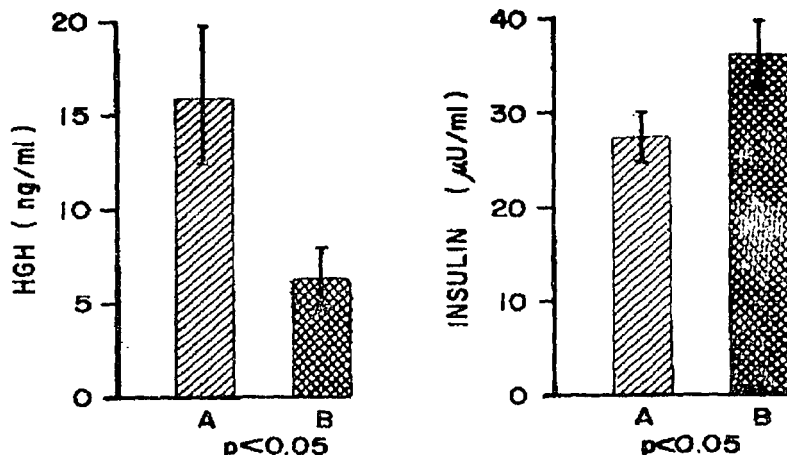


Fig. 2. Peak human growth hormone (GHG) and insulin responses in marasmic infants during intravenous arginine tolerance tests at admission (A) and on recovery (B) (mean  $\pm$  SEM).

$6.3 \pm 1.6$  ng per ml on recovery ( $p < 0.05$ ) while peak IRI response was  $27.5 \pm 2.6$   $\mu$ U per ml on admission and  $36.3 \pm 3.5$   $\mu$ U per ml on recovery ( $p < 0.05$ ).

Glucose clearance rate ( $K_t$ ) at admission was  $2.2 \pm 0.1$  percent per min as compared to  $3.3 \pm 0.2$  percent per min on recovery ( $p < 0.01$ ). It was generally observed that the poorest IRI responses to arginine corresponded to infants with the lowest  $K_t$  values; however, no significant correlations between peak IRI and  $K_t$  glucose, or between fasting FFA levels and  $K_t$  glucose were observed.

Generally speaking, marasmic infants have had calorie and protein deprivation for several months and not infrequently since immediately after birth. Therefore, they represent a

chronic state of starvation with the most efficient and stable adaptation for survival. Supporting this concept are: a) the occurrence of variations in plasma GHG and IRI within a physiological range (4,5), and normal plasma glucose levels during arginine stimulation, both at admission and on recovery; b) the observed changes in glucose clearance rates, again within normal limits (6); c) at admission, the chronological asynchrony in the IRI and GHG responses to arginine (7), mainly due to a sluggish IRI response occurring simultaneously with the peak GHG response. The net result is a blunting of insulin effectiveness in carbohydrate and fat metabolism, so that glucose is preserved mainly for brain metabolism while FFA (which was high both during fasting and during arginine challenge), can be used not only as the predominant fuel for other tissues (i.e.: skeletal muscle, heart, etc.), but also as a potential source of ketone bodies which can also be utilized as fuel by the brain, under conditions of prolonged starvation (8,9).

At the same time, the coincidence of GHG and IRI peak responses would represent an optimal situation for protein synthesis at these very low levels of substrate intake.

The final results are a) normoglycemia; b) increased lipolysis to maintain fuel availability; and c) conservation of tissue protein stores at a minimum level compatible with life.

#### KWASHIORKOR GROUP

In regard to the kwashiorkor group, opposite findings to those seen in marasmus were observed. Fasting plasma GHG at admission ranged between 50 and 75 ng per ml and dropped to 10 to 15 ng per ml on recovery ( $p < 0.01$ ). Fasting IRI levels were between 5 and 10  $\mu\text{U}$  per ml and between 5 and 7  $\mu\text{U}$  per ml at admission and on recovery, respectively ( $p > 0.05$ ). Fasting plasma glucose was similar both at admission and on recovery, ranging between 70 and 80 mg per 100 ml. Plasma FFA levels in the fasting state ranged between 0.9 and 1.2 mEq per L at admission and between 0.8 and 1.1 mEq per L on recovery ( $p < 0.05$ ). In response to intravenous arginine stimulation, plasma GHG levels on admission remained at the high fasting level, and a significant rise in response to the stimulus was not observed. During recovery, plasma GHG levels were lower than on admission at 15, 60, and 90 min ( $p < 0.05$ ). Furthermore, in this second study, a response to arginine stimulus was present (Fig. 3). Both at admission and on recovery, plasma IRI response to intravenous arginine was not seen. Similarly, no significant changes in plasma FFA levels were observed during arginine infusion on either study. However, plasma

## INSULIN-GH ADAPTATIONS IN MEXICO

glucose levels were higher on recovery than on admission throughout the test ( $p < 0.05$  to  $p < 0.01$ ).

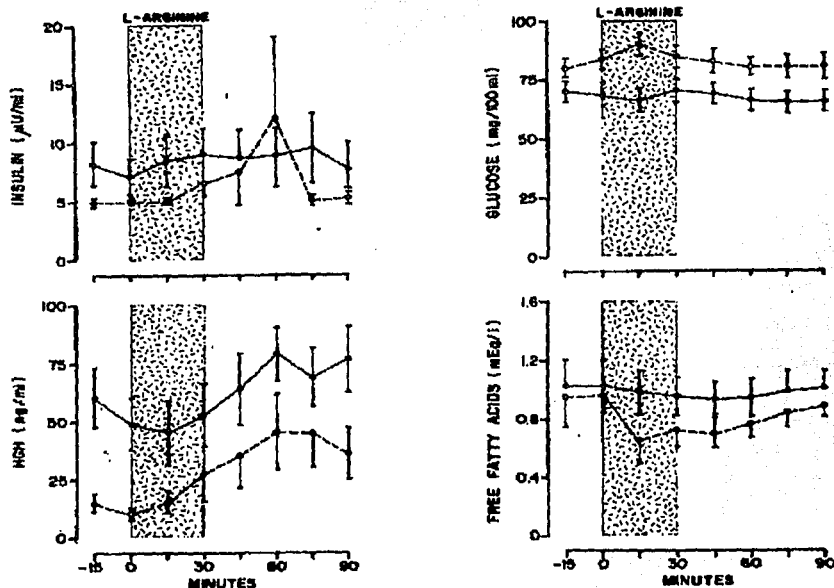


Fig. 3. Intravenous arginine tolerance test in children with kwashiorkor. Plasma levels of human growth hormone (GHG), insulin, free fatty acids and glucose at admission (●) and on recovery (○). The shaded area represents the duration of arginine infusion (mean  $\pm$  SEM).

On the day intravenous glucose stimulation was performed, fasting levels of GHG, IRI, FFA and glucose were similar to those observed on the day of arginine stimulation. During intravenous glucose stimulation (Fig. 4), plasma GHG was higher on admission throughout the test, except at 45 min ( $p < 0.05$ ); however, no suppression of plasma GHG levels was observed either on admission or recovery. No significant differences between the two studies in plasma IRI levels were observed; nevertheless, the IRI curve on recovery had a normal

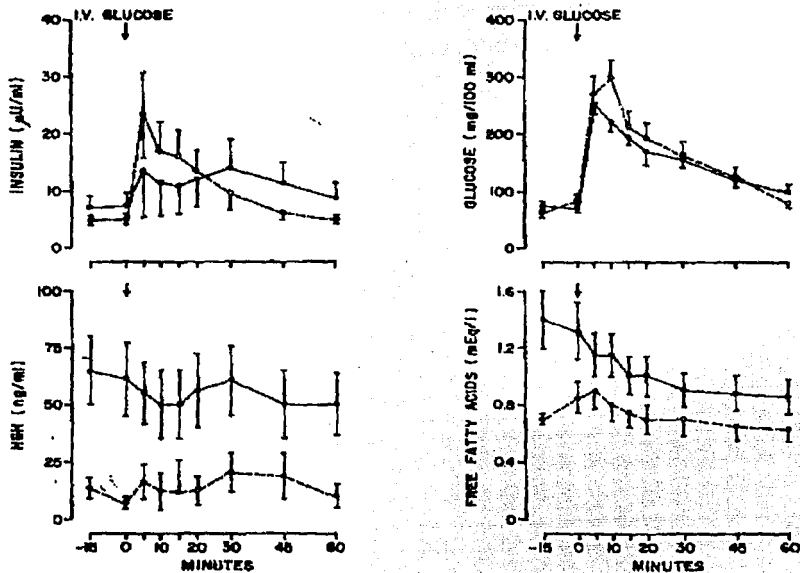


Fig. 4. Intravenous glucose tolerance test in children with kwashiorkor. Plasma levels of human growth hormone (HGH), insulin, free fatty acids and glucose at admission ( $\bullet$ ), and on recovery ( $\circ$ ). The arrow represents the time at which glucose load was administered (mean  $\pm$  SEM).

shape when compared to that observed on admission. However, a clear IRI response to intravenous glucose challenge was not observed either on admission or during recovery. Again, no significant changes in plasma FFA levels were noted at admission as compared to recovery. Plasma glucose concentrations were similar in both studies, except at 10 min, when glucose levels were higher on recovery ( $p < 0.05$ ). Glucose clearance rate ( $K_t$ ) at admission was  $1.5 \pm 0.1$  percent per min and  $2.2 \pm 0.3$  percent per min on recovery ( $p < 0.01$ ). In 6 out of 8 patients an improvement in  $K_t$  was observed at recovery (Fig. 5).  $K_t$  of glucose showed a significant negative correlation with fasting plasma levels of FFA ( $r = -0.562$ ,  $p < 0.05$ ).

## INSULIN-GH ADAPTATIONS IN MEXICO

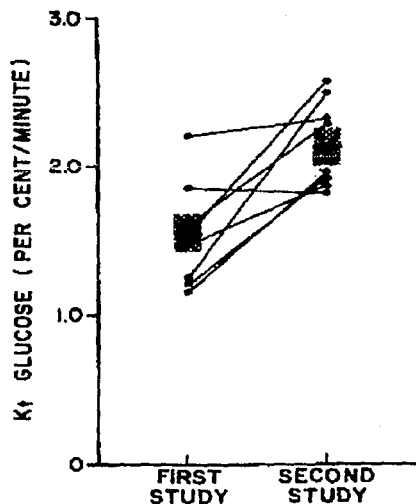


Fig. 5. Glucose clearance rate ( $K_t$  glucose) in children with kwashiorkor (mean  $\pm$  SEM).

The presence of an acute infection (most frequently gastrointestinal or respiratory) is usually the precipitating factor leading to the dramatic clinical changes observed in kwashiorkor. Therefore, we consider these children are in a more or less acute state of starvation and, thus, in acute stress. In the light of this concept, we offer the following interpretations of our results, based upon what is known about fuel availability and utilization in acute starvation (8): a) the low peripheral uptake of glucose, as manifested by the observed low  $K_t$  glucose at admission, could represent a mechanism to spare glucose which can be utilized for brain metabolism; b) low fasting and low overall IRI responses to intravenous arginine and glucose stimuli are necessary in order to promote: i) continuous breakdown of tissue protein (mainly skeletal muscle) to provide amino acids for gluconeogenesis (8) and again, to provide glucose for brain metabolism; ii) continuous lipolysis and availability of FFA which can be used as fuel by peripheral tissues such as skeletal muscle, heart, kidney, etc. (8); iii) the action of lipolytic hormones, such as HGH and epinephrine (8). Further information on urinary catecholamine excretion will be given in one of our following presentations.

## A. PARRA

In summary, in states of acute food deprivation (i.e. kwashiorkor), insulin acts as the primary regulator of peripheral fuel release (8), and during prolonged food deprivation, HGH is responsible for setting the plasma level of glucose, insulin and FFA. We believe that all the hormonal changes herein described represent a partial aspect of the adaptative mechanisms required to balance fuel availability and utilization and preserve life.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to express their gratitude to Dr. Silvestre Frenk, Physician-in-chief of the Hospital de Pediatría, C.M.N., I.M.S.S. for use of the facilities and for his continuous encouragement. We are grateful to Dr. Alfredo Gallegos, Head of the Division of Reproductive Biology, Departamento de Investigación Científica, C.M.N., I.M.S.S. for his continuous support. The HGH standard (NIH-GH-SH 1216 C), and HGH antiserum were kindly provided by NIAMD, NIH through the Hormone Distribution Officer. We also acknowledge the secretarial work performed by Miss Alicia Barnard.

Supported in part by the Instituto Mexicano del Seguro Social, and by grants of The Ford Foundation and National Institutes of Health Grant RR-00188. Financial support was also obtained from the National Dairy Council, The David Underwood Trust and Mead Johnson Laboratories.

### DISCUSSION BY PARTICIPANTS

BEAS: Did the patients start growing right from the beginning?

PARRA: The intake was between 2 and 3 gm per kg protein and 130 kcal/kg/day. The day after admission the infants were given this intake. They have been from one to three days in the emergency room treated with intravenous fluids; nothing by mouth. The patients began gaining weight within the first six or seven days.

JAYARAO: We start our patients with 200 kcal/kg/day. By the third day both marasmus and kwashiorkor patients are able to consume this amount. If the free fatty acids are an adaptive mechanism, why don't they come down on treatment?

PARRA: When we say we study them "at recovery" one must realize that they were not fully recovered.

JAYARAO: Are they getting between 150-300 kcal per kg?

PARRA: The marasmic infants, yes; the infants with kwashiorkor less.



## INSULIN-GH ADAPTATIONS IN MEXICO

JAYARAO: The infants with kwashiorkor consume less than the marasmic?

KERR: We share your experience of using a high calorie intake right after admission. We have rarely been able to get a child to take more than 250 kcal/kg/day as a maximum; you describe over 300. One of the limitations seems to be the volume of the feed we can get the child to take. They vomit. After you add the oil, what is the calorie density?

PARRA: We don't significantly increase the volume after adding the oil.

SUSKIND: How long do you keep them on maximum intake?

PARRA: We kept the marasmics in the hospital for 45 days and the kwashiorkors for 39 days. Once they reach a certain weight for height, their intake plateaus.

LEONARD: The point that you raise about quality control in radioimmunoassay is a very important one, especially the need to carry through different controls at different levels to check on the reproducibility of your assay. The need to do internal quality controls on each specimen should also be stressed. In kits one should be very careful that the growth hormone has not been degraded. Could you review the growth hormone changes in your patients?

PARRA: Of eight patients, four with high levels did suppress with glucose on recovery. In two, there were very low levels to begin with. In one, there was a good suppression on admission and a good suppression on recovery; and one, who suppressed nicely on admission, did not suppress on recovery. I agree with your comments on quality control, and we follow these precepts. If you want to show that you are measuring growth hormone and not something else, you have to at least show a linear relation in different dilutions in plasma.

PICOU: Please define what you mean by "recovered child."

PARRA: When they reach a weight for height over 90 percent, specifically in the kwashiorkor patients. In the marasmics, 85 percent (one was 80 percent).

PIMSTONE: After recovery we found suppression to be greater and prompter. So one can get poor suppressibility, not always non-suppressibility. We have not subjected normal children to this type of testing.

A. PARRA

MOSIER: What kind of rules do you use to determine what are anthropometric normals for children in Mexico, or in Chile, or in other countries?

PARRA: Dr. Ramos-Galván made a study of about 2,000 children (2) so we have our own percentile charts for weight and heights. If you compare the middle and upper class people of Mexico to the Stuart charts, they are very similar in height and weight. Lower class and malnourished people follow about the third percentile of the Stuart charts.

BEAS: We use the Stuart charts. Our lower class population is under the 10th percentile; our middle class population is between the 10th and 25th percentile, and our upper class population is the same as the Stuart.

MOSIER: That is based on economic status?

BEAS: Yes, it is related to nutritional differences, because in Chile these groups are similar genetically.

KRIEGER: I noted that the marasmic and kwashiorkor patients had very similar weight for height percentages. This might mean that the kwashiorkor patients had relatively low body solids compared with the marasmic patients, since they have relatively more water. Is this the experience of others?

VOICES: No.

PARRA: I think we must realize that kwashiorkor in Mexico does not have to be the same disease as kwashiorkor in Jamaica, or Africa, or Thailand. There are many factors that are different in these different areas.

SUSKIND: What you are describing as kwashiorkor might be considered to be marasmic-kwashiorkor in some other countries.

PARRA: Don't you think it is very important to think about the previous caloric intake and the sources of protein? That changes very much from country to country.

GARDNER: This is why we put the geographical designation in the title of every paper at this conference.

SUSKIND: We have seen cases in which children switch from marasmus to kwashiorkor and vice versa very quickly. They are clinically classified as being either marasmic or kwashiorkor depending on whether or not they have edema at the time of admission to the hospital.

## INSULIN-GH ADAPTATIONS IN MEXICO

### REFERENCES

1. Gómez, F., Ramos-Galván, R., Frenk, S., Cravioto-Muñoz, J., Chávez, R. and Vázquez, J.: Mortality in second and third degree malnutrition. J. Trop. Pediatr. 2: 77-83, 1956.
2. Ramos-Galván, R.: Tablas centilares de peso y talla, en los primeros 24 meses de la vida (estudio longitudinal). Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 27: 353, 1970.
3. Parra, A., Garza, C., Garza, Y., Saravia, J.L., Hazlewood, C.F. and Nichols, B.L.: Changes in growth hormone, insulin, and thyroxine values, and in energy metabolism of marasmic infants. J. Pediatr. 82: 133-142, 1973.
4. Beas, F., Contreras, I., Maccioni, A. and Arenas, S.: Growth hormone in infant malnutrition: The arginine test in marasmus and kwashiorkor. Br. J. Nutr. 26: 169-175, 1971.
5. Parra, A., Rivera, I. and Delfin, I.E.: Hormona de crecimiento. II. La administración secuencial de L-arginina e insulina en el diagnóstico de la deficiencia de hormona de crecimiento. Gac. Med. Mex. 101: 607-618, 1971.
6. Bowie, M.D.: Intravenous glucose tolerance in kwashiorkor and marasmus. S. Afr. Med. J. 38: 328-329, 1964.
7. Rabinowitz, D. and Zierler, K.L.: The action of insulin in man in the postabsorptive and postprandial states with a note on some applications of its action in determining muscle fuel in man. Postgrad. Med. J. 41: 67-72, 1965.
8. Cahill, G.F., Jr.: Starvation in man. N. Engl. J. Med. 282: 668-675, 1970.
9. Owen, O.E., Morgan, A.P., Kemp, H.G., Sullivan, J.M., Herrera, M.G. and Cahill, G.F., Jr.: Brain metabolism during fasting. J. Clin. Invest. 46: 1589-1595, 1967.

# STUDIES OF DAILY URINARY CATECHOLAMINE EXCRETION IN KWASHIORKOR AS OBSERVED IN MEXICO

ADALBERTO PARRA; PEDRO SERRANO; BEATRIZ CHÁVEZ;  
GUADALUPE GARCÍA; ROSA MA. ARGOTE; WILLIAM KLISH;  
ALFREDO CUELLAR; AND BUFORD L. NICHOLS

THE SECTION OF PROTEIN HORMONES, DEPARTAMENTO DE  
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, C.M.N., I.M.S.S.;  
LABORATORY OF ENDOCRINOLOGY, INSTITUTO NACIONAL DE  
CARDIOLOGÍA, MEXICO CITY; THE DEPARTMENT OF PEDIATRICS,  
SECTION OF NUTRITION AND GASTROENTEROLOGY,  
BAYLOR COLLEGE OF MEDICINE AND CLINICAL RESEARCH CENTER,  
TEXAS CHILDREN'S HOSPITAL; AND HOSPITAL DE PEDIATRIA,  
C.M.N., I.M.S.S., MEXICO CITY

---

For many years, the participation of catecholamines in the abnormalities of energy metabolism in protein-calorie malnutrition has been an obscure area in the field. From our attempts to analyze the hormonal adaptations in malnourished children, we will present our findings in daily urinary catecholamine excretion in children with kwashiorkor. Unfortunately, the same studies have not as yet been performed in marasmic infants. The kwashiorkor group encompass the same children studied in our two other presentations (this volume, Parra *et al.*, "Insulin-Growth Hormone Adaptations in Marasmus and Kwashiorkor as Seen in Mexico" and Parra *et al.*, "Thyroid Hormones and Energy Metabolism in Marasmus and Kwashiorkor as Seen in Mexico").

Twenty-four hr urine collection were performed three times a week and the samples analyzed for dopamine, norepinephrine, and epinephrine, and vanilmandelic acid (VMA) (1-3). Throughout the study any food which could affect catecholamines or VMA excretion (i.e.: bananas, chocolate, vanilla, some vegetables, etc.) was avoided in the subjects' diet. All determinations were performed by Dr. Pedro Serrano, Head of the Endocrine Laboratory at the Instituto Nacional de Cardiología in Mexico City. Values expressed in the text and

figures represent mean  $\pm$  SEM.

As shown in Fig. 1, urinary epinephrine was  $5.3 \pm 0.9 \mu\text{g}$  per 24 hr at admission, without any significant change throughout the study. Norepinephrine excretion was  $7.0 \pm 1.1 \mu\text{g}$  per 24 hr at admission and  $20.5 \pm 7.5 \mu\text{g}$  per 24 hr at the end of the study ( $p < 0.05$ ). Urinary excretion of dopamine was  $44.1 \pm 8.1 \mu\text{g}$  per 24 hr at admission and  $207.2 \pm 10.5 \mu\text{g}$  per 24 hr at discharge from the study ( $p < 0.001$ ). Furthermore, from period 3 on, the urinary excretion of dopamine was significantly higher than in period 1 ( $p < 0.01$  to  $< 0.001$ ). VMA urinary excretion amounted to  $1.5 \pm 0.5 \text{ mg}$  per 24 hr at admission and  $1.3 \pm 0.2 \text{ mg}$  per 24 hr at the end of the study ( $p > 0.05$ ).

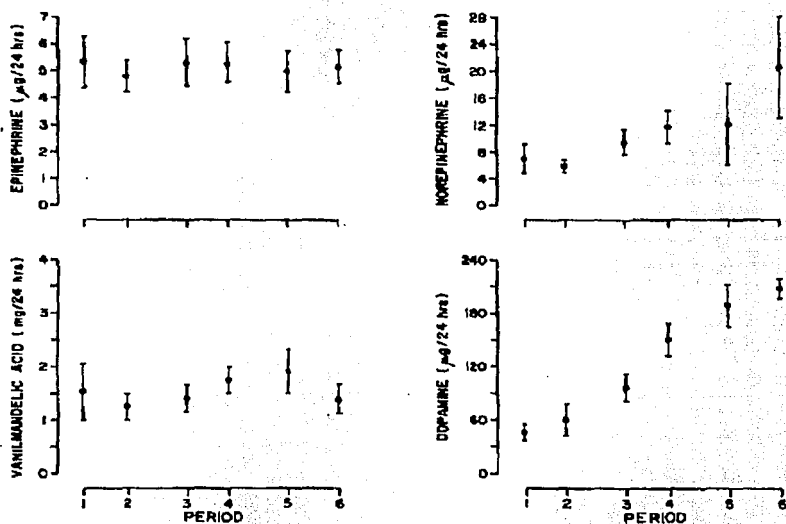


Fig. 1. Changes in daily urinary excretion of different catecholamines and VMA throughout the study (mean  $\pm$  SEM).

Because of the wide scatter in absolute values, it was decided to analyze the increments instead of absolute levels. Again, the same pattern was observed: the changes in norepinephrine, epinephrine and VMA were not significantly different from the basal level. However, the increments in dopamine were significantly different from period 3 on.

### DAILY URINARY CATECHOLAMINE EXCRETION

When the values observed in our patients were expressed as  $\mu\text{g}/\text{M}^2$  surface area/24 hr, the only significant change again was in dopamine (Table 1). The only significant correlation observed was between urinary dopamine excretion and basal caloric expenditure [ $r = 0.557$ ,  $p < 0.001$  (Fig. 2)].

Table 1. Urinary excretion in children with kwashiorkor ( $\mu\text{g}/\text{M}^2/24$  hr).

|                | ADMISSION              | RECOVERY         | "p" VALUE |
|----------------|------------------------|------------------|-----------|
| DOPAMINE       | $120.0 \pm 21.3^{(*)}$ | $326.8 \pm 49.7$ | $< 0.001$ |
| NOREPINEPHRINE | $19.4 \pm 3.0$         | $26.2 \pm 2.6$   | $> 0.05$  |
| EPINEPHRINE    | $14.3 \pm 2.2$         | $11.0 \pm 1.0$   | $> 0.05$  |
| VMA            | $4000 \pm 1200$        | $3200 \pm 600$   | $> 0.05$  |

(\*) Mean  $\pm$  SEM

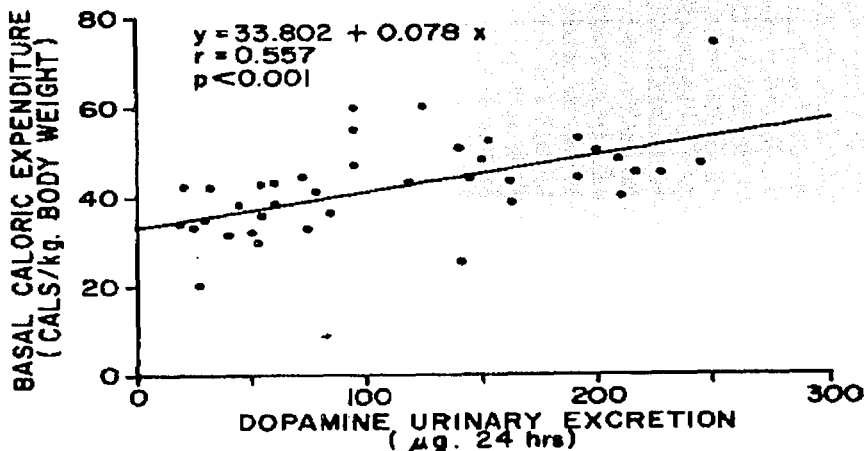


Fig. 2. Positive linear correlation between urinary dopamine excretion and basal caloric expenditure in children with kwashiorkor

The important findings in our study are two: first, a decreased urinary excretion of dopamine at admission with a subsequent and marked rise throughout the study; second, a relatively high urinary epinephrine excretion was observed at admission (4) and remained so throughout the study. These observations have also been reported by others (5). Our study was not designed to explain the mechanisms involved in abnormalities of catecholamine metabolism. However, the initial low dopamine excretion could be, among other possibilities, due to: a. decreased availability of substrate, i.e., low blood levels of tyrosine (6) or abnormalities in tyrosine metabolism (6-8); b. decreased availability of enzymes or enzyme co-factors (5,6). In Mexico, plasma tyrosine levels were found decreased in a group of children with kwashiorkor, similar to those reported here (9). One would expect that low tyrosine or tyrosine metabolism abnormalities would result in a decreased norepinephrine synthesis. However, this is not necessarily so, because the rate of norepinephrine synthesis can be maximal even at very low plasma levels of substrate, i.e., tyrosine (6). The increase in urinary epinephrine excretion at admission is in all likelihood the result of the adrenal medulla response expected in these children under acute stress (abrupt decrease in food intake, infections, hospitalization, etc.). This increase in epinephrine production will account for the low glucose clearance rate, the high fasting free fatty acid plasma levels and the extremely low plasma insulin levels, both in fasting and in response to different stimuli, observed in these children with kwashiorkor and already discussed in our first presentation in this symposium (this volume, Parra *et al.*, "Insulin-Growth Hormone Adaptations in Marasmus and Kwashiorkor as Seen in Mexico").

It is well-known that norepinephrine and epinephrine are involved in such functions as: a. temperature control (10); b. control of mood and affect (11); and c. neuroendocrine regulation of pituitary function (12). With this in mind, we now present an integrated and, hopefully, a more physiological explanation of some of the hormonal and energy metabolism changes observed in children with kwashiorkor:

- a. The central neurohormonal role for dopamine is much the same as for the previously mentioned catecholamines (10,11,13). Therefore, dopamine may likely have thermogenic properties under the circumstances here described. The close positive correlation observed in these children between urinary dopamine and basal caloric expenditure may partially support this idea.

## DAILY URINARY CATECHOLAMINE EXCRETION

- b. Drug-induced brain depletion of catecholamines in rats causes lethargy, decreased motor activity, and an appearance of sedation with easy arousal (6). Since brain catecholamines are depleted in malnourished rats (14) and children with kwashiorkor have similar behavioral patterns to brain catecholamine-depleted rats, one may speculate that children with kwashiorkor also have brain depletion of catecholamines. The finding of high urinary output of epinephrine does not exclude this hypothesis, inasmuch as urinary catecholamines are not related to catecholamine turnover and metabolism in the brain (15).
  
- c. When dopamine is locally infused in the lateral ventricle of the rat brain, plasma levels of growth hormone are significantly reduced (13). On the other hand, intravenous epinephrine has a stimulatory effect on growth hormone secretion (16,17). Furthermore, as the blood-brain barrier for catecholamines (present in most areas of the brain) does not exist in the hypothalamus (18), high circulating levels of epinephrine secreted by the adrenal medulla may be at least partially responsible for the rise in plasma growth hormone observed with endogenous as well as with exogenous epinephrine. Based on these observations, both low dopamine and high epinephrine would be responsible for the high growth hormone levels observed in our children with kwashiorkor.

Why are not plasma growth hormone levels suppressed with intravenous glucose in children with kwashiorkor? Fig. 3 shows a simplified picture of the relationship among hormones, blood glucose, and fuel availability in kwashiorkor and attempts to answer that question. The initial signals are the existence of a general stress, "1" in Fig. 3, and the hypothalamic signal from the glucose receptors, "2" in Fig. 3, which will respond to local hypoglycemia (19), both causing a rise in epinephrine production. This increased epinephrine synthesis, as indirectly evidenced by a rise in urinary epinephrine excretion, occurs even with small decreases in blood glucose (20). The main metabolic consequences ("A," "B," and "C" in Fig. 3) of augmented epinephrine secretion have a net result of maintaining normal blood glucose concentrations in the blood perfusing the brain. When a glucose load is given, a decrease in protein



catabolism might be achieved (21) and this glucose could also be utilized by the brain as an extra source of fuel, providing a constant supply of FFA is released to be used as fuel by peripheral tissues. This continuous supply of FFA can only be achieved if a constant, non-suppressible high plasma HGH is present, along with an increase in epinephrine (21). This diagram assumes that the hypothalamus is responsible for the high, non-suppressible plasma growth hormone levels seen in kwashiorkor as a homeostatic mechanism to protect brain metabolism. There are two other centers in the central nervous system which participate in the fuel regulatory mechanism and which are thought to be functioning in relation to the concentration of glucose at the hypothalamic level - the feeding behavior center (22) and the center which regulates the sympathetic tone of adipose tissue (23). As previously proposed, it is possible that these three hypothalamic centers - HGH releasing center (24), the feeding behavior center (22), and the lipolytic center (23) - may act in concert and thus constitute an integrated homeostatic mechanism within the neuroendocrine system, which regulates the mixture of substrates delivered to body tissues by the circulation (23,25).

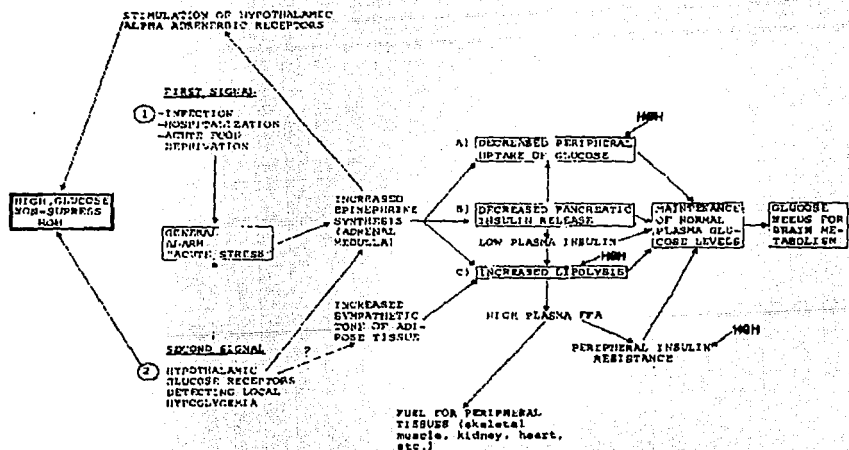


Fig. 3. Schematic interrelations between epinephrine, growth hormone, blood glucose, and fuel availability as an explanation of the high, non-suppressible plasma growth hormone levels observed in kwashiorkor.

## DAILY URINARY CATECHOLAMINE EXCRETION

### ACKNOWLEDGEMENTS

Supported in part by the Instituto Mexicano del Seguro Social and by grants of the Ford Foundation and National Institutes of Health Grant RR-00188. Financial support was also obtained from the National Dairy Council, The David Underwood Trust, and Mead Johnson Laboratories.

The authors are grateful to Dr. Silvestre Frenk, Physician-in-Chief of the Hospital de Pediatría, C.M.N., I.M.S.S. for his discussion and criticism. We acknowledge the continuous support provided by Dr. Alfredo Gallegos, Head of the Division of Reproductive Biology, Departamento de Investigación Científica, C.M.N., I.M.S.S. Secretarial work was performed by Miss Alicia Barnard.

### DISCUSSION BY PARTICIPANTS

DRASH: We have some data which would fit with your schema beautifully. We have just done studies on 150 patients of various types. In juvenile diabetics, epinephrine and growth hormone are high. In grossly obese adolescents, with normal carbohydrate tolerance, the catecholamines are very low, the insulin levels are very high, and the growth hormone levels are very low. In terms of your analysis in relationship to Voorhess' data, I think there are reasons for not doing it that way. You must develop your own norms. We have just compared our results with Dr. Voorhess and our values for both epinephrine and norepinephrine are somewhat lower than hers. They are much closer to values from Cheek's laboratory (26) and from Kärki (27).

PARRA: We used Voorhess' data for comparison because we use the same techniques for catecholamine determination.

DRASH: We did, too, and so did Kärki.

PARRA: We studied growth hormone release in normal children, using arginine and insulin as a test. The following day we performed the same test, but with a simultaneous infusion of epinephrine and propranolol. There was a marked increase in the growth hormone response. We also measured the plasma insulin levels in these children and all declined markedly. We did the same study in obese children, who are characterized by very high plasma insulin levels and very low growth hormone levels. Using an epinephrine-propranolol infusion, you can decrease markedly the hyperinsulinemia and there is a rise in growth hormone levels. This is to account for my last comment on the adrenergic nervous system.

PIMSTONE: Epinephrine stimulates both alpha- and beta-receptors. Your use of propranolol (a beta blocker) leaves your patients with a pure alpha stimulation effect, which might account for the high growth hormone and low insulin levels. One might use an alpha blocker to drop growth hormone and raise insulin.

TORUN: In respect to the dopamine levels, what was the diet of these children in the Hospital? I ask this question because Hoeldtke and Wurtman (5) studied foods which are used both in Mexico and Central America and found fairly high amounts of dopa in some of these foods. Hoeldtke (unpublished observations) found that the ingestion of a diet rich in cereals can produce a fourfold increase in urinary dopamine excretion.

PARRA: We avoid any foods which could affect catecholamines or VMA excretion (i.e.: bananas, chocolate, vanilla, some vegetables, etc.). In any event, all children were kept on the same diet throughout the study.

TORUN: But their appetites for different foods may have changed.

PARRA: You are right.

#### REFERENCES

1. Drujan, B.D., Sourkes, T.L., Layne, D.S. and Murphy, G.F.: The differential determination of catecholamines in urine. Can. J. Biochem. 37: 1153-1159, 1959.
2. Carlsson, A. and Waldeck, B.: A fluorimetric method for the determination of dopamine (3-hydroxytyramine). Acta Physiol. Scand. 44: 293-298, 1958.
3. Pisano, J.J., Crout, J.R. and Abraham, D.: Determination of 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid in urine. Clin. Chim. Acta 7: 285-291, 1962.
4. Voorhess, M.L.: Urinary catecholamine excretion by healthy children. I: Daily excretion of dopamine, norepinephrine, epinephrine and 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid. Pediatrics 39: 252-257, 1967.
5. Hoeldtke, R.D. and Wurtman, R.J.: Excretion of catecholamines and catecholamine metabolites in kwashiorkor. Am. J. Clin. Nutr. 26: 205-210, 1973.
6. Wurtman, R.J.: Biosynthesis of the catecholamines. In: Catecholamines (R.J. Wurtman). Little, Brown, Boston, 1966. pp. 1-14.

#### DAILY URINARY CATECHOLAMINE EXCRETION

7. Edozien, J.C. and Obasi, M.E.: Protein and amino acid metabolism in kwashiorkor. Clin. Sci. 29: 1-24, 1965.
8. Whitehead, R.G. and Milburn, T.R.: Amino acid metabolism in kwashiorkor. II. Metabolism of phenylalanine and tyrosine. Clin. Sci. 26: 279-289, 1964.
9. Frenk, S., Alexandre de Villarreal, I., Benitez de López, S. and Cuéllar, A.: Plasma free amino acid patterns in third-degree malnutrition. In: IXth International Congress of Nutrition, Abstracts of Short Communications, Mexico City, September 3-9, 1972. (P. Arroyo, S. Basta, H. Bourges, A. Chávez, M. Coronada, M. Muñoz and S.E. Quiroz, eds.). Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1973. p. 28.
10. Feldberg, W. and Myers, R.D.: Changes in temperature produced by microinjections of amines into the anterior hypothalamus of cats. J. Physiol. (Lond.) 177: 239-245, 1965.
11. Schildkrant, J. and Kety, S.S.: Biogenic amines and emotion. Science 156: 21-30, 1967.
12. Carlsson, A.: The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. Pharmacol. Rev. 11: 490-493, 1959.
13. Collu, R., Fraschini, F., Visconti, P. and Martini, L.: Adrenergic and serotonergic control of growth hormone secretion in adult male rats. Endocrinology 90: 1231-1237, 1972.
14. Shoemaker, W.J. and Wurtman, R.J.: Perinatal undernutrition: accumulation of catecholamines in rat brain. Science 171: 1017-1019, 1971.
15. Wurtman, R.J.: Sources of catecholamines and their metabolites in the urine. In: Catecholamines (R.J. Wurtman). Little, Brown, Boston, 1966. pp. 55-60.
16. Meyer, V. and Knobil, E.: The acute elevation of plasma growth hormone concentration in response to various stimuli. Fed. Proc. 25: 379, 1966. (abstract)
17. Blackard, W.G. and Heldingsfelder, S.A.: Adrenergic receptor control mechanism for growth hormone secretion. J. Clin. Invest. 47: 1407-1414, 1968.

18. Weill-Malherbe, H. The passage of catechol amines through the blood-brain barrier. In: CIBA Foundation Symposium Jointly with Committee for Symposia on Drug-Action on Adrenergic Mechanisms (J.R. Vane, G.E.W. Wolstenholme and M. O'Connor, eds.). Little, Brown, Boston, 1960. pp. 421-423.
19. Schalch, D.S. and Reichlin, S.: Stress and growth hormone release. In: Growth Hormone. Proceedings of the First International Symposium, Milan, Italy, September 11-13, 1967. (A. Pecile and E.E. Müller, eds.). Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1968. pp. 211-225.
20. Luft, R., Cerasi, E., Madison, L.L., von Euler, U.S., Della Casa, L. and Roovete, A.: Effect of a small decrease in blood-glucose on plasma-growth-hormone and urinary excretion of catecholamines in man. Lancet 2: 254-256, 1966.
21. Cahill, G.F., Jr.: Starvation in man. N. Engl. J. Med. 282: 668-675, 1970.
22. Anand, B.K.: Nervous regulation of food intake. Physiol. Rev. 41: 677-708, 1961.
23. Goodner, C.J., Tustison, W.A., Davidson, M.B., Chu, P.C. and Conway, M.J.: Studies of substrate regulation in fasting. I. Evidence for central regulation of lipolysis by plasma glucose mediated by the sympathetic nervous system. Diabetes 16: 576-589, 1967.
24. Roth, J., Glick, S.M., Yalow, R.S. and Berson, S.A.: Hypoglycemia: a potent stimulus to secretion of growth hormone. Science 140: 987-988, 1963.
25. Conway, M.J., Goodner, C.J., Werrbach, J.H. and Gale, C.G.: Studies of substrate regulation in fasting. II. Effect of infusion of glucose into the carotid artery upon fasting lipolysis in the baboon. J. Clin. Invest. 48: 1349-1362, 1969.
26. Cheek, D.B., (ed.): Human Growth; Body Composition, Cell Growth, Energy and Intelligence. Lea and Febiger, Philadelphia, 1968.
27. Kärki, N.T.: The urinary excretion of noradrenaline and adrenaline in different age groups, its diurnal variation and the effect of muscular work on it. Acta Physiol. Scand. 39 (Suppl. 132): 3-96, 1956.

# THYROID HORMONES AND ENERGY METABOLISM IN MARASMUS AND KWASHIORKOR, AS SEEN IN MEXICO

ADALBERTO PARRA; WILLIAM KLISH; CUTBERTO GARZA;  
ROSA MA. ARGOTE; GUADALUPE GARCÍA; RODRIGO RODRIGUEZ;  
ALFREDO CUELLAR; LIDIA CANSECO; AND BUFORD L. NICHOLS

THE SECTION OF PROTEIN HORMONES, DEPARTAMENTO DE  
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, C.M.N., I.M.S.S.; THE  
DEPARTMENT OF PEDIATRICS, SECTION OF NUTRITION AND  
GASTROENTEROLOGY, BAYLOR COLLEGE OF MEDICINE AND  
CLINICAL RESEARCH CENTER; TEXAS CHILDREN'S HOSPITAL;  
AND HOSPITAL GENERAL AND HOSPITAL DE PEDIATRÍA,  
C.M.N., I.M.S.S., MEXICO CITY.

Having described the insulin-growth hormone adaptations in protein-calorie malnutrition (this volume, Parra, *et. al.* "Insulin Growth Hormone Adaptations in Marasmus and Kwashiorkor as Seen in Mexico"), we now consider the relationship between thyroid hormones, energy metabolism and some aspects of muscle tissue composition.

The same marasmic infants, as well as the children with kwashiorkor involved in the study of insulin-growth hormone adaptations, were the clinical material studied in this second stage of our general protocol. Admission and recovery studies were performed according to the criteria expressed in our first presentation. To summarize, on day 2 of our protocol study and after an eight-hr overnight fast, venous blood was obtained through the polyethylene catheter located in the superficial femoral vein to determine serum  $T_3$  binding capacity and thyroxine. Free  $T_4$  index was then calculated. Total serum proteins and albumin concentrations were also measured. In all children with kwashiorkor, but not in the marasmic infants, meat was excluded from the diet in order to avoid any artificial variations in the daily creatinine urinary excretion.

Additional indices obtained during the study were:

- a. Twenty-four hour urinary creatinine excretion was measured three times a week. The urine was collected in a chilled bottle. The values obtained were averaged for periods of 10-12 days in the marasmic group and for periods of six days in the kwashiorkor group. The creatinine height index (CHI) was also determined.
- b. Oxygen consumption and CO<sub>2</sub> production were measured two or three times a week using a Noyons diaferometer (Kipp and Zonen, Delft, Holland, model MG4-6601) previously calibrated to the altitude and temperature in Mexico City. The determinations were performed after overnight fasting for eight-hr and during a minimum period of 30 min. The infants were lightly sedated with oral chloral hydrate (50 mg per kg body weight) and placed in the chamber on foam rubber covered by diapers. Either the patient was apathetically awake throughout the test or fell asleep before or soon after the start of the test. When an infant was restless the test was postponed until the next day. Duplicate determinations were performed in five infants with a variation of zero to four percent.
- c. Daily caloric, carbohydrate, protein and fat intake were estimated in each infant. The individual values for creatinine excretion, caloric expenditure and caloric intake were subdivided into similar periods as those mentioned in a.
- d. The anthropometric measurements obtained were body weight (daily), body length (weekly), skinfold thickness (subscapular and triceps), and mid-upper arm circumference. Harpender's caliper and anthropometric equipment were used. Anthropometric measurements were determined by the same observer throughout the study. The data recorded on each occasion was the average of three sequential measurements. Based on mid-upper arm circumference measurements, the arm muscle area (cm<sup>2</sup>) was calculated according to a method previously reported. This measurement has been

## THYROID HORMONES AND ENERGY METABOLISM

satisfactorily used as a public health index of malnutrition in early childhood. The methods used for all these determinations have already been published (1).

Statistical analysis was performed by means of pair test analysis. Values expressed in the text and figures represent mean  $\pm$  SEM.

### MARASMIC GROUP

In this group, basal caloric expenditure at admission was  $38.5 \pm 2.7$  calories per kg body weight and increased to a maximum of  $48.0 \pm 3.3$  calories per kg body weight during period 3 without further increment during period 4 (Fig. 1).

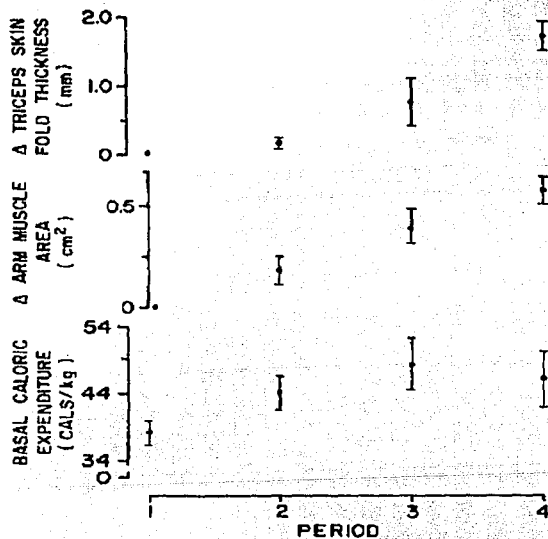


Fig. 1. Changes in basal caloric expenditure in arm muscle area and in triceps skinfold thickness of marasmic infants. Each point represents the average values observed during sequential periods of 10-12 days (mean  $\pm$  SEM).

A positive correlation was observed between basal caloric expenditure and intake per unit of body weight ( $r = 0.599$ ,  $p < 0.001$ ). Also shown in Fig. 1 are the increments in middle-upper arm muscle area which were more marked during periods



2 and 3 ( $0.37 \pm 0.09 \text{ cm}^2$ ), than during period 4. On the other hand, triceps skinfold thickness showed the most marked increment during period 4 ( $1.7 \pm 0.22 \text{ mm}$ ), simultaneously with the plateau observed in basal caloric expenditure.

CHI increased throughout the study and at the time of the second study only two out of 10 patients had a CHI below 0.8. Serum proteins, albumin and globulins did not vary significantly.

The results of some thyroid studies are shown in Table 1. It is necessary to mention that four infants had serum thyroxine levels at admission between 13 and 15  $\mu\text{g}$  per 100 ml, which is our upper limit for normal values.  $\text{T}_3$  uptake, serum thyroxine and free thyroxine index were consistently higher on admission than on recovery.

Table 1. Thyroid studies in marasmic infants.

|                                             | FIRST STUDY           | SECOND STUDY    | "p" VALUE |
|---------------------------------------------|-----------------------|-----------------|-----------|
| $\text{T}_3$ UPTAKE                         | $0.84 \pm 0.06^{(*)}$ | $0.65 \pm 0.04$ | < 0.025   |
| THYROXINE<br>( $\mu\text{g}/100\text{ml}$ ) | $10.30 \pm 1.20$      | $7.16 \pm 0.64$ | < 0.05    |
| FREE THYROXINE<br>INDEX                     | $8.80 \pm 1.20$       | $4.80 \pm 0.50$ | < 0.01    |

(\*) Mean  $\pm$  SEM

As shown in Table 2, muscle phosphocreatine (PC), ATP and glycogen were lower at admission than on recovery. Because PC and ATP showed a significant linear correlation ( $r = 0.667$ ,  $p < 0.005$ ), it was decided to pool them as a measure of the production of high-energy phosphate bonds. On recovery, PC plus ATP concentrations had a negative linear correlation with free thyroxine index ( $r = -0.695$ ,  $p < 0.05$ ), and a positive linear correlation with caloric intake for unit body weight ( $r = 0.729$ ,  $p < 0.005$ ).

The reduced basal caloric expenditure observed in these infants immediately upon hospital admission does not reflect the caloric requirements for recovery, but seems to represent the result of a necessary adjustment to chronic starvation in order to survive (2). As a higher caloric intake is available to these infants, basal caloric expenditure seems to be set

## THYROID HORMONES AND ENERGY METABOLISM

at a higher level. At this point, it should be emphasized that in the present study, basal calories and not total expended calories were measured.

Table 2. Muscle tissue concentrations in marasmic infants.

|                                               | FIRST STUDY     | SECOND STUDY | "p" VALUE |
|-----------------------------------------------|-----------------|--------------|-----------|
| PHOSPHOCREATINE<br>(mM./100 gm f.f.d.t)       | 1.46 ± 0.23 (*) | 2.46 ± 0.27  | < 0.025   |
| ADENOSIN-TRIPHOSPHATE<br>(mM./100 gm f.f.d.t) | 1.15 ± 0.16     | 1.92 ± 0.23  | < 0.025   |
| GLYCOGEN<br>(gm/100 gm f.f.d.t)               | 5.63 ± 1.46     | 13.12 ± 2.74 | < 0.025   |

(\*) Mean ± SEM

Although skinfold thickness and middle-upper arm muscle area are certainly gross indirect measurements of body composition, any relative changes in these parameters are real (3, 4). Therefore, based upon the findings observed throughout the study, it could be suggested that during recovery marasmic infants lay down first muscle tissue [which accounts for the observed increase in basal calorie expenditure (5)]. At later stages, fat is accumulated and no further increase in caloric expenditure is observed.

Previous reports have suggested a subnormal thyroid function in marasmic infants (6). Although serum thyroxine levels and free thyroxine index were higher at admission than on recovery, the values were within the normal range. Thus, the present results failed to reveal any abnormalities. During recovery, both basal oxygen consumption and the phosphorylation products of mitochondrial metabolism (PC and ATP) increased. This suggests that quantitative changes in tissue metabolism may partially account for the altered basal metabolic rate. Consequently, the observed changes in muscle tissue composition are only a partial explanation of the metabolic adaptations to prolonged calorie deprivation. On the other hand, the low muscle glycogen concentrations observed at admission might be a reflection of the possible peripheral lack of insulin efficacy (7) discussed in our first presentation in this symposium (this volume, Parra, et. al. "Insulin-Growth Hormone Adaptations in Marasmus and Kwashiorkor as Seen in Mexico"). However, it could also be that at admission

these marasmic infants were unable to build up any fuel stores because they immediately consumed any available exogenous fuels.

The rapid response observed in the metabolic and endocrine alterations upon refeeding suggests that these changes represent a secondary adaptive mechanism in an effort to maintain muscle composition as close to normal as possible.

## KWASHIORKOR GROUP

At admission basal caloric expenditure was  $36.9 \pm 1.9$  cal per kg body weight with a general trend to increase caloric expenditure to a maximum of  $52.5 \pm 3.5$  cal per kg body weight in period 5 and a plateau thereafter (Fig. 2). Since

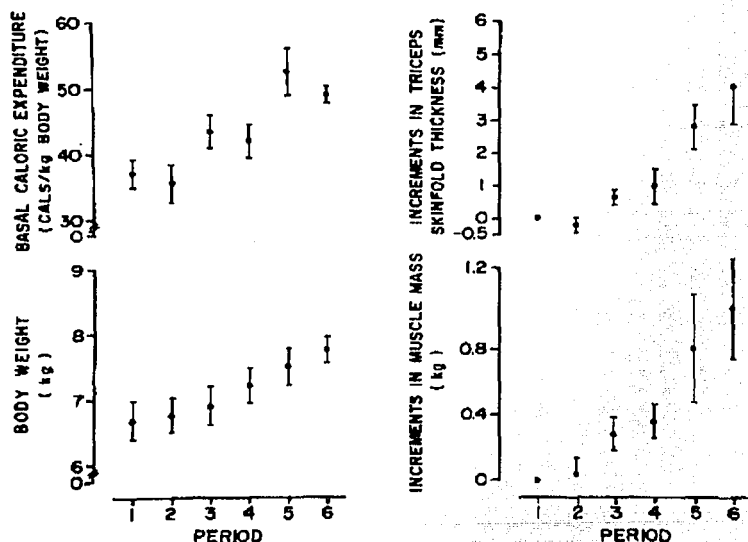


Fig. 2. Changes in body weight, basal caloric expenditure, muscle mass and in triceps skinfold thickness of children with kwashiorkor. Each point represents the average values observed during sequential periods of 6-7 days (mean  $\pm$  SEM).

children with kwashiorkor were on a constant creatinine-free diet, muscle mass could be calculated (5). Muscle mass at admission was  $1.07 \pm 0.07$  kg and  $2.12 \pm 0.33$  kg on recovery.

## THYROID HORMONES AND ENERGY METABOLISM

Fig. 2 shows that increments in muscle mass followed the same pattern as basal caloric expenditure. The net increment in muscle mass at the end of period 6 was  $1.04 \pm 0.3$  kg. Skinfold thickness on admission was  $5.2 \pm 0.6$  mm and  $9.0 \pm 0.7$  mm on recovery. It can also be seen in Fig. 1 that significant increments in skinfold thickness were observed from period 3 on. As in the marasmic group, a significant correlation was observed between basal caloric expenditure and intake per unit body weight ( $r = 0.654$ ,  $p < 0.001$ ). Because in the marasmic infants middle-arm muscle area was selected as an indirect gross measurement of muscle mass, it was interesting to observe that in children with kwashiorkor a significant linear correlation was observed between increments in muscle mass and increments in middle-arm muscle area [ $r = 0.735$ ,  $p < 0.001$ ] (Fig. 3)].

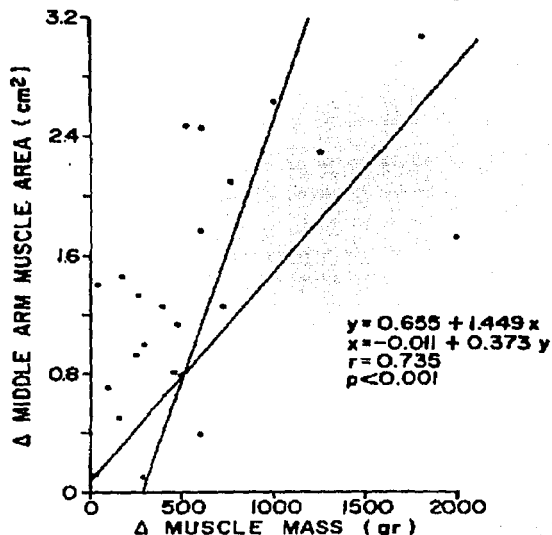


Fig. 3. Correlation between increments in muscle mass and increments in arm muscle area in children with kwashiorkor.

CHI markedly increased throughout the study, although only six out of eight patients had a CHI superior to 0.9 at the end of the study. Serum proteins reached normal values by day 9 of hospitalization, before albumin did so. This was due to a rapid rise in serum globulins, especially in the gamma fraction (Fig. 4).

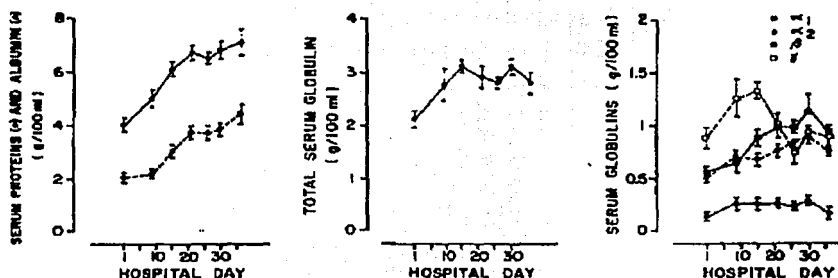


Fig. 4. Patterns of changes in serum proteins, albumin and globulins in children with kwashiorkor throughout the study (mean  $\pm$  SEM).

Table 3 shows that the thyroid tests performed both at admission or on recovery were within normal limits. A slight decrease in  $T_3$  uptake at recovery was the main finding.

Table 3. *Thyroid studies in children with kwashiorkor.*

|                                 | FIRST STUDY           | SECOND STUDY    | "p" VALUE |
|---------------------------------|-----------------------|-----------------|-----------|
| $T_3$ UPTAKE                    | $1.26 \pm 0.05^{(*)}$ | $0.98 \pm 0.03$ | $< 0.01$  |
| THYROXINE<br>( $\mu$ g/100 ml.) | $6.68 \pm 1.06$       | $6.21 \pm 0.46$ | NS        |
| FREE THYROXINE<br>INDEX         | $6.70 \pm 0.53$       | $6.17 \pm 0.62$ | NS        |

(\*) Mean  $\pm$  SEM

Table 4 demonstrates that muscle concentrations of PC and ATP were similar both at admission and on recovery; however, muscle glycogen was significantly higher on recovery than at admission. It is interesting to note that in marasmic infants the highest ATP concentration at admission was 1.85 mM per 100 gm f.f.d.t., while in children with kwashiorkor the lowest ATP concentration was 1.95 mM per 100 gm f.f.d.t. In regard to PC, only two marasmic infants had values above 2.0 mM at admission while all but one of the children with kwashiorkor had values over 2.0 mM. The opposite was observed at admission in regard to muscle glycogen: seven out of 10 marasmic infants

## THYROID HORMONES AND ENERGY METABOLISM

had concentrations greater than 3.0 gm; however, seven out of eight children with kwashiorkor had muscle glycogen concentrations below 3.0 gm.

Table 4. Muscle tissue concentrations in children with kwashiorkor.

|                                                           | FIRST STUDY                | SECOND STUDY | "p" VALUE |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------|--------------|-----------|
| PHOSPHOCREATINE<br>(mM/100 gm f.f.d.t)                    | 2.97 ± 0.57 <sup>(*)</sup> | 4.44 ± 1.13  | NS        |
| ADENOSIN-TRIPHOSPHATE <sup>*</sup><br>(mM/100 gm f.f.d.t) | 3.68 ± 0.80                | 5.28 ± 1.23  | NS        |
| GLYCOGEN<br>(gm/100 gm f.f.d.t)                           | 1.64 ± 0.50                | 3.15 ± 0.51  | < 0.001   |

(\*) Mean ± SEM

The marked reduction in basal caloric expenditure per unit body weight observed at admission is in all likelihood the result of falsely high body weights as the result of moderate to marked edema. When the basal caloric expenditure is expressed per unit "dry" weight as calculated by Viteri (8), the value obtained at admission was 44.6 cal per kg. This value is significantly higher than the value observed in marasmic infants at admission. Thus, it seems that the reduced basal caloric expenditure at admission is an expression of an adjustment to a state of poor caloric and protein intake; the more prolonged is this period of food deprivation, the lower the basal caloric expenditure is, in order to assure survival.

The results on muscle mass and skinfold thickness, suggest that during recovery marasmic infants lay down metabolically active tissue first (i.e.: muscle) and at later stages, fat stores are rebuilt. Since in kwashiorkor, muscle wasting is not as marked as in marasmus, protein and fat stores are simultaneously replenished in the body.

Glycogen stores are very rapidly used in early starvation. Consequently, glycogen stores in muscle were lower in kwashiorkor than in marasmus. This apparent contradiction is explained by the fact that in prolonged starvation, fuel supply no longer depends partially on glycogen or protein, but exclusively on fat (9). On the other hand, the participation of thyroid hormones on PC and ATP production is well known

(10). From our results, it can be suggested that during prolonged marasmic starvation the endogenous sources of energy (as identified by muscle CP and ATP) are at the lowest level and thyroid hormones are at a "high" normal level in an attempt to increase CP and ATP production in a useful fashion without increasing body oxygen consumption. This has elements of a negative feedback mechanism. On the other hand, in a more-or-less acute caloric deprivation such as kwashiorkor, the endogenous sources of energy are less depleted than in marasmus. Thus, a rise (within physiologic limits) in thyroid hormone levels is not required.

In summary, we emphasize that the finding of abnormal thyroid tests does not mean the existence of an abnormal thyroid function, but only reflects the adaptative changes related to the stage of caloric deprivation and is consequently in close relation to the status of the endogenous fuel sources.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Supported in part by the Instituto Mexicano del Seguro Social and by grants of The Ford Foundation and National Institutes of Health Grant RR-00188. Financial support was also obtained from the National Dairy Council, the David Underwood Trust and Mead Johnson Laboratories.

We are sincerely grateful to Dr. Silvestre Frenk, Physician-in-Chief of the Hospital de Pediatría, C.M.N., I.M.S.S., Mexico City for his suggestions, criticisms and continuous encouragement. We also thank Dr. Alfredo Gallegos, Head of the Reproductive Biology Division, Departamento de Investigación Científica, C.M.N., I.M.S.S. for his support. We acknowledge the secretarial assistance of Miss Alicia Barnard.

#### DISCUSSION BY PARTICIPANTS

BRASEL: How do you envision the glycogen stores being maintained in marasmus?

PARRA: In the early stages of food deprivation, glycogen is not very important as a fuel source. As food deprivation is prolonged, the body can no longer break down protein. Thus, at later stages the body depends fundamentally on fat as a fuel source. At that point in time, with low insulin and high growth hormone levels, glycogen stores can be partially rebuilt. We don't have normal values with which to compare this.

## THYROID HORMONES AND ENERGY METABOLISM

KRIEGER: We observed in Detroit that the "total" BMR (kcal per day) and the BMR per weight predicted from height were fairly constant throughout recovery in most children with malnutrition; the BMR per actual weight decreased as the patients gained weight. By contrast, the "total" BMR was in some patients initially very low and rose within a few days to several weeks; the BMR per actual weight also rose, but not as much as the BMR per predicted weight. The children with rising BMR's had loose skin folds, which suggests that they had suffered acute weight loss in addition to the chronic growth failure. A rise of the BMR with weight gain was also observed in children of normal height who had a history of recent acute weight loss. The different recovery pattern may be related to differences in the adaptive mechanism. I wonder whether BMR differences between marasmus and kwashiorkor can be explained on the same basis.

DRASH: I know it is risky to compare malnutrition with fasting in obesity, but I would like to discuss our results from some 20 adolescents. Roughly half had normal glucose tolerance and half were intolerant to carbohydrate (these last did not come to us diagnosed as diabetic). We used a technique of surface area as measured by planimetry to get a single point to represent "glucose production" and "insulin production" following glucagon administration. After two days of total fasting, glucose production dropped to about one-third or one-half of its pre-fasting value. As total fasting continued for about two weeks, there was a return toward normal in glucose production following glucagon. The insulin response followed the same pattern, except that it initially dropped even further. There seems to be an adaptive mechanism to the increased production of glycogen coming from amino acids. I wonder if this doesn't explain the difference between your two extreme groups, Dr. Parra.

NICHOLS: Dr. Alleyne (11) first showed that there was a good correlation between the  $K_t$  of glucose and muscle glycogen. We observed the same thing in an unpublished study at INCAP, plotting muscle glycogen against the  $K_t$  of glucose. I'm led to think that glycogen at any point in time represents the complex extracellular control of carbohydrate, rather than an intracellular metabolic change.

PICOU: There are two points which complicate the matter further. First, when muscle glycogen was studied by Dr. Alleyne, there was an overshoot in muscle glycogen when the children had recovered. Did you find that in your children? Secondly, Dr. Alleyne also showed that the concentration of glycogen in the muscle appears to be dependent on the potassium concentration



in muscle. Did you find a lower concentration of potassium in your kwashiorkor children than in your marasmic children? That could explain your glycogen findings.

NICHOLS: In the INCAP study (with Viteri and unpublished) there was an overshoot of glycogen at the time that the  $K_t$  for glucose was high. The  $K_t$  for glucose went to 3.5 mg/100 ml/min during the recovery study in children with kwashiorkor. In answer to Dr. Picou's second question, you can find a correlation between muscle potassium and glycogen. It is not a perfect correlation even in Dr. Alleyne's data, which suggest that they are not causally related, but both are related to a third factor. Frenk (12) was the first to point out that marasmic children, whom he called "atrophic" children, did not have the reduction in muscle potassium. We don't find the reduction in muscle potassium in the marasmic child studied in Mexico.

PARRA: Let me remind you that the  $K_t$  of glucose in marasmic infants at admission and at recovery was within the normal range (13) although an increase was observed between admission and recovery. In kwashiorkor it was definitely low at admission and within the normal range at recovery.

GARDNER: Is there not a relationship between the deposition of glycogen and the deposition, if you will, of potassium in the liver?

NICHOLS: Perhaps we should say that it depends on whether you are looking into the cell or inside the cell looking out. Looking into the cell, a significant amount of potassium is carried out of the blood with each mole of glycogen deposited. Looking from within the cell, the amount of potassium is high initially compared to the extracellular concentration so that the small amount entering per mole of glucose isn't appreciable. For example, it has been clearly shown by Hultman (14) studying work physiology that the amount of potassium accumulated is 440 mM per kg of glycogen. If there is an accumulation per 100 gm of glycogen (which would be very high) per kg of muscle (dry weight), the amount of potassium actually present would be 44 milliequivalents, or 10 percent.

## THYROID HORMONES AND ENERGY METABOLISM

### REFERENCES

1. Parra, A., Garza, C., Garza, Y., Saravia, J.L., Hazlewood, C.F. and Nichols, B.L.: Changes in growth hormone, insulin and thyroxine values, and in energy metabolism of marasmic infants. J. Pediatr. 82: 133-142, 1973.
2. Krieger, I. and Chen, Y.C.: Caloric requirement for weight gain in infants with growth failure due to material deprivation, undernutrition and congenital heart disease. A correlation analysis. Pediatrics 44: 647-654, 1969.
3. Parizkova, J.: Total body fat and skinfold thickness in children. Metabolism 10: 794-807, 1961.
4. Jelliffe, E.F.P. and Jelliffe, D.B.: The arm circumference as a public health index of protein-calorie malnutrition of early childhood. J. Trop. Pediatr. 15: 177-260, 1969.
5. Cheek, D.B., Hill, D.E., Cordano, A. and Graham, G.G.: Malnutrition in infancy: changes in muscle and adipose tissue before and after rehabilitation. Pediatr. Res. 4: 135-144, 1970.
6. Beas, F., Mönckeberg, F., Horwitz, I. and Figueroa, M.: The response of the thyroid gland to thyroid-stimulating hormone (TSH) in infants with malnutrition. Pediatrics 38: 1003-1008, 1966.
7. Roch-Norlund, A.E., Bergström, J., Castenfors, H. and Hultman, E.: Muscle glycogen in patients with diabetes mellitus. Acta Med. Scand. 187: 445-453, 1970.
8. Viteri, F.: personal communication.
9. Cahill, G.F., Jr.: Starvation in man. N. Engl. J. Med. 282: 668-675, 1970.
10. Hoch, F.L.: Biochemical actions of thyroid hormones. Physiol. Rev. 42: 605-678, 1962.
11. Alleyne, G.A.O. and Scullard, G.H.: Alterations in carbohydrate metabolism in Jamaican children with severe malnutrition. Clin. Sci. 37: 631-642, 1969.
12. Frank, S., Metcalf, J., Gómez, F., Ramos-Galván, R., Cravioto, J. and Antonowicz, I.: Intracellular composition and homeostatic mechanisms in severe chronic infantile malnutrition. II. Composition of tissues. Pediatrics 20: 105-120, 1957.

13. Parra, A., Garza, C., García, G., Argote, R. Ma., Klish, W., Canseco, L., Cuellar, A. and Nichols, B.L.: Insulin-growth hormone adaptations in marasmus and kwashiorkor as seen in Mexico. Chapter III, this volume.
14. Hultman, E.: Physiological role of muscle glycogen in man, with special reference to exercise. Circ. Res. 20(Suppl. 1): 99-112, 1967.

## Body Composition in Hypopituitary Dwarfs Before and During Human Growth Hormone Therapy

Adalberto Parra, Rosa Ma. Argote, Guadalupe García, Carlos Cervantes,  
Sylvia Alatorre, and Enrique Pérez-Pastón

The clinical characteristics and body composition of eight hypopituitary dwarfs (10.2–21.6 yr) were analyzed before and after 6 and 12 mo of growth hormone therapy, 2 IU 3 times/wk. Before treatment, growth rate was  $1.8 \pm 0.7$  cm/yr, height age was 2.0–12.8 yr less, and bone age 2.0–11.1 yr less than chronologic age. Total body water (TBW), lean body mass (LBM), extracellular water (ECW), and intracellular water (ICW) were below normal for chronologic age, but normal for height. Muscle mass (MM) was below normal for age and height. During HGH therapy, growth rate was  $7.1 \pm 1.6$  cm/yr in the first 6 mo and  $7.8 \pm 1.4$  cm/yr during the next 6 mo; the ratio of change in height age to change in chronologic age was  $\geq 1.0$  in all patients and the ratio of change in bone age to change in height age was 1.2 in one patient and  $\leq 1.0$  in the others. TBW, LBM, ECW, and ICW increased according to height increments; however, MM increased at a faster rate than expected from the height gains. Also, a relative or absolute loss of total body fat was recorded during the first 6 mo of therapy. It is suggested (1) that among the body composition parameters studied, muscle mass is the tissue most closely reflecting the lack of HGH and also its therapeutic benefits and (2) evaluation of body composition in hypopituitary dwarfs in response to HGH therapy shows striking changes not reflected by the determination of stature or weight alone.

**F**OR TWENTY YEARS, human growth hormone (HGH) has been used to promote linear growth in children with dwarfism secondary to hypopituitarism.<sup>1</sup> Numerous authors have published their results with different HGH preparations, dosage schedules, length of treatment,<sup>2-7</sup> and other matters.<sup>8</sup> However, there are few reports on the influence of HGH treatment upon some parameters of body composition in hypopituitary children, whether obtained directly,<sup>9,10</sup> or indirectly based on changes in skinfold thickness.<sup>3</sup>

The present study was undertaken in an effort to (1) establish a national program for HGH therapy of hypopituitary dwarfs, (2) evaluate the clinical response, and (3) analyze body composition before and during the first year of HGH therapy.

### MATERIALS AND METHODS

#### Subjects

Clinical data of 8 HGH-deficient subjects are summarized in Table 1. In order to be included in this study, patients were required to meet the following criteria: (1) serial height and weight measurements at least 12 mo prior to the study, (2) height  $\geq 3$  SD below the mean for chronologic age according to Mexican Standards,<sup>11</sup> (3) growth velocity  $< 4.0$  cm/yr, (4) no clinical evidence of sexual development, (5) bone age<sup>12</sup> of less than 12 yr and  $\geq 2$  yr inferior to chronologic age, (6) eunuchoidism for at least 1 yr prior to the study but growth velocity  $< 4.0$  cm/yr, (7) no concurrent illness that might affect growth velocity, (8) plasma immunoreactive growth hormone levels  $\leq 3.0$  ng/ml in response to intravenous administration of L-arginine monochloride and insulin,<sup>13</sup> (9) if cortisone treatment was necessary, the dose used should have been  $\leq 20$  mg of cortisone acetate/Sg-sq m/day, (10) reliable parents with a clear understanding of the problem to assure continuous administration of HGH, and (11) signed informed consent of parents and/or patients before admission to the study.<sup>14</sup>

Growth hormone treatment was given continuously during 1 yr at a dose level of 2 IU 3 times/wk, using the preparation HGH-CB311 (Calbiochem, San Diego, Calif., Lot #972121) with a biologic potency of 0.81 IU/mg (protein concentration: 1 mg = 1.0 IU).

#### Methods

**Endocrine studies.** Plasma HGH was measured by radioimmunoassay<sup>15</sup> during the intravenous sequential administration of L-arginine monochloride (0.5 g/kg) (processed by Abbott Laboratories de México as a 10% aqueous sterile solution) and regular insulin (0.1 U/kg)<sup>11</sup> (Eli Lilly de México, S. A. de C. V.) following the administration of diethylstilbestrol (5 mg b.i.d.) for 2 days.<sup>16</sup> TSH function was assessed by determination of plasma immunoreactive TSH, triiodothyronine (T<sub>3</sub>) and thyroxine (T<sub>4</sub>)<sup>17</sup> and by

*From the Sección de Hormonas Protéicas, Subjefatura de Investigación Científica and Servicio de Endocrinología, Hospital de Pediatría, CMN, Instituto Mexicano del Seguro Social, México City, México.*

*Received for publication September 6, 1978.*

*Supported in part by a grant from Fideicomiso IMSS-FORD.*

*Address reprint requests to Dr. Adalberto Parra, Sección de Hormonas Protéicas, Subjefatura de Investigación Científica, CMN, IMSS, Apartado Postal 73-032, México 73, D. F.*

*© 1979 by Grune & Stratton, Inc.  
0026-0495/79/2808-0010\$01.00/0*

Table 1. General Clinical Data

| Code Number              | Sex | CA* (yr)  | Height (cm) | HA† (yr) | Growth Velocity (cm/yr) | Weight (kg) | Ideal Weight for Height (kg) | BA‡ (yr) | Diagnosis                                        |
|--------------------------|-----|-----------|-------------|----------|-------------------------|-------------|------------------------------|----------|--------------------------------------------------|
| Before treatment         |     |           |             |          |                         |             |                              |          |                                                  |
| H-1                      | F   | 12.0      | 138.8       | 10.0     | 3.0                     | 47.8        | 33.8                         | 10.0     | Isolated HGH deficiency                          |
| H-2                      | F   | 21.6      | 133.4       | 9.5      | 2.0                     | 31.0        | 30.5                         | 10.5     | Idiopathic panhypopituitarism                    |
| H-3                      | F   | 15.9      | 105.4       | 4.6      | 1.5                     | 16.7        | 18.4                         | 7.0      | Idiopathic panhypopituitarism                    |
| H-4                      | M   | 18.0      | 125.0       | 8.0      | 1.0                     | 25.5        | 25.7                         | 10.5     | Idiopathic growth hormone and thyroid deficiency |
| H-5                      | F   | 20.8      | 125.0       | 8.0      | 1.4                     | 36.0        | 25.3                         | 14.0     | Isolated HGH deficiency                          |
| H-6                      | M   | 10.2      | 110.0       | 5.5      | 3.0                     | 19.8        | 19.8                         | 8.0      | Isolated HGH deficiency                          |
| H-7                      | M   | 13.4      | 126.5       | 10.1     | 1.7                     | 38.0        | 32.7                         | 8.5      | Isolated HGH deficiency                          |
| H-8                      | M   | 18.4      | 148.2       | 12.1     | 1.0                     | 50.0        | 35.7                         | 9.0      | Posttraumatic panhypopituitarism                 |
| Range                    |     | 10.2-21.6 | 104.4-148.2 | 4.8-12.1 | 1.0-3.0                 | 16.7-50.0   | 18.4-39.7                    | 8.0-14.0 |                                                  |
| After 6 mo of treatment  |     |           |             |          |                         |             |                              |          |                                                  |
| H-1                      | F   | 12.5      | 142.5       | 11.0     | 7.4                     | 49.0        | 37.5                         | 11.0     |                                                  |
| H-2                      | F   | 22.1      | 138.0       | 10.0     | 5.2                     | 30.5        | 31.0                         | 11.0     |                                                  |
| H-3                      | F   | 16.4      | 111.0       | 5.7      | 9.3                     | 17.5        | 20.1                         | 8.0      |                                                  |
| H-4                      | M   | 15.5      | 129.0       | 8.7      | 8.0                     | 26.8        | 27.9                         | 11.0     |                                                  |
| H-5                      | F   | 21.3      | 129.0       | 8.6      | 6.0                     | 33.2        | 27.4                         | 14.5     |                                                  |
| H-6                      | M   | 10.7      | 114.0       | 6.2      | 8.0                     | 21.5        | 21.2                         | 6.5      |                                                  |
| H-7                      | M   | 13.9      | 140.8       | 11.1     | 8.8                     | 38.2        | 35.4                         | 9.0      |                                                  |
| H-8                      | M   | 15.9      | 148.5       | 12.5     | 4.8                     | 45.0        | 41.5                         | 9.5      |                                                  |
| Range                    |     | 10.7-22.1 | 111.0-148.5 | 6.7-12.5 | 4.6-9.2                 | 17.5-49.0   | 20.1-41.5                    | 6.5-14.6 |                                                  |
| After 12 mo of treatment |     |           |             |          |                         |             |                              |          |                                                  |
| H-2                      | F   | 22.8      | 139.0       | 10.5     | 6.0                     | 30.0        | 33.0                         | 11.5     |                                                  |
| H-4                      | M   | 16.0      | 132.5       | 9.5      | 7.0                     | 31.0        | 30.2                         | 12.0     |                                                  |
| H-6                      | M   | 11.2      | 118.2       | 6.8      | 8.2                     | 23.5        | 22.7                         | 7.5      |                                                  |
| H-7                      | M   | 14.4      | 145.7       | 11.8     | 9.8                     | 41.2        | 38.8                         | 10.0     |                                                  |
| H-8                      | M   | 18.4      | 162.8       | 13.1     | 6.0                     | 45.0        | 45.0                         | 10.0     |                                                  |
| Range                    |     | 11.2-22.8 | 118.2-162.5 | 6.8-13.1 | 6.0-9.8                 | 23.5-45.0   | 22.7-45.0                    | 7.5-12.0 |                                                  |

\*Chronologic age (CA) as decimal age.

†Height age.

‡Bone age.

24-hr <sup>131</sup>I thyroid uptake. Adrenal function was evaluated by measurement of 24-hr urinary excretion of 17-hydroxycorticosteroids during 2 control days and the day after oral administration of metypralone.<sup>16</sup> Plasma gonadotropins were measured by radioimmunoassays.<sup>19</sup> All plasma and urinary hormone determinations were done in duplicate.

**Body composition studies.** Total body water (TBW, antipyrine space) was measured by the antipyrine method.<sup>20</sup> The intra- and interassay coefficients of variation were  $\leq 2.1\%$  ( $n = 22$ ) and  $\leq 2.5\%$  ( $n = 14$ ), respectively, and the recovery was 95%-102% ( $n = 10$ ). The extracellular water (ECW, corrected bromide space) was determined by the bromide method.<sup>21</sup> The intra- and interassay coefficients of variation were  $\leq 3.5\%$  ( $n = 22$ ) and  $\leq 4.6\%$  ( $n = 14$ ), respectively, and the recovery was 94%-108% ( $n = 10$ ). Creatinine<sup>22</sup> was measured in 2 24-hr urinary specimens, obtained on 2 consecutive days, after the patients had been on a creatinine-free diet for 4 days. For reasons explained elsewhere,<sup>23</sup> the creatinine excretion (g/day) multiplied by a factor of 20 is thought to represent an indirect semiquantitative measurement of muscle mass (MM). The intra- and interassay coefficients of variation for urinary creatinine were  $\leq 1.2\%$  ( $n = 22$ ) and  $\leq 2.0\%$  ( $n = 12$ ), respectively, and the recovery was 98%-103% ( $n = 10$ ). Lean body mass (LBM) was estimated by the use of the Preece constant (0.72)<sup>24</sup>:

$$LBM = \frac{TBW}{0.72}$$

Intracellular water (ICW) was determined as the difference between TBW and ECW.<sup>24</sup> Total body fat (TBF) was taken as the weight minus lean body mass.

All body composition measurements were performed in triplicate. Since there are no normal values in Mexican children for the different body composition parameters analyzed, the results obtained in the patients studied were compared to normal values derived from equations based on chronologic age or height published previously.<sup>25</sup> Partial support for this comparison is the fact that measured body composition in seven patients prior to HGH treatment was not significantly different from that calculated based on height alone (paired *t* test analysis), except for muscle mass (Table 2). The latter observation will be discussed elsewhere in this article.

### Protocol

While on treatment, follow-up visits were scheduled every 2-3 mo to record body weight, height, and growth velocity. Before the initiation of HGH treatment (control period), and after 6 and 12 mo of treatment, the following additional parameters were obtained: bone age, TBW, LBM, ECW, ICW, and MM. Body composition studies were carried out during the control period in only 7 patients (cases 1-6 and 8), in 6 patients after the first 6 mo of treatment (cases 1, 2, 4-6, and 8), and in only 4 patients at the end of the second 6 mo of treatment (cases 2, 4, 6, and 8). This was so because the parent's previously obtained signed informed

**Table 2. Differences in Measured and Height-Predicted Body Composition in Seven Hypopituitary Dwarfs Before Human Growth Hormone Therapy (Mean  $\pm$  SD)**

|           | Total Body Water (liter) | Extra-cellular Water (liter) | Intra-cellular Water (liter) | Muscle Mass (kg) |
|-----------|--------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------|
| Measured  | 16.7 $\pm$ 3.3           | 7.8 $\pm$ 1.7                | 8.9 $\pm$ 2.3                | 6.0 $\pm$ 1.0    |
| Predicted | 17.2 $\pm$ 3.7           | 7.0 $\pm$ 1.3                | 10.2 $\pm$ 2.5               | 10.4 $\pm$ 1.8   |
| <i>p</i>  | NS                       | NS                           | NS                           | < 0.01           |

NS, not significant.

consent was withdrawn (cases 3 and 7) or because the patients abandoned the study at the end of the first 6 mo of treatment (cases 1 and 5). For ethical reasons,<sup>26</sup> cases 3 and 7 received HGH treatment, and they will be analyzed from their clinical response only.

Statistical analysis was carried out with standard methods.<sup>27</sup> Values expressed in the text, tables, and figures represent mean  $\pm$  SD unless otherwise stated.

**RESULTS**

*Effect on Clinical Characteristics (Table 1)*

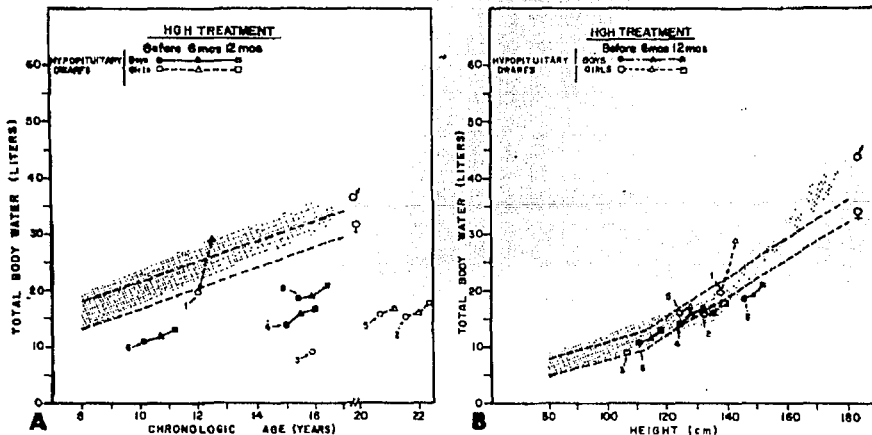
Before treatment, growth rate was  $1.8 \pm 0.7$  cm/yr, height age was 2.0–12.8 yr less and bone age 2.0–11.1 yr less than chronologic age. Three patients (cases 1, 5, and 8) were 41%, 40%, and 25% overweight for height. During HGH therapy, growth rate was  $7.1 \pm 1.6$  cm/yr in the first 6 mo and  $7.8 \pm 1.4$  cm/yr during the next 6 mo; the ratio of change in height age to change in

chronologic age ( $\Delta$ HA/ $\Delta$ CA) was  $\geq 1.0$  in all patients and the ratio of change in bone age to change in height age ( $\Delta$ BA/ $\Delta$ HA) was 1.2 in one patient and  $\leq 1.0$  in the others. A significant weight loss did occur during the first 6 mo of treatment in initially overweight patients, and all patients had a normal weight for height ( $\pm 10\%$ ) by the end of treatment. Case 8 grew only 2.3 cm during the first 6 mo while on cortisone acetate 20 mg/day, but grew 4.0 cm over the next 6 mo when cortisone was reduced to 10 mg/day.

*Effect on Body Composition*

Before treatment, TBW was lower than normal for chronologic age (Fig. 1A) in all patients, but it was normal for their height except in case 8 (Fig. 1B). During the year of therapy, all but one patient (case 1) had a TBW increase similar to that expected from their height increments. Identical results were recorded in regard to LBM.

Prior to treatment, ECW according to chronologic age was normal in cases 1 and 8 and far below normal in the remaining 5 patients (Fig. 2A). On the other hand, ECW was normal for height in 5 patients, but higher than normal in cases 4 and 8 (Fig. 2B). In response to HGH therapy, there was an increase in ECW similar



**Fig. 1.** Total body water in hypopituitary boys (shaded symbols) and girls (open symbols) according to chronologic age (A) and height (B). Values before HGH therapy are indicated by circles, after 6 mo of therapy by triangles, and after 12 mo of therapy by squares. Normal values (mean  $\pm$  SD) in boys are represented by the dotted area and in girls by the area within the dashed lines.

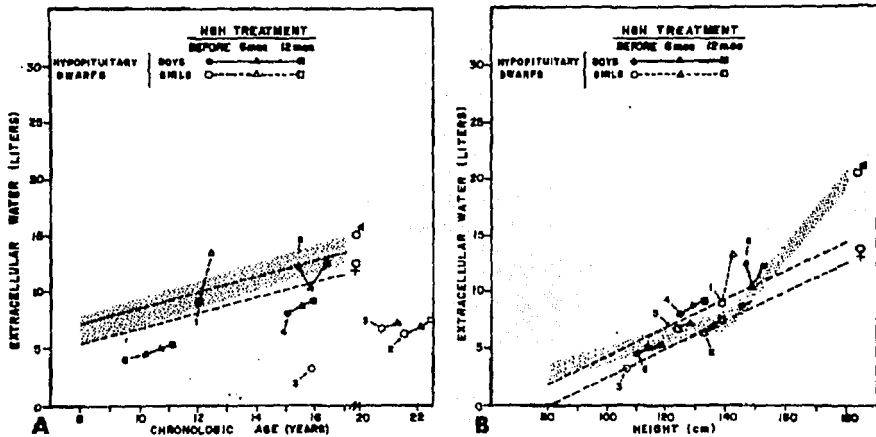


Fig. 2. Extracellular water in hypopituitary boys (shaded symbols) and girls (open symbols) according to chronologic age (A) and height (B). Values before HGH therapy are indicated by circles, after 6 mo of therapy by triangles, and after 12 mo of therapy by squares. Normal values (mean  $\pm$  SD) in boys are represented by the dotted area and in girls by the area within the dashed lines.

to that expected from height increments in cases 2, 4, 5, and 6. Again, case 1 had the greatest increase, and in case 8 ECW diminished during the first 6 mo of therapy, but increased normally over the next 6 mo (Fig. 2).

Before treatment, ICW was lower than normal in all patients for their chronologic age (Fig. 3A); however, except for cases 4 and 8, all had a normal amount of ICW according to their height (Fig. 3B). During the year of therapy,

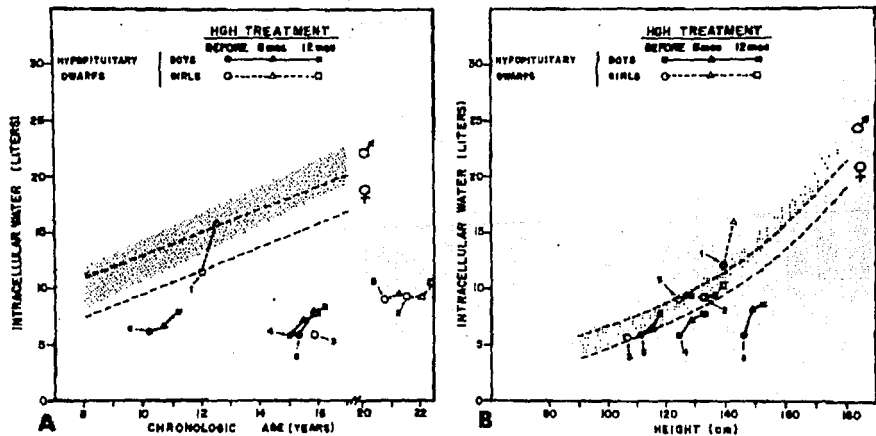


Fig. 3. Intracellular water in hypopituitary boys (shaded symbols) and girls (open symbols) according to chronologic age (A) and height (B). Values before HGH therapy are indicated by circles, after 6 mo of therapy by triangles, and after 12 mo of therapy by squares. Normal values (mean  $\pm$  SD) in boys are represented by the dotted area and in girls by the area within the dashed lines.

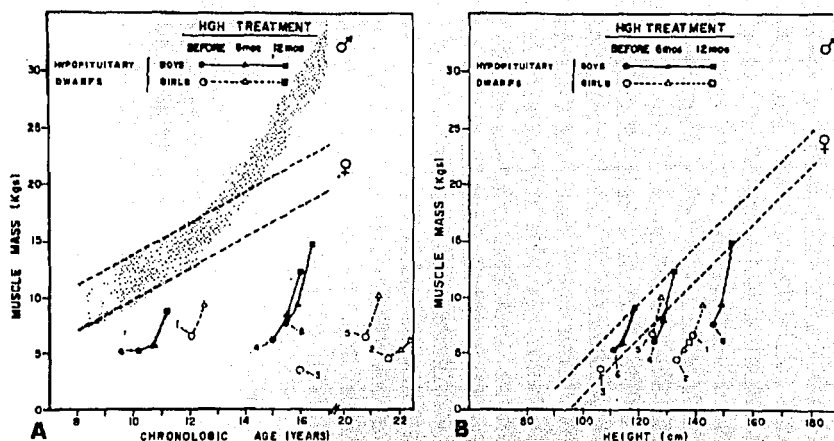


Fig. 4. Muscle mass in hypophybitary boys (shaded symbols) and girls (open symbols) according to chronologic age (A) and height (B). Values before HGH therapy are indicated by circles, after 6 mo of therapy by triangles, and after 12 mo of therapy by squares. Normal values (mean  $\pm$  SD) in boys are represented by the dotted area and in girls by the area within the dashed lines.

ICW increased proportionally to the height increments in all patients, except in case 1, which had a greater increase.

Muscle mass was markedly reduced for chronologic age in all patients before treatment (Fig. 4A). Similar results were observed according to their height, except in cases 3 and 6, which had a normal MM (Fig. 4B). In response to HGH treatment, MM had a greater increase than expected from the height increments in all patients.

As a group, at no time during the study were there significant differences (paired *t* test analysis) between measured and height-predicted values of TBW, LBM, ECW, or ICW (whether absolute values or increments were analyzed).

Finally, in cases 1, 5, and 8 (initially overweight) total body fat decreased by 50%, 29%, and 24%, respectively, during the first 6 mo of therapy, and a further 11% decrease in TBF was seen in case 8 during the next 6 mo. On the contrary, in cases 2, 4, and 6, TBF remained essentially unchanged during the first 6 mo and increased by 10%, 30%, and 33% during the second 6 mo.

#### DISCUSSION

In the present study, the HGH dose administered calculated on a weight basis was 0.12, 0.08,

and 0.10 IU/kg body weight 3 times/week for cases 3, 4, and 6 and ranged between 0.04 and 0.06 IU/kg body weight for the remaining 5 patients. Therefore, the clinical response described here is comparable to previous reports on HGH therapy from large series of patients<sup>16,7</sup> and adds further evidence for the greater benefit of continuous versus intermittent HGH treatment.<sup>27</sup> The observed clinical response in case 8, with posttraumatic hypophybitarism,<sup>28</sup> emphasizes the importance of establishing the minimum replacement dose of cortisone in order to allow an optimal HGH-induced acceleration in linear growth.

Body composition in our patients, although abnormal for their chronologic age, was within normal range for their size,<sup>10</sup> except MM, which was even lower than expected from their height. The observed body composition changes during HGH therapy were all comparable to the increases expected from their height increments, except again from MM, which were greater than predicted from height changes. These results for MM, although at variance with a previous report,<sup>9</sup> are consistent with both the HGH-induced changes in muscle cell number and size in hypophybitary dwarfs treated with HGH<sup>29</sup> and previous observations on the short-term effects of HGH on potassium retention,<sup>8</sup> mostly at the



muscle level.<sup>30</sup> Thus, it seems that among the body composition parameters studied, MM might be the tissue most closely reflecting not only lack of HGH but also its therapeutic benefit. This hypothesis is indirectly supported by the distinct difference between these results and the body composition changes induced by long-term HGH treatment in dwarf children due to intruterine growth retardation but with normal plasma growth hormone levels.<sup>31</sup>

Lean body mass grew in proportion to height increments; however, MM had a greater increase than expected from the height increments. This lack of correlation between the growth of LBM and MM might be due to (1) a proportional growth of other components of LBM, such as visceral mass and connective tissue,<sup>32</sup> (2) a greater individual variation in TBW determinations than in those of urinary creatinine excretion, and (3) the assumption that the constant value for the percentage of water as constituent of LBM (72%) may be valid for healthy individuals, but might not be so in diseased states.<sup>32</sup>

A significant weight reduction was documented during the first 6 mo of treatment in initially overweight patients, simultaneous with an absolute loss of total body fat. In the other patients total body fat remained relatively constant in the face of a noticeable weight increase observed during HGH therapy, which

suggests a relative loss of body fat. These data support the observation of a decrease in skinfold thickness during the early stage of HGH therapy<sup>33</sup> and indicate that fat loss may indeed represent a true biologic action of HGH.

Finally, in view of the exponential relation between LBM and height, it has been proposed that in order to double LBM, boys should gain 32.7 cm and girls 37.6 cm in height.<sup>34</sup> This in fact proved to be so, since the height gains in cases 2, 4, 6, and 8 (treated continuously during 1 yr) expressed as percentages of the already mentioned figures were 14.9%, 23.0%, 25.0%, and 19.3%, respectively, and the LBM gains expressed as percentages of the initial LBM were 14.0%, 20.3%, 25.0%, and 14.3%, respectively.

The present study indicates the major changes in body composition that occur in response to HGH therapy in hypopituitary dwarfs, and seems to highlight aspects of human growth that are not reflected by the assessment of height or body weight alone.

#### ACKNOWLEDGMENT

We are indebted to NIAMDD for the kind gift of HGH standard (NIG-GH-SH1216-C) and to Abbott Laboratories de México for manufacturing the Larginine monochloride solution. We are grateful to Drs. Irene Macías, Luis Marquet, and Gregorio Pérez-Palacios, who allowed us to study three patients. The secretarial work was performed by Ma. Cristina Heredia Urbina.

#### REFERENCES

1. Raben MS: Treatment of a pituitary dwarf with human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 18:901-903, 1958
2. Prader A, Zachmann M, Poley JR, et al: Long-term treatment with human growth hormone (Raben) in small doses: Evaluation of 18 hypopituitary patients. *Helv Paediatr Acta* 22:423-432, 1967
3. Tanner JM, Whitehouse RH, Hughes PCR, et al: Effect of human growth hormone treatment for 1 to 7 years on growth of 100 children, with growth hormone deficiency, low birthweight, inherited smallness, Turner's syndrome, and other complaints. *Arch Dis Child* 46:745-782, 1971
4. Kirkland RT, Kirkland JL, Librik L, et al: Results of intermittent human growth hormone (hGH) therapy in hypopituitary dwarfism. *J Clin Endocrinol Metab* 37:204-211, 1973
5. Shizume K, Demura R, Ichikawa K, et al: Treatment of idiopathic pituitary dwarfism with human growth hormone (Kabi). *Endocrinol Jpn* 21:485-492, 1974
6. Guyda H, Friesen H, Bailey JD, et al: Medical Research Council of Canada Therapeutic trial of human growth hormone: First 5 years of therapy. *Can Med Assoc J* 112:1301-1309, 1975
7. Frasier SD, Aceto T Jr, Hayles AB, et al: Collaborative study of the effects of human growth hormone in growth hormone deficiency. IV. Treatment with low doses of human growth hormone based on body weight. *J Clin Endocrinol Metab* 44:22-31, 1977
8. Henneman PH, Forbes AP, Moldawer M, et al: Effect of human growth hormone in man. *J Clin Invest* 39:1223-1238, 1960
9. Collipp JP, Curti V, Thomas J, et al: Body composition changes in children receiving human growth hormone. *Metabolism* 22:589-595, 1973
10. Cheek DB, Graystone JE, Reba RC: Body composition in endocrine disease before and after therapy, in Cheek DB (ed): *Human Growth*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1968, p 198-206
11. Ramos-Galván R: Somatometría pediátrica. *Arch Invest Med (Mex)* 6 (Suppl 1):83-396, 1975
12. Greulich WW, Pyle SI: Radiographic Atlas of Skele-

tal Development of the Hand and Wrist (ed 2). Stanford, Calif. Stanford University Press, 1959

13. Parra A, Pérez-Pasten E, Muñoz O, et al: Niveles plasmáticos de hormona de crecimiento, insulina y glucosa, durante la administración secuencial endovenosa de L-arginina e insulina. *Arch Invest Med (Mex)* 3:35-46, 1972

14. World Health Organization: Health Aspects of Human Rights With Special Reference to Developments in Biology and Medicine, 1976. Geneva

15. Schalech DS, Parker ML: A sensitive double antibody immunosassay for human growth hormone in plasma. *Nature* 203:1141-1142, 1964

16. Youton R, Kaplan SL, Grumbach MM: Growth and growth hormone. IV. Limitations of the growth hormone response to insulin and arginine and of the immunoreactive insulin response to arginine in the assessment of growth hormone deficiency in children. *Pediatrics* 43:989-1004, 1969

17. García-Bulnes G, Cervantes C, Cerbón MA, et al: Serum thyrotrophin, triiodothyronine and thyroxine levels by radioimmunoassay during childhood and adolescence. *Acta Endocrinol (Kbh)* 86:742-753, 1977

18. Goodman HG, Grumbach MM, Kaplan SL: Growth and growth hormone II. A comparison of isolated growth hormone deficiency and multiple pituitary hormone deficiencies in 35 patients with idiopathic hypopituitary dwarfism. *N Engl J Med* 278:57-68, 1969

19. Parra A, Santos D, Cervantes C, et al: Plasma gonadotropins and gonadal steroids in children treated with cyclophosphamide. *J Pediatr* 92:117-124, 1978

20. Mendelson D, Levin NW: A colorimetric micro-method for the estimation of antipyrine in plasma or serum. *S Afr J Med Sci* 25:13-18, 1960

21. Graystone JE, Orgies AM: Microdiffusion analysis, in Cheek DB (ed): Human Growth. Philadelphia, Lea & Febiger, 1968, p 656-658

22. Hare RS: Endogenous creatinine in serum and urine. *Proc Soc Exp Biol Med* 74:148-151, 1950

23. Graystone JE: Creatinine excretion during growth, in Cheek DB (ed): Human Growth. Philadelphia, Lea & Febiger, 1968, p 182-197

24. Cheek DB, Schultz RB, Parra A, et al: Overgrowth of lean and adipose tissues in adolescent obesity. *Pediatr Res* 4:268-279, 1970

25. Mellits ED, Cheek DB: The assessment of body water and fatness from infancy to adulthood, in Brozek J (ed): Physical growth and body composition. University of Chicago Press, Chicago, 1970. *Monogr Soc Res Child Develop* 35:12-26, 1970

26. United States of America Code of Federal Regulations, title 45, part 46. Washington, D.C. Federal Register 39:18913-18920, 1974

27. Batson HC: An Introduction to Statistics in the Medical Sciences. Minneapolis, Burgess, 1956

28. Girard J, Marelli R: Posttraumatic hypothalamic-pituitary insufficiency. *J Pediatr* 90:241-242, 1977

29. Cheek DB, Brasel JA, Elliot D, et al: Muscle cell size and number in normal children and dwarfs (pituitary, cretins and primordials) before and after treatment. *Bull Johns Hopkins Hosp* 119:46-62, 1966

30. Batts AA, Bennett LL, García J, et al: The effect of growth hormone on muscle potassium and on extracellular fluid. *Endocrinology* 55:456-465, 1954

31. Lee PA, Blizard RM, Cheek DB, et al: Growth and body composition in intrauterine growth retardation (IUGR) before and during human growth hormone administration. *Metabolism* 23:913-919, 1974

32. Behnke AR, Osserman EF, Welham WC: Lean body mass: Its clinical significance and estimation from excess fat and total body water. *Arch Intern Med* 91:585-601, 1953

33. Tanner JM, Whitehouse RH: The effect of human growth hormone on subcutaneous fat thickness in hyposomatrophic and panhypopituitary dwarfs. *J Endocrinol* 39:263-275, 1967

34. Forbes GB: Relation of lean body mass to height in children and adolescents. *Pediatr Res* 6:32-37, 1972

## CONTENIDO DE MACRONUTRIENTES Y ENERGÍA DE LA LECHE DE MADRES LACTANTES DE UNA COMUNIDAD RURAL MEXICANA Relación con el crecimiento de sus hijos lactantes

### Resumen

En la comunidad rural de San Mateo Capulhuac los niños alimentados exclusivamente al seno crecen más lentamente que los de mejor situación socioeconómica de la Ciudad de México, tales diferencias han sido atribuidas a diferencias en la calidad o el volumen de la leche materna, ya que estas mujeres tienen una ingesta calórica baja, y su dieta es rica en carbohidratos y deficiente en proteínas y lípidos. En esta investigación se compara la composición y el volumen de la leche materna producida en 24 horas por las madres rurales con lo informado para poblaciones mejor alimentadas. Se estudiaron 31 parejas madre-hijo de 4 (n = 17) y 6 (n= 14) meses de edad los días 1 y 15 del estudio. El volumen de leche se determinó por dos métodos: El de dilución de deuterio, administrando a la madre una dosis de agua deuterada y al niño de agua marcada con  $^{18}\text{O}$  y por peso del recién nacido antes y después de la tetada. En las muestras de leche se analizó la concentración de proteínas totales (0.72 g / dL), lípidos totales (2.68 g / dL), lactosa (7.53 g / dL), y el contenido calórico (61.8 kcal / dL) de las muestras representativas del volumen de 24 horas (8.55 dL). No hubo diferencias significativas entre 1 y 15 días ni entre 4 y 6 meses postparto. Estos datos, comparados con los informados en la literatura para madres de países desarrollados, muestran una elevación de la concentración de lactosa y volumen de leche producido en 24 horas, disminución de los lípidos y de las proteínas y un contenido calórico total semejante. La concentración de lactosa no fue suficiente para compensar el déficit calórico debido a la baja de lípidos y proteínas. La desaceleración del crecimiento de los niños rurales probablemente este influida en parte por la composición de la leche materna.

## Introducción

La leche es un fluido biológico específico de los mamíferos; ya sea humana, de bovino o de otros mamíferos es excepcionalmente compleja, difiere en composición cuali y cuantitativa, en particular, al comparar la leche de bovino y humana las diferencias principales se refieren a proteínas, lactosa y contenido de cenizas.

Por un cierto período de tiempo es el primero y único alimento del recién nacido, le proporciona nutrición, soporta el crecimiento de la flora simbiótica en el intestino y le trasmite inmunidad pasiva, además, le permite cubrir los requerimientos específicos del desarrollo neonatal.

La leche humana o de otras especies es excepcionalmente compleja. Incluye más de 200 componentes reconocidos, los cuales pueden variar por factores como el estadio de la lactancia, alimentación y estado nutricional materno, porción de la tetada, hora del día, influencia genética y ambiental etc.

A través de la lactancia, la composición de la leche humana sufre varios cambios notables que se pueden dividir del primero al quinto día (calostro), de este al quinceavo (leche de transición) y en adelante (leche madura). La producción de leche de mujeres bien alimentadas es de 750 ml en 24 hrs. a los 6 meses postparto.<sup>1</sup> El calostro de la primer tetada es rico en nutrientes, y su concentración disminuye los primeros 5 días de producción a excepción de lípidos y lactosa, que aumentan del calostro a la leche madura.<sup>2</sup> La concentración de proteínas en la leche madura es de 0.9 g/dL menor que la del calostro 4.1 g/dL.<sup>3</sup>

El contenido calórico depende principalmente de su proporción de lípidos y es en promedio de 70 kcal/dL y de 525 kcal/volumen de 24 horas, para la leche madura de mujeres bien alimentadas.<sup>4</sup>

La nutrición y estado nutricional materno juegan un papel significativo en la composición láctea, esto es evidente sobre todo, por el espectro de los ácidos grasos lacteos que se ven influidos por la cantidad de calorías absorbidas, la cantidad relativa de las grasas y carbohidratos de la dieta y el contenido de ácidos grasos.<sup>5</sup> Una dieta deficiente en proteínas de buena calidad pueden influir negativamente en la concentración de proteínas y aminoácidos de la leche materna.<sup>6</sup> Aun cuando el volumen y contenido energético de la leche producida por mujeres mal alimentadas es semejante al de las bien nutridas, se produce a expensas de los tejidos maternos,<sup>7</sup> y en general solo es adecuado como alimento único para los infantes durante 2 a 4 meses,<sup>8</sup> esas madres pueden producir leches que contienen menos grasa, proteínas y vitaminas que las de madres bien alimentadas y el volumen producido es frecuentemente reducido, como lo informaron trabajos clásicos de Martínez y Chávez sobre lactancia de mujeres Mexicanas desnutridas, sin embargo también se informó de grupos, tal vez con distinto grado de desnutrición, que tienen una producción láctea semejante en volumen o ligeramente mayor que controles bien nutridos.<sup>9</sup> En muchas áreas rurales los niños pueden continuar alimentándose al seno y ofreciéndoles otros alimentos por períodos hasta de 2 a 4 años.<sup>9</sup> Estudios del estado nutricional de la población rural mexicana, y evaluado por antropometría, indican que en los niños menores de 2 años, es más frecuente la desnutrición grave y muchos mueren antes de esta edad.<sup>10</sup>

Aun cuando estos niños de las áreas rurales no sufren de desnutrición cuando son amamantados exclusivamente, su ganancia de peso y talla es menor a la de los niños de mejor situación socioeconómica. En relación a los aspectos nutricionales de la lactancia, investigaciones previas en la comunidad rural de San Mateo Capulhuac, en el Edo. de Méx. proporcionaron datos sobre esta población de aproximadamente 4000 habitantes, de estos, 216 eran niños menores de 4 años y solo el 8.6 % nunca recibieron leche materna, el 57% estaban mamando y sus edades fluctuaban entre 0 y 22 meses, el 33.8 % habían sido destetados y sus edades variaron entre 12 y 48 meses. Aun cuando en esta comunidad el período de lactancia es más prolongado que en las zonas urbanas, se pudo demostrar por

medidas antropométricas una talla baja para la edad en estos niños alimentados al seno.<sup>11</sup> Se ignora si existe alguna relación entre el edo nutricional materno, la composición y volumen de su leche y el crecimiento deficiente de sus hijos.

Con base en lo anterior, este estudio se realizó para determinar si existe variación en el volumen y contenido de macronutrientes y energía de la leche de las madres del área rural comparada a lo informada para mujeres mejor alimentadas y su relación con el crecimiento de sus hijos amamantados exclusivamente.

## **Material y métodos**

Se estudiaron 31 madres que alimentaban a sus hijos exclusivamente al seno, de ellas 17 tenían hijos de 4 meses y 14 de 6 meses de edad. Residentes en el área rural de San Mateo Capulhuac en el Edo. de Méx. A las madres se les determinó la ingesta calórica promedio mediante un recordatorio de 24 horas, y se obtuvieron muestras de leche representativas del volumen de 24 horas (10, 14 y 18 horas) en el día 1 y 15 del estudio para composición de macronutrientes.

Desde el nacimiento hasta los 6 meses, a los niños se les tomaron medidas antropométricas cada 15 días (peso, talla, perímetro del brazo). Los resultados se han informado previamente.<sup>11</sup>

### *Producción de leche en 24 horas*

Para determinar el volumen de leche producido en 24 horas se utilizaron dos métodos: el de pesaje del niño antes y después de la tetada, utilizando una báscula con una precisión de 0.05g, y el método de dilución del Deuterio,<sup>12</sup> que consistió en: Obtener muestras basales de

leche materna y de orina de los niños en bolsa pediátricas especiales; en seguida se administró a la madre una dosis oral de 100 mg de  $^2\text{H}_2\text{O}$ /kg de peso corporal , y a su hijo 60 mg de  $^{18}\text{O}$ / kg de peso corporal.

Se obtuvieron muestras de leche materna al quinto día, vaciando el pecho derecho a las 10, 14 y 18 horas. Del niño se colectaron muestras de orina postdosis del primero al decimo día diariamente, se realizaron medidas antropométricas a los niños y a las madres al inicio y final del estudio, además a los niños se les determinaron las pérdidas insensibles de agua y se registro su actividad física.

Las muestras de leche fueron deslipidizadas y preparadas para la medición de la relacion de isótopos ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) por espectrometría de masas de la relación gas-isótopo. Por este método se determinó el volumen de agua que fluye de la madre al niño, y se calculó a que volumen de leche corresponde.

Los cálculos se realizaron con un programa de computadora por compartimientos,<sup>13</sup> y un modelo de compartimientos dobles<sup>14</sup> para generar la mejor estimación del flujo de agua de la madre al niño.

#### *Composición de la leche*

De las muestras de leche de las 10, 14 y 18 horas se hizo una muestra ponderada tanto en el día 1 como en el 15 del estudio.

A cada una de las muestra de leche se le eliminaron los lípidos por centrifugación a 4°C por 15 minutos. En las muestras deslipidizadas se determinó:

- La concentración de lactosa, por un método enzimático, hidrolizando las muestras de leche descremada con  $\beta$ -galactosidasa (*Kluyveromyces lactis*) a 40 °C por 4 horas y posterior determinación de la concentración de la glucosa liberada, por el método de la glucosa-oxidasa, además se determinó la cantidad de glucosa antes de la hidrólisis para restarla al valor de la concentración de glucosa obtenida por hidrólisis.
- Los lípidos totales se cuantificaron por extracción por el Método de Folch modificado por Bitman<sup>15</sup> para la leche y posterior determinación gravimétrica.
- La concentración de proteínas totales se analizó por el método de MicroKjeldahl.<sup>16</sup>
- El contenido calórico de las muestras de leche se realizó indirectamente aplicando factores de conversión a la composición proximal, directamente por combustión en bomba calorimétrica evaporando una alícuota de leche completa (1 o 2 ml) sobre un disco de papel filtro, previamente pesado y libre de cenizas, el cual es llevado a combustión en la bomba. A la lectura problema se le restó la lectura del blanco (g de papel).
- A cada una de las leches se le determinó su crematocrito<sup>17</sup> para corregir los cálculos por volumen, ya que se utilizó leche deslipidizada para las determinaciones.

Todas las técnicas se validaron en el laboratorio para la precisión y exactitud de los métodos.

Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  DE. Las diferencias entre promedios se analizaron mediante la prueba de "t" de Student.

## Resultados

El peso promedio materno fue de  $50.3 \pm 6.0$  Kg, y su talla promedio  $1.47 \pm 0.06$  m las mujeres no embarazadas, embarazadas o lactantes de la comunidad tienen un consumo energético promedio de 1753 kcal/día, distribuido de la siguiente manera:



|                   | g     | kcal | %    |
|-------------------|-------|------|------|
| Proteínas totales | 45.5  | 182  | 10.3 |
| Lípidos totales   | 31.9  | 287  | 16.3 |
| Carbohidratos     | 321.8 | 1287 | 73.3 |

Los resultados del volumen de leche producido en 24 horas por el método gravimétrico y el de dilución de deuterio no fueron significativamente diferentes.

Los resultados se agruparon por edad postparto. A los 4 y 6 meses, el volumen de leche producido en promedio en 24 horas fué de  $860 \pm 142$  ml y  $850 \pm 146$  ml respectivamente.

#### *Composición de la leche*

La composición proximal y energía de las muestras en el estudio el día 1 y 15 no fueron diferentes significativamente por lo que los resultados se agruparon por edad postparto. No hubo diferencia significativa entre la composición y contenido energético a los 4 y 6 meses postparto.

| Meses Postparto | n  | Proteínas      | Lactosa        | Lípidos        |
|-----------------|----|----------------|----------------|----------------|
|                 |    |                | g/dL           |                |
| 4               | 17 | $0.72 \pm 0.1$ | $7.57 \pm 0.3$ | $2.74 \pm 0.3$ |
| 6               | 14 | $0.72 \pm 0.1$ | $7.50 \pm 0.4$ | $2.61 \pm 0.8$ |

\*resultados expresados como promedio  $\pm$  DE

Se calculó el contenido energético a partir del análisis proximal, multiplicando por los factores de conversión y a que porcentaje correspondieron del valor experimental. Los resultados se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2**  
**Contenido energético de la leche de madres de San Mateo Capulhuac.**

| Meses postparto | n  | Proteínas <sup>a</sup> | Lípidos <sup>b</sup> | Lactosa <sup>c</sup> | Calorimetría        |                     |
|-----------------|----|------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
|                 |    |                        |                      |                      | Calculada           | Experimental        |
| kcal / dL       |    |                        |                      |                      |                     |                     |
| 4               | 17 | 4.1 ± 0.9              | 25.8 ± 8             | 31.0 ± 1             | 60.9 ± 9<br>(95.5%) | 63.8 ± 9<br>(100%)  |
| 6               | 14 | 4.1 ± 0.9              | 24.1 ± 7             | 30.8 ± 2             | 58.9 ± 8<br>(98.5%) | 59.8 ± 10<br>(100%) |

*a 5.65 kcal / g    b 4.1 kcal / g    c 9.4 kcal / g*

El contenido energético promedio de la leche producida en 24 horas fue de:

$$(63.8 \text{ kcal/dL}) \times (8.60 \pm 1.42 \text{ dL/día}) = 548.7 \pm 8.9 \text{ kcal/día a los 4 meses postparto.}$$

$$(59.8 \text{ kcal/dL}) \times (8.50 \pm 1.46 \text{ dL/día}) = 508.3 \pm 8.7 \text{ kcal/día a los 6 meses postparto.}$$

La concentración promedio de los macronutrientes de la leche producida en 24 horas fue de:

*Lípidos totales*

$$(2.74 \text{ g/dL}) \times (8.6 \pm 1.42 \text{ dL/día}) = 23.56 \pm 2.6 \text{ g/día a los 4 meses postparto.}$$

$$(2.61 \text{ g/dL}) \times (8.5 \pm 1.46 \text{ dL/día}) = 22.19 \pm 6.8 \text{ g/día a los 6 meses postparto.}$$

*Proteínas totales*

$$(0.72 \text{ g/dL}) \times (8.6 \pm 1.42 \text{ dL/día}) = 6.19 \pm 1.0 \text{ g/día a los 4 meses postparto.}$$

$$(0.72 \text{ g/dL}) \times (8.5 \pm 1.46 \text{ dL/día}) = 6.12 \pm 1.0 \text{ g/día a los 6 meses postparto.}$$

*Lactosa*

$$(7.57 \text{ g / dL}) \times (8.6 \pm 1.42 \text{ dL/día}) = 65.1 \pm 10.8 \text{ g / día a los 4 meses postparto.}$$

$$(7.50 \text{ g / dL}) \times (8.5 \pm 1.46 \text{ dL/día}) = 63.8 \pm 11.0 \text{ g / día a los 6 meses postparto.}$$

## Discusión

En la comunidad rural de San Mateo Capulhuac en el Edo. de Méx., la composición de la dieta es rica en carbohidratos y pobre en proteínas y lípidos, la ingesta calórica de las mujeres, independientemente de que estén lactando o no, es de 1753 kcal/día, lo que se considera una ingestión baja en comparación a las recomendaciones de organismos internacionales, que es en promedio de 2300 kcal/día para una mujer no embarazada, no lactante más 500 kcal/día extra, para subsidiar la lactancia.

Su peso y talla también son bajos comparado a los de mujeres urbanas de la Ciudad de México. Se puede considerar que son mujeres marginalmente desnutridas, sin embargo, fueron capaces de sostener el embarazo y sus hijos nacieron a término, con peso adecuado para su edad gestacional, aun cuando, su velocidad de crecimiento se desaceleró y fue menor que la de los controles urbanos de población Mexicana<sup>18</sup> a partir de los 15 días de edad en relación al peso, y se hace más evidente entre los 3 a 4 meses. Estos resultados son semejantes a los informados para niños rurales de otras poblaciones rurales. Lo primero que se tiene que analizar es la composición y volumen de la leche de estas madres para valorar si es un factor importante en el retraso del crecimiento de sus hijos. Aun cuando se informó que frecuentemente las mujeres marginalmente desnutridas tienen una producción de leche diaria menor que la de mujeres mejor alimentadas, en esta población, el volumen de leche promedio producido por día (855 mL) es mayor que el informado para mujeres mejor alimentadas y de igual edad de lactancia, (750 mL) nuestros resultados son semejantes a los de otros grupos rurales.<sup>9</sup> En cuanto al contenido energético de la leche de las mujeres de países desarrollados, este aumenta con el transcurso de la lactancia y en la leche madura la variación es poca, lo que explicaría en este estudio, que no exista diferencia significativa entre 4 y 6 meses en el contenido energético. El valor promedio por unidad de volumen es bajo, sin embargo, calculando por día se compensa y es semejante al informado para mujeres con mejor estado nutricional, probablemente, como se ha sugerido la producción de leche se subsidie en parte

por los propios tejidos maternos, en vista de que el aporte energético de la dieta es insuficiente para cubrir las recomendaciones de energía.

Las recomendaciones de energía diaria de un lactantes de 0 a 6 meses de edad son en promedio de 115 kcal/kg de peso corporal y valores extremos de 95 y 145 kcal. Un niño de 6 kg consume por lo tanto 690 kcal por día y los valores extremos de 570 y 870 kcal, sin embargo estas cantidades están sobre estimadas ya que una madre bien alimentada proporciona en promedio 525 kcal/día. Si las madres de San Mateo alimentan a sus hijos exclusivamente al seno hasta los 4 ó 6 meses de edad les proporcionan 549 y 508 kcal/ día respectivamente.

Los lípidos son el componente de la leche que más varía a través de la lactancia y el que contribuye en mayor proporción al contenido energético de la misma, también es el que se ve más influido por la dieta y estado nutricional materno. En este estudio el contenido de lípidos es bajo comparado a lo informado para poblaciones mejor alimentadas, estos resultados apoyan las observaciones de algunos investigadores<sup>20,21</sup> en el sentido de que el contenido de lípidos lacteos es proporcional a la cantidad de grasa corporal materna. Si asumimos que las madres de este estudio tienen pocas reservas de lípidos corporales, debido a que están marginalmente desnutridas, esto, podría ser la causa de la baja concentración de estos en la leche. En cuanto a el aporte de lípidos que se le proporciona al niño, este es bajo, pero se compensa en parte por el volumen aumentado, está recibiendo una leche más diluida.

El contenido de proteínas de la leche madura, se mantiene dentro de límites estrechos, por los informes en la literatura internacional, se concluye que la variación en la concentración de proteínas lacteos de poblaciones ricas y pobres no es muy grande. Una madre bien alimentada proporciona al recién nacido, a través de la leche madura, en promedio 6.75 g de proteínas por día, en cambio, las madres de este estudio ofrecen una concentración menor (6.12 g/día) lo que sugiere que efectivamente, la dieta materna baja en cantidad y calidad de

proteínas influye negativamente en la concentración de estas en la leche. Resultados semejantes han sido informados por otros investigadores al comparar la leche de madres bien y mal alimentadas.<sup>6</sup>

Es claro que las madres de la zona rural estudiada están marginalmente desnutridas, al igual que en otras zonas semejantes de la República Mexicana, aun cuando sus hijos nacen con un peso adecuado y crecen satisfactoriamente los primeros 3 o 4 meses amamantados exclusivamente. Apartir de esa edad se desacelera su crecimiento, la leche que reciben tiene una composición diferente a la de mujeres de mejor estado nutricional.

Las proteínas y los lípidos son menores y la lactosa y volumen por día mayor, por lo que el contenido energético total no se ve tan afectado, es semejante al informado para mujeres de mejor nivel socioeconómico.

Estos resultados sugieren que la dieta deficiente de las madres rurales les origina desnutrición que a su vez está influyendo en la composición de su leche, la cual, en parte puede estar contribuyendo al retraso del crecimiento de sus hijos alimentados exclusivamente al seno. Los cambios en la composición láctea no son tan drásticos como para ser el único factor que esté actuando. Es importante investigar el impacto que tienen las infecciones, sobre todo de vías respiratorias, que son frecuentes en estos niños.

## **Bibliografía**

1. Whitehead RG, Hutton M, Muller E, Rowland MGM, Prentice AM, Paul A. Factors influencing lactating performance in rural Gambian mothers. *Lancet* 1978; 2:178.
2. Lauber F, Reinhardt M. Studies in the quality of breast milk during 23 months of lactation in a rural community of the Ivory Coast. *Am J Clin Nutr* 1979; 32:1159.

3. Lonnerdal B, Forsum E, Hambraeus L. Longitudinal study of the protein nitrogen, and lactose content of human milk from Swedish well-nourished mothers. *Am J Clin Nutr* 1976; 29:1127.
4. Nayman R, Thomson ME, Scriver CR, Clow CL. Observations on the composition of milk-substitute products for treatment of inborn errors of amino acid metabolism comparison with human milk a proposal to rationally adjust nutrient content of treatment products. *Am J Clin Nutr* 1979;32:1279.
5. Insull W Jr, Hirch J, James T, Ahrens EH Jr. The fatty acids of human milk. II alterations produced by manipulation of caloric balance and exchange of dietary fats. *J Clin Invest* 1959;38:443-450
6. Wurtma JJ, Fernstrom JD. Free amino acid, protein, and fat contents of breast milk from Guatemalan mothers consuming a corn-based diet. *Early Human Devel* 1979;3:67
7. Schults Y, Lechting A, Bradfield RB. Energy expenditures and food intakes of lactating women in Guatemala. *Am J Clin Nutr* 1980;33:892.
8. Waterlow JC, Ashworth A, Griffiths M. Faltering in infant growth in less developed countries. *Lancet* 1980;2:1176.
9. Whitehead RG, Hutton M, Muller E, Rowland MGM, Prentice AM, Paul A. Factors influencing lactating performance in rural Gambian mothers. *Lancet* 1978;2:178.
10. Villalpando S, Flores-Huerta S, Hernández-Beltrán MJ, Ramírez-Grande ME. Nutritional status of a nationwide sample of rural Mexican populations. *Rev Inv Clin* 1992;44: 21.
11. Villalpando S, Flores-Huerta S, Argote RM, De Santiago Soledad y Arias R. Características de la lactancia y el estado nutricional de los niños de Capulhuac, Edo de México. XXV Reunion Anual de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. Mazatlan Sin. 4-7 de Diciembre de 1985, p. 90 (resumen).
12. Wong WW, Butte NF, Garza C, Klein PD. Estimation of milk intake by deuterium dilution. In Atkinson SA, Hanson LA, Chandra RK. Eds. *Breastfeeding, Nutrition, Infection and Infant Growth in Developed and Emerging Countries*. Canada: ARTS Biomedical Publishers and Distributors, St John's, Newfoundland 1990:359.

13. **Berman M, Weiss MF, SAAM Manual.** Washington, DC: US Department of Health, Education, and welfare, 1978, ( DHEW publiquetion # [ NIH ] 78-180).
14. **Coward WA, Cole TJ, Sawyer MB, Pentrice AM, Orr-Ewing AK.** Breast-milk intake measurement in mixed-fed infants by administration of deuterium oxide to their mothers. *Hum Nutr: Clin Nutr* 1982;36C:141.
15. **Bitman J, Wood DL, Mehtha NR, Hamosh M.** Lipolysis of triglycerides in human milk at low temperatures: a note of caution . *J Paediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:521.
16. **Horwitz W.** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, ed 12, Washington, DC. Association of Official Analytical chemists, 1975.
17. **Lucas A, Gibbs JAH, Lyster RLJ.** Crematocrit: Simple clinical techniques for estimating fat concentrations and energy values of human milk. *Br Med J* 1978;22:1019.
18. **Ramos Galvan R.** Somatografía pediátrica. *Arch Invest Med* 1975;Suppl 1:6.
19. **Hernandez-Beltran MJ, Flores S, Argote RM, Villalpando S.** Estado Nutricional de las madres que habitualmente consumen pulque en el medio rural y crecimiento del niño lactante. XI Jornada de Investigación. Hospital de Pediatría, C.M.N. Siglo XXI. Febrero 1991 p.75.
20. **Brown KH, Akhtar NA, Robertson AD, Ahmed MG.** Lactational capacity of marginally nourished mothers: relationship between maternal nutritional status and quantity and proximal composition of milk. *Pediatrics* 1986;78:909.
21. **Prentice AM, Roberts SB, Prentice A.** Dietary supplementation of lactating Gambian women.  
1. Effect on breast milk volumen and quality. *Hum Nutr Clin Nutr* 1983; 37C:53.

## Relevance of Oligosaccharides in Human Colostrum

ROSA MARIA ARGOTE\* and IRIS ESCUDERO\*\*

\* *Unidad de Investigación Clínica en Genética Humana*

\*\* *Unidad de Investigación Clínica en Nutrición, Jefatura de Servicios de Investigación Médica, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México, D.F.*

Throughout lactation, the carbohydrates of human milk change both qualitatively and quantitatively. However, their function in the newborn infant development is not well understood. The most abundant carbohydrate is lactose, which plays a nutritional role. Oligosaccharides are also present and it is believed that they have a protective effect on the intestinal tract. It was suggested that those rich in N-acetylglucosamine and sialic acid may also have other biological activities, i.e., they may be used as constituents of the substrates for cell surface glycoproteins and glycolipids in postnatal development of the infant. They might be particularly involved in brain and gut maturation. Nevertheless, the chronology of their qualitative and quantitative changes during the lactation period is practically unknown. As an initial approach to this problem, in the present study we determined the content of lactose, glucose and oligosaccharides of milk from women living in a rural area (San Mateo Capulhuac, Edo. de México). Samples were obtained at days 4 and 16 ( $n = 7$ ) of lactation, as well as at 4 and 6 months ( $n = 10$ ). In each case the samples were obtained at 10:00, 14:00, and 18:00 h and were considered to be representative of the 24 h volume. The concentrations of lactose and glucose were determined by enzymatic method. Total carbohydrates were assayed colorimetrically, and oligosaccharides were estimated from the difference between total carbohydrates and lactose plus glucose. Both lactose and glucose did not vary significantly throughout the day in all stages of lactation. However, oligosaccharides decline over 60% from 10:00 to 18:00 h. Only at 6 months of lactation the decrease was 40%. When the composition of colostrum (4 days of lactation) was compared to that of mature milk (6 months) the already known data concerning an increase in both lactose (25%) and glucose (30%) was confirmed (lactose: from  $5.4 \pm 1.4$  to  $7.4 \pm 0.3$  g/dl, glucose: from  $0.03 \pm 0.01$  to  $0.04 \pm 0.005$  g/dl). Yet, we found a striking decrease (60%) in oligosaccharides ( $1.88 \pm 1.09$  to  $0.76 \pm 0.4$  g/dl). Our data show that even though there were certain variations among individuals, in colostrum, oligosaccharides represent 25% of total carbohydrates, whereas in mature milk they drop to 9%, suggesting that they have an important role during the first days of lactation.



## RELEVANCIA DE LOS OLIGOSACARIDOS EN EL CALOSTRO HUMANO

### Resumen

Se analizaron las variaciones en el contenido de carbohidratos de la leche de 45 mujeres de una area rural de México. Se obtuvieron muestras de leche a los 4, 16, 120 y 180 días postparto y en cada ocasión a las 10, 14 y 18 horas. En cada muestra se determinó las concentraciones de lactosa, glucosa y carbohidratos totales, apartir de estas se calculó la de los oligosacáridos. La fracción de oligosacáridos se identificó por cromatografía en capa delgada.

Durante el día, la concentración de la lactosa no varió en ninguna de las etapas de la lactancia. La glucosa aumento (15 %) unicamente a los 180 días postparto. Los oligosacáridos disminuyeron (58 %). Debido a estos cambios, en el calostro se determinó una cantidad mayor de carbohidratos totales (11.5 %) durante la mañana, comparada con la tarde. Esta diferencia va desapareciendo y a los 180 días la concentración es semejante.

Durante la lactancia, los carbohidratos totales ( $8.03 \pm 0.57$  g/dL) no mostraron cambios, a diferencia de sus componentes que si lo hicieron. Al comparar la composición promedio del calostro contra la leche madura de 180 días, se confirmó, que tanto la glucosa como la lactosa aumentaron de  $0.029 \pm 0.012$  a  $0.037 \pm 0.006$  g/dL  $p < 0.05$  y de  $5.85 \pm 0.073$  a  $7.26 \pm 0.28$  g/dL  $p < 0.001$  respectivamente. Fue notable la reducción de los oligosacáridos de  $1.75 \pm 1.15$  a  $0.74 \pm 0.36$  g/dL  $p < 0.02$ . En el calostro los oligosacáridos constituyen el 23% de los carbohidratos totales. Mientras que en la leche madura decrecen a un 9%, lo que sugiere que los oligosacáridos tienen una gran importancia al inicio de la lactancia.

## Introducción

El estudio de los carbohidratos de la leche humana no es reciente, sin embargo con el resurgimiento del interés por el amamantamiento infantil en todo el mundo, paralelamente se ha retomado la investigación de su composición. En la leche humana los carbohidratos contribuyen aproximadamente con el 40 % de la energía consumida por el recién nacido durante la lactancia. Consisten de mono, di y oligosacáridos así como de glicoproteínas y glicosfingolípidos.<sup>1</sup>

En la leche de mujer, la lactosa es el componente más abundante contiene de 6 a 7 g/dL, la leche de vaca tiene 4.7 g/dL. La leche humana es uno de los fluidos biológicos ricos en oligosacáridos tanto en cantidad como en diversidad de estructuras. En el calostro su concentración es de 2.4 g/dL y desciende en la leche madura a 1.2-1.3 g/dL.<sup>2</sup> En la leche de vaca solo se encuentran algunos oligosacáridos en concentración baja, 0.25 g/dL en el calostro y 0.1 g/dL en la leche madura.<sup>3</sup> Las glicoproteínas y glicosfingolípidos se encuentran en cantidades muy pequeñas.

Los estudios de varios autores,<sup>4-12</sup> han llevado al aislamiento e identificación de más de 50 oligosacáridos de la leche de mujer.

La fracción de oligosacáridos de la leche humana es una mezcla compleja de oligosacáridos constituidos de 3 a 22 unidades de monosacáridos con proporciones variables de D(+) - galactosa (Gal), D (+)-glucosa (Glc), L (-) fucosa (Fuc), N -acetil-D (+) glucosamina (N AcGlc), y N -acetil-D(-) ácido neuramínico (Ac Neu). Los oligosacáridos se han clasificado en: oligosacáridos neutros (Gal, Glc, Fuc), oligosacáridos neutros con nitrógeno (N AcGlc) y oligosacáridos ácidos (Ac Neu). También se han dividido, en varios grupos, de acuerdo a la estructura del núcleo del oligosacárido.<sup>1</sup> La fracción de oligosacáridos, tiene una estructura básica relativamente homogénea y es difícil explicar la diversidad de compuestos detectados,

asi como su origen y significado biológico. Son contadas las investigaciones clínicas que abordan el estudio de los carbohidratos lácteos exclusivamente.<sup>2</sup> La disponibilidad, para el lactante, de los oligosacaridos lácteos presentes en el aparato digestivo no se a estudiado, aun cuando las oligosacaridasas estan presentes en el intestino del recién nacido humano y que los oligosacaridos comparados a cantidades equivalentes de lactosa resultan en una carga osmótica oral menor.

Con base en los estudios existentes de composición de carbohidratos de la leche humana se ha establecido que: a) Los carbohidratos diferentes a lactosa pueden llegar a constituir el 62% de los carbohidratos totales de la leche el primer día de lactancia y solo el 21% de los carbohidratos del septimo al vigesimo cuarto día de lactancia,<sup>2</sup> b) una disminución de la fracción de oligosacáridos y aumento de la lactosa durante los tres primeros meses postparto de mujeres bien alimentadas,<sup>13</sup> c) ademas de la variación diurna de la concentración de lactosa que es mínima y la de oligosacáridos máxima a las 19.00 horas.<sup>14</sup> En ambos trabajos las variaciones de los carbohidratos se relacionan a los grupos sanguineos de las madres . Estos autores establecen que la presencia de ciertos oligosacáridos de la leche estan muy relacionados con la presencia de substancias de los grupos sanguineos A, B, O y Lewis.

Esos oligosacáridos tienen similitud estructural con la porción terminal de los carbohidratos de las glicoproteínas que definen el grupo sanguíneo y se cree que se requieren las mismas enzimas para la síntesis de ciertos oligosacaridos lácteos y de los sanguineos.<sup>8</sup> Se ignora el papel fisiológico de estos oligosacáridos lácteos relacionados con los grupos sanguíneos.

Los niños alimentados al seno tienen una flora intestinal constituida predominantemente por *Bifidobacterium bifidum* ( *Lactobacillus bifidus* ), algunas cepas de esta bacteria ( *L. bifidus var. pennsylvanicus* ) juegan un papel en la digestión de oligosacáridos que contienen aminoazucares. Ademas origina un pH acido y una gran resistencia a infecciones gastrointestinales.<sup>15</sup>

Se ha sugerido que los oligosacáridos de glicolípidos y glicoproteínas del calostro humano, son capaces de unirse a enterotoxinas de bacterias enteropatógenas y dar protección al niño contra esas toxinas.<sup>16</sup> Los oligosacáridos ricos en N-acetilglucosamina y ácido siálico son constituyentes de los gangliósidos y glicoproteínas de la membrana celular, por lo que se ha sugerido que los oligosacáridos pueden ser absorbidos y utilizados como sustratos para la síntesis de mielina, glicoproteínas y glicolípidos de la membrana celular del tejido cerebral, al final de gestación y los primeros meses después del nacimiento que es cuando en el humano (y en la rata), se encuentra aumentada la formación de gangliósido y glicoproteínas cerebrales, medida por la aparición de ácido siálico.<sup>17-19</sup>

La disponibilidad de ácido siálico y N-acetilglucosamina de los oligosacáridos de la leche materna las primeras semanas de lactancia, es elevada, al tiempo en que la sialidación del cerebro está normalmente elevada. Aun cuando disminuyen después de las primeras 5 semanas, continúan aportando cantidades significativas en la leche madura. También es probable que los aminoazúcares de la leche intervengan en la maduración del aparato digestivo del niño amamantado.<sup>20</sup>

No se ha estudiado la composición de los carbohidratos de la leche en el caso de madres consideradas marginalmente desnutridas. En algunos grupos rurales se ha informado que producen leche con una concentración de lactosa mayor que la de mujeres mejor alimentadas,<sup>21</sup> y se desconoce la variación cuantitativa y cualitativa de los demás carbohidratos de la leche, y en especial de la fracción de oligosacáridos. Esta investigación se realizó para analizar los cambios en el contenido de oligosacáridos, lactosa, glucosa y carbohidratos totales en la leche de madres rurales durante el día, y en diferentes etapas de la lactancia: leche temprana o calostro, leche de transición y leche madura.

## Material y Metodos

### *Colección de muestras*

El estudio se realizó en 45 madres de un área rural de San Mateo Capulhuac, Edo. de Méx. que alimentaban a sus hijos exclusivamente al seno. Se hicieron grupos de 6, 6, 19 y 20 mujeres que tenían 4, 16, 120 y 180 días de lactancia respectivamente. Los estudios de 6 y 14 días se hicieron en la misma mujer. En cada ocasión se obtuvieron muestras de leche vaciando el pecho derecho a las 10, 14 y 18 horas del día con una bomba eléctrica de pilas. Todas las muestras se conservaron en hielo durante el transporte al laboratorio, donde se almacenaron a - 50 °C. Las muestras se descongelaron una sola vez antes de su análisis.

Las muestras se dividieron según se utilizaran para analizar:

- Variaciones durante el día, de la concentración de los carbohidratos analizados en la leche.

Se hicieron determinaciones en cada una de las muestras de las 10, 14 y 18 horas de :

|    | 6 mujeres con | 4 días de lactancia |     |   |   |
|----|---------------|---------------------|-----|---|---|
| 6  | "             | "                   | 16  | " | " |
| 10 | "             | "                   | 120 | " | " |
| 10 | "             | "                   | 180 | " | " |

- Variaciones durante la lactancia, en la concentración de los carbohidratos analizados, en la leche representativa del volumen de 24 horas.

De las muestras de las 10, 14 y 18 horas se hizo una mezcla ponderada y en ella se hicieron las determinaciones en la leche de:

|    | 6 mujeres con | 4 días de lactancia |     |   |   |
|----|---------------|---------------------|-----|---|---|
| 6  | "             | "                   | 16  | " | " |
| 19 | "             | "                   | 120 | " | " |
| 20 | "             | "                   | 180 | " | " |

## Métodos Analíticos

- En la leche completa se hizo la determinación del crematocrito (% en volumen de las fracciones lipídica y acuosa de la leche) para corregir por volumen cuando los análisis se hicieron en leche deslipidizada.<sup>22</sup>
- Las muestras se deslipidizaron centrifugando a 7000 x g por 20 minutos a 4°C y eliminando la capa de lípidos.

Determinación, en la leche deslipidizada, de la concentración de:

- Glucosa por un método enzimático con glucosa oxidasa (utilizando un estuche comercial).
- Lactosa por un método enzimático realizado de la siguiente manera:  
A 0.25 mL de leche descremada o estandar de lactosa o blanco de agua se agregó la lactasa (*Kliveromyces lactis*) 13 uL, se incubó a 38 °C por 4 hrs. se diluyó a 5 mL con agua bidestilada y en esta dilución se determinó la concentración de la glucosa liberada por el método de la glucosa oxidasa.

La concentración de la lactosa se calculó de la siguiente manera :

Lactosa ( mg/mL ) = ( Concentración de glucosa liberada) x 20 \* - (Concentración de glucosa de la leche\*\*) x 1.899

\*dilución 1:20

\*\* Determinada previamente a la hidrólisis de la lactosa

1.899 = P.M. de la lactosa 346.70  
P.M. de la glucosa 180.16

- Carbohidratos totales por el método de Orcinol-Acido sulfúrico.<sup>23</sup> El método original<sup>24</sup> sugiere que la absorbancia se determine a 510 nm, pero se utilizó la longitud de onda de 420 nm porque el coeficiente de extinción de los principales carbohidratos de la leche: glucosa, lactosa, fucosa, N-acetilglucosamina y galactosa son semejantes a esa longitud de onda.

La concentración de oligosacáridos se calculó, por diferencia, de la siguiente manera:

Oligosacaridos = Carbohidratos totales - (lactosa + glucosa).

- Para confirmar la presencia de la fracción de oligosacáridos, determinada por cálculo, se realizó la separación de los carbohidratos de la leche deslipidizada, por cromatografía en capa delgada sobre gel de sílice. Como regla general los carbohidratos tienen  $R_f$  mayores si son de peso molecular bajo y los de mayor peso molecular, como los oligosacáridos, tendrán un movimiento relativo menor y  $R_f$  menores. La mezcla de elución que dió mejor resolución fue butanol/etanol/agua (5:3:2) con triple corrimiento y como revelador se utilizó el reactivo de Difenilamina/anilina/ác.fosfórico (difenilamina al 4% en solución de acetona, anilina al 4 % en acetona v/v, 20ml de ác fosfórico al 80 %) que es específico para carbohidratos.

Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias entre los grupos se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis y la de U de Mann-Witney.

## Resultados

- Variación, durante el día, de la concentración de los carbohidratos de la leche

En el caso de glucosa su concentración no tuvo variación significativa durante el día los primeros cuatro meses, sin embargo, a los 6 meses postparto la concentración aumentó de las 10 a las 18 horas  $p < 0.025$  (tabla I).

**Tabla I**  
Cambios durante el día en la concentración de glucosa de la leche en función de la etapa de lactancia

| Días Post parto | n  | Horas            |                  |                   |
|-----------------|----|------------------|------------------|-------------------|
|                 |    | 10               | 14               | 18                |
|                 |    | g/ dL            |                  |                   |
| 4               | 6  | 0.028<br>± 0.014 | 0.030<br>± 0.009 | 0.033<br>± 0.009  |
| 16              | 6  | 0.032<br>± 0.009 | 0.031<br>± 0.10  | 0.033<br>± 0.011  |
| 120             | 10 | 0.032<br>± 0.007 | 0.035<br>± 0.005 | 0.037<br>± 0.006  |
| 180             | 10 | 0.036<br>± 0.004 | 0.038<br>± 0.004 | 0.042*<br>± 0.005 |

Los valores representan  $\bar{x} \pm D.S.$ ; \* 10 vs 18 hs.  $p < 0.25$

La concentración de la lactosa en el curso del día no mostró variaciones significativas en ninguno de las etapas estudiadas (tabla II). Al inicio de la lactancia hay más variación interindividual. Conforme avanza la lactancia, va siendo menor la dispersión de los datos. A las 10 horas la concentración de lactosa de los 4 a los 180 días, aunque tiende a aumentar, no es diferente significativamente, en cambio, las 14 y 18 horas del día la concentración de lactosa durante la lactancia aumenta significativamente  $p < 0.001$ .

**Tabla II**  
Concentración de la lactosa en la leche de las 10, 14 y 18 horas durante la lactancia

| DIAS | HORAS |             |               |               |
|------|-------|-------------|---------------|---------------|
|      | n     | 10          | 14            | 18            |
|      |       | g / dL      |               |               |
| 4    | 6     | 5.91 ± 0.86 | 6.08 ± 0.93 * | 5.57 ± 0.67 * |
| 16   | 6     | 6.71 ± 0.37 | 6.76 ± 0.46   | 6.67 ± 0.37   |
| 120  | 10    | 6.67 ± 0.53 | 6.95 ± 0.30   | 7.07 ± 0.39   |
| 180  | 10    | 7.28 ± 0.24 | 7.36 ± 0.32   | 7.35 ± 0.33   |

\*  $p < 0.001$  al comparar 4 vs 16 vs 120 vs 180



La concentración de oligosacáridos durante el día disminuyó marcadamente de las 10 a las 18 horas, aun cuando en el calostro ( 4 días ), esta disminución no fue significativa por la dispersión de los datos, conforme avanzó la lactancia la concentración de la mañana fue mayor que la de la tarde significativamente , como se muestra en la tabla III.

**Tabla III**  
Cambios durante el día en la concentración de los oligosacáridos de la leche en función de la edad postparto

| Días post parto | n  | Horas       |             |                 |
|-----------------|----|-------------|-------------|-----------------|
|                 |    | 10          | 14          | 18              |
|                 |    | g / dL      |             |                 |
| 4               | 6  | 2.54 ± 1.72 | 1.44 ± 1.13 | 1.30 ± 0.78     |
| 16              | 6  | 1.53 ± 0.82 | 1.30 ± 0.24 | 0.58 ± 0.44 *   |
| 120             | 10 | 2.07 ± 1.37 | 1.32 ± 1.24 | 0.73 ± 0.75 **  |
| 180             | 10 | 1.30 ± 0.79 | 0.75 ± 0.41 | 0.58 ± 0.45 *** |

10 hrs. vs 18 hrs \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.025$

La concentración de carbohidratos totales varió durante el día en forma semejante a la de los oligosacáridos: disminuyó significativamente de las 10 a las 18 horas tanto a los 4 y 16 como a los 120 días postparto, sin embargo, a los 180 días los niveles son semejantes. En la tabla IV se resumen los resultados.

**Tabla IV**  
Cambios durante el día en la concentración de los carbohidratos totales de la leche en función de la etapa de lactancia.

| Días post parto | n  | Horas          |             |             |
|-----------------|----|----------------|-------------|-------------|
|                 |    | 10             | 14          | 18          |
|                 |    | g/dl           |             |             |
| 4               | 6  | 8.53 ± 1.19 †  | 7.55 ± 0.53 | 6.91 ± 0.67 |
| 16              | 6  | 8.28 ± 0.93 *  | 8.05 ± 0.47 | 7.24 ± 0.70 |
| 120             | 10 | 8.76 ± 1.17 ** | 8.31 ± 1.19 | 7.83 ± 0.70 |
| 180             | 10 | 8.55 ± 1.12    | 8.15 ± 0.50 | 8.19 ± 0.71 |

Los valores representan  $x \pm D.E.$ , † $p = 0.047$  cuando se comparan 10 vs 14 hs.  
 ‡ $p = 0.004$  cuando se comparan 10 vs 18 hs.  
 \* $p = 0.02$  cuando se comparan 10 vs 18 hs.  
 \*\* $p < 0.025$  cuando se comparan 10 vs 18 hs.

- Variación, durante la lactancia, en la concentración de los carbohidratos analizados en la leche representativa del volumen de 24 horas.

Como resultado de la variación en la composición de los carbohidratos de la leche, el contenido total de éstos no varió significativamente durante los periodos de la lactancia como se muestra en la tabla V.

**Tabla V**  
**Variación de la concentración de oligosacáridos de la leche durante la lactancia**

| Día post parto | n  | g/dl          |
|----------------|----|---------------|
| 4              | 6  | 1.75 ± 1.15 * |
| 16             | 6  | 1.73 ± 0.39   |
| 120            | 19 | 1.29 ± 0.73** |
| 180            | 20 | 0.74 ± 0.36   |

*Los datos representan x ± D.S., \*\* 120 vs 180 p<0.01  
\*4vs 16 vs 120 vs 180 p<0.02.*

Aun cuando la concentración de glucosa fue muy baja, ésta aumentó, significativamente en el curso de la lactancia.

La concentración de lactosa aumentó y simultáneamente la de oligosacárido se redujo significativamente en las etapas de la lactancia estudiadas. (fig 1).

La variación es como de imagen en el espejo.

En la tabla VI se muestra la reducción de los oligosacáridos. Resalta en este caso, la variabilidad interindividual en el calostro, la cual va siendo menor conforme avanza la lactancia. Además de la disminución brusca de la concentración de los oligosacáridos de los 120 a los 180 días postparto.

La cromatografía en capa fina en gel de sílice de la leche descremada, se muestra en la fig. 2 en la que se ve claramente la presencia de las manchas correspondientes a la lactosa y glucosa y las correspondientes a los oligosacáridos lácteos.

- Los resultados se consideraron también, desde el punto de vista de la maduración de la leche, ya que algunos de sus componentes cambian dramáticamente durante los primeros 15 días ( leche inmadura ) y posteriormente, lo hacen en forma más lenta (leche madura).

Analizando los datos de esta manera, se confirman los resultados anteriores. Cuando se comparó la concentración en la leche inmadura contra la madura de 180 días: la glucosa varió de  $0.031 \pm 0.01$  a  $0.037 \pm 0.006$  respectivamente  $p < 0.05$ . La concentración de lactosa aumentó significativamente de  $6.26 \pm 0.70$  a  $7.26 \pm 0.30$  respectivamente  $p < 0.001$ . Los oligosacáridos disminuyeron significativamente de  $1.45 \pm 0.87$  a  $0.74 \pm 0.36$  respectivamente  $p < 0.01$ . En el calostro, los oligosacáridos contribuyeron con un 23 % a los carbohidratos totales, mientras que en la leche madura de 180 días disminuyeron a un 9 % de ellos.

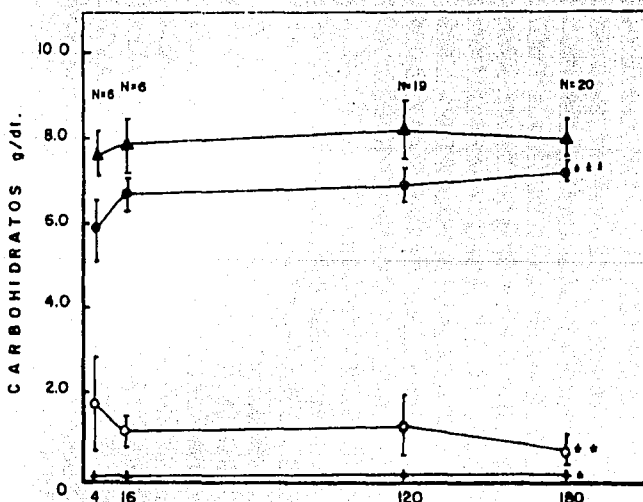


Figura 1. Cambios en la concentración de los carbohidratos de la leche en función de la etapa de lactancia. Carbohidratos totales  $\Delta$  - $\Delta$ , Lactosa  $\bullet$  -  $\bullet$ , Oligosacáridos  $\circ$  - $\circ$ , Glucosa + + +. Los valores representan  $\bar{X} \pm DE$  \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.02$ , \*\*\*  $p > 0.01$  al comparar 4 vs 16 vs 120 vs 180 días.

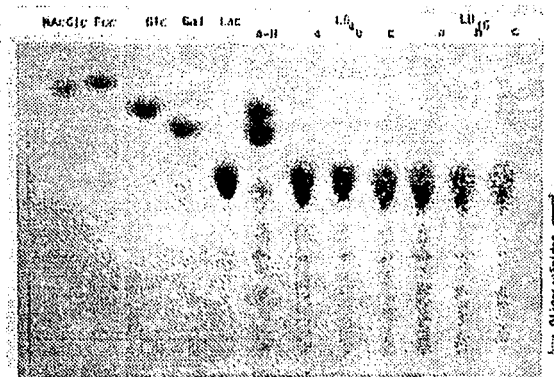


Figura 2

## Discusión

En esta investigación se validaron no solo los métodos analíticos sino además, previamente, se determinó el patrón de amantamiento de las madres en esta comunidad rural, para coleccionar las muestras de leche representativas del volumen de 24 horas. Se puede considerar que este fue, un estudio semilongitudinal ya que los resultados a los 4 y 16 días de lactancia fueron hechos en la misma madre. A diferencia de los escasos estudios que existen en la literatura en relación a la variación cuantitativa y cualitativa de los carbohidratos de la leche a través de la lactancia<sup>3,13</sup> y durante el día y la tetada,<sup>14</sup> en este trabajo se informan los resultados de la investigación de un grupo mayor de madres y abarca hasta los 6 meses de lactancia. En un estudio previo en esta misma comunidad se informaron los resultados de la composición proximal y volumen de leche producido en 24 horas por madres con 4 y 6 meses de edad postparto.<sup>21</sup>

En cuanto a la variación de la composición de los carbohidratos estudiados, se confirma que al inicio de la lactancia, existe mayor variación interindividual y que esta disminuye conforme avanza la lactancia, tal vez, porque la composición de la leche es el resultado del balance entre dieta, metabolismo, transporte y secreción.

Durante el día, las concentraciones de glucosa, lactosa y oligosacáridos no variaron significativamente en el calostro, nuestros resultados coinciden con los informes de la literatura, en el sentido de que la concentración de lactosa no varía significativamente durante el día y la tetada,<sup>26</sup> aun cuando, existen ciertas diferencias con lo informado por Viverge y col.<sup>14</sup> que estudiaron a 5 madres sanas durante los primeros 7 días de la lactancia y encuentran que: tanto la lactosa como los oligosacáridos no varían sig. de las 7.00 a las 17.00 hr, sin embargo reportan un correlación negativa entre lactosa y oligosacáridos entre la tarde y la noche  $p < 0.05$ .

A las 19 horas, la lactosa tiene un valor mínimo ( $5.86 \pm 0.53$  g/dL) y los oligosacáridos máximos ( $1.79 \pm .23$  g/dL) nuestros resultados de lactosa ( $5.57 \pm 1.30$  g/dL) y oligosacáridos ( $1.30 \pm 0.78$ ) a los 18 hrs son muy semejantes, sin embargo, aun cuando no exista diferencia significativa durante el día tanto la lactosa y sobre todo los oligosacáridos tienen una tendencia a disminuir en el calostro. Es probable que si se toman muestras de leche después de las 18 horas, se vea ese pico de los oligosacáridos entre las 17 y 22 horas, que encuentra estos autores, es claro que conforme avanza la lactancia los cambios durante el día de los carbohidratos de la leche sean: Un nivel semejante de la lactosa, aumento de la glucosa, y disminución de los oligosacáridos. Esto origina que el resultado final se refleje en la concentración de los carbohidratos totales que disminuyó de la mañana, a la tarde los primeros días de la lactancia, conforme esta avanza, la concentración de las 10 a las 18 horas se va igualando y a los 6 meses esta diferencia ya no fue significativa. Es importante resaltar que, probablemente los oligosacáridos estén jugando un papel nutricional importante para el recién nacido ya que hasta la fecha se ha ignorado que, durante la mañana (10 hrs), el niño recibe de carbohidratos totales en promedio 8.53 g/dL de estos aproximadamente el 22% son oligosacáridos), durante los primeros 6 meses de lactancia y a las 18 hrs la concentración promedio es de 7.54 g/dL. Generalmente se piensa que los carbohidratos no varían durante el día, pero considerando únicamente a la lactosa, y en realidad si ocurren cambios cualitativos y cuantitativos, sobre todo en la fracción de oligosacáridos que se refleja en los niveles de carbohidratos totales de la leche en el transcurso del día.

La concentración de los carbohidratos de la leche varió lenta, pero continuamente durante las etapas de la lactancia estudiadas, lo más relevante es el hecho de que, la concentración de los carbohidratos totales se mantiene constantes desde el inicio hasta los 6 meses de lactancia. Además de lactosa, existe una cantidad importante de otros carbohidratos, específicamente los oligosacáridos, que en el calostro constituyen el 23 % de los carbohidratos totales y se reducen al 9 % en la leche madura del grupo estudiado.

La glucosa, aun cuando se encuentra en cantidades muy pequeñas, aumenta significativamente  $p < 0.05$ , y se encuentra en los límites superiores a los informados en calostro<sup>26</sup> y 6 meses de lactancia para mujeres bien alimentadas.<sup>27</sup>

La concentración de la lactosa y los oligosacáridos tienen una relación inversa; a la fecha se ignora el mecanismo y significado de esas variaciones. El comportamiento de los niveles de oligosacáridos de los 4 a los 180 días es semejante al informado por Viverge y colaboradores para el grupo estudiado por ellos hasta los 90 días.<sup>13</sup> En el caso de nuestros resultados no se clasificaron a las madres por el grupo sanguíneo para analizar si había una correlación entre determinado grupo y niveles menores de oligosacáridos y mayores de lactosa.

Es importante resaltar que las madres rurales de este estudio tienen una dieta rica en carbohidratos, que la concentración de lactosa en la leche al inicio de la lactancia es muy semejante a la de mujeres mejor alimentadas,<sup>13,27</sup> sin embargo, a los 180 días la concentración es de  $7.26 \pm 0.28$  g/dL, mayor que la informada Neville y col.<sup>26</sup> en los promedios de  $6.53 \pm 0.14$  g/dL a esa misma edad. En el caso de nuestros resultados los niveles de oligosacáridos disminuyeron más lentamente de los 4 a los 120 días, un 31 %, a los 180 días la disminución fue más brusca, 58 % en cambio en las madres estudiadas por Viverge y col.<sup>13</sup> la disminución de los oligosacáridos en general fue más marcada, a los 90 días la reducción ya era en promedio de un 62 %, es probable que la dieta y estado nutricional materno influyan para que los oligosacáridos lácteos permanezcan más tiempo elevados que los de las mujeres con una dieta con menor cantidad de carbohidratos.

Estos resultados también pueden interpretarse como una adaptación de la composición de la leche para cubrir las necesidades del recién nacido, sobre todo, al inicio de la vida. Además de la reconocida función protectora contra microorganismos enteropatógenos.

En cuanto a la regulación de la síntesis de lactosa, se ha propuesto un modelo que sugiere un equilibrio osmótico entre la concentración de lactosa y electrolitos, y algunos autores piensan que posiblemente estén involucrados los oligosacáridos.<sup>14</sup>

Además se propone que estos últimos, pueden ser biosintetizados por transglucosilación de la lactosa.<sup>7</sup> Es evidente que falta mucho por investigar en relación con el origen metabolismo y papel de los oligosacáridos de la leche materna en el desarrollo del lactante.

## **Bibliografía**

1. Blanc B. Biochemical Aspects of Human Milk Comparison with Bovine Milk. *Wld Rev Nutr Diet* 1981;36:1-89 ( Kargel, Basel ).
2. Montreuil J , Mullet S. Etudes des variaciones des constituants glucidiques du lait de femme au cours de la lactation : *Bull Soc Chim Biol* 1960;42:365.3.
3. Montreuil J , Kobus W. Variations des constituants glucidiques du lait de vache au cours de la lactation . *C R Séanc Soc Biol* 1960;154:2075.
4. Kuhn R. Les oligosaccharides du lait : *Bull Soc Chim Biol.* 1958 ; 40: 297.
5. Grimmonprez L, Delautre M, Bouquelet S, Montreuil J. Determination de la structure d'un heptasaccharide du lait de femme, le lacto-N-fuco-heptaosa *FEBS Lett* 1975;54:221.
6. Grimmonprez L, Montreuil J. Isolement et étude des propriétés physico-chimiques d'oligosaccharides du lait de femme. *Biochemie* 1975;57:695.
7. Grimmonprez L. Les glucides du lait maternel. *Med Nutr* 1977;13:343.

8. Kobata A. Isolation of oligosaccharides from human milk. *Meth Enzym* 1972;28:62.
9. Kobata A, Yamashita K, Tachibana Y. Oligosaccharides from human milk *Meth Enzym* 1978;50:216.
10. Tachibana Y, Yamashita K, Kobata A. Oligosaccharides of human milk structural studies of di and trifucosyl derivatives of lacto-N-octose and lacto-N-neooctose. *Archs Biochem Biophys* 1978;188:83.
11. Smith D, Zopf D, Ginsburg V. Fraccionation of sialyl oligosaccharides of human milk by ion-exchange chromatography. *Analyt Biochem.* 1978;85:602.
12. Smith, Zopf D, Ginsburg V. Sialyl oligosaccharides from human milk. *Meth Enzym* 1978;50:221.
13. Viverge V, Grimmonprez L, Cassanas G, Bardet L, Bonnet H, Solère M. Variations of Lactose and Oligosaccharides in Milk from Women of Blood Types Secretor A or H, Secretor Lewis, and Secretor H / Nonsecretor Lewis during the Course of Lactation. *Ann Nutr Metab* 1985;29:1.
14. Viverge V, Grimmonprez L, Cassanas G, Bardet L, Solère M. Diurnal variations and within the feed in lactose and oligosaccharides of human milk. *Ann Nutr Metab* 1986;30:196.
15. Gyorgy P. Biochemical aspects of human milk. *Am J Clin Nutr.* 1971;24:970.
16. Cleary FG, Chambers J P, Pickering L K. Protection of suckling mice from the heat-stable enterotoxina of Escherichia by human milk. *Journal of Infectious Diseases* 1983;148:1114.
17. Morgan BLG, Winick M. Effects of administration N-acetyneuraminic acid (NANA) on brain NANA content and behavior. *J Nutr* 1980;110:416.
18. Carlson SE, House Sg. Oral and intraperitoneal administration of N-acetylneuraminic acid and cerebral and cerebellar N-acetylneuraminic acid. *J Nutr* 1986;116 (5):881.
19. Morgan BLG, Winick M. The subcellular localization of administered N-acetylneuraminic acid ( NANA ) in the brain of well-fed and undernourished rats. *Brit J Nutr* 1981;46:231.
20. Heird C, Hansen I H. Effects of colostro on growth of intestinal mucose. *Pediatr Res* 1977;11:406 (abstr).
21. Argote RM, Escudero, Ramos R, Sánchez V, Salas R, Flores S, Villalpando S. Composición proximal de la leche de madres lactantes de una comunidad rural. XXIII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas. Cancún, México. 1990; AT-19.



22. Lucas A, Gibbws JAH, Lyster RLJ, Bauman JP. Creamatocrit:simple clinical technic for estimating fat concentration and energy values of human milk. Br Med J 1978;1:1018-20.
23. Charles A.White, John F Kennedy. Oligosaccharides. In Chaplin MF, Kennedy JF, Eds. Carbohydrate analysis. Oxford. Washington DC: IRL Press, 1986:37.
24. Dubois M , Gilles KA ,Hamilton JK , Rebers PA, and Smith F. Analyt Chem 1956 ;28:350.
25. Hall B. Uniformity of human milk. Am J Clin Nutr. 1979; 32:304.
26. Neville MC, Allen JC, Archer PC, Casey C E, Seacatt J, Keller RP, Lutes V, Rasbach J, Neifert M. Studies in human lactation: milk volume and nutrient composition during weaning and lactogenesis. Am J Clin Nutr 1991;54:81.
27. Allen J C , Keller R P, Archer P, Neville MC. Studies in human lactation: milk composition and daily secretion rates of macronutrients in the first year of lactation. Am J Clin Nutr 1991;54: 69.

## Depuración plasmática de etanol y su excreción en la leche de mujeres rurales que consumen pulque

\*Rosa María Argote-Espinosa

\*Samuel Flores-Huerta

\*Homero Hernández-Montes

\*Salvador Villalpando-Hernández

### Resumen

En San Mateo Capulhuac, estado de México es frecuente el consumo del aguamiel y su producto fermentado, el pulque, por las mujeres embarazadas y lactantes debido a que le atribuyen cualidades galactotróficas.

En este estudio se midió el etanol ingerido con el pulque por 11 madres lactantes y su concentración en el plasma y en la leche. La máxima concentración de etanol en el plasma y la leche se alcanzó a los 60 minutos independientemente del volumen de pulque ingerido. Ambas concentraciones fueron similares.

La depuración del etanol en la leche fue más lenta en los casos con concentraciones de etanol más elevadas. En el grupo de menor consumo de pulque la concentración máxima de etanol en la leche fue de  $8.4 \pm 3.0$  mg/dL; el 57% desapareció a los 120 min. En el grupo de mayor consumo de pulque la concentración máxima de etanol en la leche fue de  $26.2 \pm 7.0$  mg/dL; a los 120 min solamente se había eliminado el 11% de esa concentración.

El pulque proporcionó a las madres lactantes una ingesta adicional de 350 kcal/día, comparadas con las madres que no lo consumen, lo cual representa una suplementación energética.

**Palabras clave:** Alcohol, Pulque, Bebidas alcohólicas, Lactancia, Leche humana, Alimentación al seno.

### Abstract

*Plasma ethanol clearance and its disposal through milk in rural women who drink pulque.*

Women from rural areas of the central plateau of Mexico drink during pregnancy and lactation a mild alcoholic beverage called pulque as a galactagogue. Ethanol present in milk could have a harmful effect on growth and development of breast-fed children. The purpose of this study was to quantify the ethanol consumed as pulque by eleven lactating rural women as well as its clearance rate in blood and milk.

Mothers were separated in two groups depending upon the ethanol ingested in a single dose of pulque  $0.21 \pm 0.08$  g/kg of body weight (group A) and  $0.44 \pm 0.11$  g/kg (group B).

Maximal concentration of ethanol was reached in milk at 60 minutes and almost equaled that in plasma. Both groups showed a similar clearance pattern regardless of the volume of pulque ingested.

Clearance rates between groups were different: ethanol concentration in milk at 60 min were  $8.4 \pm 3.0$  mg/dL for group A and  $26.2 \pm 7.0$  mg/dL for group B. Two hours later ethanol levels were

\*División de Crecimiento y Desarrollo, UIB, Hospital "Luis Castelazo Ayala," Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

Correspondencia: Salvador Villalpando, División de Crecimiento y Desarrollo, UIB, IMSS, Apartado Postal 7-1069, 06700, México, D.F.

Recibido el 11 de abril de 1991. Aceptado para publicación el 16 de agosto de 1991.

3.6 ± 3.4 mg/dL and 23.3 ± 9.4 mg/dL respectively. Clearance rates were slower in mothers showing the highest concentration of ethanol in milk.

The present data demonstrate that there is no differential elimination of ethanol in maternal blood and milk following ingestion of a moderate amount of pulque during lactation. The amount of ethanol received by infants through milk is relatively low and therefore it is unlikely to have harmful effects on them. Pulque consumption adds about 350 kcal/day to the customary dietary intake of these lactating women.

**Keywords:** Alcoholic beverage, Alcohol, Pulque, Lactation, Human milk, Breast-feeding.

### Introducción

Los hijos de las madres alcohólicas muestran ciertas alteraciones que fueron descritas por primera vez por Lemoine y cols.<sup>1</sup> Posteriormente Jones y Smith acuñaron el término de "síndrome de alcoholismo fetal" para agrupar las malformaciones congénitas y las alteraciones del crecimiento físico y del desarrollo del sistema nervioso central que ocurren en los fetos humanos y de otras especies animales, cuyas madres consumen etanol crónicamente y en grandes cantidades durante la gestación.<sup>2,3</sup> Cuando las madres ingieren etanol en cantidades moderadas, la alteración más frecuente es el bajo peso del recién nacido lo que sugiere desnutrición durante la vida intrauterina.<sup>4</sup>

Si el consumo de bebidas alcohólicas continúa durante la lactancia, el etanol excretado en la leche con la que se alimenta el niño, pudiera producir algunos efectos deletéreos.

No existe información de los efectos del etanol sobre el lactante amamantado por una madre consumidora de alcohol.

El etanol, por su bajo peso molecular y su solubilidad en los lípidos y en el agua, atraviesa fácilmente las membranas celulares, circula en el plasma y alcanza la glándula mamaria para ser posteriormente, excretado a través de la leche.

El etanol no se concentra en la glándula mamaria, ya que cuando la leche es retenida el alcohol contenido en ella difunde en sentido opuesto de los alvéolos a las células endoteliales y de ahí al plasma, hasta alcanzar un equilibrio. Esto origina que la concentración de etanol en la leche frontal y en la leche escondida, de una misma tetada, sean similares y que los patrones de depuración en el plasma y en la leche sean paralelos y no se alteren por la succión del

niño.<sup>5-7</sup> La velocidad de depuración del etanol plasmático en el recién nacido es casi la mitad de la materna, debido probablemente, a una menor concentración de las deshidrogenasas del etanol y del acetaldehído, en el hígado del recién nacido.<sup>8,9</sup>

En las áreas rurales y semirurales del centro de la república mexicana desde épocas prehispánicas la bebida alcohólica más usual es el pulque. El 27% de las mujeres de estas regiones lo consumen con sus alimentos.<sup>10</sup> La comunidad favorece este hábito en las mujeres lactantes debido a la creencia de que el pulque estimula la producción de leche.

El pulque es una bebida con baja concentración de etanol (2 a 3 g por decilitro), producido por la fermentación microbiana de los hidratos de carbono del aguamiel, jugo extraído del maguey de diferentes especies del género *Agave*. Contiene en promedio, 0.3 g de proteínas y 0.35 g de hidratos de carbono lo que equivale aproximadamente a 43 kcal por decilitro y además, cantidades significativas de calcio, fósforo, fierro, niacina, tiamina, riboflavina y ácido ascórbico.<sup>11,12</sup>

El consumo de esta bebida contribuye a cubrir parte de los requerimientos energéticos de las mujeres rurales; sin embargo, se desconoce qué proporción del etanol ingerido con el pulque se excreta por la leche de las madres lactantes, la magnitud de esa excreción y el efecto que pudiera tener sobre el crecimiento de sus hijos.

Esta investigación fue diseñada para cuantificar la concentración de etanol en el pulque y en el aguamiel producidos en la zona de San Mateo Capulhuac en el Edo. de México, describir algunas características de su proceso de fermentación y estudiar la velocidad de aparición y depuración del etanol en el plasma y la leche de un grupo de madres lactantes de esta comunidad, después de haber ingerido pulque, con el propósito de ofrecer información para estudios posteriores en los que se determine el posible efecto del etanol sobre la salud y el crecimiento de los hijos de las madres de la comunidad en estudio.

### Material y métodos

#### CARACTERIZACIÓN DEL AGUAMIEL Y DEL PULQUE

##### *-Aguamiel*

Con el propósito de estudiar el efecto de la temperatura sobre el proceso de fermentación, se

dividió en dos porciones una muestra de aguamiel; una fue conservada a temperatura ambiente (20°C) y la otra mantenida en refrigeración (4°C). En ellas, se determinó diariamente la concentración de etanol y de hidratos de carbono totales, los días primero al cuarto y del séptimo al décimo. En el aguamiel conservada en refrigeración se midió además, el contenido del etanol los días 11 y 14.

#### -Pulque

Para evaluar el efecto de la temperatura sobre el contenido del etanol del pulque maduro, se dividió una muestra de éste en tres porciones, una se conservó a temperatura ambiente, otra en refrigeración y la tercera se congeló a -10°C. El contenido de etanol se determinó los días 1 y 6 en la muestra congelada, los días 1, 7 y 12 en la muestra refrigerada y los días 1, 2, 3 y 6 en la muestra mantenida a temperatura ambiente.

Para estudiar la relación entre las concentraciones del etanol y las de hidratos de carbono totales contenidos en el pulque maduro, se almacenó otra muestra en refrigeración y su contenido de hidratos de carbono totales y etanol se determinó los días 1, 2, 3, 4 y 7.

#### ESTUDIO DE APARICIÓN Y DEPURACIÓN DE ETANOL DEL PLASMA Y LA LECHE DESPUÉS DEL CONSUMO DE PULQUE

El estudio se realizó con la participación de 11 madres de la comunidad rural de San Mateo Capulhuac, México, las cuales alimentaban a sus hijos exclusivamente al seno y acostumbraban tomar pulque con sus alimentos al menos desde el embarazo. En todos los casos se registró durante los meses previos al estudio, el volumen diario de pulque ingerido habitualmente.

La edad postparto, al momento del experimento, fluctuó entre 3 y 12 meses. La madre fue adiestrada en el manejo de una bomba eléctrica accionada por pilas, para extraer la leche. El día del estudio, llevado a efecto alrededor de las 9 de la mañana en el domicilio de la familia, se pesó a las madres en una báscula clínica (Detecto) con precisión de 200 g; se colocó un catéter en la vena antecubital de las madres. Éstas tomaron un desayuno consistente en tortillas, frijoles, sopa de pasta y té, acompañados del volumen acostumbrado de pulque. La ingestión ocurrió en un tiempo no mayor de 20 minutos.

Durante el estudio, se obtuvieron muestras

simultáneas de sangre y leche, antes y a los 60, 90 y 120 min de iniciada la ingestión del pulque.

Se midió el volumen del pulque ingerido y se conservó una alícuota desproteinizada para determinar en ella el contenido de etanol.

Las muestras de plasma, leche y pulque desproteinizado fueron conservadas en hielo durante su transportación al laboratorio en donde fueron mantenidas a -20°C hasta que se realizó la determinación del etanol.

#### DETERMINACIÓN DEL ETANOL E HIDRATOS DE CARBONO TOTALES

Las muestras de plasma y leche fueron desproteinizadas por la adición de 1.0 ml de ácido perclórico 0.8 N frío a una alícuota de 0.1 mL. Para las muestras de pulque, se agregó 1.0 ml de ácido perclórico 0.5 N frío a 0.1 mL de la muestra.

El sobrenadante obtenido después de centrifugar 10 min a 2600x g fue congelado en tubos herméticamente cerrados; el contenido de etanol de éste se determinó mediante el método enzimático descrito por Cornell y Veech<sup>13</sup> y los hidratos de carbono totales por el método de Jermyn.<sup>14</sup>

Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias entre promedios se analizaron mediante la prueba t de Student.<sup>15</sup>

#### Resultados

##### CARACTERIZACIÓN DEL AGUAMIEL Y DEL PULQUE

La variación intra e interensayo de la técnica enzimática empleada para cuantificar el etanol en los líquidos biológicos fue de 3.9 y 2.8% respectivamente y la sensibilidad de 0.32 mg/dL. La recuperación del etanol adicionado a muestras de plasma fue de 98% y en muestras de leche de 103%.

##### -Aguamiel

El aguamiel conservado en refrigeración tuvo un contenido inicial de hidratos de carbono de 9.59 g/dL, el cual disminuyó hasta 4.46 g/dL (47%) a los 10 días, mientras que la concentración del etanol aumentó de 0.11 g/dL hasta 1.58 g/dL el día 11 (figura 1A). La muestra de aguamiel<sup>1</sup> mantenida a la temperatura ambiente alcanzó su máxima concentración de etanol, 1.98 g/dL el tercer día, disminuyendo gradualmente hasta

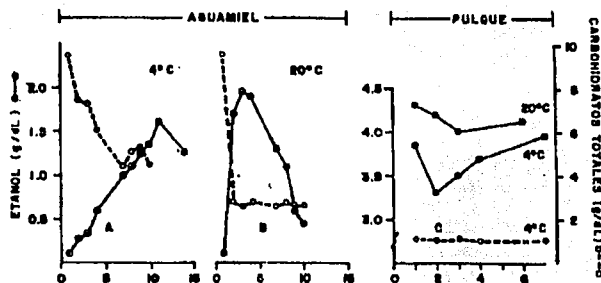


Figura 1. Variación en la concentración del etanol (●-●) y los hidratos de carbono totales (○-○) del aguardiente (A y B) y del pulque (C) con diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento.

alcanzar 0.45 g/dL el décimo día, debido probablemente a su oxidación posterior. La concentración de hidratos de carbono se redujo rápidamente de 9.59 g/dL hasta 2.66 g/dL el día 3, manteniéndose con poca variación en los días posteriores (figura 1B).

#### -Pulque

El pulque maduro mostró poca variación tanto en la concentración de etanol como en la de hidratos de carbono totales, independientemente de la temperatura y el tiempo de almacenamiento (figura 1C).

La concentración promedio de etanol del pulque producido en la comunidad de San Mateo Capulhuac fue de  $3.08 \pm 1.09$  g/dL con un mínimo de 1.35 y un máximo de 4.70 g/dL ( $n=14$ ).

#### APARICION Y DEPURACION DEL ETANOL EN EL PLASMA Y EN LA LECHE DESPUES DE CONSUMIR PULQUE

Las 11 madres del estudio se dividieron arbitrariamente en dos grupos dependiendo de que la máxima concentración de etanol cuantificado en la sangre y en la leche fueran menores (grupo A) o mayores (grupo B) a 20 mg/dL. Las madres del grupo A tenían edades postparto, peso corporal y volúmenes de pulque ingerido, menores que los correspondientes al grupo B (cuadro 1).

La dosis promedio del etanol ingerido con el pulque fue de  $0.21 \pm 0.08$  g/kg de peso corporal para el grupo A y de  $0.44 \pm 0.11$  g/kg de peso corporal para el grupo B. Las concentraciones de etanol alcanzados tanto en la sangre como en la

leche de ambos grupos, se muestran en el cuadro 2. La concentración de etanol fue similar en ambos fluidos en todos los tiempos estudiados; la máxima concentración de etanol se alcanzó a los 60 minutos después de la ingestión.

Las concentraciones máximas de etanol en la leche fueron de  $8.4 \pm 3.0$  mg/dL y de  $26.2 \pm 7.0$  mg/dL, para los grupos A y B respectivamente; estos valores fueron ligeramente menores que los encontrados en el plasma.

El patrón de depuración del etanol fue semejante en la sangre y en la leche y no se vio afectado por el volumen succionado por el niño.

El cuadro 2 muestra que en el grupo A los niveles de etanol en ambos fluidos disminuyeron rápidamente; a los 120 minutos había desaparecido el 63% del etanol del plasma y el 57% de la leche. En contraste, el grupo con mayor consumo de etanol (grupo B) tuvo una depuración significativamente más lenta, de tal manera que a los 120 minutos la concentración de etanol disminuyó únicamente 5.5% en el plasma y 11% en la leche.

#### Discusión

En la comunidad de San Mateo Capulhuac, México, se acostumbra beber aguardiente y pulque, cuyo contenido de etanol e hidratos de carbono totales varía según el grado de fermentación. El pulque aún en su forma más fermentada, contiene menos de 5 g/dL de etanol (equivalente a 12° alcohólico) y es semejante a otras bebidas fermentadas de bajo contenido alcohólico, como la cerveza y el vino. El pulque proporciona, además de minerales y vitaminas, hidratos de

Tabla 1. Características maternas y concentración de etanol en el pulque ingerido por las madres rurales lactantes

| Madres         | Peso (kg) | Postparto (meses) | Pulque ingerido (ml) | Etanol ingerido |        |
|----------------|-----------|-------------------|----------------------|-----------------|--------|
|                |           |                   |                      | (g Tot.)        | (g/kg) |
| <b>Grupo A</b> |           |                   |                      |                 |        |
| 1              | 58.7      | 3                 | 500                  | 6.90            | 0.12   |
| 2              | 50.6      | 4                 | 375                  | 7.35            | 0.15   |
| 3              | 51.4      | 3                 | 500                  | 10.30           | 0.20   |
| 4              | 62.0      | 3                 | 500                  | 12.35           | 0.20   |
| 5              | 54.9      | 7                 | 500                  | 16.04           | 0.30   |
| 6              | 55.4      | 7                 | 500                  | 17.50           | 0.31   |
| $\bar{x}$      | 55.5      | 4.5               | 479                  | 11.80           | 0.21   |
| DE             | 4.3       | 2.0               | 51                   | 4.50            | 0.08   |
| <b>Grupo B</b> |           |                   |                      |                 |        |
| 7              | 54.9      | 4                 | 500                  | 15.90           | 0.29   |
| 8              | 55.5      | 4                 | 500                  | 21.00           | 0.38   |
| 9              | 57.1      | 9                 | 750                  | 23.80           | 0.42   |
| 10             | 65.7      | 12                | 1000                 | 36.10           | 0.55   |
| 11             | 64.0      | 4                 | 800                  | 35.20           | 0.55   |
| $\bar{x}$      | 59.4      | 6.6               | 710                  | 26.40           | 0.44   |
| DE             | 5.0       | 3.7               | 211                  | 8.9             | 0.11   |

carbono y proteínas que en promedio suministran 645 kcal/día, a la dieta de estas mujeres lactantes, que consumen en promedio 2100 kcal/día. Comparado con mujeres no bebedoras el consumo energético es mayor en 350 kcal, lo que significa que el pulque desplazó al menos 300 kcal de la dieta habitual.

Considerando las encuestas de nuestro grupo, que muestran que la ingestión de pulque en esta comunidad se inicia desde la edad escolar, podemos especular que este hábito representa una suplementación energética a largo plazo que explicaría la mayor estatura y peso de las madres que ingieren pulque.<sup>18</sup>

En este estudio las madres lactantes ingirieron una dosis de etanol promedio de 0.3 g/kg de peso/día, considerada como moderada.<sup>17,19</sup> El etanol a estas dosis puede ser metabolizado tan eficientemente como los lípidos y los hidratos de carbono, como una fuente de energía.<sup>19</sup>

Nuestro estudio del patrón de depuración del etanol, mostró que las concentraciones máximas

de etanol en el plasma y la leche, alcanzaron en promedio entre 9 y 27 mg/dL a los 60 minutos. Estos valores son menores a los observados por otros autores, en madres que consumieron dosis de alcohol calificadas como moderadas.<sup>3,8</sup> Esto podría explicarse, no solo porque las concentraciones de etanol fueron menores, sino porque además su ingestión fue acompañada con alimentos, lo cual retarda su absorción.

Nuestros resultados muestran que las madres eliminan el etanol por la leche en concentraciones ligeramente menores que las del plasma; su patrón de eliminación es muy semejante en ambos casos. A pesar de que durante el estudio las madres amamantaron a sus hijos, no se observaron modificaciones en el patrón de depuración. Estos datos confirman las observaciones informadas por otros autores.<sup>3,8</sup>

Las concentraciones de etanol cuantificados en la sangre y en la leche pueden considerarse dentro de los límites que se supone no afectan la lactancia, ya que se requieren concentraciones de

Tabla 2. Concentraciones de etanol en el plasma y la leche de madres lactantes después de la ingestión de pulque.\*

| Tiempo (min) | n | Grupo A   |           | n | Grupo B     |             |
|--------------|---|-----------|-----------|---|-------------|-------------|
|              |   | Plasma    | Leche     |   | Plasma      | Leche       |
| 60           | 6 | 9.0 ± 3.1 | 8.4 ± 3.0 | 5 | 27.4 ± 7.1  | 26.2 ± 7.0  |
| 90           | 6 | 4.8 ± 1.8 | 4.1 ± 1.9 | 5 | 26.8 ± 10.4 | 24.3 ± 11.9 |
| 120          | 6 | 3.3 ± 2.7 | 3.6 ± 3.4 | 4 | 25.7 ± 10.3 | 23.3 ± 9.4  |

\* Promedio ± desviación estándar en mg/dL.  
Grupo A 60 min diferente de 90 min  $p < 0.05$   
B 60 min igual a 120 min  $p > 0.1$

etanol plasmático superiores a 100 mg/dL, para inhibirla.<sup>20</sup>

Sin embargo, se ignora si cantidades de etanol como las observadas en este estudio pueden modificar el volumen y la composición de la leche y por consiguiente, afectar el estado nutricional de los lactantes. Se infiere que las concentraciones de etanol en la leche no se mantienen altas todo el día, ya que las madres toman el pulque acompañando los alimentos (9 y 17 horas), lo anterior permite suponer que el niño recibe cantidades limitadas de etanol con la leche.

Mills y cols. han mostrado, en humanos, que la ingestión materna de etanol durante el embarazo, en cantidades ligeramente mayores a las ingeridas por las madres participantes en este estudio, se asocia a un riesgo mayor de que sus hijos presenten bajo peso al nacimiento.<sup>21</sup> En animales de experimentación Rovinski y cols demostraron que el crecimiento postnatal de las crías se ve afectado cuando las ratas madres ingirieron en forma crónica, durante el embarazo y la lactancia, cantidades mayores de etanol (13.8 g/kg/día) que los equivalentes ingeridos por las madres de este estudio (0.3 g/kg/día).<sup>22</sup>

Se ha demostrado que el recién nacido tiene baja capacidad de metabolizar el etanol<sup>19,23</sup> pero se desconocen los efectos que sobre su crecimiento y desarrollo podría causarle la exposición al tóxico a lo largo del periodo de la lactancia; por lo que es necesario diseñar estudios específicos que permitan responder estas preguntas.

En resumen, en este trabajo presentamos información acerca del contenido del etanol del pulque, así como su patrón de depuración en la leche humana después del consumo de una sola dosis de pulque que permitirá evaluar de manera cuantitativa, en futuros estudios su papel nutricional y tóxico en esta etapa de la vida.

## Referencias

- Lemoine P, Haronsseau H, Bortery JP, Menuet JC. Les enfants de parents alcooliques: anomalies observées a propos de 127 cas. *Quart Med* 1968;25:477-82.
- Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;2:999-1001.
- Streissguth AP, Landesman-Dwyer S, Martin JC, Smith DW. Teratogenic effects of alcohol in humans and laboratory animals. *Science* 1980;209:353-61.
- Abel EL. Prenatal effects of alcohol on growth: a brief overview. *Federation Proc* 1985;44:2118-22.
- Kesaniemi YA. Ethanol and acetaldehyde in the milk and peripheral blood of lactating women after ethanol administration. *J Obstet Gynaecol Br Common* 1974;81:84-6.
- Lawton ME. Alcohol in breast milk. *Aust NZ J Obstet Gynaecol* 1985;25:71-3.
- Berlin CM Jr. Drug excretion into human milk: answered and unanswered questions. En: Hamosh M, Goldman AS. Human lactation maternal and environmental factors Vol 2. New York: Plenum Press, 1986:467-74.
- Idanoan-Heikkilä J, Louppila P, Akerblom MK, Ispho R, Kauppila E, Koivisto M. Elimination and metabolic effects of ethanol in mother, fetus, and newborn infant. *Am J Obstet Gynecol* 1972;112:387-93.
- Pikkariainen PH, Ratha NCR. Development of alcohol dehydrogenase activity in the human liver. *Pediatr Res* 1967;1:165-8.
- Natera G, Orozco C. Opiniones sobre el consumo de alcohol en una comunidad semirural. *Sal Publ Mex* 1981;23:471-82.
- Reglamento para el control sanitario del pulque. *Sal Publ Mex* 1981;23:515-24.
- Hernández H, Chávez A, Bourges H. Valor nutritivo de los alimentos mexicanos. Tablas de uso práctico. México: Inst Natl Nutr, 1977:20-7.
- Cornell NW, Veech RL. Enzymatic measurement of ethanol or NAD in acid extracts of biological samples. *Anal Biochem* 1983;132:418-23.
- Jermyn MA. Increasing the sensitivity of the anthrone method for carbohydrate. *Anal Biochem* 1975;68:332-5.
- Freund JE. Modern elementary statistics. 5a ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc, 1979:251-4.
- Flores-Huerta S, Hernández-Montes H, Argote RM, Villalgado S. Effects of pulque (a mild alcoholic beverage widely used by Mexican rural mothers during pregnancy and lactation). En: Atkinson SA, Hanson LA, Chandra RK. Breast feeding, nutrition and infection and infant growth in developed and emerging countries. Canada: Arts Biomedical, 1990:563.
- Rosett HL, Weiner L, Lee A, Zuckerman B, Dooling E, Oppenheimer E. Patterns of alcohol consumption and fetal development. *Obstet Gynecol* 1983;61:539-46.
- Hanson JW, Streissguth AP, Smith DW. The effects of moderate alcohol consumption during pregnancy on fetal growth and morphogenesis. *J Pediatr* 1978;92:457-60.
- Lieber CS. The influence of alcohol on nutritional status. *Nutr Rev* 1988;46:241-54.
- Jatlow P. Acute toxicology of ethanol ingestion. *Am J Clin Pathol* 1980;74:721-4.
- Mills JL, Graubard BI, Harley EE, Rhoads GG, Berendes HW. Maternal alcohol consumption and birth weight: How much drinking during pregnancy is safe?. *JAMA* 1984;252:1875-9.
- Rovinski B, Hosein EA, Lee H. Effect of maternal ethanol ingestion during pregnancy and lactation on the structure and function of the postnatal rat liver plasma membrane. *Biochem Pharmacol* 1984;33:311-7.
- Brien JF, Loomis CW, Tranmer J, McGrath M. Disposition of ethanol in human maternal venous blood and amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1983;146:181-6.

Samuel Flores-Huerta  
Homero Hernández-Montes  
Rosa María Argote  
Salvador Villalpando

Growth and Development  
Division, Unidad de Investigación  
Biomédica, Hospital 'Luis  
Castelazo Aynala' IMSS,  
México City, México

## Effects of Ethanol Consumption during Pregnancy and Lactation on the Outcome and Postnatal Growth of the Offspring

### Key Words

Alcoholism  
Lactation  
Fetal alcohol syndrome  
Infant growth

### Abstract

Although information about the pregnancy outcome of alcoholic mothers is relatively abundant, no information is available about the effects of ethanol consumption on the infant's postnatal growth. This investigation aims to describe the physical growth of 32 infants born to mothers accustomed to drinking pulque, a mild alcoholic beverage, on a daily basis during pregnancy and lactation and to quantitate the ethanol disposed through the milk, as well as to identify cases of newborns with fetal alcohol syndrome. No full-blown cases of the syndrome were found; birth weight was similar to their non-drinking counterpart, but the relative risk of newborns to drinking mothers to have a low birth weight was 3.39. Ethanol found in milk accounted for 40 mg/day available to the infant. The postnatal growth of infants of ethanol drinkers was similar to that of controls. Further studies on their mental development are required in order to understand the extent of the effects of such a habit.

### Introduction

During a survey carried out in the Indian (Otomí) community of San Mateo Capulhuac, Mexico, it was found that 30% of a group of pregnant and lactating women consumed up to 2 liters of pulque per day, a 3% alcoholic beverage made of the fermented

juice of *Agave atrovirens*. In many rural areas of Central Mexico, pulque is usually consumed together with meals, i.e. as part of the normal diet from very early childhood. Under these conditions, it is assumed to provide up to 15% of the energy requirements of 20- to 50-year-old adults [1]. Mothers are encouraged by the community to drink pulque espe-

Received:  
April 16, 1991  
Accepted:  
November 11, 1991

Salvador Villalpando, MD  
Apartado Postal 7-1069  
México, D.F. 06700 (México)

© 1992  
S. Karger AG, Basel  
0250-6807/92/  
0361-0121\$2.75/0



cially during pregnancy and lactation, because of the belief that this enhances milk production.

In lactating mothers, while theoretically providing an additional energy load of 400-800 kcal to their impoverished daily diet of 1,700 kcal [2, 3], this habit implies a daily intake of 27-54 g (0.5-1.0 g/kg body weight) of ethanol as well. The amount of ethanol presumably consumed per day by this group of mothers is high enough to classify them as drinkers [4].

After ethanol has been ingested, it is distributed to all organic fluids and excreted mainly through the urine, breath and milk [5, 6]. Infants may ingest variable amounts of ethanol diluted in maternal milk; however, quantitative information is not available. Pulque may be an important source of supplementary calories for the mother but a potential toxicological risk for the fetus which will endanger the postnatal growth of infants as well.

This investigation aims to study the effects of ethanol consumed as pulque, by a group of mothers during pregnancy and lactation, on the fetal and postnatal growth of the offspring, as well as its disposition through the maternal milk.

### Material and Methods

For this study 110 clinically healthy mothers were recruited during the last trimester of gestation from among the pregnant women of San Mateo Capulhuac, a village of 4,000 inhabitants, where the prevalence of natural lactation is 95% up to 6 months postpartum. They ranged in age from 15 to 44 years, in parity from 2 to 4. All were willing to exclusively breast-feed their infants. A set of 16 mothers was excluded from the analysis because of dropping off or failing to attend 4 or more clinic visits. The final sample included 94 mothers; of these, 32 drank 1-2 liters of pulque per day during pregnancy and planned to do so throughout lactation, in accordance to their cultural beliefs. A group

of 62 nondrinking mothers of similar age, parity and height for age ratio served as controls. An approved informed-consent agreement was signed by the participant and her husband after a careful explanation of the nature and goals of the study.

#### *Studies on Mothers*

**Pulque Composition and Ethanol Disposal.** Eleven of the pulque drinkers volunteered for an experiment on ethanol excretion. Six of them received 0.12-0.31 g/kg body weight of ethanol as pulque and the remaining five 0.39-0.55 g/kg. These doses were contained in variable amounts of pulque. Around 9 h a.m. the mothers ate a typical and standardized breakfast consisting of corn tortillas, beans and tea, together with the customary amount of pulque. Blood and milk samples were obtained at regular intervals up to 180 min after pulque had been consumed. Blood serum was separated and the milk defatted and stored at -20 °C until duplicate determinations of ethanol were performed. The pulque consumed was measured, and an aliquot was separated and treated with perchloric acid in order to stop fermentation. The ethanol and total carbohydrate content of each sample was determined. Ethanol was measured by an enzymatic technique [7] and total carbohydrate by colorimetry with anthrone [8]. The total pulque intake was evaluated at 6 monthly occasions by 24-hour recall. Daily ethanol intake was estimated averaging the 6 individual intakes multiplied by the mean ethanol concentration found in the pulque samples from the disposal study. Cigarette consumption was inquired and recorded at each clinic visit.

#### *Studies on Infants*

Within the first 24 h after delivery a careful physical examination of the newborn was carried out searching for signs of prematurity in accordance with Usher's scale and of fetal alcohol syndrome using a checklist [9]. Fetal growth was graded in accordance with birth weight and head circumference. Every 2 weeks during clinic visits, besides a routine physical examination, incidence and characteristics of episodes of acute infection were recorded and anthropometry measurements including weight, recumbent length and head circumference were taken in accordance with procedures currently in use [10, 11]. Weight for age, weight for height and height for age were calculated, using as a reference data published by the US National Center for Health Statistics (NCHS) [12], and graded in accordance with Gomez' [13] and Waterlow's criteria [14]. Anthropometric variables were correlated to postnatal age by means of polynomial models selecting

**Table 1.** Some clinical and dietary characteristics of mothers under study

|                       | Ethanol drinkers<br>(n = 32) | Nondrinkers<br>(n = 62) |
|-----------------------|------------------------------|-------------------------|
| Age, years            | 29 (6)                       | 25.5 (6)*               |
| Weight, kg            | 54.6 (6.2)                   | 52.7 (5.6)**            |
| Height, cm            | 151 (6)                      | 149 (5)**               |
| <i>Dietary intake</i> |                              |                         |
| Energy, kcal          |                              |                         |
| Total                 | 2,012 (568)                  | 1,754 (435)**           |
| Nonalcoholic source   | 1,887 (547)                  | NS                      |
| Protein               |                              |                         |
| g/dny                 | 49.4 (16.0)                  | 45.6 (15.0)             |
| g/kg BW/day           | 0.92 (0.30)                  | 0.91 (0.30)             |
| Ethanol               |                              |                         |
| High dose             |                              |                         |
| g/day                 | 29.8 (13.1)                  | -                       |
| g/kg BW/day           | 3.3-58                       | -                       |
| Low dose              |                              |                         |
| g/day                 | 0.55 (0.21)                  | -                       |
| g/kg BW/day           | 0.14-1.10                    | -                       |

\* p < 0.05; \*\* p < 0.001 comparing pulque versus no pulque groups (min-max).

Results are indicated as means, SD are given in parentheses. BW = Body weight.

the best fit by the step-by-step method [15]. Frequencies were expressed and compared as relative risks and confidence intervals; statistical significance was tested by Fisher's exact test [16].

## Results

Results are expressed as means  $\pm$  standard deviation (SD), otherwise as indicated in the text.

### Maternal Studies

The group of pulque-drinking mothers had an average age of  $29.0 \pm 5.9$  years, height of  $151.0 \pm 5.0$  cm, while nondrinking mothers

had  $25.5 \pm 6.0$  years and  $149.0 \pm 5.2$  cm, respectively. The estimated ethanol ingestion per day varied from 3.3 to 58 g/day, the average intake per kilogram of body weight being 0.55 g (table 1). None of the mothers declared to smoke cigarettes or other materials.

*Composition of Pulque and Ethanol Disposal.* Ethanol and total carbohydrate concentrations in 11 samples of pulque varied from 1.3-4.0 to 3.0-7.0 g/dl, respectively. The mothers consumed their customary amount of pulque, varying from 375 to 1,000 ml with a total ethanol content varying from 6.9 to 36.1 g; in accordance with these results, the mothers were divided into two dose groups, low and high, using 0.40 g/kg body weight/

**Table 2.** Variations of ethanol concentrations in plasma and milk of lactating mothers after pulque was consumed

| Case             | Ethanol dose g/kg | Ethanol concentration, mg/dl |       |        |       |         |       |
|------------------|-------------------|------------------------------|-------|--------|-------|---------|-------|
|                  |                   | 60 min                       |       | 90 min |       | 120 min |       |
|                  |                   | plasma                       | milk  | plasma | milk  | plasma  | milk  |
| <i>Low dose</i>  |                   |                              |       |        |       |         |       |
| 1                | 0.12              | 10.5                         | 11.5  | 3.1    | 3.1   | 0.5     | 0.0   |
| 2                | 0.15              | 4.5                          | 3.5   | 3.1    | 3.2   | 3.0     | 3.2   |
| 3                | 0.20              | 9.4                          | 9.7   | 7.4    | 7.4   | 0.3     | 0.5   |
| 4                | 0.20              | 13.4                         | 11.6  | 6.6    | -     | 3.6     | 2.5   |
| 5                | 0.30              | 9.5                          | 7.7   | 4.5    | 3.9   | 5.0     | 8.2   |
| 6                | 0.31              | 6.5                          | 6.6   | 3.8    | 3.1   | 7.4     | 7.2   |
| Mean             | 0.21              | 9.0                          | 8.4   | 4.8    | 4.1   | 3.3     | 3.6   |
| SD               | 0.10              | 3.1                          | 3.0   | 1.8    | 1.9   | 2.7     | 3.4   |
| <i>High dose</i> |                   |                              |       |        |       |         |       |
| 7                | 0.29              | 22.0                         | 20.8  | 17.3   | 15.0  | 10.1    | 9.7   |
| 8                | 0.38              | 21.4                         | 20.1  | 15.8   | 11.2  | -       | -     |
| 9                | 0.42              | 38.5                         | 35.6  | 41.0   | 40.6  | 33.2    | 24.5  |
| 10               | 0.55              | 25.2                         | 22.7  | 30.3   | 23.8  | 32.6    | 14.5  |
| 11               | 0.55              | 30.0                         | 31.6  | 29.4   | 30.8  | 27.6    | 29.4  |
| Mean             | 0.44              | 27.4*                        | 26.1* | 26.7*  | 24.3* | 25.8*   | 22.0* |
| SD               | 0.11              | 7.1                          | 7.0   | 10.4   | 11.9  | 10.8    | 8.5   |

\* p < 0.01: significant intergroup differences.

dose of ethanol as a cutoff point. The average ethanol intake was 0.21 g/kg body weight for the low-dose group and 0.44 g/kg for the high-dose group. In the high-dose group the plasma ethanol peaked at 60 min ( $27.4 \pm 7.1$  mg/dl) and remained stable up to 120 min ( $25.9 \pm 10.8$  mg/dl). In the low-dose group ethanol also peaked at 60 min ( $9.0 \pm 3.1$  mg/dl), but it was significantly lower than in the high-dose group ( $p < 0.001$ ); concentrations were negligible ( $3.3 \pm 2.7$  mg/dl) at 120 min. Milk concentrations of ethanol were very close to those observed in plasma and followed a very simi-

lar pattern (table 2). Spot determinations of ethanol in the plasma of nondrinking mothers were always negative.

#### Studies on Infants

*Screening for Fetal Alcohol Syndrome and Fetal Growth Evaluation.* Congenital malformation or other signs consistent with the syndrome were not found. Mean birth weights of infants born to ethanol drinkers and nondrinkers were similar. No differences were found, neither in birth length nor head circumference; however, when the frequency

**Table 3.** Some anthropometric variables of newborns of drinking and nondrinking mothers

|                               | Nondrinking mothers | Drinking mothers | t test p | Relative risk | Confidence interval | Fisher's exact test, p |
|-------------------------------|---------------------|------------------|----------|---------------|---------------------|------------------------|
| <i>Birth weight, kg</i>       |                     |                  |          |               |                     |                        |
| Males                         | 3.12 (0.34)         | 2.98 (0.26)      | NS       |               |                     |                        |
| Females                       | 2.94 (0.35)         | 2.96 (0.48)      | NS       |               |                     |                        |
| Cases below 3rd percentile    | 4/62                | 7/32             |          | 3.39          | 0.92-20.3           | <0.03                  |
| <i>Birth length, cm</i>       |                     |                  |          |               |                     |                        |
| Males                         | 48.9 (1.2)          | 47.6 (1.1)       | NS       |               |                     |                        |
| Females                       | 49.1 (1.3)          | 48.3 (3.0)       | NS       |               |                     |                        |
| <i>Head circumference, cm</i> |                     |                  |          |               |                     |                        |
| Males                         | 35.7 (1)            | 34.8 (1.3)       | NS       |               |                     |                        |
| Females                       | 34.7 (1)            | 34.5 (0.6)       | NS       |               |                     |                        |
| Cases below 3rd percentile    | 3/62                | 7/32             |          | 4.25          | 1.12-34.9           | <0.01                  |
| <i>Growth velocity by age</i> |                     |                  |          |               |                     |                        |
| 3 months                      |                     |                  |          |               |                     |                        |
| Weight, g/day                 | 21.5 (4.4)          | 21.3 (3.7)       | NS       |               |                     |                        |
| Length, cm/day                | 0.085 (0.009)       | 0.085 (0.011)    | NS       |               |                     |                        |
| 6 months                      |                     |                  |          |               |                     |                        |
| Weight, g/day                 | 8.8 (6.9)           | 10.0 (6.1)       | NS       |               |                     |                        |
| Length, cm/day                | 0.035 (0.027)       | 0.030 (0.22)     | NS       |               |                     |                        |

Results are indicated as means. SD are given in parentheses.

and the relative risk of birth weights below the 3rd percentile were calculated, they gave higher results in infants born to ethanol drinkers. Similarly the relative risk of a head circumference below the 3rd percentile at birth was greater in this group. Because one of the expected-value cells was inferior to 5 in each case, we used Fisher's exact test to contrast differences: p values were significant (table 3).

*Postnatal Infant Growth.* Although at birth, infants born to ethanol drinkers had similar weight, length and head circumference as

their controls, a faster growth of all 3 variables occurred around 2-3 months, to be comparable in both groups up to 6 months (fig. 1). Compared to the NCHS reference both groups had significantly lower mean length and weight from 3 months of age ( $p < 0.001$ ). This was reflected by a low percentage of infants with adequate weight and length/age ratios (47 and 58%, respectively). More than 90% had an adequate weight/length ratio.

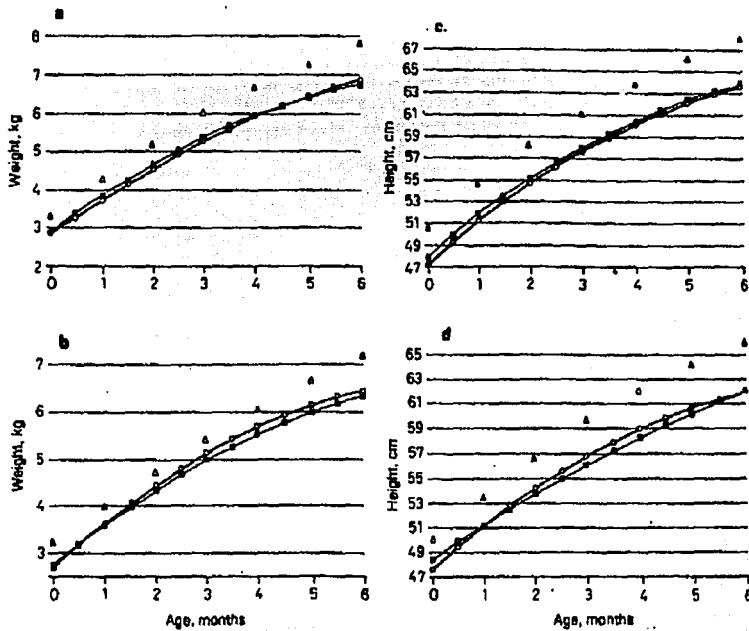


Fig. 1. a, b Mean body weights of male (a) and female (b) infants of pulque drinkers (□) and controls (■) compared to calculated monthly weights corresponding to the 50th percentile of NCHS [12] data (—). There is a significant difference among study groups and the reference data, but no difference exists be-

tween infants of pulque-drinking mothers and their controls. c, d Identified by the same key marks, mean heights of male (c) and female (d) infants of the two study groups and the reference data. The mean heights of both groups run below the reference, but no differences were found between the two study groups.

## Discussion

Although, as published elsewhere [17], long-term consumption of pulque may have some beneficial nutritional effects on the mother, the data demonstrated that infants to drinking mothers had a similar birth weight as their nondrinking counterpart, but this habit represents a higher risk of lower birth weight

and smaller head circumference. The former might be a consequence of the smaller size of the newborn [18, 19]. Nevertheless none of the newborns showed other signs associated with fetal alcohol syndrome. A dose-effect relationship between alcohol intake and the frequency of fetal alcohol syndrome has been demonstrated [17]. This relationship occurs particularly in those mothers consuming 30-

75 ml/day of alcohol [4, 20]; this implies, in an ideal pregnant woman weighing 70 kg, an intake of 1 g/kg body weight/day of ethanol or more. At least 60% of the mothers in this study drank less than this amount. Most of the reported fetal alcohol syndrome series [4, 21-24] relate to mothers whose daily ethanol intake largely exceeded that of the mothers in our series.

Despite the higher frequency of cases born with a body weight below the 3rd percentile in the pulque-drinking group, the postnatal growth of both groups was comparable up to 6 months of age, and the weight/length ratio was quite adequate in all cases. It is important to point out that none of the mothers in both groups smoked during pregnancy and lactation.

Theoretical calculations of the alcohol excreted in milk, taking the highest milk concentration of ethanol observed in this study and assuming this to be constant throughout 24 h and assuming the average milk output of these mothers to be 850 ml [25], give a figure of 340 mg/day. This figure is fivefold below the average toxic dose to cause euphoria in an adult [26, 27]. There is no information about how toxic this could be for an infant. It has to

be considered, however, that the activity of the enzymes related to alcohol detoxification, such as ethanol dehydrogenase, are low in infants [28]. When both groups were compared to exclusively breast-fed urban infants or to the NCHS reference data, their growth was significantly lower. Both weight and height were affected. Differences in feeding modes and sanitation may be associated with their stunted growth. In this study control mothers were not systematically checked for alcohol presence in the blood, which might have resulted in individuals misclassified as nondrinkers; in this case differences should be higher than those reported herein.

In summary we present evidence that the chronic consumption of a mild alcoholic beverage (pulque) during pregnancy produces no effects on the mean birth weight or length of the offspring, but a higher frequency of cases with a birth weight below the 3rd percentile of NCHS. No recognizable effects on the postnatal growth were detected. Further studies on the mental development of these infants are required in order to understand the extent of the effects of such a habit.

---

## References

- 1 Anderson RK, Szranyo G, Colvo J, Payne GC: Estudio del estado de nutrición y los hábitos alimentarios de comunidades autónomas en el Valle del Mezquital en México; in Rivera DJ, Casanueva F (eds): Estudios epidemiológicos sobre desnutrición infantil en México, 1980-1980, Mexico City, Instituto Mexicano del Seguro Social, 1980, pp 101-144.
- 2 Villalpando S, Hernández-Montes H, Fajardo A, Flores-Huerta S: Physical growth of exclusively breast-fed infants of two differently nourished communities of Mexico; in Atkinson SA, Hanson LA, Chandra RK (eds): Breast Feeding, Nutrition, Infection and Infant Growth in Developed and Emerging Countries, St. John's Canada, Arts Biomedical Publishers and Distributors, 1990, vol 4, pp 553.
- 3 Flores S, Hernández H, Argote RM, Villalpando S: Effects of pulque (a mild alcoholic beverage widely used by Mexican rural mothers during pregnancy and lactation) on infant growth: Ethanol disposal through-out milk; in Atkinson SA, Hanson LA, Chandra RK (eds): Breast Feeding, Nutrition, Infection and Infant Growth in Developed and Emerging Countries, St. John's, Canada, Arts Biomedical Publishers and Distributors, 1990, vol 4, p 563.

- 4 Mills H, Grouboud BL, Hanvey EF, Rhoads GC, Berendes HW: Maternal alcohol consumption and birth weight. *JAMA* 1984;252:1875-1879.
- 5 Kesaniemi YA: Ethanol and acetaldehyde in the milk and peripheral blood of lactating women after ethanol administration. *J Obstet Gynecol Br Commun* 1974;81:84-86.
- 6 Lawton ME: Alcohol in breast milk. *Aust NZ J Obstet Gynecol* 1985;25:71-73.
- 7 Kounr J, Schneider J, Skurshy L, Dubsky II: A new photometric assay for blood alcohol. *Anal Biochem* 1984;137:74-79.
- 8 Jermyn MA: Increasing the sensitivity of anthrone method for carbohydrate. *Anal Biochem* 1975;68:332-335.
- 9 Jarren SK: Recognition of fetal alcohol syndrome. *JAMA* 1981;245:2436-2437.
- 10 Cameron N: The methods of nutritional anthropometry; in Falkner H, Tanner JM (eds): *Human Growth: A Comprehensive Treatise*. New York, Plenum Press, 1986, vol 3, pp 3-46.
- 11 Habitch JJ: Estandarización de métodos epidemiológicos cuantitativos sobre el terreno. *Bol Of Sanit Panam* 1974;76:375-384.
- 12 National Center for Health Statistics: NCHS Growth Curves for Children Birth - 18 Years. Hyattsville National Center for Health Statistics, 1977, Ser 11, No 165.
- 13 Gómez F: Desnutrición. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1946;3:543-551.
- 14 Waterlow JC: Classification and definition of protein malnutrition. *Br Med J* 1971;iii:566-569.
- 15 Snedecor GW, Cochran WG: *Statistical Methods*, ed 7. Ames, Iowa State University Press, 1980.
- 16 Kleinbaum DG, Kupper LJ, Morgenstern H: *Epidemiologic Research*. Belmont, Lifetime Learning Publications, 1982.
- 17 Argote RM, Flores-Huerta S, Hernández H, Villalpando S: Depuración del etanol en el plasma y su excreción al través de la leche en mujeres rurales que consumen pulque. *Rev Invest Clin* 1992;44:12-17.
- 18 Abel EL, Dintcheff BA: Prenatal effects of alcohol on growth: A brief overview. *Fed Proc* 1985;44:2318-2322.
- 19 Rosett III., Weiner L, Lee A, Zuckerman B, Dooling E, Oppenheimer E: Patterns of alcohol consumption and fetal development. *Obstet Gynecol* 1983;61:539-546.
- 20 Little RE: Moderate alcohol use during pregnancy and decreased infant birth weight. *Am J Public Health* 1977;67:1154-1156.
- 21 Beattie JO, Dny RE, Cockburn F, Giorg RA: Alcohol and the fetus in the West of Scotland. *Br Med J* 1983;19:513-518.
- 22 Chernick V, Chidjajeva R, Inffe S: Effects of maternal alcohol intake and smoking on neonatal electroencephalogram and anthropometric measurements. *Am J Obstet Gynecol* 1983;146:41-47.
- 23 Rosett III, Weiner L, Lee A, Zuckerman GB, Dooling E, Oppenheimer E: Patterns of alcohol consumption and fetal development. *Obstet Gynecol* 1983;61:539-546.
- 24 Hanson JW, Streissguth AP, Smith DW: The effects of moderate alcohol consumption during pregnancy on fetal growth and morphogenesis. *J Pediatr* 1978;92:457-460.
- 25 Villalpando S, Butte N, Wang W, Flores-Huerta S, Hernández-Beltrán MJ, Smith EO, Garza C: Lactation performance of rural Mesoamerican Indians. *Am J Clin Nutr*, submitted.
- 26 Jatlew P: Acute toxicology of ethanol ingestion. *Am J Clin Pathol* 1980;74:721-724.
- 27 Dubowski KM: Alcohol determination in the clinical laboratory. *Am J Clin Pathol* 1980;74:747-750.
- 28 Pekkarainen PH, Raina NCR: Development of alcohol dehydrogenase activity in the human liver. *Pediatr Res* 1967;1:165-168.