



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÈXICO

FACULTAD DE QUIMICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EDAD MATERNA Y RESTRICCIÓN NUTRICIONAL: EFECTO
EN LA PROGENIE DE LA RATA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLINICA

P R E S E N T A :

BQC. LUIS ANTONIO REYES CASTRO

DIRECTORA: DRA ELENA ZAMBRANO GONZALEZ

México D.F

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente
Vocal
Secretario
1er suplente
2do suplente

M en C. Guadalupe Ortiz López
M en C. Isela Montufar Robles
Dra. Maria de los Ángeles Granados S.
M en C Mario Cardenas León
EBC Lina Romero Guzmán

**Trabajo realizado en el Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto
Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán**

Asesor del Tema:

Dra. Elena Zambrano González

Sustentante:

BQC. Luis Antonio Reyes Castro

AGRADECIMIENTOS:

- ❖ Le agradezco a Dios, por brindarme la sabiduría y permitirme llegar a su fin una mas de mis metas de mi vida
- ❖ A mi madre por darme la oportunidad de lograr mi más grande sueño y por todo su cariño y comprensión.
- ❖ A la familia Stevens Maldonado, González Stevens y el Sr Vicente Camacho por todo su afecto y apoyo brindado.
- ❖ A Lupita, Sergio, Claudia, Magali, José y Nadia por su ayuda, cariño, amistad y comprensión en los momentos difíciles de mi vida.
- ❖ A la Dra. Elena Zambrano por su confianza, paciencia y dedicación para la realización de este proyecto.
- ❖ Al Dr. Fernando Larrea por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto.

DEDICATORIA:

- ❖ A mi madre por ser una persona excepcional y digna de admiración
- ❖ A mis compañeros y amigos por impulsarme a seguirme superando y por todos los momentos inolvidables que compartimos.
- ❖ A mi familia, por toda su confianza y entusiasmo que me transmitieron para seguir adelante en mi vida profesional.

INDICE DE CONTENIDO

	PAGINAS
ABREVIATURAS	1
RESUMEN	2
INTRODUCCION	3
1.0 Programación en la vida fetal	3
1.1 Importancia de la placenta en la programación	7
1.2 Restricción placentaria	9
1.3 Papel de la madre en la regulación del crecimiento fetal	10
1.3.1 El genoma y el ambiente materno	10
1.3.2 La ingesta materna de los nutrientes	11
1.3.3 Influencia de la edad materna	13
1.4 Funciones metabólicas del hígado	15
2.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
3.0 HIPÓTESIS	17
4.0 OBJETIVO GENERAL	18
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES	18
5.0 MATERIAL Y METODOS	19
5.1 Manejo de animales	19
5.2 Alimentación	20
5.3 Grupos experimentales	21
5.4 Manejo de crías al nacimiento	22
5.5 Parámetros morfométricos	22
5.6 Obtención de muestras biológicas	22
5.7 Determinaciones Bioquímicas	23
6.0 ANÁLISIS ESTADISTICO	25
7.0 RESULTADOS	26
7.1 Efecto de la restricción proteínica sobre el peso de la madre	26
a) Gestación	26
b) Lactancia	27
7.2 Edad materna y restricción nutricional: efecto en las crías	29
7.2.1 Parámetros morfométricos al nacimiento	29
7.2.2 Perfil de crecimiento	31
a) 21 d de vida postnatal	31
b) 90 d de vida postnatal	34
7.2.3 Peso del hígado al día del destete	37
7.2.4 Determinaciones de glucosa, insulina y leptina	40
8.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS	44
9.0 CONCLUSIONES	48
10.0 BIBLIOGRAFIA	49

ABREVIATURAS:

ANOVA	análisis de varianza
C.	control
Cat.	catálogo
CC	control durante la gestación y la lactancia
CIUR	crecimiento intrauterino retardado
CR	restringido únicamente en la lactancia
d.	días
G6PDH:	glucosa 6 fosfato deshidrogenada
HK:	hexocinasa
IGF:	factor de crecimiento insulinoide
IGF-IR:	receptor del factor de crecimiento insulinoide
Kcal:	kilocalorías
M:	madres
ng/ml:	nanogramos por mililitro
R:	restringida
RC:	restringido durante el embarazo
r.p.m:	revoluciones por minuto
RIA:	radioinmunoanálisis
RR:	restringido en ambos periodos

RESUMEN

El embarazo durante la adolescencia se caracteriza por la competencia de nutrientes entre la madre y el feto, ya que estos no pueden ser utilizados adecuadamente por el feto, debido a que también son empleados por la madre en crecimiento para satisfacer sus necesidades fisiológicas. La exposición materna a diferentes perturbaciones durante el embarazo y la lactancia, tiene efectos adversos en el fenotipo de los descendientes aumentando el riesgo de padecer enfermedades en la vida adulta.

En el presente estudio se evaluó el efecto de la restricción proteínica a diferentes edades maternas sobre el crecimiento, desarrollo y metabolismo de la progenie de la rata. Se emplearon ratas de la cepa Wistar que fueron apareadas a los 70, 120 y 150 días (d) de edad, alimentadas con dietas isocalóricas: control 20% o restringida 10 % caseína; los grupos experimentales fueron control (CC) durante la gestación y lactancia, restringida (RR) durante ambos periodos, restringida únicamente en la lactancia (CR) o durante el embarazo (RC). Durante la gestación y la lactancia se determinó la ganancia de peso de las madres. Al día del parto se valoraron las medidas morfométricas de las crías. Se registró el peso desde el nacimiento hasta el fin de la lactancia; posteriormente dos veces por semana hasta los 90d de edad. A los 21 d de lactancia, dos crías fueron sacrificadas por decapitación y se obtuvo el peso del hígado. A los 220d de edad, se extrajo sangre por vía retroocular para cuantificar glucosa, insulina y leptina. Los grupos fueron comparados por ANOVA de dos vías, seguida por una prueba de post Hoc de Tukey. Los datos fueron expresados como media \pm error estándar $p < 0.05$.

Con base en los resultados obtenidos, al inicio del embarazo, el peso corporal de las madres en crecimiento (70d) fue menor con respecto a las madres de 120 y 150d. El mismo comportamiento se observó al final del embarazo. Durante la lactancia, el peso corporal fue menor en los grupos RR y CR y mayor en el RC con respecto al CC de la misma edad. Al comparar entre grupos y edades experimentales podemos visualizar que las madres de 150 d presentaron mayor peso en comparación con las otras edades maternas.

Al nacimiento, al comparar entre edades y dietas experimentales, no se encontraron diferencias en las medidas morfométricas de las crías. Por otra parte, el peso del hígado de las crías provenientes de las diferentes edades maternas, fue menor en los grupos (RR y CR) y mayor en el RC en función al CC.

Con respecto al perfil de crecimiento de las crías, se encontró que las crías provenientes de madres de 70d presentaron mayor peso en comparación con las otras edades evaluadas. A los 90 días de edad, las crías hembras del grupo RR de M 120d fueron más pequeñas. En cuanto a los machos, el peso fue menor en las crías RR de madres de 150d.

A los 220 d de vida, la concentración de glucosa y de insulina se incrementaron en las crías hembras y machos provenientes de M 150d; sin embargo las crías de M 70d presentaron una mayor producción de Leptina en comparación con las otras edades maternas.

Los resultados obtenidos sugieren que la restricción proteínica materna durante la gestación y la lactancia afecta negativamente el crecimiento y desarrollo de las crías, sin embargo el impacto es mayor cuando la madre está en crecimiento probablemente porque utiliza los nutrimentos para finalizar su desarrollo y al mismo tiempo tratar de optimizar el crecimiento del feto.

INTRODUCCION:

1.0 PROGRAMACION EN LA VIDA FETAL

El crecimiento y desarrollo fetal e infantil, constituyen los periodos de más plasticidad celular (diferenciación y maduración) en tejidos y órganos (**Ozzane SE,2004**), que son determinados por exposición a factores ambientales, función útero-placentaria (**Godfrey KM,2002**), vulnerabilidad genética y ambiente intrauterino y postnatal en el que se desenvuelve el individuo (**Charmandari E,2005**). Cuando las circunstancias son óptimas ninguno de estos factores es limitante en el crecimiento y desarrollo fetal.

Gluckman, describe que la programación del desarrollo involucra perturbaciones durante periodos críticos del desarrollo fetal que alteran la estructura y la función de distintas células, órganos, sistemas o rutas homeostáticas (**Gluckman PD,2004**).

Actualmente se ha dado una definición en la cual se entiende como el proceso mediante el cual diferentes condiciones (que pueden ser o no adversas) durante periodos críticos, determinan el estado de salud y enfermedad en la vida adulta del individuo (**Guzmán C,2007**).

En 1986, Baker inició una serie de estudios epidemiológicos que mostraron correlación entre el bajo peso al nacer y el incremento en el riesgo de padecer enfermedades coronarias (**Barker DJ,1998**). Posteriormente identificaron la relación que existe entre el peso y el fenotipo al nacimiento con padecimientos propios en la vida adulta (**Barker DJ,2002**) (Figura 1) tales como: el desarrollo de diabetes tipo II (**Dallar Y,2007**), obesidad (**Tian JY,2006**), cambios en la concentración del perfil de lípidos en plasma (**Davies AA,2004; Zambrano E,2006**), alteración en la densidad mineral ósea (**Akcakus M,2006**), respuesta alterada al estrés, disminución de la elasticidad arterial (**Painter RC,2007**), presencia de patrones específicos de secreción hormonal (**Guzmán C,2006; Szathmári,2000; Zambrano E,2005**), y una gran incidencia de depresión (**Postic C,2004**).

Dichos estudios revelan que el peso bajo al nacimiento ocasionado por la restricción durante el periodo de gestación y/o lactancia, es un factor de riesgo en la vida futura, para el desarrollo de la obesidad, de la diabetes (**Ravelli AC,1998**), resistencia a la insulina (**Stocker CJ,2005**), de la disfunción inmune, de la enfermedad cardiovascular (**Barker DJ,2002**) y eje reproductivo (**Guzman C,2006; Polin R,2004;Zambrano E,2005**) entre otros.

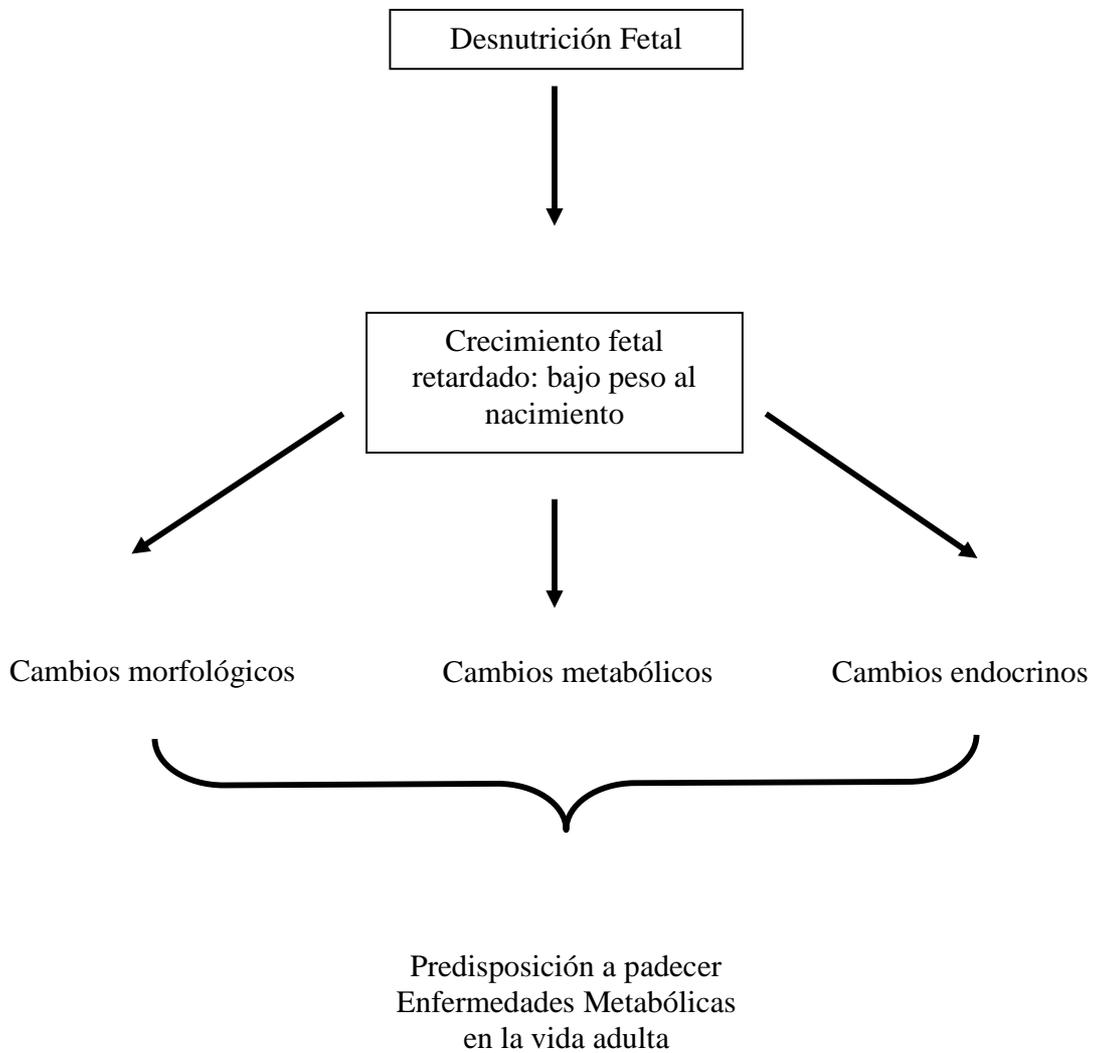


Figura 1: Mecanismos de adaptación fetal a la desnutrición intrauterina.

De estas observaciones surge la hipótesis del fenotipo ahorrador, la cual propone que el feto es capaz de adaptarse a un ambiente intrauterino adverso para optimizar el uso de un suplemento energético reducido, de manera que garantice su supervivencia (Wells JC,2007) (Figura 2)

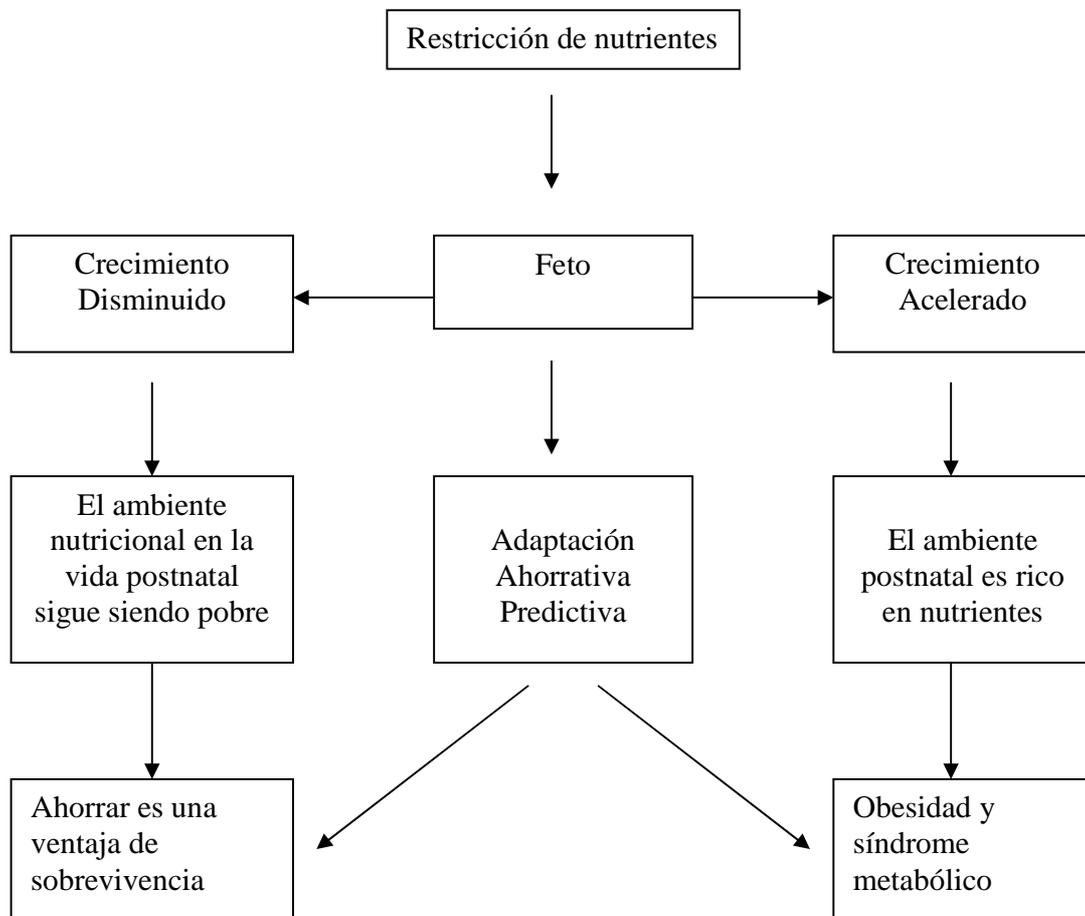


Figura 2: Hipótesis del fenotipo ahorrador

En consecuencia, las etapas fetal y neonatal son las de mayor riesgo en la programación de la salud y la enfermedad. La exposición materna a diferentes perturbaciones durante el embarazo y la lactancia, tienen consecuencias adversas en el fenotipo de los descendientes **(Hales CN,2001)**

Dentro de los factores principales que afectan la programación del desarrollo tenemos: 1) la exposición fetal a glucocorticoides que son inapropiadamente altos para la etapa actual del desarrollo **(Nyirenda MJ,2001)**, 2) restricción global de nutrientes **(Garofano A,1998)**, 3) exposición materna a una dieta isocalórica baja en proteínas **(Reusen B & Remacle,2001a; 2001b)**, 4) restricción del flujo sanguíneo a nivel uterino **(Neitzke U,2008)**; diabetes materna gestacional **(Holemans K,2003)**, tabaquismo **(Good CH,2006)** y alcoholismo **(Lan N,2006)**.

Muchos de estos factores provocan reducción del flujo sanguíneo hacia el útero, lo cual reduce el suministro de nutrientes y oxígeno que llegará a la placenta y al feto. Esta disminución terminará produciendo retraso en el crecimiento fetal **(Wallace JM,2004)**.

Desde el punto de vista biológico, cada organismo que sobrevive y se reproduce, está por definición adaptado a su ambiente. El individuo desnutrido se adapta a éstas condiciones mediante el lento aumento de peso corporal sobretodo en periodos tempranos del desarrollo, además de ajustar su metabolismo a la deficiente disponibilidad de nutrimentos **(Barker DJ,2001)**

Sin embargo, una vez adaptado la estrategia de supervivencia exige condiciones de adaptación que realmente beneficien al individuo. La adaptación más exitosa del feto será la continua flexibilidad durante todo su desarrollo, en donde podrá permanecer pequeño y eficiente si el ambiente postnatal no es abundante **(Wells JC,2003)**.

El retraso en el crecimiento implica que el organismo ha aumentado potencialmente su acondicionamiento, promoviendo su supervivencia inmediata mediante cambios morfológicos, metabólicos y endocrinos permanentes. Sin embargo existe un costo para tal adaptación el cual no aparece sino a largo plazo, en término del estado de salud y mayor riesgo de enfermedades **(Wells JC,2007)**.

1.1 IMPORTANCIA DE LA PLACENTA EN LA PROGRAMACIÓN:

La placenta mantiene la homeostasis fetal debido a la realización de una amplia gama de funciones fisiológicas, las cuales después del nacimiento se llevan a cabo por el riñón, tracto gastrointestinal, pulmones y glándulas endocrinas del neonato. La primera función de la placenta es la de proveer la barrera inmunológica (**figura 3**) entre el feto y la madre mediante la transferencia de gases, iones, nutrientes, además se encarga de producir y secretar una amplia gama de hormonas, citocinas y moléculas que intervienen en el proceso de señalización (**Jansson T,2000**). Así mismo, provee todas las demandas metabólicas del crecimiento y desarrollo fetal (**Scholl T,2000**), desempeñando un papel central en la programación del desarrollo (**Jansson T,2007**).

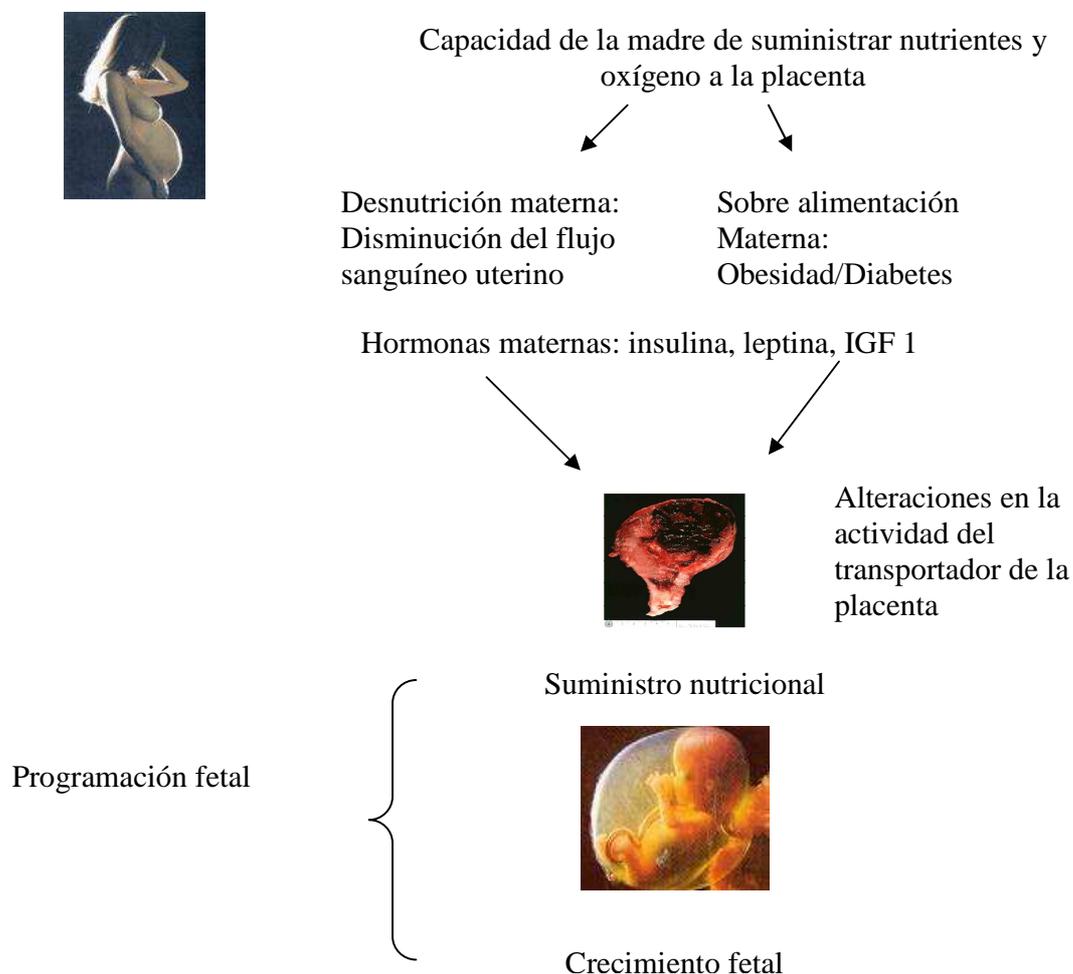


Figura 3: Interacción entre el feto, la placenta y la madre durante el embarazo (Jansson T,2007)

La integridad funcional de la placenta requiere la producción de energía adicional ya que el metabolismo placentario puede ser igual al del feto. Este gran requerimiento energético es esencial para mantener la función de estimular el crecimiento, que incluye transporte activo de aminoácidos (**Paolini C,2001**), síntesis de proteínas (**Jansson T,2002**), hormonas esteroideas y apoyo de la maduración y del crecimiento (**Mendelson CR,2005**).

Recientes estudios demuestran que cuando existe disminución en el flujo sanguíneo uterino, se altera el metabolismo y el transporte de nutrientes placentarios que limitan el crecimiento fetal, lo cual repercutirá en la vida adulta del descendiente (**Wallace JM,2004**).

Además, las perturbaciones en el compartimiento materno pueden afectar el estado de metilación de los genes placentarios y aumentar la tensión oxidativa/reductiva placentaria, dando por resultados cambios en la función de la misma (**Jansson T,2007**).

Actualmente se ha establecido modelos experimentales con ovejas, que evalúan el efecto de varios factores en el crecimiento fetal tales como: el exceso o privación de nutrientes maternos (**Wallace JM,2001**), genotipo materno y fetal, incremento del número de fetos (**Reynolds LP,2001**). Dichas condiciones tienen efectos similares con el tamaño placentario, y con el aporte fetal del oxígeno y del alimento, así como la disminución de la angiogénesis y flujo sanguíneo placentario (**Phipps M,2002**).

1.2 RESTRICCIÓN PLACENTARIA:

La placenta constituye la interface activa entre la circulación sanguínea de la madre y el feto, regulando cambios fisiológicos maternos en el embarazo y crecimiento fetal (**Godfrey KM,2002**). Las perturbaciones tales como: alteración nutricional, producción de citocinas, niveles de cortisol y disminución del flujo sanguíneo útero placentario afecta directamente el desarrollo del feto (**Myatt L,2006**).

La restricción del crecimiento placentario, evidencia cómo la reducción en el peso y talla en la edad gestacional, está asociado con la alteración en el crecimiento postnatal durante los primeros meses de vida (**Chernausk SD,1996**).

Datos epidemiológicos indican que en embarazos humanos, la debilidad en la invasión de las células fetales del trofoblasto, se ha considerado como causa de la escasez placentaria que conduce a un crecimiento intrauterino retardado (CIUR). Esta condición se ha asociado a un número de cambios adaptativos que ocurren en la placenta y el feto (**Pardi G,2002**).

Actualmente se sabe que aproximadamente el 10 por ciento de niños cuyas madres presentaron CIUR siguen siendo pequeños, y las causas se deben a mutaciones en el gen del receptor del factor de crecimiento insulinoide (IGF-IR) que conducen a las anomalías en la función o el número de los receptores para IGF-I, los cuales no sólo retardan el crecimiento a nivel intrauterino sino también en la vida postnatal de los seres humanos (**Abuzzahab MJ,2003**).

La relación entre la nutrición materna y la talla de la placenta en humanos es complicada. Ha sido reportado que la baja ingesta de carbohidratos durante el embarazo provoca el incremento del peso placentario, en particular si comparamos con la alta ingesta de proteínas después del embarazo (**Godfrey K,1996**).

Cuando la demanda nutricional del feto es mayor que el aporte placentario, se desencadena la desnutrición fetal (**Martín-Gronert MS,2006**). El feto humano es capaz de adaptarse a la desnutrición. Sus respuestas incluyen cambios metabólicos, redistribución del flujo sanguíneo y cambios en la producción fetal y placentaria de hormonas reguladores del crecimiento.

La mayoría de las restricciones en el crecimiento fetal son atribuidas a enfermedades placentarias. Sin embargo, la disminución del flujo sanguíneo materno y fetal también pueden deberse a la disminución de la concentración de oxígeno y a la restricción nutricional, donde ambos factores no pueden ser aislados uno del otro (**White MM,2003**).

En los estudios experimentales en ratas donde se analiza la restricción en la vida gestacional, se observa alteraciones como: diabetes, hipertensión y obesidad en la vida de los descendientes. Recientemente se encontró que la restricción placentaria en ovejas reduce la talla al nacer, se incrementa el crecimiento neonatal, hay acumulo de material adiposo, reducción plasmática de la tiroxina total y aumento en la concentración plasmática de la triyodotironina postnatal **(De Blasio MJ,2007)**.

El CIUR, se asocia a crecimiento acelerado después del nacimiento ocasionando disminución en la masa del tejido fino y un predisposición a la obesidad en la vida adulta **(Barker DJ,2006)**.

1.3 EL PAPEL DE LA MADRE EN LA REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO FETAL

1.3.1 el genoma y el ambiente materno

El crecimiento fetal normal implica el incremento en el número de células durante el desarrollo embrionario y fetal, seguido por el incremento en el tamaño de la célula, lo cual llega a ser dominante después de las 32 semanas de gestación. **(Brar HS,1988)** El crecimiento y desarrollo fetal son influenciados tanto por los factores ambientales como genéticos. Los genes maternos tienen una importante influencia específica sobre el crecimiento fetal **(Peleg D,1998)**.

En un estudio de los embarazos con donación de óvulos, Brooks y colaboradores encontraron que los únicos factores que contribuyen al peso al nacer fueron la edad gestacional y el peso de la madre receptora, mientras que el peso de la madre donante no tiene relación con el peso al nacer. Estos estudios indican que el medio ambiente uterino es un factor determinante del crecimiento fetal. **(Brooks AA,1995)**

Una variedad de factores maternos y útero - placentarios limitan el crecimiento del feto. La limitación materna se refiere a la capacidad del útero para apoyar el crecimiento fetal y es importante para limitar el sobre crecimiento fetal y evitar que el parto sea complicado, con la finalidad de garantizar la calidad de vida de la madre en sus próximos embarazos **(Gluckman PD,2002)**.

1.3.2 la ingesta materna de nutrientes

El desarrollo del individuo depende de las condiciones nutritivas que haya tenido durante la vida intrauterina y el periodo postnatal. Diversos factores interactúan para determinar el progreso y el resultado del embarazo. Aunque todavía falta mucho por estudiar, se sabe que el estado nutricional de la mujer embarazada juega un papel muy importante en la programación del feto (**Mahan K,2001; Zambrano E,2006**).

El ambiente intrauterino en el que vivimos establece el que alcancemos un crecimiento pleno y potencial. El ambiente intrauterino de la madre actúa como una poderosa condicionante del desarrollo durante la vida fetal. El crecimiento normal del feto implica un progreso ordenado y secuencial de divisiones y movimientos de las células, cambios en la adhesión de éstas y finalmente muerte celular, también implica la continua interacción de los reguladores genéticos de los cromosomas y nutrimento. El potencial del genoma se ve constantemente modificado por los factores del entorno (**Nathanielsz PW,1995**).

Los factores nutricionales y hormonales son determinantes en el crecimiento y desarrollo del feto, pero en particular depende de los nutrientes y el oxígeno que recibe de la madre (**Holness MJ,2000**). El suministro de nutrientes al feto es la principal influencia que regula su crecimiento y depende en gran medida del estado de salud de la madre, de su composición y talla corporal, su alimentación durante el embarazo, un buen funcionamiento del corazón, del estado endocrino y cardiovascular del feto e incluso de la historia prenatal de la madre (**Barker DJ,2004**). Por lo tanto, la nutrición de la madre afecta de manera determinante el crecimiento y la nutrición del feto (**Gluckman PD,2001**).

La dieta materna, la ingesta de calorías, y cada función metabólica tienen un papel importante que desempeñar en el suministro de nutrientes al feto. Además, alteraciones en el metabolismo de la madre en respuesta a señales hormonales garantiza una reorientación de los nutrientes necesarios a la placenta y la glándula mamaria. El aumento de la ingesta de calorías es necesaria durante el segundo y tercer trimestre para hacer frente a la mayor parte del crecimiento fetal y de la placenta (**Picciano MF,2003**). El consumo de proteínas, es sumamente importante, ya que en algunos estudios se ha demostrado la relación entre el consumo bajo de proteínas durante el embarazo y la alta incidencia de bajo peso al nacimiento de los individuos (**Langley-Evans SC,2000; Moore VM,2004**), otros investigadores no encontraron efecto de la suplementación proteínica sobre el crecimiento fetal en las madres desnutridas (**Lechtig A,1975**). No obstante, la administración de suplementos de calorías o vitaminas específicas en las mujeres desnutridas favorece al aumento del peso de los individuos al nacimiento en situaciones de aguda y / o crónica hambruna (**Ceesay SM,1997**).

El suplemento con ácido fólico, hierro y vitamina A en mujeres embarazadas en Nepal dio lugar al aumento en el promedio de peso al nacer de 37 g y un 16% de reducción en la tasa de bajo peso al nacer en comparación con las mujeres embarazadas que recibieron solo vitamina A. Sin embargo, múltiples suplementos de micro nutrientes como el ácido fólico, zinc, hierro, vitamina A, y otros 10 micro nutrientes no fue de beneficio adicional en comparación con el ácido fólico y hierro, lo que sugiere que la deficiencia de hierro puede ser una causa importante de la reducción del crecimiento (**Christian P,2003**).

La glucosa es un nutriente importante en el control del crecimiento fetal. Estudios realizados en mujeres diabéticas han demostrado, que las bajas concentraciones de glucosa en sangre durante el embarazo debido a un estricto control de la glucemia con lleva a una mayor incidencia de recién nacidos pequeños para la edad gestacional, que por lo contrario de haber mantenido elevadas las concentraciones de glucosa en sangre provocaría una alta incidencia de macrosomía **(Langer O,1989; Leguizamon G,2003)**.

La respuesta metabólica inmediata del feto a la desnutrición es el catabolismo, al consumir sus propios sustratos para obtener energía. En contraste a su incapacidad de almacenar oxígeno, el feto si puede guardar reservas de glucosa, que le servirán como fuente de energía en caso de que la madre no pueda proveerle. La glucosa queda almacenada en forma de glucógeno en su corazón, músculo e hígado, y en la placenta. Si el suministro de glucosa que debe recibir el feto disminuyera, el glucógeno almacenado pasaría a la sangre para que pudiera utilizarlo. Sin embargo, los depósitos de glucógeno del feto son pequeños y quedaría privado del alimento al cabo de un día aproximadamente. Si se gastaran todas sus reservas de glucosa, tendrían que destruir sus propios tejidos, tan recientemente formados, para abastecerse de energía **(Nathanielsz PW,1999)**.

Los mecanismos reguladores de los tejidos de la madre se aseguran que su cerebro esté bien abastecido de todos los nutrimentos que necesita. Inmediatamente después del cerebro de la madre viene el del feto. El feto hace todo lo posible para mantener el crecimiento de su propio cerebro. La desnutrición fetal origina la distribución selectiva de los nutrimentos entre los órganos, protegiendo el crecimiento de algunos como el cerebro, mientras que restringe el de otros tales como hígado y otras vísceras abdominales **(Petry CJ,2001)**.

La desnutrición materna severa restringe el crecimiento fetal y placentario, pero la desnutrición moderada genera el crecimiento normal de la placenta, mas no del feto. La desnutrición al final del embarazo puede ocasionar la desaceleración del crecimiento fetal y alterar la interacción metabólica entre el feto y la placenta. Una vez más el crecimiento fetal se sacrifica para mantener la función placentaria **(Wallace JM,2000)**.

La desnutrición aguda ocasiona el retraso en el crecimiento intrauterino, el cual esta asociado con el catabolismo fetal, pero en cuanto se reanuda la ingesta nutritiva adecuada, el crecimiento se reinicia. **(Wallace JM,2001; Woodall SM,1996)**. En contaste, periodos prolongados de desnutrición pueden detener irreversiblemente el crecimiento fetal, lo que conlleva al desarrollo inadecuado al nacimiento **(De Blasio MJ,2007)**.

Hay evidencia de una gama de estudios epidemiológicos y clínicos de restricción de nutrientes durante el embarazo o lactancia que ocasionan deterioro en el crecimiento y desarrollo fetal **(Cameron N,2002; Cock ML,2001)**, además en la vida adulta se presentan algunas alteraciones metabólicas, **(Kind KL,2006; Zambrano E,2005)** incremento de tejido adiposo **(Symonds ME,1999)** y resistencia a la insulina **(Zambrano E,2006)**.

En modelos experimentales con animales se ha demostrado, que cuando las ratas preñadas fueron alimentadas con dieta con restricción proteínica, se presentaba disminución en el número de células blastocísticas, crecimiento placentario retardado que incrementa los niveles de endoglinas (**Yinon Y,2008**), disminución del flujo sanguíneo placentario, lo que conlleva a la disminución del peso del descendiente al nacimiento y el aumento en la presión arterial sistólica en la vida postnatal (**Thornburg KL,2005**).

En estudios recientes en ratas, se tiene evidencia que la restricción proteínica materna durante el embarazo y/o lactancia altera la función reproductiva de los descendientes debido al daño en el eje hipotálamo – hipófisis – gónada (**Guzmán C,2006;Zambrano E,2005**), el metabolismo de la glucosa y la concentración de leptina (**Zambrano E,2006; Bautista CJ,2008**) y alteración en la actividad y expresión de genes hepáticos relacionados con el metabolismo de los descendientes (**Kwong WY,2007**).

1.3.3 influencia de la edad materna:

La gestación y el parto son fenómenos eminentemente fisiológicos por lo que en circunstancias óptimas el crecimiento fetal y el nacimiento del nuevo ser dependen exclusivamente de su constitución genética y las condiciones del ambiente (**Verrier M,1994**).

Entre los factores ambientales que actúan directa o indirectamente sobre el crecimiento o desarrollo intrauterino están: la edad materna (**Xhen Xi,2007**), edad gestacional, nutrición pre gestacional, gestacional y/o lactancia, anomalías placentarias (**Amini SB1994**).

En México uno de los problemas más graves que enfrentan las jóvenes es el embarazo precoz y sus consecuencias, incluida la morbilidad y mortalidad materna. En el 2000, en México se reportaron 366 mil nacimientos de los cuales el 17 % era de madres entre 15 – 19 años de edad (**Díaz Sánchez V,2003**).

El embarazo en la adolescencia se caracteriza por el CIUR, aborto espontáneo, recién nacidos de bajo peso (**Marsoosi V,2004; Nybo AM,2000**) o pretermino (**Orr ST,2000**), debido a que la madre todavía está en crecimiento y los nutrientes no pueden ser utilizados adecuadamente por el feto ya que además son empleados por la madre para satisfacer sus necesidades fisiológicas (**Frisancho A,1997;Scholl T,1994,1995;Wallace JM,2004**). Además los descendientes presentan altos índices de mortalidad dentro del primer año de vida, debido a las alteraciones ocasionadas durante la etapa del desarrollo (**Kirchengast S,2003; Kitson C,2003; Phipps M, 2002**).

La restricción placentaria ocasiona hipoxia fetal e hipoglucemia durante la gestación, lo cual puede acelerar la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, el cual es crucial para el inicio del parto, razón por la cual las embarazadas adolescentes presentan embarazos pretermino (**Astolfi P,1999,2005**); los nutrientes a través de la placenta están

disminuidos debido a que la madre los utiliza para satisfacer sus necesidades fisiológicas y/o de desarrollo (**Jansson T,2007**).

Dentro de las debilidades a largo plazo relacionadas con el bajo peso al nacer y parto prematuros se encuentran: parálisis cerebral, autismo, retraso mental, dificultades auditivas y visión, inhabilidades de aprendizaje y desarrollo (**Mc Cormick MC,1985**).

Estudios epidemiológicos realizados en New Jersey en donde analizaron la relación de la edad materna y el bajo peso de los hijos al nacer se encontró que el mayor índice de mortalidad debido al bajo peso, se presentaba en las adolescentes menores de 15 años y madres mayores de 40 años con respecto a las de 25 a 29 años (**Reichman NE, 1998**).

Una explicación propuesta para ese hecho es que debido a que la madre esta en desarrollo durante la concepción, existe competencia de nutrientes con el feto, lo cual indica que el estado nutricional durante el embarazo (**Stevens-Simon 1993;1995**), mas que por inmadurez biológica predispone a tener hijos de bajo peso ³⁶. Un estudio realizado en Chile demuestra que la medidas antropométricas de la madre y su estado nutricional tienen una posible relación con la evolución del peso al nacer (**Mardones F,2003**).

Un modelo experimental realizado con ovejas demuestra que en las hembras en crecimiento, los nutrientes adquiridos son utilizados para finalizar su desarrollo y al mismo tiempo tratar de optimizar el crecimiento del feto (**Wallace JM,2005**).

El bajo peso al nacimiento se debe a factores genéticos y familiares transgeneracionales, talla de la madre, peso de la madre antes y durante el embarazo (**Gilbert W,2004; Gortzak U,2001; Strobino DM,1995**).

La relación entre las madres adolescentes muy jóvenes y su progenie se estudió en términos de desarrollo fetal y el crecimiento de las crías. Los animales utilizados en dicho estudio acababan de alcanzar la pubertad y seguían creciendo, su peso corporal fue aproximadamente la mitad que el de la normalidad plena. Sin embargo, fueron capaces de concebir y mantener la gestación, pero el crecimiento esquelético y el desarrollo de sus fetos fue significativamente retrasado (**Hashizume K,1991**).

Recientemente se efectuó un estudio en donde se realizaron tres grupos experimentales para evaluar el efecto de la edad materna sobre las características de aprendizaje, encontrando que el grupo con mayor afectación eran los descendientes de madres adolescentes (**Zemunik T, 2001, 2003**).

Estudios epidemiológicos en humanos han demostrado que la edad materna es un factor que influye en el aumento de riesgo de bajo peso al nacimiento, el cual es atribuido no sólo a inmadurez fisiológica sino también a factores socioeconómicos y de aprendizaje asociados a la adolescencia (**Borja J,2003**). Otro estudio demuestran que la edad materna, la paridad y la edad gestacional influyen significativamente en el peso del recién nacido (**Herrera C,1997**).

Una reciente revisión de consecuencias médicas del embarazo en adolescentes concluye que las condiciones sociales, económicas, rasgos étnicos, la raza y el comportamiento son factores que predisponen a algunas mujeres adolescentes al embarazo (**Cunnington A,2001**).

1.4 FUNCIONES METABÓLICAS DEL HÍGADO:

El hígado es un gran depósito de células con capacidad de reacción química, que dispone de un metabolismo intenso, puesto que los sistemas metabólicos comparten sustratos y energía y, además, en este órgano se procesan y se sintetizan numerosas sustancias transportadoras a otras regiones del organismo que cumplen miles de funciones metabólicas diferentes.

a) metabolismo de hidratos de carbono:

Dentro del metabolismo de los carbohidratos, el hígado realiza estas funciones: almacenamiento de grandes cantidades de glucógeno, conversión de la galactosa y de la fructosa en glucosa, gluconeogénesis y formación de muchos compuestos químicos a partir de los productos intermediarios del metabolismo de los carbohidratos.

El hígado es especialmente importante para el mantenimiento de la glicemia dentro de límites normales. El almacenamiento de glucógeno permite al hígado extraer el exceso de glucosa de la sangre, almacenarlo y luego lo devuelve a la sangre cuando la glicemia empieza a descender de forma peligrosa. Esta es la función amortiguadora de la glucosa del hígado. La gluconeogénesis hepática se ocupa, por su parte, del mantenimiento de la glicemia dentro de la normalidad, puesto que sólo se activa de forma importante cuando la concentración de glucosa desciende por debajo de los valores normales. Entonces, grandes cantidades de aminoácidos y de glicerol de los triglicéridos se convierten en glucosa y contribuyen a mantener la glicemia de forma relativamente normal. **(Postic C,2004)**

b) metabolismo de las grasas:

Casi todas las células del organismo metabolizan las grasas, pero algunos aspectos de este metabolismo tienen lugar, sobre todo, en el hígado. Las funciones concretas del hígado en el metabolismo de las grasas son: la oxidación de los ácidos grasos para proveer energía destinada a otras funciones corporales, síntesis de grandes cantidades de colesterol, fosfolípidos y casi todas las lipoproteínas. **(Postic C,2004)**

c) metabolismo de las proteínas:

Las funciones del hígado en el metabolismo de las proteínas son: desaminación de los aminoácidos, formación de urea para eliminar el amoníaco de los líquidos corporales, formación de proteínas plasmáticas, la interconversión de los distintos aminoácidos y síntesis de otros compuestos a partir de los aminoácidos.

2.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Actualmente se sabe con base en los estudios realizados en animales de experimentación y epidemiológicos, que la calidad de la vida fetal y neonatal programa a largo plazo la función de órganos específicos.

El desempeño en la vida adulta esta determinado en parte por una gran variedad de factores tales como: ambiente intrauterino, nutrición materna , factores epigenéticos , entre otros, en etapas críticas del desarrollo, que desencadenan alteraciones en el crecimiento, desarrollo, comportamiento y aprendizaje en la vida postnatal de los individuos.

Las madres jóvenes en crecimiento son capaces de concebir y mantener la gestación , pero el crecimiento esquelético del feto se ve retrasado. A la fecha existe información escasa acerca del efecto de la restricción proteínica a diferentes edades maternas sobre la vida postnatal de los descendientes, razón por la cual es de gran importancia realizar el presente trabajo de investigación ya que permitirá elucidar los mecanismos adaptativos que tiene la madre para tratar de compensar la carencia de nutrientes debido a su inmadurez biológica y permitir el adecuado crecimiento del feto, que impida desencadenar un fenotipo de alteraciones en la vida adulta del individuo.

3.0 HIPÓTESIS:

La madre gestante joven todavía en crecimiento tendrá menores posibilidades de proveer la adecuada nutrición a la cría, debido a una competencia de nutrientes. Si le aunamos la restricción nutricional, el resultado es que tendrá mayor probabilidad de desarrollar en las crías, un fenotipo de alteraciones que lo lleve al desarrollo de enfermedades metabólicas en la vida adulta.

4.0 OBJETIVO GENERAL:

Determinar los efectos de la edad materna y restricción proteínica de la rata gestante y/o lactante en el desarrollo y crecimiento de la progenie y sus alteraciones en la vida postnatal.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Determinar el efecto de la edad materna de ratas expuestas a restricción proteínica sobre el peso corporal de las crías
2. Analizar los efectos de la edad materna y la restricción nutricional durante la gestación sobre los diferentes parámetros morfométricos de las crías.
3. Obtener el peso del hígado de las crías de madres de 70,120 y 150d al día del destete.
4. Cuantificar las concentraciones de glucosa, leptina e insulina en las crías de los diferentes grupos experimentales a 220d de vida postnatal.

5.0 MATERIAL Y METODOS:

5.1 manejo de animales.

Para este trabajo se emplearon ratas hembras de la cepa Wistar de diferentes edades. **(tabla 1)**. Las hembras se mantuvieron en el bioterio perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), bajo condiciones controladas de temperatura (22 ± 2 ° C), así como de humedad (75%) y ciclo de luz /oscuridad (12 h de luz y 12 h de oscuridad). El alimento y agua fueron *ad libitum*. Los procedimientos involucrados con los animales fueron aprobados por el Comité de Investigación en Animales (CINVA) del INCMNSZ y están acordes con la guía para el uso y cuidado de los animales de laboratorio del National Research Council (EUA).

Las hembras fueron colocadas con un macho de fertilidad probada y sin ningún tipo de tratamiento para el apareamiento. A la mañana siguiente fueron realizados frotis vaginales con el fin de observar espermatozoides e indicar así el día de la concepción. Las hembras gestantes fueron asignadas aleatoriamente a los diferentes grupos experimentales.

Tabla 1: Ratas de la cepa Wistar, apareadas a diferentes edades experimentales.

EDAD MATERNA	RANGO DE EDAD	MEDIA \pm EE
70 días	(72 – 75)	73 \pm 0.8
120 días	(118 – 120)	119.3 \pm 0.95
150 días	(145 – 154)	149.3 \pm 0.70

5.2 alimentación:

El uso de dietas a base de caseína ha sido reportado previamente (**Zambrano E, 2005**). Se emplearon dos dietas isocalóricas con diferente contenido de caseína: dieta control (C) con el 20 % de caseína y la restringida (R) con el 10 % de caseína (**Tabla 2**). El alimento fue preparado en forma de galletas duras, con el fin de que las ratas pudieran roerlo. En la dieta R, se incrementó el contenido de carbohidratos para proporcionar el mismo aporte energético en ambas dietas.

Tabla 2. Composición de las dietas experimentales

INGREDIENTES	I. CONTROL (20%)		II. RESTRINGIDA (10%)	
	% (p/p)	kcal	% (p/p)	kcal
CASEINA	20	80	10	40
ACEITE DE MAIZ	5	45	5	45
ALMIDON	32.52	130	37.59	150
DEXTROSA	32.52	130	37.59	150
MEZCLA DE VITAMINAS	1.0		1.0	
MEZCLA MINERALES	3.5		3.5	
CISTINA	0.3		0.15	
COLINA	0.165		0.165	
CELULOSA	5.0		5.0	
TOTALES	100	385 Kcal g ⁻¹	100	385 Kcal g ⁻¹

La mezcla de vitaminas (Teklad AIN-93VX TD94047) contiene: ácido nicotínico, pantotenato de calcio, piridoxina, tiamina, riboflavina, ácido fólico, D biotina, vitamina B 12, DL α acetato de tocoferol, vitamina A, vitamina D3, vitamina K y sacarosa.

La mezcla de minerales (Teklad AIN-93 G-MX TD94046) contiene: calcio, potasio, sodio, magnesio, hierro, zinc, manganeso, molibdeno, yodo, fósforo, cloro, azufre, cobre, níquel, vanadio, silicio.

Caseína libre de vitaminas y colina fue obtenida Indianápolis, Indiana. E.U. NP 160040

El Aceite de maíz fue comprado de la marca La Gloria, México D.F.

Almidón y dextrosa de la casa comercial Harlan Teklad

Celulosa y Cistina de Sigma Aldrich St. Louis MO. E.U. 63103

5.3 grupos experimentales:

El diseño experimental contempló diferentes esquemas de alimentación durante la gestación, la lactancia o ambos. La designación de los grupos depende de las dietas recibidas por las madres durante el embarazo (primera letra) y lactancia (segunda letra). Los grupos experimentales fueron los siguientes (figura 4).

CC: madres alimentadas con dieta C durante el embarazo y la lactancia.

RR: madres alimentadas con la dieta R durante el embarazo y la lactancia.

CR: madres alimentadas con dieta C durante el embarazo y con la dieta R durante la lactancia.

RC: madres alimentadas con dieta R durante el embarazo y con la dieta C durante la lactancia.

Después del destete todas las crías fueron alimentadas con dieta Chow (dieta comercial de Harlan Teklan) basada en dieta AIN93G para crecimiento y conservación de roedores.

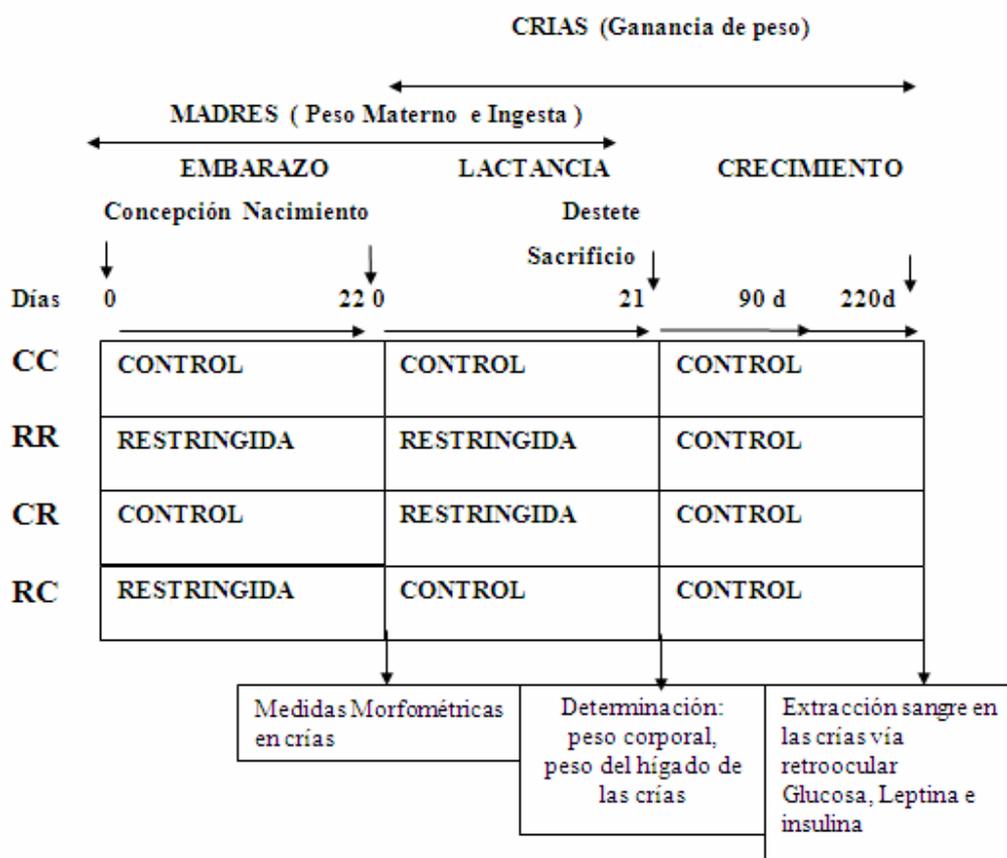


Figura 4: Las madres experimentales fueron alimentadas con dieta C o R durante el embarazo y lactancia.

5.4 Manejo de las crías al nacimiento:

Al nacimiento todas las crías fueron pesadas y clasificadas por sexo, se registraron el número de crías por camada así como las medidas morfométricas para evaluar el impacto de la edad materna aunado a la restricción materna durante la gestación entre los diferentes grupos experimentales.

De igual manera que las madres se determinó en todas las crías la ganancia de peso diario y el consumo de alimento hasta el día del sacrificio (día 21). Se continuó con la medición una vez por semana hasta los 220d de vida postnatal.

5.6 Parámetros morfométricos:

Mediante el uso de un vernier se determinó la talla de las crías al nacimiento, se midió desde la punta de la nariz a la base de la cola. Se midió el diámetro cefálico tomando como base la altura de las orejas, se determinó el diámetro abdominal midiendo en la base de las costillas y la región ano genital que es la distancia entre el ano y el poro genital (Figura 5)



Figura 5. Parámetros morfométricos como la talla (A), diámetro cefálico (B), abdominal (C) y ano genital (D), se determinaron mediante el uso del vernier como se indica en la figura.

5.6 Obtención de muestras biológicas:

A los 21d de edad el hígado de las crías de los diferentes grupos experimentales, fue extraído y pesado. A los 220 días de edad, las crías fueron sometidas a 12 horas de ayuno para posteriormente recolectar la sangre por vía retroocular, la cual fue centrifugada a 2 500 rpm (revoluciones por minuto) durante 10 minutos a 4 ° C en una centrífuga Sorvall RT-7. El suero fue conservado a -20°C hasta el día del ensayo.

5.7 Determinaciones bioquímicas:

El suero de las crías de los diferentes grupos fue recolectado para cuantificar los niveles en suero de glucosa, colesterol y triglicéridos, así como insulina y leptina

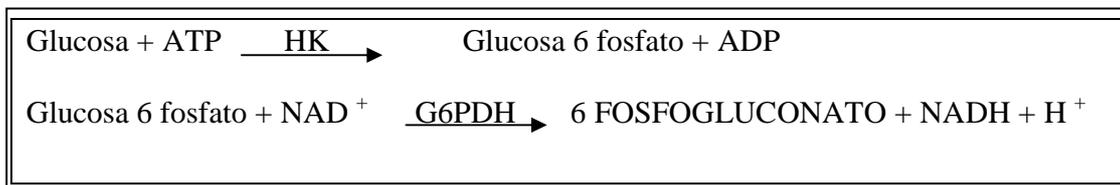
Determinación de Glucosa en suero de las crías

La cuantificación de glucosa, tanto en ratas machos como en hembras de 220 días de edad, se realizó mediante el Sistema Clínico SYNCHRON CX de Beckman Coulter. Este sistema cuantifica las concentraciones de glucosa en suero a través de métodos enzimáticos utilizando reactivos específicos.

Fundamento:

Las determinaciones cuantitativas de los sistemas SYNCHRON CX son enzimáticas, por lo que los reactivos requeridos están conformados por enzimas específicas que catalizan una reacción específica dentro de la ruta metabólica requerida. Las concentraciones de glucosa se determinan indirectamente por espectrofotometría, en donde las concentraciones de los metabolitos de la reacción enzimática son directamente proporcionales a las concentraciones de glucosa. Las absorbancias obtenidas son transformadas mediante cálculos que el sistema efectúa internamente en el resultado final, reportado en mg/dl.

El fundamento de la cuantificación de glucosa se basa en el siguiente esquema de reacción:



Determinación de Insulina y Leptina:

Las concentraciones de leptina e insulina se cuantificaron en muestras de suero de crías de 220 días de edad, provenientes de los cuatro grupos experimentales. Se utilizaron 100 µl de suero por duplicado para la cuantificación de dichos analitos por radioinmunoanálisis (RIA), mediante el uso de estuches adquiridos de Linco Research, Inc Missouri, E.U. Estuche de insulina Cat. No. RI-13k. Rangos de sensibilidad de 0.3 – 0.6 ng/ml y de 1.2 – 2.4 ng/ml. Estuche de Leptina Cat. No. RL- 83K. Rangos de sensibilidad de 1.1 – 2.3 ng/ml y de 3.8 – 7.9 ng/ml. Los reactivos utilizados en cada estuche fueron almacenados en refrigeración (2 – 8 ° C). Las muestras se descongelaron unos minutos antes de empezar con el procedimiento para la cuantificación de insulina y leptina.

Fundamento:

La técnica empleada para la cuantificación de Insulina y leptina en suero fue el radioinmunoanálisis (RIA). En el RIA una cantidad de anticuerpo se mezcla con una concentración constante de antisuero. Al mismo tiempo, se mezcla con la hormona control purificada o antígeno, que ha sido marcado con un isótopo radiactivo (yodo 125). La cantidad de la hormona no marcada y radiactiva que se une al anticuerpo, será proporcional a su concentración en la muestra a analizar. Cuando la unión ha alcanzado su equilibrio, se separa el complejo anticuerpo-hormona del resto de la solución y con un contador de centelleo (COBRA 5005, Packard), se determina la cantidad de hormona marcada que se ha unido al complejo, la cual disminuirá conforme la concentración de la hormona en la muestra problema aumente.

6.0 ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Todos los datos se expresaron como media \pm error estándar. La n corresponde al número de camadas analizadas, se utilizaron 2 crías por camada (1 hembra y 1 macho). En los casos en que se tomó más de un individuo por camada, los datos fueron promediados y empleados como una camada. Las comparaciones entre grupos se realizó utilizando análisis de variancia (ANOVA) de dos vías, seguida por una prueba Post Hoc de Tuckey. Al nacimiento dado que eran dos grupos experimentales se empleó prueba de t de student. Se consideró significativo a $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó utilizando la versión 2.0 de Sigma Stat.

7.0 RESULTADOS

7.1 efecto de la restricción proteínica sobre el peso de las madres

a) Gestación:

Al inicio del embarazo, el peso corporal de las madres de 70 d fue significativamente menor con respecto a las madres de 120 y 150 d respectivamente.

Al final del embarazo, se puede apreciar que el consumo de la dieta no modificó la ganancia de peso entre grupos experimentales a la misma edad, sin embargo el peso de las madres de 70 d fue estadísticamente menor en comparación con madres de 120 y 150 d de edad. (tabla 3)

Periodo	Edad Materna	Peso materno (g)	
		Grupo C	Grupo R
Peso al inicio del Embarazo (g)	70 días	184.2 ± 6.3a	185.6 ± 7.0a
	120 días	212.8 ± 2.4b	211.7 ± 2.5b
	150 días	227.0 ± 5.3b	223.7 ± 4.3b
Peso al final del Embarazo (21d de gestación)	70 días	290.6 ± 11.8a	282.6 ± 6.07a
	120 días	304.7 ± 3.4a	295.7 ± 5.7b
	150 días	331.9 ± 13.3c	323.4 ± 5.5c
% ganancia de peso durante el embarazo (%)	70 días	64.5 ± 0.7a	51.3 ± 3.9a *
	120 días	43.1 ± 0.5b	39.6 ± 1.7b
	150 días	45.9 ± 3.2b	36.4 ± 2.8b
Peso al día del Parto (g)	70 días	226.1 ± 7.4a	198.2 ± 1.2a*
	120 días	227.2 ± 3.7a	228.2 ± 4.9b
	150 días	254.0 ± 6.8b	251.0 ± 3.9b

Tabla 3: peso materno durante la gestación

Las madres fueron alimentadas con dieta Control o Restringida durante el embarazo. Datos expresados en media ± EE; n= 12 madres. * p< 0.05 vs. grupo control (C) a la misma edad. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes (p< 0.05) entre diferentes edades maternas con el mismo tipo de dieta.

En las madres restringidas durante el embarazo la ganancia de peso fue menor con respecto al grupo control a la misma edad experimental, pero ninguna significativa excepto las madres de 70d; sin embargo, entre edades y dietas experimentales las madres de 70 d presentaron mayor ganancia de peso.

Al día del parto, las madres que fueron sometidas a restricción proteínica y están en crecimiento (70 d) tienden a quedar más pequeñas. En cuanto al grupo control podemos observar que al día del parto las madres de 70 y 120 días de edad fueron estadísticamente más pequeñas en comparación con las madres de 150d de edad.

b) Lactancia:

Al final de la lactancia, el peso corporal de las madres en crecimiento (70d) fue estadísticamente menor en los grupos restringidos durante la lactancia (RR y CR) y ligeramente mayor en el grupo RC, con respecto al grupo CC de la misma edad. Este mismo comportamiento se observó en las madres de 120 y 150 días de edad. (**tabla 4**).

Al comparar entre grupos y edades maternas podemos visualizar que las madres de 70 d que fueron restringidas durante la lactancia presentaron menor peso, el cual no fue significativo, en comparación con las otras edades experimentales.

	Edad	Grupo experimental (gestación/lactancia)			
		CC	RR	CR	RC
Peso al final de la lactancia (g)	70 días	237 ± 8.1 a	189 ± 2.3 b	197 ± 1.2 b	238 ± 3.9 a
	120 días	235 ± 7.6 a	200 ± 5.3 b	214 ± 5.6 b	237 ± 5.4 a
	150 días	257 ± 6.5 a*	228 ± 3.7 b*	226 ± 6.8 b*	258 ± 4.6 a*
% ganancia de peso durante la lactancia	70 días	105 ± 0.8 a	96 ± 1.7 b	93 ± 1.9 b	106 ± 1.2 a
	120 días	103 ± 2.3 a	90 ± 3.1 b	93 ± 2.6 b	111 ± 1.3 c
	150 días	101 ± 1.3 a	91 ± 2.0 b	89 ± 2.6 b	106 ± 1.3 a
% ganancia de peso desde inicio de embarazo hasta final de la lactancia	70 días	129 ± 0.9 a*	111 ± 2.1 b*	112 ± 2.5 b*	130 ± 0.08 a*
	120 días	110 ± 3.0 a	94 ± 2.7 b	99 ± 3.5 b	112 ± 1.7 a
	150 días	113 ± 0.9 a	96 ± 2.0 b	103 ± 2.2 b	114 ± 1.2 a

Tabla 4: peso materno durante la lactancia

Datos expresados en media ± error estándar; n= 6 madres por grupo. * p< 0.05 vs edad materna con la misma dieta experimental. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes entre grupos experimentales a la misma edad.

Refiriéndonos al porcentaje de peso ganado durante la lactancia, encontramos que en las tres edades experimentales fue significativamente menor en los grupos restringidos durante la lactancia (CR y RR) y únicamente mayor en las madres del grupo RC de 120 días de edad, estos datos con respecto a CC. Sin embargo al analizar entre edades y grupos experimentales no se encontraron diferencias.

A la misma edad materna, el porcentaje en peso ganado desde el inicio de la gestación y hasta el final de la lactancia fue estadísticamente menor en los grupos RR y CR con respecto al grupo control, y al ser comparados entre grupos y edades experimentales se encontró que las madres de 70d tienden a ganar mayor peso, el cual fue estadísticamente diferente.

7.2 EDAD MATERNA Y RESTRICCIÓN NUTRICIONAL: EFECTO EN LAS CRIAS

7.2.1 Parámetros morfométricos de las crías al nacimiento

Al nacimiento, se evaluaron las medidas morfométricas en las crías hembras, con base a los resultados obtenidos podemos apreciar que no existieron diferencias entre dietas experimentales a la misma edad materna. De igual manera no existieron diferencias estadísticas entre ellos al evaluar entre edades y grupos experimentales (**tabla 5**).

Parámetros	Dieta	70 días	120 días	150 días
Peso Corporal (g)	Control	5.4 ± 0.047	5.47 ± 0.075	5.6 ± 0.34
	Restringida	5.2 ± 0.04	5.3 ± 0.08	5.4 ± 0.74
Talla (mm)	Control	45.2 ± 0.04	45.9 ± 0.031	46.0 ± 0.07
	Restringida	45.0 ± 0.03	45.0 ± 0.037	45.4 ± 0.08

Distancia ano-genital (mm)	Control	0.25 ± 0.028	0.22 ± 0.002	0.24 ± 0.003
	Restringida	0.26 ± 0.008	0.23 ± 0.005	0.25 ± 0.005
Diámetro cefálico (mm)	Control	11.34 ± 0.028	11.32 ± 0.02	11.34 ± 0.05
	Restringida	11.3 ± 0.05	11.30 ± 0.06	11.32 ± 0.06
Diámetro abdominal (mm)	Control	12.4 ± 0.065	12.3 ± 0.022	12.4 ± 0.086
	Restringida	12.3 ± 0.057	12.2 ± 0.059	12.2 ± 0.07
Relación cefálico-abdominal	Control	0.91 ± 0.04	0.92 ± 0.045	0.91 ± 0.058
	Restringida	0.92 ± 0.028	0.93 ± 0.080	0.93 ± 0.071

Tabla 5: Parámetros morfométricos al nacimiento de las crías hembras. Datos expresados en media \pm error estándar; n: C = 12, R =12 camadas.

Como se observa en la tabla 6, las crías machos presentaron el mismo comportamiento en los parámetros morfométricos al nacimiento que el reportado por las crías hembras.

Parámetros	Dieta	70 días	120 días	150 días
Peso Corporal (g)	Control	5.5 \pm 0.140	5.6 \pm 0.051	5.7 \pm 0.12
	Restringida	5.2 \pm 0.106	5.37 \pm 0.055	5.4 \pm 0.23
Talla (mm)	Control	46.1 \pm 0.07	45.8 \pm 0.022	46.0 \pm 0.06
	Restringida	46.0 \pm 0.03	45.6 \pm 0.046	45.4 \pm 0.08
Distancia ano-genital (mm)	Control	0.40 \pm 0.006	0.36 \pm 0.04	0.37 \pm 0.02
	Restringida	0.42 \pm 0.08	0.39 \pm 0.031	0.39 \pm 0.01
Diámetro cefálico (mm)	Control	11.34 \pm 0.04	11.37 \pm 0.036	11.5 \pm 0.06
	Restringida	11.3 \pm 0.06	11.32 \pm 0.05	11.3 \pm 0.07
Diámetro abdominal (mm)	Control	12.37 \pm 0.11	12.31 \pm 0.026	12.4 \pm 0.059
	Restringida	12.3 \pm 0.09	12.3 \pm 0.059	12.2 \pm 0.07
Relación cefálico-abdominal	Control	0.91 \pm 0.04	0.92 \pm 0.045	0.91 \pm 0.058
	Restringida	0.92 \pm 0.028	0.93 \pm 0.080	0.93 \pm 0.071

Tabla 6: Parámetros morfométricos al nacimiento de las crías. Datos expresados en media \pm error estándar; n: C = 12, R =12 camadas.

7.2.2 Perfil de crecimiento:

a) A los 21d de vida postnatal

Durante el periodo de lactancia se evaluó el comportamiento del crecimiento de las crías (peso corporal) provenientes de madres de las tres edades experimentales las cuales fueron

sometidas a una de las dietas isocalóricas ya sea durante la gestación y/o lactancia; pudiéndose observar que las crías de madres de 70d y que fueron restringidas únicamente durante la lactancia (figura 7) tuvieron disminución en su crecimiento con respecto a CC y RC, sin embargo entre ellas al día del destete (21d) las crías del grupo CR quedaron más pequeñas (25g) que el grupo RR el cual fue restringido durante ambos periodos (35g). Al evaluar su perfil de crecimiento entre los grupos experimentales podemos visualizar un incremento significativo ($p < 0.05$) en el peso de las crías que tuvieron escasez de nutrientes en el embarazo y abundancia en la lactancia (RC) en comparación con los demás grupos experimentales.

En el crecimiento de las crías de madres de 120 d, podemos ver que el grupo RC y CC presentaron mayor peso al final de la lactancia y los de menor peso fueron los grupos restringidos en la lactancia (RR y CR), lo cual fue estadísticamente diferente al ser comparado con el grupo CC.

Con respecto al crecimiento de las crías de madres de 150 días, podemos ver que el comportamiento entre los grupos experimentales fue similar al reportado en las madres de 120d.

Al analizar los resultados entre la edad materna y los grupos experimentales al día del destete, las crías de madres de 70d alimentadas con dieta control en ambos periodos (figura 8), presentaron un crecimiento mayor, el cual fue significativo en comparación a las crías de madres de 120 y 150 d. Este mismo comportamiento lo presentaron las crías pertenecientes al grupo CR, no encontrándose diferencias entre ellos; sin embargo en los grupos provenientes de madres restringidas en la gestación (RR y RC) se encontró que las crías de madres de 70d presentaron mayor peso, lo cual fue significativo en comparación con las otras edades experimentales.

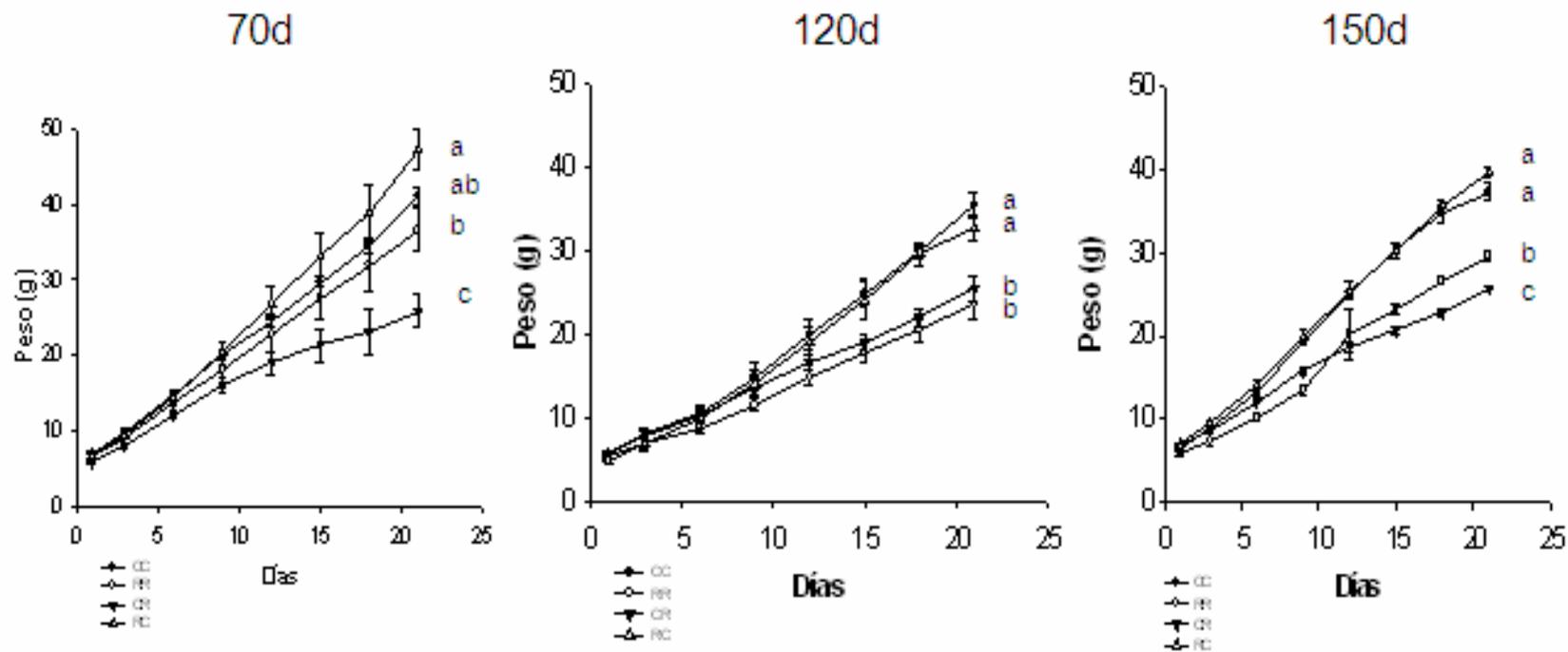


Figura 7: Curva de crecimiento de las crías desde el nacimiento al día del destete de madres apareadas a 70, 120 y 150d. Datos expresados en media \pm error estándar por edades. n= 6 por grupo. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes, a la misma edad. ($p < 0.05$)

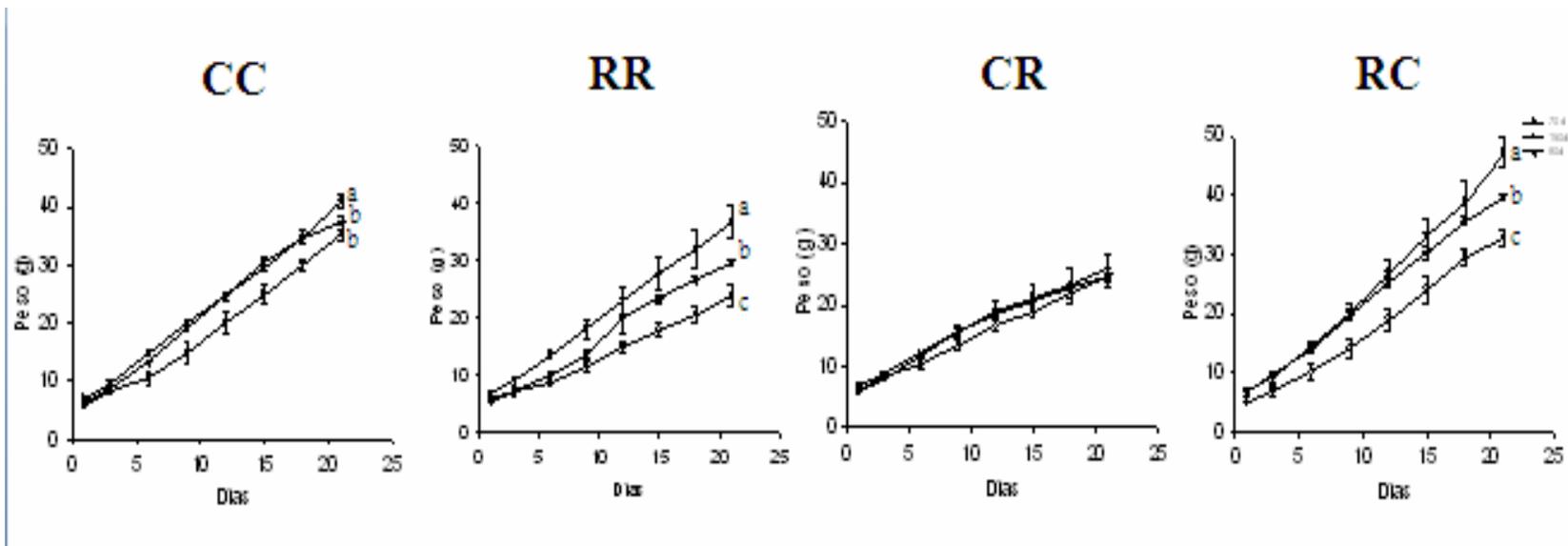


Figura 8: Curva de crecimiento de las crías por grupos experimentales desde el nacimiento al día del destete de madres apareadas a 70,120 y 150d. Datos expresados en media \pm error estándar. $n=6$ por grupo. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes para la misma dieta experimental. ($p<0.05$)

b) A los 90 d de edad:

A los 90 días de edad se evaluó el peso corporal de las crías hembra y macho provenientes de madres de las tres edades experimentales encontrándose que a esta edad las crías hembras del grupo RR (figura 10) de madres de 120 días fueron significativamente más pequeñas, y no se observó diferencia en los otros grupos y edades experimentales.

En cuanto a los machos (figura 9) encontramos que a los 90d el peso corporal de los grupos restringidos durante la lactancia (RR y CR) fue menor en las crías de madres de 120d y únicamente para las crías RR de madres de 150d de edad, de igual forma no se observó diferencia en los otros grupos y edades experimentales.

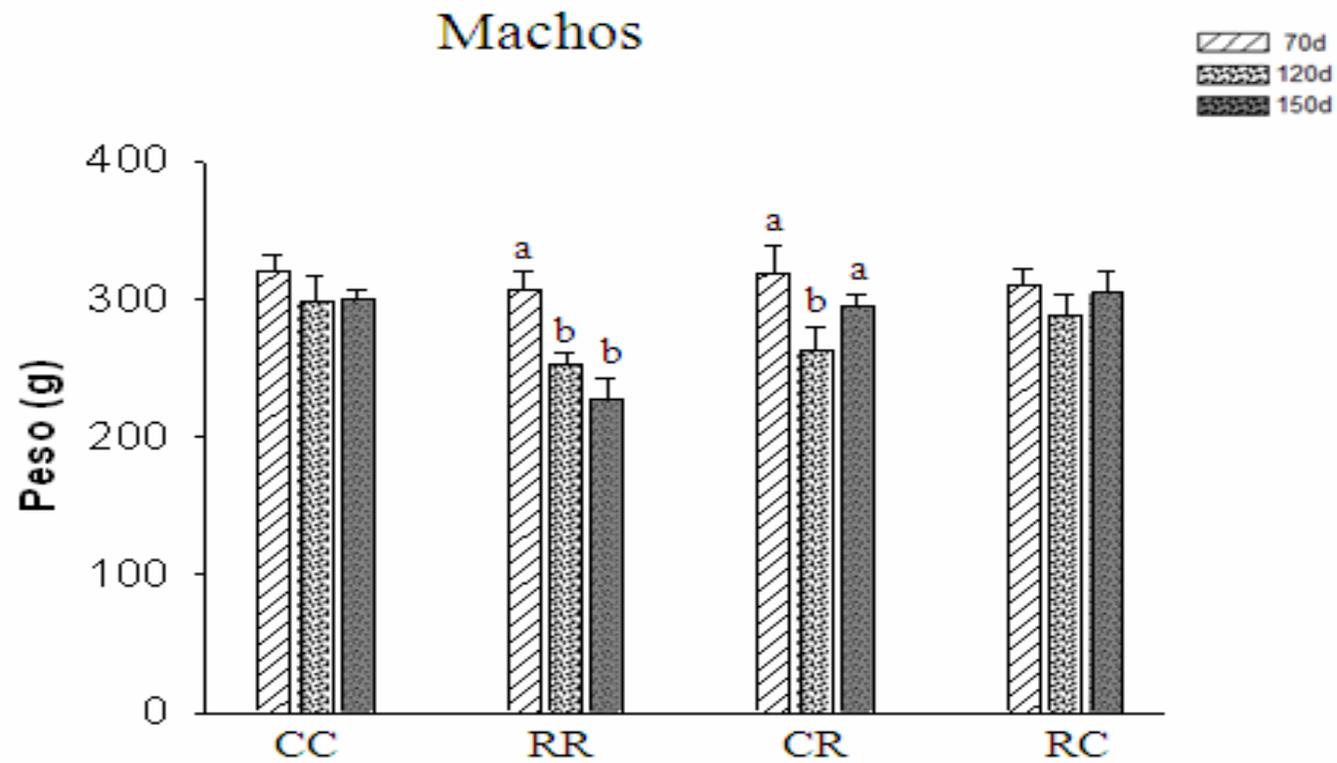


Figura 9. Perfil de crecimiento de las crías machos de madres de 70,120 y 150 d a los 90d de vida postnatal. Datos expresados en media \pm error estándar. n=6 por grupo. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes para la misma dieta experimental.

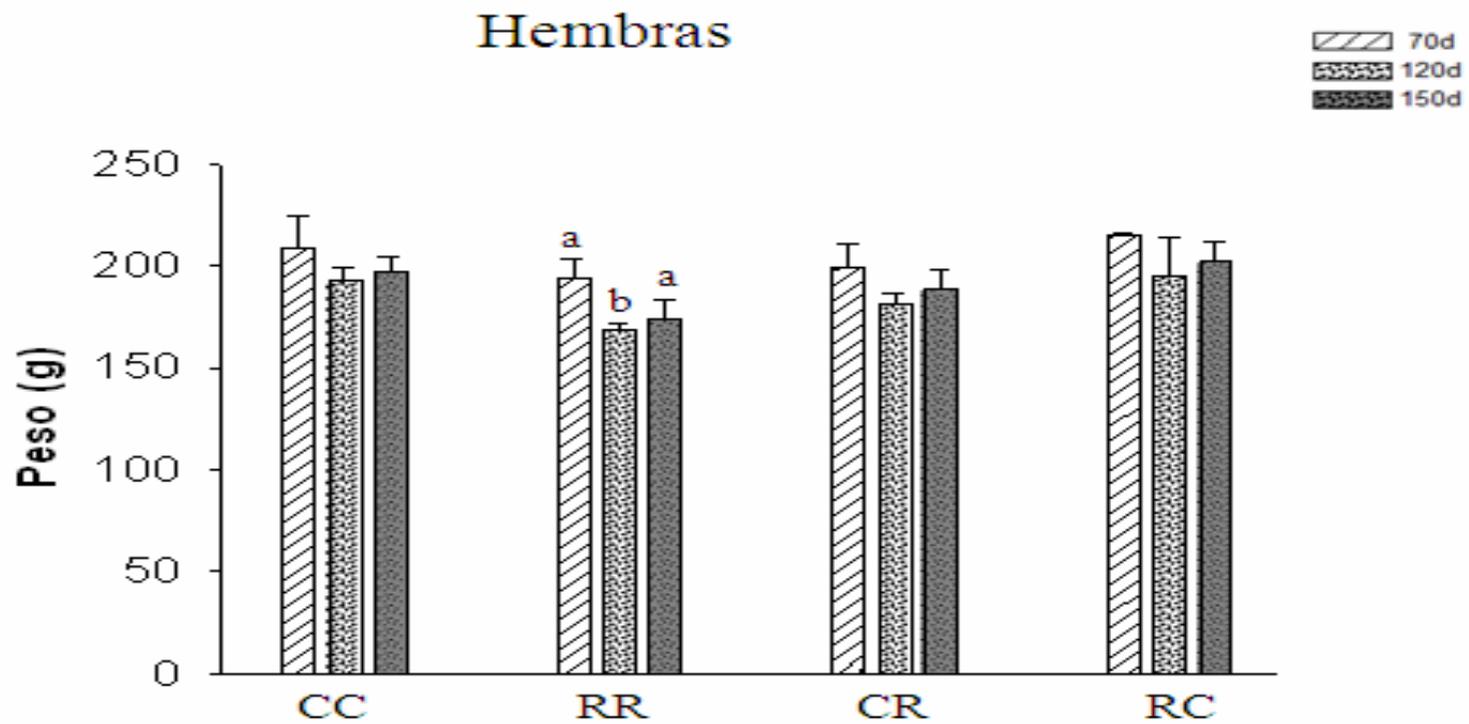


Figura 10. Perfil de crecimiento de las crías hembras de madres de 70,120 y 150 d a los 90d de vida postnatal. Datos expresados en media \pm error estándar. n=6 por grupo. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes para la misma dieta experimental

7.2.3 Peso del hígado al día del destete:

Al día del sacrificio (21 d), se obtuvieron los hígados, encontrándose que el peso en las crías de madres de 70d (figura 11) era mayor en el grupo RC con respecto a los demás grupos experimentales. En cambio el grupo que presentó menor peso fue el CR. Lo anterior correlaciona con el peso de la cría, ya que este grupo es más pequeño en comparación con los otros grupos experimentales, debido a que se adaptó a recibir menor aporte de nutrientes. Con respecto al grupo RR, el peso fue menor con respecto al grupo control en ambos periodos, no encontrándose diferencias estadísticas entre ellos.

El peso del hígado en las crías provenientes de madres de 120 d restringidas durante la lactancia (RR y CR) fue estadísticamente menor y ligeramente mayor en el RC con respecto al CC de esa edad.

En las crías de madres de 150 d el grupo RR fue estadísticamente menor que el CR y significativamente mayor en el RC con respecto al CC.

Al comparar entre las edades y grupos experimentales, podemos visualizar que los hígados de los grupos CR y RC de las crías de madres de 150d presentaron mayor peso, el cual fue significativo en relación al registrado por los de madres de 120d (figura 12).

Sin embargo entre los grupos RR se apreció un incremento en el peso del hígado en las crías de madres de 70d, el cual fue estadísticamente diferente con las otras edades experimentales.

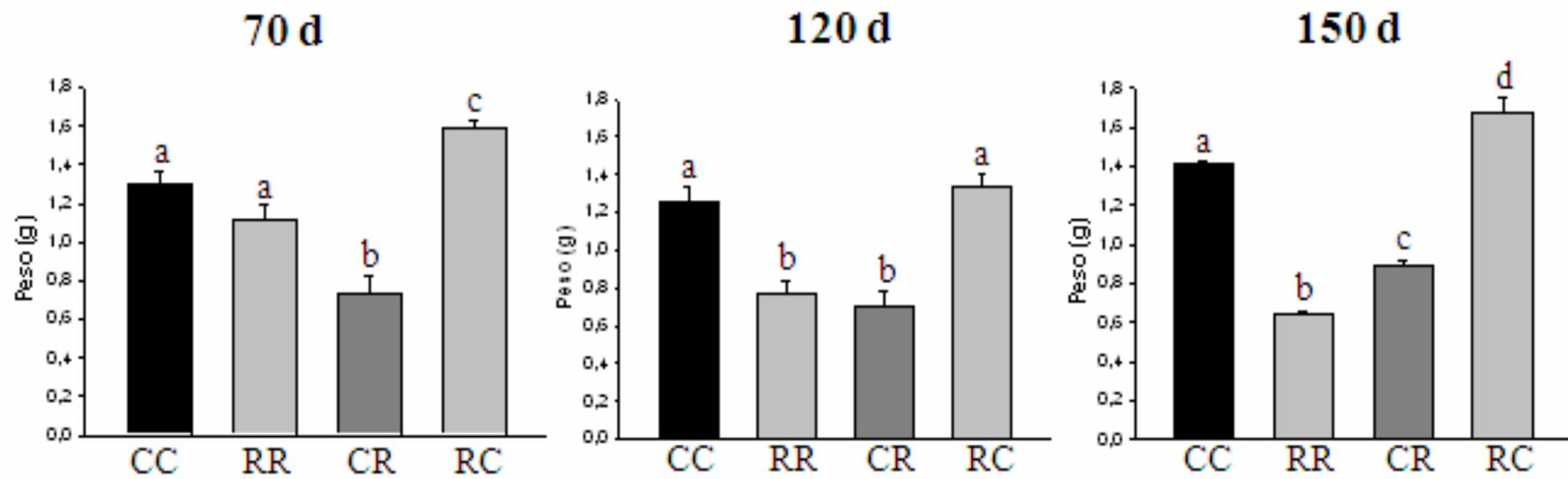


Figura 11. Comparación del peso del hígado por grupo y edad experimental al día del sacrificio. Datos expresados en media \pm error estándar, n=6 por grupo. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes a la misma edad materna.

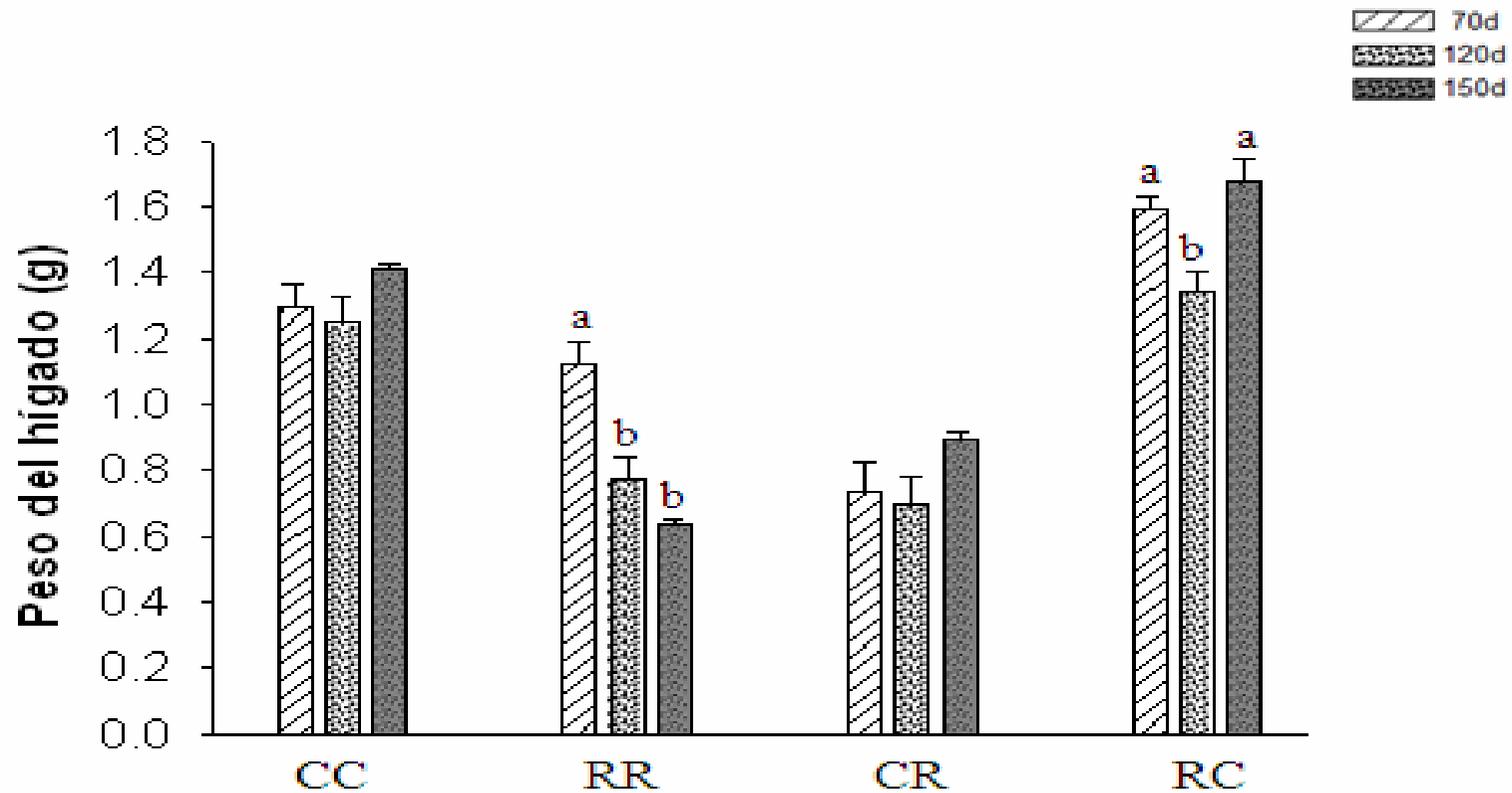


Figura 12: Peso del hígado de las crías por grupos experimentales al día del sacrificio de madres apareadas a 70, 120 y 150d. Datos expresados en media \pm error estándar, n=6 por grupo. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes para la misma dieta experimental.

7.2.4 Determinaciones de glucosa, insulina y leptina en las crías a los 220d de edad:

a) Hembras

Concentraciones de Glucosa:

La concentración de Glucosa fue ligeramente menor en las crías hembras de madres de 70 d que consumieron dieta restringida durante la lactancia (RR y CR) respecto al grupo control, sin presentar diferencias estadísticas entre los grupos experimentales (**tabla 7**).

En las crías de M 120 d, los grupos que mostraron menor concentración fueron el CR y RC. El grupo restringido en ambos periodos (RR) fue significativamente mayor al control; sin embargo, en las crías de M150d tanto en los grupos restringidos en la lactancia como el restringido en la gestación (RC) presentaron mayor concentración de glucosa en comparación con el grupo control a la misma edad, no encontrándose diferencias significativas.

Concentración de Insulina:

Con base en los resultados obtenidos en la insulina, las crías provenientes de madres en crecimiento que fueron restringidas en ambos periodos presentaron una disminución en su concentración, sin embargo en los grupos CR y RC fue ligeramente mayor con respecto al control, no encontrándose diferencias estadísticas.

En las crías de M120d, tanto los grupos restringidos en la lactancia como el RC registraron una menor concentración, la cual fue significativa, en comparación al grupo control. Por otra parte, las crías provenientes de M 150 d, los grupos RR, CR y RC tuvieron mayor producción de insulina que el CC (**tabla 7**).

Concentración de Leptina:

La concentración en las crías hembras provenientes de M 70 d fue menor en el grupo CR y estadísticamente mayor en el RC con respecto al control; sin embargo en las crías de M 120 d, los grupos restringidos en la lactancia mostraron menor concentración de leptina en comparación con el grupo control a la misma edad materna, no encontrándose diferencias estadísticas entre los grupos experimentales. Este mismo comportamiento se observó en las crías de M 150 d (**tabla 7**).

Determinación	Edad materna	GRUPO EXPERIMENTAL			
		CC	RR	CR	RC
Glucosa	70d	102 ± 15.4	98.4 ± 12.3	90 ± 6.8	102.4 ± 16.6
	120d	81 ± 6.2 ab	102.7 ± 7.5 b	70 ± 4.5 a	69.2 ± 6.3 a
	150d	102 ± 8.0	117 ± 3.9	115 ± 6.9	132.8 ± 12.2
Insulina	70d	0.26 ± 0.04	0.24 ± 0.04	0.38 ± 0.11	0.37 ± 0.09
	120d	0.45 ± 0.01 a	0.26 ± 0.08 b	0.19 ± 0.2 b	0.135 ± 0.02 b
	150d	0.22 ± 0.04	0.48 ± 0.07	0.61 ± 0.04	0.51 ± 0.08
Leptina	70d	2.5 ± 0.28 a	2.5 ± 0.48 ab	2.4 ± 0.24 ab	3.5 ± 0.51 b
	120d	2.2 ± 0.13	2.03 ± 0.06	2.06 ± 0.08	2.1 ± 0.1
	150d	2.5 ± 1.1	1.7 ± 0.25	1.79 ± 0.27	2.38 ± 0.29

Tabla 7: Concentraciones de Glucosa, Insulina y Leptina en suero de crías hembras de 220d de edad provenientes de madres apareadas a 70, 120 y 150d. Datos expresados en media ± EE, n=6 por grupo. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes para la misma edad experimental.

b) Machos

Concentraciones de Glucosa:

La concentración de glucosa a los 220d de edad en las crías machos provenientes de madres en crecimiento fue menor en el grupo restringido en la gestación (RC) y ligeramente mayor en el RR y CR, encontrándose diferencias significativas en el RR con respecto al control.

En las crías de M 120d tanto en los grupos restringidos en la lactancia como el RC mostraron un incremento en la concentración de glucosa en comparación con el control de la misma edad; sin embargo, en las crías de M 150 d se vio disminuida en los grupos restringidos en la gestación (CR y RC) y ligeramente aumentada en el grupo CR, no encontrándose diferencias estadísticas (**tabla 8**).

Concentración de Insulina:

Respecto a la insulina las crías de M 70d restringidas en la lactancia presentaron menor concentración y se vio ligeramente aumentada en el grupo RC en comparación con el CC, sin mostrar diferencias estadísticas entre grupos experimentales a la misma edad materna.

En las crías de M 120d, la concentración de glucosa se vio incrementada en los grupos restringidos en la gestación (RR y RC) y disminuida en el CR con respecto al control; sin embargo, en las crías de M150d se observó aumentada en los grupos CR y RC.

Concentración de Leptina:

La concentración de leptina, tanto en las crías provenientes de M70d restringidas en la lactancia (RR y CR) como las restringidas en la gestación (RC) mostraron menor concentración a los 220d de vida; en cambio en las crías provenientes de las otras edades maternas, la leptina se vio incrementada en comparación con el grupo control (**tabla 8**).

Determinación	Edad materna	GRUPO EXPERIMENTAL			
		CC	RR	CR	RC
Glucosa	70d	76.6 ± 8.5 a	102 ± 3.0 b	80.4 ± 6.3 ab	70.2 ± 4.5 a
	120d	105.3 ± 13	101.7 ± 7.0	95.7 ± 12	82.2 ± 6.0
	150d	141.6 ± 14.2	106 ± 13.1	149.2 ± 10.3	126.4 ± 12
Insulina	70d	0.46 ± 0.11	0.33 ± 0.03	0.23 ± 0.08	0.52 ± 0.11
	120d	0.40 ± 0.13	0.67 ± 0.29	0.28 ± 0.09	0.42 ± 0.06
	150d	0.56 ± 0.14	0.23 ± 0.03	0.78 ± 0.21	0.67 ± 0.15
Leptina	70d	11.4 ± 0.7 a	7.4 ± 1.0 b	7.4 ± 0.6 b	8.7 ± 1.5 b
	120d	7.0 ± 0.22	7.4 ± 0.11	7.8 ± 0.27	7.5 ± 0.13
	150d	6.2 ± 1.0	7.4 ± 0.96	7.7 ± 0.77	7.3 ± 0.7

Tabla 8: Concentraciones de Glucosa, Insulina y Leptina en suero de crías macho de 220d de edad provenientes de madres apareadas a 70, 120 y 150d. Datos expresados en media ± EE, n=6 por grupo. Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes para la misma edad experimental.

8.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

El objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos de la edad materna y la restricción proteínica de la rata gestante y/o lactante en el desarrollo y crecimiento de la progenie, así como sus alteraciones en la vida postnatal.

El retraso en el crecimiento ha sido considerado como un indicador de la desnutrición fetal, lo cual se puede comprobar en el presente estudio. Durante la gestación, en las ratas gestantes alimentadas con dieta restringidas mantuvieron menor peso corporal, a pesar de que su consumo de alimento fue similar a los grupos control. Aun cuando las ratas gestantes que se sometieron a restricción proteínica comen en similar cantidad de alimento que el grupo control, la calidad nutricional de su dieta no es la misma, por lo que el feto limita el uso de nutrientes y disminuye su metabolismo, reduciendo así su ritmo de crecimiento como una adaptación a la desnutrición (**Zambrano E,2006**). El consumo de dieta restringida durante la gestación ocasionó un crecimiento disminuido al nacimiento de las crías con respecto al control, sin presentar diferencias significativas.

Al nacimiento se determinaron las medidas morfométricas tanto de las crías hembras como los machos no encontrándose diferencias al compararse entre edades y dietas experimentales.

Por otro lado, el estado nutricional materno durante la lactancia es de suma importancia al igual que la gestación; la diferencia radica que en la lactancia la glándula mamaria sustituye a la placenta como medio de obtención de nutrimentos. La desnutrición proteínica materna durante la lactancia puede afectar negativamente el crecimiento de las crías.

Wells J.C.K. (2007), propone que la discrepancia entre el ambiente intrauterino y el post natal ocasionan fenotipos mal adaptados, debido a respuestas adaptativas predictivas, generadas durante el desarrollo fetal, que no coinciden con el ambiente post natal esperado. De acuerdo con esta hipótesis, en nuestro estudio era de esperarse que cada grupo se presentaran alteraciones fenotípicas y funcionales diferentes dado que cada grupo experimental recibió un estímulo específico. De este modo, el grupo CR, no se preparó intrauterinamente para un ambiente postnatal pobre en proteína, por lo que al encontrarse en este ambiente tuvo que hacer ajustes que lo ayudaran a su supervivencia. Dichos ajustes afectaron directamente a los órganos que aún mantenían plasticidad celular.

Por lo contrario, el grupo RC se preparó para un medio adverso, adquirió adaptaciones en la vida fetal para ese medio, y creció en un medio de abundancia de nutrientes a los que no estaba programado. Las respuestas adaptativas predictivas que desarrolló no fueron adecuadas y mostró mala adaptación siendo un grupo predominantemente obeso y con diversas alteraciones fisiológicas que pueden influir en su desempeño metabólico.

Estudios en ratas demuestran que el grupo que nació con bajo peso al nacimiento producto de la restricción nutricional de las madres, cuando se provee la nutrición adecuada, puede demostrarse el rápido crecimiento y aumento de peso en la vida postnatal (**Zambrano E,2005**).

Entre los grupos experimentales el que tendría un mejor pronóstico es el RR con respecto al RC, pues se adaptó a un medio restringido y creció en el medio para el cual se preparó. Por lo que sus respuestas predictivas corresponden al medio en el que creció.

Con base en los resultados obtenidos en nuestro estudio podemos apreciar que la edad materna aunada a la restricción proteínica tiene efectos sobre el perfil de crecimiento de las crías durante el periodo de lactancia; encontrándose que las crías de madres que están en crecimiento (70d) presentan mayor peso al día 21 de lactancia con respecto a las otras dos edades evaluadas. Lo cual indica que la edad materna impactará severamente en el crecimiento y desarrollo del individuo; así como desencadenar alteraciones metabólicas en la edad adulta. Recientes publicaciones han reportado el mismo comportamiento que el obtenido en nuestro estudio (**Ford GW,2000; Hack M,2003**). La rata nace en una condición más inmadura que el ser humano, por lo cual durante la lactancia las crías continúen en crecimiento y que algunos órganos terminan su desarrollo, de tal forma que el estrés nutricional durante el periodo de rápido desarrollo puede alterar de forma irreversible el tamaño de algunos órganos (**Ozanne SE,2004**)

Los efectos de la programación fetal no sólo se observan a nivel fisiológico y bioquímico, sino también a nivel celular y molecular mediante la regulación de la expresión genética. (**Zambrano E,2005**)

La contribución de cada órgano en el peso corporal durante la vida fetal y postnatal representa una visión de maduración alcanzada por el desarrollo normal del feto, según su capacidad de síntesis o almacenamiento de nutrientes para el periodo fetal o postnatal con el fin de suplir las necesidades metabólicas.

El impacto a largo plazo dependerá del estadio en el que se produzca la desnutrición, de su duración y su intensidad. Cada órgano y tejido tiene un periodo crítico o sensible, de mayor replicación celular, durante el cual se verá mas afectado

Se ha demostrado en ratas que una dieta restrictiva, sobre todo de proteínas, durante el embarazo causa que algunos órganos de estos animales (páncreas, bazo, músculo e hígado.) presenten un menor tamaño, mientras que el cerebro y los pulmones mantienen un crecimiento normal. (**Becerra F,1999**).

De acuerdo a nuestros resultados, podemos ver que la restricción proteínica impacta de manera diferente sobre el desarrollo del hígado en las crías, dependiendo de la edad materna, encontrándose al comparar entre edades y grupos experimentales que los grupos CR y RC de las crías de madres de 150d presentaron mayor peso en relación al registrado por crías de las otras edades experimentales, sin embargo los grupos restringidos en ambos periodos (RR) fue mayor en las crías provenientes de madres en crecimiento (70d). Lo anterior, tal vez se deba a diferentes mecanismos adaptativos que tiene la madre para tratar de compensar el crecimiento y desarrollo de órganos en la etapa fetal.

Las funciones metabólicas del hígado son vitales para mantener un equilibrio nutricional en el organismo, de ahí que cualquier alteración que dañe su integridad como órgano, es capaz de provocar un desbalance de macro y micro nutrientes en el individuo. Estudios en animales de experimentación han demostrado que al alimentar ratas gestantes con dieta baja

en proteínas, se altera permanentemente la actividad de enzimas localizadas en el hígado y que regulan la síntesis y ruptura del glucógeno (**Postic C,2004**).

Durante la gestación, la madre es la fuente de glucosa para el feto. El metabolismo de glucosa durante la primera mitad del embarazo, es un periodo de anabolismo sostenido por la madre. El aumento de calorías que ingiere la madre no sólo sostiene el crecimiento fetal sino que también se almacena como glucógeno y lípidos en la madre. El almacenamiento de energía durante la primera mitad del embarazo es importante para la segunda mitad, al ser un periodo de crecimiento logarítmico del feto.

Durante este periodo las demandas energéticas necesarias para el crecimiento fetal, no sólo provienen de la ingesta de alimentos de la madre, sino también de la almacenada durante el embarazo. (**Postic C,2004**)

Otra ruta importante para la producción endógena de glucosa fetal es a través de su síntesis a partir de precursores como alanina, lactato y piruvato. Aunque la regulación de la gluconeogénesis ha sido estudiada en humanos adultos, la capacidad de llevar a cabo la gluconeogénesis en el feto humano no ha sido suficientemente explorada. Para que la glucosa pueda ser sintetizada a partir de sustratos como lactato, se requiere de la presencia de las enzimas clave, localizadas principalmente en el hígado fetal.

Existen varios estudios experimentales que han demostrado que la exposición intrauterina a la desnutrición puede afectar irreversiblemente el desarrollo de páncreas fetal (**Dahri S,1995**). Otros trabajos han mostrado que el requerimiento de proteína en ratas gestantes juegan un papel clave en el desarrollo de los islotes pancreáticos fetales (**Dallar Y,2007; Holemans K,2003**)

Dietas que contienen poco menos de la mitad de proteína de la dieta de un grupo control de ratas, repercute en el tamaño y vascularización de los islotes pancreáticos de las crías, lo cual disminuye la tolerancia a la glucosa a largo plazo (**Kind KL,2003; Petry CJ,2000**).

En base a los resultados de las concentraciones de glucosa e insulina, al comparar entre edades maternas y grupos experimentales pudimos apreciar que tanto las crías del grupo CR y RC provenientes de madres de 150d mostraron mayores concentraciones a los 220d de vida. . Estudios realizados en ratas preñadas alimentadas con dietas isocalóricas con 8% de proteína en etapas tempranas del desarrollo tuvieron mejor regulación de la glucosa que las ratas del grupo control, pero que eventualmente desarrollaron intolerancia a la glucosa al año de edad (**Scholl T,2001**).

Las alteraciones en el ambiente nutricional intrauterino modifica permanentemente el crecimiento del páncreas fetal y el número de células β al nacimiento, lo cual favorece el desarrollo de las alteraciones en el metabolismo de la glucosa en la edad adulta. (**Reusen B & Remacle,2001**)

Por otro lado, se han llevado a cabo estudios con animales de experimentación para explorar los mecanismos que pueden explicar los hallazgos epidemiológicos relacionados con el aumento de riesgo de padecer enfermedades en la vida adulta y la experiencia intrauterina del individuo. (**Ozanne SE 2001,2004; Thornburg ,2005**)

La obesidad es un problema de salud pública y generalmente esta asociada a otras enfermedades como diabetes mellitus, hipertensión, hiperlipidemia o enfermedades cardiacas asociadas al aumento del índice de masa corporal. El tejido adiposo es la base celular de la obesidad, actualmente se le percibe como una glándula capaz de producir gran cantidad de péptidos y metabolitos asociados al control de la masa corporal, así como al control de la respuesta inmunitaria. En este sentido, una de las moléculas de mayor investigación en los últimos años y que esta involucrada en ambos sistemas, es la hormona llamada leptina. La isoforma ObRb del receptor de leptina se expresa en las células β pancreáticas, por lo que la secreción de insulina puede estar regulada por la leptina. **(Ibáñez E,1999)**

Por otro lado, la insulina es un regulador positivo de la leptina y aumenta su expresión en ratones de experimentación. El transporte y metabolismo de la glucosa son factores importantes en el control de la expresión y modulación de la leptina; la insulina estimula la utilización de glucosa por los adipocitos, por lo que el mecanismo por el cual las concentraciones en suero de leptina disminuyen con el ayuno prolongado puede ser la disminución de la absorción de glucosa por el tejido adiposo. **(Mueller WM,1998)**

La insulina, al igual que la leptina, regula el peso corporal y la ingesta de alimentos y lo realiza mediante los órganos sensibles a la insulina como el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo. La leptina y la insulina se consideran hormonas reguladoras de la cantidad de grasa corporal **(Faloia E,2000; Fantuzzi G, 2000; Gregorie F 1998)**

En recientes publicaciones, se ha reportado la disminución de las concentraciones en suero de leptina de crías de madres sometidas a restricción proteínica durante la lactancia, a los 12 y 21 días de edad. A partir del destete las concentraciones de leptina de estas crías aumenta con su edad, al igual que las ratas control. **(Engelbregt MJ,2001; Leonhardt M,2003)**

Con base en los datos obtenidos en nuestro estudio en las concentraciones de Leptina, las crías hembras cuyas madres fueron restringidas en la lactancia (RR y CR) presentaron una menor concentración y ligeramente incrementada en el RC en comparación con el control de las misma edad; sin embargo, los machos mostraron un incremento en los tres grupos experimentales que en alguna etapa crítica del desarrollo fue restringida la madre (RR, CR y RC)

Las concentraciones circulantes de leptina dependen en parte, de la cantidad de tejido adiposo. El bajo peso corporal de las crías provenientes de los grupos RR y CR, puede indicar menor cantidad de tejido adiposo corporal, lo cual podría explicar la disminución en las concentraciones de leptina.

Por otro lado, la leche secretada por las ratas madres puede contener hormonas regulatorias del apetito y la saciedad, las cuales son transferidas a las crías. La alta o baja concentración de leptina en la leche llega al torrente sanguíneo de las crías y actúa a nivel del hipotálamo, causando la disminución del consumo de alimento y el aumento del gasto energético de las crías cuyas madres fueron alimentadas con dieta restringida durante la lactancia, lo cual se ve reflejado en el bajo peso corporal que mostraron respecto al grupo control. **(López M,2005)**

9.0 CONCLUSIONES

- 1.- En primera instancia se determinó que las madres jóvenes en crecimiento que son sometidas a restricción proteínica, ocasionan alteraciones en el peso al nacimiento de sus crías, lo cual repercute a largo plazo en la salud de ellas
- 2.- Se vio afectado a corto y mediano plazo el crecimiento y desarrollo de las crías; así como el daño del hígado, el cual está íntimamente relacionados con el metabolismo del individuo.
- 3.- La desnutrición proteínica tiene efectos en la regulación de la leptina
- 4.- La dieta baja en proteína durante la lactancia ocasiona un incremento en las concentraciones de glucosa, aumentando el riesgo de presentar insensibilidad y resistencia a la insulina.
- 5.- la desnutrición proteínica impacta severamente cuando la madre esta en crecimiento ya que utiliza los nutrimentos para finalizar su desarrollo y al mismo tiempo tratar de optimizar el crecimiento del feto.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Amini SB, Dierker LJ, Catalano PM, Ashmead GG, Mann LI. Trends in an obstetric patient population. *Am J Obstet Gynecol.* 1994; 171:1014-21.
2. Abuzzahab MJ, Schneider A, Goddard A, Grigorescu F, Lautier C, Keller E, Kiess W, Klammt J, Kratzsch J, Osgood D. IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation. *N Engl J Med.* 2003; 349:2211–2222
3. Akcakus M, Koklu E, Kurtoglu S, Kula M, Koklu SS. The relationship among intrauterine growth, insulinlike growth factor I (IGF-I), IGF-binding protein-3, and bone mineral status in newborn infants. *Am J Perinatol.* 2006; 23(8):473-80.
4. Astolfi P, Zonta LA, Risk of preterm delivery and association with maternal age, birth order and fetal gender. *Human Reproduction.* 1999; 14(11): 2891-2894.
5. Astolfi P, De Pasquale A, Zonta LA, Late childbearing and its impact on adverse pregnancy outcome: stillbirth, preterm delivery and low birth weight. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2005; 53 Spec No 2:2S97-105.
6. Barker DJ. *Mothers, babies and health in later life.* London: Churchill Livingstone; 1998: 1-217.
7. Barker DJ, The malnourished baby and infant. *Br Med Bull.* 2001; 60: 69-88.
8. Barker DJP, Eriksson JG, Forsen T, Osmond C. Fetal origins of adult diseases: strengths, effects and biological basis. *Int J Epidemiol.* 2002; 31: 1235-1239.
9. Barker DJ. Developmental origins of adult health and disease. *J Epidemiol Community Health.* 2004; 58: 114-5.
10. Barker, D. J. P. The developmental origins of insulin resistance. *Horm.* 2006; Res. 64 (Suppl. 3), 2–7
11. Bautista CJ, Boeck L, Larrea F, Nathanielsz PW, Zambrano E. Effects of the maternal low protein isocaloric diet on milk leptin and progeny serum leptin concentration and appetitive behavior in the first 21d of neonatal life in the rat. *Pediatr Res.* 2008; 63:358-363.
12. Becerra Fernández A, Malnutrición fetal y enfermedad metabólica en la vida adulta. *Nutrición y obesidad.* 1999; 5: 243-251.
13. Borja Judith B., Adair Linda S. Assessing the net effect of young maternal age on birthweight. *American Journal of Human Biology* 2003; 15: 733-740.
14. Brar HS, Rutherford SE. Classification of intrauterine growth retardation. *Semin Perinatol.* 1988; 12:2–10
15. Brooks AA, Johnson MR, Steer PJ, Pawson ME, Abdalla HI. Birth weight: nature or nurture? *Early Hum Dev* 1995; 42:29–35
16. Cameron N, Demerath EW. Critical periods in human growth and their relationship to diseases of aging. *Am J Phys Anthropol.* 2002; Suppl 35:159-84.
17. Ceesay SM, Prentice AM, Cole TJ, Foord F, Weaver LT, Poskitt EM, Whitehead RG. Effects on birth weight and perinatal mortality of maternal dietary supplements in rural Gambia: 5 year randomised controlled trial. *Br Med J [Erratum 1997; 315:1141]* 315:786–790
18. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol.* 2005; 67:259-84.

19. Chen Xi Kuan, Wen Shi Wu, Fleming Natalie, Demissie Kitaw, Roads George G., Walter Mark. Teenage pregnancy and adverse birth outcomes: a large population based retrospective cohort study. *International Journal of epidemiology*. 2007; 36 (2): 368-373.
20. Chernausek SD, Breen TJ, Frank GR. Linear growth in response to growth hormone treatment in children with short stature associated with intrauterine growth retardation: the National Cooperative Growth Study experience. *J Pediatr*. 1996 May;128(5 Pt 2):S22-7.
21. Christian P, Khatry SK, Katz J, Pradhan EK, LeClerq SC, Shrestha SR, Adhikari RK, Sommer A, West Jr KP. Effects of alternative maternal micronutrient supplements on low birth weight in rural Nepal: double blind randomised community trial. *Br Med J*. 2003; 326:571
22. Cock ML, Camm EJ, Louey S, Joyce BJ, Harding R. Postnatal outcomes in term and preterm lambs following fetal growth restriction. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2001;28(11):931-7.
23. Cunnington A. What's so bad about teenage pregnancy? *The Journal of family Planning and Reproductive Health Care*. 2001; 27:36-41.
24. Dahri S, Reusens B, Remacle C & Hoet JJ Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. *Proc Nutr Soc* 1995; 54: 345–356.
25. Dallar Y, Dilli D, Bostanci I, Oğüş E, Doğançoç S, Tuğ E. Insulin sensitivity obtained from the oral glucose tolerance test and its relationship with birthweight. *Ann Saudi Med*. 2007; 27(1):13-7.
26. Davies AA, Smith GD, Ben-Shlomo Y, Litchfield P. Low birth weight is associated with higher adult total cholesterol concentration in men: findings from an occupational cohort of 25,843 employees. *Circulation*. 2004; 7,110(10):1258-62.
27. De Blasio MJ, Gatford KL, McMillen IC, Robinson JS, Owens JA. Placental restriction of fetal growth increases insulin action, growth, and adiposity in the young lamb. *Endocrinology*. 2007;148(3):1350-8
28. Diaz Sanchez V. El embarazo de las adolescentes en México. *Gac Med Mex* 2003; 139: S23-S28.
29. Engelbregt MJ, van Weissenbruch MM, Popp-Snijders C, Lips P. & Delemarre-van de Waal HA. Body composition and leptin at onset of puberty in male and female rats after intrauterine growth retardation. *Pediatr Res*. 2001; 50,474-478.
30. Faloia E, Adipose tissue as an endocrine organ? *Eat weight disord*. 2000;5(3):116-23
31. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of the immunity, inflammation and hematopoiesis. *J Leukoc Biol*, 2000;68(4):437-46.
32. Ford GW, Doyle LW, Davis NM, Callanan V., Very low birth weight and growth into adolescence. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000; 154:778-784.
33. Frisancho AR. Reduction of birth weight among infants born to adolescents: maternal fetal growth competition. *Ann NY Acad Sci* 1997; 817:272-80.
34. Garofano A, Czernichow P & Breant B. Beta-cell mass and proliferation following late fetal and early postnatal malnutrition in the rat. *Diabetologia* 1998; 41: 1114–1120.
35. Gilbert W, Jandial D, Field N, Bigelow P, Danielsen B., Birth outcomes in teenage pregnancies. *J. Matern Fetal Neonatal Med*. 2004; 16:265-70.

36. Gluckman PD. Editorial: nutrition, glucocorticoids, birth size and adult disease. *Endocrinology* 2001; 142: 1689-91.
37. Gluckman PD, Pinal CS Maternal-placental-fetal interactions in the endocrine regulation of fetal growth: role of somatotrophic axes. *Endocrine* 2002; 19:81–89
38. Gluckman, PD. and Hanson, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol. Metab.* 2004; 15, 183–187
39. Godfrey K, Robinson S, Barker DJ, Osmond C, Cox V Maternal nutrition in early and late pregnancy in relation to placental and fetal growth. *Br Med J* 1996; 312:410–414
40. Godfrey KM. The role of the placenta in fetal programming-a review. *Placenta*. 2002. Apr;23 Suppl A:S20-7. Review.
41. Good CH, Bay KD, Buchanan RA, McKeon KA, Skinner RD, Garcia-Rill E. Prenatal exposure to cigarette smoke affects the physiology of pedunculopontine nucleus (PPN) neurons in development. *Neurotoxicol Teratol.* 2006; 28(2):210-9.
42. Gortzak Uzan L, Hallak M, Press F, Katz M, Shoham-Vardi I. Teenage pregnancy: risk factors for adverse perinatal outcomes. *J Matern Fetal Med.* 2001; 10: 393-97
43. Gregorie F, Smas C, Sook H. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev.* 1998;78(39):783-809.
44. Guzmán C, Cabrera R, Cárdenas M, Larrea F, Nathanielsz PW, Zambrano E. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. *J Physiol.* 2006 Apr 1;572(Pt 1):97-108.
45. Guzmán C, Zambrano E. Endocrine disruptor compounds and their role in the developmental programming of the reproductive axis. *Rev Invest Clin.* 2007 Jan-Feb; 59(1):73-81.
46. Hack Maureen, Schluchter Mark, Cartar Lidia, Rahman Mahboob, Cuttler Leona and Borawski Elaine. Growth of very low birth weight infants to age 20 years. *Pediatrics*, 2003;112,e30-38.
47. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull.* 2001; 60:5-20.
48. Hashizume Kazuyoshi, Ohashi Kiyotaka y Hamajima Fusanori. Adolescent pregnancy and growth of progeny in rats. *Physiology & Behavior.* 1991; 49(2):367-371.
49. Herrera Cesar Calderón Nila, Carbajal Roger. Influencia de la pariedad, edad materna y edad gestacional en el peso del recién nacido. *Ginecología y Obstetricia.* 1997; 43 (2).
50. Holemans K, Gerber R, Meurrens K, De Clerck F, Poston L & Van Assche FA. Maternal food restriction in the second half of pregnancy affects vascular function but not blood pressure of rat female offspring. *Br J Nutr.* 1999; 81: 73-79.
51. Holemans K, Aerts L & Van Assche FA Lifetime consequences of abnormal fetal pancreatic development. *J Physiol* 2003; 547: 11–20.
52. Holness MJ, Langdown ML, Sugden MC. Early life programming of susceptibility to dysregulation of glucose metabolism and the development of Type 2 diabetes mellitus. *Biochem J*, 2000; 349: Pt 3:657-65.
53. Ibañez E, Tejero E. La leptina. *Cuad Nutr*, 1999; 22(5):200-204.
54. Jansson, T. and Powell, T. L. Placental nutrient transfer and fetal growth. *Nutrition.* 2000; 16:500–502

55. Jansson, T., Ylvén, K., Wennergren, M. and Powell, T. L. Glucose transport and system A activity in syncytiotrophoblast microvillous and basal membranes in intrauterine growth restriction. *Placenta* 2002; 23:386–391
56. Jansson T, Powell TL. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clin Sci (Lond)*. 2007 Jul; 113(1):1-13.
57. Kind KL, Clifton PM, Grant PA, Owens PC, Sohlstrom A, Roberts CT *et al*. Effect of maternal feed restriction during pregnancy on glucose tolerance in the adult guinea pig. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 284: R140–R152
58. Kind KL, Moore VM, Davies MJ. Diet around conception and during pregnancy--effects on fetal and neonatal outcomes. *Reprod Biomed Online*. 2006 May; 12(5):532-41. Review.
59. Kirchengast S, Hartmann B. Impact of maternal age and maternal somatic characteristics on newborn size. *Am J Hum Biol*. 2003 Mar-Apr; 15(2):220-8.
60. Kitson C. Young maternal age was associated with increased risk of postneonatal death in full term, healthy infants. *Evid Based Nurs*. 2003 Apr;6(2):57.
61. Kwong WY, Miller DJ, Wilkins AP, Dear MS, Wright JN, Osmond C, Zhang J, Fleming TP. Maternal low protein diet restricted to the preimplantation period induces a gender-specific change on hepatic gene expression in rat fetuses. *Mol Reprod Dev*. 2007 Jan; 74(1):48-56.
62. Lan N, Yamashita F, Halpert AG, Ellis L, Yu WK, Viau V, Weinberg J.. Prenatal ethanol exposure alters the effects of gonadectomy on hypothalamic-pituitary-adrenal activity in male rats. *J Neuroendocrinol*. 2006;18(9):672-84
63. Langer O, Levy J, Brustman L, Anyaegbunam A, Merkatz R, Divon M Glycemic control in gestational diabetes mellitus—how tight is tight enough: small for gestational age versus large for gestational age? *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:646–653
64. Langley-Evans SC. Critical differences between two low protein diet protocols in the programming of hypertension in the rat. *Int J Food Sci Nutr* 2000; 51: 11–17.
65. Lechtig A, Habicht JP, Delgado H, Klein RE, Yarbrough C, Martorell R Effect of food supplementation during pregnancy on birthweight. *Pediatrics* 1975; 56:508–520
66. Leguizamón G., Von Stecher F. Third trimester glycemic profiles and fetal growth. *Curr Diab Rep*. 2003; 3(4):323-6.
67. Leonhardt M, Lesage J, Croix D, Dutriez-Casteloo I, Beauvillain JC & Dupouy JP. Effects of perinatal maternal food restriction on pituitary-gonadal axis and plasma leptin level in rat pup at birth and weaning and on timing of puberty. *Biol Reprod* 2003; 68: 390–400
68. Lopez M, Seoane LM, Tovar S, Garcia MC, Nogueiras R, Dieguez C & Senaris RM. A possible role of neuropeptide Y, agouti-related protein and leptin receptor isoforms in hypothalamic programming by perinatal feeding in the rat. *Diabetología*. 2005; 48:140–148
69. Mahan K y Escott Stumo, S. *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. México, D.F. Mc Graw Hill Iiteramericana 2001; 181-259.
70. Mardones Francisco, Evolucion de la antropometría materna y del peso al nacimiento en Chile. *Rev Chilena de Nutrición*, 2003; 30(1)

71. Marsoosi V, Jamal A, Eslamian L. Pre-pregnancy weight, low pregnancy weight gain, and preterm delivery. *Int J Gynaecol Obstet*, 2004; 87: 36-37
72. Martin-Gronert MS, Ozanne SE. Maternal nutrition during pregnancy and health of the offspring. *Biochem Soc Trans*. 2006 Nov; 34(Pt 5):779-82.
73. Mc Cormick M.C. The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity. *N Engl J Med*. 1985; 312: 82-90.
74. Mendelson CR, Condon JC. New insights into the molecular endocrinology of parturition. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005 Feb; 93(2-5):113-9.
75. Moore Vivienne M, Davies Michael J, Wilson Kristyn J, Worsley Anthony y Robinson Jeffrey S. Dietary composition of pregnant women is related to size of the baby at birth. *J Nutr* 2004; 134: 1820-1826.
76. Mueller WM, Gregorie FM, Stanhope KL, Mobbs CV, Mizuno TM. Evidence that glucose metabolism regulates leptin secretion from cultured rat adipocytes. *Endocrinology* 1998, 139(2):551-8.
77. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol*. 2006 Apr 1; 572(Pt 1):25-30.
78. Nathanielsz PW. The role of basic science in preventing low birth weight. *Future Child*. 1995 Spring; 5(1):57-70.
79. Nathanielsz PW. *Life in the womb: The origin of health and disease*, Ithaca N.Y., 1999. pp 1-10, 20-21, 30-31.
80. Neitzke U, Harder T, Schellong K, Melchior K, Ziska T, Rodekamp E, Dudenhausen JW, Plagemann A. Intrauterine Growth Restriction in a Rodent Model and Developmental Programming of the Metabolic Syndrome: A Critical Appraisal of the Experimental Evidence.. *Placenta*. 2008. En prensa.
81. Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ*. 2000; 320(7251):1708-12.
82. Nyirenda MJ, Welberg LA & Seckl JR. Programming hyperglycaemia in the rat through prenatal exposure to glucocorticoids-fetal effect or maternal influence? *J Endocrinol*. 2001;170, 653-660
83. Orr ST, Miller CA, James SA, Babones S. Unintended pregnancy and preterm birth. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2000; 14:309-13.
84. Ozanne SE. Metabolic programming in animals. *Br Med*; 2001, 60:143-52
85. Ozanne SE, Fernandez- Twinn D, Hales CN. Fetal growth and adult diseases. *Semin Perinatol* 2004; 28 (1):81-7.
86. Painter RC, de Rooij SR, Bossuyt PM, de Groot E, Stok WJ, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP, Roseboom TJ. Maternal nutrition during gestation and carotid arterial compliance in the adult offspring: the Dutch famine birth cohort. *J Hypertens*. 2007 Mar;25(3):533-40
87. Paolini, C. L., Marconi, A. M., Ronzoni, S. et al. Placental transport of leucine, phenylalanine, glycine, and proline in intrauterine growth-restricted pregnancies. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2001; 86:5427-5432
88. Pardi G, Marconi AM, Cetin I. Placental-fetal interrelationship in IUGR fetuses--a review. *Placenta*. 2002 Apr;23 Suppl A:S136-41
89. Peleg D, Kennedy CM, Hunter SK. Intrauterine growth restriction: identification and management. *Am Fam Physician* 1998; 58:453-460:466-467

90. Petry CJ & Hales CN. Long-term effects on offspring of intrauterine exposure to deficits in nutrition. *Hum Reprod Update* 2000; 6:578–586.
91. Petry CJ, Ozanne SE, Hales CN. Programming of intermediary metabolism. *Mol Cell Endocrinol.* 2001; 185 (1-2): 81-91.
92. Petry CJ, Ozanne SE, Wang CL & Hales CN. Effects of early protein restriction and adult obesity on rat pancreatic hormone content and glucose tolerance. *Horm Metab Res* 2000; 32, 233–239
93. Phipps Maureen Glennon, Jeffrey D. Blume y SonyaM. DeMonner. Young maternal age associated with increased risk of postneonatal death, 2002; 100:481-486.
94. Picciano MF 2003 Pregnancy and lactation: physiological adjustments, nutritional requirements and the role of dietary supplements. *J Nutr* 133:1997S–2002S
95. Polin R, Fox W, Abman S. Fetal and neonatal physiology. Philadelphia Pennsylvania. Saunders. 2004, vol 1, 464: 478-482.
96. Postic C, Dentin R, Girard J. Role of the liver in the control of carbohydrates and lipid homeostasis. *Diabetes Metab.*2004; 30:398-408.
97. Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN, Bleker OP 1998 Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351:173–177
98. Reichman NE, Pagnini DL. Maternal age and birth outcomes: data from New Jersey. *Fam Plann Perspect.* 1997 Nov-Dec; 29(6):268-72, 295. Erratum in: *Fam Plann Perspect* 1998 May-Jun;30(3):127.
99. Reusens B & Remacle C Intergenerational effect of an adverse intrauterine environment on perturbation of glucose metabolism. *Twin Res* 2001a; 4, 406–411.
100. Reusens B & Remacle C. Effects of maternal nutrition and metabolism on the developing endocrine pancreas. In *Fetal Origins of Cardiovascular and Lung Disease*, ed. Barker DJP, 2001b; pp. 339–358. Marcel Dekker, New York.
101. Reynolds LP, Redmer DA. Angiogenesis in the placenta. *Biol Reprod.* 2001 pr;64(4):1033-40.
102. Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Khoo CS, Fischer RL. Maternal growth during pregnancy and the competition for nutrients. *Am J Clin Nutr.* 1994; 60(2):183-8.
103. Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Mead JP, Fischer RL. Maternal growth during adolescent pregnancy. *JAMA.* 1995 Jul 5; 274(1):26-7.
104. Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Ances IG, Smith WK. Gestational weight gain, pregnancy outcome, and postpartum weight retention. *Obstet Gynecol.* 1995 Sep;86(3):423-7
105. Scholl T, Stein TP, Smith WK. Leptin and maternal growth during adolescent pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 2000 Dec; 72(6):1542-7.
106. Scholl TO, Sowers M, Chen X, Lenders C. Maternal glucose concentration influences fetal growth, gestation, and pregnancy complications. *Am J Epidemiol.* 2001 Sep 15;154(6):514-20.
107. Simmons RA, Templeton LJ & Gertz SJ. Intrauterine growth retardation leads to the development of type 2 diabetes in the rat. *Diabetes* 2001; 50: 2279–2286
108. Stevens-Simon C, McAnarney ER. Skeletal maturity and growth of adolescent mothers: relationship to pregnancy outcome. *J Adolesc Health.* 1993 Sep;14(6):428-32.

109. Stevens-Simon C, McAnarney ER. Further evidence of reproductive immaturity among gynecologically young pregnant adolescent. *Fertil Steril* 1995; 64:1109-1112.
110. Stocker CJ, Arch JR, Cawthorne MA. Fetal origins of insulin resistance and obesity. *Proc Nutr Soc.* 2005 May; 64(2):143-51.
111. Strobino DM, Ensminger ME, Kim YJ, Nanda J,. Mechanisms for maternal age differences in birth weight. *Am J Epidemiol* 1995; 142:504-514.
112. Symonds ME, Stephenson T. Maternal nutrition and endocrine programming of fetal adipose tissue development. *Biochem Soc Trans.* 1999 Feb; 27(2):97-103.
113. Szathmári M, Reusz G, Tulassay T. [Low birth weight, adrenal and sex hormones and their correlation with carbohydrate metabolism and cardiovascular physiology, investigated in young adulthood] . *Orv Hetil.* 2000 Sep 3; 141(36):1967-73.
114. Thornburg, K. L. and Louey, S. Fetal roots of cardiac disease. *Heart* 2005; 91: 867–868
115. Tian JY, Cheng Q, Song XM, Li G, Jiang GX, Gu YY, Luo M. Birth weight and risk of type 2 diabetes, abdominal obesity and hypertension among Chinese adults. *Eur J Endocrinol.* 2006 Oct; 155(4):601-7.
116. Verrier M, Spears W, Ying J, Kerr Gr. Patterns of infants mortality in relation to birth weight, gestational and maternal age, parity and prenatal care in texas. *Tex Med* 1994; 90:50-6.
117. Vickers MH, Reddy S, Ikenasio BA & Breier BH. Dysregulation of the adipoinular axis – a mechanism for the pathogenesis of hyperleptinemia and adipogenic diabetes induced by fetal programming. *J Endocrinol* 2001; 170, 323–332.
118. Wallace JM, Bourke DA, Aitken RP, Palmer RM, Da Silva P & Cruickshank MA. Relationship between nutritionally-mediated placental growth restriction and fetal growth, body composition and endocrine status during late gestation in adolescent sheep. *Placenta* 2000; 21, 100–108
119. Wallace JM, Bourke DA, Da Silva P & Aitken RP. Nutrient partitioning during adolescent pregnancy. *Reproduction* 2001;122, 347–357
120. Wallace JM, Aitken RP, Milne JS & Hay WW Jr. Nutritionally-mediated placental growth restriction in the growing adolescent: consequences for the fetus. *Biol Reprod* 2004; 71, 1055–1062.
121. Wallace JM, Regnault TR, Limesand SW, Hay WW Jr, Anthony RV. Investigating the causes of low birth weight in contrasting ovine paradigms. *J Physiol.* 2005 May 15; 565(Pt 1):19-26.
122. Wells JC. The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother? *J Theor Biol.* 2003; 221 (1):143-61.
123. Wells JC. The thrifty phenotype as an adaptative maternal effect. *Biol Rev,* 2007; 82: 143-172.
124. White MM, Zhang L. Effects of chronic hypoxia on maternal vasodilation and vascular reactivity in guinea pig and ovine pregnancy. *High Alt Med Biol.* 2003 Summer; 4(2):157-69.
125. Woodall SM, Breier BH, Johnston BM, Gluckman PD. A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the Somatotrophic axis and postnatal growth. *J Endocrinol.* 1996 Aug; 150(2):231-42

126. Woods LL, Ingelfinger JR, Nyengaard JR & Rasch R. Maternal protein restriction suppresses the newborn renin-angiotensin system and programs adult hypertension in rats. *Pediatr Res*. 2001; 49, 460-467.
127. Yinon Y, Nevo O, Xu J, Many A, Rolfo A, Todros T, Post M, Caniggia I. Severe intrauterine growth restriction pregnancies have increased placental endoglin levels: hypoxic regulation via transforming growth factor-beta 3. *Am J Pathol*. 2008 Jan; 172(1):77-85.
128. Zambrano E, Rodríguez-González GL, Guzmán C, García-Becerra R, Boeck L, Díaz L, Menjivar M, Larrea F, Nathanielsz PW. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. *J Physiol*. 2005 Feb 15; 563(Pt 1):275-84.
129. Zambrano E, Martínez-Samayoa PM, Bautista CJ, Deás M, Guillén L, Rodríguez-González GL, Guzmán C, Larrea F, Nathanielsz PW. Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *J Physiol*. 2005 Jul 1; 566(Pt 1):225-36
130. Zambrano E, Bautista CJ, Deás M, Martínez-Samayoa PM, González-Zamorano M, Ledesma H, Morales J, Larrea F, Nathanielsz PW. A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J Physiol*. 2006 Feb 15; 571(Pt 1):221-30.
131. Zemunik T, Peruzovic M, Capkun V, Zekan LJ, Milkovic K. Pregnancy in adolescent rats, growth and neurodevelopment in their offspring. *Arch Physiol Biochem* 2001; 109(5):450-6.
132. Zemunik T, Peruzovic M, Capkun V, Zekan LJ, Milkovic K. Behavioral characteristics of the offspring of adolescents rats. *Braz J. Med Biol Res* 2003; 36 (4): 465-475.