

Instituto Superior de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón".

## MORFOLOGÍA Y FUNCIÓN DEL INTESTINO DELGADO DE RATAS CRIADAS SEGÚN UN MODELO DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO RETARDADO

Miriela Martínez Martínez<sup>1</sup>, Mercedes Gámez Fonseca<sup>2</sup>, Concepción González Sabín<sup>3</sup>, Víctor Manuel Rodríguez Sosa<sup>4</sup>, Tania Hidalgo Costa<sup>5</sup>, Martha Elena Herrera Álvarez<sup>6</sup>.

### RESUMEN

El desarrollo fetal se caracteriza por patrones secuenciales de crecimiento y maduración orgánica y tisular determinados por el medio materno, la función útero-placentaria y el potencial de crecimiento genético inherente al feto. La limitación de este potencial de crecimiento se denomina Crecimiento Intrauterino Retardado (CIUR). Las alteraciones fisiopatológicas que acompañan a esta entidad contribuyen al deterioro de la función intestinal, e incrementan la ocurrencia de alteraciones nutricionales durante la vida extrauterina. Las ratas criadas mediante un modelo de CIUR inducido después de ligadura de las arterias uterinas de los cuernos uterinos de la madre mostraron valores disminuidos de las variables somatométricas, bioquímicas y morfofuncionales del estudio. Las variables descriptivas de la morfofunción intestinal se asociaron estrechamente con los indicadores nutricionales empleados en la descripción del estado nutricional del animal. Los resultados expuestos avalan la utilidad del modelo restrictivo gestacional empleado en este estudio. *Martínez Martínez M, Gámez Fonseca M, González Sabín C, Rodríguez Sosa VM, Hidalgo Costa T, Herrera Álvarez ME.* Morfología y función del intestino delgado en crías de ratas en un modelo de crecimiento intrauterino retardado. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr 2012;22(1):7-28. RNPS: 2221. ISSN: 1561-2929.

*Descriptor DeCS:* Desnutrición / Crecimiento Intrauterino Retardado / Modelos experimentales / Evaluación nutricional.

---

<sup>1</sup> Licenciada en Enfermería. Especialista en Fisiología Normal y Patológica. Profesor Instructor de Fisiología.

<sup>2</sup> Especialista de Segundo Grado en Fisiología Normal y Patológica. Doctora en Ciencias Médicas. Profesor Titular.

<sup>3</sup> Especialista de Primer Grado en Fisiología Normal y Patológica. Profesor Asistente. <sup>4</sup> Doctor en Medicina Veterinaria. Investigador agregado. <sup>5</sup> Especialista de Primer Grado en Bioestadística. Profesor Instructor de Bioestadísticas. <sup>6</sup> Máster en Ciencias. Profesor Auxiliar.

Recibido: 2 de Marzo del 2012. Aceptado: 19 de Mayo del 2012.

Miriela Martínez Martínez. Laboratorio de Fisiología Normal y Aplicada. Departamento de Fisiología. Instituto Superior de Ciencias Básicas y Preclínicas. La Habana. Cuba.

Correo electrónico: [ernestoma@infomed.sld.cu](mailto:ernestoma@infomed.sld.cu)

## INTRODUCCIÓN

El feto tiene un potencial de crecimiento intrínseco que, en circunstancias normales, termina en un recién nacido saludable de peso apropiado.<sup>1-2</sup> La unidad materno-feto-placentaria actúa en estrecha armonía, y provee al feto de todo lo que necesita para soportar los cambios fisiológicos de la madre.<sup>3</sup> La limitación del potencial fetal de crecimiento se denomina como “retardo del crecimiento intrauterino”, y se identifica con las siglas CIUR.<sup>4</sup> El CIUR presenta una incidencia del 5% en la población obstétrica general, y es la segunda causa de morbilidad y mortalidad perinatal.<sup>5-6</sup> Si no se identifica oportunamente y se trata adecuadamente, el resultado del CIUR es un recién nacido (RN) con un peso menor de 2,500 gramos, y una mortalidad perinatal entre 5 y 30 veces mayor que aquellos que al nacer muestran un peso equivalente al 50 percentil de las referencias correspondientes.<sup>7-8</sup> La mortalidad es de 70 a 100 veces mayor si el peso del RN es menor de 1,500 g.<sup>7-8</sup>

Como síndrome, el CIUR reconoce numerosas causas. El aporte correcto de nutrientes al feto es fundamental durante el período fetal, y ello se logra sobre la base de una cooperación materno-placentaria que asegure las necesidades de oxígeno y sustratos metabólicos al feto, junto con un correcto control endocrino que permita dicha cooperación.<sup>1-3,9-10</sup> La relación feto-placentaria es compleja. La placenta es un auténtico órgano endocrino que sintetiza hormonas específicas como el lactógeno placentario y la gonadotropina coriónica, y potencia la síntesis de otras como la hormona del crecimiento y los esteroides.<sup>10-11</sup> La placenta también se especializa en la síntesis de factores de crecimiento y citocinas relacionadas con el propio crecimiento placentario y la tolerancia inmunológica fetal.<sup>12-13</sup> Por consiguiente, y al ser la regulación del

crecimiento fetal un proceso complejo, basado en la interacción existente entre factores genéticos y ambientales, los mecanismos etiopatogénicos del CIUR pueden ser causados por alteración de los factores genéticos que determinan el crecimiento fetal (lo que suele ocurrir mayoritariamente en la primera fase gestacional); y/o alteración de los mecanismos reguladores del crecimiento fetal, como evento secundario a la enfermedad materna y/o de la placenta.<sup>14-15</sup>

En contraste con un feto con un desarrollo intrauterino preservado que recibe cantidades abundantes de nutrientes, el feto con CIUR sufre invariablemente de grados variables de desnutrición.<sup>16-17</sup> La satisfacción de necesidades cada vez mayores de oxígeno, energía y nutrientes está afectada por la perentoriedad de asegurar funciones básicas para la subsistencia *intra utero* como la contracción cardíaca, el intercambio de gases y la termorregulación; así como otras enfermedades resultantes de la inmadurez fetal, el uso de fármacos, y la adopción de intervenciones diagnósticas y terapéuticas que no están exentas de riesgo.<sup>17-18</sup>

Es conocido que los niños nacidos con CIUR son más propensos a un mayor número de complicaciones en la vida extrauterina. A pesar de que las estadísticas vitales correspondientes son frecuentemente difíciles de comparar, debido a la heterogeneidad de los criterios de clasificación del CIUR, y la inclusión de niños pretérminos en estas subpoblaciones, lo cierto es el niño nacido con CIUR suele presentar numerosas complicaciones postnatales inmediatas y tardías con peligro para la vida, y la posibilidad cierta de secuelas para la vida adulta.<sup>19-20</sup> Además de la desnutrición postnatal, estos niños pueden presentar alteraciones de los mecanismos homeostáticos que pueden colocarlo en riesgo incrementado de desarrollar

enfermedades asociadas a los diferentes sistemas y órganos de la economía, entre ellos el sistema digestivo, todo lo cual influirá determinante en el estado de salud del futuro adulto.<sup>21-22</sup> Se insiste hoy que las enfermedades crónicas no transmisibles, que se han convertido en un fenómeno epidémico global, tienen su origen en un feto nacido con CIUR.<sup>23-28</sup> En virtud de lo anterior, la detección prenatal del CIUR podría brindar la oportunidad para la aplicación de métodos de cuidados intensivos perinatales que prevengan complicaciones futuras para la vida del niño y el futuro adulto.

El sistema digestivo actúa como un eje integrador de los mecanismos de respuesta del organismo ante las cambiantes condiciones internas y ambientales.<sup>29</sup> Numerosas señales moleculares y humorales se originan en el enterocito que sirven para regular la absorción, incorporación y utilización celular/tisular de los nutrientes.<sup>30</sup> La actividad funcional óptima del sistema digestivo es necesaria para el sostén del estado nutricional del feto tanto en la vida intra- como extra-uterina.<sup>31</sup> La afectación de las tasas de crecimiento, desarrollo y maduración de los diversos componentes del sistema digestivo, sin duda, repercutirá negativamente en el estado nutricional del feto.

La experimentación animal crea las condiciones para el estudio de la génesis y desarrollo del CIUR, y la repercusión de esta entidad sobre el estado de salud en la etapa de vida extrauterina. Mediante la ligadura selectiva de las arterias uterinas de los cuernos uterinos de la rata embarazada, se puede reducir significativamente el aporte de oxígeno y nutrientes al feto sin precipitar la muerte del mismo, y de esta manera, estudiar los cambios adaptativos que ocurran en sistemas seleccionados, como el digestivo.<sup>32-33</sup> Los indicadores descriptores de la morfo-funcionalidad digestiva se podrían correlacionar con los propios del

estado nutricional del animal criado con un CIUR, y lograr así una mejor comprensión de cómo el sistema digestivo conduce los procesos de utilización de los nutrientes.

Es por ello que se condujo el presente trabajo, orientado a demostrar que las ratas criadas con CIUR muestran alteraciones de la morfofunción de digestiva que pueden afectar el estado nutricional. Para ello, se respondieron los siguientes objetivos: determinar la afectación de los indicadores somatométricos, bioquímicos e inmunológicos del estado nutricional de las ratas criadas con CIUR; establecer las alteraciones que ocurren en la morfofunción intestinal de las mismas; y explorar las relaciones que puedan existir entre la función intestinal y el estado nutricional cuando el CIUR es una entidad preexistente.

## MATERIAL Y MÉTODO

*Descripción de la muestra:* La muestra de estudio estuvo conformada por 56 crías de ratas adultas de la línea Wistar. Se escogió esta línea por ser un modelo biológico aceptado internacionalmente debido a su adecuado comportamiento nutricional, estabilidad reproductiva, docilidad y poca incidencia de canibalismo.

Las madres tenían una edad promedio de 12 semanas, y un peso promedio de  $190 \pm 10$  gramos (Mínimo: 180 gramos; Máximo: 200 gramos); y se aparearon con machos adultos de peso promedio de  $235 \pm 35$  gramos (Mínimo: 200 gramos; Máximo: 270 gramos) de la misma línea y procedencia, y con fertilidad probada. Los animales procedían del CENPALAB Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (Bejucal, Provincia Mayabeque).

Los animales empleados en este estudio no presentaron malformaciones congénitas; y mostraron una buena ganancia de peso durante la gestación, y un buen estado nutricional al nacer. No se constató historia

de reabsorciones en las crías en el día 16 de la gestación. Se excluyeron los animales con ganancia insuficiente de peso durante la gestación, desnutridos al nacer, enfermos, con malformaciones congénitas; o con historia de reabsorciones el día 16 de la gestación.

Las ratas fueron colocadas en condiciones adecuadas de luz, temperatura, y humedad dentro de cajas plásticas translúcidas; y alimentadas *ad libitum* con agua corriente y pienso para animales. Las camas fueron hechas con bagazo esterilizado que se removió en días alternos. Las ratas fueron mantenidas durante 7 días en las condiciones descritas durante 7 días como medida de cuarentena y adaptación a las nuevas condiciones.

**Diseño experimental:** La fase del ciclo estral de cada rata hembra se determinó diariamente mediante lavado de la vagina con suero fisiológico y la observación del frotis al microscopio óptico. El apareamiento se produjo en horas de la tarde del primer día de la fase de estro, a razón de un macho por hembra. El logro de la cópula se comprobó al día siguiente en las primeras horas de la mañana después de lavado de la vagina con suero fisiológico y la observación de espermatozoides en el examen microscópico de la muestra obtenida de las secreciones vaginales. Ese día se marcó como el día cero de la gestación.

Las ratas hembras gestadas fueron pesadas en el momento en que se comprobó la gravidez, colocadas en cajas individuales, y se distribuyeron al azar en dos grupos: *Grupo I:* Experimental; y *Grupo II:* Control; respectivamente. Adicionalmente, las madres en cada grupo se distribuyeron en 4 subgrupos correspondientes al tiempo en que fueron estudiadas las crías: *Subgrupo I:* Día 1; *Subgrupo II:* 7 días; *Subgrupo III:* 14 días; y *Subgrupo IV:* 21 días; respectivamente.

En el día 16 de la gestación las madres del Grupo I fueron anestesiadas con 50 mg de Tiopental por Kg de peso administrados por vía intraperitoneal en condiciones asépticas, laparotomizadas, y las arterias uterinas expuestas y ligadas totalmente en el punto más bajo de ambos cuernos con seda quirúrgica doble cero, siguiendo el modelo descrito por Tomé y Alfonso.<sup>34-36</sup> A pesar de la interrupción del flujo de sangre, el útero no se necrosa, pues el flujo continúa, aunque en un caudal menor, gracias al riego arterial colateral suministrado, entre otras, por las arterias ováricas. Se escogió el día 16 de la gestación para la intervención experimental porque se conoce que el riego sanguíneo se incrementa notablemente a partir del día 14 de la preñez, así como el paso de sustancias a través de la placenta. Las madres del Grupo II no fueron intervenidas, y se mantuvieron en iguales condiciones que las del Grupo I. Las ratas de ambos grupos fueron pesadas en días alternos.

El parto se produjo de forma fisiológica en todas las gestantes. El número de crías por camada fue diferente según el grupo de pertenencia de la madre. En el Grupo II (Control) se le dejó a cada madre 8 crías; mientras que en el Grupo I (Experimental) el tamaño de la camada fue de 6 crías. Con esta práctica se homogenizó el número de crías en ambos grupos, y se garantizó la nutrición postnatal de acuerdo a lo establecido internacionalmente en esta etapa de la vida. Según el grupo de pertenencia, el número de crías fue como sigue: *Grupo I:* 24 crías; y *Grupo II:* 32 crías; respectivamente.

**Análisis somatométrico de la cría:** De cada una de las crías se obtuvo la talla y el peso. La talla se midió en milímetros colocando a la cría extendida sobre un papel milimetrado, y tomando el hocico y la punta de la cola como los puntos de referencia para la medición. El peso se determinó en gramos con una balanza digital (YAMATO, Japón).

**Análisis morfométrico del intestino delgado:** En el día señalado para ello, se practicó la eutanasia de la cría. A continuación la pared abdominal se incidió por planos hasta exponer los órganos abdominales. Se disecaron y se pesaron el intestino delgado (desde el píloro hasta la unión ileocecal), el hígado, el bazo, los pulmones, el estómago, el corazón y los riñones. Completado este paso, se separaron 3 cm del yeyuno a partir del ángulo de Treitz, que se lavaron gentilmente con una solución enfriada de NaCl al 0.9%, y se conservaron en formaldehído al 12%. Llegado el día del procesamiento anatomopatológico, el fragmento se incluyó en parafina, y se cortó en finas secciones que se extendieron sobre láminas portaobjetos. Los cortes se colorearon con Hematoxilina/Eosina y se examinaron bajo un microscopio óptico para observar los cambios producidos por la deprivación nutricional *intra utero*. El estudio morfométrico de cada segmento comprendió la altura de las vellosidades, la profundidad de las criptas, y el grosor del epitelio. El estudio morfométrico fue realizado por un especialista en Anatomía Patológica.

El análisis morfométrico también incluyó la determinación del contenido de proteínas del intestino delgado mediante el método de Lowry.<sup>37</sup> Brevemente, 300 mg de la mucosa del intestino se homogenizaron en 3 mL de NaOH 2.0 N, y se centrifugaron durante 10 minutos a 3,000 rpm. Cien  $\mu$ L del homogenizado se incubaron con el reactivo de Folin hasta la aparición del color. Los resultados se expresaron en mg de proteínas por cada g de intestino.

**Análisis de la función digestiva del intestino delgado:** La función digestiva del intestino delgado se midió mediante el test de la actividad de las disacaridasas intestinales<sup>38</sup> y el test de absorción intestinal *in vitro* de glucosa.<sup>39</sup> Para el test de la actividad de disacaridasas intestinales se tomaron 5 cm del yeyuno situado a 10 cm

aproximadamente del ángulo de Treitz. Ciento diez mg de la mucosa yeyunal se homogenizaron en 2 mL de NaCl 0.9%, y se centrifugaron a 3,000 rpm durante 10 minutos. Doscientos  $\mu$ L del homogenizado se incubaron con 100  $\mu$ L de una solución de 20 mg del disacárido en cuestión (sacarosa/lactosa/maltosa) diluidos en 2 mL de agua destilada. La mezcla se incubó a 37°C en baño de María, con agitación constante durante 1 hora. Terminada la incubación, se extrajeron 20  $\mu$ L de la mezcla, y se incubaron con 2 mL de una solución de glucosa-oxidasa (RapiGlucotest®©, EPB Empresa de Productos Biológicos “Carlos Juan Finlay”, La Habana, Cuba) a 37°C durante 10 minutos. Concluido este paso, se registró la densidad óptica de la mezcla de reacción a 505 nm en un espectrofotómetro dedicado, y el valor obtenido se transformó en mmol/L de glucosa mediante una curva de calibración convenientemente preparada.

El test de absorción intestinal *in vitro* de glucosa mide el paso de glucosa a través de un segmento de mucosa yeyunal en contra de un gradiente de concentración construido *in vitro*. Brevemente, 10 cm de yeyuno (separados a partir del ángulo de Treitz) se lavaron con suero fisiológico, y se evertieron de forma tal que la mucosa intestinal quedara expuesta al exterior. Un extremo del segmento de yeyuno así evertido se ató con seda 3.0. Hecho esto, se inyectó 1 mL de una solución de glucosa 12.5 M en el interior del segmento con una jeringuilla provista de un catéter de polietileno, y el extremo libre se cerró también seda 3.0. Todas estas maniobras fueron realizadas con extremo cuidado para no dañar la mucosa del intestino.

La bolsa construida con el segmento de yeyuno que presentaba la mucosa expuesta al exterior, y contenía la solución de glucosa 12.5 M, se introdujo en un recipiente con 50 mL de una solución de glucosa 25 M, y se mantuvo durante una hora a 37°C.

Transcurrido ese tiempo, el segmento se retiró del recipiente, y el volumen de la solución de glucosa contenida dentro del mismo se recuperó para la determinación de la concentración de glucosa. Completado este paso, se lavó el segmento con 2 mL de agua destilada, y se obtuvieron 110 mg de tejido después de raspado de la mucosa. El tejido mucosal recuperado se homogenizó en 2 mL de NaCl al 0.9%, y se centrifugó después durante 10 minutos a 3,000 rpm. La concentración de glucosa en el sobrenadante resultante después del paso de centrifugación se determinó mediante el método de la glucosa-oxidasa.

La absorción neta *in vitro* de glucosa se estimó de la fórmula:

$$G_{\text{absorbida}} = [G_{\text{luminal}} + G_{\text{mucosal}}] - G_{\text{inicial}} \quad (1)$$

En la fórmula anterior,  $G_{\text{absorbida}}$  : cantidad neta de glucosa absorbida *in vitro* por el segmento de yeyuno;  $G_{\text{luminal}}$  : glucosa presente en la luz del segmento de yeyuno al final del tiempo de observación, y que representa la que atravesó la mucosa del segmento en contra del gradiente existente entre la luz del segmento (12.5 M) y el exterior (25.0 M);  $G_{\text{mucosal}}$  : glucosa presente dentro de los enterocitos del epitelio yeyunal, y determinada en el sobrenadante obtenido por centrifugación del homogenato de mucosa yeyunal; y  $G_{\text{inicial}}$  : glucosa presente en la solución 12.5 M con la que se rellenó el segmento de yeyuno al inicio del experimento; respectivamente.

**Análisis bioquímico:** En el día de la eutanasia de la cría, se extrajo sangre por punción cardíaca para la determinación de Proteínas totales (mediante la técnica de Lowry),<sup>37</sup> Albúmina sérica (mediante la técnica del verde bromocresol),<sup>40</sup> Colesterol sérico (técnica de la Colesterol esterasa),<sup>41</sup> y Glucosa sérica (técnica de la Glucosa oxidasa).<sup>42</sup> También se contó el número total de linfocitos mediante el recuento global y

diferencial de leucocitos en una lámina periférica preparada *ad hoc*.<sup>43</sup>

El protocolo de análisis bioquímico también comprendió la determinación de la excreción urinaria de creatinina. Para ello, las crías se colocaron en jaulas metabólicas individuales en el día 21 de observación para recoger la orina eliminada durante 24 horas. La creatinina presente en el volumen recogido se determinó mediante la reacción de Jaffé, y los valores obtenidos se expresaron en mmol/L.<sup>44</sup>

#### **Procesamiento de datos y análisis estadístico-matemático de los resultados:**

Los datos recogidos durante la conducción del protocolo experimental se registraron en los formularios propios del estudio, y se almacenaron en un contenedor digital creado con EXCEL 7.0 para OFFICE de WINDOWS XP (Microsoft, Redmond, Virginia, Estados Unidos). Los datos se redujeron mediante estadígrafos de locación (media) y dispersión (desviación estándar). Las diferencias observadas entre los grupos experimentales en cada una de las variables del estudio se evaluaron mediante el test "U" de Mann-Whitney.<sup>45</sup> La asociación entre variables seleccionadas se midió mediante el coeficiente de correlación de Pearson.<sup>46</sup> En todas las instancias se consideró un nivel  $\alpha$  de significación del 5%.<sup>46</sup>

## **RESULTADOS**

La Tabla 1 muestra el estado de las variables somatométricas de las ratas criadas según un modelo de CIUR, en particular, la talla y el peso corporal y de varios órganos, a excepción del intestino delgado, que se muestra más adelante. Las crías con CIUR mostraron valores basales inferiores de la talla y el peso corporal, así como del peso de varios órganos. Es de destacar que las diferencias observadas respecto de los valores propios de las crías normales alcanzaron significación estadística en los

casos de la talla y el peso de la cría, ésta última variable a expensas de valores disminuidos del peso del hígado, el estómago, los pulmones, y el bazo.

14 y 21 de vida extrauterina) se constató una tasa mayor de cambio de estas variables en las crías con CIUR, con las excepciones del corazón y los riñones; aún cuando los

Tabla 1. Estado de las variables somatométricas de las ratas criadas según un modelo de crecimiento intrauterino retardado. Se muestran la media  $\pm$  desviación estándar de los resultados obtenidos para cada variable, junto con la tasa de cambio [en porcentajes entre corchetes] respecto de los valores observados en el primer día.

Variable	Grupo	Momento de la observación			
		Primer día	Día 7	Día 14	Día 21
Talla, cm	Control	70.5 $\pm$ 3.6	111.7 $\pm$ 1.4 [+ 58.4]	144.7 $\pm$ 2.8 [+ 105.0]	180.9 $\pm$ 5.3 [+ 156.6]
	Experimental	60.0 $\pm$ 3.5 <sup>¶</sup>	94.3 $\pm$ 1.9 <sup>¶</sup> [+ 57.2]	141.0 $\pm$ 1.8 <sup>¶</sup> [+ 135.0]	178.8 $\pm$ 3.4 [+ 198.0]
Peso, g	Control	6.7 $\pm$ 0.3	16.8 $\pm$ 0.8 [+ 150.7]	30.0 $\pm$ 1.8 [+ 347.8]	40.1 $\pm$ 2.9 [+ 498.5]
	Experimental	5.3 $\pm$ 0.4 <sup>¶</sup>	13.1 $\pm$ 0.9 <sup>¶</sup> [+ 147.0]	25.3 $\pm$ 1.4 <sup>¶</sup> [+ 377.3]	39.2 $\pm$ 4.7 [+ 639.6]
Peso del hígado, mg	Control	420.0 $\pm$ 47.5	537.5 $\pm$ 219.2 [+ 27.9]	925.0 $\pm$ 88.6 [+ 120.2]	1,750.0 $\pm$ 141.4 [+ 316.7]
	Experimental	238.3 $\pm$ 30.6 <sup>¶</sup>	443.3 $\pm$ 29.4 [+ 86.0]	835.0 $\pm$ 46.4 <sup>¶</sup> [+ 250.4]	1,316.7 $\pm$ 160.2 <sup>¶</sup> [+ 452.5]
Peso del corazón, mg	Control	35.5 $\pm$ 5.5	81.3 $\pm$ 8.3 [+ 129.0]	161.2 $\pm$ 33.1 [+ 354.1]	386.2 $\pm$ 63.9 [+ 987.9]
	Experimental	35.0 $\pm$ 5.5	80.0 $\pm$ 8.9 [+ 128.6]	148.3 $\pm$ 14.7 [+ 323.7]	266.7 $\pm$ 51.6 <sup>¶</sup> [+ 662.0]
Peso de los pulmones, mg	Control	138.8 $\pm$ 17.3	313.8 $\pm$ 24.5 [+ 126.1]	425.0 $\pm$ 46.3 [+ 206.2]	587.5 $\pm$ 83.5 [+ 323.3]
	Experimental	58.3 $\pm$ 14.7 <sup>¶</sup>	225.0 $\pm$ 20.7 <sup>¶</sup> [+ 285.9]	370.0 $\pm$ 48.6 [+ 534.6]	436.7 $\pm$ 24.2 <sup>¶</sup> [+ 649.1]
Peso del estómago, mg	Control	307.5 $\pm$ 19.1	533.7 $\pm$ 37.4 [+ 73.6]	775.0 $\pm$ 88.6 [+ 152.0]	825.0 $\pm$ 128.2 [+ 168.3]
	Experimental	198.3 $\pm$ 30.6 <sup>¶</sup>	480.0 $\pm$ 61.6 <sup>¶</sup> [+ 83.4]	688.3 $\pm$ 80.6 [+ 247.0]	690.0 $\pm$ 128.0 [+ 247.9]
Peso del bazo, mg	Control	22.5 $\pm$ 7.1	56.3 $\pm$ 9.2 [150.2]	100.0 $\pm$ 0.0 [+ 344.4]	175.0 $\pm$ 46.3 [+ 677.8]
	Experimental	13.3 $\pm$ 5.2 <sup>¶</sup>	51.7 $\pm$ 7.5 [+ 288.7]	95.0 $\pm$ 10.5 [+ 614.3]	150.0 $\pm$ 54.8 [+ 1,027.8]
Peso de los riñones, mg	Control	53.8 $\pm$ 9.2	275.0 $\pm$ 23.3 [+ 411.1]	362.5 $\pm$ 51.7 [+ 573.8]	662.5 $\pm$ 106.1 [+ 1,131.0]
	Experimental	46.7 $\pm$ 8.2	233.0 $\pm$ 17.2 <sup>¶</sup> [+ 398.9]	320.0 $\pm$ 35.8 [+ 585.2]	450.0 $\pm$ 45.0 [+ 863.6]

<sup>¶</sup>p < 0.05. Test "U" de Mann-Whitney.

En las observaciones hechas en las instancias siguientes (esto es: en los días 7,

valores absolutos de las variables somatométricas fueron inferiores a los

propios de las crías empleadas como controles.

variables bioquímicas: las determinaciones bioquímicas se realizaron en un pool de

Tabla 2. Comportamiento de las variables bioquímicas empleadas en la descripción del estado nutricional de las crías con crecimiento intrauterino retardado. Se muestran la media  $\pm$  desviación estándar de los resultados obtenidos para cada variable, junto con la tasa de cambio [en porcentajes entre corchetes] respecto de los valores observados en el primer día. Para más detalles: Consulte el texto del artículo.

Variable	Grupo	Momento de la observación			
		Primer día	Día 7	Día 14	Día 21
Proteínas totales, g.L-1	Control	36.0 $\pm$ 0.0	49.0 $\pm$ 0.0 [+ 36.1]	49.1 $\pm$ 0.6 [+ 36.1]	54.3 $\pm$ 1.2 [+ 50.8]
	Experimental	25.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	38.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup> [+ 52.0]	42.5 $\pm$ 2.7 <sup>¶</sup> [+ 70.0]	51.0 $\pm$ 2.1 <sup>¶</sup> [+ 104.0]
Albumina sérica, g.L-1	Control	17.0 $\pm$ 0.0	20.0 $\pm$ 0.0 [+ 17.6]	21.5 $\pm$ 1.8 [+ 26.4]	31.6 $\pm$ 2.5 [+ 85.9]
	Experimental	11.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	15.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup> [+ 36.4]	18.3 $\pm$ 1.8 <sup>¶</sup> [+ 66.4]	28.0 $\pm$ 3.5 <sup>¶</sup> [+ 154.5]
Glucosa sérica, mmol.L-1	Control	1.2 $\pm$ 0.0	1.9 $\pm$ 0.0 [+ 58.3]	4.2 $\pm$ 0.8 [+ 250.0]	5.0 $\pm$ 0.5 [+ 316.7]
	Experimental	0.3 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	1.3 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup> [+ 333.3]	3.6 $\pm$ 0.1 [+ 1,100.0]	4.7 $\pm$ 0.3 [+ 1,467.7]
Colesterol sérico, mmol.L-1	Control	2.1 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 0.0 [+ 42.9]	3.2 $\pm$ 0.3 [+ 52.4]	3.2 $\pm$ 0.5 [+ 52.4]
	Experimental	1.1 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	2.2 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup> [+ 100.0]	2.5 $\pm$ 0.4 <sup>¶</sup> [+ 127.3]	2.8 $\pm$ 0.2 <sup>¶</sup> [+ 154.5]
CTL, células.mm-3	Control	2.3 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 0.0 [+ 30.4]	3.5 $\pm$ 0.3 [+ 52.2]	3.7 $\pm$ 0.2 [+ 60.9]
	Experimental	1.7 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	2.4 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup> [+ 41.2]	2.8 $\pm$ 0.2 <sup>¶</sup> [+ 64.7]	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>¶</sup> [+ 94.1]
Excreción urinaria de Creatinina, mg.mL-1	Control	ND	ND	ND	206.6 $\pm$ 11.5
	Experimental	ND	ND	ND	150.0 $\pm$ 14.1

<sup>¶</sup> p < 0.05. Test "U" de Mann-Whitney.

<sup>a</sup> No evaluado. Determinación bioquímica hecha en un pool de la sangre de las crías del grupo sacrificadas en el mismo día de observación.

ND: No disponible. Determinación bioquímica hecha solo con las crías sacrificadas en el día 21 de observación.

La Tabla 2 muestra el estado de las variables bioquímicas empleadas en la investigación como indicadores del estado nutricional de la cría. Debido a las restricciones impuestas por el diseño experimental, no se pudieron evaluar las diferencias existentes entre los grupos de crías respecto del comportamiento de las

sangre obtenido con las crías, debido al tamaño de las mismas, y la imposibilidad de reunir suficiente material biológico para el ensayo bioquímico. Ello también justificó la determinación de la excreción urinaria de creatinina en el día 21 de evolución de la cría. Aún así, se observó que los valores de las variables bioquímicas en las crías con

CIUR fueron menores, al menos De forma similar a lo registrado con las somatométricas, la tasa de cambio de la numéricamente.

Tabla 3. Estado de la morfología y la función del intestino delgado de la cría con crecimiento intrauterino retardado. Se muestran la media  $\pm$  desviación estándar de los resultados obtenidos para cada variable, junto con la tasa de cambio [en porcentajes entre corchetes] respecto de los valores observados en el primer día para las primeras 3 variables. La tasa de cambio de las restantes variables no se pudo calcular debido a las restricciones impuestas por el protocolo experimental. Para más detalles: Consulte el texto del artículo.

Característica	Grupo	Momento de la observación			
		Primer día	Día 7	Día 14	Día 21
Peso del intestino delgado, mg	Control	175.0 $\pm$ 25.1	622.5 $\pm$ 37.7 [+ 255.7]	862.5 $\pm$ 51.7 [+ 392.9]	2,062.5 $\pm$ 140.8 [+ 1,078.6]
	Experimental	98.3 $\pm$ 29.3 <sup>¶</sup>	561.7 $\pm$ 39.2 <sup>¶</sup> [+ 471.4]	798.3 $\pm$ 26.4 <sup>¶</sup> [+ 712.1]	1,650.0 $\pm$ 242.9 <sup>¶</sup> [+ 1,578.5]
Volumen del intestino delgado, mL	Control	0.61 $\pm$ 0.06	1.20 $\pm$ 0.05 [+ 96.7]	1.53 $\pm$ 0.04 [+ 150.8]	1.58 $\pm$ 0.05 [+ 159.0]
	Experimental	0.27 $\pm$ 0.03 <sup>¶</sup>	0.89 $\pm$ 0.05 <sup>¶</sup> [+ 229.6]	1.11 $\pm$ 0.02 <sup>¶</sup> [+ 311.1]	1.56 $\pm$ 0.09 [+ 477.8]
Longitud del intestino delgado, cm	Control	23.9 $\pm$ 1.9	44.4 $\pm$ 1.5 [+ 85.6]	48.2 $\pm$ 1.1 [+ 101.7]	66.4 $\pm$ 1.4 [+ 177.8]
	Experimental	17.0 $\pm$ 1.2 <sup>¶</sup>	37.4 $\pm$ 1.5 <sup>¶</sup> [+ 120.0]	43.9 $\pm$ 1.4 <sup>¶</sup> [+ 158.2]	55.8 $\pm$ 1.6 <sup>¶</sup> [+ 228.2]
Contenido de proteínas del intestino delgado, mg%	Control	ND	0.25 $\pm$ 0.0	0.35 $\pm$ 0.02	0.66 $\pm$ 0.21
	Experimental	ND	0.14 $\pm$ 0.0	0.24 $\pm$ 0.07 <sup>¶</sup>	0.59 $\pm$ 0.01
Actividad sacarásica, $\mu$ moles Glucosa/mg mucosa/hora	Control	ND	0.05 $\pm$ 0.0	0.14 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.05
	Experimental	ND	0.02 $\pm$ 0.0	0.12 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.07
Actividad maltásica, $\mu$ moles Glucosa/mg mucosa/hora	Control	ND	0.04 $\pm$ 0.0	0.06 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.02
	Experimental	ND	0.02 $\pm$ 0.0	0.03 $\pm$ 0.01 <sup>¶</sup>	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>¶</sup>
Actividad lactásica, $\mu$ moles Glucosa/mg mucosa/hora	Control	ND	0.49 $\pm$ 0.0	0.38 $\pm$ 0.04	0.33 $\pm$ 0.02
	Experimental	ND	0.42 $\pm$ 0.0	0.31 $\pm$ 0.02 <sup>¶</sup>	0.24 $\pm$ 0.03 <sup>¶</sup>
Absorción <i>in vitro</i> de glucosa, $\mu$ moles Glucosa/hora	Control	ND	ND	ND	4.05 $\pm$ 0.57
	Experimental	ND	ND	ND	4.04 $\pm$ 0.37
Profundidad de la cripta, nm	Control	ND	ND	5.6 $\pm$ 0.2	ND
	Experimental	ND	ND	5.3 $\pm$ 0.3 <sup>¶</sup>	ND
Grosor del epitelio, nm	Control	ND	ND	2.5 $\pm$ 0.1	ND
	Experimental	ND	ND	2.4 $\pm$ 0.1 <sup>¶</sup>	ND
Altura de la vellosidad, nm	Control	ND	ND	10.9 $\pm$ 0.2	ND
	Experimental	ND	ND	10.6 $\pm$ 0.1 <sup>¶</sup>	ND

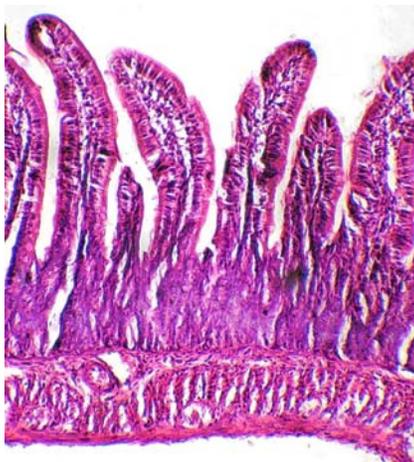
<sup>¶</sup>p < 0.05. Test "U" de Mann-Whitney.

ND: No disponible. Determinación diferida debido al tamaño de la cría y/o restricciones del modelo experimental.

variable bioquímica fue mayor en las crías con CIUR.

evolución. Se observó una disminución estadísticamente significativa de la

Figura 1. Aspecto histológico de la mucosa yeyunal de las ratas criadas según un modelo de crecimiento intrauterino retardado. Se muestran las microfotografías de cortes longitudinales de la mucosa de yeyuno obtenida de la cría en el día 14 de nacida. *Izquierda*: Grupo Control: Las vellosidades muestran un epitelio más grueso y mayor profundidad de la cripta. *Derecha*: Grupo Experimental: Las vellosidades muestran un epitelio menos alto y grueso, y la profundidad de la cripta menor. Aumento: 145 x. Coloración: Hematoxilina-Eosina.



La Tabla 3 muestra los cambios observados en la morfología y la función del intestino delgado en las crías con CIUR. De forma similar a lo observado con las variables somatométricas y bioquímicas, los valores iniciales del peso, volumen y longitud del intestino delgado fueron menores en las crías con CIUR. También el contenido de proteínas fue menor en el intestino delgado de la cría con CIUR. Igualmente, la actividad disacaridásica intestinal (evaluada para los 3 disacáridos notables: maltosa, lactosa y sacarosa) fue inferior en la cría con CIUR. Sin embargo, el CIUR no influyó sobre la absorción yeyunal *in vitro* de glucosa: los valores observados de esta variable fueron similares para ambos grupos en el día 21 de evolución.

La Tabla 3 también muestra el estudio morfométrico de los cortes hechos del intestino delgado a las crías en el día 14 de

profundidad de la cripta, el tamaño de la vellosidad, y el grosor del epitelio intestinal en las crías con CIUR.

La Tabla 4 muestra la asociación entre los indicadores de la morfofunción intestinal de la cría a los 21 días de nacida, y los del estado nutricional. De los indicadores propuestos, solo la Albúmina y el Conteo de Linfocitos mostraron el mejor comportamiento estadístico, al asociarse significativamente con 6 y 5 indicadores de la morfofunción intestinal, respectivamente; si bien la mayoría de las asociaciones fueron de carácter negativo.

Finalmente, la Figura 1 muestra las microfotografías del intestino delgado de la cría que fueron empleadas para evaluar la influencia del modelo de CIUR sobre la morfología intestinal íntima. En las crías con CIUR se observaron vellosidades con un epitelio menos alto y menos grueso, y con una profundidad menor de las criptas.

## DISCUSIÓN

Cualquier organismo vivo debe verse como un sistema integral al que ingresan nutrimentos (mediante los procesos de ingestión y absorción), y del cual salen los productos no útiles del metabolismo, como resultado de las funciones de excreción, o el consumo de los nutrientes dentro de la maquinaria metabólica. El equilibrio entre ambos fenómenos requiere del mantenimiento de la integridad de aquellas estructuras que constituyen piezas claves en el normal crecimiento y desarrollo del organismo. Sin lugar a dudas, el sistema gastrointestinal constituye uno de los elementos principales en el mantenimiento de este equilibrio, puesto que de él depende, precisamente, la incorporación de los nutrimentos que se encuentran contenidos en los alimentos ingeridos.<sup>29</sup> En consecuencia, cualquier alteración que se produzca en los procesos de ingestión, digestión, secreción, absorción y motilidad tendrá un impacto negativo en la asimilación de los nutrientes, y provocará alteraciones de todos los procesos que garantizan el ingreso de los nutrimentos al organismo.<sup>30</sup>

Normalmente debe existir un balance entre el ingreso y el gasto de nutrientes. Mientras que el ingreso de nutrientes puede variar desde cero hasta un límite máximo, el gasto de los mismos es continuo, nunca tiene un valor de cero, y se incrementa en situaciones específicas. Si el gasto supera el ingreso de nutrientes, se establece un balance negativo, y ello resulta en una disminución del contenido corporal del nutriente, y por ende, de la forma en que éste se almacena en los compartimentos muscular, visceral y graso del organismo.

El período fetal es una de las etapas de mayor velocidad de crecimiento de un organismo vivo, y se ha comprobado que la restricción de nutrientes a la madre puede afectar las medidas somatométricas de las crías en la vida postnatal.<sup>47-48</sup> Luego, el

modelo restrictivo gestacional utilizado en este estudio puede proporcionar evidencias sobre la existencia de períodos críticos de crecimiento intrauterino de especial sensibilidad a la disminución del flujo materno-fetal.

Las crías de ratas con CIUR mostraron valores disminuidos de talla y peso corporal, confirmando resultados anteriores.<sup>35,49-51</sup> Es innegable que el aporte inadecuado de nutrientes al feto durante el desarrollo *intra utero* afecta la composición corporal del mismo, y ello se hace visible en una talla disminuida para la edad gestacional, y un menor peso corporal. La restricción global de nutrientes provoca disminución del metabolismo celular y, con ello, caída del gasto energético. El desbalance entre los ingresos nutrimentales y la demanda de los mismos es lo que conduce a cambios metabólicos en el animal que afectan el potencial genético de crecimiento y desarrollo.

Fisiopatológicamente, ante la presencia de desnutrición, el organismo desencadena una respuesta adaptativa que conduce a la movilización de los depósitos hepáticos de glucógeno primero, y grasa corporal después, a fin de sostener la actividad metabólica, con la consiguiente depleción de los sitios de almacenamiento de estos sustratos.<sup>52-56</sup> Pero no se debe olvidar que, para cuando el organismo se entrena en el uso de grasas como sustrato energético, ya se ha consumido cantidades nada despreciables de proteínas estructurales con el mismo propósito, pues la utilización metabólica de las grasas requiere de un período adaptativo de duración variable. Como consecuencia de todo ello, se produce una contracción del tamaño de los compartimentos adiposo y muscular esquelético del organismo, fenómeno que se integra en la pérdida de peso.

La reducción del peso corporal de la cría con CIUR al nacer también se apreció en una disminución del peso de órganos

importantes para la economía, entre ellos, el hígado, los pulmones y el estómago. Existen estudios en modelos animales que reflejan que la disminución de las concentraciones séricas fetales del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) se asocia con la reducción del peso de los diferentes órganos del animal, y concluyen que tales factores pueden desempeñar importantes funciones durante el crecimiento fetal. Garofano reportó la disminución del peso del hígado en crías con CIUR, lo cual trae consigo daños irreversibles en el órgano.<sup>57</sup> Lang *et al.* describieron una disminución del peso en el hígado en las crías de ovejas nacidas con CIUR después de la reducción del flujo útero placentario.<sup>58</sup> Peterside *et al.* hallaron que las crías de ratas con flujo sanguíneo útero-placentario insuficiente presentaban cambios en el tejido hepático relacionados con la actividad deficitaria (e incluso suprimida) de enzimas que desempeñan un papel importante en el metabolismo oxidativo de este órgano.<sup>59</sup> Bai *et al.* reportaron disminución en el peso y volumen de los pulmones, lo que estaría también relacionado con la producción deficitaria del IGF-1.<sup>60</sup> Lang *et al.*, en el estudio antes citado del modelo de CIUR inducido en ovejas, también hicieron referencia a valores disminuidos del peso de los pulmones en las crías nacidas con CIUR.<sup>58</sup>

En contraste con observaciones anteriores, en este estudio no se encontraron cambios en el peso del corazón ni de los riñones de las crías con CIUR, si bien el peso de estos últimos órganos fue numéricamente inferior al registrado para las crías controles. El peso disminuido de los riñones en las crías con CIUR evidencia la presencia de afectaciones cuya influencia persiste después del nacimiento. Garofano ha planteado que un retraso grave del crecimiento intrauterino en las crías de ratas provoca afectaciones irreversibles del desarrollo y maduración del riñón, no

importa que después el animal sea expuesto a varios meses de nutrición adecuada.<sup>57</sup> Otros investigadores han reportado un número disminuido de glomérulos en los riñones de las crías de ratas con CIUR, y aunque los mecanismos moleculares que sostienen este hallazgo no están aclarados, parece ser que la apoptosis juega una función importante durante la organogénesis renal.<sup>61-62</sup> Filiz *et al.* han reportado la disminución del número total de nefronas en ratas nacidas con CIUR, en concordancia con lo observado en fetos humanos.<sup>63</sup> Los estudios realizados con crías de conejos también han reportado una disminución del número de glomérulos, y la reducción del flujo vascular renal durante el desarrollo *intra utero* podría ser la causa de ello.<sup>61</sup> Es probable entonces que tales alteraciones descritas en otros modelos también estén presentes en las crías obtenidas con el modelo de CIUR expuesto en este trabajo, pero ello debe aguardar a estudios futuros.

La reducción en el número de los glomérulos renales y la disminución del flujo vascular renal se han propuesto como las causas posibles de la aparición de enfermedades crónicas en la adultez, como la hipertensión arterial.<sup>27-28</sup> Si ello fuera cierto, entonces el modelo presente de CIUR serviría como una herramienta importante para el estudio de la génesis y evolución de una de las enfermedades crónicas no transmisibles más frecuentes en la población cubana.

Lang *et al.* también reportaron disminución en el peso del corazón de las crías de ovejas nacidas con CIUR.<sup>58</sup> Mayhew *et al.* han descrito que fetos humanos nacidos con CIUR presentaron un peso disminuido del corazón y reducción del volumen del ventrículo.<sup>64</sup> Miyague *et al.* mencionaron una disminución significativa del llenado ventricular durante la diástole en los fetos humanos con CIUR.<sup>65</sup> Si bien en este estudio no se comprobaron variaciones

en el peso del corazón de las crías de ratas con CIUR, ello no debe hacer pasar por alto que la función cardíaca pueda afectarse en la adultez, y con ello, provocar estados de insuficiencia crónica del órgano.

Este estudio también evaluó el comportamiento de varios indicadores bioquímicos tenidos como tradicionales del estado nutricional. Aunque el tamaño de la cría al nacer impidió la obtención de cantidades suficientes de muestras biológicas para la determinación de estos indicadores, se pudo comprobar que los valores de los mismos fueron siempre inferiores en aquellas nacidas con CIUR, corroborando observaciones de otros autores.<sup>36</sup>

El estado de muchos de los indicadores bioquímicos del estado nutricional depende del funcionamiento adecuado del hígado, tales como los lípidos séricos y las proteínas secretoras hepáticas.<sup>66</sup> Las proteínas totales representan un estimado del número de tales moléculas en el torrente sanguíneo, y comprenden tanto las serinas (de las cuales la albúmina es la más emblemática) como las globulinas (que incluyen las inmunoglobulinas que participan en el rechazo de los gérmenes patógenos).<sup>67</sup> La constatación de tenores disminuidos de proteínas totales puede orientar hacia una disminución de la actividad secretora hepática por aportes disminuidos de energía y nitrógeno.

La albúmina es la principal proteína plasmática y constituye el indicador de elección en la evaluación de la morfología y funcionalidad del componente visceral. La disminución de la disponibilidad de precursores debido a la restricción alimentaria, unido al uso de las proteínas como fuente de energía, pueden explicar la caída de los valores de este indicador en la cría con CIUR.<sup>68</sup> No obstante, se debe tener en cuenta que la albúmina tiene una vida media de 20 días, y que en el modelo expuesto en este trabajo el aporte de

nutrientes al feto se hizo por disminución del flujo sanguíneo *intra utero*. Una vez nacidas, las crías fueron alimentadas por la madre con lactancia materna exclusiva. Estas circunstancias pudieran explicar por qué no se observaron reducciones mayores de las concentraciones de las proteínas totales y la albúmina. No se puede pasar por alto la posibilidad de que los animales empleados en el estudio muestren también alteraciones en la producción de señales moleculares (como los factores de crecimiento similares a la insulina) causadas por el daño hepático presente, lo cual, evidentemente, repercute en el crecimiento y desarrollo ponderal de estos animales.<sup>60</sup>

El colesterol puede ofrece información sobre el estado del componente graso del organismo: la fuente fundamental de energía.<sup>69</sup> El colesterol es más susceptible de modificarse ante daños nutricionales crónicos y mantenidos y de larga duración, algo que se debe tener en cuenta cuando se examine la influencia del diseño experimental sobre el comportamiento de este indicador. La tasa de cambio en los valores iniciales del colesterol (así como de los restantes indicadores bioquímicos) pudiera indicar que, instalada la restricción nutricional *intra utero*, el animal es capaz de adaptarse y sobreponerse a la modificación introducida en su entorno.

El estado del sistema inmune del animal se evaluó mediante el CTL. Las crías con CIUR mostraron conteos significativamente disminuidos de linfocitos. El CTL constituye un indicador inespecífico del estado de inmunocompetencia del organismo, y mide la capacidad del mismo para movilizar células inmunoactivas, y responder así ante la sepsis y la agresión.<sup>70-71</sup> Se debe tener en cuenta que el tejido linfoide en el intestino delgado se encuentra organizado ya como folículos linfoides donde se localizan los linfocitos B y T; o distribuido de forma difusa, con la presencia de linfocitos intraepiteliales y el tejido linfoide asociado a

la lámina propia.<sup>31</sup> Luego, en vista de la estrecha relación existente entre el estado nutricional del sujeto y el sistema inmune, y conociendo que el intestino delgado es considerado como un órgano inmune porque el tejido linfoide asociado con él juega un papel importante en la inmunidad específica e inespecífica del organismo, resulta comprensible los conteos disminuidos de linfocitos observados en las crías de ratas con CIUR.

Se ha descrito en trabajos recientes la existencia de atrofia del tejido linfoide intestinal que corre en paralelo con la gravedad de la desnutrición, y con ello, una disminución de la respuesta inmune mediada por células. Además, se reporta en las ratas desnutridas una disminución de la actividad de mecanismos inespecíficos de defensa inmune como la fagocitosis y el complemento, y de la liberación de la IgA secretora y algunas citoquinas, que puede revertirse con una adecuada nutrición.<sup>72</sup>

La medición de la creatinina excretada en una colección de orina de 24 horas puede servir para hacer inferencias sobre el tamaño del compartimiento muscular esquelético.<sup>73</sup> Las determinaciones hechas en el día 21 de vida extrauterina no revelaron diferencias dependientes del CIUR. Por las cuestiones propias de la manipulación de los animales de experimentación, no se pudo determinar la excreción urinaria de creatinina en otros momentos anteriores. De haber sido posible, los resultados seguramente hubieran sido diferentes. No se encontraron referencias en la literatura consultada sobre estudios similares para trazar el cambio en la excreción urinaria de creatinina en los animales con CIUR durante la vida extrauterina.

No se observaron variaciones significativas del metabolismo glucídico que fueran dependientes del CIUR. El animal trata de mantener la homeostasis de la glucosa, debido a la repercusión de la misma

sobre la correcta utilización de la energía alimenticia, probablemente mediante la gluconeogénesis hepática y cambios en el metabolismo oxidativo.<sup>54-56</sup> Estudios futuros en esta dirección servirán para elucidar la influencia del CIUR sobre el metabolismo glucídico.

Las crías con CIUR también se distinguieron por valores disminuidos del peso, el volumen y la longitud del intestino delgado. Estas afectaciones indican la marcada susceptibilidad del intestino delgado a la disminución del aporte *intra utero* de nutrientes durante las etapas clave de la organogénesis fetal.<sup>74</sup>

Los resultados observados en la morfología digestiva coinciden con los reportados por otros autores, y se extienden también a los órganos extradigestivos como el cerebro, el hígado, y el páncreas. Cruz García, utilizando este mismo modelo de CIUR, reportó disminución de las características morfométricas del intestino delgado que se mantienen hasta el destete, asociadas con alteraciones histológicas que evidencian la presencia de daños en este órgano.<sup>49</sup> Otro estudio realizado por González Sabín con este modelo de CIUR atribuyó la disminución de la morfometría digestiva a alteraciones de la composición química del intestino delgado, y que se expresa por una disminución de los niveles epiteliales de ácidos nucleicos.<sup>75</sup> Las alteraciones de la composición química del intestino delgado resultan en una capacidad funcional disminuida, lo que contribuye a un retraso en la recuperación de la función intestinal.<sup>75</sup>

Los estudios en crías de ovejas con CIUR han reportado también la disminución del peso del intestino delgado, y que puede trazarse hasta el adelgazamiento de la pared intestinal.<sup>74</sup> La suplementación con IGF-1 de las crías mejora el peso del intestino, incrementa el grosor de la pared, y aumenta

el número de mitosis en las criptas intestinales.<sup>76</sup>

El funcionamiento del intestino delgado, como el de todos los órganos de la economía, depende en primera instancia del mantenimiento de la estructura, y ésta, a su vez, de la composición de proteínas y otros elementos indispensables para la reproducción celular. Para el mantenimiento de la funcionalidad de la estructura digestiva, los procesos de síntesis deben garantizar el recambio y reparación de las proteínas estructurales sobre las cuales se sustentan dichos procesos, y esto se expresa precisamente por una mayor síntesis proteica y, por ende, una mayor concentración de proteínas en el órgano propiamente dicho. El contenido de proteínas en la mucosa puede ser un indicador indirecto de la estructura del intestino delgado.<sup>57</sup> En concordancia con los resultados anteriores, el contenido de proteínas en la mucosa intestinal fue menor en las crías de las ratas con CIUR. Resultados similares han sido reportados después del estudio del contenido de proteínas en el intestino delgado de crías de ratas<sup>75</sup> y corderos.<sup>77</sup> Es importante destacar que no se pudo determinar el contenido intestinal de proteínas en el primer día de nacido de la cría debido a las dificultades inherentes en el manejo de un órgano tan delicado en este momento de la vida extrauterina del animal.

La evaluación de la funcionalidad digestiva comprendió también la determinación de la actividad de las enzimas disacaridasas ubicadas en el borde en cepillo de las microvellosidades, y que intervienen en la digestión final de los carbohidratos. La particular ubicación de estas enzimas hace que la actividad disacaridásica se modifique dramáticamente ante cualquier evento que dañe el intestino delgado, como sería el caso de la disminución del flujo sanguíneo *intra utero*. La actividad lactásica fue siempre menor en la cría con CIUR, e incluso disminuyó a medida que se alargaba la vida

extrauterina. Ello podría deberse a la disminución del flujo materno fetal en el tercer trimestre de la gestación, lo que afectaría selectivamente la actividad de esta enzima que aparece fisiológicamente después del día 19 de la gestación.<sup>74-75</sup> Además, la disminución del flujo materno fetal disminuye la maduración prenatal del intestino delgado, y por lo tanto, la actividad de la enzima objeto de análisis.<sup>77-78</sup> Por el contrario, la actividad de las enzimas maltasa y sacarasa disminuyó durante los primeros días de vida postnatal, para aumentar después del día 14 de vida extrauterina. No obstante, la actividad de estas enzimas fue menor en las crías con CIUR.

Las enzimas maltasa y sacarasa son  $\alpha$ -glucosidasas que aparecen en el día 18 de la gestación, y se encuentran en bajas concentraciones al nacer. La actividad de las mismas aumenta a partir de la tercera semana de vida posnatal.<sup>31</sup> La actividad disminuida de estas enzimas en el momento del nacimiento podría explicarse como el resultado de los mecanismos de regulación de la expresión génica que garantizan las biomoléculas que le son indispensables al animal en sus funciones específicas.<sup>79-80</sup> Se debe dejar dicho que la restricción nutricional *intra utero* de la cría según el modelo de CIUR aplicado ocurre en el día 16 de la gestación.

Los resultados observados de la actividad enzimática del borde en cepillo del yeyuno coinciden con otros reportados previamente que encontraron una disminución significativa de la actividad maltásica posnatal de ratas nacidos con CIUR.<sup>32</sup> Sin embargo, en los estudios realizados por Lebenthal *et al.* sobre la actividad enzimática intestinal de crías de ratas con CIUR se observó una reducción de la actividad de otras diferentes de la maltasa, lo que se explicó por una afectación selectiva de otras enzimas del borde en cepillo debido

a la restricción del flujo sanguíneo uterino.<sup>78</sup> Los estudios de trasplantes de intestino fetal han comprobado que los cambios en la actividad enzimática del borde en cepillo yeyunal están programados genéticamente, y son independientes de la presencia de nutrientes en la luz intestinal y las secreciones del aparato digestivo.<sup>74</sup>

La absorción de glucosa *in vitro* mide la capacidad de absorción de este sustrato a través del epitelio intestinal en contra de un gradiente de concentración. Esta función intestinal requiere de mecanismo de transporte activo, aunque si la concentración intraluminal es muy alta, puede ocurrir mediante difusión facilitada.<sup>39</sup> El transporte activo de glucosa a través de la mucosa yeyunal requiere de un transportador que funciona estrechamente con la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa de la pared basolateral del enterocito. Luego, la absorción de glucosa requiere de un enterocito sano y energía para sostener el transporte activo. No se pudo demostrar que el CIUR se asociara con una absorción disminuida de glucosa a través de la mucosa del yeyuno. Es importante señalar que esta característica del intestino delgado se evaluó a los 21 días de nacida la cría, momento que no se reconoce como crítico para la integridad morfofuncional del órgano, ni, por la misma razón, de susceptibilidad aumentada al daño. De haber sido posible la realización del proceder experimental en momentos anteriores de la vida extrauterina, los resultados hubieran sido diferentes, por ser el período comprendido entre los días 1 – 14 de vida extrauterina los de mayor susceptibilidad al daño por noxas diversas, incluida la restricción nutrimental.

El estudio morfométrico de la mucosa del yeyuno de la cría con CIUR se extendió al análisis histológico de las vellosidades, las criptas y el grosor del epitelio. Las crías con CIUR mostraron una disminución significativa del tamaño de la vellosidad, la

profundidad de la cripta, y el grosor del epitelio. Con estos resultados se corrobora que la restricción *intra utero* de nutrientes fetales provoca cambios morfológicos (tanto macro- como microscópicos) en la mucosa del yeyuno, y estos cambios morfológicos resultan en afectación de la funcionalidad digestiva, aún en aquellos indicadores que tienen un patrón de comportamiento genéticamente determinado, como las enzimas disacaridasas; y coinciden con los realizados previamente en el laboratorio de pertenencia de los autores.<sup>35,49-50</sup> De hecho, existe una franca correlación entre las variables que evalúan la morfofunción intestinal y las que describen el estado nutricional de la cría, con especial relevancia para la albúmina sérica y el CTL. Los resultados obtenidos permitirán interpretar mejor los mecanismos fisiopatológicos que subyacen en las alteraciones gastrointestinales que se presentan frecuentemente en los recién nacidos con CIUR, a fin de trazar estrategias de intervención que mejoren la calidad de vida de ello, y garanticen una vida saludable, en cumplimiento de directrices nacionales y globales.

## CONCLUSIONES

Los valores de las características somatométricas y funcionales del intestino delgado, y los indicadores bioquímicos e inmunológicos del estado nutricional, estaban disminuidos en crías de ratas con CIUR, lo que avala el modelo restrictivo gestacional utilizado. Se observó una estrecha correlación entre las variables que evalúan la morfofunción intestinal con las que describen el estado nutricional, en particular, la albúmina sérica y el CTL. La restricción global de nutrientes altera profundamente la homeostasia del organismo, y desencadena mecanismos de regulación metabólica que comprenden

desde la asimilación de nutrientes hasta la utilización de los mismos. En la adaptación intestinal intervienen mecanismos intracelulares, humorales y nerviosos, y el intestino delgado juega un rol fundamental como el sustrato morfológico de la digestión y absorción de nutrientes.

### LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El modelo restrictivo gestacional propuesto por Tomé y Alfonso<sup>35-37</sup> ha sido validado en ratas de la línea Sprague-Dowley, pero no así en animales de la línea Wistar. Este estudio debe ir seguido de otros para evaluar la influencia de la línea genética del animal. También debería estudiarse la influencia del sexo en la expresión de las características morfométricas del intestino delgado, y así corregir las observaciones hechas según esta covariable. Finalmente, el modelo desarrollado de CIUR podría ser útil en el estudio del ciclo vital del CIUR, y con ello, evaluar los cambios corporales y morfológicos que esta condición trae consigo en la adultez y la vejez del animal, incluida la génesis y evolución de las enfermedades crónicas no transmisibles.

### AGRADECIMIENTOS

Dr. Sergio Santana Porbén, Editor-Ejecutivo de la RCAN Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, por la ayuda brindada en la redacción de este artículo.

### IN MEMORIAM

Dra. Mercedes Gámez Fonseca (1949 – 2012†). Jefa del Laboratorio de Fisiología Digestiva y Nutrición (1992-2000) y Directora General del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”, de La Habana (Cuba). Ejemplo de condición humana y disciplina científica.

### SUMMARY

*Fetal development is characterized by sequential patterns of organ and tissue growth and maturation determined by maternal milieu, uterine-placental function and the genetic growth potential that is inherent to the fetus. Limitation of this potential growth is termed Intrauterine Growth Retardation (IUGR). Physiopathological alterations accompanying this entity contribute to derangement of intestinal function, and increase the occurrence of nutritional disorders during extrauterine life. Rats bred according with an IUGR model induced after ligation of uterine arteries of the mother's uterine horns showed diminished values of somatometric, biochemical and morphofunctional variables of the study. Descriptive variables of the intestinal morphofunction associated closely with nutritional indicators used in the description of the animal's nutritional status. Results discussed sustain the usefulness of the restrictive model used in this study. **Martínez Martínez M, Gámez Fonseca M, González Sabín C, Rodríguez Sosa VM, Hidalgo Costa T, Herrera Álvarez ME.** Morphology and function of the small bowel in rat pups bred following an Intrauterine Growth Retardation model. *RCAN Rev Cubana Aliment Nutr* 2012;22(1):7-28. RNPS: 2221. ISSN: 1561-2929.*

*Subject headings: Malnutrition / Intrauterine Growth Retardation / Experimental models / Nutritional assessment.*

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Metcalf J, Costiloe J, Crosby W, Bentle L, Seshachalam D, Sandstead HH *et al.* Maternal nutrition and fetal outcome. *Am J Clin Nutr* 1981;34:708-21.
2. Ramachandran P. Maternal nutrition-effect on fetal growth and outcome of pregnancy. *Nutr Rev* 2002;60(5 Pt 2): S26-S34.
3. Daniels J. Fetomaternal interaction. En: *Neonatology* (Editor: Avery GB). JB

- Lippincot Co. Philadelphia:1997. pp 97-109.
4. Warshaw JB. Intrauterine growth restriction revisited. *Growth, Genetics & Hormones* 1992; 8:5-8.
  5. Division of Family Health. World Health Organization. The incidence of low birth weight: a critical review of available information. *World Health Stat Q* 2005; 33:197-224.
  6. Carrera JM. Crecimiento intrauterino retardado: concepto y frecuencia. En: *Crecimiento Fetal Normal y Patológico* (Editor: Carrera JM). Masson SA. Barcelona:1997. pp 219-224.
  7. Hill RM, Verniaud WM, Deter RL, Tennyson LM, Rettig GM, Zion TE *et al*. The effect of intrauterine malnutrition on the term infant: A 14-year prospective study. *Acta Paediatr Scand* 1984;73:482-7.
  8. Ballabriga A. Crecimiento intrauterino. *An Esp Pediatr* 1995;70:91-7.
  9. Battaglia FC, Meschia G. Fetal Nutrition. *Ann Rev Nutr* 1999;8:43-61.
  10. Gluckman PD, Harding JE. Nutritional and hormonal regulation of fetal growth-evolving concepts. *Acta Paediatr* 1994;399(Suppl):60-3.
  11. Cedard L. The endocrine functions of the placenta. Interactions between trophic peptides and hormones. En: *Placental function and fetal nutrition* (Editor: Battaglia FC). Workshop Series 39. Lippincott-Raven. Philadelphia: 1997. pp 59-74.
  12. Toubas PL. Placental circulation and fetal growth. En: *Intrauterine Growth Retardation* (Editor: Senterre J). Raven Press. New York: 1999. pp 1-21.
  13. Owens JA, Kind KL, Robinson JS. Oxygenation in utero: Placental determinants and fetal requirements. En: *Placental function and fetal nutrition* (Editor: Battaglia FC). Workshop Series 39. Lippincott-Raven. Philadelphia: 1997. pp 123-141.
  14. Milner RD, Hill DJ. Fetal growth control. The role of insulin and related peptides. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; 21:415-33.
  15. Hill DJ, Milner RDG. Mechanisms of fetal growth. En: *Clinical Paediatric Endocrinology* (Editor: Brook CGD). Blackwell Scientific Publications. Oxford: 1999. pp. 3-31.
  16. Karlsson K. The influence of hypoxia on uterine and maternal placental blood flow and the effect of L-adrenergic blockade. *J Perinatol Med* 1984;12: 168-76.
  17. Caldeyro Barcia R. Fetal malnutrition: The role of maternal blood flow. *Hosp Pract* 1970;6: 3343.
  18. Robinson JS, Owens JA, Owens PC. Fetal growth and fetal growth retardation. En: *Textbook of Fetal Physiology* (Editores: Thorburn GD, Harding R). Oxford University Press. Oxford: 1994. pp. 83-94.
  19. Hales CN. Metabolic consequences of intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr* 1997; 423(Suppl):184-7.
  20. Mortaz M, Fewtrell MS, Cle TJ, Lucas A. Birth weight subsequent growth and cholesterol metabolism in children of 8 – 12 years old born preterm. *Arch Dis Child* 2001;84:212-7.
  21. Ferro-Luzzi A, Ashworth A, Martorell R, Scrimshaw N. Report of the IDECG Working Group on effects of IUGR on infants, children and adolescents: immunocompetence, mortality, morbidity, body size, body composition, and physical performance. *Eur J Clin Nutr* 1998;52(Suppl 1):S97-S99.
  22. Ibañez L, Potau N, de Zegher F. Precocious pubarche, dyslipidemia, and low IGF binding protein-1 in girls: Relation to reduced prenatal growth. *Pediatr Res* 1999;46:320-2.

23. Barker DJP. Fetal growth and adult disease. *J Obstet Gynaecol* 1992;99:275-82.
24. Barker DJP. The fetal origins of diseases of old age. *Eur J Clin Nutr* 1992;46(Suppl 3):3-9.
25. Barker DJP. The fetal origins of coronary heart disease. *Acta Paediatr* 1997;422(Suppl):78-82.
26. Phillips DIW, Barker DJP, Hales CN, Hirst S, Osmond C. Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia* 1994;37:150-4.
27. Barker DJP, Godfrey KM, Gluckman PD, Harding JE, Owens JA, Robinson JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 1993;341:938-41.
28. Barker DJP, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *Br Med J* 1990;301:259-62.
29. Guyton AC, Hall JE. Digestión y absorción en el aparato gastrointestinal. En: *Tratado de Fisiología Médica*. Décima Edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid: 2002. pp.903-15.
30. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Aparato gastrointestinal. En: *Patología Estructural y Funcional* (Editor: Robbins). Sexta Edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid: 2000. pp. 809-880.
31. Fawcett DW. Intestinos. En: *Tratado de Histología*. Duodécima Edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid: 1995. pp. 675-707.
32. Ariyuki F. Growth retardation induced in rat fetuses by maternal fasting and massive doses of ergocalciferol. *J Nutr* 1987;117:342-8.
33. Hayash TT, Dolks ME. A rat model for the study of intrauterine growth retardation. *Am J Obstetric Gynecol* 1988;158:1203-7.
34. Tomé O, Alfonso C. Obtención experimental de crías con crecimiento intrauterino retardado. *Rev Cubana Cienc Vet* 2000;26:39-41.
35. Tomé O, Alfonso C. Comportamiento postnatal de variables somatométricas en crías de rata con crecimiento intrauterino retardado experimental. *Rev Cubana Cienc Vet* 2001;27:15-7.
36. Tomé O, Alfonso C. Comportamiento de valores de la química sanguínea en crías de ratas con crecimiento intrauterino retardado. *Rev Cubana Cienc Vet* 2003;39:27.
37. Lowry OH, Rose Broygh NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:67-73.
38. Dalqvist A. Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal. Biochem* 1994;25:18-25.
39. Newey H, Smyth DH, Whaler BC. The absorption of glucose by the *in vitro* intestinal preparation. *J Physiol* 1955;129:1-11.
40. Hernández A. Albúmina. En: *La clínica y el laboratorio*. Décimo octava Edición. Ediciones Médicas SA. Madrid: 1999. pp 34-36.
41. Siedel J, Hagele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem* 1983;29:1075-80.
42. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem* 1969;6:24-5.
43. Rodríguez A. Leucograma. En: *La clínica y el laboratorio*. Décimo octava Edición. Ediciones Médicas SA. Madrid: 1999. pp 20-25.
44. Hare RS. Endogenous creatinine in serum and urine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1950;74 (148):45-9.

45. Siegel S. Estadística no Paramétrica. Segunda Edición. Editorial Trillas. México: 1974.
46. Martínez Canalejo H, Santana Porbén S. Manual de Procedimientos Bioestadísticos. Editorial Ciencias Médicas. La Habana: 1990.
47. Wiglesworth JS. Experimental growth retardation in the fetal rat. *J Pathol Bacteriol* 1964;88:1-13.
48. Hohenauer L, Oh W. Body composition in experimental growth retardation in the rat. *J Nutr* 1969;99:23-6.
49. Cruz García M. Estudio morfológico del intestino delgado en ratas con crecimiento intrauterino retardado. Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana. Trabajo de Terminación de Residencia en Embriología. MINSAP Ministerio de Salud Pública. La Habana: 1991.
50. Álvarez Y. Estudio de la morfometría en órganos de crías de ratas con crecimiento intrauterino retardado. Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana. Trabajo de Terminación de Residencia en Embriología. MINSAP Ministerio de Salud Pública. La Habana: 2007.
51. Cha CJ, Gelardi NL, Oh W. Growth and cellular composition in the rat with intrauterine growth retardation: Effect of postnatal nutrition. *J Nutr* 1987;117:1463-8.
52. Patel D, Kalhan S. Glycerol metabolism and triglyceride-fatty acid cycling in the human newborn: Effect of maternal diabetes and intrauterine growth retardation. *Paediatric Res* 1992;31:52-8.
53. Wells JCK, Davies PSW. The components of energy metabolism in 12 week old infants. *Ann Hum Biol* 1995; 22:175.
54. Salle B, Ruitton-Uglienco A. Glucose disappearance rate, insulin response and growth hormone response in the small for gestational age and premature infant of very low birth weight. *Biol Neonate* 1996;29:1-17.
55. Hay WW Jr. Fetal energy and protein metabolism. Intrauterine Growth Retardation (Editor: Senterre J). Raven Press. New York: 1999. pp. 39-64.
56. Van den Akker CH, Van Goudoever JB. Recent advances in our understanding of protein and amino acid metabolism in the human fetus. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010;13:75-80.
57. Garofano A, Czernichow P, Breant B. Postnatal somatic growth and insulin contents in moderate or severe intrauterine growth retardation in the rat. *Biol Neonate* 1998;73:89-98.
58. Lang U, Clark KE. Effects of chronic reduction in uterine blood flow on fetal and placental growth in the sheep. *Am J Physiol Regu Integr Comp Physiology* 2000;279:53-9.
59. Peterside I, Selak EM, Simmons RA. Impaired oxidative phosphorylation in hepatic mitochondria in growth-retarded rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:1258-66.
60. Bai B, Yao Y, Li W, Zeng Y, Yang F. The relationships of the serum concentrations of insulin-like growth factors in fetal rats with intrauterine growth retardation. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Bao* 2003;32:307-12.
61. Bassan H, Rejo N, Kariv M, Bassan M, Berger A, Fatal A *et al.* Experimental intrauterine growth retardation alters renal development. *Pediatr Nephrol* 2000;15:192-5.
62. Merlet-Bénichou C, Gilbert T, Muffat-Joly M, Lelièvre-Pégorier M, Leroy B. Intrauterine growth retardation leads to a permanent nephron deficit in the rat. *Pediatr Nephrol* 1994;8:175-180.
63. Filiz S, Dalcik C, Filiz TM, Dalcik H. Localization of neural cell adhesion molecule and pan-cadherin immunoreactivity in intrauterine growth-retarded

- newborn rats kidneys. *Appl. Immunohistochem Mol Morphol* 2003; 11:352-8.
64. Mayhew TM, Gregson MC, Fagan DH. Ventricular myocardium in control and growth-retarded human fetuses: growth in different tissue compartments and variation with fetal weight, gestational age, and ventricle size. *Hum Pathol* 1999;30:655-60.
65. Miyague NI, Ghidini A, Fromberg R, Miyague MM. Alterations in ventricular filling in small-for gestational age foetuses. *Fetal Diagn Ther* 1997;12:332-5.
66. Sparks JW, Hay WW Jr, Meschia G, Battaglia FC. Fetal liver metabolism in the unstressed fetal lamb: Experience with a chronic induced hepatic venous catheter. *Paediatric Res* 1998; 1615: 265A.
67. Philips AF, Battaglia FC. Glucose metabolism and ammonia production by the human placenta in vitro. *Paediatric Res* 1999;13:117-20.
68. Lacy JA. Albumin overview: use as nutritional marker and as a therapeutic intervention. *Crit Care Nurs* 1991;11:46-9.
69. Comizio R, Pietrobelli A, Tan YX, Wang ZM, Withers RT, Heymsfield SB, Bóxer CN. Total body lipid and triglyceride response to energy deficit: relevance to body composition models. *Am J Physiol* 1998;274 (Endocrinol Metab 37):E860-E866.
70. Bastow M. Biochemistry of hospital nutrition. *Contemp Issues Clin Biochem* 1986;4:123-39.
71. Shenkin A, Cederblad G, Elia M, Isaksson B. Laboratory assessment of protein energy status. *Clin Chim Acta* 1996;253:S3-S59.
72. Kimberly A., Freitag, Kourin E. Acute starvation and subsequent refeeding affect lymphocytes subsets and proliferation in cats. *J Nutr* 2000;130: 2444-9.
73. Forbes GB, Bruining GJ. Urinary creatinine excretion and lean body mass. *Am J Clin Nutr* 1976;29:1359-66.
74. Avila CG, Harding R, Rees S, Robinson PM. Small intestinal development in growth retarded fetal sheep. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989;8:507-15.
75. González Sabín C. Funciones intestinales en ratas con crecimiento intrauterino retardado. Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana. Trabajo de Terminación de Residencia en Fisiología Normal y Patológica. MINSAP Ministerio de Salud Pública. La Habana: 1991.
76. Bloomfield FH, Bauer MK, Van PL, Gluckman PD, Harding JE. Amniotic IGF-I supplements improve gut growth but reduce circulating IGF-I in growth restricted fetal sheep. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;282:259-69.
77. Trahair JF, DeBarro TM, Robinson JS, Owens JA. Restriction of nutrition in utero selectively inhibits gastrointestinal growth in fetal sheep. *J Nutr* 1997;127:637-41.
78. Lebenthal E, Nitzan M, Lee PC, Chrzanowski BL, Krasner J. Effect of intrauterine growth retardation on the activities of fetal intestinal enzymes in rats. *Biol Neonate* 1981;39:14-21.
79. Clarke S, Abraham S. Gene expression. Nutrient control of pretranscriptional and posttranscriptional events. *FASEB J* 1992;6:3146-52.
80. Guard J, Hauguel-de Mouzon S, Chatelain F. Regulation of gene expression by nutrients during the perinatal period. En: Placental function and fetal nutrition (Editor: Battaglia FC). Workshop Series 39. Lippincott-Raven. Philadelphia: 1997. pp. 103-121.