

R. 10.118



T.D.  
P/84

METABOLISMO ENERGETICO DE LA RATA GESTANTE  
Y DE SUS FETOS. RESPUESTA AL AYUNO

Elizabeth Pintado Sanjuan

Tesis presentada para optar al grado de Doctor por  
la Facultad de Medicina de Sevilla

1979

COLLÈGE

DE

FRANCE

Paris, le 25 mai 1979

Laboratoire de

PHYSIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT

Place Marcelin-Berthelot, Paris-5<sup>e</sup>

Code postal : 75231 Paris Cedex 05

### ATTESTATION

Je soussigné Dr Jean GIRARD, sous-directeur du laboratoire de Physiologie du Développement du Collège de France, certifie que Madame Elizabeth PINTADO-SANJUAN a réalisé les recherches sur le métabolisme de la Ratte gestante, qu'elle présente dans sa Thèse de Médecine.

Madame PINTADO-SANJUAN s'est montrée très intéressée par la recherche et a beaucoup travaillé pendant son séjour dans notre laboratoire. Son caractère agréable lui a en outre permis de s'intégrer très rapidement au groupe de chercheurs que je dirige. Le travail qu'elle a effectué apporte plusieurs observations originales sur le métabolisme énergétique pendant la gestation.

Je pense que Madame PINTADO-SANJUAN possède les qualités intellectuelles et humaines nécessaires pour devenir un très bon élément dans un laboratoire de recherches en biochimie et en physiologie.



Dr J. GIRARD, PhD, D. Sc.

10 B° Ponente



## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jean Girard por la dirección de este trabajo y por el estímulo que me dio en todo momento para llevarlo a cabo.

Al Prof. Raimundo Goberna que posibilitó mi estancia en París y por aceptarse Catedrático Ponente de esta Tesis.

A mis compañeros del Collège de France, Armelle Leturque, Marc Gilbert y Jean Paul Pegorier que con su camaradería y amistad me hicieron agradable mi estancia en el Laboratorio.

A mis compañeros de la Cátedra de Bioquímica de la Facultad de Medicina de Sevilla que me animaron para la pronta redacción de este manuscrito.

A Luis Aguilar por su eficaz colaboración en el trabajo gráfico.

A mis padres

A mi esposo e hijas

## CONTENIDO

INTRODUCCION Y OBJETIVOS.....	1
FISIOLOGIA DE LA GESTACION.....	4
1. Aspectos generales.....	4
2. Metabolismo intermediario durante la gestación.....	6
2.1. Metabolismo materno durante los dos primeros tercios de la ges- tación.....	10
2.2. Metabolismo materno durante el último tercio de la gestación...	11
3. Principales substratos del metabolismo fetal.....	15
3.1. Glucosa y sus derivados.....	20
3.2. Aminoácidos.....	25

3.3. Acidos grasos libres, cuerpos cetónicos y glicerol.....	26
4. Utilización de substratos por el feto.....	28
4.1. Formación de nuevos tejidos.....	29
4.2. Metabolismo oxidativo.....	31
4.3. Constitución de reservas ener- géticas.....	35
5. Respuesta del metabolismo materno y fetal al ayuno.....	39
MATERIAL Y METODOS.....	46
1. Animales.....	46
2. Diseño experimental.....	47
2.1. Grupos de animales.....	47
2.2. Tratamiento de las muestras.....	50
3. Determinación de la glucosa, lactato y piruvato.....	53
4. Determinación de los cuerpos cetó- nicos.....	55
5. Determinación del glicerol.....	56
6. Determinación de los ácidos grasos libres.....	58
7. Determinación de la alanina.....	61

8. Determinación de otros amino- ácidos.....	62
9. Análisis de los resultados.....	63
10. Metodología utilizada para el es- tudio del recambio ("turnover") de glucosa en la rata.....	64
10.1. Fundamentos.....	64
10.2. Técnica.....	66
RESULTADOS.....	78
1. Modificaciones del peso en los ani- males gestantes y no gestantes du- rante el ayuno.....	78
2. Niveles en sangre arterial de glu- cosa, lactato, piruvato, cuerpos cetónicos, glicerol y alanina en animales vírgenes y gestantes. Mo- dificaciones en el ayuno.....	82
3. Diferencias del metabolismo muscu- lar entre vírgenes y gestantes.....	90
4. Estudio del recambio ("turnover") de glucosa y de su reciclaje en ani- males gestantes y vírgenes.....	102
5. Captación de substratos por el con- ceptus (unidad feto-placentaria). Modificaciones en el ayuno.....	106

6. Captación y liberación de subs- tratos por el feto.....	118
DISCUSION.....	124
1. Peso materno y fetal.....	124
2. Cambios metabólicos en la gestación....	128
3. Metabolismo del conceptus y del feto. Adaptaciones al ayuno materno.....	137
4. Recambio ("turnover") y reciclaje de la glucosa en animales vírgenes y gestantes.....	145
CONCLUSIONES.....	150
BIBLIOGRAFIA.....	154





## INTRODUCCION Y OBJETIVOS

La gestación supone un problema metabólico evidente pues la madre debe asegurar el paso de substratos hacia el feto para permitirle su desarrollo normal. Los efectos de la gestación sobre el metabolismo materno han sido objeto de numerosos estudios (Felig y col., 1970; Freinkel y col., 1971, 1972, 1974; Herrera, 1978; Herrera y col., 1969; Knopp, 1978; Knopp y col., 1973, 1975).

En la última década, los trabajos sobre el metabolismo durante la gestación en animales de experimentación han contribuido a explicar, en parte, los mecanismos de la predisposición a la diabetes y a la obesidad en la mujer gestante (Herrera, 1978; Knopp, 1978).

Por otra parte, el estudio en animales gestantes alimentados y ayunados ha servido de paradigma experi-

mental para profundizar en el conocimiento del metabolismo intermediario (Felig y col., 1972; Gilbert, 1978; Girard y col., 1977).

Aunque hay gran cantidad de datos referentes al metabolismo durante la gestación, el utilizar especies diferentes y en condiciones experimentales no siempre bien determinadas dan lugar a la existencia en la literatura de aspectos no aclarados e incluso contradictorios.

La gestación supone no solo un cambio en el metabolismo materno, sino que la aparición de nuevos tejidos (placenta y feto) hace de esta situación fisiológica un estado complejo en donde aspectos nutricionales, hormonales y de crecimiento y diferenciación celular han de acoplarse.

Otro aspecto de la fisiología de la gestación corresponde al estudio del metabolismo fetal. La mayoría de los trabajos realizados sobre el metabolismo fetal, se han realizado bien "in vitro", o bien "in vivo" mediante el estudio de las diferencias arterio-venosas entre vena y arteria umbilicales cateterizadas crónicamente (Battaglia y Meschia, 1978; Battaglia y col., 1968, 1973; Shambaugh y col., 1977 a y b).

Debido a la difícil interpretación de los resultados obtenidos "in vitro" y a que los datos obtenidos "in vivo" proceden de especies de mamíferos de gran

tamaño (sobre todo de rumiantes) en las que la cateterización de la vena y arteria umbilicales es técnicamente fácil, estos no pueden extrapolarse a especies, como la rata, cuyo metabolismo intermediario se conoce mejor.

El objetivo general del presente trabajo ha sido el realizar un estudio general sobre el metabolismo energético de la rata gestante y de sus fetos. Se estudiaron también las modificaciones durante el ayuno, al objeto de establecer si en situaciones extremas para la madre (ayuno hasta 120 horas) los tejidos que aparecen con la gestación (feto y placenta) se comportan como un parásito o se adaptan activamente a la nueva situación metabólica.

Para ello se estudiaron los cambios en los niveles en sangre materna de diferentes metabolitos y la captación o liberación de éstos por los tejidos periféricos. Además, se estudió la captación o liberación de substratos por el conceptus (unidad feto-placentaria) y por el feto como entidad independiente. Todos los estudios se realizaron en animales alimentados y tras diversos periodos de ayuno.

Se realizó también un estudio dinámico global del recambio ("turnover") de glucosa y de su reciclaje en animales gestantes y se comparó con los datos obtenidos en animales vírgenes.

## FISIOLOGIA DE LA GESTACION

### 1. Aspectos generales.

La gestación se caracteriza por la aparición y desarrollo en el organismo materno de estructuras nuevas: el feto y la placenta, y la expulsión de éstas después de una duración determinada que varía según la especie considerada (Beaton y col., 1954). En muchas especies animales, la duración de la gestación es un múltiplo de la duración de los ciclos sexuales. En la rata, la duración de la gestación es de 21,5 días, siendo la variabilidad individual muy pequeña (Jost y Picon, 1970).

La placenta es un órgano complejo pues representa prácticamente un sistema endocrino completo condensado en un solo tejido. A juzgar por la variedad de sus productos hormonales, combina las capacidades endocrinas de la hipófisis, los ovarios y el cuerpo amarillo (véase Tepperman, 1975). La placenta es el órgano de la nutrición y respiración fetal. Cumpliendo las funciones que en el adulto son realizadas por los pulmones, los

riñones y el tubo digestivo. Gracias a los intercambios con la madre, el feto puede mantener la constancia de su medio interno y la normalidad de sus funciones, así como crecer y desarrollarse. El feto y la placenta representan una asociación funcional tan estrecha que han sido llamados muchas veces "unidad feto-placentaria" o "conceptus" (véase Knopp, 1978).

Durante la gestación la hembra aumenta la masa de sus propios tejidos (Bodansky y Duff, 1941 a y b; Beaton y col., 1954) además de permitir el desarrollo de uno o varios fetos según la especie. La gestación supone un problema metabólico evidente, ya que la madre debe asegurar el paso de numerosas sustancias al feto. En el análisis de esta situación es necesario determinar las exigencias metabólicas de los tejidos maternos y por otra parte de los fetales (Adam, 1971; Dawes, 1968; Szabo y Grimaldi, 1969, 1970).

Desde el punto de vista metabólico, el feto se encuentra en un continuo anabolismo. Esto significa que existe una preponderancia de la síntesis y depósito de componentes tisulares sobre la degradación de los mismos. El feto puede sintetizar glicéridos, glucógeno y proteínas a partir de sus compuestos más elementales: glicerol y ácidos grasos, glucosa y aminoácidos respectivamente. Sin embargo, carece de la maquinaria enzimática necesaria para llegar a sintetizar esos compuestos elementales, por lo que han de provenir de la madre. Así

pues, el desarrollo fetal se realiza a expensas del aporte de substratos que le llegan a través de la placenta (Herrera, 1978) (véase figura 1).

Aunque no se conoce cuantitativamente el porcentaje relativo de compuestos que pasan de la madre al feto, ya que varía en función de la situación metabólica de aquella, está bien establecido que los ácidos grasos, los glicéridos y las moléculas de gran tamaño, como las proteínas y los polisacáridos (entre éstos, el glucógeno), cruzan mal la placenta. Son los aminoácidos y los monosacáridos (especialmente la glucosa), junto con compuestos derivados de la degradación oxidativa de los ácidos grasos (cuerpos cetónicos) los principales metabolitos que pasan de la madre al feto, para ser utilizados por éste como fuentes de energía o como elementos para la síntesis de componentes estructurales, funcionales y de reserva (Curet, 1970; Dancis y col., 1976; Herrera, 1978).

## 2. Metabolismo intermediario durante la gestación.

Durante la gestación, el aumento de peso de la hembra gestante tiene dos componentes: a) aumento de peso de fetos y placenta, b) acumulación de grasas en el tejido adiposo de la madre (Hyttén y Leicht, 1971). Estos dos componentes del aumento de peso de la hembra gestante se producen en dos periodos diferentes de la gestación. La acumulación de lípidos en el tejido adiposo tiene lugar durante los dos primeros tercios de la ges-

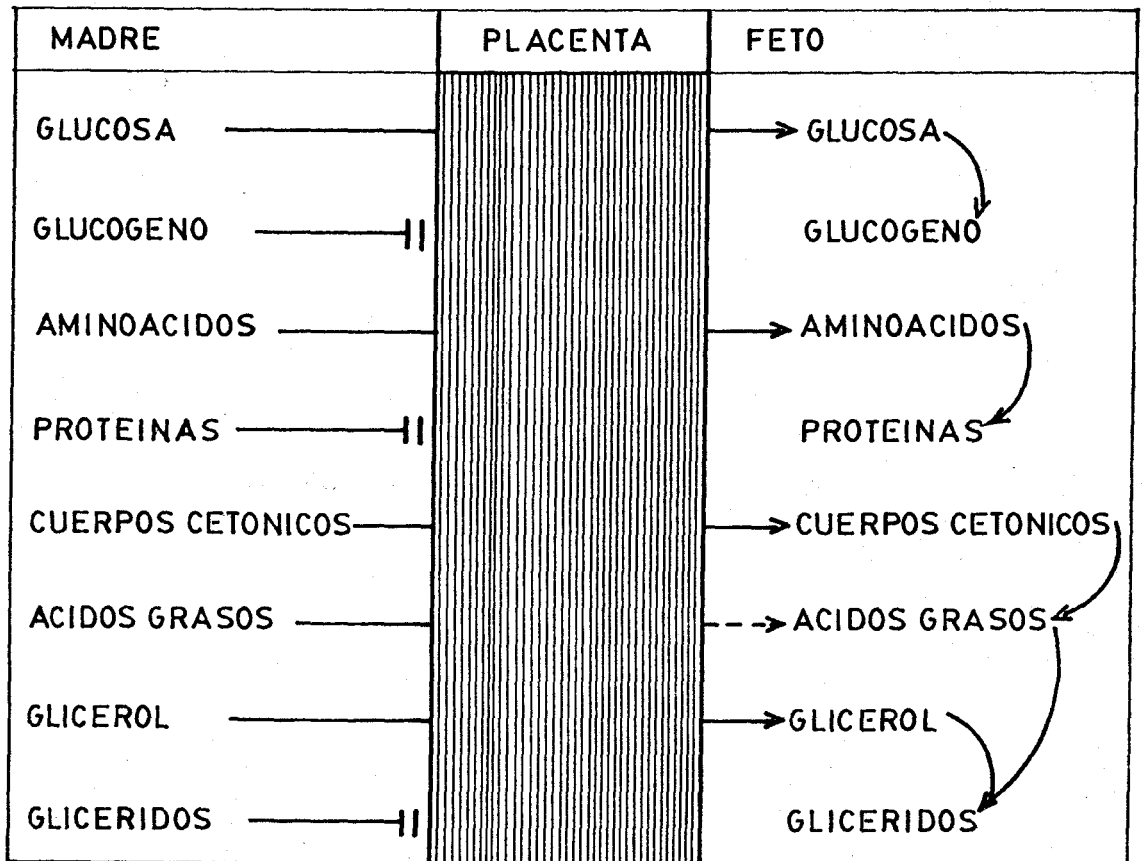


Figura 1. Esquema general de la nutrición fetal. La placenta representa el órgano de intercambio de substratos entre la madre y el feto (tomada de Herrera, 1978).

tación y más específicamente en el segundo tercio. Por el contrario, el aumento de peso del feto se produce durante el último tercio de la gestación (Hytten y Leicht, 1971). En algunas especies durante los dos primeros tercios de la gestación se acumulan tanto lípidos como proteínas (Poo y col., 1939; citado por Knopp, 1978).

Partiendo de estas consideraciones, puede decirse que la gestación es un proceso anabólico en todo momento, siendo la madre, con el acúmulo de grasa en el tejido adiposo la responsable del anabolismo durante la primera mitad de la gestación, mientras que la intensa lipólisis materna de la segunda mitad de la gestación se acompaña de un gran crecimiento fetal, siendo el conceptus la principal estructura anabólica de esta fase (Knopp y col., 1973; Knopp, 1978).

El estudio de estas dos etapas, claramente diferenciadas en el tejido adiposo materno, nos permite tener un índice sensible del estado metabólico global del organismo y nos ayuda a comprender los importantes mecanismos que controlan el metabolismo durante la gestación. A continuación se analizan las adaptaciones metabólicas que tienen lugar en la hembra gestante de la mayoría de las especies para asegurar estos dos procesos anabólicos: a) acumulación de lípidos en el tejido adiposo al principio de la gestación y b) crecimiento fetal al final de la gestación. (véase figura 2).



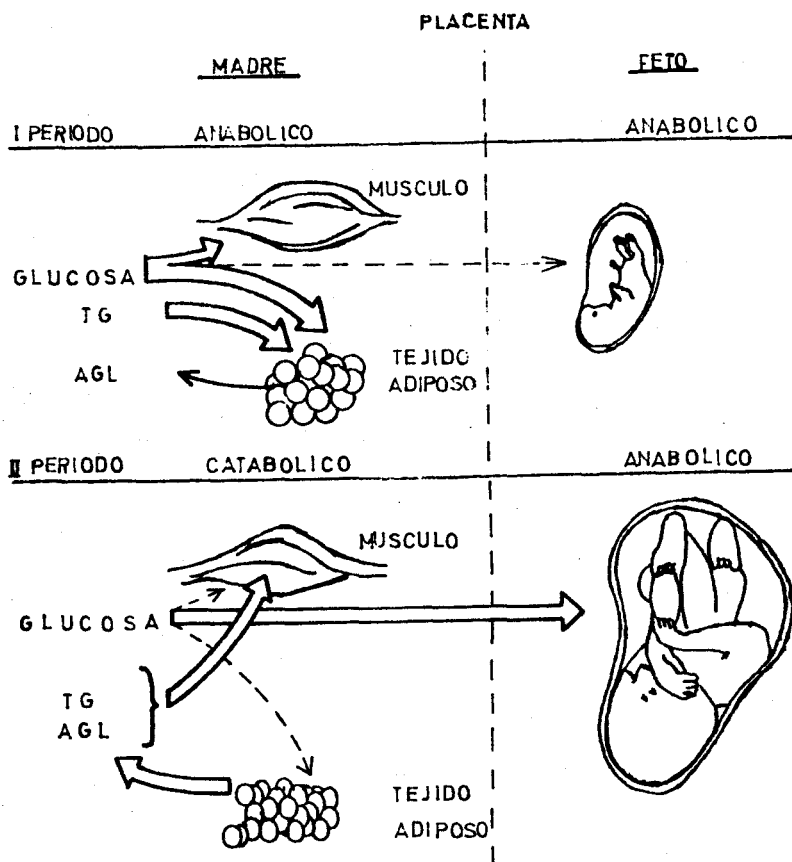


Figura 2. Cambio bifásico del metabolismo materno durante la gestación. En el periodo I, las necesidades de glucosa del feto son mínimas. Los tejidos maternos consumen fundamentalmente glucosa y el exceso se acumula como triglicéridos en el tejido adiposo materno. En el periodo II, la glucosa materna se utiliza fundamentalmente por el feto. Se instaura una intensa lipólisis para suministrar los carburantes necesarios a los tejidos maternos (tomada de Knopp, 1978).

## 2.1. Metabolismo materno durante los dos primeros tercios de la gestación.

Durante este periodo, las necesidades de substratos oxidativos, y particularmente de glucosa, por parte del feto y la placenta son muy bajas. Los tests de tolerancia a la glucosa (por vía oral o vía parenteral) practicados en la hembra a diferentes periodos de la gestación muestran que la utilización de la glucosa es normal o está aumentada durante los dos primeros tercios de la gestación y que disminuye al final de ésta (Fisher y col., 1974; Kuhl y Holst, 1976; Silverstone y col., 1961).

Los mecanismos que conducen a la acumulación de reservas lipídicas en el tejido adiposo de la hembra gestante durante el segundo tercio de la gestación han sido estudiados en la rata (Knopp y col., 1970, 1973). Este animal es utilizado como modelo experimental y los resultados obtenidos pueden extrapolarse para un mejor conocimiento del metabolismo en el embarazo humano (Herrera, 1978).

La acumulación de lípidos en el tejido adiposo parece ser el resultado de varios factores: a) aumento de un 15-20% en el consumo de alimentos (Hyttén y Leitch, 1971; Knopp y col., 1973; Scow y col., 1964), b) hiperinsulinismo (Knopp y col., 1975; Sutter y col., 1973), c) aumento de la capacidad lipogénica del tejido adiposo (Fain y Scow, 1966; Knopp y col., 1973), y d) un

aumento de la actividad de la lipoprotein-lipasa del tejido adiposo que permite una captación aumentada de los triglicéridos circulantes (Hamosh y col., 1970; Knopp y col., 1975). En relación con el aumento de la capacidad lipogénica del tejido adiposo, se ha demostrado que cuando se incuban trozos de tejido adiposo en presencia de glucosa radioactiva, los procedentes de ratas gestantes durante los dos primeros tercios de la gestación incorporan más glucosa marcada para sintetizar ácidos grasos que los controles procedentes de ratas no gestantes (Knopp y col., 1970). Esto se acompaña de una disminución de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres (Knopp y col., 1973; Mc Donald-Gibson y col., 1975).

## 2.2. Metabolismo materno durante el último periodo de la gestación.

El último periodo de la gestación se caracteriza por una movilización de las reservas lipídicas maternas acumuladas al comienzo de ésta. Esta adaptación se considera un mecanismo importante para el crecimiento fetal (Knopp, 1978). A nivel del tejido adiposo materno, esto se traduce por una disminución de la actividad lipogénica y un aumento de la capacidad lipolítica (Elliot, 1975; Knopp y col., 1975).

Contrariamente a lo expuesto en el apartado 2.1., los trozos de tejido adiposo incubados en presencia de glucosa radioactiva, procedentes de ratas en el último

periodo de la gestación, incorporan menos glucosa marcada para sintetizar ácidos grasos que sus controles, procedentes de ratas no gestantes (Knopp y col., 1970, 1973, 1975). Idénticos resultados se han obtenido en tejido adiposo procedente de mujeres gestantes (Elliot, 1975). El aumento de la movilización de las grasas al final de la gestación se traduce en una elevación de los ácidos grasos libres circulantes en el plasma; este hecho se ha descrito tanto en ratas (Knopp y col., 1973) como en mujeres gestantes (Mc. Donald-Gibson y col., 1975).

La hiperlipoproteinemia es también una característica importante del estado final de la gestación en ratas y humanos (Knopp y col., 1975; Warth y col., 1975). Esta hiperlipoproteinemia es el resultado de un aumento en los niveles de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que representan alrededor del 70%, correspondiendo el 30% restante a lipoproteínas de baja y alta densidad (LDL y HLD, respectivamente) (Knopp y col., 1973).

Los triglicéridos circulantes se rompen en sus constituyentes, ácidos grasos y glicerol, por la acción de la lipoprotein-lipasa, enzima localizada en el endotelio capilar de aquellos tejidos, tales como el músculo, que oxida los ácidos grasos o el tejido adiposo que los almacena. En el tejido adiposo de la rata, la actividad de la lipoprotein-lipasa disminuye al final de la gestación (Herrera, 1978; Knopp y col., 1975; Knopp, 1975), mientras que aumenta en el músculo (Knopp, comunicación personal).

Los cambios metabólicos antes citados sugieren que los ácidos grasos libres se utilizan como substratos oxidativos preferentemente al final de la gestación. En el plano fisiológico, la glucosa y los ácidos grasos son alternativamente los substratos energéticos de los tejidos, y cuando uno de ellos se oxida de forma preferente, el otro se economiza. Si se acepta esta idea, se hace evidente que la oxidación de la glucosa se reducirá en la madre durante el último tercio de la gestación (Girard y Pintado, 1978).

Los estudios realizados sobre la velocidad de desaparición de la glucosa en gestantes apoyan la hipótesis antes expuesta. La utilización de la glucosa está disminuida al final de la gestación (Fisher y col., 1974; Kuhl y Holst, 1976; Silverstone y col., 1961). Dado que las necesidades de glucosa por parte del feto aumentan al final de la gestación (Morris y col., 1974), es evidente que la disminución en la utilización de glucosa por la madre resulta de una disminución del consumo de glucosa por los tejidos maternos.

Es conocido que los niveles plasmáticos de insulina aumentan gradualmente durante la gestación a pesar de que los de glucosa disminuyen paulatinamente. Durante el ayuno, la insulina desciende, pero sus valores plasmáticos son siempre superiores a los de sus controles no gestantes (Freinkel y col., 1970; Herrera y col., 1969; Metzger y col., 1974 a y b).

La secreción de insulina después de una sobrecarga de glucosa es mayor durante toda la gestación que fuera de ella (Kuhl y Holst, 1976; Knopp, 1978; Picard y col., 1968). Por otra parte, Freinkel y col. (1970) han demostrado que la placenta degrada la insulina. De esta forma, para lograr unos niveles normales de insulina en sangre, la madre ha de segregar más cantidad de esta hormona que en situaciones de no gestación.

Corroborando lo anteriormente expuesto, la inyección de insulina exógena produce una hipoglucemia mucho menor en la mujer o en la rata al final de la gestación que fuera de ella (Knopp y col., 1970). Esta resistencia a la insulina se ha atribuido a la elaboración por la placenta de cantidades crecientes de hormonas de actividad antiinsulínica: lactógeno placentario (HPL) o somatomamotrofina coriónica (HCS) (Grumbach y col., 1965), estrógenos y progesterona (Kalkhoff y col., 1970).

La HPL parece ser la responsable de la estimulación de la lipólisis a nivel del tejido adiposo y la progesterona de los efectos antiinsulínicos a nivel de los tejidos periféricos. Estas dos hormonas y los estrógenos, probablemente participan indirectamente en el aumento de la secreción de insulina por el páncreas de la hembra gestante. Simultáneamente al aumento de la secreción de los antagonistas de la insulina, los niveles de lípidos circulantes aumentan para satisfacer los requerimientos energéticos de la madre y ahorrar así la glucosa para la utilización fetal (Freinkel, 1965).

La necesidad de desarrollar un estado de resistencia a la insulina por parte del organismo materno, parece estar relacionada con las necesidades crecientes de glucosa por parte del feto para permitir su crecimiento. Si esta resistencia a la insulina no apareciera, el aumento de utilización de glucosa por la madre debido al hiperinsulinismo de la gestación, conduciría necesariamente a una limitación del aporte de glucosa al feto (Adam y Felig, 1978).

La importancia de estos mecanismos ha sido también puesta de manifiesto por observaciones clínicas recientes. Mujeres con hipoglucemias postpandriales o después de los tests de tolerancia por vía oral, tienen niños hipotróficos (Abell y col., 1976), además, mujeres que muestran una menor resistencia a la insulina después de hiperglucemias provocadas por vía oral, dan nacimientos a niños hipotróficos (Frydman y col., 1976). Estos ejemplos muestran la importancia de la dietética en la mujer embarazada y efectos de la reducción calórica (Girard y Pintado, 1978; Bassett y Madill, 1974).

Una de las técnicas más utilizadas para el estudio de las condiciones metabólicas en mujeres gestantes es la sobrecarga oral de glucosa. Después de la sobrecarga de glucosa por vía oral (100 g), la elevación de la glucemia y de la insulinemia es mucho mayor en la mujer al final de la gestación (30-40 semanas) que en la mujer no gestante. La hipersecreción de insulina no aumenta la utilización de glucosa y el coeficiente de asimilación

de la glucosa (sobrecarga intravenosa 0,33 g/kg de peso) está disminuido a pesar de la presencia del feto que es un lugar suplementario de utilización de glucosa (Fisher y col., 1974; Silverstone y col., 1961).

Mediante la utilización de glucosa marcada (glucosa-C<sup>14</sup>) se han obtenido gran cantidad de datos en relación con el metabolismo glucídico "in vivo" de animales gestantes. Empleando una infusión de glucosa marcada y suero con anticuerpos antiinsulina, Metzger y col. (1974), han observado que la utilización de glucosa plasmática es más elevada en la rata gestante a los 20 días de gestación y tras 48 horas de ayuno que en vírgenes.

En otras especies (como por ejemplo la oveja) los resultados son contradictorios. Mientras que unos han descrito que la utilización de glucosa es más elevada en la hembra gestante que en la no gestante (Bergman, 1963), otros autores han observado en esta misma especie resultados opuestos (Ford, 1963). Steel y Leng (1973), concluyen que hay un aumento de la utilización ("turnover") de glucosa (glucosa-C<sup>14</sup>) en la oveja entre los 100 y 140 días de gestación tanto en animales alimentados como sometidos a ayuno.

La interpretación de estos resultados es difícil ya que la cinética de desaparición de la glucosa U-C<sup>14</sup> (que ha sido el marcador más utilizado) no es simple; una parte del lactato U-C<sup>14</sup> formado puede ser reconvertido en glucosa-C<sup>14</sup> (véase "Discusión").



Durante el test de tolerancia a la glucosa por vía oral, la disminución de los ácidos grasos libres plasmáticos es menos pronunciada en la mujer al final de la gestación que en la mujer no gestante, a pesar de la hipoglucemia y el hiperinsulinismo antes señalados. La lipólisis está pues menos inhibida en la mujer gestante, lo que probablemente se debe a la resistencia del tejido adiposo a la acción antilipolítica de la insulina (Elliot, 1975).

En contraposición a lo anteriormente expuesto, después de un test de tolerancia a la glucosa, se ha observado en la mujer gestante una elevación importante de los triglicéridos plasmáticos. Esta hipertrigliceridemia resulta, esencialmente, de un aumento de la biosíntesis y de la producción de triglicéridos a nivel hepático. Además, durante un test de tolerancia a la glucosa, la glucagonemia está mucho más disminuida en la mujer gestante que en la no gestante (Fisher y col., 1974; Kuhl y Holst, 1976).

Como la producción hepática de triglicéridos está muy aumentada en las situaciones de deficiencia de glucagon (Lefebvre, 1972), la hipertrigliceridemia observada en la mujer gestante en respuesta a una sobrecarga oral de glucosa podría deberse a la hipersensibilidad de la célula alfa a la glucosa (Lind y col., 1973). Estas observaciones sugieren que existe un medio por el cual la glucosa recibida en exceso por la alimentación podría

ser retenida por la madre y excluida de la utilización inmediata por los fetos (Girard y col., 1979).

Dado que los triglicéridos no atraviesan la placenta y por lo tanto no son accesibles al metabolismo fetal, la síntesis de triglicéridos por parte del organismo materno podría ser un mecanismo de almacenamiento de glucosa en el tejido adiposo. La disminución de los niveles de HCS durante el test de tolerancia a la glucosa por vía oral participa probablemente en el depósito rápido de triglicéridos en el tejido adiposo ya que se suprime un importante factor lipolítico (Milner y col., 1972).

Esta adaptación particular del metabolismo materno durante la gestación ha sido llamada "anabolismo facilitado" (Freinkel y col., 1974). Permite al organismo materno almacenar el exceso de calorías glucídicas del régimen en una forma de reserva rápidamente utilizable y fuertemente energética: los triglicéridos.

Después de la absorción oral de glucosa, la caída de la aminoacidemia endógena es más fuerte en la mujer gestante que en la no gestante. Por otra parte, después de la absorción de una comida mixta a expensas de 50g de hidratos de carbono, 25 g de proteínas y 10 g de grasas, la elevación de la aminoacidemia es mucho más débil en la mujer gestante que en la no gestante (Hyttén y Leitch, 1971).

Estos resultados indican que durante la gestación, el potencial para disponer de aminoácidos exógenos o endógenos parece ser mayor. Esto podría deberse simplemente a la presencia del feto que es un lugar permanente de utilización de aminoácidos; sin embargo, los resultados obtenidos después de la ingestión de glucosa aisladamente, parecen indicar que no es este el caso. Si los mecanismos de inhibición de la proteólisis muscular fueran menos sensibles a la insulina durante la gestación, como sucede en la lipólisis, debería observarse una caída más lenta de los aminoácidos en la mujer gestante; sin embargo, este hecho no ha sido nunca descrito (Fisher y col., 1974).

Teniendo en cuenta el hecho de que el feto utiliza constantemente aminoácidos, la caída de los aminoácidos después de la absorción de glucosa debería ser idéntica antes y durante la gestación. Parece, pues, que durante la gestación la resistencia periférica a la insulina se limita al metabolismo glucídico y lipídico. Esto está de acuerdo con la existencia de un balance nitrogenado positivo durante la gestación (Freinkel, 1965).

### 3. Principales substratos del metabolismo fetal.

El feto toma contacto con el organismo materno a través de la placenta y, en la mayoría de las especies, la circulación umbilical es la única vía por la que el feto recibe los substratos procedentes de la madre. El

paso de substratos a través de la placenta depende de varios factores: a) el flujo sanguíneo en la circulación uterina y umbilical, b) la concentración de substratos en la sangre materna y su gradiente de concentración entre la sangre materna y fetal, y c) la permeabilidad de la placenta a los diferentes substratos (Battaglia y col., 1961; 1973; Girard y col., 1979; Silver y col., 1973) (véanse figuras 1 y 3).

En todas las especies estudiadas hasta ahora, el flujo en la circulación uterina y umbilical aumenta notablemente al final de la gestación como resultado de un aumento en el débito cardíaco materno y fetal y de una disminución de la resistencia vascular uterina. Por el contrario, la concentración de los diferentes substratos en sangre materna, el gradiente de éstos entre madre y feto y la permeabilidad de la placenta para los diferentes substratos varía mucho según la especie considerada (véase Battaglia y Meschia, 1978).

### 3.1. Glucosa y sus derivados.

En todas las especies estudiadas, los niveles fetales de glucosa en sangre son menores que los de sus madres, sobre un extenso rango de concentraciones (Battaglia y Meschia, 1978; Shelley, 1973; Silver, 1976). Sin embargo, los valores absolutos de glucosa materna y el gradiente feto-materno varía según la especie considerada. En los mamíferos monogástricos alimentados,

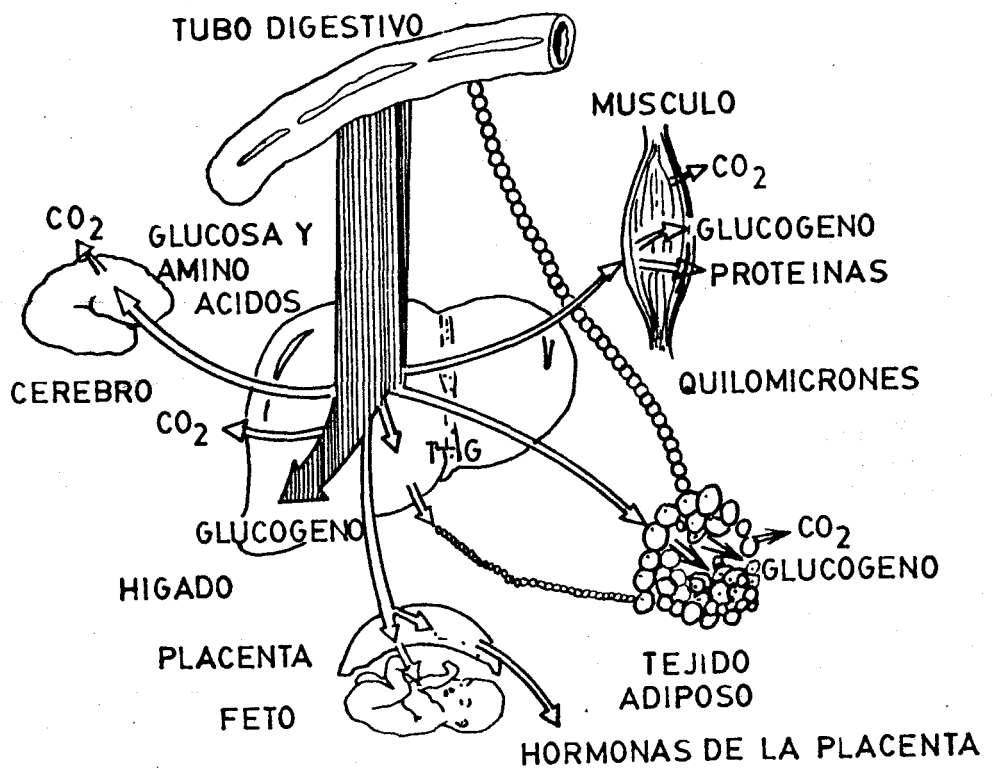


Figura 3. Situación metabólica durante la gestación. La glucosa constituye el principal sustrato del metabolismo fetal (tomada de Freinkel y col. material no publicado).

la concentración materna de glucosa es de 4,5 a 5,5 mM y los niveles de glucosa fetal son el 20% más bajos que los de sus madres.

En rumiantes alimentados, la glucemia materna es menor que en los animales monogástricos (2,2 a 2,7 mM) y la glucemia fetal es solo el 20-30% del valor de la glucemia materna. Sin embargo, a través de la placenta existe un flujo continuo de glucosa en la dirección del gradiente de concentración por un proceso de difusión facilitada. Recientemente, se ha demostrado que el paso de glucosa a través de la placenta es función de la diferente concentración de glucosa entre sangre materna y fetal (Battaglia y Meschia, 1973) y de los niveles fetales de insulina (Rabain y Picon, 1974; Simmons y col., 1978).

Los mecanismos por los que la hiperinsulinemia fetal conduce a un incremento en el transporte de glucosa no son bien conocidos. La insulina puede aumentar la captación umbilical de glucosa simplemente aumentando su utilización fetal; esto disminuye los niveles fetales de glucosa y aumenta el gradiente de concentración a través de la placenta. La insulina podría tener también un efecto directo sobre el transporte de glucosa, ya que se han descrito zonas de unión específicas para la insulina en membranas celulares de placenta en diferentes especies (Haour y Bertrand, 1974; Marshall y col., 1974; Posmer, 1974).

En la mayoría de las especies estudiadas, la concentración fetal de lactato es dos o tres veces mayor que la materna. Aunque inicialmente se supuso que esto era el resultado del metabolismo anaerobio de la glucosa por los tejidos fetales, estudios recientes en la oveja y la vaca han demostrado que una proporción importante de glucosa (30-50%) se convierte en lactato a su paso por la placenta y de esta forma se transfiere al feto (Burd y col., 1975; Char y Creasy, 1976; Silver, 1976). Estos estudios han corroborado observaciones previas sobre la producción de lactato por la placenta "in vitro" y en condiciones aerobias (Loeser, 1932; Murphy y Hawkins, 1925).

En algunas especies (oveja, cabra, vaca, cerdo y caballo) una parte de la glucosa (10%) captada por la placenta se convierte en fructosa, la cual se transfiere al feto. La fructosa está presente a altas concentraciones en la sangre de los fetos de estas especies pero está ausente en la sangre materna. Hasta ahora, no hay evidencias de que el feto de ninguna de las especies estudiadas utilice la fructosa, por tanto, el significado fisiológico que tenga en el metabolismo fetal necesita nuevas investigaciones (véase Girard y col., 1979).

#### Neoglucogénesis en el feto.

En todas las especies estudiadas por medio de preparaciones crónicas, la captación umbilical de glucosa es menor de la requerida para abastecer las necesidades

oxidativas del feto (Battaglia y Meschia, 1978). Por el contrario, estudios sobre la captación de glucosa por el cerebro y los cuartos traseros ("hindlimbs") en fetos de cordero han demostrado que la captación de glucosa es suficiente para abastecer toda la energía requerida por estos órganos (Jones y col., 1975; Morris y col., 1973).

El corazón de perro recién nacido utiliza solo glucosa para su metabolismo (Breuer y col., 1967) mientras que el corazón del adulto utiliza fundamentalmente los ácidos grasos libres. Por otra parte, el recambio de glucosa es dos veces mayor que la captación umbilical de glucosa (Battaglia y Meschia, 1973, 1978; Prior y Christenson, 1977; Warnes y col., 1977).

Si la captación umbilical de glucosa es menor que la utilización por los órganos fetales, esto sugiere que pueda darse neoglucogénesis en los fetos de cordero a partir de lactato y aminoácidos. En el feto a término de cordero y vaca, todos los enzimas de la neoglucogénesis están presentes con una actividad considerable (Prior y Scott, 1977; Warnes y col., 1977).

A pesar de lo anteriormente señalado, algunos autores (Warnes y col., 1977) no han podido demostrar en fetos de cordero, crónicamente cateterizados, la síntesis de glucosa a partir de lactato- $C^{14}$ , proponiendo que la relativa hipoxia de los fetos sería la responsable de la inactividad "in utero" de la vía neoglucogenética



y que ésta aparecería durante los primeros minutos después del nacimiento en relación con la mejor oxigenación.

Estudios recientes han demostrado que el metabolismo fetal es aerobio (Battaglia y Meschia, 1973, Silver, 1976). Por otra parte, el hígado fetal es uno de los primeros órganos que recibe la sangre oxigenada procedente de la placenta. Otros autores, utilizando la misma preparación crónica, han mostrado que el feto de cordero es capaz de formar glucosa a partir de alanina-C<sup>14</sup> (Prior y Christenson, 1977) a niveles relativamente bajos (0,3 mg/ml/kg) si se compara con los niveles de recambio de la glucosa (7-8 mg/min/kg).

En el cobaya (Jones y Ashton, 1976; Raghathan y Arinze, 1977) y en el conejo (Callican y Girard, 1978) todos los enzimas de la neoglucogénesis están bien desarrollados en el hígado fetal a término, y el feto de cobaya es capaz "in utero" de convertir en glucosa, el lactato, piruvato y alanina marcados (Jones, 1976 a y b).

En contraste con lo antes señalado para el cobaya, el hígado fetal de ratas es incapaz de llevar a cabo neoglucogénesis por carecer del enzima fosfoenolpiruvato-carboxicinasa (Hanson y col., 1975). La aparición de este enzima prematuramente se ha inducido por ayuno materno (Girard y col., 1977), por gestación prolongada (Pearce y col., 1974; Portha y col., 1978) y por la inyección de fluoricina a la madre (Freund, Geloso y Girard, resultados no publicados).

En todas las situaciones experimentales anteriores, la inducción del enzima fosfoenolpirivato-carboxicinasa es el resultado del aumento de la secreción de glucagon y una menor liberación de insulina por el páncreas materno (véase Girard y col., 1977).

### 3.2. Aminoácidos.

Los niveles de aminoácidos son de dos a tres veces más altos en sangre fetal que en sangre materna. Los aminoácidos son concentrados por la placenta y liberados al feto contra un gradiente de concentración, por un mecanismo de transporte activo (véase Young y Hill, 1973) ..

En la rata y en el cordero, la captación fetal de glutamina, aminoácidos ramificados, arginina, fenilalanina y tirosina, es mayor que la necesaria para el crecimiento fetal, lo que sugiere que son utilizados con otros propósitos además de para la síntesis proteica (Lemons y col., 1976; Yamamoto y col., 1974).

### 3.3. Acidos grasos libres, cuerpos cetónicos y glicerol.

En la mayoría de las especies la concentración de ácidos grasos libres (AGL) y triglicéridos es mayor en el plasma materno que en el plasma fetal. Como casos particulares, en conejos y cobayas, los niveles de AGL y triglicéridos en el plasma fetal son iguales a los del plasma materno (Felig, 1973; Girard y col., 1973; Girard, 1975).

Experimentos utilizando palmitato marcado, han demostrado que los AGL pueden atravesar la placenta desde la circulación materna a la fetal en algunas especies (conejo, cobaya, mono y, en menor cuantía, rata y cordero). Sin embargo, la magnitud de este traspaso es pequeña cuando los niveles de AGL maternos no están elevados respecto a los valores normales (Koren y Shafrir, 1964).

Se acepta generalmente, que los triglicéridos, quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad, no pueden atravesar directamente la placenta. Sin embargo, una lipoproteína lipasa, enzima capaz de hidrolizar los triglicéridos en AGL y glicerol, se ha encontrado en placentas de conejo, rata y humanos (Elphick y Hull, 1977; Mallow y Alousi, 1965). Estos datos sugieren que la placenta es capaz de extraer los triglicéridos de la circulación materna y transportarlos al feto, después de ser hidrolizados por la lipoproteinlipasa.

Los ácidos grasos de cadena corta, como el acetato, butirato y propionato, son producidos en gran cantidad durante la digestión en rumiantes adultos. Sin embargo, la absorción de éstos es pobre. En el cordero, la captación umbilical de acetato es pequeña (Char y Creasy, 1976). En la vaca y el cobaya se ha demostrado una captación umbilical significativa de acetato dependiente de la concentración materna (Jones, 1976; Silver, 1976).

Los cuerpos cetónicos son realmente transportados desde la madre al feto en el hombre y la rata (Sabata y col., 1968; Scow y col., 1958) existiendo una estrecha correlación entre los niveles maternos y fetales. Por el contrario, la placenta de oveja es muy poco permeable a los cuerpos cetónicos (Schreiner y col., 1978).

El paso de glicerol a través de la placenta en la rata y el conejo ha sido demostrado recientemente (Gilbert, 1977). En el hombre y en el cordero, el glicerol no pasa fácilmente la placenta (Sabata y col., 1968; Schreiner y col., 1978).

#### 4. Utilización de substratos por el feto.

El flujo de substratos de la madre al feto se utiliza para varios requerimientos: a) formación de nuevos tejidos (crecimiento fetal); b) metabolismo oxidativo y c) constitución de reservas energéticas. La mayoría de los datos referentes a la utilización "in vivo" de substratos por el feto y la proporción gastada por cada uno de los requerimientos anteriores, se han obtenido de estudios realizados en mamíferos de gran tamaño (cordero, vaca, etc) en los cuales es técnicamente fácil la cateterización, aguda o crónica, de la vena y arteria umbilicales.

Un estudio cuantitativo comparando las necesidades del metabolismo oxidativo y del crecimiento ha sido realizado recientemente en el feto de cordero a término por Battaglia y Meschia (1978). Estos autores han estimado

que se requieren  $42 \text{ kcal} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$  para el metabolismo oxidativo y  $31 \text{ kcal} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$  para la formación de nuevos tejidos.

Aunque el consumo fetal de oxígeno por kg de peso es relativamente constante ( $5-8 \text{ ml} \times \text{min}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$ ) a pesar de la gran diferencia del tamaño fetal a término en diferentes especies, la extrapolación de los datos obtenidos en el cordero a otros mamíferos no es posible.

Hay una gran diferencia entre las distintas especies en el ritmo de crecimiento fetal y por tanto las calorías consumidas participan de forma distinta en los procesos anabólicos y catabólicos según la especie considerada. Si el crecimiento fetal se expresa como el porcentaje diario de aumento del peso fetal, el crecimiento del feto de cordero es inferior al de mamíferos pequeños (rata, conejo, etc) pero tres veces superior al del feto humano. Se ha estimado que en el caso del feto humano,  $46 \text{ kcal} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$  se requieren para el metabolismo oxidativo y solo  $11 \text{ kcal} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$  para la formación de nuevos tejidos (Battaglia y Meschia, 1978).

#### 4.1. Formación de nuevos tejidos.

El análisis de los tejidos corporales en diferentes estadios de la gestación, la medida de la captación umbilical de substratos y el paso hacia la madre de urea y  $\text{CO}_2$  ha permitido estimar el balance del nitrógeno y del carbono en el feto de cordero a término (Battaglia y Meschia, 1973). La captación umbilical de carbono es

de  $7,8 \text{ g} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$ ;  $3,2 \text{ g} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$ , se acumulan en los tejidos fetales y  $4,6 \text{ g} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$  pasan a la madre en forma de  $\text{CO}_2$  o urea. La captación umbilical de nitrógeno es de  $1 \text{ g} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$ ;  $0,65 \text{ g} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$  vuelven a la madre en forma de urea.

La captación y acumulación de carbono y nitrógeno por el feto humano de 30-40 semanas, han sido estudiadas por Adams y Felig (1978) a partir de los niveles de acumulación de glúcidos, grasas y nitrógeno en los tejidos fetales (Widdowson, 1968), eliminación de  $\text{CO}_2$  en el recién nacido (Jonxis y col., 1967) y excrección de urea por la placenta (Gresham y col., 1971). Los mismos autores han estudiado las diferencias arterio-venosas de diferentes substratos entre arteria y vena umbilical, obteniendo información acerca de las fuentes de carbono en el feto humano a término.

La principal diferencia entre las dos especies estudiadas (cordero y humanos), es una mayor utilización de carbohidratos y derivados lipídicos y una menor oxidación de aminoácidos en el feto humano que en el del cordero. (Crumpler y col., 1970).

La comparación entre la captación umbilical y el acúmulo de aminoácidos en los tejidos fetales de cordero, muestra que la captación de la mayoría de los aminoácidos es excesiva para las necesidades de las proteínas corporales. (Lemons y col., 1976). En contraste, no hay paso de glutamato y aspartato desde la madre al feto.

Dado que estos aminoácidos son muy abundantes en las proteínas fetales, deben formarse por desaminación de la glutamina o a partir de otra fuente desconocida.

Los datos antes mencionados, muestran que el papel del feto en el metabolismo de los aminoácidos no se limita a agruparlos para formar proteínas, sino también en sintetizar algunos de ellos y utilizar otros en el metabolismo oxidativo. (Dancis y col., 1968, 1976).

La influencia de diversas hormonas, y particularmente la insulina, en la regulación del crecimiento fetal ha sido revisada recientemente (véanse Girard y col., 1976; Jost, 1977).

#### 4.2. Metabolismo oxidativo.

Como se ha indicado anteriormente, el consumo de oxígeno por kg de peso fetal es relativamente constante en las diferentes especies estudiadas a pesar de las diferencias de tamaño de los fetos a término. (Meschia y col., 1967; Raye y col., 1971; Silver y Comline, 1975 y 1976). Esto contrasta con la situación postnatal en la que el consumo de oxígeno se relaciona inversamente con el peso corporal (Kleiber, 1947). En relación con este punto, recientemente se ha demostrado que el metabolismo fetal es enteramente aerobio en condiciones fisiológicas (Comline y Silver, 1976; Silver, 1976).

A pesar de que la sangre fetal tiene una  $pO_2$  baja, la mayor afinidad por el oxígeno de su hemoglobina ase-

gura un aporte suficiente a los tejidos fetales (Comline y Silver, 1974). Además, cuando se aumenta la  $pO_2$  en la sangre fetal por administración de oxígeno 100% a la madre, no hay aumento en el consumo fetal (Battaglia y col., 1968). Por último, aunque los niveles sanguíneos de lactato son mucho más elevados en el feto que en sus madres, el feto, como un todo, es más bien un consumidor que un productor de lactato (Comline y Silver, 1976).

Los primeros intentos para medir el consumo de oxígeno fetal fueron realizados por Cohstein y Zuntz en 1884. Posteriormente, han sido muchos los trabajos realizados para estudiar estos aspectos importantes del metabolismo fetal (Battaglia y Meschia, 1978; Clapp y col., 1971; James y col., 1972; Meschia y col., 1967; Murlin, 1910). La mayoría de los estudios se han basado en el principio de Fick, según el cual la captación fetal de oxígeno es igual al producto de la diferencia del contenido de oxígeno entre arteria y vena umbilicales por el flujo sanguíneo de dichos vasos.

El principio de Fick tiene aplicabilidad para sustancias diferentes al oxígeno, sin embargo, su uso requiere la simultánea extracción de sangre en la arteria y vena umbilicales, así como un método para medir el flujo sanguíneo. (Barcroft y Elsdem, 1946).

La mayoría de la información acerca del metabolismo oxidativo fetal, se ha obtenido de fetos de rumiantes



(Battaglia y col., 1973; Silver, 1976). La razón es que solo en unas pocas especies ha sido posible, hasta ahora, obtener sangre simultáneamente de la arteria y vena umbilicales, en animales no anestesiados crónicamente cateterizados. El estudio de las diferencias arterio-venosas para los diferentes substratos y el cálculo del cociente substrato/oxígeno permiten determinar el estado metabólico del feto (Battaglia y Meschia, 1978).

Los resultados obtenidos en corderos próximos a término, muestran que en los fetos de madres alimentadas, la glucosa supone solo el 50% del oxígeno total captado; el lactato el 25%; los aminoácidos el 20% y el glicerol y los cuerpos cetónicos solo del 1 al 2% (Battaglia y col., 1973).

De acuerdo con Char y Creasy (1976), el acetato puede suponer hasta un 5% del oxígeno total consumido en fetos de cordero de la misma edad y en las mismas condiciones que los anteriormente citados. No hay medidas de la captación de ácidos grasos de cadena larga en la circulación umbilical del cordero. En gestantes de esta misma especie ayunadas (de 3 a 7 días) antes de término, se observa un marcado cambio en el balance metabólico de los fetos (Schereiner y col., 1978). La glucosa representa solo un 30% del oxígeno total consumido, el lactato un 15% y los aminoácidos un 6%.

La extrapolación de datos obtenidos en rumiantes a otras subespecies es difícil debido a las caracterís-

ticas particulares de éstos: a) niveles sanguíneos de glucosa bajos y activa neoglucogénesis en las madres gestantes alimentadas; b) una menor permeabilidad de la placenta para los ácidos grasos libres y los cuerpos cetónicos; c) una menor proporción entre cerebro/peso corporal (0,2%) con lo que el consumo de glucosa por el cerebro materno no representa un serio problema para los rumiantes y d) la imposibilidad del cerebro de los rumiantes de utilizar cuerpos cetónicos como carburante (véase Girard y col., 1979).

La glucosa representa un 70% del total de oxígeno consumido, pero no hay datos disponibles hasta la fecha sobre otros metabolitos en relación con el metabolismo oxidativo de fetos de caballo alimentado a término (280-310 días de gestación) (Silver, 1976). En el hombre, algunas medidas de diferencias arterio-venosa en la concentración de glucosa, urea y CO<sub>2</sub> obtenidas en alumbramientos por cesarea, indican menor catabolismo de aminoácidos y mayor utilización de glucosa que en fetos de rumiantes (Adam y Felig, 1978). No hay datos disponibles en otras especies tales como rata, conejo o cobaya en las que los conocimientos bioquímicos son mayores.

En las especies en las que la placenta permite un paso rápido de cuerpos cetónicos y ácidos grasos libres, estos substratos pueden ser muy importantes para el metabolismo oxidativo fetal, especialmente cuando hay niveles altos en la circulación materna (ayuno, dietas

ricas en grasa). En el hombre, cobaya y conejo hay captación de ácidos grasos libres. Sin embargo, la mayor parte son incorporados como lípidos y solo una pequeña proporción experimentan oxidación (véase Roux y Yoshioka, 1970). Así, pues, los ácidos grasos libres no son la mayor fuente de energía para los tejidos fetales. En la mayoría de los mamíferos estudiados, los cuerpos cetónicos se transfieren rápidamente al feto a través de la placenta (Sabata y col., 1968).

#### 4.3. Constitución de reservas energéticas.

Durante la vida fetal, la energía se puede almacenar de dos formas diferentes: a) como glucógeno y b) como triglicéridos.

##### a) Glucógeno almacenado.

En todas las especies estudiadas, el feto de mamífero acumula glucógeno en varios tejidos al final de la gestación (Shelley, 1961). La síntesis de glucógeno por el hígado fetal es particularmente importante ya que este órgano es el máximo responsable de la homeostasia de la glucosa en el recién nacido (Girard y col., 1975).

Está bien establecido que el almacén de glucógeno por el hígado del feto es dependiente del control hormonal (Jost y Picon, 1970). La privación de corticoides al feto de ratas (por decapitación fetal, que deteriora la función adrenal fetal, y por adrenalectomía materna) impide el depósito de glucógeno en el hígado fetal.

La inyección de cortisol a las ratas decapitadas restaura el almacenamiento de glucógeno por el hígado fetal. Experimentos recientes realizado en el cordero por Barnes y col. (1978) han demostrado que la hipofisectomía o la adrenalectomía fetal disminuyen considerablemente el almacén de glucógeno en el hígado fetal y que la infusión de cortisol a estos animales restaura la capacidad del hígado para almacenar el glucógeno.

b) Almacenamiento de lípidos.

El problema del depósito de grasas en la vida fetal no se conoce bien. La cantidad de lípidos disponibles en el feto varía considerablemente dependiendo de la especie considerada. Un almacenamiento considerable de grasa se ha observado en fetos de tres especies: hombre, cobaya y conejo.

El almacenamiento de lípidos no depende de la maduración al nacer ya que los fetos de conejos, que nacen muy inmaduros, tienen relativamente gran contenido corporal de grasas, mientras que en otros animales ( como por ejemplo la oveja) cuyos fetos nacen más maduros, tienen un contenido corporal pobre en grasas (véase Girard y col., 1979).

Desde el punto de vista metabólico, los ácidos grasos son los lípidos más importantes y se almacenan como triglicéridos en tres tejidos diferentes del feto: hígado, tejido adiposo marrón y tejido adiposo blanco. En fetos de conejos y cobayas, la mayoría de los triglicéridos

se almacenan en el hígado (16%) y el tejido adiposo marrón (50%), mientras que el tejido adiposo blanco contiene poca cantidad de lípidos (8%). El feto humano es una excepción ya que tiene un tejido adiposo blanco bien desarrollado (Hull, 1974).

El origen de los lípidos de reserva en el feto ha sido objeto de controversia en la literatura. Teóricamente, los lípidos fetales pueden tener dos orígenes: 1) paso de ácidos grasos desde la madre al feto a través de la placenta; 2) síntesis "de novo" de ácidos grasos por los tejidos fetales a expensas de diferentes substratos procedentes de la madre (glucosa, lactato, acetato, etc.).

En las tres especies, antes señaladas, en las que la acumulación de lípidos tiene lugar en la vida fetal, se ha demostrado que los ácidos grasos libres atraviesan la placenta (Bohmer y col., 1972; Bohmer y Havel, 1975; Edson y col., 1975; Jones, 1976).

En experimentos realizados "in vivo", se muestra que el hígado, tejido adiposo blanco y tejido adiposo marrón de fetos de conejo y cobaya tiene una gran capacidad de captación y esterificación del palmitato radiactivo ( $C^{14}$ ) (Biezenski, 1976; Elphick y Hull, 1977; Hudson y col., 1977). Los mismos resultados se han obtenido "in vitro" con tejidos de fetos humanos (Roux y Yoshioka, 1970).

Se ha sugerido, que los ácidos grasos libres que entran en la circulación fetal son primero incorporados

en el hígado para formar triglicéridos y transportados a los demás tejidos como lipoproteínas (Bohmer y Havel, 1975; Hudson y col., 1977). El hígado y el tejido adiposo de conejos y cobayas tienen una actividad lipogénica elevada a partir de varios substratos (agua, glucosa, acetato y piruvato) tanto "in vitro" (Iliffe y col., 1973; Jones, 1973, 1976; Jones y Ashton, 1976; Patel y Hanson, 1974) como "in vivo" (Jones y Firmin, 1976).

Una situación en la que el tejido adiposo de reserva está aumentado es en el feto de madre diabética (Fee y Weil, 1963). Se ha propuesto que el aumento de tejido adiposo se debe a la excesiva cantidad de glucosa procedente de la madre, lo que daría lugar a un aumento de la secreción de insulina fetal y, consecuentemente, a un aumento de la lipogénesis en los tejidos fetales (Pederson, 1977).

También se ha postulado que los niveles altos de ácidos grasos libres en el plasma materno (debido al déficit de insulina) supondría un paso acelerado de éstos por la placenta hacia el feto, explicándose de esta forma el acúmulo de grasas en el tejido adiposo fetal (Szabo y Szabo, 1974). Hasta el momento, ninguna de estas dos hipótesis se ha demostrado experimentalmente.

Otras hormonas, además de la insulina, parecen intervenir en el acúmulo de lípidos en el feto a término. En el conejo, la decapitación fetal o la tiroidectomía, produce un aumento de grasa corporal, y la inyección

de tiroxina impide esta acumulación (Jost y Picon, 1958; Picon y Jost, 1963). Sin embargo, todavía no se conoce el mecanismo de acción de estas hormonas.

##### 5. Respuesta del metabolismo materno y fetal al ayuno.

La respuesta metabólica al ayuno durante la gestación se ha denominado "ayuno acelerado" (Freinkel y col., 1972). En efecto, en la hembra gestante cuando se suprime todo aporte alimenticio, la madre debe asegurar no solo sus propias necesidades sino también las del feto en rápido crecimiento.

Si se comparan los valores de substratos energéticos y hormonas circulantes obtenidos en la rata gestante alimentada y sus fetos, se observan niveles más elevados de lactato, aminoácidos, insulina, glucagon y hormona del crecimiento en el feto que en la madre (Girard, 1975). Resultados similares se han obtenido en la mujer embarazada (Felig, 1973).

Por el contrario, los niveles de glucosa, piruvato, glicerol y ácidos grasos libres, están disminuidos en sangre fetal y los cuerpos cetónicos tienen valores semejantes (Girard y col., 1977). Cuando se somete la rata gestante a ayuno total se producen alteraciones de los metabolitos y hormonas circulantes (Freinkel y col., 1970, 1972 y 1974). Una fuerte disminución de la glucosa ocurre tanto en la madre como en el feto, así como un descenso en el lactato, particularmente importante en el feto (Girard y col., 1977; Herrera y col., 1969; Metzger y col., 1971, 1974).

Mientras que en la madre los niveles de ácidos grasos libres aumentan considerablemente, en el feto no experimentan variación. El glicerol aumenta en la madre y paralelamente, aunque en menor cuantía, en el feto. Los cuerpos cetónicos aumentan drásticamente tanto en sangre materna como fetal (Koren y Shafrir, 1964; Shambaugh y Freinkel, 1976).

Por otra parte, en la rata, el ayuno materno a partir del 19,5 día de gestación, no conlleva ningún cambio en el peso fetal a término. Sin embargo, a partir del 18,5 día de gestación, el ayuno materno produce un descenso significativo en el peso fetal (Girard y col., 1977).

Tanto en la mujer como en la rata, el ayuno materno se asocia, como se ha visto anteriormente, a una movilización y a una oxidación acelerada de las grasas, lo que se traduce por una fuerte elevación de los ácidos grasos libres, del glicerol y de los cuerpos cetónicos en el plasma materno (Felig, 1973; Freinkel y col., 1972) (véase figura 4).

La intensa lipólisis se desencadena probablemente por la caída de la insulina y por la elevación del lactógeno placentario (Girard y col., 1977). En estas condiciones, los cuerpos cetónicos que atraviesan libremente la placenta pueden servir de substratos de remplazo para el cerebro fetal que dispone de menos glucosa por razón de la fuerte hipoglucemia materna (Herrera, 1978).



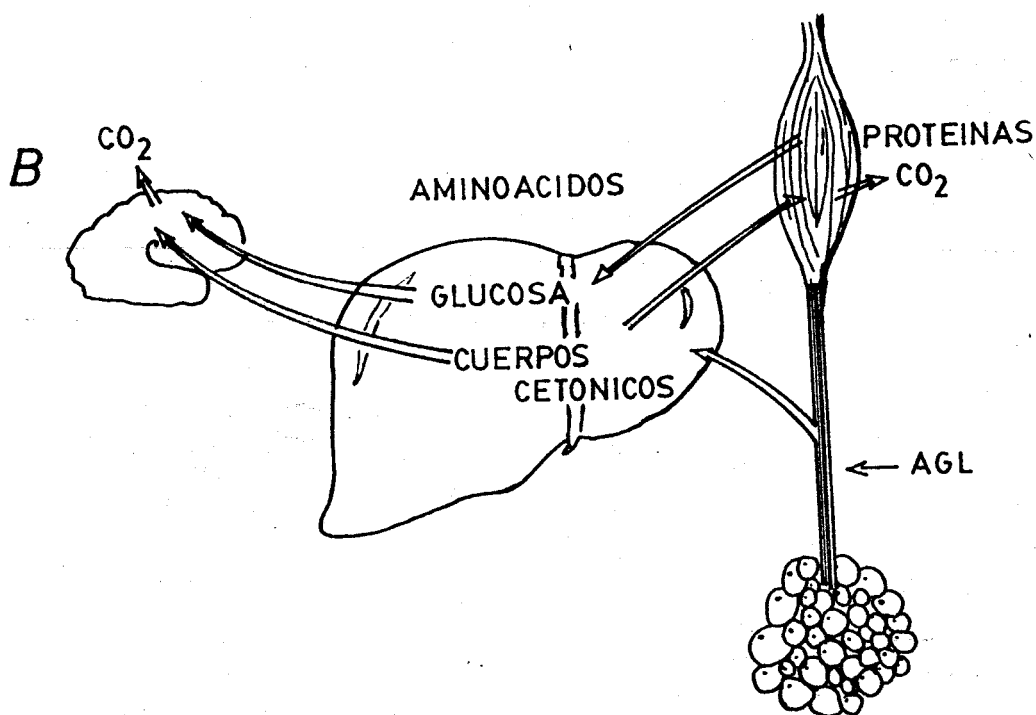
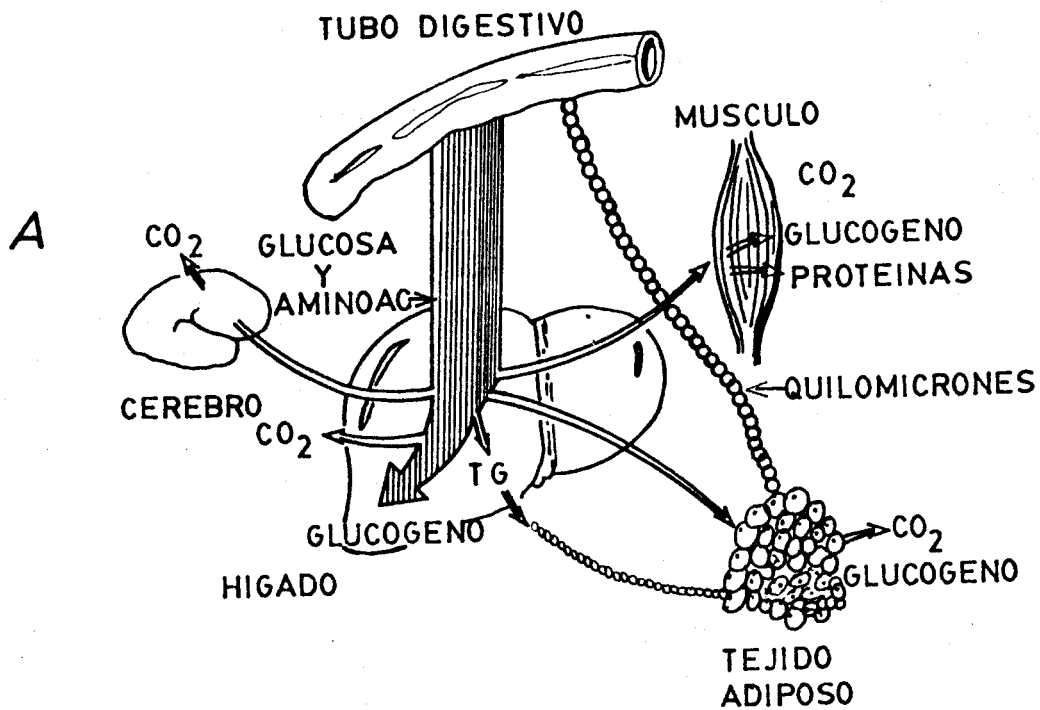


Figura 4. Situación metabólica durante el ayuno. A: en condiciones normales el principal sustrato metabólico es la glucosa. B: en el ayuno, los cuerpos cetónicos sustituyen, parcialmente, el déficit de glucosa y son utilizados por el músculo y cerebro (tomada de Freinkel y col. material no publicado).

Los enzimas necesarios para la utilización de los cuerpos cetónicos están presentes en el cerebro y otros tejidos fetales en la rata y el hombre (Bailey y Lockwood, 1973; Williamson, 1975). Tanto la rata como la mujer gestantes desarrollan una marcada hipercetonemia durante el ayuno (Felig, 1973; Freinkel y col., 1972). Estudios realizados "in vitro", han demostrado que la utilización de cuerpos cetónicos es una fuente de energía alternativa para la placenta y varios tejidos fetales.

Incubando trozos de placenta, hígado o cerebro de fetos de rata procedentes de madres alimentadas o ayunadas 48 horas, en un medio conteniendo glucosa, lactato y beta-hidroxibutirato marcados, simulando las concentraciones que se obtienen en condiciones de alimentadas o de ayuno de 48 horas (Shambaugh y col., 1977a y b), se ha demostrado que el consumo de substratos por el feto está condicionado más por las fuentes energéticas disponibles que por el estado alimentario de la madre antes de la toma de los tejidos.

Además, Shambaugh (1977) ha descrito un aumento de la cetogénesis en trozos de hígado fetal incubados procedentes de madres ayunadas 48 horas, en relación con los trozos de hígado procedentes de fetos de madres alimentadas. Estos mecanismos juegan un papel importante en el ahorro de la glucosa y palián la hipoglucemia materna (véase figura 5).

No obstante, los cuerpos cetónicos no son capaces de asegurar un crecimiento fetal normal, y es necesario

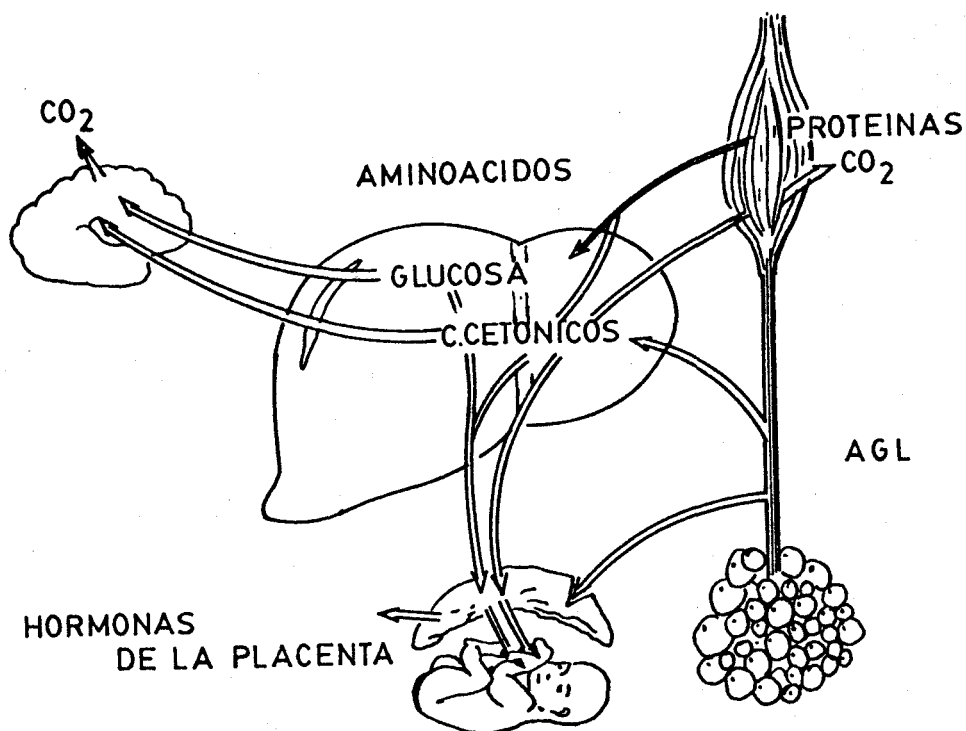


Figura 5. Adaptaciones metabólicas del feto al ayuno materno. Aunque el feto continúa consumiendo glucosa, la menor disponibilidad de ésta se suple, en parte, por la utilización de cuerpos cetónicos provenientes de la intensa lipólisis materna (tomada de Freinkel y col. material no publicado).

que el nitrógeno y residuos de 3 a 6 átomos de carbono sean abastecidos al feto para que pueda elaborar proteínas, glúcidos complejos y lípidos (véase Girard y Pintado, 1978).

La excreción urinaria de nitrógeno está aumentada en la mujer gestante durante el ayuno debido a una eliminación aumentada de amoniaco (Freinkel y col., 1972). Por lo tanto, la hipoglucemia que aparece en el ayuno tiene lugar a pesar de un catabolismo proteico acelerado, no pudiendo la neoglucogénesis materna hacer frente a las necesidades periféricas de glucosa (Felig y col., 1972).

La incapacidad del hígado materno de asegurar una neoglucogénesis suficiente para mantener la glucemia, está ligada a una disminución del aporte de aminoácidos al hígado (Freinkel y col., 1972). En la actualidad no se sabe si la incapacidad de producir suficientes aminoácidos glucoformadores se debe a una limitación de la proteólisis muscular o a una captación acelerada de los aminoácidos por el feto (Girard y col., 1979).

Otra forma de conservación del nitrógeno se ha descrito en la rata (véase Freinkel y col., 1971). Cuando se perfunde el hígado de ratas gestantes con aminoácidos, la amoniogénesis es mucho más fuerte que la ureogénesis. De este modo, el hígado de estos animales degrada los aminoácidos eliminando el nitrógeno en una forma reutilizable, pues existen en el feto los sistemas enzimáticos que permiten sintetizar pirimidinas a partir del amoniaco como dador de nitrógeno.

Además de lo anteriormente señalado, el esqueleto hidrocarbonado de los aminoácidos maternos puede proporcionar residuos de 3 a 6 átomos de carbono al feto para permitirle sintetizar moléculas complejas y el nitrógeno se vehicula en forma de amoniaco, necesario para la formación de pirimidinas. Este ciclo participa en el ahorro de amoniaco en la madre durante el ayuno. La presencia de la placenta es absolutamente necesaria a este tipo de adaptación pero no se conocen los mecanismos exactos por los que actúa la placenta (Freinkel y col., 1972; Girard y col., 1979).

## MATERIAL Y METODOS

### 1. Animales

Para la realización del presente trabajo se utilizaron ratas Wistar, hembras, gestantes y no gestantes (vírgenes), de tres meses de edad, criadas en el laboratorio. Los animales se alimentaron con dieta estándar (preparado comercial sólido, que contenía: 65% de carbohidratos, 24% de proteínas y 11% de lípidos, además de vitaminas y minerales). La temperatura de la cría fue de 24° C.

El estado de gestación se determinó de acuerdo con el proceder de Jost y Picon (1970). En la rata, la ovulación es espontánea y se produce hacia las dos horas de la mañana (Everett, 1961), independientemente de la hora de la copulación. Por la tarde (17 horas), cinco o seis hembras se ponían con un macho y éste se retiraba a la mañana siguiente (9 horas). Unos 14 días más tarde se determinaba si las hembras estaban grávidas

por palpación. En estas condiciones se admitió que el estado de gestación era de 14,5 días la mañana del quinceavo día.

## 2. Diseño experimental

### 2.1. Grupos de animales

Los animales utilizados se dividieron en varios grupos de acuerdo con el proceder experimental a seguir.

Dentro del grupo A se incluyen aquellos animales, gestantes y no gestantes, utilizados para el estudio de las diferencias arterio-venosas entre aorta y vena ilíaca de diferentes substratos. Esta preparación permitió realizar un estudio comparativo del metabolismo de los tejidos periféricos entre animales gestantes y vírgenes.

Al igual que otros autores (Mac Donald y col., 1976; Ruderman y col., 1971) hemos considerado los datos obtenidos como indicativos del metabolismo muscular, ya que este tejido representa el 85% de la masa tisular total de los cuartos traseros ("hindquarter") (Ruderman y col., 1977).

En los animales gestantes de este grupo se determinaron también las diferencias arterio-venosas de los diferentes substratos entre aorta y vena uterina al objeto de cuantificar la utilización o producción de metabolitos por la unidad feto-placentaria.

Las ratas vírgenes se dividieron en cuatro subgrupos. Las del primer subgrupo se alimentaron "ad libitum",

las de los subgrupos restantes se sometieron a ayuno total durante 24, 48 y 72 horas respectivamente, con libre acceso al agua.

Los animales gestantes, se dividieron en siete subgrupos. Los del primer subgrupo se alimentaron "ad libitum"; los animales de los restantes subgrupos se sometieron a ayuno total, con libre acceso al agua, a partir del 16,5, 17,5, 18,5, 19,5 y 20,5 día de gestación respectivamente, hasta el 21,5 día en que la gestación se considera a término.

Para la obtención de las muestras de sangre, los animales se anestesiaron con pentobarbital i.p. a la dosis de 30 mg/kg de peso. En las vírgenes, después de una laparotomía media, la sangre se extrajo primero de la vena ilíaca, la cual se pinzó inmediatamente para evitar hemorragias, y después de la aorta abdominal en su bifurcación.

En las gestantes, la sangre se extrajo de la vena uterina, en su rama superior antes de la desembocadura en ella de la vena ovárica. Tras la extracción, esta vena se pinzó para evitar hemorragias y se ligó la desembocadura inferior de la vena del lado contrario. Tras esto se extrajo sangre de la vena ilíaca y por último de la aorta en su bifurcación. Todas las muestras se obtuvieron entre 5 y 10 minutos después de la administración del anestésico. En las gestantes, las tomas de sangre se realizaron siempre a los 21,5 días de gestación.



Grupo B. Al objeto de determinar si la producción o consumo de cada substrato era debida al feto o la placenta, se utilizaron varios grupos de ratas gestantes a término, alimentadas y en ayuno total de 24, 48 y 72 horas, y se estudiaron las diferencias arterio-venosas de varios metabolitos entre la arteria y la vena umbilical.

Las muestras de sangre se obtuvieron de animales bajo anestesia. Después de una laparotomía media, se hizo una pequeña incisión en la pared uterina para visualizar el cordón umbilical de una de las unidades feto-placentarias. Con una aguja pequeña conectada a un cateter fino se extrajo sangre de la vena umbilical e inmediatamente de la arteria. Especial cuidado se tuvo en este proceder ya que la mínima manipulación e incluso la sola exposición al aire de los vasos los colapsaba y hacía muy dificultosa la extracción de sangre.

Por término medio se utilizaron tres arterias y tres venas umbilicales de fetos diferentes de un mismo animal, con lo que se obtuvo un valor medio para el estudio de las diferencias arterio-venosas. Debido a las alteraciones metabólicas que conlleva la exposición al aire del útero, no se utilizaron todos los fetos de un mismo animal para que la duración media de todas las extracciones no fuese superior a dos o tres minutos.

Grupo C. Un grupo de animales alimentados, vírgenes y gestantes a término, se utilizó para el estudio comparativo del recambio ("turnover") de glucosa y la

estimación de su reciclaje. La glucosa radiactiva (glucosa 6-H<sup>3</sup> y glucosa U-C<sup>14</sup>) se administró en animales anestesiados mediante inyección y perfusión continua en la safena externa (véase más adelante). Tras la inyección, las muestras de sangre se obtuvieron de forma secuencial, cada diez minutos, mediante un cateter colocado en la carótida. Muestras carotídeas se obtuvieron hasta 80 minutos después de la inyección del material radiactivo.

En la figura 6 se muestra la disposición anatómica del útero de la rata y los puntos de donde se obtuvieron las muestras de sangre. En la tabla 1 se representa de forma esquemática el diseño experimental.

## 2.2. Tratamiento de las muestras.

La sangre se recogió en tubos (0,4 ml) de polietileno (Beckman) colocados en frío. Dependiendo del parámetro a medir las muestras de sangre se trataron de forma diferente. Para la determinación de glucosa, piruvato, lactato, cuerpos cetónicos, glicerol y alanina, se tomaron 100 µl de sangre y se desproteinizaron con ácido perclórico al 6% volumen a volumen. Otros 100 µl de sangre se destinaron para la medición del resto de los amino ácidos (véase más adelante) tras la desproteización con ácido sulfosalicílico al 20 % volumen a volumen.

Tanto las muestras desproteinizadas como el resto de la sangre total, se centrifugaron a 16.000 g en una

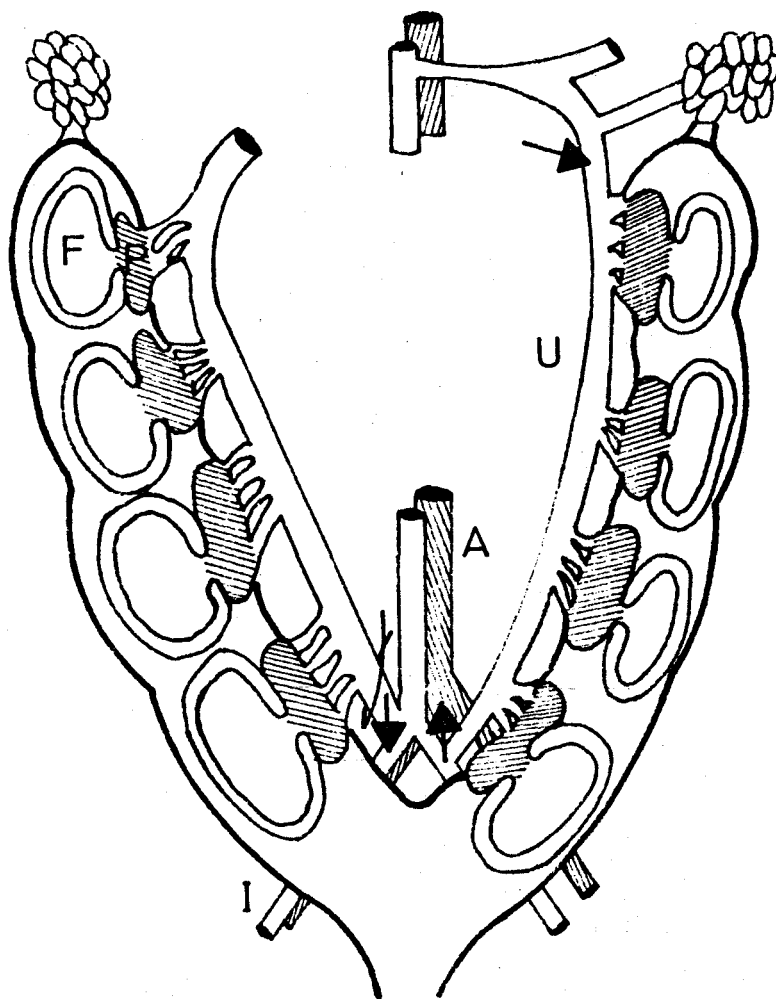


Figura 6. Diagrama del útero de rata a término.  
A: aorta; I: vena ilíaca; U: vena uterina; F: feto.  
Las flechas indican los puntos de extracción de sangre.

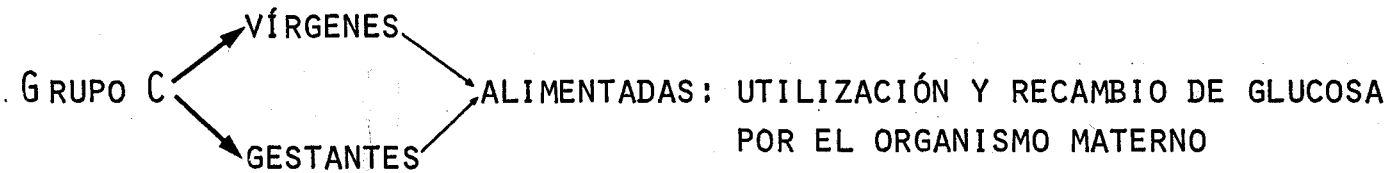
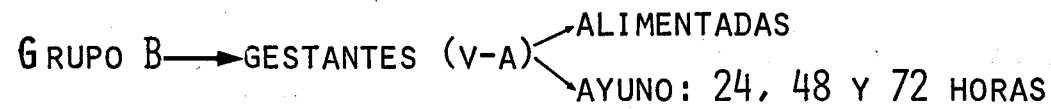
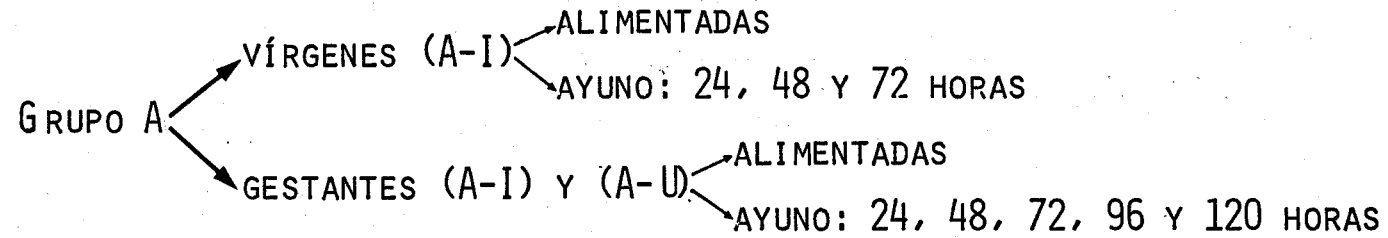


Tabla 1. Diseño experimental. (A-I)= (aorta-iliaca); (A-U)= (aorta-vena uterina) (v-a)= (vena umbilical-arteria umbilical).

microcentrífuga (Eppendorf). Los sobrenadantes se mantuvieron a  $-20^{\circ}$  C hasta la determinación de los diferentes metabolitos. El sobrenadante de la sangre total se utilizó para la medición de los ácidos grasos libres.

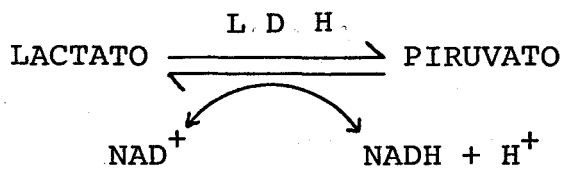
Las muestras de sangre destinadas al estudio del recambio y reciclaje de la glucosa se trataron de la forma siguiente: 100  $\mu$ l de sangre se desproteinizaron con 500  $\mu$ l de sulfato de cinc al 2,51% (peso-volumen) y 500  $\mu$ l de hidróxido bórico al 2,62% (peso-volumen). Tras este tratamiento, la sangre se centrifugó a 16.000 g y el sobrenadante se utilizó para la medida posterior de la glucosa fría y radiactiva.

### 3. Determinación de la glucosa, lactato y piruvato.

La glucosa se determinó por la técnica de la glucosa oxidasa (Huggeh y Nixon, 1957), con reactivos de la casa Boehringer (n° 15756).

Las técnicas utilizadas para la determinación de la mayor parte de los substratos consistieron en adaptaciones fluorimétricas de métodos enzimáticos (Girard y col., 1974). Se utilizó un microfluorímetro (Aminco-Bowman) provisto de un filtro de excitación de 360 nm y de un filtro de emisión de 415 nm. Se siguió, en todos los casos, la aparición o desaparición de la fluorescencia del NADH, utilizado como coenzima de las reacciones enzimáticas. En todas las determinaciones realizadas, el NADH utilizado se diluyó previamente en tampón carbonato 0,1 M, pH 10,6. De esta forma pudo conservarse durante una semana a  $-20^{\circ}$ C.

El lactato y el piruvato se determinaron según la técnica de Passoneau y Lowry (1974) y Passoneau (1974). Esta técnica se fundamenta en que el paso de lactato a piruvato es una reacción reversible catalizada por el enzima lactato deshidrogenasa. El coenzima de la reacción es el NAD, cuya presencia en forma oxidada o reducida, marca el sentido de la reacción.



L. D. H. (Lactato deshidrogenasa, Boehringer, 15374)

La medida del lactato se realizó sobre 10  $\mu\text{l}$  del sobrenadante perclórico en 1 ml de tampón amino metil propanol (0,1 M), hidrazina (0,05 M), pH 9,5 que contenía  $\text{NAD}^+$  (2 mM). La fluorescencia se leía 30 minutos después de añadir 10  $\mu\text{l}$  de lactato deshidrogenasa (550 U/mg). Simultáneamente se hizo una curva estandar de lactato (0,5 a 4 mM) (figura 7). El lactato utilizado fue una sal ácida de litio (Calbiochem, 427209) que se preparó a una concentración 10 mM y podía conservarse a 4°C durante varios meses.

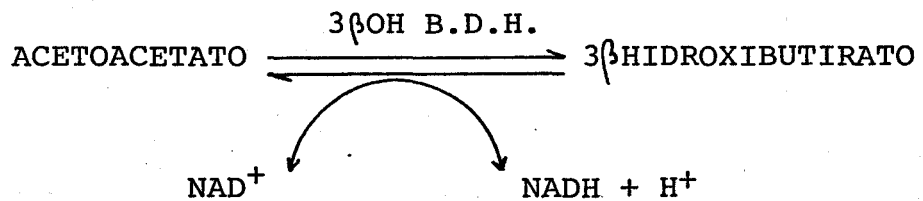
La determinación del piruvato se llevó a cabo sobre 10  $\mu\text{l}$  del sobrenadante perclórico en 1 ml de tampon fosfato 0,1 M, pH 7,0, que contenía NADH (1,5  $\mu\text{M}$ ). La fluorescencia se leía a los 10 minutos después de añadir 10  $\mu\text{l}$  del enzima (lactato deshidrogenasa) diluido

al 1/100 (550 U/mg). Simultáneamente se hizo una curva estandar de piruvato (20 a 100  $\mu\text{M}$ ) (figura 8) a partir de una solución madre 10 mM, fabricada con piruvato sódico (Boehringer, 15685) que podía conservarse durante un mes a 4°C.

#### 4. Determinación de los cuerpos cetónicos.

La técnica utilizada para la medición del acetoacetato y el 3 $\beta$ hidroxibutirato fue una adaptación fluorimétrica del método enzimático de Mellamby y Williamson (1974).

El fundamento de esta técnica consiste en que el enzima 3 $\beta$ hidroxibutirato-deshidrogenasa cataliza el paso de acetoacetato a 3 $\beta$ hidroxibutirato. Esta reacción es reversible, el coenzima es el NAD, cuya presencia en forma oxidada o reducida, además de las condiciones del medio, marca el sentido de la reacción.



3 $\beta$ OH B.D.H. (3 $\beta$ hidroxibutirato-deshidrogenasa, Boehringer, 15055)

La medida del acetoacetato se llevó a cabo sobre 10  $\mu\text{l}$  del sobrenadante perclórico, en tampón fosfato (0,1 M, pH 8.6) que contenía NADH (5  $\mu\text{M}$ ). La fluorescencia se leía 30 minutos después de añadir 10  $\mu\text{l}$  del enzima (3 $\beta$ hidroxibutirato deshidrogenasa, 3 U/mg).

Simultáneamente se hizo una curva estandar de acetoacetato (20 a 500  $\mu\text{M}$ ) (figura 9). Para ello se utilizó una solución madre de acetoacetato de litio (Sigma, 8509) a una concentración 10 mM que podía conservarse a 4°C durante una o dos semanas.

La determinación del 3 $\beta$ hidroxibutirato se realizó sobre 10  $\mu\text{l}$  del sobrenadante perclórico en un medio de reacción a pH 8,5, que contenía:

- tampón Tris ClH (0,07 M)
- hidrazina (1 mM)
- EDTA Na<sub>2</sub> (1,5 mM)
- NAD (1,5  $\mu\text{M}$ )

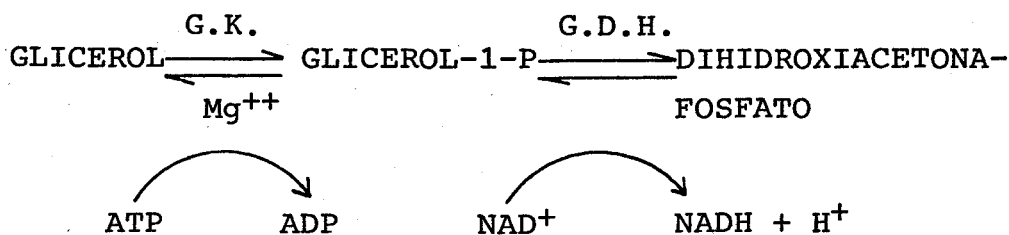
Se añadieron 10  $\mu\text{l}$  del enzima 3 $\beta$ hidroxibutirato-deshidrogenasa (3 U/mg) y después de 30 minutos a 30°C, se leyó la aparición de fluorescencia del NADH + H<sup>+</sup>. La curva estandar del 3 $\beta$ hidroxibutirato (50 a 200  $\mu\text{M}$  o 250 a 2.000  $\mu\text{M}$ ) se preparó a partir del ácido DL-hidroxibutírico (Sigma, 6501) 10 mM, solución madre que podía conservarse durante un mes a 4°C (figuras 10 y 11).

##### 5. Determinación del glicerol.

La técnica utilizada fue una adaptación fluorimétrica (Girard y col., 1973) del método enzimático y espectrofotométrico de Wieland (1963). El fundamento de esta técnica se basa en la fosforilación del glicerol, convirtiéndose en glicerol-fosfato, en presencia de ATP y el enzima glicerocinasa. Después el glicerol-fosfato formado se oxida a dihidroxiacetona-fosfato,



reacción catalizada por el enzima glicerol-fosfato deshidrogenasa. Se mide la formación de NADH por su fluorescencia.



La reacción catalizada por la glicerol-fosfato deshidrogenasa es reversible. Se desplaza el equilibrio hacia la formación de dihidroxiacetona-fosfato, trabajando a pH 9,8 y fijando la dihidroxiacetona-fosfato con hidrazina a medida que se va formando.

G.K. (glicerocinasa, Boehringer, 15746)

G.D.H. (glicero-fosfato deshidrogenasa, Boehringer, 15135)

La mezcla de reacción para la determinación de glicerol consistía:

a) 3,7 g de glicina

0,5 ml de  $\text{Cl}_2\text{Mg}$ , 1 M

13,0 ml de hidrazina pura

agua bidestilada hasta conseguir un volumen de 250 ml

(mantenida a 4°C hasta su uso)

b) momentos antes de la determinación se pesaron 20 mg de ATP y 15 mg de NAD y se diluyeron en 50 ml de la mezcla de reacción anterior (a)

c) por cada 10 ml de la mezcla de reacción obtenida en (b), se añadieron 50  $\mu\text{l}$  de glicerol-fosfato deshidrogenasa y 10  $\mu\text{l}$  de glicerocinasa.

La determinación se hizo en 1 ml de tampón glicina (0,2 M) que contenía hidracina (1,6 M) y cloruro magnésico (2 mM) a pH 9,8. Además ATP (0,8 mM), NAD (0,5 mM), 10  $\mu$ l de glicerocinasa 1/10 (85 U/mg) y 5  $\mu$ l de glicero-fosfato deshidrogenasa (60 U/mg). La fluorescencia se leía a los 30 minutos después de añadir 10  $\mu$ l del sobrenadante perclórico. Simultáneamente se hizo una curva estandar de glicerol (50 a 400  $\mu$ M). (figura 12). Como solución madre se utilizó glicerol destilado (Merck 6332417) 20 mM que se podía conservar a 4°C durante varias semanas.

#### 6. Determinación de los ácidos grasos libres.

Los ácidos grasos no esterificados (AGL) se determinaron en el plasma obtenido después de centrifugar la sangre a 4°C, durante 2 minutos a 16.000 g. Se utilizó la técnica de extracción de Dole y Meinertz (1960) y la técnica de Ho (1970) para su cuantificación.

El fundamento de esta técnica se basa en que los AGL de cadena larga (superior a diez átomos de carbono) forman con el níquel un compuesto soluble en fase orgánica (Ho, 1970), mientras que el níquel libre solo es soluble en fase acuosa. Utilizando níquel radiactivo (50  $\mu$ Ci/ $\mu$ l), la medida de la radiactividad de la fase orgánica es proporcional a la concentración de AGL. El níquel "no unido" se queda en la fase acuosa.

Antes de la determinación, se eliminaron las proteínas y los fosfolípidos mediante una técnica de extracción

adecuada para este fin. Básicamente esta técnica consiste en lo siguiente:

Una alícuota de plasma (10-100  $\mu$ l) se mezcla con 2 ml de Dole (4 volúmenes de isopropanolol, 1 volumen de isooctano, 0,1 volumen de ácido sulfúrico 1 N) que contiene 5 mg de ácido salicílico previamente activado (4 horas a 140°C o 12 horas a 100°C). El ácido salicílico hace que los fosfolípidos plasmáticos sean solubles en fase acuosa y evita así sus interferencias con el análisis.

Después de agitar se deja reposar la mezcla 15 minutos; se añade sucesivamente, agitando después de cada adicción, 1,6 ml de heptano y 1 ml de agua bidestilada. El sistema presenta dos fases que se dejan separar. La fase acuosa inferior contiene los fosfolípidos adsorbidos al ácido salicílico y la fase superior heptánica contiene los ácidos grasos.

Una alícuota de 1 ml de la fase heptánica se seca bajo una corriente de aire comprimido y el residuo seco se rediluye en 0,5 ml de una mezcla de cloroformo y heptano (8 volúmenes/7 volúmenes) lo que condiciona la densidad de la mezcla.

La solución radiactiva ( $\text{Ni}^{63}$ ) se prepara de la forma siguiente:

a) solución de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (Pm= 290,8)

Se pesan 145,4 mg de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  y se diluyen en 0,4 ml de ácido acético glacial y 5 ml de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  saturado. Se lleva a 50 ml con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  saturado.

b) solución radiactiva madre

Se añade 1 mCi de  $\text{Ni}^{63}$  a 10 ml de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ , con lo que se obtiene una concentración de  $1\mu\text{Ci}/10\ \mu\text{l}$ . Si se forma un precipitado se redisuelve calentando suavemente.

c) solución de  $\text{Ni}^{63}$

En cada análisis se prepara la solución definitiva de  $\text{Ni}^{63}$  a partir de la solución radiactiva madre. Para esto se prepara una solución de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  de la forma siguiente: 2,8 ml de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  saturado + 0,5 ml de trietanolamina, se agita vigorosamente y se centrifuga durante 1 minuto a velocidad máxima. Se toma 1 volumen del sobrenadante y se mezcla con 1 volumen de la solución radiactiva madre.

Para la determinación de los AGL se procedió de la forma siguiente:

Una alícuota de 200  $\mu\text{l}$  del extracto dividido en cloroformo y heptano se transfirió a un microtubo de polietileno al que se añadieron 10  $\mu\text{l}$  de la solución de níquel radiactivo (2,5mCi/50 ml). Los tubos se agitaron durante 30 segundos con la ayuda de un microagitador (Beckman). Este tiempo de agitación era indispensable para asegurar un contacto suficiente entre las dos fases y permitir al níquel radiactivo unirse a los AGL de la fase orgánica.

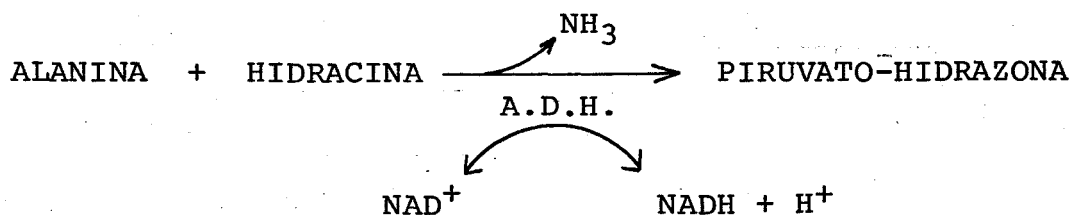
Tras esta fase, los tubos se centrifugaron durante 5 minutos para separar la fase acuosa de la fase orgánica;

se transfirieron 50  $\mu$ l de la fase orgánica, teniendo cuidado de no tocar las paredes, a los tubos de conteo que contenían 10 ml de líquido de centelleo (PCS, Amersham). La radiactividad se midió en un contador de centelleo (Nuclear, Chicago).

La curva estandar se preparó a partir de una solución madre de palmitato en cloroformo-heptano (8v/7v) 500  $\mu$ M, que podía conservarse a 4°C durante 1 o 2 meses. Los valores de la curva estandar iban de 5 a 100  $\mu$ M (véase figura 13)..

#### 7. Determinación de la alanina.

La técnica utilizada fue una adaptación fluorimétrica del método enzimático de Williamson (1974). Esta técnica se basa en la reacción de la alanina con la hidracina, en presencia de un enzima (alanin-deshidrogenasa), formando piruvato-hidrazona y amoníaco. El coenzima de la reacción es el NAD. Existe una relación estequiométrica entre los moles de alanina que se oxidan y los moles de NADH + H<sup>+</sup> que se producen.



A.D.H. (alanin-deshidrogenasa, Boehringer, 15224)

La determinación de la alanina se llevó a cabo sobre 10  $\mu$ l del sobrenadante perclórico, en 1 ml de tampon Tris (0,014 M), hidracina (0,5 M), pH 10, que contenía

NAD<sup>+</sup> (0,5 mM) y EDTA (0,5 mM). Se añadieron 10  $\mu$ l del enzima (alanin-deshidrogenasa; 30 U/mg) y la fluorescencia se leyó después de 30 minutos a 30°C. La curva estandar para la alanina se hizo simultáneamente (50 a 500 mM) a partir de una solución madre 10 mM preparada con L-alanina pura (Fluka, 98955) (véase figura 14).

#### 8. Determinación de otros aminoácidos.

Los aminoácidos alanina (también determinada por el método fluorimétrico), glutamina, glutamato, glicina, serina, treonina, valina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina, se determinaron según la técnica de Speckman y col. (1958), a partir del sobrenadante obtenido al precipitar una parte de las muestras con ácido sulfosalicílico.

Los aminoácidos se separaron en una columna de intercambio de cationes formada por una resina de poliester sulfonado equilibrada con una solución de hidróxido de litio, de forma que los grupos de ácido sulfónico se cargasen con el Li<sup>+</sup>. La columna se eluyó con tampones de pH y de fuerza iónica creciente.

Esta técnica se basa en que a pH ácido los aminoácidos están en forma catiónica y tienen tendencia a desplazar los iones de Li<sup>+</sup> ligados a la resina. La importancia de los desplazamientos varía según el aminoácido, en proporción a los diferentes grados de ionización. Los factores que favorecen la elución son la temperatura, el pH y la fuerza iónica.

A pH 6 la mayoría de los aminoácidos básicos (lisina, arginina e histidina) se unen sólidamente a la resina mientras que los más ácidos (ácidos glutámico y aspártico) y los hidroxilados (serina y treonina) son los menos ligados. Al aumentar gradualmente el pH y la fuerza iónica, los aminoácidos emigran en la columna a velocidades diferentes, lo que permite recogerlos separadamente.

Los eluyentes que contenían los aminoácidos se hacían reaccionar con la ninhidrina dando compuestos coloreados en los que la densidad óptica era proporcional a la concentración del aminoácido presente en esa fracción. La densidad óptica se midió a 570 nm para todos los aminoácidos, excepto para la prolina y la hidroxiprolina cuyo máximo de absorción es a 400 nm.

El aparato utilizado fue un LKB, modelo 4101, equipado con una columna de 6 mm de diámetro y 3,5 cm de altura, rellena de una resina Aminex A9. Este aparato permitía programarle para la elución de la columna con tres tampones y dos temperaturas diferentes. Las concentraciones de los aminoácidos eran expresadas automáticamente en  $\mu\text{moles/litro}$ .

### 9. Análisis de los resultados

Los valores obtenidos de las mediciones de los diferentes substratos en sangre arterial y venosa, se expresaron en cada caso como diferencias arterio-venosas ( $\Delta$ ). En cada animal se calculó el  $\Delta$  para cada substrato y en

cada situación experimental. Con los valores  $\Delta$  pertenecientes a un parámetro determinado en una misma situación experimental, procedentes de varios animales (el número de animales en cada caso se especifica en "Resultados"), se calculó la media, el error estándar y la significación estadística.

En todos los casos, cuando  $\Delta$  era positivo ( $A-V=+$ ), se consideró que el substrato era utilizado por los tejidos estudiados. Cuando  $\Delta$  era negativo se consideró como producción del substrato. En el caso particular del estudio de las diferencias arterio-venosas en la circulación umbilical,  $\Delta$  se calculó a partir de las diferencias en la concentración de cada substrato entre la vena y la arteria umbilicales.

## 10. Metodología utilizada para el estudio del recambio ("turnover") de glucosa en la rata.

### 10.1. Fundamentos

Antes de describir la técnica empleada para el estudio del recambio de glucosa plasmática, se definen algunas expresiones para facilitar la comprensión del trabajo.

Un sistema se dice que está en estado estacionario ("steady state") cuando las entradas de sustancias de naturaleza idéntica compensan las salidas, de manera que la cantidad de sustancia del sistema no se modifica. La aparición y desaparición simultánea de compuestos de la misma naturaleza, constituye el recambio ( $R_0$ ) ("turnover"). Expresa una cantidad de sustancia producida o utilizada



por unidad de tiempo. El recambio no puede determinarse si el estado no es estacionario.

Un compartimento se define como una cantidad de sustancia en la que el recambio es uniforme (al menos durante la duración del estudio realizado). El reciclaje ( $R_c$ ) estima la cantidad de sustancia que habiendo sido utilizada, vuelve por diferentes vías metabólicas a aparecer en la circulación bajo su forma inicial.

Para el estudio del recambio de glucosa hemos utilizado siguiendo a Dunn y col. (1967) la glucosa  $6\text{-H}^3$ , ya que el agua tritiada que pueda convertirse de nuevo en glucosa es despreciable. El reciclaje se determinó mediante la utilización de dos marcadores: uno reversible (glucosa  $\text{U-C}^{14}$ ) y otro irreversible (glucosa  $6\text{-H}^3$ ).

De las diferentes técnicas propuestas por Katz y col. (1974 a y b) para la administración de la sustancia radiactiva: a) inyección única; b) perfusión continua; c) inyección única y perfusión continua, hemos utilizado esta última que nos permite tener una radiactividad específica (RAS) constante durante todo el experimento (debido a la perfusión continua) pero además obtener la meseta rápidamente (debido a la inyección única) (véase fig. 15).

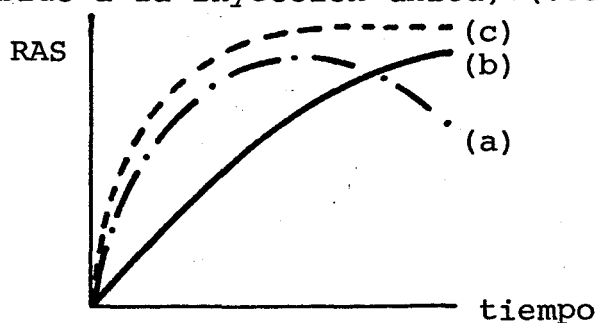


Figura 15. Evolución de la radiactividad específica (RAS) según las diferentes técnicas descritas por Katz y col. (1974a). Para más detalles véase el texto.

## 10.2. Técnica.

A los animales bajo anestesia se les colocó un cateter en la carótida para hacer posteriormente las tomas de sangre. Para evitar la coagulación de la sangre en el cateter carotídeo se les inyectaron 100 u.i. de heparina. La inyección inicial y la perfusión de los trazadores radiactivos se hizo por la safena con la ayuda de un perfursor (Braun Melsungen).

El líquido de perfusión estaba compuesto por 100  $\mu\text{Ci}$  de glucosa 6- $\text{H}^3$  (RAS= 22,5 Ci/mmol) y 50  $\mu\text{Ci}$  de glucosa U- $\text{C}^{14}$  (RAS= 3 mCi/mmol) en 10 ml de suero fisiológico. Se hicieron experiencias previas para establecer el volumen óptimo de la inyección inicial del trazador así como el flujo adecuado de la perfusión.

En los animales gestantes se administraron 0,7 ml del líquido de perfusión en 2 minutos. En vírgenes la inyección inicial fue de 0,9 ml en el mismo tiempo. Esta diferencia en los líquidos de perfusión se debía a que la glucemia de partida era más elevada en las vírgenes que en las gestantes. Tras esta inyección inicial, la solución radiactiva se perfundió con un flujo de 0,02 ml/min.

El primer pulso del líquido de perfusión permitió obtener la meseta en 10 minutos. El flujo continuo empleado permitió obtener una radiactividad específica constante durante los 80 minutos que duró la experiencia.

Las muestras de sangre se tomaron cada 10 minutos a partir de la inyección inicial del trazador. Se desproteinizaron (véase apartado 2.2.) y la glucosa fría se determinó por el método de la glucosa-oxidasa. El aislamiento de la glucosa radiactiva de sus metabolitos marcados se realizó con una resina de intercambio iónico según el protocolo siguiente:

En una pipeta Pasteur de 0,5 cm de diámetro interno obstruida con lana de vidrio, se depositan 2,5 cm de una resina de intercambio de cationes (Dowex AG 50 W-8, 100, 200) y después 2,5 cm de una resina de intercambio de aniones (Dowex AG 1X-8, 200, 400) (Biorard. Lab. Richmond, USA).

Previamente a su utilización, las columnas se comprobaron haciendo pasar por ellas cantidades conocidas de glucosa U-C<sup>14</sup> y lactato U-C<sup>14</sup>. En estas condiciones, se observó que la glucosa pasa libremente a través de la columna y que el  $95 \pm 1,2\%$  se encontraba en el efluente. Para demostrar que este efluente contenía realmente glucosa marcada, se incubó en presencia de hexoquinasa, ATP y MgCl<sub>2</sub>.

En estas condiciones, el  $90 \pm 2\%$  de la radiactividad se transformó en glucosa-6-fosfato y fue absorbida por la resina AG 1X-8, lo que confirmaba que la radiactividad que se obtuvo inicialmente en el eflujo de la columna era debida a la glucosa. El  $94 \pm 3,8\%$  del lactato se retuvo en la resina de intercambio de aniones y un  $98 \pm 2\%$  de

la radiactividad depositada sobre la columna se encontró después de su elución.

La secuencia de las operaciones realizadas fue la siguiente: 500  $\mu$ l del sobrenadante barita-sulfato de cinc se depositaron sobre la columna. Se añadieron después 1,5 ml de agua bidestilada que se recogió junto con el efluente que contenía la glucosa. Del líquido recogido se tomó 1 ml y se evaporó en un desecador de vacío con temperatura elevada (sin sobrepasar los 60-70°C pues por encima la glucosa se funde) con el fin de eliminar el agua tritiada producida al metabolizarse completamente la glucosa 6-H<sup>3</sup>.

La glucosa se redisolvió en 1 ml de agua bidestilada y se colocó en un vial de centelleo que contenía 10ml de líquido de centelleo (P.C.S. Amershan). El contador se regló para el doble marcaje, de manera que contase simultáneamente el C<sup>14</sup> y el H<sup>3</sup>.

La radiactividad específica se calculó separadamente para cada uno de los trazadores (C<sup>14</sup> y H<sup>3</sup>) según la fórmula siguiente:

$$\text{RAS} = \frac{\text{c.p.m./ml} \times \text{dilución (44)}}{\text{glucemia (mM)} (\mu\text{mol/ml})} = \text{c.p.m./}\mu\text{mol}$$

La RAS se determinó para cada una de las muestras de sangre tomadas durante toda la experiencia, con lo que se obtuvo un valor medio. Como se estableció teóricamente, los valores encontrados fueron semejantes.

El recambio de la glucosa se expresó como la cantidad de glucosa utilizada o producida por unidad de tiempo y por kg de peso del animal, según la fórmula siguiente:

$$R_o = \frac{\text{débito de la radiactividad de la perfusión (c.p.m./min)}}{\text{RAS (c.p.m./}\mu\text{mol) x kg de peso}} =$$

$$= \mu\text{mol/min x kg}$$

El reciclaje de la glucosa se calculó estimando la diferencia de los valores encontrados en su utilización ( $R_o$ ) cuando se utilizó un trazador irreversible (glucosa  $6\text{-H}^3$ ) y cuando se utilizó un trazador reversible (glucosa  $\text{U-C}^{14}$ ). Para la expresión del resultado ( $R_c$ ) se calculó la diferencia en porcentajes del recambio ( $R_o$ ) con  $\text{H}^3$  y  $\text{C}^{14}$  encontrado para cada punto del experimento.

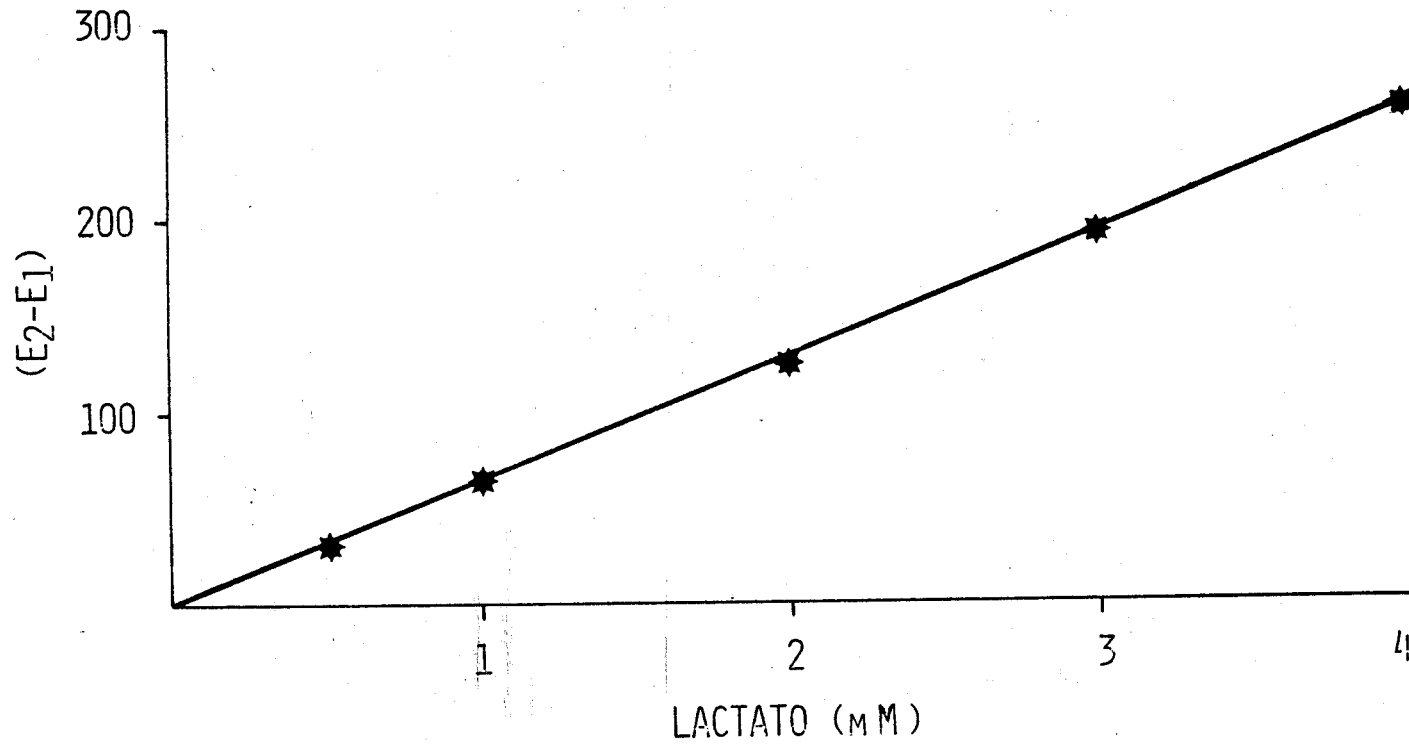


Figura 7. Curva estandar para la determinación del lactato.  $E_2-E_1$  = incremento de las extinciones de la mezcla de reacción al añadir el enzima.

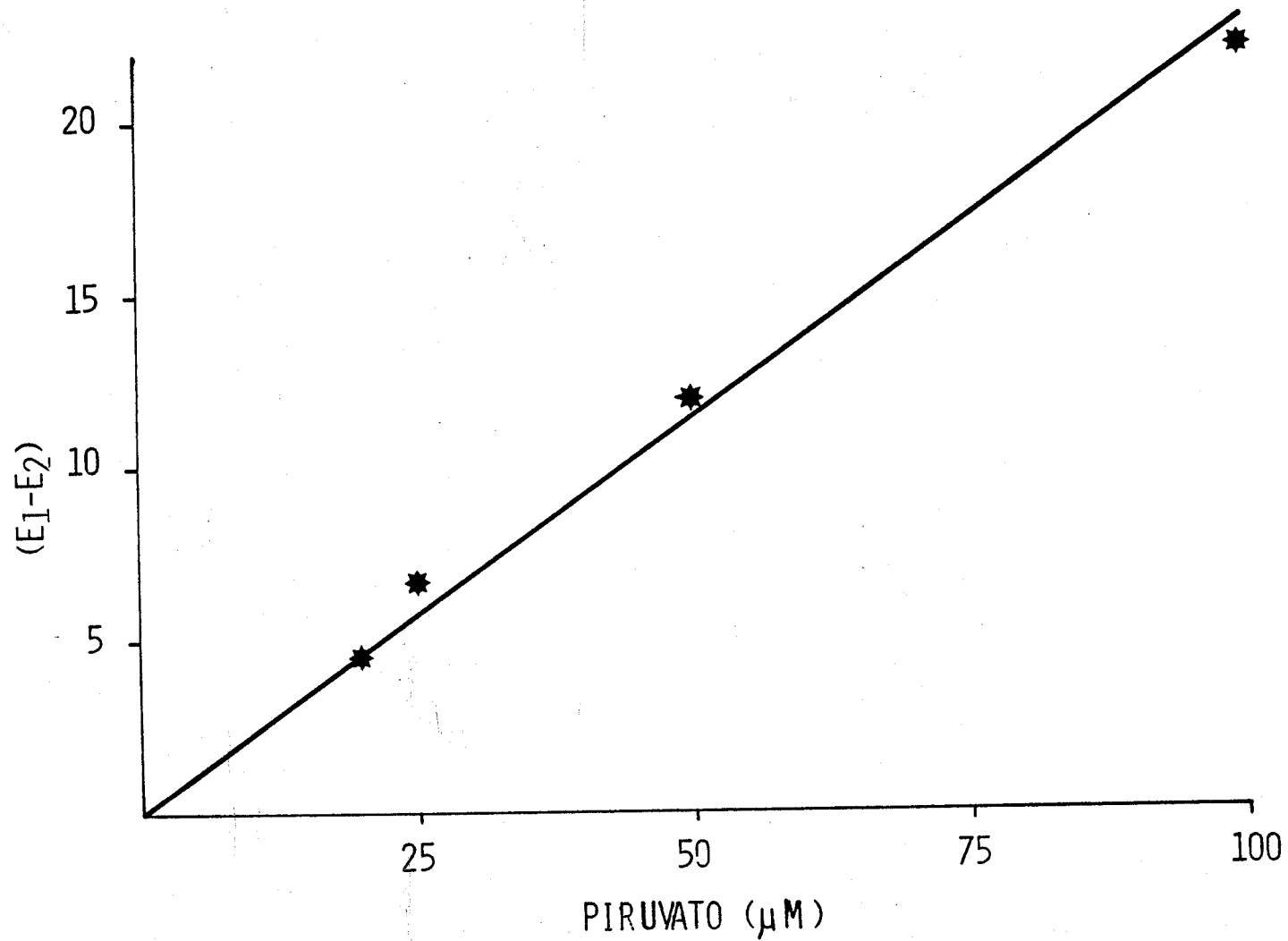


Figura 8. Curva estandar para la determinación del piruvato.  $E_1-E_2$ = incremento de las extinciones de la mezcla de reacción al añadir el enzima.

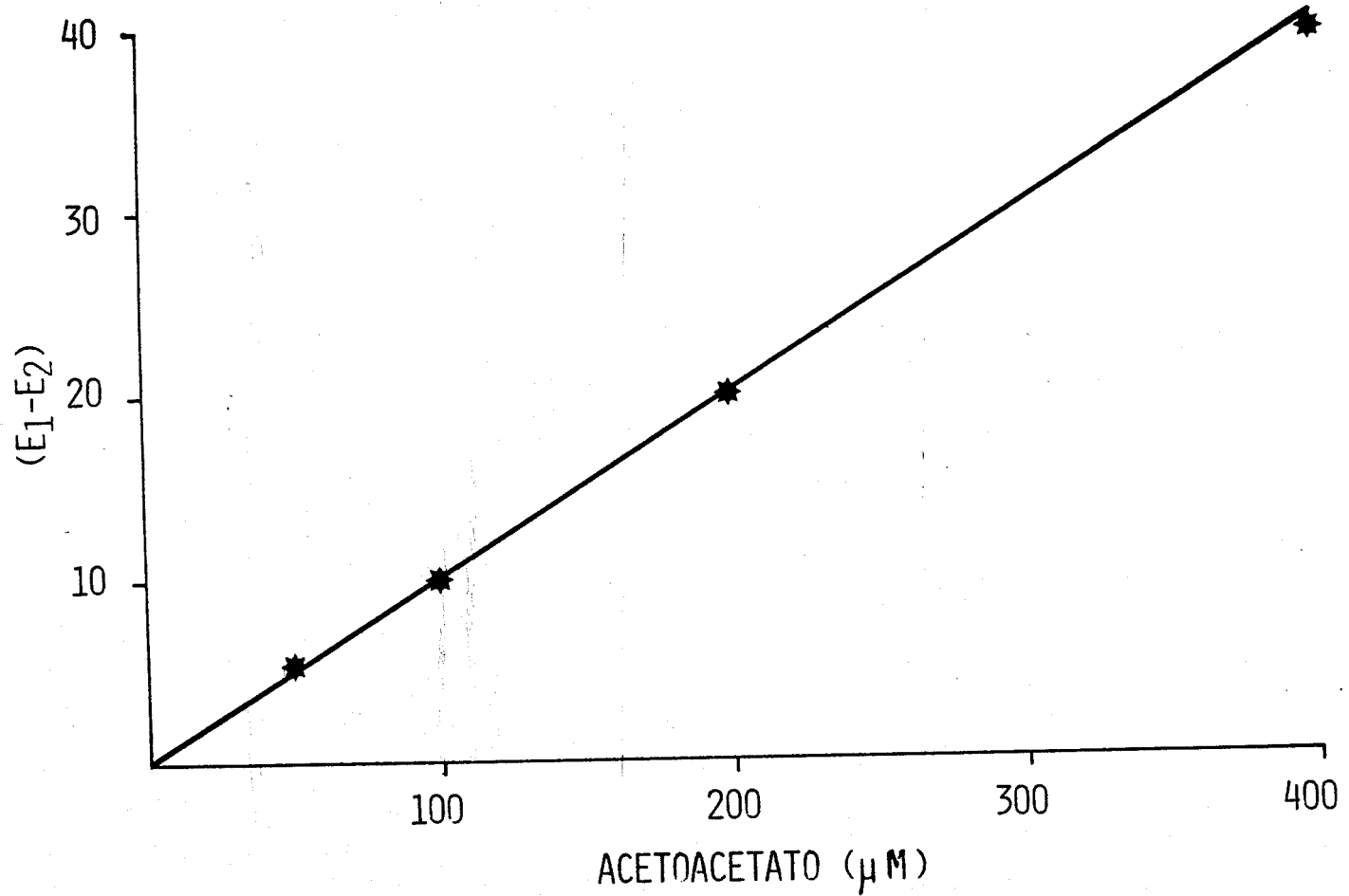


Figura 9..Curva estandar para la determinación del acetoacetato.  $E_1 - E_2 =$  incremento de las extinciones de la mezcla de reacción al añadir el enzima.



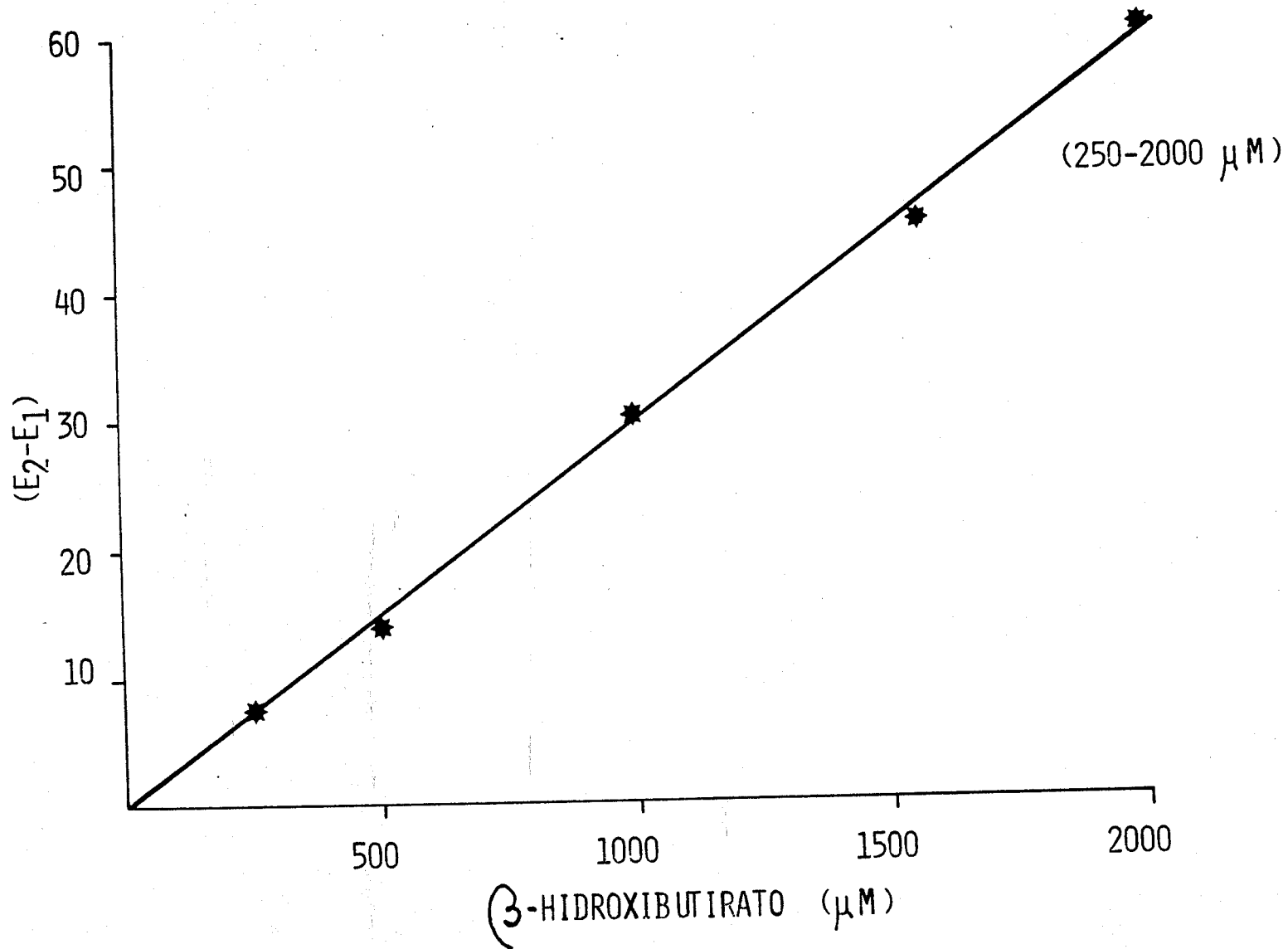


Figura 10. Curva estandar para la determinación de valores elevados de 3-beta-hidroxi-butirato.  $E_2-E_1$  = incremento de la fluorescencia de la mezcla de reacción al añadir el enzima.

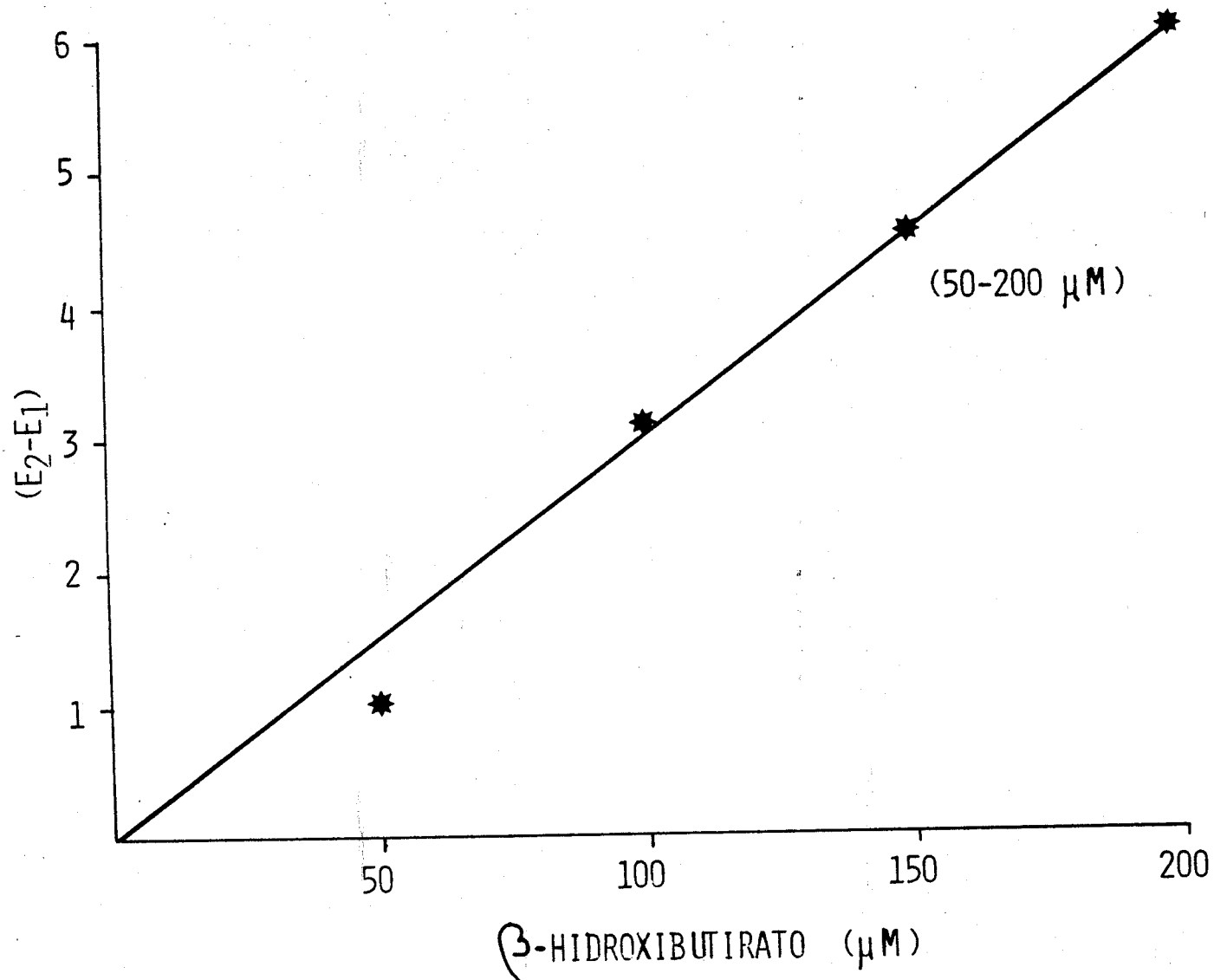


Figura 11. Curva estandar para la determinación del 3-beta-hidroxibutirato.  $E_2 - E_1$  = incremento de la fluorescencia de la mezcla de reacción al añadir el enzima.

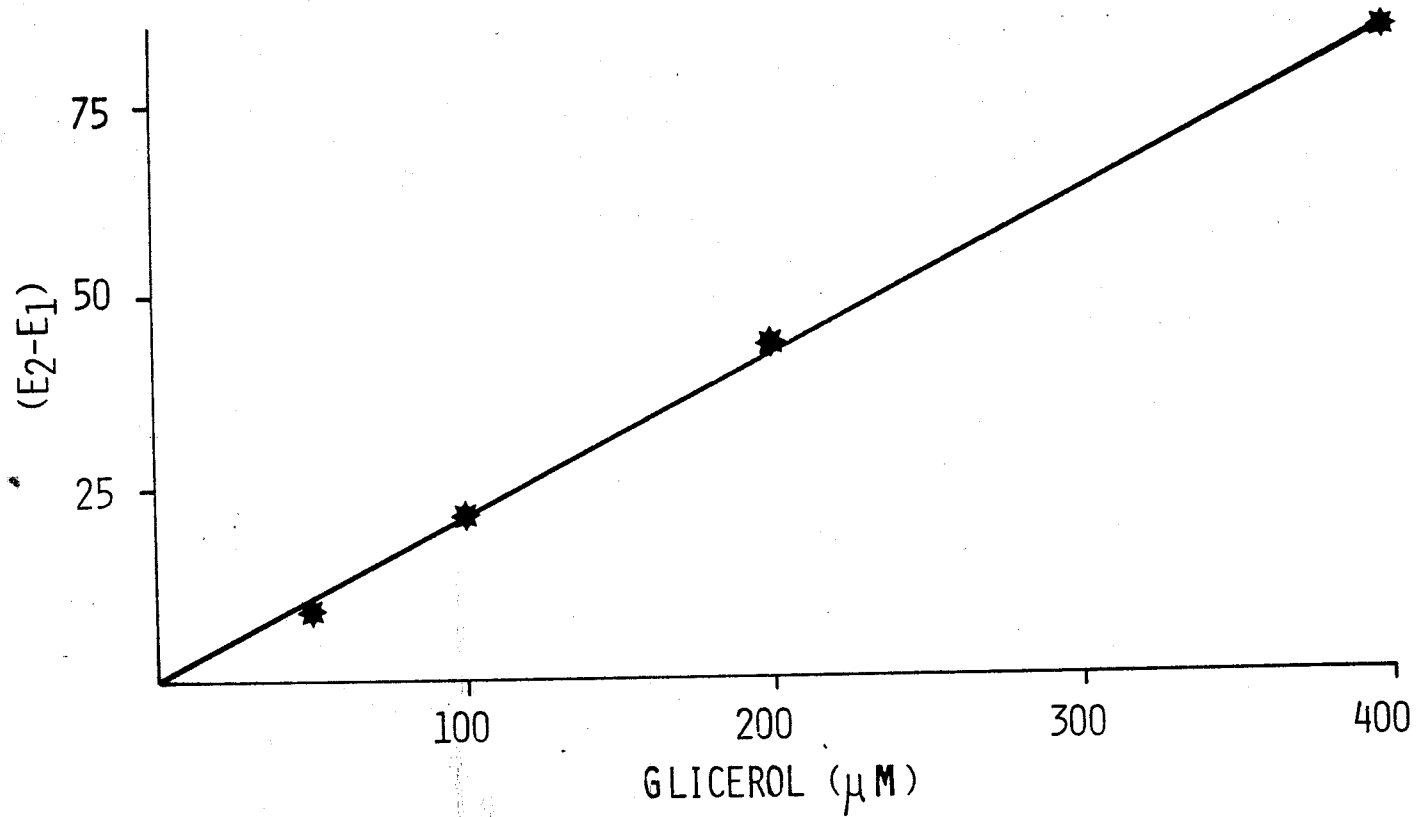


Figura 12. Curva estandar para la determinación del glicerol.  $E_2-E_1$  = incremento de la fluorescencia de la reacción al añadir la muestra.

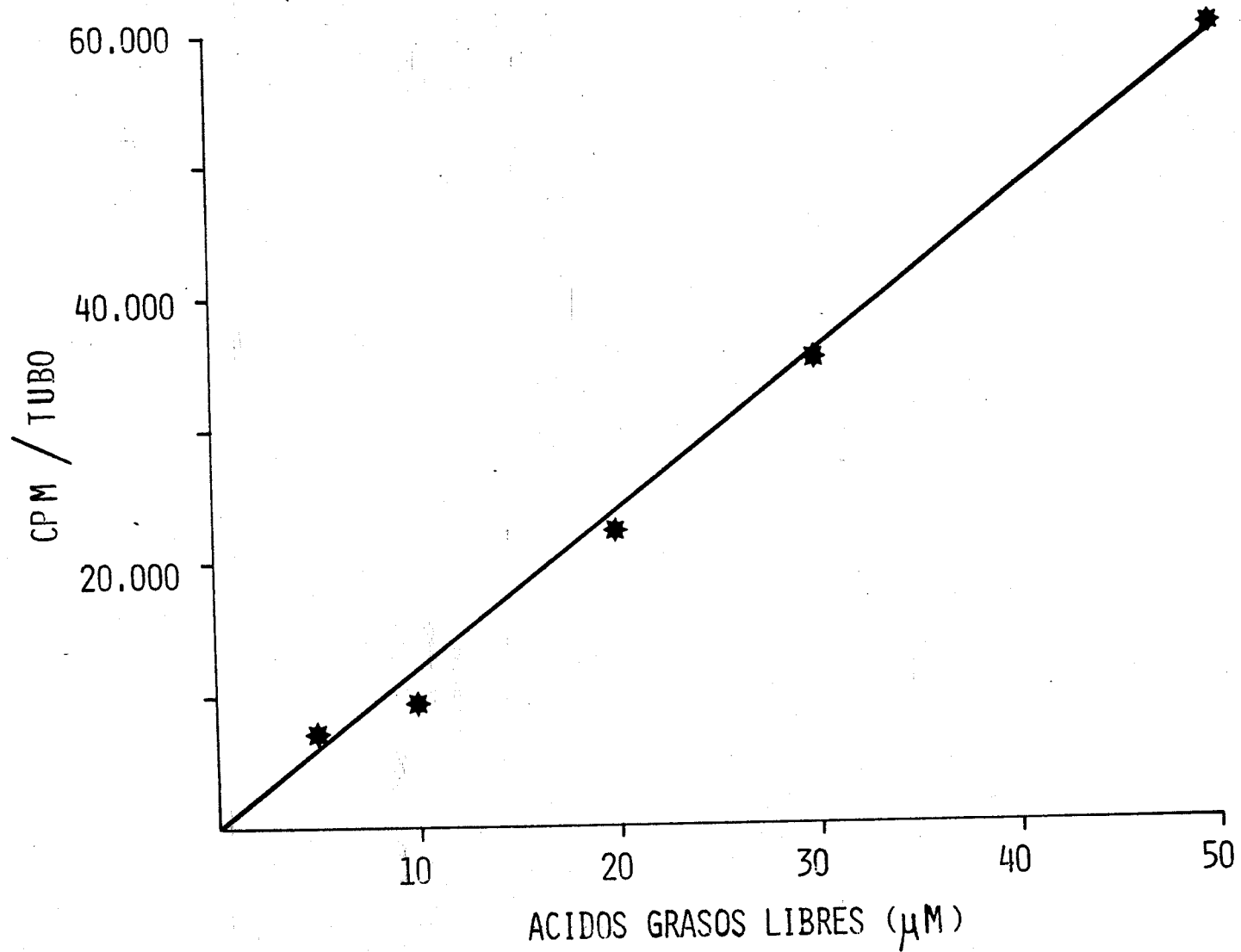


Figura 13. Curva estandar para la determinación de los ácidos grasos libres.  
CPM/tubo= cuentas por minuto y por tubo.

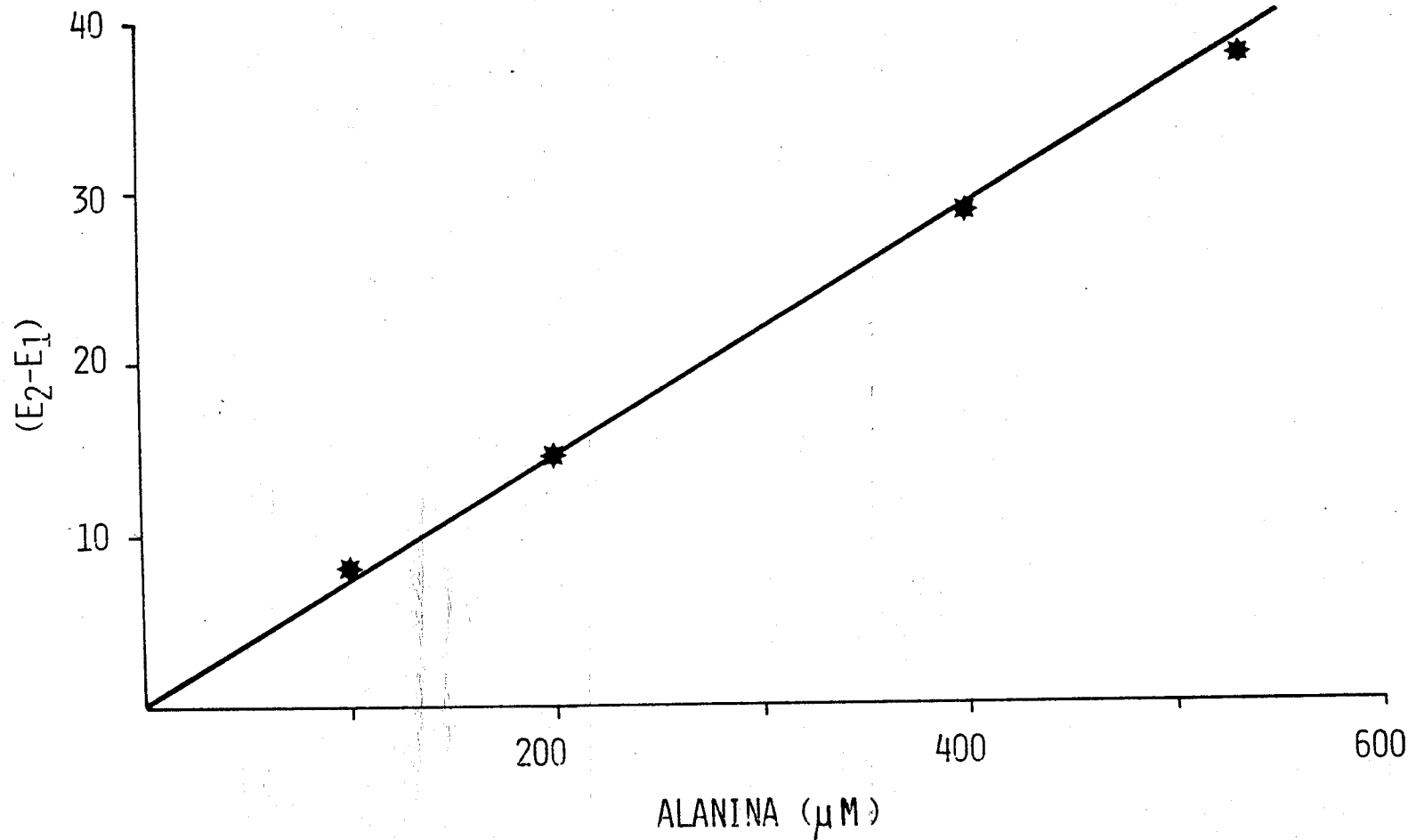


Figura 14. Curva estandar para la determinación de alanina.  $E_2-E_1$  = incremento de la fluorescencia de la mezcla de reacción al añadir el enzima.

## RESULTADOS

### 1. Modificaciones del peso en los animales gestantes y no gestantes durante el ayuno.

La gestación supone un aumento de peso corporal debido, principalmente, a la presencia del feto y la placenta. El peso promedio de los animales gestantes utilizados fue de  $310 \pm 4,6$  g, que comparado con el de las vírgenes de la misma edad ( $240 \pm 18$  g) representa un 29% de aumento del peso corporal debido a la gestación.

Durante el ayuno, el porcentaje de disminución del peso fue menor en las gestantes que en las vírgenes, para cualquier periodo de ayuno considerado; siendo a las 96 horas de ayuno de un 20% en las vírgenes frente a un 11% en gestantes (tabla 2).

El peso fetal a término en los animales alimentados fue de  $4,8 \pm 0,06$  g y el de la placenta de  $0,39 \pm 0,02$  g. El peso fetal a término disminuyó significativamente a par-

tir de las 48 horas de ayuno ( $4,3 \pm 0,06$ ;  $p < 0,0005$ )\*. El peso placentario no sufrió variaciones significativas en ninguno de los días de ayuno estudiados (tabla 3; figura 16).

-----

\* Se consideraron diferencias estadísticamente significativas con  $p < 0,05$ . En los casos en que esta significancia fue superior se indica en el texto.

	<u>Alimentadas</u>	<u>Duración del ayuno</u>				
		<u>24h</u>	<u>48h</u>	<u>72h</u>	<u>96h</u>	<u>120h</u>
<u>Virgenes</u>	240±18 (g) (15)	8% (6)	13% (6)	15% (6)	20% (6)	—
<u>Gestantes</u>	310±4,6 (g) (6)	4% (6)	9% (6)	9,8% (6)	11,3% (6)	12,3% (6)

-----  
 Tabla 2. Disminución del peso corporal de los animales vírgenes y gestantes durante el ayuno. Los resultados se expresan por la media±error estandar y en porcentajes del valor inicial. Entre paréntesis número de animales para cada valor.

	<u>Alimentadas</u>	<u>Duración del ayuno</u>				
		<u>24h</u>	<u>48h</u>	<u>72h</u>	<u>96h</u>	<u>120h</u>
<u>Peso fetal</u>	4,8±0,06 (g) (27)	4,6±0,06 (15)	*4,3±0,06 (28)	*3,8±0,04 (66)	*3,2±0,04 (115)	*3,0±0,07 (67)
<u>Peso placentario</u>	0,39±0,02 (g) (18)	0,46±0,01 (50)	0,4±0,01 (15)	0,44±0,02 (29)	0,39±0,01 (22)	0,38±0,01 (35)

-----  
 Tabla 3. Efecto del ayuno materno sobre el peso fetal y placentario. \*Diferencias estadísticamente significativas con el valor inicial (alimentadas). Entre paréntesis se indican el número total de fetos y placentas estudiados.



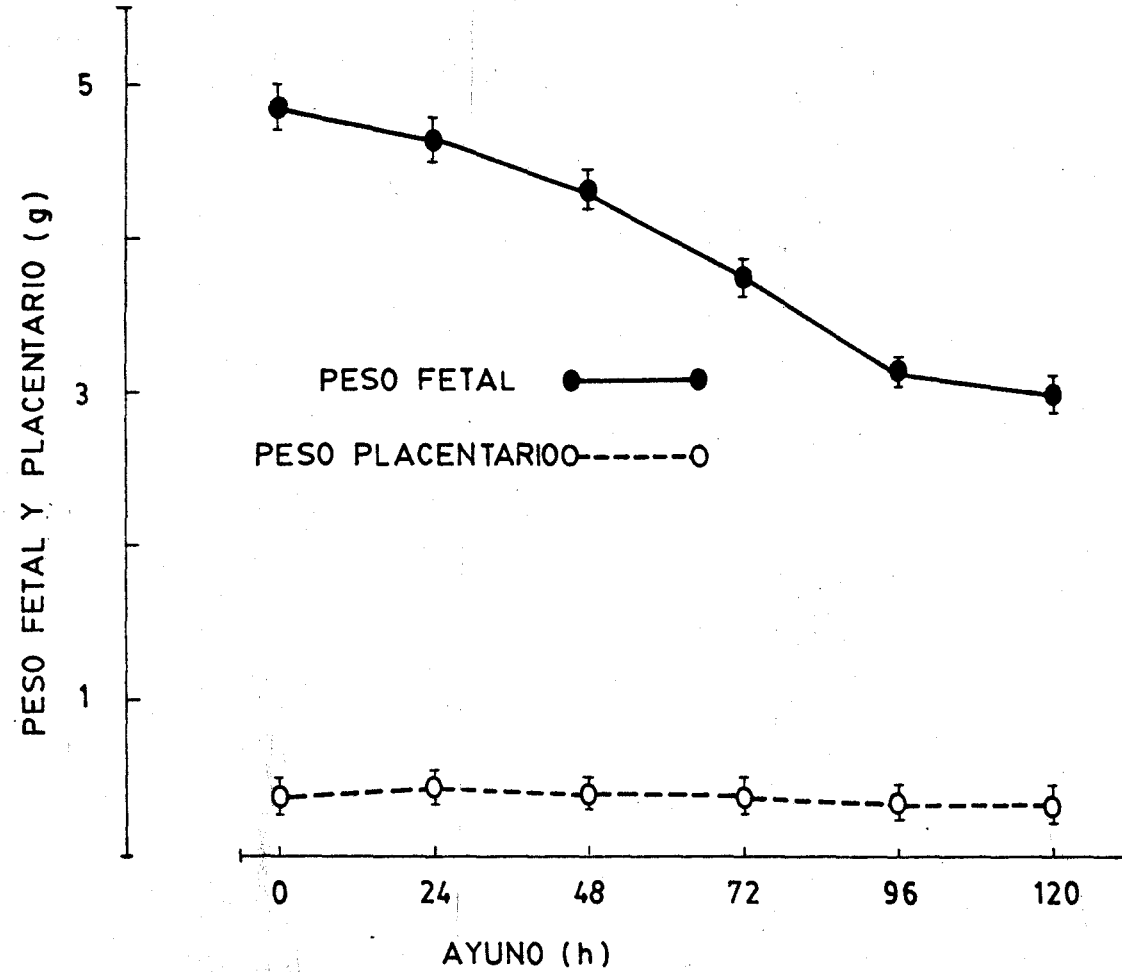


Figura 16. Modificaciones del peso fetal y placentario durante el ayuno materno.

2. Niveles en sangre arterial de glucosa, lactato, piruvato, cuerpos cetónicos, glicerol y alanina en animales vírgenes y gestantes. Modificaciones en el ayuno.

Los niveles circulantes de glucosa en gestantes fueron siempre significativamente inferiores ( $p < 0,0005$ ) a los obtenidos en vírgenes; la hipoglucemia ocasionada por el ayuno fue por tanto más marcada en los animales gestantes. A las 72 horas de ayuno (que fue el periodo máximo estudiado) los valores fueron de  $6,5 \pm 0,22$  y  $4,2 \pm 0,19$  mM en vírgenes y gestantes respectivamente (véanse tabla 4 y figura 17).

Los niveles circulantes de lactato fueron superiores ( $p < 0,01$ ) en los animales gestantes en comparación con los vírgenes. A las 24 horas de ayuno, el lactato disminuyó drásticamente en ambos grupos, manteniéndose más bajos en vírgenes que en gestantes. Estos valores siguieron disminuidos en las gestantes hasta las 72 horas de ayuno estudiadas, mientras que en las vírgenes, los niveles circulantes se recuperaron a las 48 horas (tabla 5 y figura 18).

En las ratas gestantes alimentadas, los niveles circulantes de piruvato fueron superiores a los encontrados en las vírgenes ( $0,16 \pm 0,01$  y  $0,11 \pm 0,008$  mM, respectivamente;  $p < 0,01$ ). Se observó una caída significativa ( $p < 0,01$ ) en los niveles de piruvato durante el ayuno en gestantes sin aparecer cambios significativos en las vírgenes. (tabla 6 y figura 18).

En los animales alimentados, los gestantes tuvieron niveles circulantes de alanina netamente superiores a las vírgenes ( $0,52 \pm 0,05$  y  $0,37 \pm 0,03$  mM, respectivamente). A las 24 horas de ayuno, se observó una caída brusca (más del 50%) de los niveles circulantes en gestantes ( $p < 0,0005$ ) sin experimentar cambios importantes en las vírgenes. A partir de las 48 horas de ayuno, los valores fueron similares en ambos grupos, siendo significativamente inferiores a sus respectivos controles (tabla 7 y figura 19).

Los niveles circulantes de cuerpos cetónicos (acetato y 3 beta-hidroxibutirato) se encontraron muy bajos en los animales alimentados tanto gestantes como vírgenes ( $0,12 \pm 0,02$  y  $0,05 \pm 0,009$  mM, respectivamente). Sin embargo, se observó un aumento mucho más acusado durante el ayuno en las ratas gestantes que en las vírgenes ( $p < 0,0005$  en todos los casos) (tabla 8 y figura 17).

Los valores de glicerol circulante en las ratas gestantes fueron similares a los encontrados en vírgenes. En ambos casos, el ayuno no modificó sensiblemente los niveles observados en los controles respectivos (tabla 9).

	<u>Duración del ayuno</u>			
	<u>Alimentadas</u>	<u>24h</u>	<u>48h</u>	<u>72h</u>
<u>Virgenes</u>	7,4 $\pm$ 0,21 (9)	*6,5 $\pm$ 0,25 (7)	*5,8 $\pm$ 0,33 (12)	*6,5 $\pm$ 0,22 (6)
<u>Gestantes</u>	5,7 $\pm$ 0,17** (11)	*4,4 $\pm$ 0,25** (11)	*4,2 $\pm$ 0,15** (13)	*4,2 $\pm$ 0,19** (9)

Tabla 4. Niveles circulantes de glucosa (mM) y sus modificaciones durante la gestación y el ayuno. Los resultados se expresan por la media $\pm$ error estandar. \*Significativamente diferente en relación con el valor inicial. \*\*Significativamente diferente en relación con su respectivo valor en vírgenes. (Los valores elevados se deben a que la sangre se tomó de la aorta).

	<u>Duración del ayuno</u>			
	<u>Alimentadas</u>	<u>24h</u>	<u>48h</u>	<u>72h</u>
<u>Virgenes</u>	1,9 $\pm$ 0,22 (9)	*0,93 $\pm$ 0,15 (7)	1,7 $\pm$ 0,13 (6)	1,5 $\pm$ 0,26 (6)
<u>Gestantes</u>	3,0 $\pm$ 0,28** (11)	*1,5 $\pm$ 0,14** (11)	*1,4 $\pm$ 0,14 (8)	*1,1 $\pm$ 0,08 (9)

Tabla 5. Niveles circulantes de lactato (mM) y sus modificaciones durante la gestación y el ayuno. Los resultados se expresan por la media $\pm$ error estandar. \*Significativamente diferente en relación con el correspondiente valor inicial. \*\*Significativamente diferente en relación con su respectivo valor en vírgenes. Los números entre paréntesis representan el número de animales en cada caso.

	<u>Alimentadas</u>	<u>Duración del ayuno</u>		
		<u>24h</u>	<u>48h</u>	<u>72h</u>
<u>Vírgenes</u>	0,11±0,008 (11)	0,1±0,02 (7)	0,13±0,02 (6)	0,15±0,03 (6)
<u>Gestantes</u>	0,16±0,01** (11)	*0,1±0,02 (11)	*0,11±0,01 (14)	*0,06±0,005 (9)

Tabla 6. Niveles circulantes de piruvato (mM) y sus modificaciones durante la gestación y el ayuno. Los resultados se expresan por la media±error estandar. \*Significativamente diferente en relación con el correspondiente valor inicial. \*\*Significativamente diferente en relación con su respectivo valor en vírgenes. Los números entre paréntesis indican el número de animales en cada caso.

	<u>Alimentadas</u>	<u>Duración del ayuno</u>		
		<u>24h</u>	<u>48h</u>	<u>72h</u>
<u>Vírgenes</u>	0,37±0,03 (11)	0,35±0,02 (6)	*0,19±0,02 (6)	*0,24±0,03 (6)
<u>Gestantes</u>	0,52±0,05** (11)	*0,2±0,01 (11)	*0,24±0,02 (14)	*0,28±0,02 (9)

Tabla 7. Niveles circulantes de alanina (mM) y sus modificaciones durante el ayuno y la gestación. Los resultados se expresan por la media±error estandar. \*Significativamente diferente en relación con el correspondiente valor inicial. \*\*Significativamente diferente en relación con su respectivo valor en vírgenes. Los números entre paréntesis representan el número de animales en cada caso.

	<u>Alimentadas</u>	<u>Duración del ayuno</u>		
		<u>24h</u>	<u>48h</u>	<u>72h</u>
<u>Vírgenes</u>	0,05±0,009 (6)	*1,0±0,21 (7)	*1,0±0,17 (6)	*0,74±0,11 (6)
<u>Gestantes</u>	0,12±0,02** (11)	*2,7±0,22** (11)	*4,2±0,32** (8)	*4,2±0,34** (9)

-----

Tabla 8. Niveles circulantes de cuerpos cetónicos (mM) y sus modificaciones durante la gestación y el ayuno. Los resultados se expresan por la media±error estandar. \*Significativamente diferente en relación con el correspondiente valor inicial. \*\*Significativamente diferente en relación con su respectivo valor en vírgenes. Entre paréntesis se expresa el número de animales en cada caso.

	<u>Alimentadas</u>	<u>Duración del ayuno</u>		
		<u>24h</u>	<u>48h</u>	<u>72h</u>
<u>Vírgenes</u>	0,09±0,005 (6)	0,07±0,01 (6)	0,06±0,01 (6)	0,14±0,02 (6)
<u>Gestantes</u>	0,10±0,007 (11)	0,11±0,009 (11)	0,13±0,01 (8)	0,10±0,01 (9)

-----

Tabla 9. Niveles circulantes de glicerol (mM). Los resultados se expresan por la media±error estandar. Entre paréntesis se expresa el número de animales en cada caso.

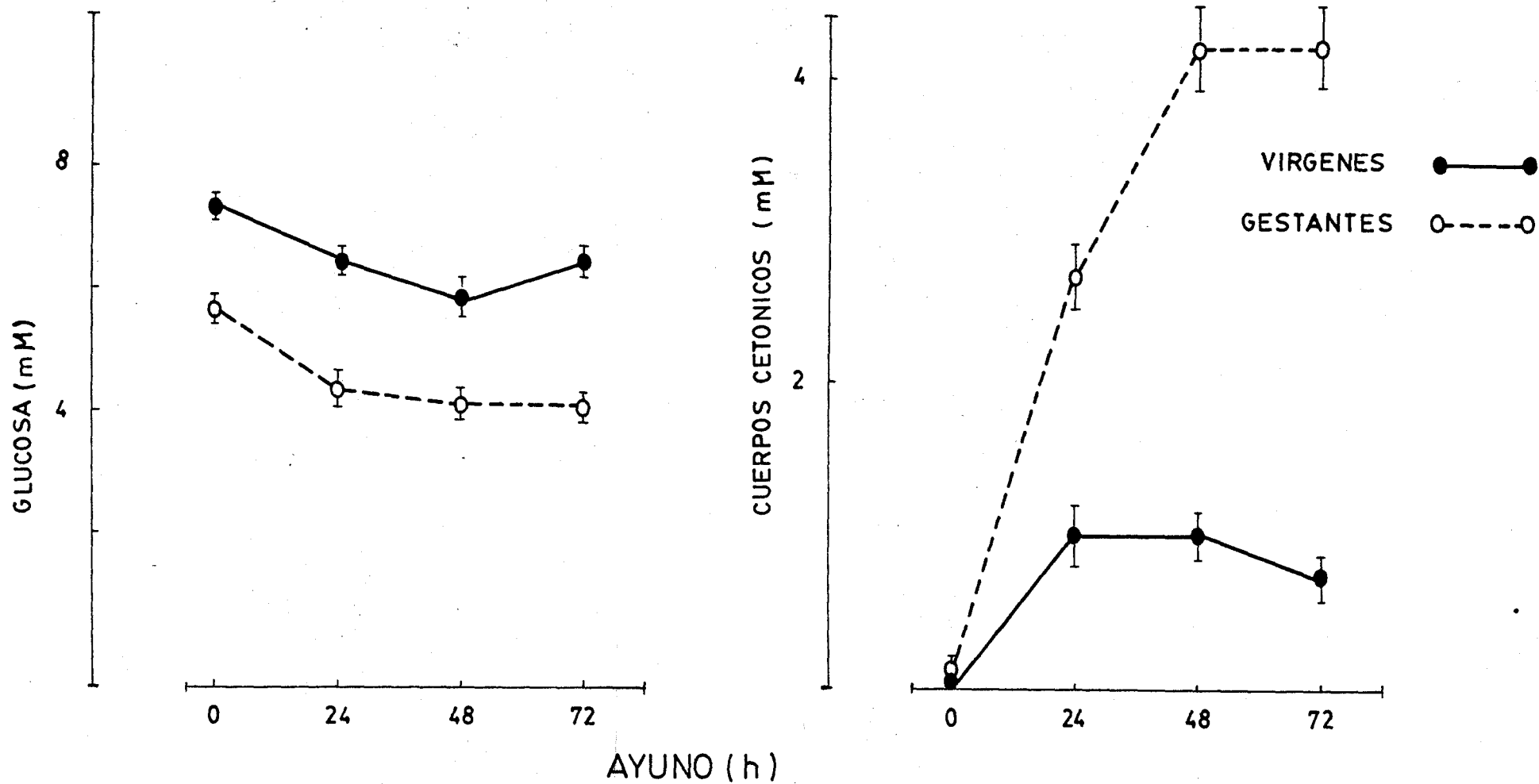


Figura 17. Niveles circulantes de glucosa y cuerpos cetónicos en los animales gestantes y vírgenes. Modificaciones durante el ayuno.

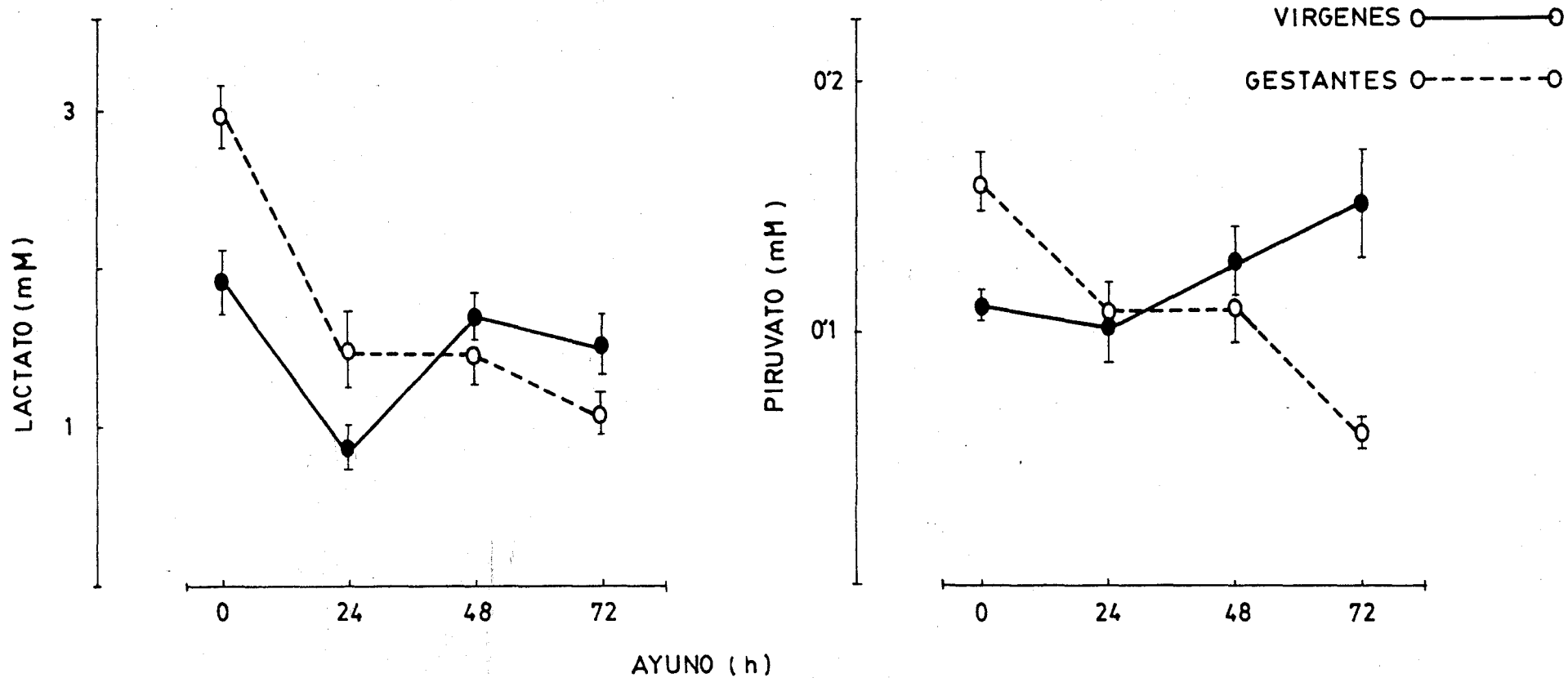


Figura 18. Niveles circulantes de lactato y piruvato en los animales vírgenes y gestantes. Modificaciones durante el ayuno.



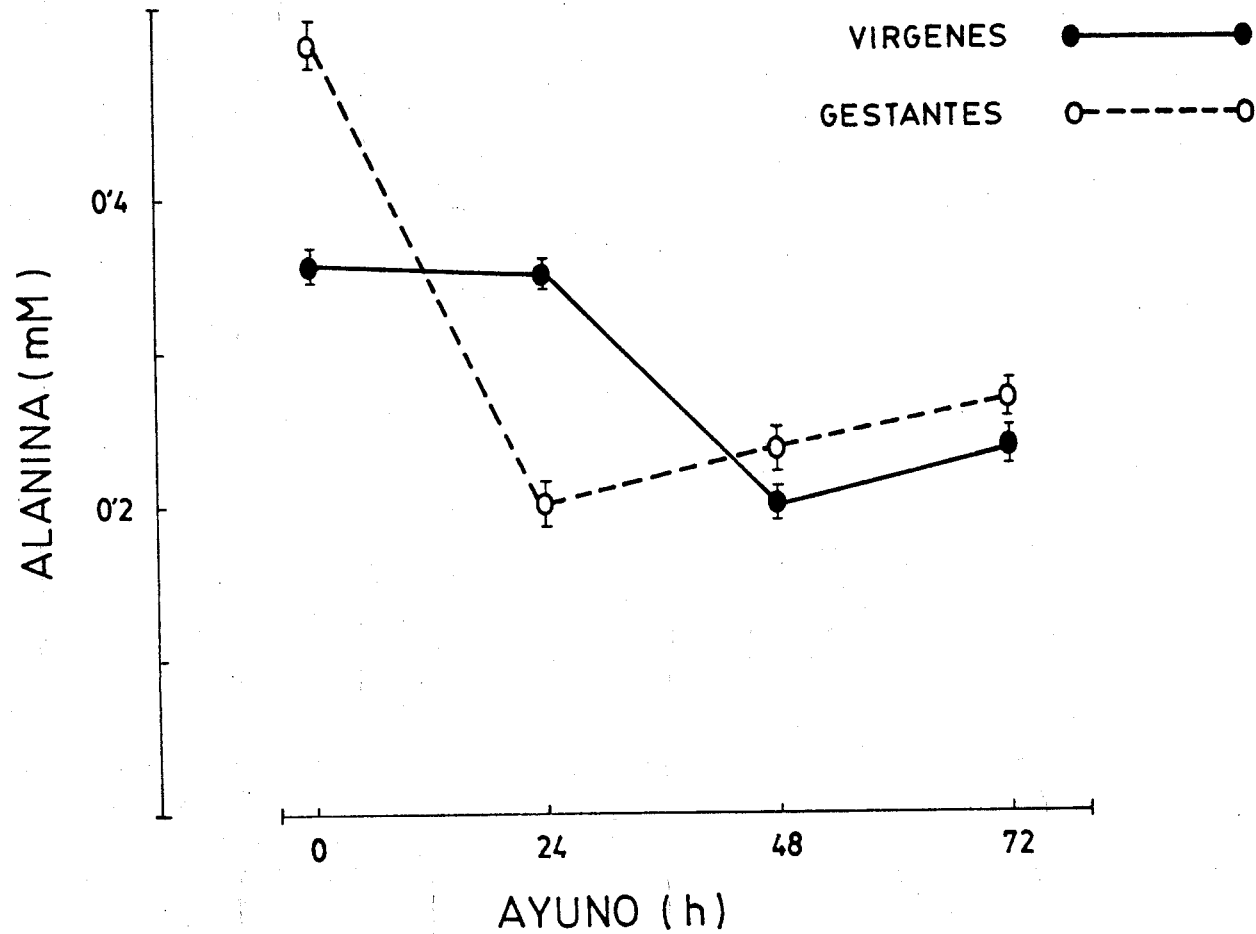


Figura 19. Niveles circulantes de alanina en los animales vírgenes y gestantes. Modificaciones durante el ayuno.

### 3. Diferencias del metabolismo muscular entre vírgenes y gestantes.

Se estudió el metabolismo del músculo en animales vírgenes y gestantes al objeto de comparar las diferencias en la captación y liberación de substratos en los animales alimentados y en diversos periodos de ayuno.

En los animales alimentados, el músculo de los gestantes consumió menos glucosa que en vírgenes ( $\Delta +1,4 \pm 0,02$  y  $\Delta +1,9 \pm 0,22$  mM, respectivamente). A las 48 horas de ayuno las diferencias fueron superiores. El músculo de las gestantes disminuyó un 43% la captación de glucosa frente a un 21% de descenso en las vírgenes ( $\Delta +1,5 \pm 0,12$  y  $\Delta +0,80 \pm 0,09$  mM, en vírgenes y gestantes respectivamente;  $p < 0,0005$ ) (tabla 10 y figura 20).

Tanto en vírgenes como en gestantes alimentadas el músculo consumió lactato; no obstante, este consumo fue mayor en gestantes ( $p < 0,0005$ ). Durante el ayuno, en todos los casos hubo un cambio cualitativo consistente en que el sistema cambió hacia una liberación de lactato ( $\Delta (-)$  en tabla 11). La cuantía de esta liberación fue sin embargo semejante en ambos grupos (vírgenes y gestantes) durante todo el periodo de ayuno estudiado (tabla 11 y figura 20).

En relación con las diferencias arterio-venosas de piruvato no se observó ni captación ni liberación en los animales alimentados, tanto vírgenes como gestantes. Du-

rante el ayuno hubo una pequeña liberación por el músculo de vírgenes y gestantes de valores similares en ambos grupos (tabla 12 y figura 21).

La alanina se consumió por el músculo de los animales gestantes y vírgenes alimentados ( $\Delta = +0,10 \pm 0,04$  y  $\Delta = +0,09 \pm 0,04$  mM, respectivamente). Durante el ayuno se observó una fuerte liberación (cambio cualitativo de la diferencia arterio-venosa; cuantitativamente  $p < 0,0005$ ) de alanina tanto en vírgenes como en gestantes). A las 72 horas de ayuno, la producción de alanina por el músculo fue idéntica en ambos grupos ( $\Delta = -0,08 \pm 0,02$  mM) (tabla 13 y figura 21)

Los cuerpos cetónicos totales (acetoacetato y beta-hidroxi-butirato) se consumieron en muy pequeña cantidad por el músculo de animales alimentados. Este consumo si bien aumentó significativamente con el ayuno en gestantes ( $p < 0,005$ ), no se modificó claramente en los animales vírgenes (tabla 14 y figura 22).

Los valores correspondientes a las concentraciones de aminoácidos en sangre arterial y en la vena ilíaca determinados por cromatografía de intercambio iónico se muestran en la tabla 15. Los valores cuantitativos para la alanina fueron similares a los encontrados con el método fluorimétrico anteriormente citados.

En general, en animales gestantes alimentados la captación o liberación de aminoácidos por el músculo fue cuantitativamente poco importante, excepto para la

alanina. El hecho más sobresaliente fue que durante los periodos de ayuno estudiados (24 y 72 horas), se produjo una liberación de aminoácidos por parte del músculo de los animales gestantes.

	VIRGENES		GESTANTES	
	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>
<u>Alimentadas</u>	7,4 $\pm$ 0,21	+1,9 $\pm$ 0,22 (9)	5,7 $\pm$ 0,17	+1,4 $\pm$ 0,02** (11)
<u>Ayuno 24h</u>	6,5 $\pm$ 0,25	+1,5 $\pm$ 0,32 (7)	4,4 $\pm$ 0,25	+1,1 $\pm$ 0,19 (11)
" <u>48h</u>	5,8 $\pm$ 0,33	+1,5 $\pm$ 0,12 (12)	4,2 $\pm$ 0,15	*+0,8 $\pm$ 0,09** (13)
" <u>72h</u>	6,5 $\pm$ 0,22	+1,4 $\pm$ 0,41 (6)	4,2 $\pm$ 0,19	*+0,8 $\pm$ 0,16 (9)

Tabla 10. Captación de glucosa por el músculo de los animales vírgenes y gestantes. Modificaciones con el ayuno. Los resultados se expresan en milimol/l (mM) y por la media $\pm$ error estándar.  $\Delta$  (+)= captación del sustrato;  $\Delta$  (-)= liberación del sustrato. \* Significativamente diferentes en relación con su correspondiente valor control (alimentadas). \*\* Significativamente diferente en relación con su correspondiente valor en vírgenes. Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso.

	VIRGENES		GESTANTES	
	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>
<u>Alimentadas</u>	1,9 $\pm$ 0,22	+0,23 $\pm$ 0,09 (9)	3,0 $\pm$ 0,28	+0,77 $\pm$ 0,16** (11)
<u>Ayuno 24h</u>	0,93 $\pm$ 0,15	*-0,4 $\pm$ 0,06 (7)	1,5 $\pm$ 0,14	*-0,48 $\pm$ 0,11 (11)
" <u>48h</u>	1,7 $\pm$ 0,13	*-0,67 $\pm$ 0,21 (6)	1,4 $\pm$ 0,14	*-0,70 $\pm$ 0,19 (8)
" <u>72h</u>	1,5 $\pm$ 0,26	*-0,68 $\pm$ 0,30 (6)	1,1 $\pm$ 0,08	*-0,34 $\pm$ 0,11 (9)

-----

Tabla 11. Captación y liberación de lactato por el músculo de animales vírgenes y gestantes. Modificaciones con el ayuno. Los resultados se expresan en milimol/l (mM) y por la media  $\pm$  error estandar.  $\Delta$  (+) = captación del substrato;  $\Delta$  (-) = liberación del substrato. \*Significativamente diferente en relación con su correspondiente valor control. \*\*Significativamente diferente en relación con su correspondiente valor en vírgenes. Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso.

	VIRGENES		GESTANTES	
	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>
<u>Alimentadas</u>	0,11 $\pm$ 0,008	0,0 $\pm$ 0,0 (11)	0,16 $\pm$ 0,01	0,0 $\pm$ 0,0 (11)
<u>Ayuno 24h</u>	0,1 $\pm$ 0,02	*-0,08 $\pm$ 0,003 (7)	0,1 $\pm$ 0,02	*-0,09 $\pm$ 0,01 (11)
" <u>48h</u>	0,13 $\pm$ 0,02	*-0,07 $\pm$ 0,002 (6)	0,11 $\pm$ 0,01	*-0,06 $\pm$ 0,01 (8)
" <u>72h</u>	0,15 $\pm$ 0,03	*-0,06 $\pm$ 0,001 (6)	0,06 $\pm$ 0,005	*-0,03 $\pm$ 0,008 (9)

-----  
 Tabla 12. Liberación de piruvato por el músculo de animales vírgenes y gestantes. Modificaciones durante el ayuno. Los resultados se expresan en milimol/l y por la media $\pm$ error estandar.  $\Delta$ (+)= captación del sustrato;  $\Delta$ (-) liberación del sustrato. Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso. \*Significativamente diferente en relación con su correspondiente valor control (alimentadas).  
 -----

	VIRGENES			GESTANTES		
	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>		<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>	
<u>Alimentadas</u>	0,37 $\pm$ 0,03	+0,09 $\pm$ 0,04	(9)	0,52 $\pm$ 0,05	+0,10 $\pm$ 0,04	(11)
Ayuno <u>24h</u>	0,35 $\pm$ 0,02	*-0,12 $\pm$ 0,02	(7)	0,20 $\pm$ 0,01	*-0,13 $\pm$ 0,03	(11)
" <u>48h</u>	0,19 $\pm$ 0,02	*-0,11 $\pm$ 0,02	(6)	0,24 $\pm$ 0,02	*-0,07 $\pm$ 0,01	(11)
" <u>72h</u>	0,24 $\pm$ 0,03	*-0,08 $\pm$ 0,02	(6)	0,29 $\pm$ 0,02	*-0,08 $\pm$ 0,02	(9)

-----

Tabla 13. Captación y liberación de alanina por el músculo de ratas vírgenes y gestantes. Modificaciones durante el ayuno. Los resultados se expresan en milimol/l (mM) y por la media  $\pm$  error estandar.  $\Delta$  (+)=captación del sustrato.  $\Delta$  (-)= liberación del sustrato. Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso. \*Significativamente diferente en relación con su correspondiente valor control (alimentadas).



	VIRGENES		GESTANTES	
	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>	<u>Concentración arterial (mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca (<math>\Delta</math>) (mM)</u>
<u>Alimentadas</u>	0,05 $\pm$ 0,009	+0,04 $\pm$ 0,01 (6)	0,12 $\pm$ 0,02	+0,03 $\pm$ 0,007 (11)
<u>Ayuno 24h</u>	1,0 $\pm$ 0,21	+0,06 $\pm$ 0,01 (7)	2,7 $\pm$ 0,22	*+0,33 $\pm$ 0,12** (11)
" <u>48h</u>	1,0 $\pm$ 0,17	+0,07 $\pm$ 0,04 (6)	4,2 $\pm$ 0,32	*+0,2 $\pm$ 0,10 (8)
" <u>72h</u>	0,74 $\pm$ 0,11	+0,07 $\pm$ 0,06 (6)	4,2 $\pm$ 0,34	*+0,14 $\pm$ 0,04 (9)

-----

Tabla 14, Captación y liberación de cuerpos cetónicos (suma de los valores de beta-hidroxibutirato y acetoacetato) por el músculo de animales vírgenes y gestantes. Modificaciones durante el ayuno. Los resultados se expresan en milimol/l (mM) y por la media $\pm$ error estandar.  $\Delta$  (+) captación del substrato;  $\Delta$  (-) liberación del substrato. \*Significativamente diferente en relación con su correspondiente valor control (alimentadas). \*\*Significativamente diferente en relación con su correspondiente valor en vírgenes. Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso.

	ALIMENTADAS		AYUNO 24h		AYUNO 72h	
	Arteria (mM)	A-V (ilíaca) (Δ) (mM)	Arteria (mM)	A-V (iliaca) (Δ) (mM)	Arteria (mM)	A-V (ilíaca) (Δ) (mM)
<u>Alanina</u>	0,45	+0,12	0,19	-0,10	0,25	-0,10
<u>Glutamina</u>	0,65	-0,01	0,54	-0,06	0,37	-0,11
<u>Glutamato</u>	0,18	0,00	0,18	-0,02	0,26	-0,01
<u>Glicina</u>	0,15	0,00	0,12	-0,02	0,25	-0,04
<u>Serina</u>	0,26	+0,02	0,12	-0,03	0,18	-0,02
<u>Treonina</u>	0,19	-0,01	0,15	-0,02	0,22	-0,01
<u>Valina</u>	0,09	0,00	0,09	-0,02	0,16	-0,01
<u>Isoleucina</u>	0,05	+0,02	0,06	0,00	0,12	0,00
<u>Leucina</u>	0,08	+0,02	0,07	-0,01	0,14	-0,02
<u>Tirosina</u>	0,04	0,00	0,05	-0,01	0,06	-0,02
<u>Fenilalanina</u>	0,05	+0,01	0,05	-0,01	0,08	0,00
<u>Lisina</u>	0,59	0,00	0,43	0,00	0,58	-0,05
<u>Histidina</u>	0,04	+0,01	0,03	0,00	0,06	0,00
<u>Arginina</u>	0,15	0,00	0,11	-0,01	0,14	+0,01

-----  
 Tabla 15. Captación ( $\Delta+$ ) y liberación ( $\Delta-$ ) de diferentes aminoácidos por el músculo de animales gestantes a término. Los resultados se expresan en milimol/l y por la media aritmética obtenida de realizar cuatro análisis distintos a una mezcla de sangre procedentes de 6 animales distintos en las mismas situaciones experimentales. En todos los casos el error estandar de la media fue inferior al 10% del valor de ésta. A-V= Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena ilíaca. Obsérvese la liberación de aminoácidos por el músculo durante el ayuno.

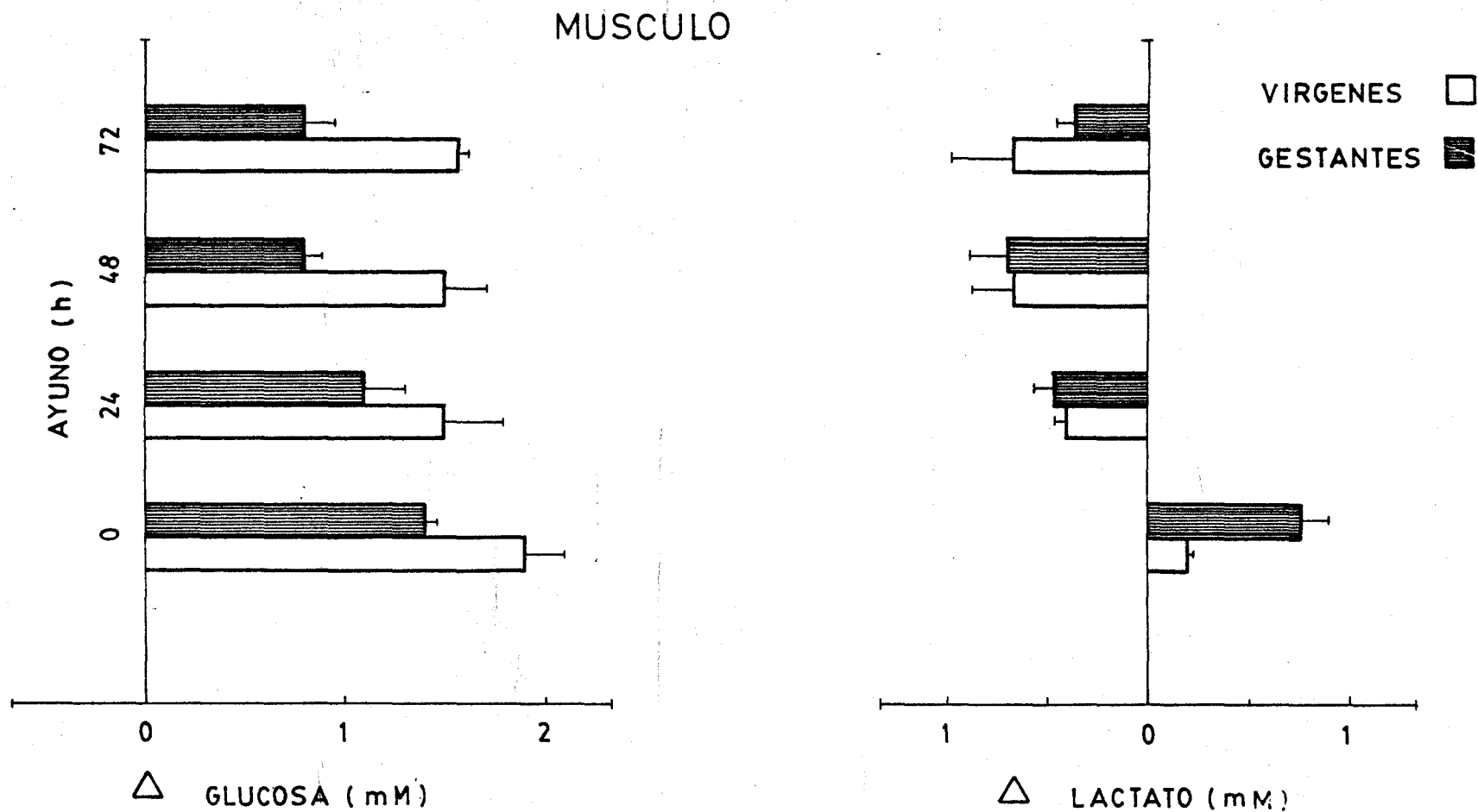


Figura 20. Captación de glucosa por el músculo de animales vírgenes y gestantes alimentados y a diferentes periodos de ayuno. Captación de lactato por el músculo de los animales vírgenes y alimentados y liberación durante el ayuno.  $\Delta$ = diferencia de concentración entre aorta y vena ilíaca.

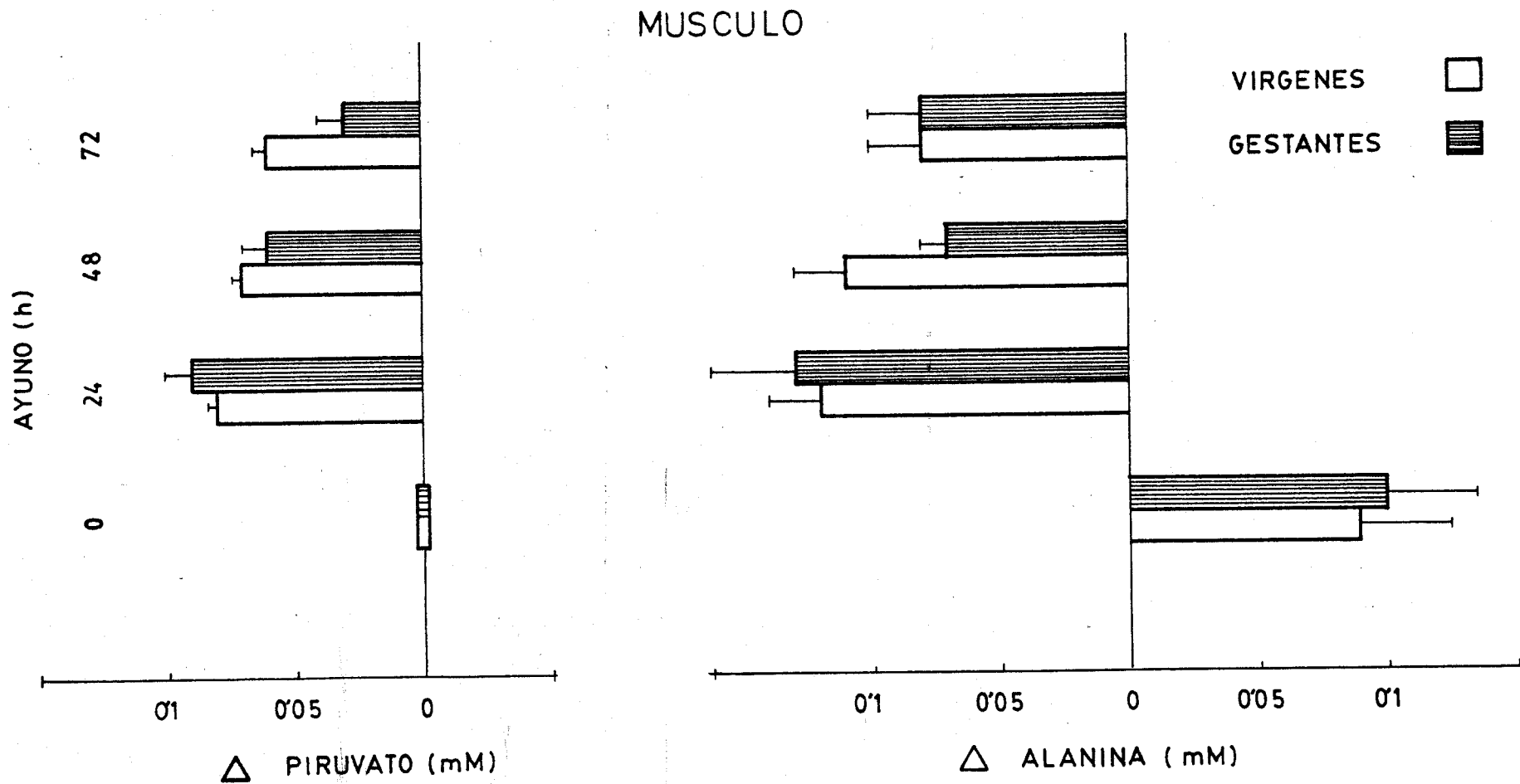


Figura 21. Liberación de piruvato por el músculo de los animales vírgenes y gestantes alimentados y a diferentes periodos de ayuno. Captación de alanina por el músculo de los animales vírgenes y gestantes alimentados y liberación durante el ayuno.  $\Delta$  = diferencia de concentración entre aorta y vena ilíaca.

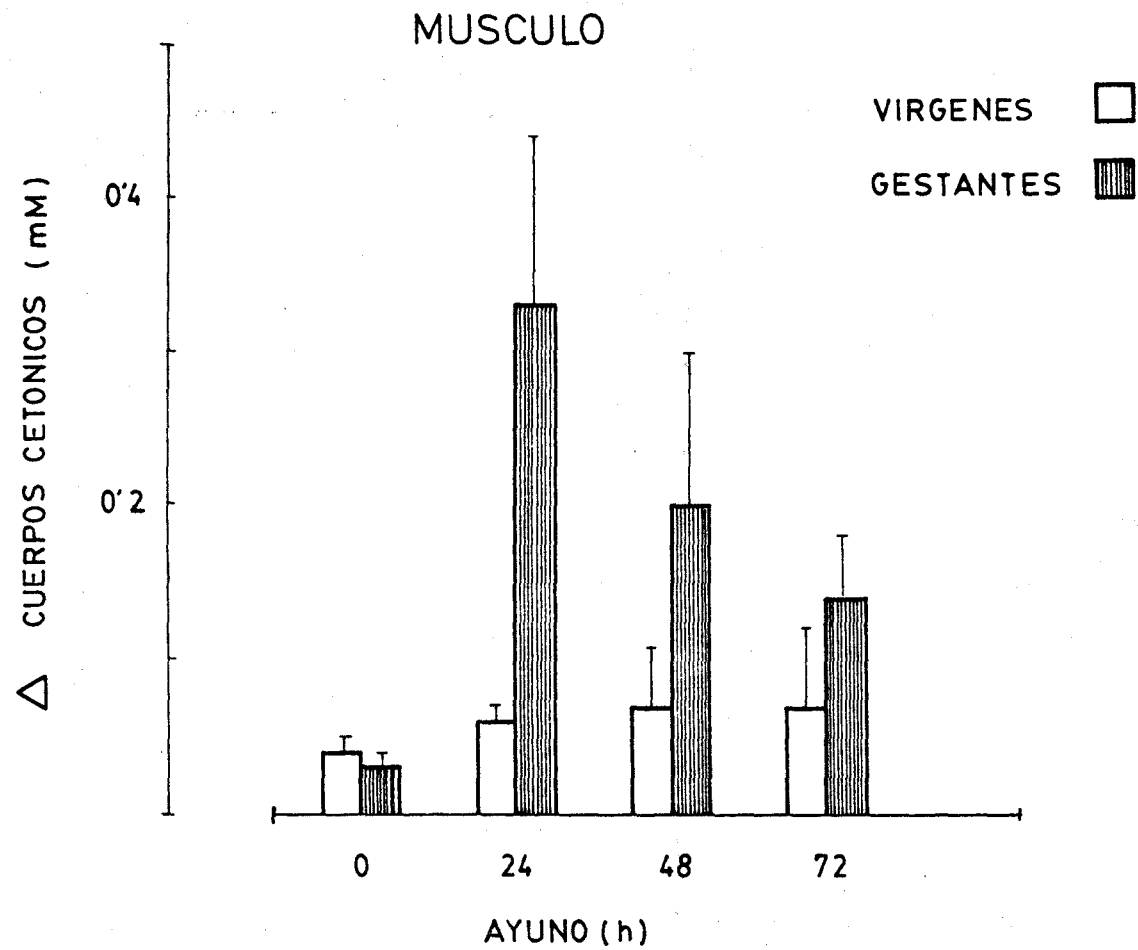


Figura 22. Captación de cuerpos cetónicos por el músculo de animales vírgenes y gestantes alimentados y a diferentes periodos de ayuno.  $\Delta$  = diferencia de concentración entre aorta y vena ilíaca.

4. Estudio del recambio ("turnover") de glucosa y de su reciclaje en animales gestantes y vírgenes.

Para determinar si la gestación conlleva una modificación del metabolismo de los glúcidos, se realizó un estudio dinámico con glucosa marcada en animales gestantes y vírgenes para conocer la cantidad de glucosa utilizada o producida por la rata según fuese gestante o virgen.

La inyección, seguida de perfusión continua, de glucosa marcada permitió obtener una radiactividad específica constante durante los 80 minutos que duraron los experimentos y cuantificar la cantidad de glucosa utilizada por cada animal por unidad de tiempo y de peso corporal. Gracias a la utilización de dos marcadores distintos (uno reversible, glucosa- $U C^{14}$ , y otro irreversible, glucosa- $6 H^3$ ) se pudo calcular además el reciclaje (véanse "Material y métodos" y "Discusión").

Si la glucemia permanece constante se puede decir que la cantidad de glucosa utilizada es igual a la producida. Mediante esta técnica se determinó la utilización de glucosa por el conjunto madre-fetos. Para la homogenización de los resultados se utilizaron se utilizaron animales con un número de fetos uniforme ( $12 \pm 1$ ).

En nuestras experiencias, tanto en vírgenes como en gestantes, la glucemia permaneció constante durante los 80 minutos que duraron los experimentos. En las ta-

blas 16 y 17 se representan los valores del recambio con los dos marcadores utilizados y el reciclaje en vírgenes y gestantes.

Con glucosa-6 C<sup>14</sup>, el recambio en los animales gestantes fue significativamente superior ( $p < 0,0005$ ) a los valores encontrados en vírgenes ( $61,0 \pm 3,7 \mu\text{mol}/\text{min} \times \text{kg}$  de peso corporal, en gestantes y  $39,4 \pm 2,3 \mu\text{mol}/\text{min} \times \text{kg}$  de peso corporal en vírgenes).

Paralelamente a lo señalado anteriormente, los valores obtenidos para el recambio con glucosa-U C<sup>14</sup> en animales gestantes fueron superiores a los obtenidos en vírgenes ( $p < 0,0005$ ). ( $44,4 \pm 2,5 \mu\text{mol}/\text{min} \times \text{kg}$  de peso en gestantes y  $25,1 \pm 1,4 \mu\text{mol}/\text{min} \times \text{kg}$  de peso en vírgenes). Para una misma situación experimental (vírgenes o gestantes), el recambio con glucosa-6 H<sup>3</sup> fue siempre superior al obtenido con glucosa-U C<sup>14</sup>, debido a la reutilización de los metabolitos del metabolismo de los glúcidos (lactato, piruvato, etc).

Estudiando el reciclaje para ambos grupos de animales, los valores obtenidos en gestantes no fueron significativamente diferentes a los observados en vírgenes ( $25,7 \pm 3,3 \%$  y  $35,5 \pm 3,3 \%$  en vírgenes y gestantes respectivamente).

<u>RECAMBIO ("TURNOVER")</u>		<u>RECICLAJE (%)</u>
<u>Ro (H<sup>3</sup>)</u>	<u>Ro (C<sup>14</sup>)</u>	$\frac{\text{Ro (H}^3\text{)} - \text{Ro (C}^{14}\text{)}}{\text{Ro (H}^3\text{)}} \times 100 = \text{Rc}$
31,32	22,61	27,80
33,27	24,15	27,40
51,08	33,47	34,50
40,27	23,15	42,51
42,72	22,64	47,00
42,55	22,38	47,34
39,89	26,93	32,49
34,10	25,34	25,69
<u>39,4±2,3</u> n=8	<u>25,1±1,4</u> n=8	<u>25,7±3,3</u> n=8

-----

Tabla 16. Valores obtenidos en el estudio del recambio ("turnover") (Ro) de glucosa con diferentes marcadores (H<sup>3</sup> y C<sup>14</sup>) en animales vírgenes. Cada valor representa la media de los valores obtenidos cada 10 minutos durante los 80 minutos que duró el experimento para cada animal (los errores estandar fueron siempre menores al 10% de la media). Los resultados finales obtenidos de 8 animales se expresan por la media ± error estandar y se expresan en  $\mu\text{moles/segundo} \times \text{kg}$  de peso. A partir de los valores del recambio se calculó el reciclaje (Rc) que se expresa en porcentaje de la diferencia Ro (H<sup>3</sup>) - Ro (C<sup>14</sup>) en relación con Ro (H<sup>3</sup>).



<u>RECAMBIO ("TURNOVER")</u>		<u>RECICLAJE (%)</u>
<u>Ro (H<sup>3</sup>)</u>	<u>Ro (C<sup>14</sup>)</u>	$\frac{\text{Ro (H}^3) - \text{Ro (C}^{14})}{\text{Ro (H}^3)} \times 100 = \text{Rc}$
56,14	46,49	17,19
73,14	53,73	26,54
68,71	44,40	35,38
46,19	42,96	7,00
69,39	58,04	16,36
67,02	58,03	13,41
85,94	35,60	58,58
55,27	43,49	21,31
44,79	35,14	21,55
48,24	32,87	31,86
55,88	41,47	24,89
61,39	40,38	34,22
<u>61,0±3,7</u> n=12	<u>44,4±2,5</u> n=12	<u>35,5±3,3</u> n=12

-----  
 Tabla 17. Valores obtenidos del estudio del recambio ("turnover") de glucosa en animales gestantes a término. Los resultados se expresan en  $\mu\text{moles}/\text{minuto} \times \text{kg}$  de peso. Símbolos y cálculos como en tabla 16. Obsérvese el aumento del recambio de la glucosa en gestantes y la no variación del reciclaje.

5. Captación de substratos por el conceptus (unidad feto-placentaria). Modificaciones en el ayuno.

Los resultados obtenidos estudiando las diferencias arterio-venosas de diferentes substratos entre aorta y vena uterina en animales gestantes a término alimentados y ayunados, nos permitió observar el consumo o la liberación de dichos substratos en condiciones normales (animales alimentados) y conocer las adaptaciones que sufren los tejidos resultantes de la gestación (feto y placenta) en una situación límite para la madre a la que se le priva de toda fuente de alimento.

En lo que respecta a la glucosa, el consumo por la unidad feto-placentaria fue siempre muy elevado tanto en los animales alimentados como ayunados. A las 24 horas de ayuno se observó un ligero descenso en la captación de glucosa ( $\Delta = +2,6 \pm 0,16$  y  $\Delta = +2,0 \pm 0,16$  mM, en controles y a las 24 horas de ayuno respectivamente). Este descenso permaneció constante durante todo el periodo de ayuno estudiado ( $\Delta = +1,8 \pm 0,19$  mM, a las 120 horas de ayuno materno) (tabla 18 y figura 23).

La producción de lactato por la unidad feto-placentaria en animales alimentados fue una característica constante de todos los animales estudiados (n=11). Esta liberación de lactato aumento drásticamente (más de 5 veces) a partir de las 24 horas de ayuno ( $\Delta = -0,33 \pm 0,10$  y  $\Delta = -2,0 \pm 0,7$  mM en animales alimentados y a las 24 horas de ayuno respectivamente;  $p < 0,0005$ ) (tabla 19 y figura 23).

Las concentraciones de piruvato encontradas en ratas alimentadas fueron semejantes en la aorta y vena uterina. El ayuno provocó una ligera liberación de piruvato por la unidad feto-placentaria ( $\Delta = -0,09 \pm 0,01$  mM a las 24 horas de ayuno) (tabla 20 y figura 24).

La alanina se captó por el conceptus en los animales alimentados y se liberó durante todo el periodo de ayuno estudiado ( $\Delta = +0,04 \pm 0,002$  y  $\Delta = -0,04 \pm 0,001$  mM en animales alimentados y tras 72 horas de ayuno respectivamente; además del cambio cualitativo, estas diferencias fueron siempre cuantitativamente diferentes con una significancia de  $p < 0,005$ ) (tabla 21 y figura 24).

Los cuerpos cetónicos totales, acetoacetato y beta-hidroxibutirato, se captaron en muy pequeña cantidad ( $\Delta = +0,01 \pm 0,001$  mM) en los animales alimentados correspondiendo con los niveles bajos en la aorta. A las 24 horas de ayuno la captación aumentó significativamente ( $\Delta = 0,40 \pm 0,06$ ;  $p < 0,0005$ ). A las 72 horas de ayuno si bien el consumo de cuerpos cetónicos descendió, este siguió siendo más de 10 veces superior al de los controles (tabla 22 y figura 25).

Los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres en sangre arterial materna aumentaron a partir de las 24 horas de ayuno y correspondientemente aumentó el consumo por la unidad feto-placentaria ( $\Delta = +0,18 \pm 0,09$  y  $\Delta = +0,66 \pm 0,10$  mM en animales alimentados y ayunados respectivamente;  $p < 0,005$ ). Es importante destacar que

en nueve animales en los que las diferencias arterio-venosa de ácidos grasos libres entre aorta y vena uterina se midieron a las 72 horas de ayuno, siempre el conceptus liberó ácidos grasos libres, contrastando con su comportamiento a las 24 y 48 horas de ayuno (tabla 23 y figura 25).

Los resultados correspondientes a la captación o liberación de aminoácidos por el conceptus se muestran en la tabla 24. A las 24 horas de ayuno disminuyó la utilización de aminoácidos, con una pequeña liberación de alanina, y a las 72 horas aumentó la liberación de alanina, apareciendo una ligera producción de glutamina y lisina.

GESTANTES

	<u>Concentración arterial</u> <u>(mM)</u>	<u>Diferencia arterio-venosa</u> <u>entre aorta y vena uterina</u> <u>(Δ) (mM)</u>
<u>Alimentadas</u>	5,7 <sup>±</sup> 0,17	+2,6 <sup>±</sup> 0,16 (11)
<u>Ayuno 24h</u>	4,4 <sup>±</sup> 0,25	*+2,0 <sup>±</sup> 0,16 (11)
" <u>48h</u>	4,2 <sup>±</sup> 0,15	*+1,9 <sup>±</sup> 0,18 (13)
" <u>72h</u>	4,2 <sup>±</sup> 0,19	*+2,0 <sup>±</sup> 0,23 (9)
" <u>96h</u>	4,0 <sup>±</sup> 0,19	*+2,0 <sup>±</sup> 0,24 (10)
" <u>120h</u>	2,8 <sup>±</sup> 0,24	*+1,8 <sup>±</sup> 0,19 (6)

-----

Tabla 18. Consumo de glucosa por el conceptus (unidad feto-placentaria) en animales alimentados y a diferentes periodos de ayuno total. Los resultados se expresan en milimoles/l (mM) y por la media<sup>±</sup>error estandar. Δ (+) captación del sustrato. \*Significativamente diferente en relación con los valores controles (alimentadas). Entre paréntesis se indican el número de animales en cada caso.

GESTANTES

	<u>Concentración arterial</u> (mM)	<u>Diferencia arterio-venosa</u> <u>entre aorta y vena uterina</u> (Δ) (mM)
<u>Alimentadas</u>	3,0 <sup>±</sup> 0,28	-0,33 <sup>±</sup> 0,10 (11)
<u>Ayuno 24h</u>	1,5 <sup>±</sup> 0,14	*-2,0 <sup>±</sup> 0,17 (11)
" <u>48h</u>	1,4 <sup>±</sup> 0,14	*-2,2 <sup>±</sup> 0,26 (8)
" <u>72h</u>	1,1 <sup>±</sup> 0,08	*-1,6 <sup>±</sup> 0,22 (9)
" <u>96h</u>	1,5 <sup>±</sup> 0,26	*-1,4 <sup>±</sup> 0,09 (10)
" <u>120h</u>	1,7 <sup>±</sup> 0,18	*-2,1 <sup>±</sup> 0,3 (6)

-----

Tabla 19. Liberación de lactato por el conceptus (unidad feto-placentaria) en animales gestantes a término alimentados y a diferentes periodos de ayuno total. Los resultados se expresan en milimol/l y por la media<sup>±</sup>error estandar. Δ (+) liberación del substrato. \* Significativamente diferente en relación con los valores controles (alimentadas). Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso.

GESTANTES

	<u>Concentración arterial</u> (mM)	<u>Diferencia arterio-venosa</u> <u>entre aorta y vena uterina</u> (Δ) (mM)	
<u>Alimentadas</u>	0,16±0,01	0,00	(11)
<u>Ayuno 24h</u>	0,10±0,02	*-0,09±0,01	(11)
" <u>48h</u>	0,11±0,01	*-0,06±0,002	(14)
" <u>72h</u>	0,06±0,005	*-0,05±0,005	(9)
" <u>96h</u>	0,06±0,005	*-0,07±0,01	(10)
" <u>120h</u>	0,18±0,03	*-0,08±0,02	(6)

-----

Tabla 20. Liberación de piruvato por el conceptus (unidad feto-placentaria en animales gestantes a término alimentados y a diferentes periodos de ayuno total. Los resultados se expresan en milimol/l y por la media±error estandar. Δ (-) liberación del sustrato. \* Significativamente diferente en relación con los valores controles (alimentadas). Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso.

<u>GESTANTES</u>		
<u>Concentración arterial</u> (mM)	<u>Concentración arterial</u> (mM)	<u>Diferencia arterio-venosa</u> <u>entre aorta y vena uterina</u> (Δ) (mM)
<u>Alimentadas</u>	0,52±0,05	+0,04±0,01 (11)
<u>Ayuno 24h</u>	0,20±0,01	*-0,01±0,005 (11)
" <u>48h</u>	0,24±0,02	*-0,07±0,01 (14)
" <u>72h</u>	0,28±0,02	*-0,04±0,001 (9)

-----

Tabla 21. Captación de alanina por el conceptus y liberación durante el ayuno en animales gestantes a término. Símbolos como en tablas anteriores. La alanina se determinó por el método fluorimétrico (comparse con valores de la tabla 15).

<u>GESTANTES</u>		
<u>Concentración arterial</u> (mM)	<u>Concentración arterial</u> (mM)	<u>Diferencia arterio-venosa</u> <u>entre aorta y vena uterina</u> (Δ) (mM)
<u>Alimentadas</u>	0,12±0,2	+0,01±0,001 (11)
<u>Ayuno 24h</u>	2,7±0,22	*+0,40±0,06 (11)
" <u>48h</u>	4,2±0,32	*+0,63±0,30 (8)
" <u>72h</u>	4,2±0,34	*+0,13±0,02 (9)

-----

Tabla 22. Captación de cuerpos cetónicos por el conceptus en animales gestantes a término alimentados y a diferentes periodos de ayuno total. Símbolos como en tablas anteriores.



GESTANTES

	<u>Concentración arterial</u> (mM)	<u>Diferencia arterio-venosa</u> <u>entre aorta y vena uterina</u> (Δ) (mM)	
<u>Alimentadas</u>	0,54±0,09	+0,18±0,09	(11)
<u>Ayuno 24h</u>	1,40±0,1	*+0,66±0,10	(11)
" <u>48h</u>	1,60±0,5	*+0,62±0,20	(8)
" <u>72h</u>	0,90±0,16	*-0,16±0,10	(9)

-----

Tabla 23. Captación de ácidos grasos libres por el conceptus (unidad feto-placentaria) en animales gestantes a término alimentados y a diferentes periodos de ayuno total. Los resultados se expresan en milimol/l y por la media<sup>±</sup>error estandar. Δ (+) captación del sustrato. \*Significativamente diferente en relación con los valores controles (alimentadas). Entra paréntesis se indica el número de animales en cada caso. Obsérvese que a las 72 horas de ayuno el conceptus libera ácidos grasos libres en vez de captarlos.

	ALIMENTADAS		AYUNO 24h		AYUNO 72h	
	Arteria (mM)	A-V (uterina) (Δ) (mM)	Arteria (mM)	A-V (uterina) (Δ) (mM)	Arteria (mM)	A-V (uterina) (Δ) (mM)
<u>Alanina</u>	0,45	+0,09	0,19	-0,01	0,25	-0,05
<u>Glutamina</u>	0,65	+0,09	0,54	+0,08	0,37	-0,02
<u>Glutamato</u>	0,18	-0,01	0,18	-0,01	0,26	-0,02
<u>Glicina</u>	0,15	0,00	0,12	0,00	0,25	-0,01
<u>Serina</u>	0,26	+0,05	0,12	0,00	0,18	0,00
<u>Treonina</u>	0,19	+0,02	0,15	0,00	0,22	0,00
<u>Valina</u>	0,09	+0,02	0,09	+0,01	0,16	+0,02
<u>Isoleucina</u>	0,05	+0,02	0,06	+0,02	0,12	+0,03
<u>Leucina</u>	0,08	+0,03	0,07	+0,02	0,14	+0,01
<u>Tirosina</u>	0,04	+0,01	0,05	0,00	0,06	0,00
<u>Fenilalanina</u>	0,05	+0,02	0,05	0,00	0,08	0,00
<u>Lisina</u>	0,59	+0,05	0,43	+0,01	0,58	-0,02
<u>Histidina</u>	0,04	+0,01	0,03	0,00	0,06	0,00
<u>Arginina</u>	0,15	0,00	0,11	0,00	0,14	0,00

Tabla 24. Captación (Δ+) y liberación (Δ-) de diferentes aminoácidos por el conceptus de animales gestantes a término sometidos a ayuno. Los resultados se expresan en milimol/litro y por la media aritmética obtenida de realizar cuatro análisis de una mezcla de sangre procedente de 6 animales distintos. En todos los casos el error estandar fue inferior al 10% de la media. A-V= Diferencia arterio-venosa entre aorta y vena uterina.

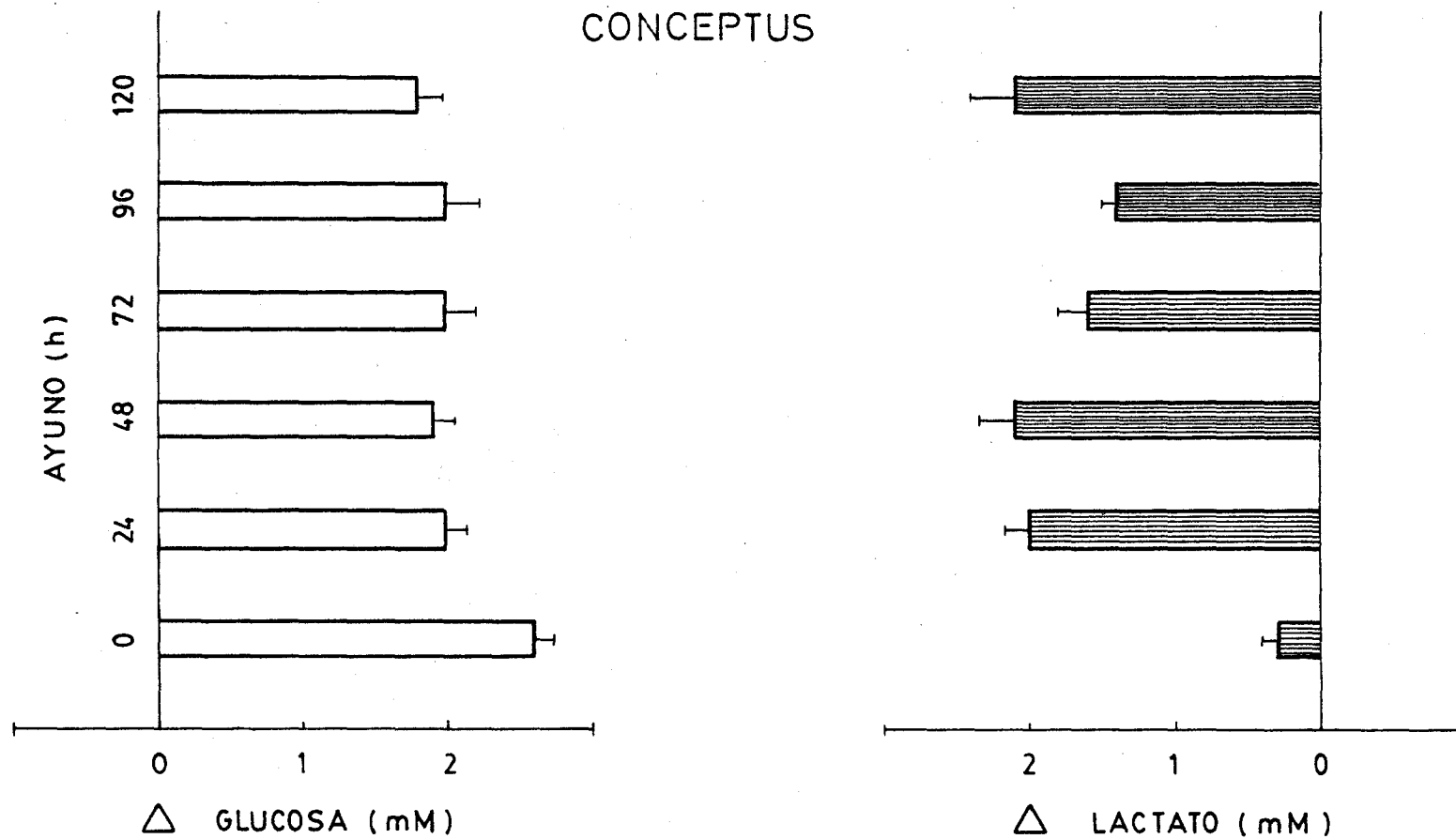
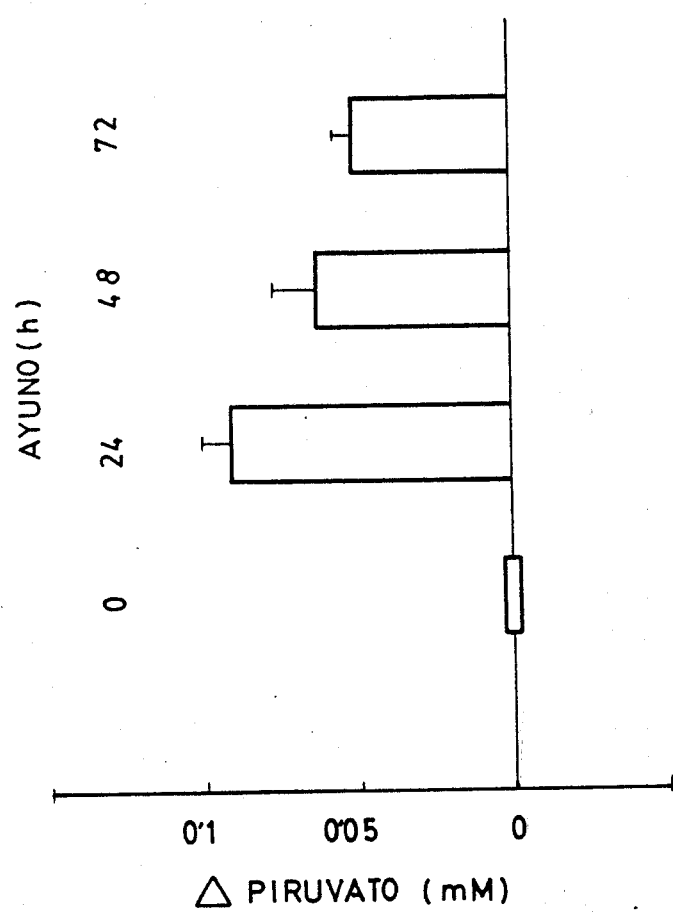


Figura 23. Captación de glucosa por el conceptus (unidad feto-placentaria) en animales alimentados y a diferentes periodos de ayuno. Liberación de lactato por el conceptus en animales alimentados y a diferentes periodos de ayuno.  $\Delta$  = diferencia de concentración entre aorta y vena uterina.



CONCEPTUS

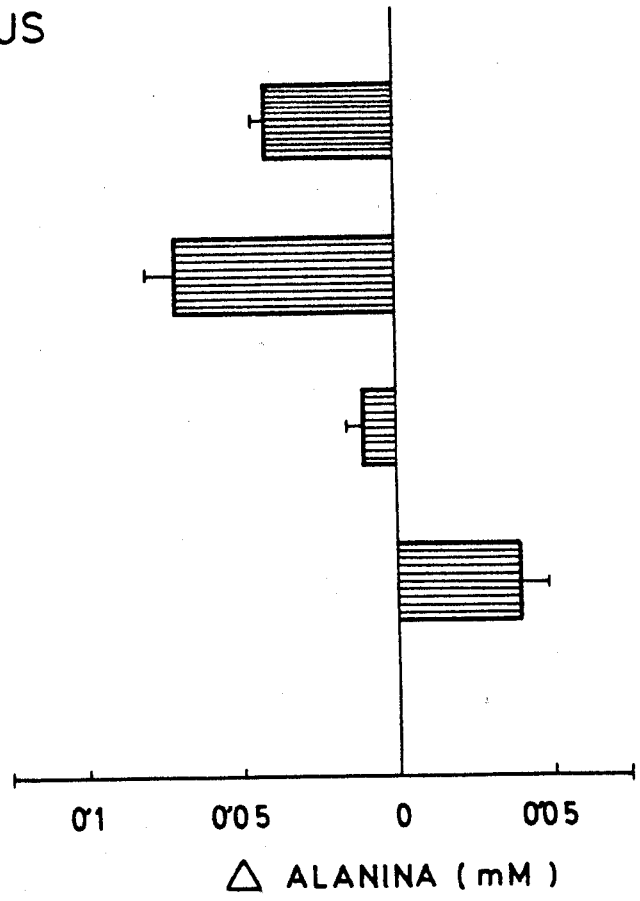


Figura 24. Liberación de piruvato por el conceptus en los animales durante el ayuno. Captación de alanina por el conceptus en los animales alimentados y liberación durante diferentes periodos de ayuno.  $\Delta$  = diferencia de concentración entre aorta y vena uterina.

# CONCEPTUS

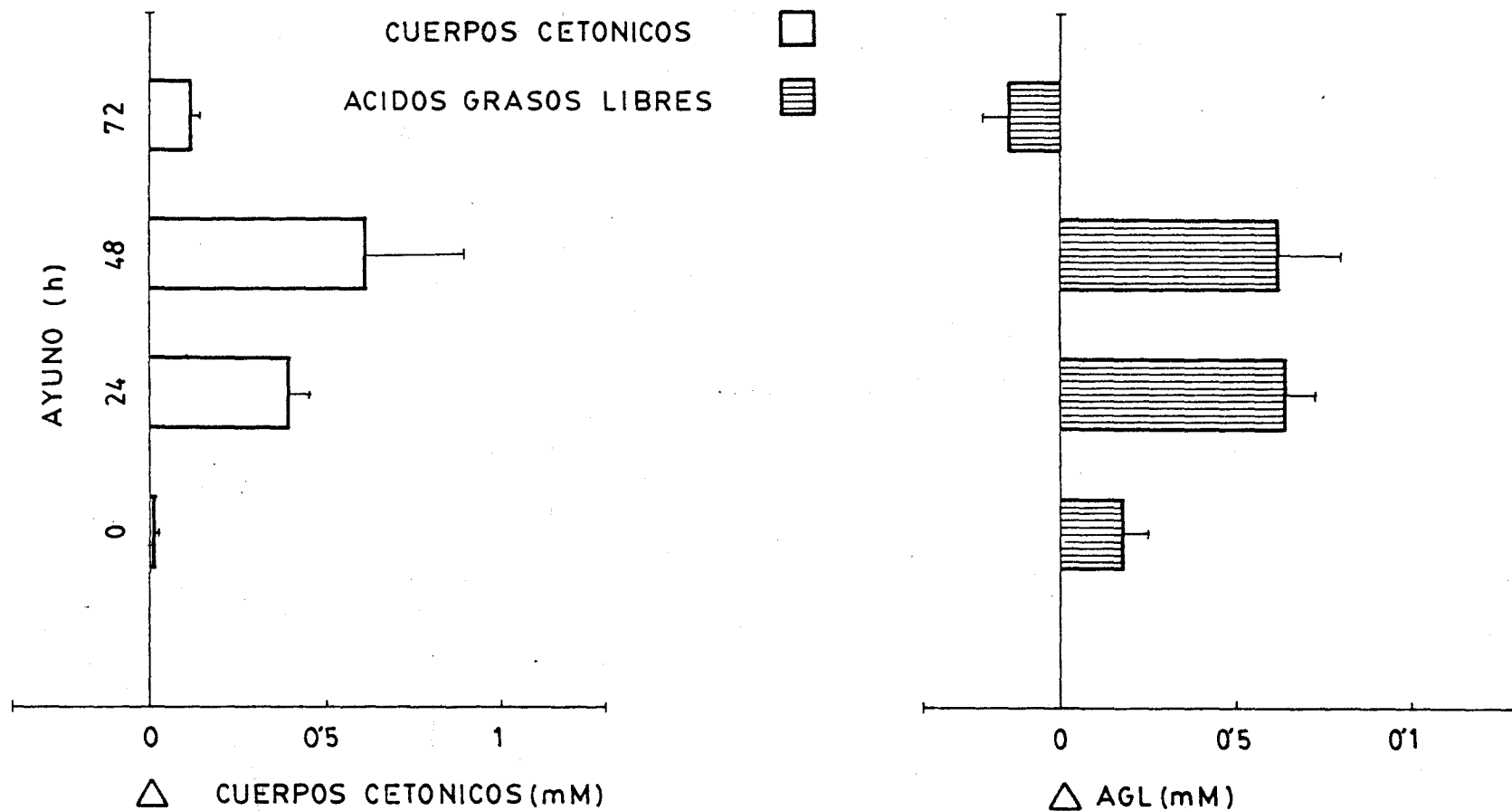


Figura 25. Captación de cuerpos cetónicos por el conceptus en animales alimentados y a diferentes periodos de ayuno. Captación de ácidos grasos libres (AGL) por el conceptus de animales alimentados y a las 24 y 48 horas de ayuno. Pequeña liberación a las 72 horas de ayuno.  $\Delta$  = diferencia de concentración entre aorta y vena uterina.

## 6. Captación y liberación de sustratos por el feto.

El estudio de las diferencias arterio-venosas para la glucosa, lactato y cuerpos cetónicos entre vena y arteria umbilicales (v-a) permitió determinar si estos metabolitos eran captados o liberados por el feto, en condiciones normales en las que sus madres estaban alimentadas y a las 24, 48 y 72 horas de ayuno.

En este caso particular las diferencias arterio-venosas se expresan como diferencias entre la concentración del sustrato en la vena umbilical (llegada al feto de metabolitos) y la concentración en la arteria umbilical (llegada del metabolito a la placenta).

Los niveles sanguíneos de glucosa en la vena umbilical disminuyeron significativamente desde las primeras 24 horas de ayuno ( $p < 0,0005$  a las 24 y 72 horas y  $p < 0,01$  a las 48 horas), mientras que la captación fetal de glucosa fue similar en los animales de madres alimentadas que en los de madres ayunadas 24, 48 y 72 horas (tabla 25 y figuras 26 y 27).

Los niveles circulantes de lactato en la vena umbilical se encontraron elevados en todos los grupos de animales estudiados comparados con los niveles en la aorta (véase tabla 19). En los fetos de madres alimentadas no hubo captación ni liberación de lactato.

A las 24 horas de ayuno materno, se observó una captación importante de lactato por el feto, correspondiendo con un ligero aumento ( $p < 0,025$ ) de la concentra-

ción en la vena umbilical. A las 48 y 72 horas de ayuno se observó un cambio brusco en el sistema; el feto liberaba lactato en cantidades superiores conforme se hizo más largo el periodo de ayuno (tabla 26 y figuras 26 y 27).

Los niveles de cuerpos cetónicos en vena umbilical de animales alimentados se encontraron bajos, experimentando un fuerte aumento a partir de las 24 horas de ayuno ( $p < 0,0005$  para las 24, 48 y 72 horas de ayuno).

Paralelamente a este hecho, la captación de cuerpos cetónicos por el feto de madres alimentadas fue muy baja, aumentando drásticamente el consumo a las 24 y 48 horas de ayuno ( $p < 0,0005$ ). A las 72 horas de ayuno, si bien el consumo de cuerpos cetónicos disminuyó considerablemente, este siguió siendo superior al hallado en los controles (alimentados) (tabla 27 y figuras 26 y 27).

	<u>Concentración</u> <u>vena umbilical</u> (mM)	<u>Diferencias arterio-</u> <u>venosas entre vena</u> <u>y arteria umbilicales</u> (v-a= $\Delta$ ) (mM)	
<u>Alimentadas</u>	4,6 $\pm$ 0,10	+1,3 $\pm$ 0,10	(6)
<u>Ayuno 24h</u>	*3,8 $\pm$ 0,13	+1,5 $\pm$ 0,10	(6)
" <u>48h</u>	*4,1 $\pm$ 0,08	+1,7 $\pm$ 0,20	(6)
" <u>72h</u>	*3,5 $\pm$ 0,23	+1,7 $\pm$ 0,08	(6)

Tabla 25. Niveles circulantes de glucosa en la vena umbilical y captación de ésta por el feto. Respuesta al ayuno. Los resultados se expresan en milimol/l (mM) y por la media $\pm$ error estandar.  $\Delta$  (+) = captación del sustrato. \*Significativamente diferente en relación con el valor control (alimentadas). Entre paréntesis se indica en número de animales en cada caso.

	<u>Concentración</u> <u>vena umbilical</u> (mM)	<u>Diferencias arterio-</u> <u>venosas entre vena</u> <u>y arteria umbilicales</u> (v-a= $\Delta$ ) (mM)	
<u>Alimentadas</u>	4,2 $\pm$ 0,30	0,00	(6)
<u>Ayuno 24h</u>	*5,2 $\pm$ 0,30	*+1,08 $\pm$ 0,20	(6)
" <u>48h</u>	3,4 $\pm$ 0,14	*-0,60 $\pm$ 0,08	(6)
" <u>72h</u>	4,5 $\pm$ 0,25	*-0,94 $\pm$ 0,07	(6)

Tabla 26. Niveles circulantes de lactato en la vena umbilical y captación o liberación de éste por el feto. Respuesta al ayuno. Los resultados se expresan en milimol/l (mM) y por la media $\pm$ error estandar.  $\Delta$  (+) captación del sustrato;  $\Delta$  (-) liberación del sustrato. \*Significativamente diferente en relación con el valor control (alimentadas). Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso. Obsérvese como el feto libera más lactato conforme aumenta la duración del ayuno materno.



	<u>Concentración</u> <u>vena umbilical</u> <u>(mM)</u>	<u>Diferencias arterio-</u> <u>venosas entre vena</u> <u>y arteria umbilicales</u> <u>(v-a= Δ) (mM)</u>	
<u>Alimentadas</u>	0,13±0,02	+0,006±0,001	(6)
<u>Ayuno 24h</u>	*3,6±0,25	*+0,70±0,12	(6)
" <u>48h</u>	*4,0±0,25	*+0,78±0,01	(6)
" <u>72h</u>	*4,2±0,70	*+0,13±0,08	(6)

-----

Tabla 27. Niveles circulantes de cuerpos cetónicos totales, acetoacetato y beta-hidroxibutirato, en la vena umbilical y la captación de éstos por el feto. Respuesta al ayuno. Los resultados se expresan en milimol/litro y por la media ± error estandar. Δ(+) = captación del sustrato. \*Significativamente diferente en relación con los valores controles (alimentadas). Entre paréntesis se indica el número de animales en cada caso. Nótese el gran aumento en el consumo de cuerpos cetónicos por parte del feto a medida que aumenta la duración del ayuno.

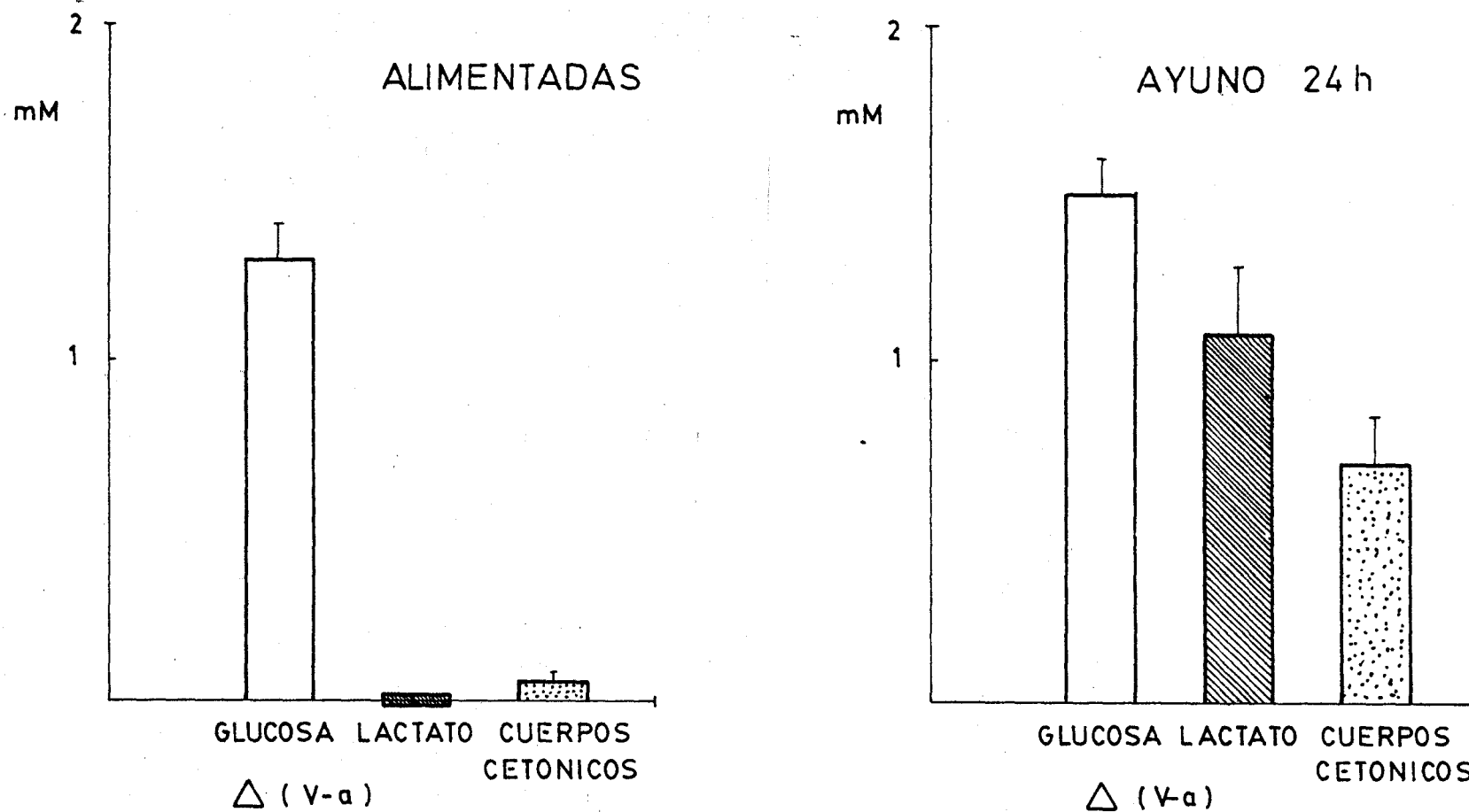


Figura 26. Captación de glucosa y cuerpos cetónicos por el feto de madres alimentadas. Captación de glucosa, lactato y cuerpos cetónicos por el feto de madres ayunadas 24 horas.  $\Delta$  = diferencia de concentración entre vena y arteria umbilicales.

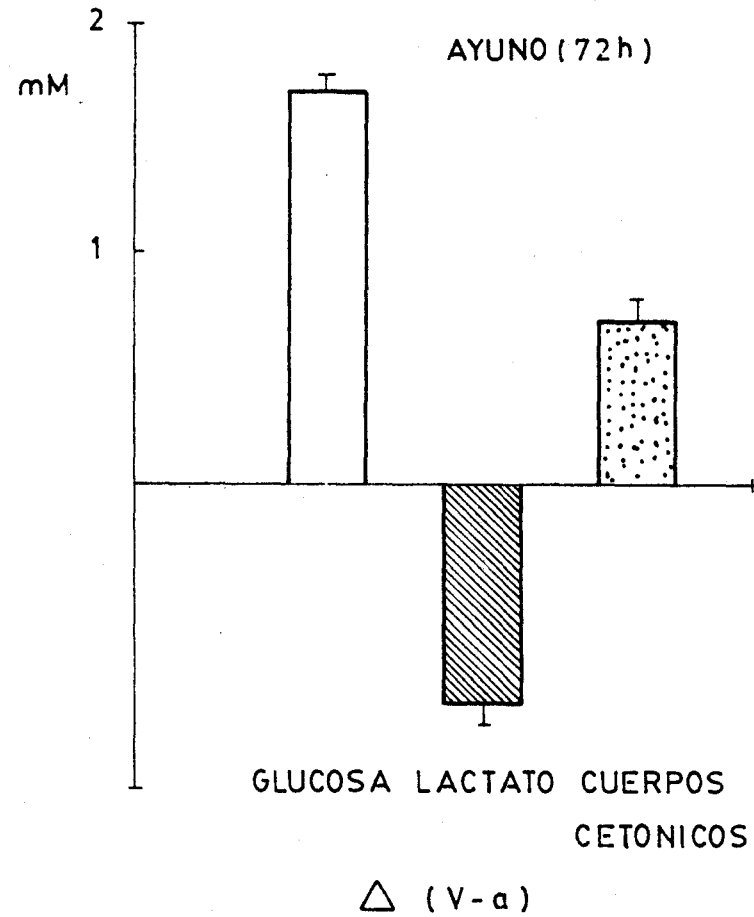
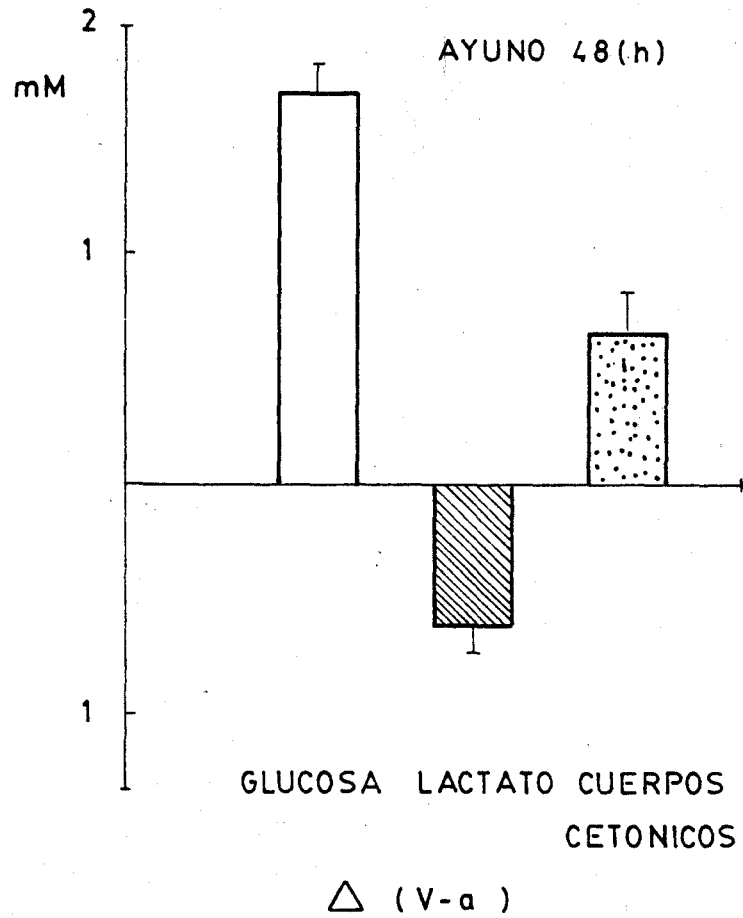


Figura 27. Captación de glucosa y cuerpos cetónicos y liberación de lactato por el feto de madres ayunadas durante 48 y 72 horas. △ = diferencia de concentración entre vena y arteria umbilicales.

## DISCUSION

### 1. Peso materno y fetal.

Los animales gestantes y vírgenes utilizados en nuestros experimentos tenían la misma edad (3 meses), lo que corresponde a un peso promedio de 310 g para la gestante y 240 g para las vírgenes. La diferencia (70-80 g) corresponde al peso de los fetos más las placentas de las gestantes a término.

En nuestras experiencias se escogieron animales gestantes con  $12 \pm 2$  fetos y el peso promedio de feto más placenta fue de 5,2 g. Es necesario resaltar el considerable aumento de peso de los animales en los últimos días de la gestación (Bodansky y Duff, 1941 a y b; Burch, 1966; Gilbert, 1978).

A los 19 días de la gestación, el peso promedio correspondiente al conceptus (feto más placenta) en una gestante con con 12 fetos es de 40 g y el de cada feto

2 g aproximadamente (Dawes, 1968; Dupuis y col., 1973; Gilbert, 1978; Hytten y Leicht, 1971), lo que indica que en solo dos días el peso del conceptus casi se duplica y el peso fetal aumenta en un 250%.

La disminución del peso, en porcentaje del inicial al comenzar el ayuno, fue más importante en los animales vírgenes que en los gestantes, para todo el periodo de ayuno estudiado. A las 96 horas de ayuno, la disminución del peso en las vírgenes fue de un 20% de su peso inicial y para las gestantes de un 11%, todo ello a pesar del "catabolismo acelerado" de la gestante durante el ayuno, descrito en numerosos trabajos (Edson y col., 1975; Elphick, 1975, 1977; Freinkel y col., 1972, 1974; Girard y col., 1977) y que concuerda con lo encontrado en nuestras experiencias (véase más adelante).

Sin embargo, teniendo en cuenta el enorme crecimiento fetal en los últimos días de la gestación, que persiste a pesar del ayuno total de la madre, podemos explicar estos resultados. El catabolismo aumentado de la gestante (en relación con la virgen para el mismo periodo de ayuno) serviría para suministrar substratos al feto que podría así continuar su crecimiento.

Considerando, por ejemplo, las 48 horas de ayuno, la madre a la que se le priva de toda fuente de alimento debe proporcionar los substratos suficientes para formar 27,6 g de tejido fetal (véase figura 28) lo que

<u>Ayuno materno (h)</u>	<u>Formación de nuevo tejido fetal (g)</u>
24 (20,5-21,5)	16,8 (n=12)
48 (19,5-21,5)	27,6 ( " )
72 (18,5-21,5)	30,0 ( " )
96 (17,5-21,5)	30,0 ( " )

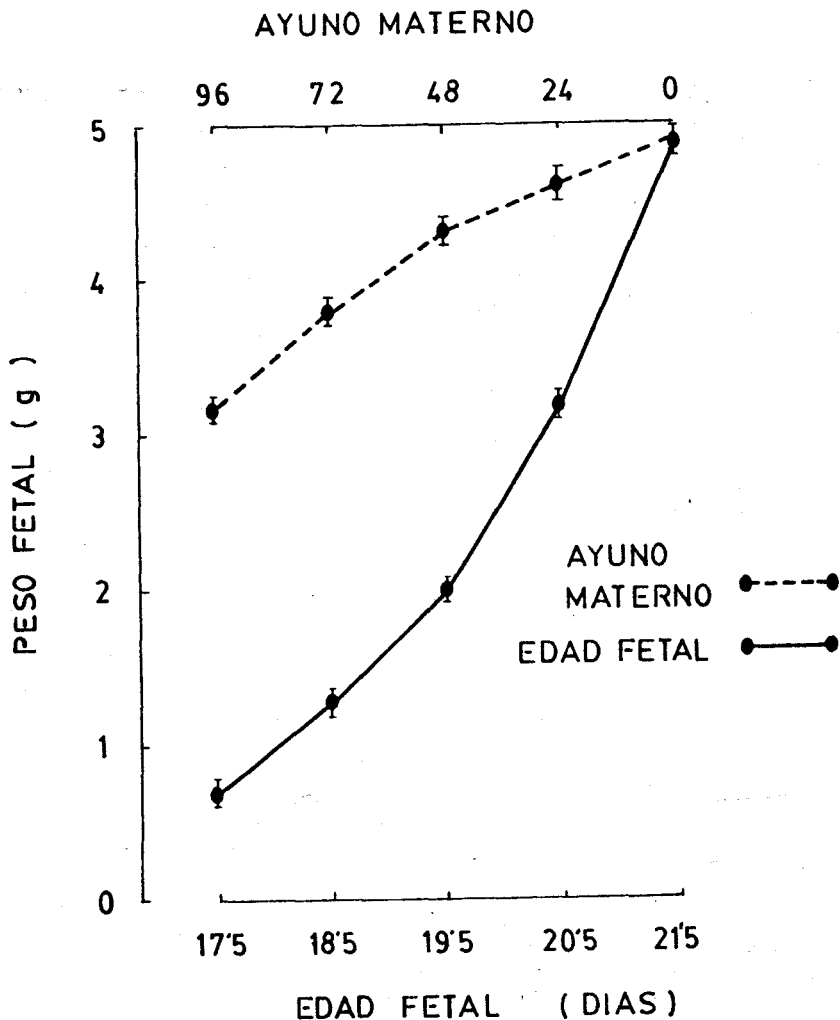


Figura 28. Relación entre el peso del feto correspondiente a su edad gestacional y el peso fetal obtenido de gestantes a término (21,5 días) a las que se privó de alimentos a partir del 17,5 (96 horas de ayuno), 18,5 (72 horas de ayuno), 19,5 (42 horas de ayuno) y 20,5 días (24 horas de ayuno). En la tabla se expresan los gramos de tejidos fetales formados a partir del ayuno materno (n= número de fetos de la gestante).

supone un 10% de su peso (a los 19,5 días de gestación el peso de las ratas gestantes es de unos 280 g), teniendo que contar además con los substratos que debe suministrar al feto para su metabolismo oxidativo. En relación con esto último, Battaglia y Meschia (1978) han estimado que en el caso del feto humano,  $46 \text{ Kcal} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$  se requieren para el metabolismo oxidativo y solo  $11 \text{ Kcal} \times \text{día}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$  se requieren para la formación de nuevos tejidos.

En relación con los datos arriba citados, suponiendo que los animales gestantes tras 48 horas de ayuno no disminuyesen de peso, habrían cedido un 10% de sus propios tejidos al feto. Por consiguiente, al 9% de disminución del peso que se observa en las ratas gestantes a las 48 horas de ayuno, hay que añadirle el 10% que cataboliza en favor de sus fetos, con lo que resulta que el catabolismo de los tejidos en los animales gestantes es muy superior al de los animales vírgenes.

En nuestros resultados, el peso fetal a término descendió significativamente a partir de las 48 horas de ayuno materno, lo que está de acuerdo con lo descrito por Girard y col. (1977). El peso de la placenta no sufrió ningún cambio durante el periodo de ayuno estudiado.

Aunque no hay datos precisos del peso placentario a lo largo de la gestación, se sabe que a partir de la segunda mitad este órgano está bien desarrollado (Bossi

y Greemberg, 1972); es posible que su importante papel en la nutrición fetal, que deberá desarrollarse al máximo ante una circunstancia anómala (ayuno materno), haga de la placenta un tejido relativamente estable en cuanto al catabolismo de sus propios constituyentes.

## 2. Cambios metabólicos en la gestación.

La gestación supone un problema evidente, ya que la madre debe asegurar el paso de numerosas sustancias al feto. Esto es particularmente importante en la segunda mitad de la gestación en la que el desarrollo fetal es máximo (Dawes, 1960; Szabo y Grimaldi, 1969; 1970).

Los trabajos de Freinkel y col. (Freinkel y col., 1970, 1971, 1972; Metzger y col., 1974 a y b), han demostrado que durante la gestación se producen modificaciones importantes en la concentración de substratos y hormonas circulantes. De acuerdo con estas observaciones previas, en nuestros resultados los niveles de glucosa en sangre arterial fueron inferiores en los animales gestantes que los encontrados en las vírgenes. Durante el ayuno, la glucemia disminuyó en ambos grupos de animales, siendo los niveles en gestantes muy inferiores a los encontrados en vírgenes.

Dado que la hipoglucemia del segundo periodo de la gestación coexiste con una gran movilización de las reservas lipídicas (Scow y col., 1964) y un hiperinsulinismo (Freinkel y col., 1971, 1972; Gilbert y Vaillant,



1975; Girard y col., 1977), se ha sugerido que esta hipoglucemia sería concomitante con una resistencia de los tejidos maternos a la insulina (Kuhl y Holst, 1976).

En nuestras experiencias, estudiando las diferencias arterio venosas para la glucosa entre aorta y vena ilíaca, hemos observado que la captación de glucosa es inferior en los animales gestantes comparada con la captación en vírgenes (animales alimentados en ambos casos).

La menor captación de glucosa por el músculo (tejidos periféricos) de la gestante podría deberse a que sus niveles de glucosa en sangre arterial son más bajos que los encontrados en vírgenes. Por lo tanto, una menor concentración arterial implicaría un menor consumo aunque existiese una resistencia normal a la insulina por parte de los tejidos periféricos.

Los niveles de glucosa en la rata gestante alimentada son similares a los encontrados en vírgenes a las 48 horas de ayuno; además, el consumo de glucosa en estas dos situaciones es el mismo. No obstante, dado que la insulinemia en la rata gestante es muy superior a la encontrada en no gestantes y que la insulinemia disminuye con el ayuno (Cahill, 1966; 1970; Felig, 1973), los niveles de insulina en el grupo de animales gestantes alimentados deben ser netamente superiores a los del grupo de animales vírgenes ayunados durante 48 horas.

(de acuerdo con Freinkel y col., 1971, la insulinemia de ratas gestantes alimentadas es de 34,2  $\mu$ U/ml, frente a 9,7  $\mu$ U/ml en vírgenes ayunadas durante 48 horas).

Los resultados anteriores pueden considerarse como prueba indirecta de la resistencia a la insulina de los tejidos maternos o bien de la existencia de una insulina menos activa en la gestante, ya que para la misma concentración arterial y con niveles muy superiores de insulina circulante en gestantes, el consumo de glucosa es semejante en ambos grupos.

El ayuno provoca en gestantes y vírgenes una disminución de la captación de glucosa por el músculo. Este hecho ha sido descrito previamente en ratas vírgenes ayunadas durante 52 horas (Mac Donald y col., 1976), los valores absolutos obtenidos en nuestros experimentos fueron superiores a los descritos por estos autores.

La disminución de la captación de glucosa por parte del músculo es más evidente en gestantes que en vírgenes, debido, probablemente, a que el crecimiento fetal es prioritario durante el ayuno materno (véase "Discusión", 1.).

De acuerdo con lo descrito previamente (Metzger y col., 1971), en nuestros resultados los niveles circulantes de lactato en los animales gestantes fueron más elevados que los hallados en vírgenes a pesar de que la glucemia era más baja. Durante el ayuno, los niveles de lactato descendieron en ambos grupos, lo que sugie-

re un aumento de extracción por el hígado para su utilización como sustrato para la gluconeogénesis (Mac Donald y col., 1976; Remesy y col., 1977). Paralelamente a lo anterior, el músculo de gestantes consumió más lactato que el de las vírgenes debido, probablemente, a que la lactacidemia era más elevada en gestantes.

El ayuno provocó en los animales gestantes y vírgenes una liberación de lactato por el músculo. Este hecho ha sido descrito previamente en animales vírgenes por Mac Donald y col. (1976) y Ruderman y col. (1977).

Estudios realizados "in vitro" indican que los ácidos grasos libres y los cuerpos cetónicos inhiben el enzima piruvato-deshidrogenasa (enzima necesario para la oxidación completa de la glucosa). Se ha sugerido (véase Mac Donald y col., 1976) que los niveles elevados de dichos sustratos durante el ayuno podrían ser los responsables de la secreción de lactato por el músculo.

Por otra parte, parece ser que el transporte de lactato a través de la membrana no está sujeto a control hormonal y la liberación durante el ayuno se debería al aumento en el gradiente célula/líquido extracelular para el lactato (Ruderman y col., 1977). No obstante, en nuestro estudio "in vivo" la producción de lactato por el músculo durante el ayuno fue cuantitativamente

igual en gestantes que en vírgenes a pesar de tener las primeras niveles circulantes más elevados de cuerpos cetónicos y ácidos grasos libres. Por lo tanto, es posible que otros mecanismos, además del aumento de ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos, intervengan en el aumento del lactato intracelular en el músculo durante el ayuno.

En nuestros resultados los niveles circulantes de piruvato en ratas vírgenes y gestantes alimentadas fueron similares a los descritos en la literatura (Metzger y col., 1971, 1973; Ruderman y col., 1977). De acuerdo con estos autores, los niveles de piruvato descendieron durante el ayuno en gestantes y no se modificaron en vírgenes.

En animales alimentados (gestantes y vírgenes) no se observó captación ni liberación de piruvato por el músculo. Por el contrario, otros autores con la misma metodología (Mac Donald y col., 1976; Ruderman y col., 1977) han descrito en vírgenes un pequeño consumo de piruvato cuando los animales estaban alimentados. En nuestros resultados se observó durante el ayuno una liberación de piruvato por el músculo de vírgenes y gestantes, lo que coincide con lo obtenido durante el ayuno por los autores antes citados.

Al igual que para el lactato, se ha descrito para la producción de piruvato por el músculo un mecanismo de liberación pasivo debido al aumento de su concentra-

ción intracelular y al aumento en el gradiente célula/líquido extracelular (Ruderman y col., 1977).

Los niveles circulantes de alanina que se observan en nuestros resultados concuerdan con los descritos previamente (Freinkel y col., 1971, 1972; Metzger y col., 1971), encontrándose elevados en las gestantes en relación con las vírgenes a pesar de la hipoglucemia de las primeras. Al igual que estos autores, durante el ayuno se observó una caída más brusca en las gestantes.

Los valores sanguíneos obtenidos en animales no gestantes están de acuerdo con los descritos por Ruderman y col. (1977) pero son inferiores a los obtenidos por Remesy y col. (1977). No obstante, los animales utilizados por estos últimos autores estaban sometidos previamente a dietas hipercarbonadas o hiperproteicas.

La alanina se captó por el músculo en los animales alimentados (vírgenes y gestantes) y se liberó durante el ayuno. Estos cambios se han descrito en animales gestantes y no gestantes (Mac Donald y col., 1976; Ruderman y col., 1977; Yamamoto y col., 1974). Sin embargo, nuestros resultados no concuerdan en algunos aspectos con la interpretación dada a la proteólisis muscular durante el ayuno en gestantes.

Dado que la concentración de alanina es siempre muy superior en el interior de la célula que en el plasma, el flujo de alanina en animales alimentados va en contra de su gradiente de concentración (Ruderman y col., 1971, 1977). A partir de estas observaciones, estos au-

tores han propuesto un mecanismo activo de transporte de la alanina regulado por factores hormonales y/o nutricionales.

En nuestras experiencias, la captación y liberación de alanina por el músculo fue semejante en animales gestantes y no gestantes. De acuerdo con estos resultados la producción de alanina (proteólisis muscular) no está frenada o inhibida en la gestante ayunada como se ha propuesto recientemente (Freinkel y col., 1979). Estos autores sugieren que la hipercetonemia de la gestante frenaría la producción de alanina como mecanismo de conservación, por una parte del nitrógeno y por otra de la propia glucosa materna.

La severa hipoglucemia de la gestante ayunada, se ha descrito como un "síndrome de deficiencia en substratos" (Freinkel y col., 1979); es decir, la glucemia disminuiría debido a la poca disponibilidad del hígado en substratos de la gluconeogénesis y en sentido teleológico, la hipoglucemia representaría un mecanismo para conservar la glucosa materna, ya que según estos autores, el paso de glucosa al feto es directamente proporcional a sus niveles en sangre materna.

Sin embargo, de acuerdo con nuestros resultados, la alanina circulante estaría disminuida por una captación aumentada a nivel hepático y no por una disminución de la liberación por el músculo. Esta idea está de acuerdo con el hecho, descrito por varios autores

(Fisher y col., 1974; Herrera, 1978), de una gluconeogénesis aumentada a partir de diversos substratos en la rata gestante ayunada en comparación con las vírgenes.

Por otra parte, la enorme succión de glucosa por el conceptus a pesar de los bajos niveles en sangre materna observados en nuestras experiencias (ayuno de 120 horas) y descrita en otras especies (véase Battaglia y Meschia, 1978), sugiere que a pesar del esfuerzo de los tejidos maternos para mantener los niveles de glucosa dentro de los límites normales, éstos disminuyen debido a la importante demanda de los tejidos fetales.

En relación con el resto de los aminoácidos estudiados, los niveles más elevados en animales gestantes alimentados fueron los de glutamina y lisina. Estos resultados concuerdan con los descritos previamente por Girard y col. (1977) y Yamamoto y col. (1974 a y b). En gestantes alimentadas, el músculo liberó pequeñas cantidades de glutamina y treonina, lo que está de acuerdo con lo obtenido por Yamamoto y col. (1974a-yb) y posiblemente se debe a que la glutamina, además de ser un substrato importante para la gluconeogénesis, es el vehículo principal para transportar  $\text{NH}_3$  fuera del músculo (véase Freinkel y col., 1972, 1974).

En animales gestantes ayunados no se observó en nuestras experiencias captación neta por parte del mús-

culo de ninguno de los aminoácidos cuantificados, por el contrario, todos fueron liberados en mayor o menor cantidad, lo que corrobora observaciones previas en relación con la intensa proteólisis muscular en gestantes y vírgenes ayunadas (véanse Mac Donald y col., 1976; Ruderman y col., 1977; Yamamoto y col., 1974a; Adam y Felig, 1978).

El metabolismo de los lípidos ocupa un papel central en la gestación. La mayoría de los autores están de acuerdo en diferenciar dos periodos durante la gestación dependiendo del sentido anabólico o catabólico del metabolismo en el tejido adiposo.

Durante los primeros dos tercios de la gestación, las necesidades energéticas del feto son mínimas y la suma de varios factores (hiperfagia, hiperinsulinismo, etc.) conducen a la acumulación de lípidos en el tejido adiposo de las gestantes. El último tercio de la gestación por el contrario, se caracteriza por un aumento de la movilización de las grasas acumuladas en el periodo anterior (Elliot, 1975; Knopp, 1978; Knopp y col., 1975).

Durante el ayuno, el aumento en los niveles circulantes de cuerpos cetónicos y ácidos grasos libres ha sido descrito en numerosas especies (Cahill, 1970; Cahill y col., 1966; Owen y col., 1967; Young y Scrimshaw, 1971). También es conocido que el ayuno en la rata durante el último tercio de la gestación produce un aumen-



to más acentuado que en animales vírgenes en los niveles circulantes de cuerpos cetónicos, ácidos grasos libres y glicerol (especialmente los primeros debido a la intensa lipólisis tisular) (Freinkel y col., 1970, 1971, 1972; Knopp y col., 1970, 1973). Iguales resultados se han descrito en la mujer gestante (Felig y Lynh, 1970; Young y Scrimshaw, 1971).

Los resultados obtenidos en nuestros experimentos corroboran lo señalado anteriormente. La captación de cuerpos cetónicos por el músculo fue similar en vírgenes y gestantes alimentadas. Durante el ayuno la captación de cuerpos cetónicos no se modificó en vírgenes mientras que aumentó considerablemente en gestantes. Este hecho probablemente se debe a las concentraciones sanguíneas más elevadas de cuerpos cetónicos en gestantes que en vírgenes.

### 3. Metabolismo del conceptus y del feto. Adaptaciones al ayuno materno.

La gestación supone la aparición y el desarrollo del feto y la placenta (conceptus) como estructuras nuevas y, en cierta medida, independientes de los tejidos maternos.

En nuestros resultados se observó una gran captación de glucosa por el conceptus en animales alimentados. Aunque este consumo permaneció elevado durante el ayuno, se observó un descenso a partir del primer día

de ayuno. Sin embargo, como se observa en la figura 29, la disminución en la captación de glucosa durante el ayuno fue menos significativa en el conceptus que en el músculo, así, por ejemplo, a las 72 horas de ayuno, el músculo disminuyó la captación de glucosa en un 43% mientras que el conceptus solo lo hizo en un 23%.

Son numerosos los trabajos en la literatura que aportan gran cantidad de datos referentes al metabolismo fetal en especies de mamíferos de gran tamaño (cordero, vaca, etc.) en los que el abordaje de la circulación umbilical es fácil (Battaglia y col., 1961, 1968, 1973, 1978; Char y Creasy, 1976 a y b).

No obstante, la mayoría de los datos obtenidos en ratas para estudiar el metabolismo fetal se han realizado "in vitro", con los problemas que conlleva su extrapolación al animal "in vivo" (Shambaugh, 1977; Shambaugh y col., 1977a y b; Scow y col., 1958).

En relación con la utilización de glucosa por el feto, ésta fue considerable y hay que resaltar que no experimentó ninguna modificación a pesar del ayuno total de la madre. Los resultados en relación con la captación de glucosa por el feto y el conceptus, indican que el consumo de glucosa por la unidad feto-placentaria y el feto no dependen exclusivamente de los niveles de glucosa en sangre materna, ya que su captación persiste a pesar de la hipoglucemia materna.

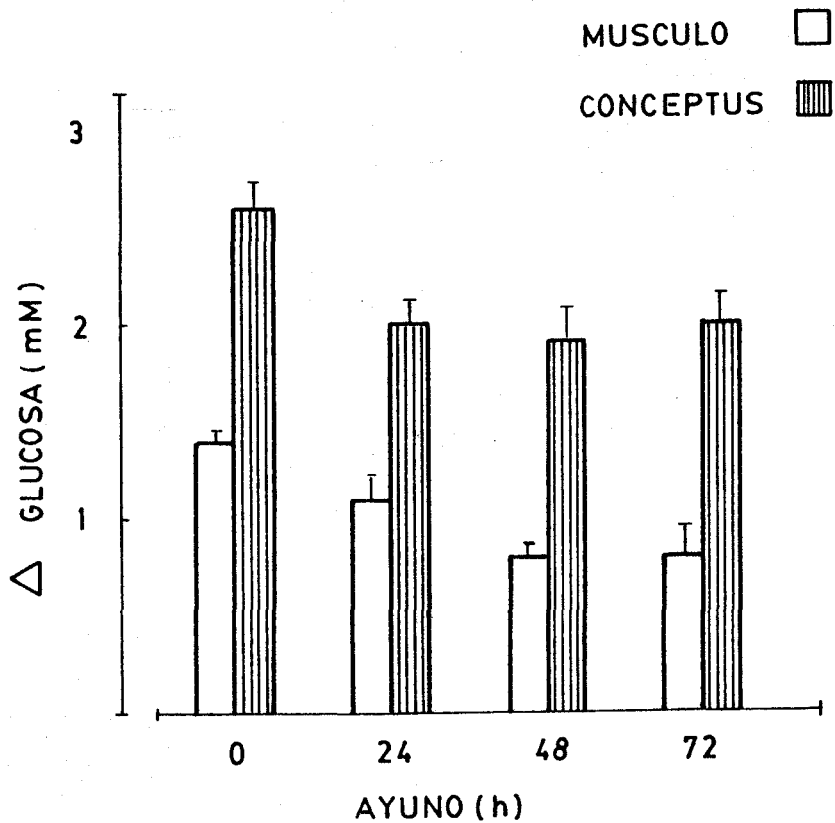


Figura 29. Comparación del consumo de glucosa por el músculo y el conceptus en los animales alimentados y a diferentes periodos de ayuno. Nótese la mayor captación de glucosa por el conceptus. A las 72 horas de ayuno la disminución del consumo de glucosa por el músculo supuso un 43% del valor inicial mientras que para el conceptus supuso solo un 23%.  $\Delta$  = diferencia de concentración entre aorta y vena ilíaca o entre aorta y vena uterina.

Se ha propuesto, que el transporte de glucosa a través de la placenta es una función de su gradiente de concentración (Battaglia y Meschia, 1973), y por otra parte, de los niveles de insulina en el plasma fetal (Rabain y Picon, 1974; Simmons y col., 1978). Es posible pensar que la "inactividad relativa" de la insulina materna y su disminución durante el ayuno, frente a una insulina fetal más activa, haga del feto un importante consumidor de glucosa, con lo cual el gradiente madre/feto se mantiene constante a pesar de los bajos niveles de glucosa en sangre materna.

Desde los trabajos de Murphy y Hawkins (1925) y Loeser (1932), se conoce la producción "in vitro" de lactato por la placenta de diferentes especies y en condiciones aerobias. Estudios recientes en la oveja y la vaca, han demostrado que una proporción importante de glucosa se convierte en lactato a su paso por la placenta y de esta forma se transfiere al feto (Burd y col., 1975; Char y Creasy, 1976; Silver, 1976).

Por otra parte, Burd y col. (1975), estudiando las diferencias arterio-venosas entre vena y arteria umbilicales en fetos de cordero, han demostrado que la placenta produce lactato y que el feto lo utiliza. En ratas y humanos, estudios "in vitro" demuestran que la placenta produce lactato en condiciones aerobias (véase Girard y col., 1979).

En nuestros resultados, observamos una liberación de lactato por la unidad feto-placentaria, incluso en animales alimentados. Esta liberación de lactato por el conceptus en animales alimentados contrasta con el comportamiento del músculo y de todos los tejidos hasta ahora estudiados.

Como se observa en la figura 30, la producción de lactato por la unidad feto-placentaria durante el ayuno, fue una de las constantes más llamativas de nuestras experiencias. Esta liberación de lactato por el conceptus del animal "in vivo", que no ha sido previamente descrita, supondría una forma indirecta de ahorrar glucosa a la madre suministrándole un substrato para la gluconeogénesis.

En nuestros experimentos, cuando la madre estaba alimentada no observamos captación ni liberación de lactato por el feto, por lo que la liberación de este substrato a la circulación materna en dichas condiciones se debe a una producción "in vivo" por la placenta. A las 24 horas de ayuno, el feto se comporta como un gran consumidor de lactato, posiblemente debido a la llegada masiva procedente de la placenta. Sin embargo, al avanzar el ayuno, el feto libera lactato y participa así con la placenta en compensar la captación indiscriminada de glucosa.

A partir de nuestros resultados proponemos (véase el esquema de la figura 31) que la captación de glucosa

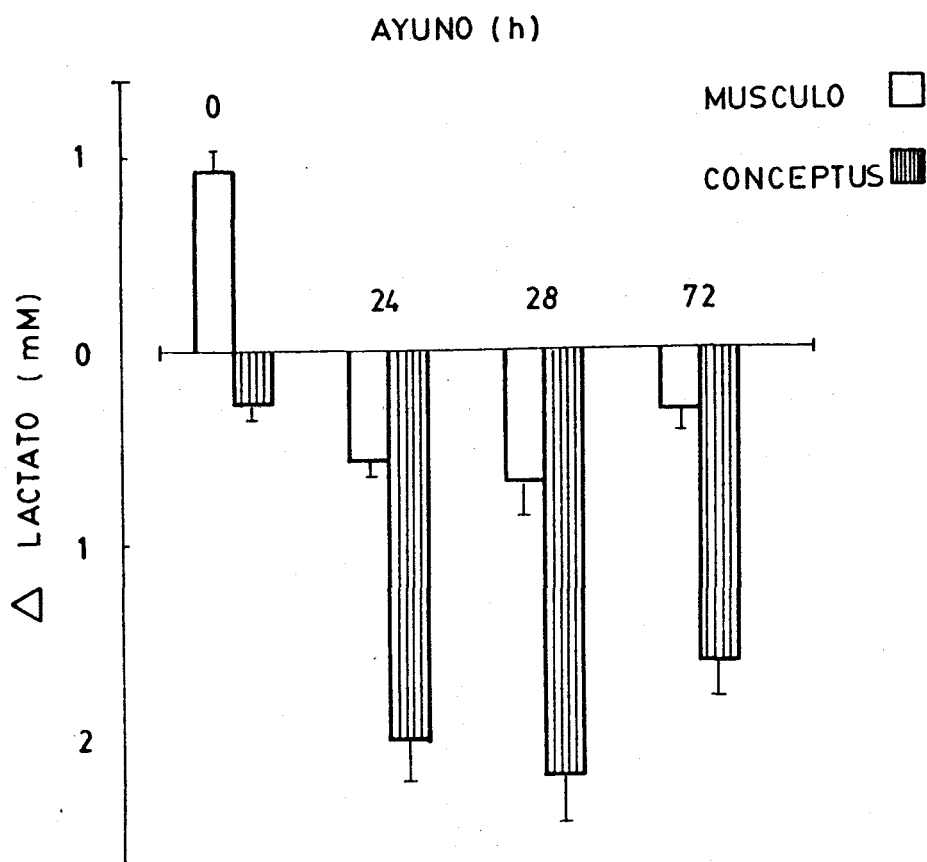


Figura 30. Comparación del comportamiento del metabolismo del músculo y del conceptus en relación con el metabolismo del lactato en animales gestantes alimentados y a diferentes periodos de ayuno. Nótese como el conceptus libera lactato incluso cuando los animales están alimentados y la intensa producción durante el ayuno.  $\Delta$  = diferencia de concentración entre aorta y vena ilíaca o entre aorta y vena uterina.

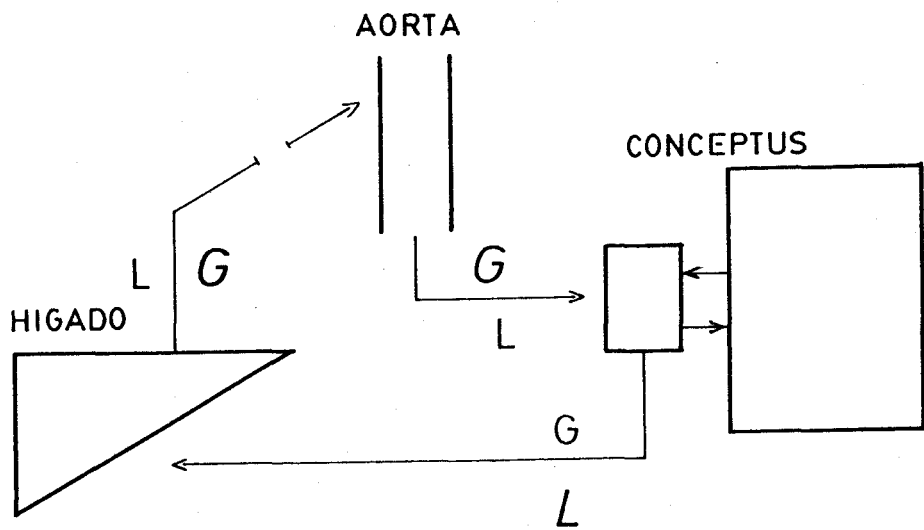


Figura 31. Mecanismo propuesto para el reciclaje de la glucosa a partir del lactato producido por la placenta y el feto durante el ayuno. Este mecanismo podría compensar la intensa captación de glucosa por el conceptus (que persiste incluso cuando la glucemia materna es muy baja) reconvirtiendo el lactato en glucosa mediante la gluconeogénesis en el hígado materno.

por el feto, durante el ayuno, se compensa por la liberación a la circulación materna de lactato que se utilizaría como sustrato de la gluconeogénesis. La gran producción de lactato por la placenta y el feto (este último en periodos más avanzados de ayuno) podría ser desencadenada, entre otros mecanismos, por la llegada de cuerpos cetónicos y ácidos grasos procedentes de la madre ayunada. Como hemos señalado anteriormente, los cuerpos cetónicos y los ácidos grasos libres inhiben a la piruvato-deshidrogenasa (Mac Donald y col., 1976).

En relación con el metabolismo de los aminoácidos, en nuestros resultados se observa como el ayuno materno disminuye la utilización de éstos por el concepto, aunque se mantiene la captación de algunos de los aminoácidos esenciales. Estos datos contrastan con los obtenidos para el músculo en donde tras 96 horas de ayuno se observó una liberación de todos los aminoácidos. Estas diferencias en el comportamiento del músculo y el concepto, probablemente se deben a las necesidades del feto en aminoácidos para continuar su crecimiento.

Se ha descrito en la literatura el paso de cuerpos cetónicos a través de la placenta en varias especies, entre ellas ratas y humanos, (Sabata y col., 1968; Scow y col., 1958). Estudios recientes han demostrado el consumo "in vitro" de cuerpos cetónicos por la placenta y diversos tejidos fetales en la rata (Shambaugh y col.,



1977a y b). Estos autores indican que el consumo de 3-beta-hidroxibutirato por trozos de placenta y cerebro e hígado fetales, depende de la concentración de dicho metabolito en el medio de incubación.

A partir de nuestros resultados es necesario precisar que a las 48 horas de ayuno la concentración de cuerpos cetónicos circulantes en la madre es semejante a la de glucosa mientras que su captación por el conceptus es un 30% menor. Es probable que los cuerpos cetónicos se desvíen preferentemente para el metabolismo oxidativo del cerebro de la madre (Cahill y col., 1966; Felig y col., 1973; Owen y col., 1967).

Durante el ayuno materno el feto, estudiado como entidad aislada, aumentó considerablemente la captación de cuerpos cetónicos. A las 72 horas de ayuno, la captación fue sin embargo pequeña, mientras que Girard y col. (1977) encuentran niveles muy elevados en sangre fetal. Estas diferencias podrían deberse a una maduración de la vía de la cetogénesis en el hígado fetal inducida por el ayuno materno (Shambaugh, 1977).

#### 4. Recambio ("turnover") y reciclaje de la glucosa en animales vírgenes y gestantes.

Como se ha señalado anteriormente, está demostrado que en la rata, la gestación conlleva modificaciones metabólicas y de la concentración de ciertos substratos circulantes: glucosa, lactato, piruvato, aminoácidos, etc

(Freinkel y col., 1970, 1971, 1972; Metzger y col., 1974c; Saudek y col., 1975).

Una primera indicación sobre el recambio de glucosa por la rata gestante ha sido descrita por Metzger y col. (1974a). Estos autores indican que en la rata de 20 días de gestación y ayunada durante 48 horas, el recambio de glucosa es aproximadamente 1,5 veces más elevada que en la rata virgen ayunada durante el mismo tiempo. Dado que estos estudios se han realizado en ayunas, es difícil interpretar si la gestación por sí sola es la responsable del aumento del recambio de la glucosa.

En la oveja, los resultados son contradictorios. Bergman (1963) ha encontrado aumentado el recambio de glucosa en la hembra gestante, mientras que Ford (1963) ha descrito resultados opuestos, si bien este último autor no precisa el estado de gestación. Steel y Leng (1973) concluyen que hay un aumento del recambio de la glucosa en la oveja a término tanto en animales alimentados como ayunados. El recambio de glucosa en ratas machos ha sido estudiado por Shipley y Clark (1972).

La metodología empleada para el estudio del recambio de la glucosa por los autores arriba citados puede mejorarse si se utiliza glucosa ( $H^3$ ) en lugar de glucosa ( $C^{14}$ ).

Para el estudio dinámico del recambio de glucosa, o de cualquier otro metabolito, el trazador elegido de-

be reunir los siguientes requisitos: a) no debe hacer variar la "masa" del metabolito sobre la que se realiza el estudio, b) debe seguir la misma vía metabólica que el metabolito estudiado, y c) el metabolito debe ser irreversible. (véanse Katz y col., 1974 a y b).

El recambio de glucosa calculado a partir de la inyección o de la perfusión de glucosa  $C^{14}$ , si bien el trazador cumple los requisitos a) y b), se subestima por la reincorporación del carbono marcado en forma de glucosa. La interpretación de la cinética de desaparición de la molécula (glucosa  $C^{14}$ ) en el plasma no es simple ya que existe un reciclaje del carbono  $C^{14}$ . Así, por ejemplo, el lactato- $C^{14}$  formado en el curso del metabolismo de la glucosa- $C^{14}$  puede ser en parte oxidado hasta  $CO_2$ , pero otra parte puede ser reconvertida en glucosa- $C^{14}$  por el ciclo de Cori en el hígado.

Para minimizar los inconvenientes arriba señalados, Dunn y col. (1967) han propuesto la utilización de la glucosa- $H^3$  como trazador metabólico. La formación de agua- $H^3$  es el resultado predominante del  $H^3$  cuando la glucosa- $H^3$  se metaboliza en la célula. La formación de nueva glucosa a partir del agua- $H^3$  es despreciable (Newsholme y Start, 1973).

En nuestros resultados, los valores del recambio de la glucosa en la rata gestante a término y alimentadas son más elevados (55%) que los hallados en vírgenes alimentadas. La mayor "utilización" de glucosa en ges-

tantes se observó tanto cuando se utilizó glucosa-UC<sup>14</sup> como cuando se utilizó glucosa-H<sup>3</sup> como trazadores.

Nuestros resultados utilizando glucosa-UC<sup>14</sup> están de acuerdo con los descritos por Metzger y col. (1974a) utilizando este mismo trazador. Así mismo, los datos obtenidos utilizando glucosa-H<sup>3</sup> concuerdan con los descritos por Gilbert (1978). Nuestros resultados sobre el recambio de la glucosa demuestran el mayor consumo de ésta en gestantes que en vírgenes, lo que de acuerdo con los resultados previamente discutidos en este trabajo, probablemente se debe a la gran succión de glucosa por parte del feto y no al aumento del consumo por la madre.

La ventaja de la utilización de dos trazadores fue, además del poder determinar de forma precisa el recambio de glucosa (trazador irreversible), el poder estudiar el reciclaje (trazador reversible). No hay datos en la literatura sobre el reciclaje de la glucosa en animales gestantes. En nuestros resultados los valores obtenidos en gestantes no fueron significativamente diferentes a los observados en vírgenes.

Estos datos indican que a pesar de la mayor "utilización" de glucosa por la rata gestante, la gluconeogénesis no está aumentada durante la gestación. Si bien esto pudiera parecer contradictorio con la disponibilidad elevada de substratos glucoformadores en la gestante alimentada, no es así si se observa la mayor utilización

de lactato por los tejidos maternos. Estos resultados concuerdan con los descritos por Herrera (1978) que mediante la utilización de piruvato marcado ha observado que la gluconeogénesis en gestantes alimentadas no está aumentada en relación con ratas vírgenes alimentadas.

Con esta misma técnica (véase Herrera, 1978), se ha descrito un aumento de la gluconeogénesis en animales gestantes ayunados en comparación con los valores obtenidos en vírgenes ayunadas. Estos datos concuerdan con lo discutido anteriormente en relación con el no aumento de la gluconeogénesis en gestantes alimentadas y la activación de esta vía metabólica en gestantes durante el ayuno.

### CONCLUSIONES

1. La disminución del peso corporal, en porcentaje del inicial, debido al ayuno fue menor en gestantes que en vírgenes. Sin embargo, si se considera la degradación de los propios tejidos maternos en favor del crecimiento fetal, la disminución del peso en gestantes ayunadas sería mayor que en vírgenes durante el mismo periodo de ayuno. El peso fetal a término no disminuyó hasta las 48 horas de ayuno materno.

2. Los niveles circulantes de glucosa fueron siempre inferiores en gestantes que en vírgenes, tanto cuando los animales estaban alimentados como durante el ayuno. Los cuerpos cetónicos, por el contrario, se encontraron elevados en las gestantes alimentadas en relación a sus niveles en vírgenes y esta diferencia fue mucho mayor durante el ayuno.

3. Los substratos gluconeogénicos por excelencia (lactato, piruvato y alanina) se encontraron elevados en las gestantes alimentadas en relación con los valores encontrados en vírgenes. Los valores durante el ayuno fueron similares en la mayoría de ellos.

4. La captación de glucosa por el músculo de los animales gestantes fue inferior a la encontrada en vírgenes. Durante el ayuno, el ahorro de glucosa fue más importante en los animales gestantes que en los vírgenes.

5. La captación de lactato por el músculo fue mayor en los animales gestantes que en los vírgenes. Sin embargo, durante el ayuno se observó una liberación de lactato similar en ambos grupos.

6. Se observó una captación de alanina por el músculo de los animales alimentados de valores similares en vírgenes y en gestantes. La liberación de alanina durante el ayuno fue también semejante en ambos grupos de animales. Por tanto, contrariamente a lo previamente propuesto por otros autores, la proteólisis muscular no está frenada durante la gestación.

7. La captación de cuerpos cetónicos por el músculo fue muy pequeña en los animales alimentados, tanto vírgenes como gestantes. Durante el ayuno, el músculo

lo de los gestantes aumentó drásticamente su captación, correspondiendo con los altos niveles circulantes, mientras que no se modificó en los animales vírgenes.

8. La captación de glucosa por el conceptus (unidad feto-placentaria) fue siempre muy elevada. No obstante, a las 24 horas de ayuno el conceptus disminuyó de forma significativa la captación de glucosa. La captación de glucosa por el feto no se modificó en ninguno de los días de ayuno estudiados.

9. Se observó una liberación de lactato por la unidad feto-placentaria incluso en animales alimentados. Durante el ayuno la liberación de lactato aumentó fuertemente. En el feto, como entidad aislada, se observó una liberación de lactato a partir de las 48 horas de ayuno.

Se propone que la captación indiscriminada de glucosa por el feto y la placenta durante el ayuno, podría compensarse por dicha liberación de lactato que serviría de substrato glucoformador en el hígado materno.

10. Se observó una pequeña captación de cuerpos cetónicos por el conceptus de animales alimentados que aumentó considerablemente durante el ayuno.

11. En animales alimentados el conceptus captó la mayoría de los aminoácidos estudiados. Al contrario



que en el músculo, donde se liberaron todos los aminoácidos durante el ayuno, el conceptus siguió captando algunos de los aminoácidos esenciales.

12. Los valores obtenidos en el estudio del recambio ("turnover") de la glucosa en los animales gestantes fueron siempre superiores a los obtenidos en vírgenes. Sin embargo, el reciclaje de la glucosa fue siempre similar en ambos grupos. Estos resultados indican que a pesar de la mayor utilización de glucosa por las gestantes la gluconeogénesis no está aumentada.

### BIBLIOGRAFIA

- ABELL, D.A., BEISCHER, N.A., PAPAS, A.J. y WILLIS, M.  
"The association between normal glucose tolerance (hyperglycemia and hypoglycemia) and estriol excretion in pregnancy", *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 124, 388, 1976
- ADAM, P.A.J. "Control of glucose metabolism in the human fetus and newborn infant", *Adv. Metab. Dis.*, 5, 183, 1971
- ADAM, P.A.J. y FELIG, P. "Carbohydrate, fat and amino-acid metabolism in the pregnant women and fetus", En: *Human Growth*, págs. 244-283, F. Faulkner y J.M. Tanner (eds.), Plenum Press, Nueva York, 1978
- BAILEY, E. y LOCKWOOD, E.A. "Some aspects of fatty acid oxidation and ketone body formation and utilization during development of the rat", *Enzyme*, 15, 239, 1973
- BARCROFT, J. y ELSDEM, T. "The oxygen consumption of the sheep fetus", *J. Physiol.*, 105, 25P, 1946
- BARNES, R.J., COMLINE, R.S. y SILVER, M. "Effect of cortisol on liver glycogen concentration in hypo-

- physectomized, adrenalectomized and normal fetal lambs during late or prolonged gestation", *J. Physiol.*, 275, 567, 1978
- BASSET, J.M. y MADILL, L. "The influence of maternal nutrition on plasma hormones and metabolites concentration of fetal lambs", *J. Endocrinol.*, 61, 465, 1974
- BATTAGLIA, F.C., MESCHIA, G., BLECHNER, J.N. y BARRON, D.H. "The free myo-inositol concentration of adult and fetal tissues of several species", *Quart. J. Exptal. Physiol.*, 46, 188, 1961
- BATTAGLIA, F.C., FREDERICK, C., MESCHIA, G., MAKOWSKI, E. y BOWES, W. "The effect of maternal oxygen inhalation upon fetal oxygenation", *J. Clin. Invest.*, 47, 548, 1968
- BATTAGLIA, F.C., FREDERICK, C. y MESCHIA, G. "Fetal metabolism and substrate utilization", En: *Proceedings of the Sir Barcroft Centenary Symposium*, págs. 382-397, K.S. Comline y K.W. Cross (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, 1973
- BATTAGLIA, F.C. y MESCHIA, G. "Principal substrates of fetal metabolism", *Physiol., Rev.*, 58: 499, 1978
- BEATON, G.H., BEARE, J., RYU, M.H. y Mac HENRY, E.W. "Protein metabolism in the pregnant rat", *J. Nutr.*, 54, 291, 1954
- BERGMAN, E.N. "Quantitative aspects of glucose metabolism in pregnant rat and nonpregnant sheep", *Amer. J. Physiol.*, 204, 147, 1963
- BIEZENSKI, J.S. "Incorporation of  $^{14}\text{C}$ -1-palmitate into rabbit fetal lipids in vivo", *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 126, 356, 1976

- BODANSKY, M. y DUFF, V.B. "Effects of parathyroid deficiency and calcium and phosphorus of the diet on pregnant rats", J. Nutr., 21, 179, 1941a
- BODANSKY, M y DUFF, V.B. "Dependence of fetal growth and storage of calcium and phosphorus on the parathyroid function and diet on pregnant rats", J. Nutr., 22, 25, 1941b
- BOHMER, T., HAVEL, R.J. y LONG, J.A. "Physiological fatty liver and hyperlipemia in the fetal guinea pig: Chemical and ultrastructural characterization", J. Lipid Res., 13, 371, 1972
- BOHMER, T. y HAVEL, R.J. " Genesis of fatty liver and hyperlipemia in the fetal guinea pig", J. Lipid Res., 16, 454, 1975
- BOSSI, E. y GREENBERG, R.E. "Sources of blood glucose in the rat fetus", Pediat. Res., 6, 765, 1972
- BREUER, E., BARTA, E., PAPPOVA, E. y ZLATOS, L. "Developmental changes of myocardial metabolism. 1. Peculiarities of cardiac carbohydrate metabolism in the early postnatal periods in dogs", Biol. Neonate, 11, 367, 1967
- BURCH, H.B. "Metabolite levels as indicators of changes during growth and development", Biol. Neonate, 9, 176, 1966
- CAHILL, G.F. "Starvation in man", N. Eng. J. Med., 282, 668, 1970
- CAHILL, G.F., HERRERA, M.G., MORGAN, A.P., SOELDNER, J.S., STEINKE, J., LEVY, P.L., REICHARD, G.A. y KIPNIS, P.M. "Hormone fuel interrelationships during fasting", J. Clin. Invest., 45, 1751, 1966
- CALLIKAN, S. y GIRARD, J.R. "Perinatal development of gluconeogenic enzymes in the liver of the rabbit", Biochem. Soc. Transac., 6 (en prensa)

- CHAR, V.C. y CREASY, R.K. "Lactate and piruvate as fetal metabolic substrates", *Pediat. Res.*, 10, 231, 1976a
- CHAR, V.C. y CREASY, R.K. "Acetate as metabolic substrate in the fetal lamb", *Amer.J. Physiol.*, 230, 357, 1976b
- CLAPP, J.F., ABRAMS, R.H., CATON, D., COTTER, J.R. y BARRON, D.H. "Fetal oxigen consumption in late gestation", *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 56, 137, 1971
- COHNSTEIN, J. y ZUNTZ, N. "Untersuchungen über das blut den Kleislang und die athmung beim säugethier fötus", *Pflugers Arch. ges. Physiol.*, 34, 173, 1884
- COMLINE, R.S. y SILVER, M. "A comparative study of blood gas tensions, oxygen affinity and red cells 2,3, DPG concentrations in fetal and maternal blood in the mare, cow and sow", *J. Physiol.*, 242, 805, 1974
- COMLINE, R.S. y SILVER, M. "Placental transfer of blood gases", *Brit. Med. Bull.*, 31, 25, 1975
- COMLINE, R.S. y SILVER, M. "Some aspects of fetal and utero-placental metabolism in cows with indwelling umbilical uterine vascular catheters", *J. Physiol.*, 260, 571, 1976
- CRUMPLER, H.R., DENT, C.E. y LINDON, O. "The amino acid pattern in human fetal and maternal plasma at delivery", *Biochem. J.*, 47, 223, 1970
- CURET, L.B. "Physiological aspects of amino acid transport across the placenta", *Clin. Obstet. Gynecol.*, 13, 586, 1970
- DANCIS, J.V., JANSES, L. y LEVITZ, M. "Transfer across perfused human placenta. IV. Effect of protein binding in free fatty acids", *Pediat. Res.*, 10, 5, 1976

- DANCIS, J., HONEY, W.L., SPRINGER, D. y LEVITZ, M.  
"Transport of amino acids by placenta", Amer.  
J. Obstet. Gynecol., 101, 820, 1968
- DAWES, G.S. "Energy metabolism in the fetus and after  
birth", En: Fetal and Neonatal Physiology, págs.  
210-222, Year Book Med. Pub. Chicago, 1968
- DOLE, V.P. y MEINERTZ, M. "Microdetermination of non  
esterified fatty acids in plasma and tissues",  
J. Biol. Chem., 235, 2549, 1960
- DUM, A., CHENOWETZ, M. y SHAEFER, I.D. Biochemistry,  
6, 6, 1967
- DUPUIS, Y., DIGAUD, A., GAMBIER, Y. y FOURNIER, P.  
"Quelques effets, chez le rat, du traitement par  
la vitamine D et par la lactose d'une carence  
chronique en facteurs d'utilisation du calcium",  
Path. Biol., 21, 397, 1973
- EDSON, J.L., HUDSON, D.G. y HULL, D. "Evidence for in-  
creased fatty acid transfer across the placenta  
during a maternal fast in rabbits", Biol. Neonate,  
27, 50, 1975
- ELLIOT, J.A. "The effect of pregnancy on the control  
of lipolysis in fat cells isolated from human  
adipose tissue", Eur. J. Clin. Invest., 5, 159,  
1975
- ELPHICK, M.C., HUDSON, D.G. y HULL, D. "Transfer of  
fatty acid across the rabbit placenta", J. Phy-  
siol., 252, 29, 1975
- ELPHICK, M.C. y HULL, D. "The transfer of free fatty  
acids across the rabbit placenta. J. Physiol.,  
264, 751, 1977
- EVERETT, J. "The mammalian female reproductive cycle and  
its controlling mechanisms", En: Sex and Internal

- secretions, págs. 497-555, W.C. Young (ed.), Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1961
- FAIM, J.N. y SCOW, R.O. "Fatty acid synthesis in vivo in maternal and fetal tissues in the rat", Amer. J. Physiol., 210, 19, 1966
- FEE, B.A. y WEIL, W.B. "Body composition of infants of diabetic mothers by direct analysis", Ann. N.Y. Acad. Sci., 110, 868, 1963
- FELIG, P. "Maternal and fetal fuel homeostasis in human pregnancy", Amer. J. Clin. Nutr., 26, 998, 1973
- FELIG, P., PLZEFSKY, T., MARLISS, E. y CAHILL, G.F. "Alanine: Key role in gluconeogenesis", Science, 167, 1003, 1970
- FELIG, P., OWEN, O.E., WAHAREN, J. y CAHILL, G.F. "Amino acid metabolism during prolonged starvation", J. Clin. Invest., 48, 584, 1969
- FELIG, P., Kim, Y.J., LYNCH, V. y HENDLER, R., "Amino acid metabolism during starvation in human pregnancy", J. Clin. Invest., 51, 1195, 1972
- FISHER, P.M., HAMILTON, P.M., SUTHERLAND, H.W. y STOWERS, J.M. "The effect of gestation on intravenous glucose tolerance in women", J. Obstet. Gynecol. Brit. Commonw., 81, 285, 1974
- FORD, E.J.H. "Glucose utilization in pregnant sheep", J. Clin. Invest., 38, 427, 1963
- FREINKEL, N. "Effects on the conceptus on maternal metabolism during pregnancy", En: On the Nature and Treatment of Diabetes, págs. 679-690, C.S. Liebel y G.A. Wrenshall (eds.), Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1965
- FREINKEL, N., HERRERA, E., KNOPP, R.H. y RUDER, H.J. "Metabolic realignments in late pregnancy: A clue to diabetogenesis", En: Early Diabetes, págs. 205-219, Academic Press, Nueva York, 1969

- FREINKEL, N., PHELPS, R. y METZGER, B.E. "Intermediary metabolism during normal pregnancy", En: Carbohydrate metabolism in pregnancy, H.W. Sutherland y J.M. Stowers (eds.), Springer-Verlag, 1979, en prensa
- FREINKEL, N., METZGER, B.E., HERRERA, E., AGNOLI, F. y KNOPP, R. "The effect of pregnancy on metabolic fuels", En: Diabetes, págs. 656-666, R.R. Rodriguez and J. Wallance-Owen, (eds.), Excerpta Medica, Amsterdam, 1971
- FREINKEL, N., METZGER, B.E., NITZAN, M., HARE, J.W., SHAMBAUGH, G.E., MARSHALL, R.T., SURMACZYNSKA, B.Z. y NAGEL, T.C. "Accelerated starvation and maternal nitrogen during pregnancy", Israel J. Med. Sci., 8, 426, 1972
- FREINKEL, N., METZGER, B.E., NITZAN, M., DANIEL, R. SURMACZYNSKA, B.Z. y NAGEL, T.C. "Facilitated ana-bolism in late pregnancy: Some novel maternal compensations for accelerated starvation", En: Diabetes, págs. 474-488, J.W. Malaisse y J. Pirart (eds.), Excerpta Medica, Amsterdam, 1974
- FREIDMAN, R., PAPIERNIK, E., GIRARD, J.R. y ASSAN, R. En: Perinatal Medicine, G. Rooth y L.E. Bratteby (eds.), Almquist y Wiksell, Stockolm, 1976
- GAULL, G.E., HOMMES, F.A. y ROUX, J.F. "Human biochemical development", págs. 908-1110, En: Human Growth. A Comprehensive Treatise, F. Falkner y J.M. Tanner (eds.), Plenum Press, Nueva York, 1977
- GILBERT, M. "Origin and metabolic fate of plasma glycerol in the rat and rabbit fetuses", Pediat. Res., 11, 95, 1977
- GILBERT, M. "Etudes sur le métabolisme glucidique de la ratte gestante et de ses foetus", Thèse de Doctorat, Universite Paris VI, 1978, 165 págs.
- GILBERT, M. y VAILLANT, R. "Côntrôle de la synthèse du glycogène dans le foie foetal de rat", Biochimie, 57, 597, 1975



- GIRARD, J.R. "Metabolic fuels of the fetus", Israel J. Med. Sci., 11, 591, 1975
- GIRARD, J.R., CUENDET, C.S., MARLISS, E., KERVRAN, A., RIENTORT, M. y ASSAN R. "Fuels, hormones and liver metabolism at term and during the early postnatal period in the rat", J. Clin. Invest., 52, 3190, 1973
- GIRARD, J.R., KERVRAN, A., SOUFLET, E. y ASSAN, R. "Factors affecting the secretion of insulin and glucagon by the rat fetus", Diabetes, 23, 310, 1974
- GIRARD, J.R., FERRE, P. y GILBERT, M. "Regulation du métabolisme énergétique pendant la période périnatale", Diabète Métab., 1, 241, 1975
- GIRARD, J.R., RIENTORT, M., KERVRAN, A. y Jost, A. "Hormonal control of fetal growth" En: Perinatal Medicine, págs. 197-202, G. Rooth y L.E. Bratteby (eds.), Almquist y Wicksell, Stockholm, 1976
- GIRARD, J.R., FERRE, P., GILBERT, M., KERVRAN, A., ASSAN. R., y MARLISS, E. "Fetal metabolic response to maternal fasting in the rat", Amer.J. Physiol., 232, E456, 1977
- GIRARD, J.R. y PINTADO, E. "Le métabolisme énergétique pendant la gestation", Rev. Franc. de Dietet., 85, 15, 1978
- GIRARD, J.R., PINTADO, E. y FERRE, P. "Fuel metabolism in the mammalian fetus", Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 19, 181, 1979
- GRESHAM, E.L., SIMMON, P.S. y BATTAGLIA, F.C. "Maternal-fetal urea concentration differences in man: Metabolic significance", J. Pediat., 79, 809, 1971

- GRUMBACH, M.M., KAPLAN, S.L., SCIARRA, J.J. y BURR, I.M.  
"Chorionic growth hormone prolactin (CGP) secretion, disposition, biologic activity in man and postulated function as growth hormone of the second half of pregnancy", *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 148, 501, 1965
- HAMOSH, M., CLARY, T.R., CHERMICK, S.S. y SCOW, R.O.  
"Lipoprotein lipase activity of adipose tissue and mammary tissue and plasma triglyceride in pregnant and lactating rats", *Biochim. Biophys. Acta*, 210, 473, 1970
- HANSON, R.V., RESHET, L., y BALLARD, F.J. "Hormonal regulation of hepatic P-enolpyruvatecarboxykinase during development", *Fed. Proc.*, 34, 166, 1975
- HAOUR, F. y BERTRAND, J. "Insulin receptors in the plasma membranes of human placenta", *J. Clin. Endocr. Metab.*, 38, 334, 1974
- HERRERA, E. "Metabolismo intermediario durante el embarazo", *Investigación y Ciencia*, 14-24, abril, 1978
- HERRERA, E., KNOPP, R.H. y FREINKEL, N. "Carbohydrate metabolism during pregnancy", IV. Plasma fuels, insulin, liver composition, gluconeogenesis, and nitrogen metabolism during late gestation in the fed and fasted rat", *J. Clin. Invest.*, 48, 2260, 1969
- HO, R.J. "Radiochemical assay of long chain fatty acids using  $^{63}\text{Ni}$  as tracer", *Analyt. Biochem.*, 36, 105, 1970
- HUDSON, D.G. y HULL, D. "Uptake and metabolism of  $^{14}\text{C}$ -palmitate by fetal rabbit tissues", *Biol. Neonate*, 31, 316, 1977

- HUDSON, D.G., HELPHICK, M.C. y HULL, D.H. "Distribution of label in maternal plasma, placenta, fetal plasma and tissues after injection of  $^{14}\text{C}$  palmitate into the circulation of 21 and 28 day pregnant, rabbits", *Biol. Neonate*, 32, 290, 1977
- HUGGET, A.S. y NIXON, D.A. "Use of glucose oxidase peroxidase and o-dianisidine in determination of blood and urinary glucose, *Lancet*, 2, 368, 1957
- HULL, D. "The function and development of adipose tissue", En: *Scientific Foundations of Pediatrics*, págs. 440-445, J.A. Davis y J. Dobbing (eds.), Heineman, Londres, 1974
- HYTTEN, F.E. y LEICHT, I. "The Physiology of human pregnancy", segunda edición, Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1971, 369 págs.
- ILIFFE, J., KNIGHT, B.L. y MYANT, N.B. "Fatty acid synthesis in the brown fat and liver of foetal and newborn rabbits", *Biochem. J.*, 134, 341, 1973
- JAMES, E.J., RAYE, J.R., GRESHAM, E.L. MAKOWSKI, E.L. MESCHIA, G. y BATTAGLIA, F.C. "Fetal oxygen consumption, carbon dioxide production and glucose uptake in a chronic sheep preparation", *Pediatrics*, 50, 361, 1972
- JONES, C.T. "The development of lipogenesis in the fetal guinea pig", En: *Fetal and Neonatal Physiology*, Págs. 403-409, K. Comline, K.W. Cross, G.S. Dawes y Nathanielsz, P.W. (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, 1973
- JONES, C.T. "Lipid metabolism and mobilization in the guinea pig during pregnancy", *Biochem. J.*, 156, 357, 1976a

- JONES, C.T., "Fetal metabolism and fetal growth", *Reprod. Fertil.*, 47, 189, 1976b
- JONES, C.T. y ASHTON, I.K. "Lipid biosynthesis in liver slices of the fetal guinea pig", *Biochem. J.*, 154, 149, 1976
- JONES, C.T. y FIRMIN, W. "Lipid synthesis in vivo by tissues of the maternal and fetal guinea pig", *Biochem. J.*, 154, 159, 1976
- JONES, M.D., BURD, L., MAKOWSKI, A., MESCHIA, G. y BATTAGLIA, F.C. "Cerebral metabolism in the sheep: A comparative study of the adult, the lamb and the fetus", *Amer. J. Physiol.*, 229, 235, 1975
- JONXIS, J.H.P., VAN DEN VENGT, J.J., DE GROOT, C.J., BOERSMA, E.R. y MEIJERS, E.D.K. "The metabolic rate in premature, dysmature and sick infants in relation to enviromental temperature", En: *Aspects of prematurity and dysmaturity*, págs. 201-209, J.H.P. Jonxis, H.K.A. Visser y J.A. Troelstra (eds.), Charles C. Thomas, Springfield, Ill. 1967
- JOST, A. "Le rôle des hormones foetales dans la croissance du foetus", *J. Physiol. (Paris)*, 73, 877, 1977
- JOST, A. y PICON, L. "Influence de la thyroïdectomie du foetus du lapin sur le teneur de son corps en lipides et en azote", *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 246, 1281, 1958
- JOST, A. y PICON, L. "Hormonal control of fetal development and metabolism", *Adv. Metab. Dis.*, 4, 123, 1970
- KALKOFF, R.K., JACOBSON, M. y LEMPER, D. "Progesterone, pregnancy and the augmented plasma insulin response", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 31, 24, 1970

- KATZ, J., ROSTAMI, H. y DUNN, A. "Evaluation of glucose turnover, body mass and recycling with reversible and irreversible tracers", *Biochem. J.*, 142, 161, 1974a
- KATZ, J., DUNN, A., CHEMOWETH, M. y GOLDEN, S. "Determination of synthesis, recycling and body mass of glucose in rabbits and rats in vivo with  $^3\text{H}$  and  $^{14}\text{C}$  labelled glucose", *Biochem. J.* 142, 171, 1974b
- KLEIBER, M. "Body size and metabolic rate", *Physiol. Rev.*, 27, 511, 1947
- KNOPP, R.H. "Fuel metabolism in pregnancy", *Contempor. Obstet. Gynecol.*, 12, 83, 1978
- KNOPP, R.H., HERRERA, E. y FREINKEL, N. "Carbohydrate metabolism in pregnancy. VIII. Metabolism of adipose tissue isolated from fed and fasted pregnant rats during late gestation", *J. Clin. Invest.*, 49, 1483, 1970
- KNOPP, R.H., SAUDEK, C.D., ARKY, R.A. y O'SULLIVAN, J.B. "Two phases of adipose tissue metabolism in pregnancy: Maternal adaptation for fetal growth", *Endocrinology.*, 92, 984, 1973
- KNOPP, R.H., BOROUSH, M.A. y O'SULLIVAN, J.B. "Lipid metabolism in pregnancy. II. Postheparin lipolytic activity and hypertriglyceridemia in the pregnant rat", *Metabolism*, 24, 281, 1975
- KOREN, Z. y SHAFRIR, E. "Placental transfer of FFA in the pregnant rat", *Proc. Soc. Exptal. Biol. Med.*, 116, 411, 1964
- KÜHL, C. y HOLST, J.J. "Plasma glucagon and insulin: Glucagon ratio in gestational diabetes", *Diabetes*, 25, 16, 1976

- LEFEVBRE, P. "Glucagon and lipid metabolism", En: Glucagon, págs, 109-121, P.J. Lefevbre y R.H. Unger (eds.), Pergamon Press, Oxford, 1972
- LEMONS, J.A., ADCOCK, E.W., JONES, M.D., NAUGHTON, N. A. MESCHIA, G. y BATTAGLIA, F.C. "Umbilical uptake of amino acids in the unstressed fetal lamb", J. Clin. Invest., 58, 1428, 1976
- LIND, T., BILLEWICZ, W.Z. y BROWN, G. "A serial study of changes occurring in the oral glucose tolerance test during pregnancy", J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth., 80, 1033, 1973
- LOESER, A., Archs. Gynak., 148, 118, 1932. Citado por Burd, L.I. y col. Nature, 254, 710, 1975
- MAC DONALD, M., MEUFELDT, N., PARK, B.N., BERGER, M. y RUDERMAN, N. "Alanine metabolism and gluconeogenesis in the rat", Amer.J. Physiol., 231, 619, 1976
- MARSHALL, R.N., UNDERWOOD, L.E., VOINA, S.J. FONSHÉE, D.B. y VAN WYK, J.J. "Characterization of the insulin and somatomedine-C receptors in human placental cell membranes", J. Clin. Endocrinol. Metab., 39, 283, 1974
- MALLOW, S. y ALOUSI, A.A. "Lipoprotein lipase activity of rat and human placenta", Proc. Soc. exp. Biol. Med., 119, 301, 1965
- MC DONALD-GIBSON, R.G., YOUNG, M. y HYTTEN, F.E. "Changes in plasma nonesterified fatty acids and serum glycerol in pregnancy", Brit. J. Obstet. Gynaecol., 82, 460, 1975
- MELLAMBY, J. y WILLIAMSON, D.H. "3OH Butirate and Acetate", En: Methods of Enzymatic Analysis, Págs. 1836-1843, H.V. Bergmeyer (ed.), Academic Press, Nueva York, 1974

- MESCHIA, G., COTTER, J.R., BREATHNACH, P. y BARRON, D.H.  
"Simultaneous measurement of uterine and umbilical blood flows and oxygen uptake", *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 52, 1, 1967
- METZGER, B.E., HARE, J.W. y FREINKEL, N. "Carbohydrate metabolism in pregnancy. IX. Plasma levels of gluconeogenic fuels during fasting in the rat", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 33, 869, 1971
- METZGER, B.E., HARE, J.W., HINSDALE, E. y FREINKEL, N.  
"Glucose kinetics and the role of insulin during the hypoglycemia of fasting in late pregnancy"  
*Diabetes*, 23, 342, 1974a
- METZGER, B.E., PEK, S., HARE, J. y FREINKEL, N. "Relationships between glucose, insulin and glucagon during fasting in late gestation in the rat", *Life Sci.*, 15, 301, 1974b
- MILNER, R.D.G., FEKETE, M., ASSAN, R. y HODGE, J.S.  
"Effect of glucose on plasma glucagon, growth hormone and insulin in exchange transfusión", *Arch. Dis. Child.*, 47, 179, 1972
- MORRIS, R.N., BOYD, R.D., MAKOWSKI, E.L., MESCHIA, G. y BATTAGLIA, F.C. "Glucose/oxygen quotient across the hind limb of fetal lambs", *Pediat. Res.*, 7, 794, 1973
- MORRIS, F.H., ROSENFELD, C.R., RESNIK, R., MESCHIA, G., MAKOWSKI, E.L. y BATTAGLIA, F.C. "Growth of uterine oxygen and glucose uptakes during pregnancy in sheep", *Gynecol., Invest.*, 5, 230, 1974
- MURLIN, J.R. "The metabolism of development", *Amer. J. Physiol.*, 26, 134, 1910
- MURPHEY, J.B. y HAWKINS, J.A. *J. gen. Physiol.*, 8, 115, 1925. Citado por Burd y col. *Nature*, 254, 710, 1975

- NEWSHOLME, E.A. y START, C. "Regulation in metabolism",  
Johns Willey and Sons, Nueva York, 1973
- OWEN, O.E., MORGAN, A.P. y KEMP, A.P. "Brain metabolism  
during fasting", J. Clin. Invest., 46, 1589, 1967
- PASSONEAU, J.W. "Lactate", En: Methods of enzymatic  
analysis, págs. 1468-1472, H.V. Bergmeyer (ed.)  
Academic Press, Nueva York, 1974
- PASSONEAU, J.W. y LOWRY, D.H. "Piruvate", En: Methods  
of enzymatic analysis, págs. 1452-1456, H.V. Berg-  
meyer (ed.), Academic Press, Nueva York, 1974
- PATEL, M.S. y HANSON, R.W. "Lipogenesis in developing  
guinea pig liver", Mechanisms Ageing Develop.,  
3, 65, 1974
- PEARCE, P.H., BUIRCHELL, B., WEAVER, P.H. y OLIVER, I.T.  
"The development of phosphoenolpyruvate carboxylase  
and gluconeogenesis in neonatal rats", Biol. Neonate,  
24, 320, 1974
- PEDERSEN, J. "The pregnant diabetic and her newborn",  
segunda edición, Munscard, Copenhagen, 1977
- PICARD, C., OOMS, H.A., BALASSE, E. y CONRAD, V. "Effect  
of normal pregnancy on glucose assimilation, insu-  
lin and nonesterified fatty acid levels", Diabeto-  
logia, 4, 16, 1968
- PICON, L. y JOST, A. "Teneur du corps en lipides et en  
protides chez le foetus de rat et de lapin et chez  
le rat nouveau-né", C.R. Soc. Biol., (Paris), 157,  
1368, 1963
- POO, L.J., LEW, W. y ADDIS, F. "Protein anabolism of  
organs and tissues during pregnancy and lactation",  
J. Biol. Chem., 128, 69, 1939
- PORTHA, B., LE PROVOSTE, E., PICON, L. y ROSSELIN, G.  
"Postmaturity in the rat: phosphorilase glucose-6-  
phosphatase and phosphoenolpiruvate carboxikinase



- activities in the fetal liver", *Horm. Metab. Res.*, 10, 141, 1978
- POSNER, B. "Insulin-placental interactions", En; Early diabetes y early life, R. Camerini-Davalos y H.S. Cole (eds.), págs. 257-265, Academic Press, Nueva York, 1975
- PRIOR, R.L. y CHRISTENSEN, R.K. "Gluconeogenesis from alanine in vivo by the ovine fetus and lamb", *Amer. J. Physiol.*, 233, E462, 1977
- PRIOR, R.L. y SCOFF, R.A. "Ontogeny of gluconeogenesis in the bovine fetus: Influence of maternal dietary energy", *Develop. Biol.*, 58, 384, 1977
- RABAIN, F. y PICON, L. "Effect of insulin on the materno-fetal transfer of glucose in the rat", *Horm. Metab. Res.*, 6, 376, 1974
- RAGHUNATHAN, R. y ARINZE, I.J. "Perinatal development of gluconeogenesis in guinea pig liver", *Int. J. Biochem.*, 8, 737, 1977
- RAYE, J.R., KILLAM, A.P., BATTAGLIA, F.C., MAKOWSKI, E.J. y MESCHIA, G. "Uterine blood flow and CO<sub>2</sub> consumption following fetal death in sheep", *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 111, 917, 1971
- REMESY, C., DEMIGNE, Y. y AUFRERE, J. "Interorgan relationships between glucose, lactate and aminoacids in rats fed on high-carbohydrate or high-protein diets", *Biochem. J.* 170, 321, 1978
- ROUX, J.F. y YOSHIOKA, T. "Lipid metabolism in the fetus during development", *Clin. Obstet. Gynecol.*, 13, 595, 1970
- RUDERMAN, N.B., HONTHON, C.R.S. y HENS, R. "Evaluation of the isolated perfused rat hindquarter for the study of muscle metabolism", *Biochem. J.*, 124, 636, 1971

- RUDERMAN, N.B., FRIEDERICH, W.S. y GOODMAN, H.N. "Regulation of alanine formation and release in rat muscle in vivo: effect of starvation and diabetes", *Amer. J. Physiol.*, 233, E109, 1977
- SABATA, V., WOLF, H. y LANSMAN, S. "The role of free fatty acids, glycerol, ketone bodies and glucose in the energy metabolism of the mother and fetus during delivery", *Biol. Neonate*, 13, 7, 1968.
- SAUDEK, C.D., FINKOWSKI, M. y KNOPP, R.H. "Plasma glucagon and insulin in rat pregnancy: Roles in glucose homeostasis", *J. Clin. Invest.*, 55, 180, 1975
- SCHREINER, R.L., BURD, L.I., JONES, M.D., LEMONS, J.A. SHELDON, R.E., SIMMONS, M.A., BATTAGLIA, F.C. y MESCHIA, G. "Fetal metabolism in fasting sheep", En: *Fetal and Newborn circulation*, págs. 197-222, L.D. Longo y D.D. Reneau (eds.), Garland STPM Press, Nueva York, 1978
- SCOW, R.O., CHERNICK, S.S. y SMITH, B.B. "Ketosis in the rat fetus", *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 98, 833, 1958
- SCOW, R.O., CHERNICK, S.S. y BRINLEY, M.S. "Hyperlipemia and ketosis in the pregnant rat", *Amer. J. Physiol.*, 206, 796, 1964
- SHAMBAUGH, G.E. "Adaptative response of the fetal liver: A mechanism for fuel economy during maternal fasting", *J. Clin. Res.*, 25, 624, 1977
- SHAMBAUGH, G.E. y FREINKEL, N. "Effect of ketonemia during pregnancy upon fuel homeostasis in the conceptus", *Clin Res.*, 24, 504, 1976
- SHAMBAUGH, G.E., MROSAK, S.C. y FREINKEL, N. "Fetal fuels. I. Utilization of ketones by isolated tissues at various states of maturation and maternal nutrition during late gestation", *Metabolism*, 26, 623, 1977a

- SHAMBAUGH, G.E., KOEHLER, R.A. y FREINKEL, N. "Fetal fuels. II. Contributions of selected carbon fuels to oxidative metabolism in rat conceptus", *Amer. J. Physiol.*, 233, E457, 1977b
- SHELLEY, H. J. "Glycogen reserves and their changes at birth and in anoxia", *Brit. med. Bull.*, 17, 137, 1961
- SHELLEY, H.J. "The use of chronically catheterized fetal for study of fetal metabolism", En: *Fetal and Neonatal Physiology*, págs. 360-381, K.S. Comline, K.W. Cross, G.S. Dawes y P.W. Nathanielsz (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, 1973
- SHIPLEY, R.A. y CLARK, R.E. "Tracer methods for in vivo kinetics: Theory and applications", Academic Press, Nueva York, 1972
- SILVER, M. "Fetal energy metabolism", En: *Fetal Physiology and Medicine. The Basis of Perinatology*, págs. 173-193, R.W. Beard y P.W. Nathanielsz (eds.), W.B. Saunders, Londres, 1976
- SILVER, M., STEVEN, D.H. y COMLINE, R.S. "Placental exchange and morphology in ruminants and mare", En: *Fetal and Neonatal Physiology*, págs. 245-267, R.X. Comline, K.W. Cross, G.S. Dawes y P.W. Nathanielsz (eds.), Cambridge University Press, Londres, 1973
- SILVER, M. y Comline, R.X. "Fetal and placental O<sub>2</sub> consumption and the uptake of different metabolites in the ruminant and horse during late gestation", En: *Oxygen Transport to Tissue*, págs. 731-752, D.D. Reneau y J. Crote (eds.), Plenum Press, Nueva York, 1976
- SILVERSTONE, F.A., SOLOMONS, E. y RUBRIENS, J. "The rapid intravenous glucose tolerance test in pregnancy", *J. Clin. Invest.*, 40, 2180, 1961
- SPECKMAN, D.H., STEIN, W.H. y MOORE, S. "Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins", *Anal. Chem.*, 30, 1190, 1958

- SIMMONS, M.M., JONES, M.D., BATTAGLIA, F.C. y MESCHIA, G. "Insulin effect on fetal glucose utilization" *Pediat. Res.*, 12, 90, 1978
- STEEL, J.W. y LENG, R.A. "Effects of plasme of nutrition and pregnancy on gluconeogenesis in sheep", *Brit. J. Nutr.*, 30, 451, 1973
- SUTTER, M.T., LEDERCO, R., FELIX, J.M., JACQUOT, R. y SUTTER, B. Ch. J. "Serum progesterone and inmuno-reactive insulin levels in the pregnant rat", *Horm. Metab. Res.*, 5, 18, 1973
- SZABO, A.J. y GRIMALDI, R.D. "Palmitate transport across perfused human placenta", *Metabolism*, 18, 406, 1969
- SZABO, A.J. y GRIMALDI, R.D. " The metabolism of the placenta", *Adv. Metab. Dis.*, 4, 185, 1970
- SZABO, A.J. y SZABO, O. "Placental free fatty acid transfer and fetal adipose tissue development: an explanation of fetal adiposity in infants of diabetic mothers", *Lancet*, 2, 498, 1974
- TEPPERMAN, J. "Fisiología metabólica y endocrina", Tercera edición, Interamericana, Mexico, 1975, 255 págs.
- WARNES, D.M., SEAMARK, R.F. y BALLARD, F.J. "Metabolism of glucose, fructose and lactate in vivo in chronically cannulated fetuses and in suckling lambs", *Biochem. J.*, 162, 617, 1977a
- WARNES, D.M., SEAMARK, R.F. y BALLARD, F.J. "The appearance of gluconeogenesis at birth in sheep. Activation of the pathway associated with blood oxigenation", *Biochem. J.*, 162, 627, 1977b
- WARTH, M.R., ARKY, R.A. y KNOPP, R.H. "Lipid metabolism in pregnancy. III. Altere lipid composition in intermediate, very low, low and high density lipoproteins fractions", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41, 649, 1975

- WIDDOWSON, E.M. "Growth and composition of the fetus and newborn", En: *Biology of Gestation*, págs. 1-49, N.S. Assali (ed.), Academic Press. Nueva York, 1968
- WIELAND, O. "Glycerol", En: *Methods of Enzymatic Analysis*, págs. 1679-1682, H.V. Bergmeyer (ed.), Academic Press, Nueva York, 1974
- WILLIAMSON, D.H. "Alanine" En: *Methods of Enzymatic Analysis*, págs. 1679-1682, H.V. Bergmeyer (ed.), Academic Press, Nueva York, 1974
- WILLIAMSON, D.H. "Regulation of the utilization of glucose and ketone bodies by brain in the perinatal period", En: *Early diabetes in early life*, págs. 195-202, R.A. Camerini-Davalos, y H.S. Cole (eds.), Academic Press, Nueva York, 1975
- YAMAMOTO, H., AIKAWA, T., MATSUTAKA, H. y ISHIKAWA, E. "Relative uptake of plasma amino acids by fetal and tumor tissues", *Metabolism*, 23, 1017, 1974a
- YAMAMOTO, H., AIKAWA, T., MATSUTAKA, H., OKUDA, T. y ISHIKAWA, E. "Interorganal relationships of amino-acid metabolism in fed rats", *Amer. J. Physiol.*, 226, 1428, 1974b
- YOUNG, J.K. y FELIG, P. "Maternal and amniotic fluid substrate levels during caloric deprivation in human pregnancy", *Metabolism*, 21, 507, 1972
- YOUNG, M. y HILL, P.M. "Free amino acid transfer across the placenta membrane", En: *Fetal and Neonatal Physiology*, págs. 329-338, K.S. Comline, K.W. Cross, G.S. Dawes y P.W. Nathanielsz, Cambridge University Press, Cambridge, 1973
- YOUNG, V.R. y SCRIMSHAW, N.S. "The physiology of starvation", *Scientific American*, 225, 14, 1971