

Cod. 077085238

# Universidad de Guadalajara

---

Facultad de Ciencias Biológicas



Efecto de la Restricción Proteica en el  
Ciclo Sexual de la Rata

Tesis Profesional

para obtener el Título de:

Licenciado en Biología

Presenta:

Ma. Estela Martínez Huerta

Director de Tesis: M. en C. Alma Rosa del Angel M.

Guadalajara, Jal., 1992

## INDICE

I.-	INTRODUCCION - - - - -	1
II.-	ANTECEDENTES - - - - -	3
	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA - - - - -	12
III.-	HIPOTESIS - - - - -	14
IV.-	OBJETIVOS - - - - -	15
	OBJETIVO GENERAL	
	OBJETIVOS PARTICULARES	
V.-	MATERIAL Y METODOS - - - - -	16
VI.-	RESULTADOS - - - - -	18
	TABLAS Y FIGURAS - - - - -	21
VII.-	DISCUSION - - - - -	28
VIII.-	CONCLUSIONES - - - - -	33
IX.-	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS - - - - -	34

## INTRODUCCION

La nutrición es un fenómeno universal de los seres vivos, del cual dependen el resto de las funciones del organismo, una nutrición suficiente, exagerada o deficiente afecta por ende el resto de las funciones del organismo que van a estar determinadas, tanto por la cantidad, como por la calidad y las transformaciones metabólicas que sufren los alimentos, así como por la necesidad de los nutrientes.

Igual que los pueblos del Viejo Mundo transformaron sus hierbas nativas en trigo, cebada, centeno, avena y mijo; en el Nuevo Mundo gracias al desarrollo de la agricultura, la única hierba silvestre que fué transformada en grano para la alimentación fué el *Zea mays*.

Desde Chile hasta el valle de San Lorenzo, en Canadá, una u otra de las 150 variedades del maíz indio constituye la dieta básica de los pueblos precolombinos. Un gran logro de la agricultura precolombina fué el desarrollo del complejo maíz-frijol-calabaza suplementada por chile y la recolección de un gran número de plantas y frutas silvestres que además de dar variedad a su alimentación la hacían más nutritiva y agradable al gusto.

La dieta que predomina en la mayor parte de la población rural en México resulta de un regimen de producción para autoconsumo,

es decir, se basa en la producción familiar o en la producción comunal, la cuál está constituida principalmente por el maíz -habitualmente en forma de tortilla- casi siempre acompañada de frijol (en cantidad insuficiente), chile y algunas verduras. Esta dieta presenta algunas deficiencias en cuanto a proteína de alta calidad, hierro, retinol, riboflavina, ácido ascórbico y cobalamina; aunque es rica en energía, a largo plazo llega a ser poco atractiva y se ingiere en cantidades insuficientes. De esta manera la población rural tiene mayor riesgo de padecer deficiencias nutricionales que la población urbana (aproximadamente 2:1).

El estudio de la nutrición animal tiene gran importancia en relación con la dieta humana, pero hay aspectos que son particulares en cada especie, con el uso de modelos animales apropiados, se formulan principios que simulen el aspecto metabólico y nutricional de los humanos.

Ratas, ratones, cerdos, primates entre otras son las especies utilizadas principalmente; de los resultados obtenidos se han descrito deficiencias proteicas en la vida intrauterina y el desarrollo del cerebro, la acción de los aminoácidos, enzimas, minerales y vitaminas, las carencias durante el crecimiento, los efectos en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas.

## ANTECEDENTES

En el epitelio vaginal bajo cambios cíclicos producidos en la maduración del folículo ovárico, se facilita el crecimiento y maduración de las células superficiales. En la primera parte del ciclo las células parabasales maduran y crecen hasta convertirse en células cornificadas; después de la ovulación el folículo es transformado dentro del cuerpo lúteo el cuál produce Progesterona, misma que dá lugar a una disminución en el grado de maduración de las células superficiales del epitelio vaginal (1).

Estos cambios en la morfología y secreción vaginales están estrechamente relacionados, al grado de que el examen del fluido vaginal y de las células descamadas proporcionan un método confiable para determinar las etapas del mismo (2).

Este ciclo comprende una serie de cambios en el sistema reproductivo, que culmina con el estro o celo. En diversas especies de hembras maduras sexualmente se observan ciclos poliestrales a lo largo del año (3), el cuál se divide en cuatro fases, a saber:

El Proestro, es básicamente un periodo de preparación, durante el cuál crecen los folículos que están madurando y aumenta la salida de diversas hormonas a saber: Progesterona, Hormona Luteinizante (LH), Hormona Folículo Estimulante (FSH), Estrona y 17  $\beta$  Estradiol. En esta etapa, en el frotis vaginal se observan sólo

células de tipo intermedio redondeadas o naviculares con grandes núcleos y el aspecto del extendido es muy limpio.

El Estro, es el periodo de receptividad sexual o celo; la secreción de estrógenos es máxima durante esta fase; al aumentar la salida de esta hormona se inhibe la liberación de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y estimula a la Hormona Luteinizante (LH), la cuál provoca la ovulación y disminuye la secreción de estrógenos en la mayoría de las especies excepto en la vaca (3); en esta etapa del ciclo en el fluido vaginal se observan células superficiales angulares, con núcleo pequeño o sin él; y el aspecto del extendido vaginal es muy limpio.

En el Metaestro, disminuyen los niveles de la Hormona Folículo Estimulante (FSH), Hormona Luteinizante (LH) y  $17\beta$  Estradiol, solamente la Progesterona empieza a elevarse; en esta fase se encuentran algunas células de todos los tipos y los leucocitos polimorfonucleares son el componente más importante del extendido, algunas veces el aspecto es turbio, por la presencia de mucina.

En el Diestro, los niveles de Progesterona se mantienen medianamente elevados y el material del extendido es escaso; las pocas células que contiene son del tipo basal (pequeñas y nucleadas), hay algunas células superficiales degeneradas y algunas del tipo intermedio, pobremente coloreadas; se presentan además algunos leucocitos polimorfonucleares y en general, el aspecto del exten

dido no es limpio.

El diestro va seguido del proestro de un nuevo ciclo, con un nuevo incremento en la secreción de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) como consecuencia de la reducción en la salida de estrógenos (4-9).

En la mujer podemos reconocer fácilmente estas fases examinando al microscopio, las células de un raspado en la pared de la vagina (frotis o extendido vaginal) y los cambios celulares se ven también en los frotis de mamíferos y roedores (4, 6, 7, 10, 11).

Existen diversos métodos para obtener la muestra del fluido vaginal como la espátula de Ayre (1, 12, 13), una combinación de espátula de Ayre y Cepillo Cervical (14), el Cepillo Cervical (15), el Espejo Vaginal (16, 17), la pipeta Pasteur con punta roma (4), así como isopos de algodón (18).

Para identificar las etapas del ciclo, la técnica que más se ha empleado es la ideada por Papanicolaou (19), que se basa en la afinidad que tienen los diversos elementos de las células por los colorantes ácidos o básicos; así el citoplasma de las células basales, parabasales e intermedias del epitelio escamoso tienen afinidad por los colorantes básicos (EA-50) los cuales al reaccionar con dichas células las tiñen de color azul-verde o gris-verdoso; y cuya reacción se considera de tipo basófila; en cambio

el citoplasma de las células superficiales del mismo epitelio se tiñen con los colores ácidos de la solución polícroma (eosina) y el OG-6 si tienen queratina, por lo que se le considera una reacción de tipo acidófila (se tiñe de color rosa o amarillo): la cromatina nuclear (ADN) es basófila y tiene especial afinidad por la hematoxilina de tal manera que se tiñe de azul; en cambio el ARN contenido en el nucleólo es acidófila y se tiñe de rojo o naranja (17, 20).

Existen otras técnicas de tinción como son la Papanicolaou III (21); la Papamiltiades y Shorr (10); el método de Shorr (4, 22); la tinción de Lugol para preparaciones en fresco (4); así como técnicas histológicas (10, 17, 23, 24), citoquímicas e inmunohistoquímicas las cuales son una base para el análisis automatizado de las muestras biológicas en estudio (13, 25-27).

Asimismo, existen parámetros definidos para cuantificar la cantidad y tamaño de las células del frotis vaginal en cada etapa sexual, para así detectar cambios hormonales inducidos ya sea farmacológica o nutricionalmente (5, 24, 28-34).

Los estrógenos van a producir proliferación celular, y maduración del apitelio, por ello a lo largo del ciclo se pueden observar células intermedias y superficiales, mientras que en la etapa de liberación de Progesterona se observa proliferación de células basales, ya que esta hormona va a producir alteraciones morfoló-



gicas que también pueden ser evaluadas (35).

Como parámetros diferenciales para valorar estos cambios tenemos los siguientes:

- 1.- Índice de Maduración de Frost
- 2.- Valor estrogénico
- 3.- Índice de eosinofilia
- 4.- Índice de cariopcnosis
- 5.- Índice de plegamiento
- 6.- Índice de aglutinación

Los cuatro primeros sirven para valorar el efecto estrogénico y los dos últimos el efecto progestacional o luteínico (32).

Los más utilizados en la observación de los frotis vaginales son el Índice de Maduración de Frost y el Índice Cariopcnótico (1, 16, 17, 20). Experimentalmente se han utilizado diversas cepas de ratones y/o ratas debido a que presentan ciclos estrales cortos de 4 a 5 días ( 23, 24, 33, 36, 37).

A pesar de que las técnicas de tinción previamente mencionadas nos permiten inferir cambios hormonales, en forma experimental se utilizan principalmente para detección de preñez o bien para conocer los tiempos de duración de las diversas etapas del ciclo estral con objeto de mejorar la reproducción de los animales de bioterio.

La rata es la especie mejor conocida en lo que concierne a los

mecanismos hipotalámicos reguladores de su ciclo estral (38).

Ha sido demostrado que la lesión del núcleo Dorsal del Rafe altera el proceso de síntesis y liberación al torrente circulatorio de la Hormona Luteinizante (LH), en la etapa de Proestro; así como el proceso de desprendimiento del huevo que normalmente se efectúa en la mañana siguiente (39, 40).

Asimismo, ha sido demostrado que estos ciclos se detienen en un periodo si se desconecta funcionalmente a la hipófisis del hipotálamo, pero no es necesario cortar el tallo hipofisiario para observar este cambio, separar las conexiones entre la eminencia media, el hipotálamo anterior y la región preóptica es suficiente, ya sea, por medio de cortes circunscritos de bisturí o simplemente con cortes transversos frente a la eminencia media.

Esto implica que las vías nerviosas de los centros anteriores son esenciales para una actividad cíclica normal (38, 39).

Un estudio realizado por Rivest (41), ha establecido que la reproducción en la rata hembra está fisiológicamente caracterizada por la apertura de la vagina alrededor de los 30 - 50 días de edad y por la subsiguiente aparición del ciclo estral, para que estos hechos ocurran, los ovarios deben secretar suficientes cantidades de  $17 \beta$  Estradiol y estimular a la hipófisis para la secreción de Hormona Luteinizante (LH) y Hormona Folículo Estimulan

te (FSH) hasta alcanzar la ovulación.

Estos eventos se ven afectados por diversos factores medioambientales entre los que se encuentran: ciclos de luz-oscuridad, temperatura, humedad, alimentación, esta última juega un papel muy importante en el ritmo del ciclo estral.

Algunos estudios hechos con roedores, han mostrado que la alimentación es un factor importante en los mecanismos endócrinos que regulan la ciclicidad ovulatoria, ya que el solo hecho de administrar dietas comerciales estándar y de reproducción, a ratones, mostró una diferencia en los periodos de cada ciclo y en los tiempos de aparición de cada una de las etapas que lo conforman de acuerdo a los estudios realizados por Nelson y Col. (42), también se ha observado un retardo en la aparición de la pubertad, manifestado por el tiempo necesario para lograr la apertura vaginal y la aparición tardía de hormonas tales como, Hormona Luteinizante (LH), Hormona Folículo Estimulante (FSH),  $17\beta$  Estradiol y Progesterona (42).

Del mismo modo Young y Col. (43) han observado que la restricción proteica (8% de proteínas) produce una reducción importante en el peso de los ovarios así como en la actividad de la enzima  $3\beta$  hidroxisteroidea deshidrogenasa, lo que afecta la esteroidogénesis y provoca la desaparición de la etapa de Estro en sus ciclos. A pesar de ello, se ha observado que los animales restringidos de

alimento mostraron ciclos estrales normales de aproximadamente 5 días, durante más tiempo que los animales bien alimentados, ya que en estos últimos, la longitud del ciclo tiende a alargarse con la edad (340 días); en los animales restringidos estos ciclos suelen mantenerse en 5 días hasta los 750 días de edad; sin embargo, este hecho no asegura que la ciclicidad sea regular respecto a la aparición de cada una de las etapas del ciclo, ya que, mientras que los animales bien alimentados mantienen la extensión de sus periodos de cornificación (Estro); en los animales restringidos esta etapa tiene un periodo de extensión por la mitad de como aparece en los animales bien alimentados ( 33).

La alteración del periodo de los ciclos de 4 a 5 días depende en gran medida del Estradiol circulante, ya que en un ciclo de 5 días las ratas muestran una elevación de Estradiol en suero, más lenta y gradual antes de la ovulación y un largo periodo de cornificación (Estro) que se favorece por la presencia de Prolactina, la cuál es responsable de mantener el cuerpo lúteo durante 3 días en las ratas que presentan ciclos de 5 días (41).

Estudios hechos en mujeres de comunidades rurales cuyas dietas son inadecuadas, han mostrado un retardo en la aparición de la menarca y un buen número de ciclos anovulatorios (43, 45). La alimentación a la que estas comunidades están sujetas se basa casi exclusivamente en cereales como el maíz y el trigo, los cuales a pesar de ser buenas fuentes de energía, muestran serias defi-

ciencias vitamínicas y de aminoácidos indispensables como triptofano y lisina, aún si son utilizadas en forma completa como es el caso de la tortilla que conserva gran parte de las propiedades del maíz; no así el atole que es un alimento muy diluido cuyo aporte nutritivo es escaso (46).

De ahí que, tanto los estudios hechos con roedores como las observaciones realizadas en mujeres han mostrado que la alimentación tiene efecto sobre los sistemas reproductores. En nuestro laboratorio con el uso de dietas hipoprotéicas han sido observadas alteraciones en el índice de fertilización y gestación de los animales (47), por lo que resulta importante realizar un estudio de los tiempos de duración de las etapas del ciclo sexual de la rata, así como determinar su fertilidad y el número de crías en la camada de animales sujetos a restricción proteica y alimentación a base de maíz.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los efectos de la desnutrición han sido bien estudiados desde diferentes puntos de vista, principalmente en las etapas que abarcan el desarrollo, midiendo parámetros tales como el peso y la talla corporales, morfología y la actividad cerebral, así como los niveles hormonales y la actividad enzimática; más aún, se ha demostrado que cada uno de los nutrientes tienen actividades generales y específicas en las diversas funciones metabólicas del organismo; de ahí que para expresarse la conducta reproductiva y la consecuente preservación de la especie, debe suministrarse la cantidad adecuada de cada nutriente en la dieta, ya que se ha observado que las mujeres de comunidades rurales en las cuales la alimentación no es muy rica ni variada, existe un retardo en la aparición de la pubertad, amenorrea y disminución en el tamaño de los ovarios; lo que conduce a la aparición de trastornos en la reproducción que conllevan alteraciones fetales y muerte perinatal.

El uso de modelos animales en el estudio de tales fenómenos, permite manipular experimentalmente las variedades biológicas incidentes en dichos problemas de salud pública; y dado que la rata ha sido la especie más estudiada en este tipo de fenómenos, ya que presenta ciclos poliestrales de una duración relativamente corta; resulta útil en el estudio del efecto de la alimentación con maíz sobre el ciclo estral, evaluado por las características

tintoriales de las células del epitelio vaginal.

## HIPOTESIS

La restricción protéica y deficiente en aminoácidos esenciales en la alimentación, provoca alteraciones en el ciclo estral y en la fertilidad de la rata.



## OBJETIVO GENERAL

Determinar la duración de cada etapa del ciclo estral y el índice de fertilidad de ratas sometidas a una restricción proteica inducida mediante la alimentación a base de maíz.

## OBJETIVOS PARTICULARES

Cuantificar el peso corporal de las ratas normales y de las alimentadas con maíz diariamente y durante toda la fase de estudio.

Caracterizar la citología vaginal de las ratas durante ocho días en la etapa de apareamiento.

Registrar el índice de fertilidad y el número de crías por camada, una vez que las hembras hayan resultado preñadas y lleguen a parto.

## MATERIAL Y METODOS

Al iniciarse este trabajo y previo a la elaboración de las dietas se realizó el análisis químico de sus componentes, la harina de maíz y el alimento comercial para roedores.

Dichos análisis son establecidos por la A.O.A.C. (Association of Official Agricultural Chemist) (48). Los cuales consisten de las determinaciones de humedad, cenizas, proteínas, fibra cruda, grasa cruda y carbohidratos obtenidos por diferencia.

Una vez hechas las determinaciones, se hizo un cálculo de los ingredientes de cada dieta para su elaboración de acuerdo a los requerimientos nutricionales de la rata.

Se utilizó como dieta control (C), el alimento comercial para roedores, que contiene un 23 % de proteína; el mismo fue utilizado para elaborar una dieta con 8 % de proteína que se denominó Hipoprotéica (H) y por último se preparó una dieta a base de harina de maíz comercial (M) de la utilizada para hacer tortillas la cuál aporta alrededor de 8 % de proteínas.

Las dietas fueron isocalóricas y se suplementaron con vitaminas y minerales de acuerdo a los requerimientos de la rata (Tabla 1) (49). El estudio se realizó en 73 ratas hembra de la cepa Wistar, de 60 - 65 días de edad y con un peso aproximado de 200 gramos.

Los animales se separaron en tres grupos; dos de ellos de 20 ratas cada uno, para los grupos Control e Hipoprotéico y uno de 33 animales para el grupo alimentado con maíz, los cuales fueron alimentados con las tres dietas preparadas y mantenidas bajo condiciones de bioterio; 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad a una temperatura de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y con 45 % a 55 % de humedad relativa ambiental.

Se llevó al cabo el registro de peso corporal semanal de los animales durante 5 semanas previas al apareamiento que fué a razón de 4 hembras por macho, durante esta etapa se tomaron citologías vaginales diariamente, tiñendose por el método de Papanicolaou, las laminillas se observaron al microscopio de luz y se determinaron los cambios celulares en cada etapa del ciclo estral de las ratas, tomándose como día uno de gestación cuando aparecieron en el frotis vaginal espermatozoides; los animales gestantes se separaron una por jaula hasta el momento del parto, se siguió registrando el peso corporal de las ratas semanalmente, cuando éstas parieron se registró el número de crías por camada, el tiempo de gestación y el peso corporal de las mismas.

Una vez obtenidos los resultados, se analizaron por medio de la prueba estadística de ANOVA (50).

## RESULTADOS

En los resultados obtenidos, se observó que después de cinco semanas de alimentación, los animales del grupo Control mostraron una elevación muy significativa ( $P < 1 \times 10^{-6}$ ) con respecto a los grupos Hipoprotéico (H) y alimentados a base de Maíz (M); donde las ratas del grupo H incrementaron su promedio de peso corporal en 5%, mientras los animales del grupo M lo disminuyeron en aproximadamente un 10% (Tabla 2).

Respecto a los animales no gestantes, no existen diferencias significativas de promedio en el peso corporal inicial de los diferentes grupos, debido a que fué ajustado; sin embargo al momento del sacrificio se observó que mientras los animales del grupo Control (C) aumentaron un 28% de peso corporal, las ratas del grupo Hipoprotéico (H) un 16% y los animales del grupo alimentado a base de Maíz (M) lo disminuyeron en un 2.5% (Tabla 3).

En la Tabla 4 se muestra el porcentaje de aparición de cada etapa del ciclo sexual durante el tiempo en que se tomaron las citologías, se hace notar que la etapa de Metaestro apareció con mayor frecuencia en los animales de los grupos Hipoprotéico (H) y alimentado a base de Maíz (M) en relación al grupo Control (C) en una relación de 2:1, tanto el Diestro como el Proestro se observaron más elevados en el grupo Control (C) sobre todo al compararlo con el grupo H, mientras que la etapa de apareamiento (Es-

tro) se mostró muy similar en los grupos Control e Hipoprotéico, y disminuída en aproximadamente un 30% en el grupo alimentado a base de Maíz.

El estudio del comportamiento de las etapas de un ciclo sexual en ratas sometidas a los tres tipos de alimentación se inició con la etapa de Metaestro, los resultados mostraron lo siguiente: en el grupo Control (C) se observó que mantuvo una continuidad respecto a la aparición de las siguientes etapas como son Diestro, Proestro y Estro; las ratas del grupo Hipoprotéico no presentaron patrón definido en las cuatro etapas del ciclo sexual, ya que algunas de ellas permanecieron siempre en Metaestro o Metaestro-Estro, y muy pocas veces se observó regularidad en su comportamiento; los animales del grupo alimentado a base de Maíz (M) presentaron más etapas de Metaestro y Diestro ante la aparición de Estro-Proestro, esta falta de continuidad en la ciclicidad de los animales se manifiesta claramente en las gráficas 2a, b y c.

Para determinar la fertilidad en los animales se les tomó una citología vaginal diariamente mientras permanecieron con el macho (8 días), la presencia de espermatozoides en el frotis se tomó como día uno de gestación, en esta base, las ratas de los grupos Control (C) e Hipoprotéico (H) mostraron 90% y 75% de fertilidad respectivamente, mientras que los animales del grupo alimentado a base de Maíz (M) presentaron sólo un 61% a la observación de las citologías con espermatozoides, sin embargo, en este último

grupo sólo se logró un 39% de animales gestantes (Gráfica 1).

En la Tabla 5 se muestra el número de crías vivas obtenidas por camada y el peso corporal de las mismas al nacimiento. Se observó que en los animales Control (C) el número de crías vivas fue mayor al igual que su promedio de peso corporal con respecto a los grupos Hipoprotéico (H) y alimentado a base de Maíz (M).

Llama la atención el hecho que en el grupo Hipoprotéico (H) se encontraron mayor número de crías muertas. Sin embargo, el peso más bajo de las camadas al nacimiento correspondió al grupo alimentado a base de Maíz (M).

TABLA 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS

(gr./100gr. de dieta)

COMPONENTES	CONTROL (C)	HIPOPROTEICA (H)	MAIZ (M)
Alimento para roedores	98.00	34.04	-
Harina de Maiz (Maseca)	-	-	86.00
Aceite	2.00	3.13	2.00
Glucosa	-	19.00	-
Sacarosa	-	20.10	-
Dextrina	-	12.67	-
Vitaminas	-	1.00	1.00
Minerales	-	1.00	2.10
Celulosa	-	9.06	8.90
Kcal/100gr.	350.00	350.46	346.50

TABLA 2

RELACION DE PESO CORPORAL DE RATAS GESTANTES SUJETAS  
A TRES TIPOS DE ALIMENTACION.

	Peso Inicial	Peso Apareamiento	Peso 20 d/Gest.
C	205.00 $\pm$ 9.30	267.33 $\pm$ 15.50	403.44 $\pm$ 44.31
H	211.80 $\pm$ 18.17*	224.20 $\pm$ 28.56 a	278.80 $\pm$ 37.59 a
M	205.84 $\pm$ 14.56*	183.53 $\pm$ 15.25 a,b	215.38 $\pm$ 16.10 a,c

\* = NS

a = C vs H y N  $P < 1 \times 10^{-6}$

b = H vs M  $P < 9 \times 10^{-5}$

c = H vs M  $P < 6 \times 10^{-6}$



TABLA 3

PESO PROMEDIO CORPORAL INICIAL Y AL SACRIFICIO  
DE RATAS NO GESTANTES.

	PESO INICIAL	PESO SACRIFICIO
C	195.700 $\pm$ 35.47	264.00 $\pm$ 39.05
H	203.00 $\pm$ 43.35*	221.20 $\pm$ 50.60 a
M	196.00 $\pm$ 23.60*	190.15 $\pm$ 22.22 a, b

\* = NS

a = C vs H y M  $P < 7.27 \times 10^{-6}$

b = H vs M  $P < 4.45 \times 10^{-2}$

TABLA 4

PORCENTAJE DE APARICION DE CADA ETAPA DEL CICLO  
SEXUAL DE LOS TRES GRUPOS DE RATAS SUJETAS A TRES  
DIFERENTES TIPOS DE ALIMENTACION.

	CONTROL	HIPOPROTEICA	MAIZ
METAESTRO	23	54	42
DIESTRO	33	12	25
PROESTRO	17	10	15
ESTRO	27	24	18

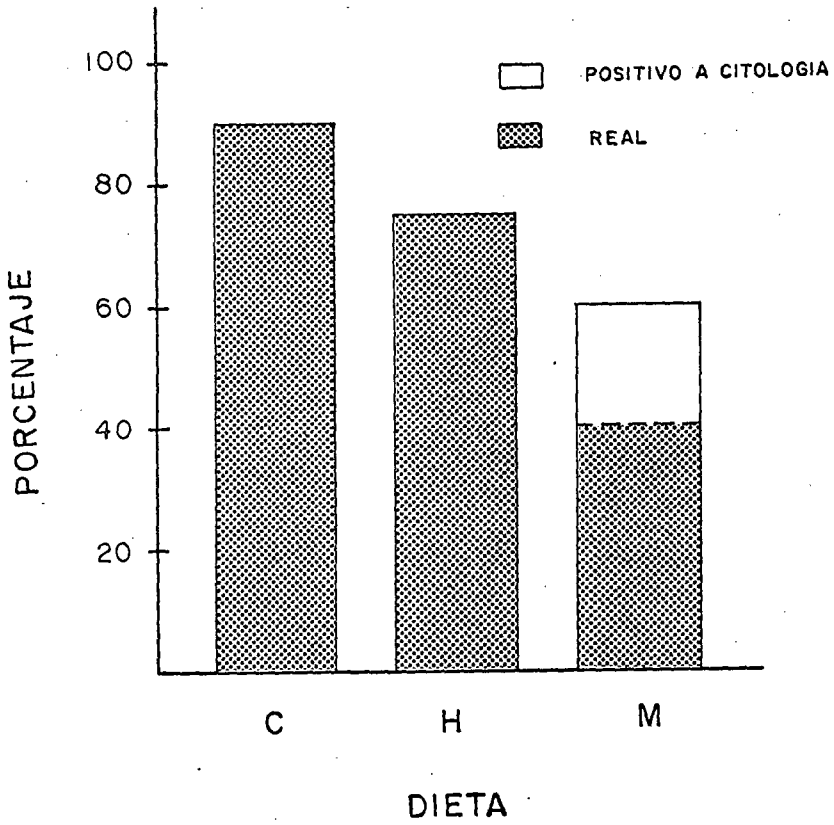
TABLA 5

NUMERO DE CRIAS VIVAS Y PESO CORPORAL PROMEDIO DE LAS CAMADAS OBTENIDAS DE RATAS SUJETAS A DIFERENTES TIPOS DE ALIMENTACION.

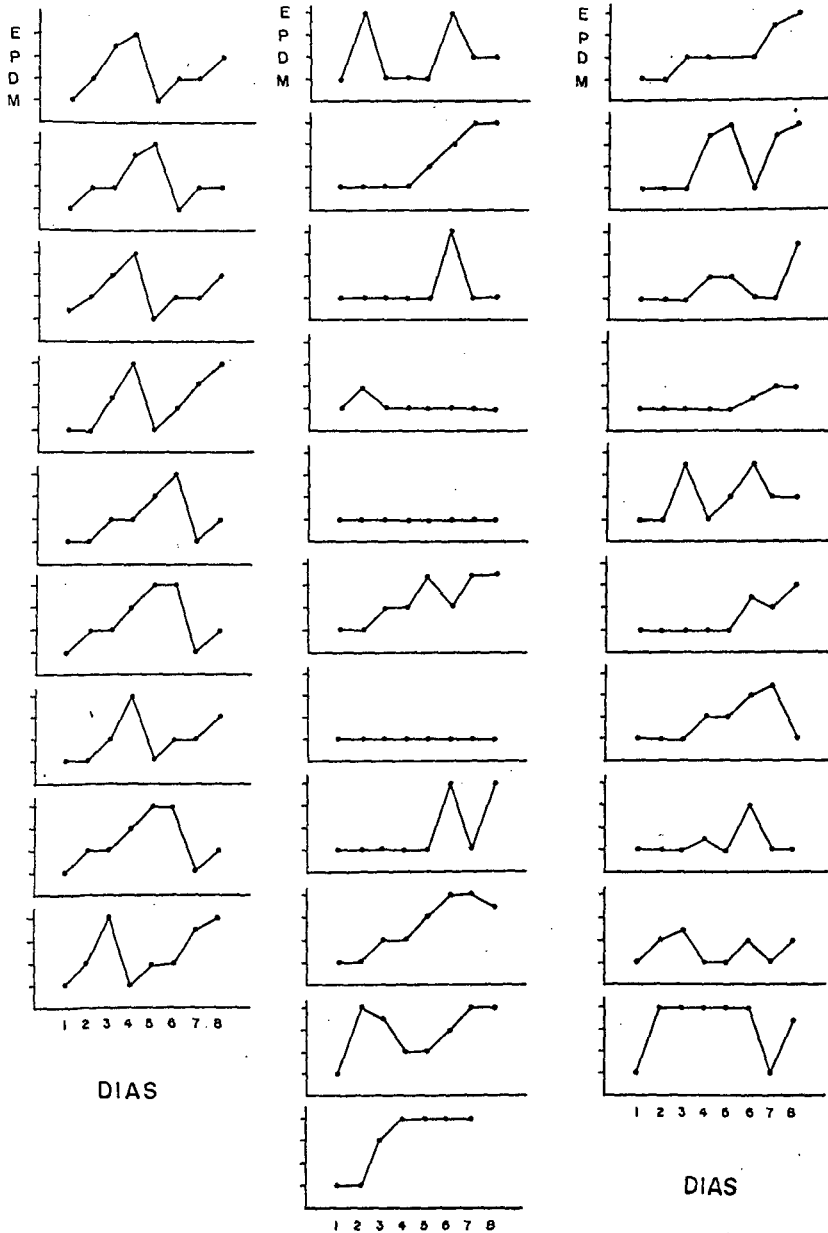
	NUMERO DE CRIAS/CAMADA	PESO CORPORAL DE LA CAMADA
C	14.00 $\pm$ 5.87	6.49 $\pm$ 0.51
H	7.66 $\pm$ 3.55 a	5.35 $\pm$ 0.64 d
M	10.84 $\pm$ 3.15 c, b	4.192 $\pm$ 0.64 d

a = C vs H      P < 6x10<sup>-3</sup>  
 b = H vs M      P < 2.6x10<sup>-2</sup>  
 c = C vs M      NS  
 d = C vs H y M    P < 1x10<sup>-6</sup>

GRAFICA 1



COMPORTAMIENTO DE LAS ETAPAS DEL CICLO SEXUAL DE RATAS SOMETIDAS A 3 TIPOS DE ALIMENTACION.



DIAS

DIAS

DIAS

## DISCUSION

Diversos estudios han determinado el efecto que ejerce la mañnutrición sobre el peso corporal principalmente en las primeras etapas del desarrollo (47, 51, 52), sin embargo, si la dieta incluye la restricción de aminoácidos indispensables, el efecto sobre el peso corporal es más evidente, tal es el caso de los resultados obtenidos en este trabajo en dónde, mientras los animales del grupo bajo restricción protéica lograron aumentar su peso corporal en un 16%, las ratas alimentadas con Maíz lo disminuyeron en un 2.5% en el mismo periodo de tiempo (Tabla 2).

Por otro lado, algunos estudios hechos con roedores (28, 34, 41, 42), han mostrado que la alimentación es un factor importante en los mecanismos endócrinos que regulan la ciclicidad ovulatoria, ya que, una reducción en el aporte de alimento entre un 33% - 50% afectan los mecanismos de retroalimentación de estrógenos sobre la secreción de Hormona Luteinizante, lo que se ha manifestado como retardo en la aparición de la pubertad, en cuanto al tiempo necesario para lograr la apertura vaginal por la aparición tardía de hormonas como Luteinizante; Folículo Estimulante, 17  $\beta$  Estradiol, Progesterona y Prolactina.

En nuestros resultados (Tabla 3) se observó un desarreglo en la aparición de las diferentes etapas del ciclo en los grupos restringidos ya que, tanto el grupo Hipoprotéico como el alimentado

a base de Maíz mostraron en sus citologías mayor número de días en Metaestro que los animales del grupo Control.

Sin embargo, la aparición de la etapa de apareamiento (Estro) fué muy similar en los grupos Control e Hipoprotéico, y se mostró muy disminuida en el grupo de Maíz, estos hechos concuerdan con los hallazgos de Segall y Col, (33) quienes demostraron que si bien los animales restringidos llegaban a mostrar ciclos estrales normales de aproximadamente 5 días, la etapa de Estro tenía periodos de extensión diferentes a los animales bien alimentados; por otro lado el tipo de ciclo refleja fecundidad, así se ha observado que las ratas con ciclos de 5 días muestran índice de fecundación más elevado (44), de igual modo Wilen y Col. (53) mostraron que la malnutrición experimental en las ratas produce desaparición de la etapa de Estro en sus ciclos, con los datos obtenidos en nuestro trabajo, no fué fácil asegurar que los ciclos de los animales sujetos a las diferentes dietas, tuvieron una duración de aproximadamente 5 días, a excepción del grupo Control, debido al desarreglo que mostraron los grupos Hipoprotéico y el alimentado a base de Maíz (Gráfica 2) con apariciones de Metaestro de más de 72 horas y Estros de más de 36 horas, aunados a la ausencia de Diestro o Proestro lo que no permitió que se midiera en días su ciclicidad.

En nuestro laboratorio con el uso de dietas hipoprotéicas (47) han sido observadas alteraciones en el índice de fertilización y

gestación de los animales, al igual que lo muestran los resultados obtenidos en este trabajo, en los cuales tanto el grupo Control como el Hipoprotéico, mostraron un 90% y 75% de fertilidad respectivamente, sin embargo, en el grupo Hipoprotéico se observó un elevado índice de crías muertas, esto se podría explicar por el tipo de proteína que compone la dieta.

Glass y Col. (54) sometieron a las madres a una malnutrición causada por baja de proteína o restricción de alimento durante la gestación y la lactancia produciendo una elevada mortalidad en las crías y alteraciones en la iniciación de la pubertad en ratas jóvenes.

Por otro lado, los animales del grupo de Maíz aparentemente tuvieron un 61% de gestación, y solamente se logró un 39% real de animales gestantes (Gráfica 1), esto puede ser debido a la deficiencia de los aminoácidos triptofano y lisina en la dieta; que producen una alteración de tipo hormonal que de alguna manera interfiere con el funcionamiento del sistema hipotálamo-hipofisario.

Se ha visto que el uso de las dietas deficientes en algunos aminoácidos indispensables como es el triptofano y dietas calóricas restringidas puedan alterar también la concentración de monoaminas cerebrales (33, 55), la habilidad de ciertas neuronas para síntesis y liberación de transmisores es dependiente tanto de la



concentración de aminas en suero, como de la composición de la dieta, esto ha sido reportado por Fernstrom y Col. (56), quien observó que la serotonina cerebral no está sujeta solamente a la concentración de triptofano libre en suero, sino también a la concentración de otros varios aminoácidos neutros que comparten el mismo sistema de transporte en la barrera hematoencefálica.

Asimismo, se ha observado que las irregularidades en la concentración de serotonina, conducen a alteraciones en la liberación de la Hormona Luteinizante y por ende en la ovulación y regularidad de los ciclos estrales (57).

La ciclicidad en los animales, incide directamente sobre la gestación y la viabilidad de las camadas obtenidas, Morgane y Col. (58) con el uso de un modelo de restricción proteica (8% de proteína) mostró que a ese nivel las ratas hembra podrían mostrar una adecuada fertilización y buenos resultados en cuanto al número de crías obtenidas y su peso corporal al nacimiento, nuestros resultados están de acuerdo con este hecho al comparar los datos obtenidos de los grupos Control e Hipoprotéico, sin embargo, el peso de las crías del grupo alimentado a base de Maíz se mostró muy por debajo ( $P < 1 \times 10^{-6}$ ) de los grupos Control e Hipoprotéico.

Estas irregularidades podrían sugerir que la restricción proteica pero más aún el aporte de una proteína tan desbalanceada como la del Maíz con una elevada cantidad de leucina e isoleucina y

una disminución de triptofano, pueden producir cambios tanto en el desarrollo de las crías obtenidas bajo esas circunstancias, como en la secreción endócrina del ovario o en la capacidad del sistema hipotálamo-hipofisiario de las hembras para responder al mecanismo de retroalimentación de hormonas gonadales según lo han señalado tanto Merry como Sprangers y Cols. (33 y 34).

## CONCLUSIONES

La alimentación a base de Maíz en forma crónica, elimina las reservas de la madre para la gestación y el parto, lo que se hace evidente por el decremento de su peso corporal.

Tanto la dieta baja en proteínas como la alimentación a base de Maíz producen desarreglos y extensión en el ciclo estral de las ratas.

La dieta a base de Maíz disminuye significativamente la capacidad de fertilización de las ratas hembras.

El peso corporal promedio de las camadas se vé más afectado por el desbalance de los aminoácidos indispensables en una proteína (Maíz), que por la disminución de proteínas de mejor calidad en la dieta (H).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 .- Boon, M.E. y Rietveld, C.T. (1980) Time of ovulation reflected in nuclear and cytoplasmic size of vaginal and bucal epithelial cells. H.C.S. Medical Science: Anatomy and Human Biology; Biochemistry: Cell and Membrane Biology; Endocrine System; Physiology; Rep. Obstet. Gynecol. 8 : 778-779
- 2 .- Dennis, E.J. Baker, (1979) Reproduction and Breeding, en The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases. Henry Baker, J. Russell Lindsey Steve H. Weisbroth (Edit.) Academic Press Inc. p.p. 154-168
- 3 .- Sorensen, Jr. A.M. (1982) Cap. 9, Hormonas y pubertad en la hembra, Cap. 10, Estro y ciclo estrual, Cap. 11, Control de la ovulación, en Reproducción Animal, Principios y Prácticas, Mc Graw-Hill de México, S.A. de C.V.
- 4 .- Salas-Valdes, A. (1979) Una tinción rápida y barata para citología vaginal. Arch. Invest. Med. (Méx.) 10 : 149-150
- 5 .- Shigeru, K., Nozomi, S., Katzuo, S. e Inoru, H. (1986) Changes in plasma progesterone, Estradiol follicle-stimulating hormone and luteinizing, hormone during diestrus and ovulation in rats with 5-day estrous cycles; Effect of antibody against progesterone. Biol Reprod. 34 : 488-494

- 6 .- Barkley, M.S. y Bradford, C.E. (1981) Estrous Cycle Dynamics in Different Strains of Mice (41127). Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 167 : 70-77
- 7 .- Nelson, S.F., Felicio, L.S., Randall, P.K., Sims, C. y Finch, C.E. (1982) A Longitudinal Study of Estrous Cyclicity in Aging C57BL/6J Mice: 1. Cycle Frequency, Length and Vaginal Cytology. Biol. Reprod. 27 : 327-339
- 8 .- Elias, K.A., Kelch, R.P., Lipner, H. y Blake, Ch. A. (1982) Relationships Between Basal Gonadotropin Secretion Rates and Serum Gonadotropin Concentrations in Proestrous Rats. Biol. Reprod. 27 : 1159-1168
- 9 .- Campbell, C.S., Schwartz, N.B. y Firlit, G.M. (1977) The Role of Adrenal and Ovarian Steroids in the Control of Serum LH and FSH. Endocrinol. 101 : 162-172
- 10.- Croix, D. y Franchimont, P. (1975) Changes in the Serum Levels of the Gonadotrophins Progesterona and Estradiol during the Estrous Cycle of the Guinea Pig. Neuroendocrinol. 19 : 1-11
- 11.- Sadleir, R.M.F.S. (1982) Ciclos Temporales, Cap. 4, en Células Germinales y Fertilización I, Austin, C.R. y Short, R.V., La Prensa Mexicana, S.A. p.p. 89-106

- 12.- Gay, D.J. Donaldson, D.L. y Goellner, R.J. (1985)  
False-Negative Results in Cervical Cytologic Studies.  
Acta Cytol. 29 : 1043-1046
- 13.- Valkova, B. y Laurence, DJR. (1985) Automated Screening of  
cervical smears using immunochemical staining: a possible  
approach. J. Clin. Pathol. 38 : 886-892
- 14.- Boon, M.E., Josephine, J.M., Alons-van Kordelaar, Petronella,  
E.M. y Rietveld-Schaffers, C.T. (1986) Consequences of the  
introduction of combined spatula and cytobrush sampling for  
cervical cytology. Acta Cytol. 30 : 264-270
- 15.- Trimpos, J.B. y Arentz, P.N.N. (1986) The Efficiency of the  
Cytobrush Versus the cotton Swab in the Collection of  
Endocervical Cells in Cervical Smears. Acta Cytol.  
10 : 261-263
- 16.- Moghissi, K.S., Syner, F.N. y Avans, T.N. (1972) A composite  
Picture of the Menstrual Cycle. Am. J. Obstet. Gynecol.  
114 : 405-418
- 17.- Owman, C. y Hafez, R.S.F. (1980) Ovulation, mechanisms,  
prediction, detection and induction, 7 en Human Reproduction  
Conception and Contraception, Second edition, Harper & Row,  
Publishers, p.p. 178-200

- 18.- Riley, G.M., Dantas, E. y Gill, B. (1955) Use of Serial Vaginal Smears in Detecting Time of Ovulation. Fert. Steril. 6 : 86-102
- 19.- Papanicolaou, G.N. (1942) New procedure for staining vaginal smears. Science. 95 : 438-441
- 20.- Gustavo López Amado, Ofelia Aguirre Vidrio, Carlos Lamas Robles y José Alfredo Soto Ortiz. (1982) Introducción al Citodiagnóstico, Universidad de Guadalajara, Segunda Edición, p.p. 37-67
- 21.- Galbraith, M. y Marshall, P.N. (1984) Studies on Papanicolaou Staining. III. Quantitative Investigations of Orangeophilia and Cyanophilia. Stain Tech. 59 : 133-142
- 22.- Shorr, E. (1941) A new Technique for staining vaginal smears III. Science. 94 : 545-548
- 23.- Aihara, M. y Hayashi, S. (1980) Induction of Persistent Diestrus Followed by Persistent Estrus Is Indicative of Delayed Maturation of Tonic Gonadotropin-Releasing Systems in Rats. Biol. Reprod. 40 : 96-101
- 24.- Shoot Vander, P., Bakker, G.H. y Klijn, J.G.M. (1987) Effects of the Progesterone Antagonist RU486 on Ovarian Activity in the Rat. Endocrinol. 121 : 1375-1382

- 25.- Zaharopoulos, P., Wong, Y.J., Edmonston, G. y Keagy, M.  
(1985) Crystalline Bodies in Cervicovaginal Smears. A  
Cytochemical and immunochemical Study. Acta Cytol.  
29 : 1035-1042
- 26.- Miles, A.P., Herrera, A.G. y Mena, Trujillo, I (1985) Cytol-  
ogic Findings in Primary Malignant Carcinoid Tumor of the  
Cervix. Including Immunohistochemistry and Electron Microscopy  
Performed of Cervical Smears. Acta Cytol. 29 : 1003-1008
- 27.- Zaharopoulos, P., Wong, Y.J. y Keagy, N. (1985) Hematoidin  
Crystals in Cervicovaginal Smears. Report of two cases.  
Acta Cytol. 29 : 1029-1034
- 28.- Morin, L.P. (1986) Environment and Hamster reproduction:  
responses to phase-specific starvation during estrous cycle.  
Am. J. Physiol. 251 : 663-669
- 29.- Kovas, K., Kerdelhuš, R., Molnár, J., Csernus, V. y Holasz,  
B. (1988) Pituitary Gonadotropin-Releasing Hormone Binding  
Sites in Persistent Estrous Rats. Neuroendocrinol.  
48 : 489-494
- 30.- Montes, G.S. y Luque, E.H. (1988) Effects of Ovarian Steroids  
on vaginal smears in the rat. Acta Anat. (Basel) 133 (3) :  
192-199



- 31.- Sander, H.J., Meijs-Roelofs, H.M.A., Leeuwen van, E.C.M., Kramer, P. y Cappellen van, W.A. (1986) Inhibin increases in the ovaries of female rats approaching first ovulation: relationships with follicle growth and serum FSH concentrations. *J. Endocr.* III : 159-166
- 32.- Conti, C.J. y Tasat, D.R. (1986) Regulation of Cultured Rat Vaginal Epithelial Cell By  $17 \beta$  Estradiol and Progesterone. *J. Steroid Biochem.* 24 : 747-751
- 33.- Merry, B.J. y Holehan, M.A. (1985) The Endocrine Response To Dietary Restriction In The Rat. *Basic Life Sci.* 35 : 117-141
- 34.- Sprangers, S.A. y Piacsek, B.B. (1988) Increased Suppression of Luteinizing Hormone Secretion by Chronic and Acute Estradiol Administration in Underfed Adult Female Rats. *Biol. Reprod.* 39 : 81-87
- 35.- Elena Fontanes de Torres, FIAC, Esteban Guevara Clavel. (1982) Generalidades, Cap. 1, Aparato Genital Femenino, Cap. 2 en *Citología Clínica*. Ediciones Científicas, La Prensa Médica Mexicana, S.A., p.p. 5-90
- 36.- Hainsenleder, D.J., Ortolano, G.A., Landefeld, T.D., Zmeili, S.M. y Marshall, J.C. (1989) Prolactin Messenger Ribonucleic Acid Concentrations in 4-Day Cyclic Rats and During the Prolactin Surge. *Endocrinol.* 124 : 2023-2028

- 37.- Shaikh, A.A. (1971) Estrone and Estradiol Levels in the Ovarian Venous Blood from Rats During the Estrous Cycle and Pregnancy. Biol. Reprod. 5 : 297-307
- 38.- Cross, B.A. (1982) El Hipotálamo, Cap. 3, en Hormonas en la Reproducción 3, Austin, C.R. y Short, R.V., La Prensa Médica Mexicana, S.A. p.p. 28-40
- 39.- Morello, H. y Taleisnik, S. (1988) The inhibition of proestrous LH surge and ovulation in rats bearing lesions of the dorsal raphe nucleus is mediated by the locus coeruleus. Brain Res. 440 : 227-231
- 40.- Vitale María L., Villar Marcelo J., Chiocchio Sara R. y Tramezzani Juan H. (1987) Dorsal Raphe Lesion Alters The Estrous Cycle and The Preovulatory Gonadotropin Release. Neuroendocrinol. 46 : 252-257
- 41.- Rivest, R.W. (1991) Sexual Maturation in female rats: Hereditary Developmental and Environmental Aspects. Experientia 47 : 1026-1038
- 42.- Nelson, F.J. y Felicio, S.I. (1984) Dietary Modulation of Estrous Cyclicity in Singly and Multiply Housed C5751/6J Mice. Lab. Anim. Sci. 34 : 173-176

- 43.- Young, J., Malozowski, S., Winterer, J., Nicoletti, M., Caron, P. y Cassorla, F. (1986) Effect of Malnutrition on Rat Ovarian Steroidogenesis. Nutr. Res. 6 : 571-576
- 44.- Matthws Jr. M.K. y Kenyon, R. (1984) Four-Versus five-day estrous cycles in rats: Vaginal Cycling and Pregnancy. Physiol. Behav. 33 : 65-67
- 45.- Chávez, A. y Martínez, C. (1982) Nutrición y desarrollo infantil. Ed. Interamericana, México.
- 46.- Bourges, H. (1982) Nutrición y Alimentos, su problemática en México, Edit. C.E.C.S.A. México, p.p. 100-115
- 47.- Del Angel, A.R. y Feria-Velasco, A. (1982) effect of protein restriction on growth of adult and developing rats (first and second generations). Arch. Invest, Méd. (Méx.) 13 : 43-49
- 48.- Association of Official Agricultural Chemist. Washington, D.C., official methods of analysis of the A.O.A.C. 11th ed. Washington D.C. 1970
- 49.- Del Angel, A.R., Beas-Zárate, C. y Morales, V.A. (1989) Effects of Corn-Fed and Protein Restriction on Rat Cerebellum and Brain Stem Maturation, Nutr. Rep. Inter. 40 : 1199-1206

- 50.- Chou, Y.L. (1977) Análisis estadístico. Ed. Interamericana, México, ANOVA
- 51.- Aysel, O., Dale, R.R. y Leveille, G.A. (1978) Influence of initial food restriction on subsequent body weight gain and body fat accumulation in rats. J. Nutr. 118 : 1724-1730
- 52.- Galler, J.R. y Propert, K.J. (1981) The effect of protein deficiency on weight gain and body composition in the developing rat. Nutr. Rep. Inter. 24 : 885-890
- 53.- Wilen, R. y Naftolin, F. (1978) Pubertad food intake and body length, weight and composition in the feed-restricted female rat: Comparison with well fed animals. Pediat. Res. 12 : 263-367
- 54.- Glass, A.R. y Swerdloff, R.S. (1980) Nutritional influences on sexual maturation in the rat. Fed. Proc. 39 : 2360-2364
- 55.- Segall, P.E., Timiras, P.L. y Walton, J.R. (1983) Low tryptophan diets delay reproductive aging. Mech. Ageing Dev. 23 : 245-252
- 56.- Fernstrom, J.D. y Hirsh, M.J. (1977) Brain serotonin synthesis: Reduction in corn-malnourished rats. J. Neurochem. 28 : 877-880

- 57.- Sharp, P.J., Talbot, R.T. y Macnamee, M.C. (1989) Evidence for the involvement of dopamine and 5 Hydroxytryptamine in the regulation of the preovulatory release of the luteinizing hormone in the domestic hen. Gen. Comp. Endocrinol. 76 : 205-213
- 58.- Morgane, P.J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, J., Hawrylewicz, E. y Resnick, O. (1978) The Effects of protein malnutrition of the developing central nervous system in the rat. Neurosc. Biobehav. Rev. 2 : 137-171



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Sección .....  
 Expediente .....  
 Número .....

**C. SRITA. MA. ESTELA MARTINEZ HUERTA**  
**P R E S E N T E . -**

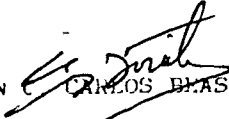
Manifestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis " EFECTO DE LA RESTRICCIÓN PROTEICA EN EL CICLO SEXUAL DE LA RATA " para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptada como Directora de dicha Tesis la M. en C. Alma Rosa del Angel Meza.

**A T E N T A M E N T E**  
**" PIENSA Y TRABAJA "**  
 AÑO "LIC. JOSE GUADALUPE ZUNO HERNANDEZ"  
 Guadalajara, Jal., 17 Diciembre de 1991.  
**EL DIRECTOR**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

M. EN  **CARLOS BLAS ZARATE**

**EL SECRETARIO**



M. EN C. **MARTIN PEDRO TENA MEZA**

c.c.p.- La M. en C. Alma Rosa del Angel Meza; Directora de Tesis.pte.-

Guadalajara, Jal. a 17 de Febrero de 1992

M. en C. Carlos Bess Zárate  
Director de la Facultad de  
Ciencias Biológicas.  
Universidad de Guadalajara.  
Presente.

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que Ma.  
Estela Martínez Huerta, pasante de la Licenciatura en Biología,  
ha concluido satisfactoriamente el trabajo de Tesis que se titula:  
"EFECTO DE LA RESTRICCIÓN PROTEICA EN EL CICLO SEXUAL DE LA RATA".  
Asimismo le informo que después de revisar el manuscrito final de  
dicha Tesis, ésta cumple con los requisitos actualmente solicita-  
dos por la Facultad de Ciencias Biológicas a su digno cargo.  
Sin más por el momento aprovecho la oportunidad para saludarlo,  
quedo de Usted.

A T E N T A M E N T E

  
M. en C., Alma Rosa del Angel Meza