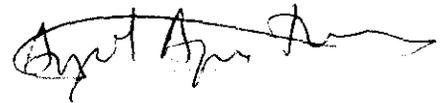


Sección Departamental de Fisiología Animal  
Facultad de Farmacia  
Universidad Complutense de Madrid

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN EXÓGENA DE rhGH SOBRE LA  
INGESTA, COMPOSICIÓN CORPORAL Y EFICACIA DE DEPÓSITO DE  
SUSTRATOS EN RATÓN BALB/c ENTRE EL DESTETE Y LA PUBERTAD.  
INFLUENCIA DE SU INTERACCIÓN CON LA EDAD, LA DIETA Y EL SEXO

Memoria presentada por D. Angel Agis Torres para aspirar al grado de Doctor en  
Farmacia en el Programa de Doctorado de Fisiología Animal (Investigaciones  
recientes).

Madrid, Enero de 1994.

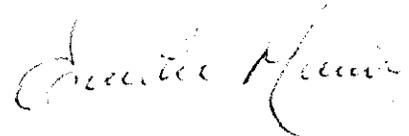


VºBº  
Director de la Sección  
Departamental



Dra. Rocio Muñoz Calvo

VºBº  
Director del Trabajo



Dra. Emilia Muñoz Martínez

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Emilia Muñoz Martínez, a la que debo mi desarrollo como investigador, por su ayuda y apoyo constante, hasta en las condiciones más adversas que han acompañado a la realización de esta tesis.

A la Dra. M<sup>a</sup>Teresa Únzaga Marco, por su incondicional e inestimable ayuda y por sus enseñanzas en los diversos aspectos de la ciencia y de la vida.

A Elvira López-Oliva Muñoz, por su compañerismo y valioso apoyo, además de su entusiasta y generosa ayuda en todo momento.

A Carmen Bravo Llatas del Centro de Proceso de Datos de la Universidad Complutense de Madrid, por su ayuda y dedicación en la utilización del paquete estadístico SAS, el diseño de Split-plot para análisis de la varianza y la utilización del procedimiento LSMEANS.

A Carmen Yagüe del Centro de Estudios Kelvin, por su ayuda en la revisión matemática y estadística.

Al Dr. Agustín Alonso Rodríguez del Real Colegio Universitario "María Cristina", por su ayuda en la descripción de los procedimientos de comparación de pendientes (*Dummy Variables*) y de la expresión estadística adecuada del modelo alométrico.

A José Anguiano, por su gran ayuda en la parte experimental. A Pablo del criadero de animales, por su dedicación. A Luis Moreno, por sus consejos.

A todos los miembros de la Sección Departamental de Fisiología Animal, por su colaboración en el desarrollo de la tesis.

A todos los amigos y compañeros de la Facultad de Farmacia.

A todos los amigos del CINDOC.

A mi familia: padres, hermanos, abuelos, tíos, primos. A Carmen. A mis amigos.

*Tuvo la sensación de que alguien había destapado el  
tarro de la vida y le había dejado ver las obras.*

Dashiell Hammett. El halcón maltés

*Los seres humanos son los únicos que guían su conducta por el conocimiento de  
lo ocurrido antes de su nacimiento y por la previsión de lo que pueda ocurrir  
después de su muerte. De este modo, sólo los humanos se orientan con una luz  
que no se limita a iluminar el terreno sobre el que pisan.*

Peter B. Medawar y Jean S. Medawar.

*¿Puede tener mente un computador?*

*Cualquiera que sea el algoritmo [...] que un matemático pudiera utilizar para  
establecer la verdad matemática [...], habría siempre proposiciones matemáticas[...]  
para las que su algoritmo no puede proporcionar una respuesta.*

Roger Penrose. La nueva mente del emperador.

*A mis padres*

## ÍNDICE

	Pág
<b>1.OBJETO</b> .....	1
<b>2. SITUACIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	6
2.1. CRECIMIENTO .....	7
2.1.1. El crecimiento en las distintas etapas de la vida .....	7
2.1.2. Crecimiento celular y tisular .....	12
2.1.3. Estrategia del crecimiento .....	14
2.1.4. Control del crecimiento .....	17
2.1.4.1. Factores de control del crecimiento .....	19
2.1.4.1.1. Factores genéticos .....	19
2.1.4.1.2. Factores hormonales .....	22
2.1.4.1.2.1. Control sistémico del crecimiento .....	22
2.1.4.1.2.2. Crecimiento en peso y estatura. Hormona de crecimiento (GH) .....	24
2.1.4.1.2.2.a. Desarrollo de la dependencia de GH .....	25
2.1.4.1.2.2.b. Crecimiento postnatal y GH .....	26
2.1.4.1.2.2.c. Efectos de la GH a través de las somatomedinas (IGF-I e IGF-II) .....	27
2.1.4.1.2.2.d. Efectos directos de la GH sobre el crecimiento óseo longitudinal .....	31
2.1.4.1.2.2.e. Efectos directos de la GH sobre la proliferación celular en tejidos no esqueléticos .....	33
2.1.4.1.2.3. GH, esteroides sexuales y pubertad .....	34
2.1.4.1.2.3.a Interacciones de la GH con la secreción de esteroides sexuales .....	36
2.1.4.1.2.3.b Efectos de la GH sobre el crecimiento en ausencia de esteroides sexuales .....	37
2.1.4.1.2.3.c Efectos promotores del crecimiento de los esteroides sexuales independientes de GH .....	37
2.1.4.1.2.3.d Interacciones de los esteroides sexuales con la secreción de GH .....	38

2.1.4.1.2.3.e. Resumen de los mecanismos hormonales relacionados con el crecimiento puberal. . . . .	39
2.1.4.1.3. Factores nutricionales . . . . .	41
2.1.4.1.4. Interacción GH-nutrición . . . . .	46
2.1.4.1.4.1. Relación entre la GH, la proteína dietaria y la eficiencia de depósito proteico . . . . .	48
2.1.4.1.4.2. Relación de la GH y la ingesta energética sobre la eficiencia de depósito proteico . . . . .	51
2.2. COMPOSICIÓN CORPORAL . . . . .	54
2.2.1. Composición corporal en las distintas etapas de la vida . . . . .	54
2.2.1.1. Composición corporal durante la etapa neonatal . . . . .	56
2.2.1.2. Composición corporal durante la lactancia . . . . .	57
2.2.1.2.1. Composición corporal mineral durante la lactancia . . . . .	58
2.2.1.3. Composición corporal durante el destete . . . . .	59
2.2.2. Crecimiento y composición corporal en la rata y el ratón . . . . .	62
2.2.3. Factores que modifican la composición corporal de los animales adultos y en crecimiento . . . . .	65
2.2.3.1. Factores genéticos . . . . .	65
2.2.3.2. Factores fisiológicos . . . . .	68
2.2.3.2.1. Influencia del sexo y de las hormonas sexuales . . . . .	68
2.2.3.2.2. Influencia del ambiente externo . . . . .	69
2.2.3.2.3. Influencia de la madurez . . . . .	70
2.2.3.3. Manipulación del medio externo . . . . .	71
2.2.3.3.1. Influencia de los factores nutritivos . . . . .	71
2.2.3.3.2. Relación dieta-edad sobre la composición corporal . . . . .	74
2.2.3.4. Manipulación del medio interno . . . . .	76
2.2.3.4.1. Influencia de la manipulación del <i>status</i> hormonal . . . . .	76
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS . . . . .</b>	<b>83</b>
3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL . . . . .	84
3.2. DESARROLLO EXPERIMENTAL . . . . .	89
3.2.1. Composición de las dietas utilizadas . . . . .	89
3.2.1.1. Dieta del 12% de proteína (caseína+ D,L-metionina) . . . . .	89

3.2.1.2. Dieta del 20% de proteína (caseína+ D,L-metionina) . . . . .	89
3.2.1.3. Suplementos dietarios . . . . .	90
3.2.1.4. Control de las materias primas y de las dietas . . . . .	91
3.2.2. Pauta del experimento . . . . .	92
3.2.2.1. Animales de experimentación . . . . .	92
3.2.2.2. Agrupación de los animales en grupos homogéneos . . . . .	92
3.2.2.3. Régimen de mantenimiento . . . . .	93
3.2.2.4. Obtención de las muestras corporales . . . . .	94
3.3. PARÁMETROS CONTROLADOS . . . . .	95
3.3.1. Determinaciones diarias e individuales . . . . .	95
3.3.2. Determinaciones periódicas . . . . .	96
3.3.3. Determinaciones globales . . . . .	100
3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS . . . . .	105
3.4.1. Técnicas de determinación de la composición corporal . . . . .	105
3.4.1.1. Preparación del peso vacío . . . . .	105
3.4.1.2. Determinación de la humedad . . . . .	105
3.4.1.3. Determinación de la proteína (N $\times$ 6,25) . . . . .	106
3.4.1.4. Determinación de la materia grasa . . . . .	107
3.4.1.5. Determinación de las cenizas . . . . .	109
3.4.2. Aparatos utilizados . . . . .	110
3.5. MÉTODOS MATEMÁTICO-ESTADÍSTICOS E INFORMÁTICOS . . . . .	111
3.5.1. Principios estadísticos . . . . .	111
3.5.2. Determinación de diferencias entre medias. Análisis de la varianza. Procedimiento de comparación múltiple LSD ( <i>Least Significant Difference</i> ). Análisis multifactorial de la varianza . . . . .	116
3.5.3. Determinación de diferencias entre las pendientes de dos grupos en modelos de regresión lineal mediante el procedimiento de variables ficticias ( <i>Dummy     Variables</i> ) . . . . .	119
3.5.4. Consideraciones teóricas sobre el análisis matemático del crecimiento . . . . .	124
3.5.4.1. Análisis transversal del crecimiento . . . . .	124
3.5.4.2. Análisis longitudinal del crecimiento . . . . .	125
3.5.3. Principios informáticos . . . . .	131

3.5.3.1. Preparación de los datos para el análisis . . . . .	131
3.5.3.2. Material informático utilizado . . . . .	133
<b>4. RESULTADOS . . . . .</b>	<b>134</b>
4.1. INGESTA, EFICACIA ALIMENTARIA Y DESARROLLO SOMÁTICO . . . . .	135
4.1.1. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre los parámetros de ingesta, eficacia alimentaria y crecimiento somático en ratones <i>No Tratados</i> (NT) . . . . .	135
Descripción de resultados . . . . .	135
Exposición numérica (tablas y gráficas) . . . . .	140
4.1.2. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre los parámetros de ingesta, eficacia alimentaria y crecimiento somático en ratones <i>Tratados</i> (T) con rhGH . . . . .	149
Descripción de resultados . . . . .	149
Exposición numérica (tablas y gráficas) . . . . .	152
4.1.3. Efectos de la administración de hormona de crecimiento (rhGH), de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre los parámetros de ingesta, eficacia alimentaria y crecimiento somático entre ratones <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH . . . . .	161
Descripción de resultados . . . . .	161
Exposición numérica (tablas y gráficas) . . . . .	164
4.2. COMPOSICIÓN CORPORAL . . . . .	173
4.2.1. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre la composición química del peso vacío en ratones <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH ( <i>estudiados independientemente</i> ) . . . . .	173
Descripción de resultados . . . . .	173
Exposición numérica (tablas y gráficas) . . . . .	179
- <i>No Tratados</i> . . . . .	179
- <i>Tratados</i> . . . . .	191
4.2.2. Efectos de la administración de hormona de crecimiento (rhGH), de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre la composición química del peso vacío entre ratones <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH ( <i>estudiados comparativamente</i> ) . . . . .	203

Descripción de resultados	203
Exposición numérica (tablas y gráficas)	206
4.3. RELACIONES ALOMÉTRICAS	218
4.3.1. Relaciones alométricas entre el peso de los componentes corporales químicos (humedad, grasa, proteínas y cenizas) y el peso corporal final en ratones <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH	218
Descripción de resultados	218
Exposición numérica y gráfica	221
4.4. RELACIONES LINEALES ENTRE VARIABLES DE SIGNIFICADO NUTRICIONAL Y VARIABLES INDICADORAS DEL DESARROLLO SOMÁTICO	229
4.4.1. Relación directa (utilización) e inversa (coste) entre los depósitos de proteína, grasa y energía corporales y las ingestas proteica y energética global (IPG e IEG) en ratones <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH	229
Descripción de resultados	229
Exposición numérica y gráfica	231
4.5. RELACIONES EXPONENCIALES ENTRE VARIABLES DE SIGNIFICADO NUTRICIONAL Y VARIABLES INDICADORAS DEL DESARROLLO SOMÁTICO	239
4.5.1. Relación exponencial entre la eficacia alimentaria proteica global (EAPG) y la ingesta proteica global (IPG) en ratones <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH	239
Descripción de resultados	239
Exposición numérica y gráfica	240
4.5.2. Relación exponencial entre la razón incremento proteico corporal global/incremento graso corporal global (INPCG/INGCG) y la ingesta proteica global (IPG) en ratones <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH	241
Descripción de resultados	241
Exposición numérica y gráfica	242
<b>5. DISCUSIÓN</b>	243
5.1. INGESTA, EFICACIA ALIMENTARIA Y DESARROLLO SOMÁTICO	244

5.1.1. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre los parámetros de ingesta, eficacia alimentaria y crecimiento somático en ratones <i>No Tratados</i> (NT) .....	244
5.1.2. Efectos de la administración de hormona de crecimiento (rhGH), de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre los parámetros de ingesta, eficacia alimentaria y crecimiento somático en ratones <i>Tratados</i> (T) con rhGH .....	251
5.2. COMPOSICIÓN CORPORAL .....	256
5.2.1. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre la composición química del peso vacío en ratones <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH ( <i>estudiados independientemente</i> ) ...	256
5.2.2. Efectos de la administración de hormona de crecimiento (rhGH), de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre la composición química del peso vacío entre ratones <i>Tratados</i> (T) con rhGH ..	267
5.3. CRECIMIENTO DE LOS COMPONENTES SOMÁTICOS RESPECTO AL PESO CORPORAL. SU DEPENDENCIA DE LA EFICACIA DE UTILIZACIÓN DE LAS INGESTAS EN EL DEPÓSITO DE SUSTRATOS EN RATONES <i>No Tratados</i> (NT) y <i>Tratados</i> (T) con rhGH .....	276
5.4. INFLUENCIA DE LA ETAPA FISIOLÓGICA DEL ANIMAL SOBRE LA RESPUESTA A LA ADMINISTRACIÓN DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO. CRECIMIENTO COMPENSATORIO .....	285
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	292
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	295
<b>8. ABREVIATURAS</b> .....	353

## **OBJETO**

La hormona somatotropa es esencial para el crecimiento normal de animales inmaduros y también juega un importante papel como regulador crónico del metabolismo, redistribuyendo los nutrientes entre los distintos almacenes tisulares y modificando la producción de leche y el crecimiento del tejido magro (Baumann y col., 1982). Estos efectos se alcanzan a través del incremento de la retención nitrogenada y la disminución de la velocidad de depósito graso (Hart y Johnson, 1986), lo que se ha puesto de manifiesto mediante la administración exógena de la hormona a animales hipofisoprivos (Isgaard y col., 1988) o en situaciones de predominio de estados catabólicos (Clemmons y Underwood, 1992). Asimismo, la utilización de la GH parece tener resultados beneficiosos en la industria ganadera, tanto en términos de eficiencia de producción como en relación al consumidor, puesto que es deseable aumentar la masa magra y disminuir la grasa en los productos cárnicos para el consumo.

La disminución de la grasa corporal es un hecho bien establecido en rumiantes GH-tratados (Johnsson y col., 1987), pero es más difícil demostrar el incremento de la velocidad de crecimiento del tejido magro. Así, mientras que la administración a corto plazo (12-28 días) de GH parece incrementar la retención de nitrógeno corporal (Baile y col., 1983), en tratamientos a largo plazo no se encuentran efectos anabólicos tan concluyentes (Muir y col., 1983) (Johnsson y col., 1987). Sin embargo, la hormona somatotropa recombinante parece ser más efectiva en cerdos (Etherton, 1989), vacas (Eisemann y col., 1989) y corderos (Pell y Bates, 1987).

Esta mayor eficacia en el depósito proteico se ha relacionado con el estado nutritivo del animal en estudio, puesto que la plétora de respuestas positivas a GH porcina en cerdos se alcanza con porcentajes del 16 al 18% de proteína en la dieta

(Etherton, 1989), mientras que con menores porcentajes (14%) se obtienen respuestas más pobres (Smith y col., 1989).

Sólo muy recientemente se ha comenzado a investigar la relación entre los componentes de la dieta (energía, proteína y minerales) y los efectos de la GH sobre el crecimiento. Por ello, no son bien conocidos los requerimientos nutritivos adecuados para soportar las modificaciones en la redistribución de sustratos inducidos por la hormona (Campbell y col., 1988) (Campbell y col., 1990) (Goodband y col., 1988). Se sabe, no obstante, que la composición corporal y el depósito tisular de sustratos en cerdos GH-tratados (Campbell y col., 1988) depende directamente de la ingesta energética y al mismo tiempo, estos animales parecen utilizar más eficazmente la proteína dietaria en el depósito del tejido magro (Caperna y col., 1990).

Por otra parte, la respuesta a la GH se verifica en función de la edad (Nutting, 1976) (Glasscock y col, 1991) de tal modo que durante los períodos fetal y neonatal el crecimiento corporal es independiente de la acción de la hormona, aumentando paulatinamente la sensibilidad tisular a la misma con la edad postnatal. También la duración del tratamiento con GH exógena puede modificar los efectos hormona-dependientes, de tal modo que los resultados obtenidos en el período total de la experiencia, sean muy distintos a los correspondientes a momentos parciales de la misma, pudiéndose enmascarar o mal interpretar las acciones hormonales (Bates y Pell, 1991).

El sexo también parece influir sobre la redistribución de sustratos en animales tratados con GH. Se ha descrito un efecto de inversión en la tendencia sexual a la distribución de los componentes corporales en ratas GH-tratadas (Devesa, 1989), así

como la feminización de la función hepática en animales machos administrados con la hormona (Clemmons y Underwood, 1992), lo que se ha relacionado con la desaparición del dimorfismo sexual del patrón de pulsación espontánea de GH (Robinson, 1993).

Basados en estos conceptos, se considera de interés conocer las modificaciones temporales en la forma de crecimiento y la composición corporal de animales en desarrollo y su posible dependencia del nivel de proteína en la dieta y del sexo, por administración exógena de hormona de crecimiento. Asimismo, es importante conocer si el efecto de la GH está asociado con modificaciones en la utilización de los nutrientes que afecten la redistribución de los sustratos corporales o si sólo depende de sus acciones directas sobre la ingesta de alimentos y sobre la capacidad de depósito de proteínas.

A este fin, los objetivos prioritarios de este estudio son los siguientes:

- 1) Examinar los efectos de la administración exógena de hormona de crecimiento humana recombinante (rhGH) sobre la ingesta, la velocidad de crecimiento y la composición corporal de ratones BALB/c en crecimiento, bajo condiciones nutritivas y ambientales controladas, a fin de conocer los mecanismos homeorréticos de la hormona en estos animales consanguíneos.
- 2) Estudiar la evolución temporal de los mecanismos desencadenados por la administración de rhGH y su posible dependencia de la edad en el período entre el destete y la pubertad (21-50 días de vida), en el que se acrecienta la sensibilidad tisular a la GH.

- 3) Conocer la posible influencia de la concentración de proteína en la dieta sobre la respuesta del ratón en crecimiento a la rhGH, mediante la selección de dos niveles proteicos (12 y 20%), elegidos según el rango de requerimientos de proteína del ratón señalados en la literatura (Toyomizu, 1989).
- 4) Comprobar las modificaciones que sobre la redistribución de sustratos provoca la administración de rhGH en ambos sexos.
- 5) Examinar la influencia que la interacción entre estos factores: edad, dieta, sexo y administración de rhGH, ejerce sobre el crecimiento y la composición corporal del ratón BALB/c.
- 6) Estudiar las posibles correlaciones entre el depósito corporal de sustratos y las ingestas de proteína y energía, a fin de dilucidar si los efectos inducidos por la administración de rhGH en los ratones BALB/c en crecimiento se producen a través de modificaciones en la utilización de los nutrientes y su eficacia de depósito.
- 7) Se realiza un estudio paralelo en ratones BALB/c controles.

## **SITUACIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## 2.1. CRECIMIENTO

### *2.1.1. El crecimiento en las distintas etapas de la vida*

El crecimiento es el resultado de la conjunción de factores genéticos y ambientales que afectan a las primeras edades de la vida y que acontecen de forma continuada y dinámica (Weiss y Kavanan, 1957) desde la concepción a la madurez en todos los animales (Brody y Ragsdale, 1922) y abarcando en el niño un largo período entre los primeros pocos meses de vida y la adolescencia (Gracey, 1987).

En términos prácticos, el crecimiento es la masa corporal neta producida y retenida menos la que se destruye o pierde. De modo similar, el tamaño en la madurez implica un equilibrio entre procesos anabólicos y catabólicos, mientras que la vejez por el contrario, es un desequilibrio en el que se pierde más tejido que el que se renueva.

Se acepta desde los postulados de Brody (1945) que el crecimiento de los mamíferos y pájaros sigue una curva sigmoide, aunque algunas especies como el hombre, extienden temporalmente algunas de las fases de dicha curva. En el ratón se produce la aceleración del crecimiento alrededor de la pubertad y su enlentecimiento cuando llega la madurez (Malik, 1984).

La velocidad de crecimiento fetal depende tanto de su base genética como del aporte de nutrientes y a su vez determina el tamaño del neonato (Widdowson y Crabb, 1976). En éste momento, al nacimiento, la ganancia de peso se efectúa más velozmente que en cualquier otro momento de la vida postnatal, en la que continúa sin interrupción (Widdowson, 1985) (Thompson y col., 1968) (Tanner y col., 1966).

En las primeras etapas el desarrollo en todas las especies se verifica por división celular, con poco o ningún incremento en su tamaño. Sin embargo, la velocidad de crecimiento varía después de la concepción de una especie a otra. La rata, por ejemplo, incrementa desde una sola célula a 2-3 cientos de millones durante las primeras tres semanas de vida postnatal (Winick y Noble, 1965), mientras que el feto humano sólo alcanza una centésima parte de su peso y del número de células en el mismo tiempo. Se ha demostrado, que la velocidad de crecimiento después de la concepción marca la rapidez del desarrollo *in utero* (McCance y Widdowson, 1978) (Joubert, 1956) (Meyer y Ahlswede, 1976) (Lubchenco y col., 1963). Así, los pequeños roedores (ratón, rata y conejo) crecen muy rápidamente, mientras que el gato, el cerdo así como el mono y el hombre, crecen mucho más lentamente en orden decreciente.

El hipopótamo recién nacido es más grande que el niño porque crece más de prisa, teniendo el mismo período de gestación. Este a su vez, crece más que la rata al tener una mayor permanencia en el útero (McCance y Widdowson, 1978). Sus células pueden duplicarse y reduplicarse durante mucho más tiempo, comenzando a incrementar el tamaño hacia la vigésimoquinta semana de gestación (Widdowson y col., 1972), mientras que la hipertrofia celular de los órganos de la rata no comienza hasta después del nacimiento.

Del mismo modo, la madurez se alcanza en distintos períodos en las diferentes especies, aunque los animales nacidos después de un corto período de gestación son más inmaduros que los que permanecen más tiempo en el útero. La madurez lleva consigo cambios fundamentales en la composición química corporal, como la disminución de la concentración de agua acoplada a un aumento de la masa

magra corporal (McCance y Widdowson, 1978), que es mayor en aquellos animales que maduran más velozmente.

*La fase infantil tiene lugar antes del nacimiento en el ternero y llega a su máximo antes o inmediatamente después en otros animales (Brody y Ragsdale, 1922).*

En el niño, los primeros meses de vida postnatal se caracterizan por un crecimiento muy rápido en peso y altura, lo que se comprueba más fácilmente cuando se expresa en términos de velocidad de crecimiento en peso y longitud en el período de tiempo considerado, que cuando se expresa como el percentil 50 de peso y longitud alcanzado en el mismo período de tiempo (Widdowson, 1985).

Este rápido crecimiento va disminuyendo hacia los 12 meses (Widdowson, 1985) y en la primera infancia, muchas dimensiones corporales crecen en una forma más o menos lineal, tanto en altura como en peso, aunque la velocidad con que se produce no es necesariamente la misma. Sin embargo, estas dimensiones tienden a estar relacionadas alométricamente por una función de potencia cuya fórmula  $Y = \alpha \cdot X^\beta$ , expresa las dimensiones corporales (X e Y) y la relación potencial ( $\beta$ ) entre ellas (Hausman, 1970).

La fase juvenil ha sido identificada con facilidad en los roedores pero no en el hombre, en la que es reemplazada por un largo período de crecimiento estable.

A través de la infancia y la adolescencia se produce un cambio característico en las proporciones corporales (Gracey, 1987). Durante la adolescencia ya se hacen las diferencias esqueléticas (diferente tamaño de pelvis, altura o depósito de masa corporal magra) entre los sexos. El incremento en peso magro de los adolescentes coincide con el mayor incremento en altura (Parizkova, 1977) que continúa en la primera parte de la tercera década (Forbes, 1978) (Burmeister y Bingert, 1967), mientras que en las hembras

cesa alrededor de los 18 años, por lo que el período de crecimiento en altura es mucho menor (Tanner, 1962).

La velocidad de crecimiento no es uniforme en todo el cuerpo y la mayor altura se debe al desarrollo del tronco y no de las extremidades (Marshall y Tanner, 1981). Los huesos craneales aceleran su crecimiento (Lestrel y Brown, 1976) y también se produce el desarrollo y la remodelación de los huesos faciales (Tanner, 1962).

Órganos viscerales como el corazón, pulmones y vísceras abdominales muestran un gran crecimiento en la adolescencia (Maresh, 1948) (Lincoln y Spillman, 1928). El tejido linfático y el timo por el contrario involucionan (Turpin y col., 1939) y el tejido linfático del bazo, tracto gastro-intestinal y nódulos linfáticos mesentéricos también regresan (Scammon, 1930).

La adolescencia es pues un período esencial de crecimiento rápido. Los cambios hormonales son fundamentales; ya hacia los 7 años de edad en el hombre se incrementan los niveles circulantes de andrógenos adrenales: deshidroepiandrosterona (DHEA) y sulfato de DHEA (DHEAS), androstenodiona y probablemente pregnenolona (Marshall y Tanner, 1981).

Las acciones combinadas de las hormonas de crecimiento, andrógenos adrenales y testosterona o dihidrotestosterona, influyen sobre el crecimiento en esta etapa de la vida aunque los mecanismos que subyacen no han sido totalmente dilucidados. También las hormonas prolactina, tiroidea y somatomedinas intervienen en el proceso (Forest y col., 1976) (Grumbach, 1978 a) (Grumbach y col., 1978 b) (Grumbach, 1980) (Sizonenko, 1978 a) (Sizonenko, 1978 b).

La pubertad parece coincidir con la fase de adolescencia. Se ha sugerido que en algunos animales, entre ellos el hombre, no se llega a la madurez sexual hasta que se ha producido el desarrollo total corporal o está muy próximo a terminar, aunque en otras

en otras especies como la rata, los machos llegan a la pubertad mucho antes de que su crecimiento haya terminado (Brody y Ragsdale, 1922). El ratón "de bolsillo" por su parte, cuyo peso adulto es sólo de 8-10 g, llega a las dimensiones del adulto antes de que pueda criar (Hayden y Gambino, 1966), aunque se debe tener precaución con la definición de la edad de la pubertad en estos ratones de vida corta, con capacidad de gestar varias veces al año.

Sin embargo, la edad exacta de la pubertad es difícil de definir, la menarquia en los primates, por ejemplo, o el primer estro de un animal puede no ser equivalente a su madurez sexual, definida por la capacidad para reproducirse.

Específicamente en el ratón, se distinguen cuatro períodos de desarrollo sobre la base de su curva de crecimiento (Silbermann y Kedar, 1977): 1) fase post-embrionaria que se extiende hasta el destete, alrededor de la tercera semana de edad y que se caracteriza por un crecimiento estable pero submáximo. Es una etapa preparatoria del período de rápido desarrollo de la adolescencia. 2) Fase de crecimiento muy activo, que se extiende desde la tercera a la sexta semana, en la que se produce el crecimiento más rápido y la maduración sexual. 3) Fase de maduración esquelética, que coincide con el período entre la séptima y la vigésima semana de vida, con un crecimiento lento pero continuo. Por último la fase de total maduración entre la vigésimosexta y la quincuagésimosegunda semana.

El período entre el nacimiento y la pubertad es en el que existe una mayor interacción entre el crecimiento del animal y su ambiente y por lo tanto es importante para estudios de composición corporal y eficacia alimentaria.

### **2.1.2. Crecimiento celular y tisular**

El crecimiento celular de los tejidos se produce en tres etapas bien diferenciadas (Winick y Noble, 1965): La etapa inicial, que es una fase crítica de división celular muy rápida (hiperplasia); la segunda fase, en la que las células aumentan su tamaño antes de dividirse (hiperplasia e hipertrofia) y la etapa final en la que el crecimiento en tamaño es el responsable del desarrollo total del órgano (Winick, 1970, 1977).

No obstante, Sands y col. (1979) observan que el tamaño celular se incrementa durante la primera etapa del crecimiento y la multiplicación celular continúa durante todas las fases posteriores.

Ahora bien, todas las etapas no ocurren simultáneamente en todos los órganos, ni tampoco es igual la velocidad de su desarrollo. Por lo tanto, el crecimiento celular no es un proceso homogéneo, como podría parecer por los datos de medidas corporales externas (Smith y Bierman, 1973). Por ejemplo en el niño, la velocidad máxima de síntesis de DNA cerebral, se produce antes del nacimiento, se reduce gradualmente en el neonato y se completa el número de células hacia el sexto u octavo mes de edad. En contraste, el período crítico de crecimiento del sistema músculo-esquelético, no se produce hasta los quince o veinte años de edad. (McGillivray, 1987).

Por otra parte, cualquier incremento en tamaño induce un cambio de forma, la cual debe ser la más adecuada a fin de realizar su función y mantener intercambios con otras células o con el ambiente. Ello significa que hay un límite de tamaño al cual la célula individual puede crecer. Algunos órganos tienen células más pequeñas

que otros y en general son los que presentan una mayor tasa de metabolismo. Así, una superficie mayor en relación al volumen es esencial para favorecer la transferencia de materiales a través de la membrana en células con un alto recambio (Widdowson, 1980) de ahí, que las células jóvenes sean más pequeñas que las maduras (Widdowson y col., 1972). Igualmente, considerado el cuerpo como un total, el peso del esqueleto es mucho mayor en relación al peso corporal en grandes especies que en las pequeñas, lo que limita también el tamaño final del animal.

Por lo tanto, el mecanismo por el que los órganos y tejidos crecen, tiene implicaciones sobre el tamaño final al que pueden llegar, así como sobre su capacidad de regeneración y la eficiencia con que funcionan (Goss, 1978). Así, los vertebrados superiores se caracterizan por un crecimiento limitado que depende a su vez, de la pérdida de la capacidad de crecimiento ilimitado de sus órganos en el curso de su maduración (Goss, 1980). Algunos órganos pierden toda su capacidad de proliferación excepto de sus entidades subcelulares, mientras otros, retienen su poder regenerativo incluso a niveles histológicos complejos. Por ello, desde los estudios de Bizzozero (1894) se han clasificado los tejidos y órganos corporales de acuerdo a su actividad mitótica y han sido designados como tejidos de carácter estático, tejidos en renovación y tejidos en expansión (Moss y Leblond, 1970).

### ***2.1.3. Estrategia del crecimiento***

Todos los tejidos en el embrión están en crecimiento expansivo, pero cuando sufren cambios en su diferenciación que son compatibles con la conservación de su potencial mitótico, pueden convertirse en estáticos, en renovables o conservar su categoría de expansibles. En tejidos no mitóticos, el crecimiento se alcanza por multiplicación de las organelas citoplasmáticas, pero está limitado por el último tamaño que pueden alcanzar. Por otro lado, órganos capaces de dividirse pueden crecer teóricamente a tamaños indeterminados si sus unidades funcionales se incrementan proporcionalmente, hasta que pueden cumplir las necesidades del adulto; mientras que los tejidos en renovación pueden sufrir mitosis durante toda la vida.

En los tejidos en renovación las células se pierden a la misma velocidad con que son reemplazadas, lo que garantiza la integridad tisular. Su carácter más interesante es que el compartimiento diferenciado es distinto al compartimiento germinativo. Así, los productos de los nódulos linfáticos y de la médula ósea se liberan a la circulación periférica, donde no existe prácticamente división celular. Al mismo tipo pertenecen la epidermis o los tubos seminíferos. Sin embargo la separación entre la sangre circulante y los tejidos hematopoyéticos no es completa, permaneciendo contiguos, lo que puede ser importante en el mecanismo de regulación del crecimiento.

La tasa constante de recambio, sugiere la existencia de una comunicación fisiológica entre los compartimientos diferenciado y germinativo, por lo que el resultado neto permanece constante. Por ello Goss (1970) se pregunta si la pérdida celular regula la frecuencia de las mitosis o viceversa.

Además, la capacidad de estos tejidos para modificar su velocidad de recambio en respuesta a diferencias en las demandas funcionales (eritropoyesis acelerada en hipoxia, linfopoyesis en mecanismos de defensa), es importante para poder comprender los mecanismos de control de su crecimiento.

Los tejidos en expansión son también capaces de una actividad proliferativa durante toda la vida, pero no sufren un recambio constante a nivel celular. Sin embargo su actividad mitótica es prácticamente inexistente, ya que su crecimiento se efectúa en etapas de maduración del desarrollo tisular, cuando se consigue el alargamiento total del cuerpo. No obstante, pueden ser capaces de incrementar su tamaño en respuesta a demandas funcionales más altas, o bien durante los procesos de regeneración.

Por ello, los mecanismos de regulación que controlan los tejidos en expansión deben prevenir una proliferación incontrolada, conocida la capacidad de órganos como hígado, riñón, páncreas y corteza adrenal para sufrir hiperplasia compensatoria. Ello conduce al peligro de sobre-desarrollo, por lo que se necesita comprender no sólo como se estimula la proliferación, sino cual es la señal que inhibe el crecimiento cuando se ha producido una masa de tejido adecuada.

La tercera categoría de tejidos son los estáticos, los cuales han perdido su capacidad de proliferación. Tejidos como el músculo estriado o el nervioso tienen su fase proliferativa exclusivamente en las primeras etapas del desarrollo. Antes de la madurez se produce el paso del crecimiento hiperplásico al hipertrófico y los neuroblastos o mioblastos se diferencian, disminuyendo la reserva germinativa. Por consiguiente, al igual que los tejidos en renovación, sus células diferenciadas son mitóticamente incompetentes, pero sin embargo, no tienen una vida media definitiva

al contrario que en aquellos. El crecimiento de estos tejidos después de la infancia se realiza, pues, mediante hipertrofia celular (Reeds y Fiorotto, 1990).

De todo ello se deduce que los componentes de cualquier tejido están en constante estado de renovación (Goss, 1970) pero a diferentes niveles de organización. Aquellos tejidos cuyas células se dividen han superado el recambio a nivel subcelular, como sucede a los glóbulos rojos que son incapaces de renovar la hemoglobina (Goss, 1970), mientras que los tejidos estáticos incapaces de mitosis, se renuevan a nivel subcelular y molecular como les sucede al músculo estriado (Dreyfus y col., 1960) o al segmento externo del bastón (Young y Bok, 1962) capaces de renovación de la miosina o de las proteínas de membrana, *respectivamente*.

Los distintos tejidos han adoptado diferentes estrategias para regular su crecimiento. Si no pueden dividirse (tejidos estáticos) el control de la mitosis no representa ningún problema. Cuando la mitosis permanece, debe existir un mecanismo que inhiba o estimule el proceso. Si no existe muerte celular la regulación del tamaño, como en tejidos renovables, depende de la inhibición de las mitosis cuando se ha producido una población celular suficiente.

*En órganos en expansión es muy importante no sobrepasar el número de células, puesto que no pueden reducirse células que no están programadas naturalmente, para poder entrar en el recambio normal mientras que en el caso de tejidos en renovación, la regulación se realiza sobre el número total de células que existen en el tejido en cualquier momento incluidos el control al nacimiento y en el momento de la muerte celular.*

#### **2.1.4. Control del crecimiento**

Sea cual sea el mecanismo por el cual los componentes de un tejido se renuevan o el nivel de organización al que ello ocurre, existen mecanismos reguladores que aseguran que la velocidad de renovación sea equivalente a la de degradación, a fin de lograr el control de las dimensiones a las que el tejido puede crecer.

La regulación del crecimiento depende, sin embargo, del grado de ajuste entre el tamaño alcanzado por el órgano y su función, puesto que en general el crecimiento está relacionado con las demandas fisiológicas, aunque está limitado por el hecho de que el crecimiento del número de células no favorece necesariamente la eficiencia fisiológica del órgano a un nivel óptimo (Goss, 1980).

En el embrión y en el feto los órganos se desarrollan antes que las necesidades fisiológicas y obedecen a mecanismos genéticos que los controlan. Los factores genéticos controlan, no sólo la organogénesis, sino también el aumento de tamaño del órgano en una dimensión mínima básica. Esta dimensión básica puede ser posteriormente incrementada en respuesta a la estimulación de las actividades funcionales normales.

Las necesidades fisiológicas pues, pueden ser la causa fundamental del control de la masa orgánica. A lo largo del crecimiento y antes de que un órgano pueda alcanzar su tamaño final, debe completarse su función, aunque sea con reducción de su masa. Es decir, la fisiología debe adaptarse primero y la masa ajustarse secundariamente, por lo que un órgano no tiene un tamaño rígidamente definido y el control de su crecimiento depende de su competencia funcional (Goss, 1981).

Estructuras como las nefronas o los alvéolos pulmonares, pueden crecer solamente por división celular a expensas de la relación vital superficie-volumen (Nowinski y Goss, 1969), de tal modo que se incrementan las dimensiones de cada nefrona pero no su número, por lo que el riñón hipertrófico puede restaurar las necesidades excretoras del organismo, aunque no sea la respuesta óptima a la demanda de aumento de función renal. Sin embargo las capacidades nefrogénicas de los mamíferos pueden no ser tan limitadas, puesto que se ha demostrado la producción de nefronas supernumerarias en ratas y ratones jóvenes nefrectomizados (Bonvalet, 1978).

Del mismo modo, aunque los ventrículos cardíacos se desarrollan en asociación con su capacidad de bombeo de sangre frente a la resistencia periférica vascular (Lewis y col., 1984), ello se debe al aumento de tamaño de las fibras musculares pero no a su multiplicación. Aunque el número de miofibrillas y sarcómeras puede elevarse, su aumento se limita a las dimensiones máximas a las cuales la fibra puede crecer, por lo que el corazón de los vertebrados superiores tiene limitada su capacidad de crecimiento compensador y es vulnerable a la insuficiencia cardíaca (Goss, 1980).

También órganos que no son indispensables para la supervivencia como el tiroides, la glándula mamaria, el páncreas exocrino y las glándulas salivares, incrementan su tamaño o compensan sus deficiencias, por crecimiento a tamaños supranormales.

Por lo tanto, algunos órganos pueden crecer eficiente y teóricamente sin límite, mientras que otros, presentan importantes restricciones sobre su crecimiento potencial.

Los mecanismos que regulan el crecimiento pues, se asocian con los factores fisiológicos que gobiernan las actividades funcionales de órganos y tejidos, de tal modo, que se pueden establecer dos categorías de tejidos (Goss, 1981): aquellos que sirven a las necesidades funcionales del organismo como un total (órganos viscerales, tejidos hematopoyéticos) y responden a un mecanismo de control que está distribuido sistémicamente y aquellos cuyas funciones están más localizadas (piel, músculos) y que responden a señales locales de tipo neural o mecánico.

#### *2.1.4.1. Factores de control del crecimiento*

El potencial de crecimiento de un individuo está determinado en primer término por los factores genéticos, a los que se añaden los factores de crecimiento tisulares específicos y los reguladores hormonales, así como las influencias nutritivas e interacciones con el material extracelular (Rutter, 1978).

##### *2.1.4.1.1. Factores genéticos*

Son la velocidad de multiplicación celular y el tamaño final así como la maduración de órganos y tejidos, los parámetros controlados genéticamente tanto por factores directos como maternos. Su influencia se produce desde las primeras etapas de desarrollo fetal (Widdowson y col., 1972). Sin embargo en el hombre, se ha observado que el tamaño al nacimiento no se correlaciona con la altura media o el

tamaño paternos y tampoco la estatura adulta se correlaciona con el tamaño materno. Por ello, se ha puesto en duda el papel que los factores genéticos tengan sobre el crecimiento fetal (Tanner y col., 1956) (Garn y Pesick, 1982).

En ésta etapa, es el adecuado aporte de nutrientes el que marca la velocidad de crecimiento y permite al feto ganar una considerable cantidad de peso por día. La nutrición pues influye decisivamente en este período y por ello una madre de corta estatura y mal alimentada o con una deficiente capacidad de nutrir al feto, suele tener hijos pequeños, aunque el padre tenga una mayor altura. Después del nacimiento, cuando el alimento es suficiente, la influencia genética del padre entra en juego, pero al mismo tiempo, la cantidad de alimento ingerido se sitúa en un nivel apropiado al tamaño y al desarrollo orgánicos antes del nacimiento, lo que coincide con la organización de las neuronas hipotálamicas y el desarrollo del centro del apetito (Widdowson y McCance, 1975).

Por ello, el niño que es pequeño al nacimiento, toma menos alimento que otro de su misma edad y mayor estatura y no presenta el crecimiento compensatorio característico de la rehabilitación después de subnutrición (Widdowson, 1974 a), ya que aunque la velocidad de división celular después de la concepción esté marcada también por influencias genéticas, el neonato de una madre de corta estatura será pequeño, primordialmente, por razones nutritivas (Widdowson, 1980).

Sin embargo, los genes influyen y un niño de madre pequeña y padre alto, crecerá más y tendrá más estatura que el niño de un padre de pequeña altura, aunque puede no llegar a ser tan alto como lo sería si su madre fuera también de alta estatura. Lo que ha sido demostrado por Walton y Hammond (1938) en el cruce entre caballos normales y enanos.

En realidad, en la especie humana las influencias genéticas se ponen de manifiesto durante los primeros 12 a 18 meses de edad. En éste período, las curvas de crecimiento lineal de las  $\frac{2}{3}$  partes de los niños se desvían en una dirección que se correlaciona con la altura media de los padres, dando lugar desde los dos años de edad a una correlación estrecha entre la altura media de los padres y la estatura del niño (Smith y col., 1976) (Tanner, 1963).

Además los factores genéticos determinan modificaciones no sólo de la velocidad de crecimiento y del peso corporal sino también, de la ingesta voluntaria y la utilización del alimento, lo que está asociado a menudo con diferencias marcadas en la composición corporal, como se ha descrito en estudios de selección en ratones Roberts (1966), Eisen y col. (1970) y McCarthy y Doolittle (1977). Su acción fundamental se produce en la vida postnatal, siendo importantes sus efectos antes del destete (Brandsch y Kadry, 1977) decreciendo en edades posteriores (Rutledge y col., 1972).

En los niños la maduración biológica también depende del control genético, ya que tanto el cromosoma X como el Y contienen genes reguladores del crecimiento. La influencia del cromosoma X determina el desarrollo precoz de las chicas con una mayor rapidez de maduración ósea que sus hermanos (Garn y Rohmann, 1962). De hecho parece existir una influencia de la heterocromatina Y<sub>9</sub> sobre el peso corporal, ya que la longitud de la banda heterocromática Y (9<sup>12</sup>) se ha correlacionado con la altura (Yamada y col., 1981). Del mismo modo, el distinto crecimiento entre razas es consecutivo a factores genéticos, como se ha señalado para niños de raza blanca, negra o amarilla (Wingard y col., 1973) (Weeler y Tan, 1983) (Barr y col., 1972).

#### *2.1.4.1.2. Factores hormonales*

##### *2.1.4.1.2.1. Control sistémico del crecimiento*

Péptidos y proteínas son los biopolímeros más importantes que participan en el control del crecimiento. Las proteínas relacionadas con la transferencia intracelular son las más conocidas: hormonas de la hipófisis anterior, tirotrópica, gonadotrópica y adrenotrópica, producen su acción específica sobre su glándula endocrina correspondiente. Por ejemplo, el ACTH estimula la síntesis de DNA en adrenales (Saez y col., 1977), la hormona de crecimiento (GH) ejerce sus efectos no específicos sobre la proliferación celular del hígado, epitelio intestinal, túbulos renales o fibroblastos pulmonares, etc. También la GH estimula la síntesis de DNA, pero no ejerce ningún efecto sobre el DNA mitocondrial (Goldspink y Goldberg, 1975). A consecuencia de su acción, las poliaminas y los péptidos del grupo de las somatomedinas se acumulan y se liberan del hígado. A su vez, estos péptidos median la acción de la GH estimulando el crecimiento óseo y de otros órganos (Daughaday, 1977).

La prolactina, originada hace 200 millones de años desde un precursor común con la GH (Dayhoff, 1972), actúa también como un factor de crecimiento, al menos en anfibios y mamíferos (Nicoll, 1978).

La insulina promueve la incorporación de timidina a DNA en hígado, músculo y tejido conectivo (Goldberg, 1978). Por su parte, las hormonas peptídicas del tracto gastro-intestinal, gastrina y colecistoquinina, aumentan la multiplicación celular de las mucosas gástricas e intestinal y las acinosas del páncreas.

La calcitonina y la parathormona que controlan la homeostasis cálcica, ejercen un efecto no específico sobre la división celular de hígado y timo, así como sobre la eritropoyesis (McManus y Whitfield, 1970).

Se han aislado varios factores proteicos de timo y suero que favorecen la formación de linfocitos T (hormona tímica, timosina) (Bach, 1977). La producción de eritrocitos es estimulada por la eritropoyetina, un factor producido por el riñón por la demanda de oxígeno tisular y también se ha señalado la existencia de poyetinas que estimulan la producción de granulocitos (Konyshev, 1981).

Los factores de crecimiento y diferenciación sintetizados en el interior de los tejidos y que actúan a concentraciones muy bajas sobre las células vecinas, constituyen la señal que proporciona el equilibrio necesario a fin de que se produzca la proliferación coordinada de las células normales. Entre ellos tenemos el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Dembinski y Johnson, 1985), la familia de factores de crecimiento fibroblástico con afinidad por la heparina (HBGF) (Burgess, 1989), el factor de crecimiento nervioso (NGF) (Levi-Montalcini y Calissano, 1986), los factores transformantes del crecimiento (TGF- $\beta$ ) (Florini y col., 1991), los factores de crecimiento de células hematopoyéticas (CSFs) (Metcalf y Moore, 1973), factores *insulin-like* (IGF-I e IGF-II), o el factor derivado de plaquetas (PDGF) (Froesch y col., 1985), todos los cuales se consideran hoy como agentes multifuncionales, que actúan por mecanismos paracrinos, autocrinos o endocrinos.

El desarrollo de muchos órganos viscerales depende de controles hormonales. Las hormonas tróficas son reguladoras del crecimiento y función de su glándula, el órgano blanco. Si las hormonas producidas por éstos disminuyen, la liberación de la

correspondiente hormona trófica se incrementa. Las glándulas de la hipófisis, adrenales y tiroides son ejemplos típicos de esta regulación (Aguilar, 1989a).

Otras glándulas endocrinas se encuentran bajo el control de materiales circulantes cuya concentración ellas mismas controlan. Entre estas realimentaciones directas se encuentran los reguladores de las glándulas paratiroides o de la zona glomerular de la corteza adrenal, los cuales se hacen hiperplásicos cuando disminuye el calcio o el sodio séricos respectivamente.

#### *2.1.4.1.2.2. Crecimiento en peso y estatura. Hormona de crecimiento (GH)*

El crecimiento en estatura en niños está controlado por la acción de hormonas circulantes, como la somatotropa y la tiroidea que actúan sobre el sistema esquelético (Daughaday y col., 1975) y son los mayores determinantes de la velocidad de crecimiento en la infancia. El estirón y la maduración esquelética de la adolescencia son dependientes además de los esteroides gonadales, mientras que la insulina y los glucocorticoides proveen las fuentes de energía necesarias para el crecimiento, a través de sus efectos sobre el metabolismo graso, proteico y glucídico, ejerciendo una influencia permisiva sobre las acciones anabólicas de la GH. La cuestión de si la insulina actúa sólo permisivamente o si lo hace como un factor de crecimiento está todavía sin resolver.

Otras hormonas que afectan la osificación y el crecimiento óseo son la parathormona, los metabolitos de la vitamina D y posiblemente la calcitonina.

La importancia de la somatotropa (GH) en la regulación del crecimiento en muchas especies de vertebrados está generalmente aceptada.

Su efecto principal se ejerce sobre el crecimiento longitudinal de los huesos largos, aunque también presenta acción directa sobre tejidos extraesqueléticos (músculo cardíaco, diafragma, adipocitos, células hematopoyéticas, hepatocitos) y sobre órganos perfundidos (Daughaday, 1981).

#### 2.1.4.1.2.2.a. Desarrollo de la dependencia de GH

El crecimiento fetal en primates es independiente de GH puesto que los niños GH-deficientes son normales en peso y longitud (Rimoin y col., 1966). Del mismo modo, la decapitación de fetos de conejo *in utero* no interfiere con el crecimiento fetal (Jost, 1952). Sin embargo en la rata hipofisectomizada a distintas edades, Walker y col. (1950) demuestran que el crecimiento disminuye claramente a partir de los 10 días de vida con una velocidad de crecimiento que disminuye progresivamente y cesa completamente a los 28 días.

Este decrecimiento progresivo de la tasa de crecimiento en pacientes y en ratas GH-deficientes, sugiere que las respuestas a la GH se desarrollan gradualmente y resultan dependientes de la edad en tejidos tanto *in vivo* como *in vitro* (Albertson-Wikland e Isaksson, 1976) (Goodman y Coiro, 1981) (Nutting, 1976).

Para Glasscock y col. (1990) el período neonatal representa un tiempo de transición entre la independencia del crecimiento fetal respecto de la GH y su total dependencia en la edad juvenil y por ello el crecimiento somático de la rata es menos

dependiente de la hipófisis que en etapas posteriores de la vida. Por lo tanto, el control del crecimiento por la hormona GH aumenta con la edad del animal (Glasscock y col., 1991).

La dependencia de la hormona puede relacionarse con el incremento paulatino de los receptores para GH durante el período fetal y neonatal en ovejas (Gluckman y col., 1983). También en las ratas existe un aumento similar en función de la edad (Maes y col., 1983).

#### *2.1.4.1.2.2.b. Crecimiento postnatal y GH*

El crecimiento de diferentes tejidos durante la vida postnatal es primariamente un proceso de multiplicación celular o como en el caso del músculo esquelético, de diferenciación de miotúbubos multinucleados en mioblastos (Cheek y Hill, 1974) (Nadal-Ginard, 1978) (Nixon y Green, 1984). La GH influye sobre la velocidad de multiplicación y diferenciación de diferentes órganos. En ratas normales y en el hombre, el número de núcleos que refleja el contenido en DNA del músculo esquelético se incrementa significativamente desde el período neonatal al de maduración sexual (Cheek y Hill, 1970, 1974). Por el contrario, este efecto desaparece en condiciones de deficiencia en GH (Cheek y Graystone, 1969). Así, en ratas hipofisectomizadas a día 21 de vida disminuye la tasa de DNA en el músculo esquelético, debido a que la pérdida de núcleos es mayor que su formación (Cheek y Graystone, 1969). Este mismo efecto se ha encontrado en otros tejidos como

hígado, riñón, corazón y tejido adiposo. La única excepción es el cerebro, el cual no está influido por la GH (Goldspink y Goldberg, 1975).

#### 2.1.4.1.2.2.c. Efectos de la GH a través de las somatomedinas (IGF-I e IGF-II)

Los mecanismos celulares que median estos efectos no están todavía claros, puesto que existe una gran discordancia entre su acción en condiciones *in vivo* e *in vitro*.

La administración de GH *in vivo* a animales GH-deficientes, origina un crecimiento somático acelerado (Cheek y Hill, 1974) (Daughaday, 1981) (Kostyo y Nutting, 1974) (Kostyo e Isaksson, 1977) (Phillips y Vassilopoulou-Sellin, 1980). Añadida a cultivos celulares de cartilago o de músculo la hormona GH ejerce, sin embargo, efectos poco consistentes sobre los parámetros que definen el crecimiento (Kostyo e Isaksson, 1977). Esta deficiencia y la identificación y caracterización de los factores *insulin-like* (IGF-I e IGF-II) ha conducido al concepto de que la somatotropa estimula la proliferación celular, vía somatomedinas, de tal modo que la estimulación de la condrogénesis dependería del incremento en estos factores y no de la acción directa de la GH.

No obstante en estudios más recientes (Isaksson y col., 1982), se ha sugerido la existencia de efectos directos de la GH sobre la diferenciación y la proliferación de sus células blanco.

Las somatomedinas se producen fundamentalmente en el hígado en respuesta a GH (Daughaday, 1981) (Herington y col., 1983). Existen no obstante diferentes fuentes de IGFs, lo que determina su papel paracrino o autocrino.

Sus niveles circulantes y su acción endocrina así como los de sus proteínas transportadoras son dependientes de GH. La tasa plasmática de las somatomedinas es edad-dependiente de tal modo que es baja antes del nacimiento, aumenta durante la primera infancia y alcanzan los más altos niveles en la pubertad, declinando después tanto en niños (Hall y col., 1980) como en ratas (Moses y col., 1980).

Debido a que en ratas hipofisectomizadas los efectos sobre el crecimiento del factor IGF-I son menos potentes que los de la GH, se ha sugerido que las acciones de la hormona están mediadas a través de la estimulación de la producción paracrina local de IGF-I mejor que por sus niveles circulantes. Esta cuestión, sin embargo es una simplificación, puesto que la interacción de los IGFs con sus células blanco a partir de la circulación, es un fenómeno complejo que no sólo depende de los propios factores, sino también de su asociación con las proteínas de transporte (IGF-BPs) cuya producción es GH-dependiente (Sara y Hall, 1970) o independiente, cuando la molécula de transporte es de bajo peso molecular (Zapf y col., 1980).

Además, aunque la GH estimula directamente la producción local de IGF-I (Isaksson y col., 1987), los estudios anteriores demuestran su función endocrina ya que la administración sistémica de IGF-I a animales GH-deficientes, también promueve el crecimiento.

La hormona somatotropa es el primer regulador de la producción paracrina de IGF-I, tanto en el hígado como en tejidos extrahepáticos, como corazón, pulmón y páncreas (Hynes y col., 1987) (Mathews y col., 1986) (Roberts y col., 1986)

(Roberts y col., 1987). De modo similar la inducción del crecimiento muscular por la GH, está mediado por la producción local de IGF-I (Ernest y Froesch, 1988).

Entre las respuestas anabólicas de los factores IGFs demostradas *in vitro*, se encuentran la captación de aminoácidos y la síntesis proteica en cartilago de rata, la estimulación de la diferenciación de mioblastos (Florini y col., 1986) (Schmid y col., 1983), osteoblastos (Schmid y col., 1984) y adipocitos (Smith y col., 1988), la inducción de la eritropoyesis (Congote y Esch, 1987) y de la granulopoyesis (Merchav y col., 1988), interviniendo asimismo en la neurotransmisión (Nilsson y col., 1988) (Yorek y col., 1987). También las IGFs tienen *in vitro* una potente actividad *insulin-like* en tejidos blanco para insulina, como músculo y tejido adiposo.

En cultivo de células de cartilago-costal se ha demostrado que ambos factores estimulan la síntesis de DNA y la proliferación celular (El-Etr y col., 1979) y parecen actuar como factores de progresión, actuando conjuntamente con factores que como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) o el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), inician el ciclo celular y favorecen la respuesta a los factores de progresión (Stiles y col., 1979).

Los primeros estudios de las acciones *in vivo* de los factores estimuladores de colonias (IGFs) han demostrado que el factor IGF-I es capaz de estimular el crecimiento en ratas hipofisectomizadas (Schoenle y col., 1985), así como en ratones Snell enanos (Van Buul-Offers y col., 1988) (Veldhuis y col., 1986), mientras que el IGF-II presenta efectos menos marcados. También la administración a largo plazo de IGF-I recombinante estimula el crecimiento de ratas hipofisectomizadas (Guler y col., 1988) (Skottner y col., 1987), de ratas normales después del destete (Hizuka y

col., 1986), de neonatos de rata y ratas predestetadas (Phillips y col., 1988) y de ratones Snell enanos (Veldhuis y col., 1986).

Por otra parte, la administración intravenosa de estos péptidos causa efectos *insulin-like*, induciendo hipoglucemia y aumentando la captación de glucosa y su incorporación a glucógeno tanto en ratas normales como hipofisectomizadas (Zapf y col., 1986).

Existe además comportamientos específicos diferentes entre las acciones de la GH y los del factor IGF-I (Guler y col., 1988) (Van Buul-Offers y col., 1988) sobre el crecimiento. Así, Guler y col. (1988) señalan que el riñón, bazo y timo de ratas hipofisectomizadas son más sensibles al IGF-I, mientras que el músculo esquelético es más sensible a los efectos de la GH. También el crecimiento del bazo se relaciona con la estimulación de la eritropoyesis provocado por el factor IGF-I (Kurtz y col., 1988) (Phillips y col., 1988).

Asimismo, durante la vida fetal y en los primeros días de vida postnatal, cuando el crecimiento es independiente de GH, sólo el IGF-I promueve el crecimiento (Phillips y col., 1988). De modo similar, en ratas IDDM la GH no tiene acciones anabólicas mientras que el IGF-I restaura el crecimiento (Scheiwiller y col., 1986). Los efectos de IGF-I dependen no obstante del estado nutricional, puesto que su administración en ratas predestetadas subnutridas no estimula su crecimiento (Phillips y col., 1988).

Sin embargo, en pacientes con hipopituitarismo o de corta estatura, la respuesta a la terapia con GH no se correlaciona con los niveles de IGF-I (Haselbacher y col., 1985) (Hintz y Liu, 1977). Una disociación parecida se encuentra entre la velocidad de crecimiento y los niveles de IGF en los últimos períodos de la

pubertad, después del estirón (Brown y col., 1986) (Hintz y col., 1984) (Hizuka y col., 1986), así como durante la terapia agonista de GnRH en la pubertad precoz central (Fagin y Melmed, 1987) (Honegger y Humbel, 1986). Sin embargo, antes de su administración sí existe correlación entre los parámetros antedichos, lo que se corresponde con la producción local de IGF-I en el cartilago. En éstos casos los niveles de IGF-I representan probablemente un índice de la producción total y no necesariamente un requerimiento del desarrollo longitudinal.

Así, Ellis y col. (1981) y Schoenle y col. (1985) infundiendo dos dosis de IGF-I y una dosis de IGF-II subcutáneamente por día en ratas hipofisectomizadas, encuentran efectos muy marcados promotores del crecimiento con aumento del peso corporal, del cartilago epifisario tibial y de la incorporación de timidina H<sup>3</sup> en el cartilago costal después de 6 días de infusión, comparados con animales sometidos a GH en las mismas circunstancias.

#### *2.1.4.1.2.2.d. Efectos directos de la GH sobre el crecimiento óseo longitudinal*

La dificultad para demostrar efectos estimuladores de la GH *in vitro* sobre cartilago, puede ser debido a que éste tejido no es un órgano blanco para GH y ello hace necesario la colaboración de otros factores de crecimiento. Sin embargo, algunos estudios sugieren la existencia de efectos directos de la hormona. Así, Phillips y col. (1974) encuentran que la administración de pequeñas dosis de GH a ratas hipofisectomizadas estimulan el metabolismo del cartilago, sin aumento de la actividad de los IGFs. También Petrovic y Stutzmann (1980) y Stutzmann y Petrovic

(1980) demuestran su efecto estimulador sobre el índice mitótico del cartilago de cóndilo mandibular de rata. Por último, mediante la administración de GH en la placa epifisaria de ratas hipofisectomizadas, se produce un aumento de la anchura de la epífisis (Green y col., 1984), así como de la longitud del hueso (Isaksson y col., 1982), lo que parece demostrar el efecto directo de la hormona sobre el crecimiento óseo.

Este efecto parece específico de la GH puesto que la inyección de solución salina o de prolactina no provoca estimulación y parece estar relacionado con la producción local de IGF-I por la placa epifisaria en crecimiento (Isaksson y col., 1987). Sin embargo, actualmente no está comprobado en qué medida la acción endocrina o paracrina del IGF-I contribuye al crecimiento del hueso.

También en ratas normales, la inyección local de GH determina un aumento del crecimiento longitudinal del miembro inyectado (Thorngren y Hansson, 1974) lo que sugiere que el tratamiento local de GH tiene un potencial terapéutico de los desórdenes de crecimiento.

La acción directa de la somatotropa podría llevarse a cabo a través de receptores específicos de GH (Eden, 1979), puesto que su interacción provoca un incremento de la estimulación de DNA (Madsen y col., 1983) en condrocitos de cartilago de la oreja y en la placa epifisaria del conejo; aunque el número de receptores parece pequeño puesto que la capacidad de unión de la hGH-I<sup>125</sup> es muy bajo (Postel-Vinay y col., 1983). Esta observación podría reflejar la unión de la hormona a un porcentaje bajo de células en un estado de diferenciación dado.

2.1.4.1.2.2.e. *Efectos directos de la GH sobre la proliferación celular en tejidos no esqueléticos*

La GH promueve el desarrollo de muchos tejidos que no tienen relación aparente con el tejido esquelético. El efecto de GH sobre la actividad formadora de colonias de células hematopoyéticas progenitoras, especialmente de colonias eritroides estimuladas con eritropoyetina (Golde y col., 1977) (Golde, 1979) (Mercola y col., 1981), es incrementar el número de células madre de médula ósea o de sangre periférica de una forma especie-específica, puesto que la GH bovina no es efectiva para humanos y sí para la población eritroide murina.

Por lo tanto las diferencias *in vitro* reproducen las observaciones clásicas de los efectos promotores del crecimiento de la GH sobre diferentes especies (Knobil y Motchkiss, 1964). El efecto estimulador de GH es dosis-dependiente y se produce en un rango de nanogramos, siendo asimismo independiente de factores séricos (Golde y col., 1977).

Del mismo modo, se ha demostrado un efecto especie-específico de GH sobre la formación de colonias de células progenitoras de células T periféricas humanas. La GH no estimula sin embargo la granulopoyesis, lo que sugiere que sólo la eritropoyesis y la linfopoyesis están bajo control pituitario directo (Mercola y col., 1981).

También la GH tiene un efecto sobre la función *helper* de los timocitos y la actividad GvH de ratón (Arrenbrecht y Sorkin, 1973), aumentando la proporción de linfocitos T supresores/citotóxicos en sangre periférica de pacientes con deficiencia en GH.

Igualmente, el músculo liso y los fibroblastos son otro tejido que responde *in vitro* a la acción promotora directa de la GH (Ledet, 1976) (Ledet y Vuust, 1980) (Clemmons y Van Wyk, 1981). En aorta de conejo en cultivo, la incorporación de timidina H<sup>3</sup> y la síntesis de DNA así como el número de mitosis aumentan (Finkelstein y col., 1972), mientras que en fibroblastos humanos la GH incrementa la velocidad de síntesis de DNA.

#### 2.1.4.1.2.3. GH, esteroides sexuales y pubertad

El crecimiento puberal no sólo depende de las hormonas GH y T<sub>4</sub> sino también de los esteroides gonadales, aunque es posible que no tengan un carácter esencial. En el sexo masculino el crecimiento se produce por un aumento de GH mediado por los andrógenos y a su vez, la somatotropa estimula la producción de IGF-I, la cual incrementa sus niveles en la adolescencia (Devesa, 1989).

El mecanismo exacto no está bien definido. En primates humanos y no humanos, la hipófisis libera cantidades incrementadas de FSH y LH en tres etapas de la vida: durante los primeros 6 meses de edad, en la adolescencia y en la madurez. Al comienzo de la pubertad el núcleo arcuato del hipotálamo es cada vez menos sensible a los efectos inhibitorios de los esteroides sexuales y la influencia intrínseca del sistema nervioso central es suprimida. Esta liberación conduce a la producción pulsátil de GnRH en cantidades elevadas, lo que favorece la producción de gonadotropinas (Thompson y col., 1972).

La activación final y la maduración del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal es el *sine qua non* de la pubertad, puesto que es responsable del crecimiento en la adolescencia, del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios y de la eventual aparición de la fertilidad. Dos son los procesos que se suceden, gonadarquia y adrenarquia, independientes entre sí y que llevan a ambos sexos, machos (Thompson y col., 1972) (Rimoin y col., 1966) y hembras (Tanner y col., 1976) a la madurez sexual, aunque los estrógenos presentan menos capacidad promotora del crecimiento que los andrógenos, pero sí son capaces de acelerar la maduración ósea (Aynsley-Green y col., 1976).

El crecimiento puberal se atribuye en general a andrógenos en el sexo masculino y a estrógenos en el femenino. El estradiol es la hormona por excelencia en este último caso, y es posible que en machos los efectos androgénicos sean mediados a través de su transformación en estrógenos. A éste respecto, Bourguignon (1988) encuentra un alto incremento de testosterona en la última etapa de la pubertad cuando la velocidad de crecimiento es mayor, mientras que el aumento en estradiol es más temprano en ambos sexos. Simultáneamente, aparece localizaciones extraglandulares de aromatasas (Longcope y col., 1978) y sólo pequeñas cantidades de estrógenos son producidas en los testículos (McDonald y col., 1979) (Weinstein y col., 1974).

La conversión de los precursores de andrógenos en estrógenos puede ocurrir en el cartilago, aunque existe poca evidencia de ello. No obstante, se han demostrado la presencia de receptores para estrógenos en células de carácter osteoblástico en el macho, lo que parece apoyar la teoría del papel de estas hormonas en el crecimiento longitudinal del hueso.

Por el contrario, no existen evidencias claras del papel de los andrógenos en el crecimiento puberal de las hembras, aunque en pacientes con síndrome de Turner (Rosenfeld, 1986), hipopituitarismo (Rolland y Job, 1984) o disgenesia gonadal (Massarano y col., 1988) se ha encontrado un incremento de la velocidad de crecimiento, por tratamiento con testosterona o esteroides androgénicos.

#### *2.1.4.1.2.3.a. Interacciones de la GH con la secreción de esteroides sexuales*

No parece existir interacción de GH con el sistema pituitario-gonadal, puesto que la respuesta gonadotrófica a GnRH sintética no difiere antes y después de la terapia con GH (Kelch y col., 1976).

A nivel gonadal la respuesta es aleatoria, puesto que se han descrito tanto un efecto estimulador de la GH sobre testosterona después del tratamiento con hCG (Rivarola y col., 1972) (Zachmann, 1972) como después del tratamiento con GH (Kulin y col., 1981), mientras que otros autores no encuentran modificaciones (Maes y col., 1984).

Por otra parte, las gonadotropinas estimulan la producción de IGF-I por las células de la granulosa porcina en cultivo (Hsu y Hammond, 1987 a) y la expresión genética de IGF-II en la granulosa humana. Además, receptores de IGF-I pueden ser inducidos por hCG, e inversamente, parece existir una regulación de receptores de hCG por IGF-I (Chatelain, 1988). Algunos datos sugieren que la GH puede estar incluida en el control de la secreción del IGF-I ovárico (Hsu y Hammond, 1987 b).

*2.1.4.1.2.3.b. Efectos de la GH sobre el crecimiento en ausencia de esteroides sexuales*

En pacientes con deficiencia esteroidea y secreción normal de GH no se produce el crecimiento puberal. Así, chicos con deficiencia gonadotrófica tratados con GH no crecen, a menos que se administren esteroides sexuales (Tanner y col., 1976) (Aynsley-Green y col., 1976), aún cuando pacientes hipogonadales sí llegan a una estatura normal sin esteroides antes de la fusión de la epífisis (Kostyo e Isaksson, 1977). Por lo tanto la estatura adulta, no se afecta por la ausencia de esteroides aunque las proporciones no son normales. Esto es debido a que el crecimiento del tronco es controlado predominantemente por los esteroides, mientras que el de las extremidades superiores es GH-dependiente (Tanner y col., 1976). Por lo tanto la expresión aparentemente normal del potencial de crecimiento en ausencia de esteroides sexuales resulta de un exceso del crecimiento de las extremidades respecto al tronco.

*2.1.4.1.2.3.c. Efectos promotores del crecimiento de los esteroides sexuales independientes de GH*

El papel de los esteroides gonadales en la aceleración del crecimiento lineal en el momento de la maduración sexual es obvio (Apter, 1980). En ausencia de secreción normal de GH y de IGF-I, los esteroides gonadales tienen efectos limitados sobre el crecimiento ya que en niños con hipopituitarismo tratados con testosterona

se produce un incremento subnormal de la velocidad de crecimiento (Tanner y Davies, 1985).

Ello sugiere una acción independiente de GH y IGF-I sobre el crecimiento, lo que se corrobora por la observación de un efecto estimulador de los esteroides sexuales sobre el crecimiento del cartilago epifisario de conejo *in vitro* (Weinstein y col., 1974).

Sin embargo, este efecto de los esteroides sexuales en ausencia de GH o de IGF-I es mínimo comparada con el crecimiento normal.

#### *2.1.4.1.2.3.d. Interacciones de los esteroides sexuales con la secreción de GH*

Los esteroides sexuales modulan la secreción de GH, presentando una marcada dependencia de los niveles de esteroides sexuales (Devesa, 1989).

Existe un patrón dimórfico en la secreción pulsátil de GH (Jansson y col., 1985) según el cual, la pulsación episódica, basal o asociada al sueño, es más frecuente y con un nivel basal más elevado en mujeres que en hombres. En estos últimos se produce la situación inversa, de forma que la frecuencia es menor y el nivel basal más bajo, mientras que los picos plasmáticos detectados presentan mayor amplitud. La impregnación hipotalámica de andrógenos o estrógenos determina el establecimiento de uno u otro patrón (Devesa, 1989).

Por otra parte, en niños con retraso de la pubertad, la respuesta de GH aumenta por administración de testosterona (Martin y col., 1968) (Martin y col.,

1979) (Illig y Prader, 1970), así como de estrógenos (Von Puttkamer y col., 1977) (Moll y col., 1986).

También las concentraciones integradas de GH son mucho mayores en sujetos de ambos sexos durante la pubertad que antes y después de éste período (Ho y col., 1987) (Plotnick y col., 1974) (Finkelstein y col., 1972) (Zadik y col., 1985). En chicas con pubertad central precoz presentan 1,5 veces más GH que en la fase puberal, mientras que muchachos con hipogonadismo hipogonadotrófico, las concentraciones de GH se incrementan hasta 4 veces después del tratamiento crónico con testosterona.

Sin embargo, algunas observaciones no corroboran estos datos, ya que no se encuentran modificaciones de la tasa de GH entre la fase prepuberal y la pubertad (Spiliotis y col., 1984) (Thompson y col., 1972) (Drop y col., 1982), lo que parece explicarse por la heterogeneidad de los pacientes estudiados, de tal forma que la acción de los esteroides sobre la GH parece producirse en individuos con retraso constitucional de la pubertad pero no en cualquier otra forma de deficiencia de GH.

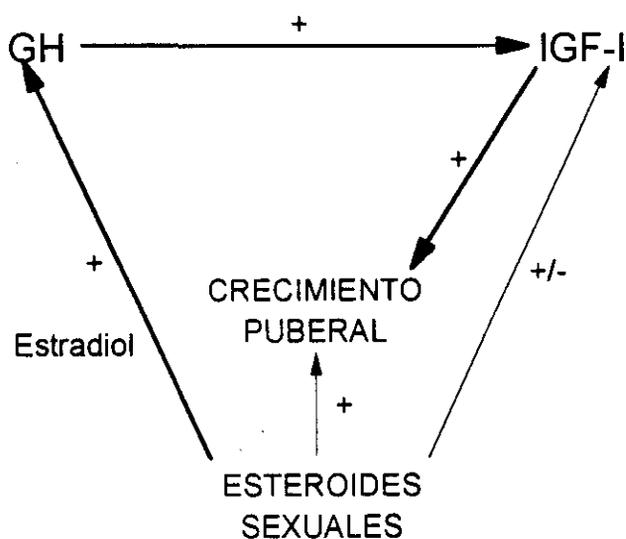
#### *2.1.4.1.2.3.e. Resumen de los mecanismos hormonales relacionados con el crecimiento puberal*

Según Bourguignon (1988) existe una interacción funcional entre los esteroides sexuales en su acción sobre el crecimiento puberal.

Los esteroides sexuales pueden tener una acción promotora del crecimiento propia, independiente de la GH o de IGF-I, pero de pequeña cuantía en el efecto total.

Sin embargo el mecanismo más importante es el incremento en amplitud de los episodios secretores de GH en presencia de los esteroides sexuales, siendo el estradiol el mediador principal. A su vez la GH estimula la producción de IGF-I, lo que refleja el aumento de la velocidad de crecimiento.

En ausencia de un aumento de GH los esteroides sexuales podrían estimular directamente la secreción de IGF-I y facilitar el crecimiento puberal, como se señala en el adjunto esquema.



#### 2.1.4.1.3. Factores nutricionales

Ya se ha señalado que el genotipo influye sobre la función, el metabolismo y la regulación del crecimiento. También la calidad y cantidad de los nutrientes son indispensables en este proceso a fin de cumplimentar los requerimientos nutritivos incrementados en esta época de la vida.

Las necesidades dietarias para el crecimiento incluyen las cantidades diarias requeridas para mantenimiento (metabolismo basal, pérdidas endógenas) y para la formación de los tejidos (graso y magro) en cada edad y para cada peso del individuo.

Estas necesidades incrementadas son satisfechas a través del aporte diario de los diferentes nutrientes cuyo valor se determina por el nivel de ingesta, que bien es ajustado por el animal en condiciones *ad libitum*, impuesto bajo alimentación restringida, o bien establecido de acuerdo con las recomendaciones dietarias (RDA) existentes para un grupo dado de personas (FAO/WHO, 1973) (FAO/WHO/UNU, 1985).

La energía (energía metabolizable, ME) es necesaria para el mantenimiento del metabolismo basal, la síntesis y regeneración tisular, la actividad física, la regulación de la temperatura corporal y las funciones excretoras normales. En las primeras etapas de la vida debido a la rapidez del crecimiento, así como al incremento en las pérdidas de calor, los requerimientos energéticos en los neonatos humanos es de 2-3 veces mayor que en los adultos, según el peso corporal.

En los primeros meses de vida,  $\frac{1}{3}$  de la energía ingerida es necesaria para incrementar la proteína y la grasa corporal, mientras que ya a los 4 meses, sólo un

10% es utilizado en esta función (Gracey, 1987). Se ha tratado de separar los requerimientos energéticos sólo para crecimiento de los del mantenimiento tisular, siendo los primeros función de la velocidad de síntesis proteica y los segundos función de la composición y del tamaño corporal (Payne y Waterlow, 1971).

Los requerimientos de energía para mantenimiento se definen como la cantidad de energía necesaria a un nivel cero de producción, cuando el animal de experimentación está en equilibrio energético (Van Es, 1972). En la rata de laboratorio el requerimiento medio energético (ME) por kg de peso metabólico es de unos 100 kcal según el National Research Council de USA (NRC, 1972) y otros autores (Miller y Payne, 1962) (McCracken, 1975).

La cantidad de energía necesaria para crecimiento, por su parte, depende del nivel de energía retenida en los tejidos, su reparto en proteína y grasa y la velocidad de crecimiento, de tal modo, que animales como la rata en crecimiento durante la fase prepuberal y postpuberal necesita una energía metabolizable (ME) de 327 ó 221 kcal/kg<sup>0,75</sup> para una velocidad de crecimiento de 7,2 ó 5,6 g/día respectivamente (Chenat, y col., 1976), lo cual puede variar según la propensión a la obesidad de los animales (Pullar y Webster, 1974).

En relación con la utilización de la ME para crecimiento, se ha establecido que es mayor la eficiencia para depositarse como proteína que como grasa (Thorbeck, 1975) (Mohan y Narasinga Rao, 1983). De acuerdo con esto, la formación de 1 g de materia orgánica como proteína o grasa requiere la misma cantidad de ME, es decir, 12-13 kcal. Ahora bien, la energía retenida como proteína se diluye en el tejido magro total, ya que 1 g de proteína se asocia con 3,2 g de agua (Kiełanowsky, 1976), y la retención de 1 g de proteína se corresponde a un incremento en peso de 3,9 g

frente a los 0,6 g de incremento en peso que se asocia con 1 g de lípidos (Van Es, 1972).

Los animales en crecimiento responden a la variación en la concentración energética de la dieta ajustando la cantidad de alimento consumido, por lo que la ingesta energética permanece relativamente constante, al menos en un rango determinado de contenido energético.

La proteína es necesaria para aportar los aminoácidos esenciales, pero también para la síntesis de otras sustancias nitrogenadas. El crecimiento implica depósitos de nuevo tejido y por ello se incrementan las necesidades de N, de tal modo que la ingesta de proteínas por kg de peso disminuye muy lentamente con la edad, mientras que los requerimientos energéticos disminuyen más rápidamente (Susanne y col., 1987).

La composición de las proteínas, la proporción de la energía total aportada por la proteína y el efecto de la manipulación previa pueden afectar la disponibilidad de los aminoácidos y la extensión de las pérdidas (Greaves y Tan 1966, Widdowson, 1981). Por ello, las recomendaciones de ingesta proteica están afectadas por estos factores y por los requerimientos energéticos.

Las recomendaciones proteicas para animales (o humanos, FAO/WHO/UNU, 1985) en crecimiento se han realizado en dos sentidos: sobre la base de sus requerimientos en aminoácidos esenciales (EAA) (NRC, 1972) (NRC, 1973) o bien sobre los de nitrógeno total, mediante balance de N, para determinar los requerimientos de nitrógeno no esencial, en especial en forma de proteína, a fin de conseguir una retención óptima de proteína corporal (Corring, 1982). El patrón de aminoácidos esenciales en animales de laboratorio es comparable y refleja una

composición constante en aminoácidos de las proteínas tisulares, como es el caso del músculo, aunque se encuentran grandes variaciones en la proteína total corporal, debido a las diferencias en la distribución tisular. No obstante, la composición aminoacídica del músculo no puede ser tomada en cuenta como índice para determinar los requerimientos relativos de EAA (Vandermeers y col., 1964). Para determinar los requerimientos de EAA el método más adecuado es la utilización de aminoácidos marcados con isótopos (Millward y Rivers, 1988).

Estos requerimientos de aminoácidos esenciales y proteína se modifican por factores como: sexo, castración (Desmoulin, 1973), genotipo o líneas de distinto crecimiento (Rerat y col., 1971), que influyen decisivamente sobre la capacidad del individuo para crecer. En especial, hay que tener presente las necesidades aminoacídicas en el crítico período de tiempo comprendido entre el destete y la pubertad; por ejemplo, la administración de una dieta pobre en valina puede retrasar la pubertad (Aguilar, 1989b). El mecanismo por el que se produce es la competición por el transporte de aminoácidos al sistema nervioso central, de tal modo que la disminución de valina induce un mayor intercambio de triptófano, produciéndose una mayor síntesis de serotonina, neurotransmisor anticonvulsivo.

Recientemente (Millward y Rivers, 1988) se ha puesto en evidencia la incorrecta adecuación de las recomendaciones dietarias (FAO/WHO/UNU, 1985), por considerarse bajos el contenido de EAA y el valor biológico de las proteínas dietarias. Las discrepancias entre las necesidades teóricas y las reales son debidas a la complejidad de los requerimientos y a la pérdida de aminoácidos esenciales por fenómenos oxidativos. Por ello se sugiere aumentar la concentración de EAA, ya que la ingesta de EAA en exceso además de compensar las inevitables pérdidas post-

absorción determina un efecto transitorio de "inducción anabólica". Los EAA ejercerían, según este último efecto, una importante acción reguladora del crecimiento influyendo sobre la tasa de depósito y recambio proteico, actuando directamente sobre la síntesis y degradación proteica y modificando, indirectamente, los niveles de las hormonas anabólicas: insulina,  $T_3$  e IGF-I (Jepson y col., 1988).

Por su parte, los carbohidratos constituyen la mayor proporción de la dieta normal en nutrición humana o animal (AIN, 1977), debido a que una dieta sin carbohidratos es incompatible con la vida a largo término. Los requerimientos no han sido definidos, pero pueden ser intercambiados con lípidos como fuente de energía, aunque el aporte de energía por adición de carbohidratos en lugar de lípidos (Munro, 1964) a una dieta basal, reduce la oxidación de leucina e incrementa la síntesis proteica neta (Motil y col., 1981). Además, se recomienda que en estudios a largo plazo, al menos una parte de la fuente de carbohidratos no procedan de sacarosa (AIN, 1977).

En cuanto a los lípidos, si se utiliza aceite de maíz, de frecuente utilización en determinados países, es necesario adicionar antioxidantes (AIN, 1977). El aceite de oliva presenta antioxidantes naturales, por lo que no es necesario.

La proteína determina aproximadamente 4 kcal/g peso (16,7 MJ/g), carbohidratos 4 kcal/g y lípidos, alrededor de 9 kcal/g (37,6 MJ/g) (Gracey, 1987).

De todo ello se deduce que para un crecimiento adecuado se deben aportar los nutrientes que satisfagan los requerimientos antedichos, por lo que el estado nutritivo tiene una importancia primordial sobre el crecimiento. Así, el estado nutritivo materno antes o durante gestación influye sobre el peso al nacimiento. Durante la vida postnatal y la adolescencia, una buena nutrición facilitará los

profundos cambios biológicos que se producen en este período, de tal modo que una malnutrición moderada no solo resulta en un retardo del crecimiento en altura, sino también un retraso en la pubertad. Los efectos sobre el adulto sobre todo en humanos, son peor conocidos, pero de hecho se debe tener en cuenta que la nutrición y la salud están interrelacionados, por lo que una buena calidad de vida sólo se consigue con el aporte de nutrientes adecuado.

Inversamente, el crecimiento y el desarrollo son barómetros sensibles del estado nutritivo y de otras influencias ambientales, por lo que su estudio es un medio idóneo de detección de la modificaciones nutricionales.

#### *2.1.4.1.4.1. Interacción GH-nutrición*

El estado nutritivo juega un papel de primera magnitud en la regulación de la secreción de la hormona del crecimiento y a su vez ésta influye sobre la utilización de los nutrientes. Se conoce desde hace tiempo la asociación entre los estados de malnutrición y el ayuno con concentraciones plasmáticas elevadas de GH y subnormales de IGF-I (Felig y col., 1971) (Ho y col., 1988) y viceversa, la disminución de la tasa plasmática y de la respuesta de GH a la estimulación por GH-RH en individuos obesos (Veldhuis y col., 1991).

El aumento en la concentración de GH en malnutrición está ligado a un mecanismo adaptativo conducente a movilizar energía del tejido adiposo para mantener el metabolismo basal (Hart y Morant, 1980) (Bauman y col., 1985) y puede ser consecuencia de la alteración en el mecanismo de retrocontrol entre los factores

*insulin-like* y la secreción de GH (Berelowitz y col., 1980) o a la alteración del aclaramiento metabólico de la GH (Trenkle, 1976). Una posible explicación para el papel regulador de la nutrición sobre la secreción de la hormona, se basa en sus efectos sobre el metabolismo, de tal modo, que sus acciones proteínogénica, lipolítica y sus propiedades anti-insulínicas pueden facilitar la utilización óptima de los nutrientes en periodos de privación nutritiva (Clemmons y col., 1987).

Se ha comprobado, recientemente, la influencia que tienen las modificaciones en la cantidad de nutrientes ingeridos sobre el eje somatotrópico y sus consecuencias sobre la velocidad de crecimiento de los rumiantes. Así, con altos niveles nutritivos, la secreción de GH se reduce mientras el factor IGF-I se mantiene en el valor alcanzado por los animales con un nivel medio de dieta. Sin embargo, con bajos niveles nutritivos la tasa de IGF-I disminuye, sin cambios en la GH, lo que conduce a un balance energético negativo. Según Breier y col. (1988) este resultado parece señalar una buena relación GH/IGF-I en el primer caso y un estado refractario parcial a la GH en el segundo, aunque manteniendo una tasa de crecimiento positiva. Esta diferente relación entre las secreciones de GH y IGF-I con cada nivel nutritivo sugiere que con bajas ingestas de alimento puede existir una insensibilidad a la GH central o periférica (Breier y col., 1986).

Por lo tanto, el estado nutritivo puede ser un factor de primera importancia para determinar el crecimiento y la regulación del eje somatotrópico, a través de la modulación de la sensibilidad tisular a la GH, ya que a menos que el nivel de nutrición sea mejorado, la relación entre GH y su efecto sobre el crecimiento puede no ser óptimo.

Por ello algunos autores han relacionado las pobres respuestas a la GH sobre la ganancia de peso y el depósito de tejido magro de animales en crecimiento (Baile y col., 1983) (Chung y col., 1985) con las condiciones nutritivas empleadas, puesto que las mejores respuestas a pGH se han alcanzado en cerdos sometidos a dietas con un mínimo entre un 16 y un 18% de proteína (Etherton, 1989), mientras que el crecimiento es menor con un 14% de proteína dietaria (Smith y col., 1989).

Sin embargo, mientras las acciones anabólica y antilipogénica por administración exógena de GH son inequívocas, el impacto que los componentes dietarios (energía, proteína y minerales, así como sus modificaciones en la dieta) pueden tener sobre la acción promotora del crecimiento de la hormona GH, es muy poco conocido y se ha comenzado a investigar muy recientemente. En especial se hace énfasis en la interrelación entre los niveles de proteína y energía dietarias con la acción hormonal sobre la distribución de los nutrientes y su capacidad de depósito corporal.

#### *2.1.4.1.4.1. Relación entre la GH, la proteína dietaria y la eficiencia de depósito proteico.*

La secreción endógena de GH es el factor principal que favorece la acreción de la proteína corporal en cerdos en crecimiento (Boyd y col., 1988) (Campbell y col., 1988, 1989b), cuya velocidad de depósito aumenta en machos entre 196 y 238 g/día y en hembras entre 148 a 235 g/día, lo que parece requerir un incremento concomitante de los niveles de proteína dietaria.

Boyd y col. (1988) usando un método factorial y Goodband y col. (1988) predicen que es necesario un aumento de dos veces la concentración de lisina dietaria, para alcanzar un 81% de incremento en la deposición proteica inducida por GH en cerdos machos castrados entre 55 y 100 Kg de peso, aunque los autores no miden los cambios producidos por la hormona sobre la capacidad de depósito proteico, ni tampoco la respuesta de los animales control a contenidos de lisina por debajo del nivel estudiado (6%).

Easter (1987) por su parte sugiere que en cerdos castrados GH-tratados, entre 45 y 100 Kg de peso, los requerimientos proteicos aumentan de un 14% a un 23,6%, pero no estudian las respuestas de los animales control a la proteína dietaria. Así mismo, Fowler y Kanis (1989) comparan la composición de la canal de cerdos administrados con 4 dosis de GH y sometidos a dos niveles de proteína dietaria (16,5% y 19,0%) entre 30 y 95 Kg. Los resultados indican que el aumento de la velocidad de crecimiento y de la eficacia alimentaria, así como la reducción de la grasa corporal inducidos por la GH, se incrementan con la dieta de mayor nivel proteico. Sin embargo estos datos no aportan la información cuantitativa necesaria para determinar cuál es el porcentaje de lisina y otros aminoácidos requerido para aumentar del depósito proteico.

Por el contrario, Campbell y col. (1990) y Caperna y col. (1990) señalan que sólo se requiere un incremento marginal (4%) en el nivel de la proteína dietaria "ideal" (ARC, 1981), para aumentar de un 18 a un 24% la deposición proteica en cerdos machos tratados con GH, entre 30 y 60 Kg de peso.

Estos resultados sugieren que la hormona GH puede aumentar la eficiencia de la absorción y/o de la utilización de la proteína, y por lo tanto mejorar el depósito proteico sin un incremento concomitante de los niveles de proteína dietaria.

Por otra parte, la máxima acreción proteica en cerdos muy jóvenes (<50 Kg) depende fundamentalmente de la ingesta energética (Whittemore, 1986). Al menos, parte de los incrementos en la deposición proteica inducida por GH, puede estar asociada con el efecto antilipogénico de la hormona y con el incremento de la energía derivada hacia la síntesis proteica.

En cerdos de más peso corporal, el máximo depósito proteico está limitado más por factores intrínsecos que por ambientales (ingesta energética) y por lo tanto, la relación entre la administración de GH, la proteína dietaria y sus efectos sobre la capacidad de acreción proteica puede ser distinta que en los animales más jóvenes.

En trabajos recientes, Campbell y col. (1991) señalan que cuando la ingesta energética es fija, la administración de GH aumenta la velocidad de deposición proteica de 119 a 215 g/día, lo que se corresponde con un incremento en el nivel de proteína dietaria del 10,6% al 18% en cerdos entre 60 y 90 Kg de peso. Este resultado indica que el aumento en el porcentaje proteico de la dieta requerido por los animales GH-tratados es directamente proporcional al incremento en la capacidad de depósito proteico, aunque no existe evidencia alguna de un efecto marcado de la GH sobre la utilización de los aminoácidos dietarios.

Recíprocamente, la magnitud del incremento en la acreción proteica y en la composición corporal inducidos por la GH pueden ser función del contenido dietario en proteína, puesto que la velocidad con que se deposita proteína es la misma en cerdos sometidos a bajas ingestas proteicas, tanto controles como GH-tratados.

Por el contrario, la velocidad de acreción grasa (g/día) se reduce con dietas altas en proteína, agudizándose la pérdida con la administración de la hormona, tanto en cerdos jóvenes como más viejos (Campbell y col., 1990).

Estos datos ponen de manifiesto las acciones independientes de la hormona sobre los metabolismos graso y proteico, lo que no es demasiado sorprendente, puesto que los efectos estimuladores de la proteína parecen mediados en parte por el factor IGF-I (Cheng y Kalant, 1968) (Allen y col., 1986), cuya síntesis y posterior liberación puede ser inhibida por la deficiencia proteica (Campbell y col., 1990). Por el contrario, la inhibición de la lipogénesis por disminución de la captación de glucosa y de la sensibilidad a la insulina de los adipocitos (Walton y col., 1987) es un efecto directo de la GH, mediante la inhibición de la actividad de las enzimas lipogénicas fundamentales (Magri y col., 1987).

Por último, la magnitud de los cambios en la velocidad de depósito de proteína y grasa inducida por la GH están influidos por el peso corporal (Etherton y col., 1986) y el sexo del animal (Campbell y col., 1989b), así como por la dosis empleada de la hormona (Evoek y col., 1988). Por lo que todos estos factores pueden modificar el nivel de proteína dietaria necesario para su acción anabólica.

#### *2.1.4.1.4.2. Relación entre la administración de GH y la ingesta energética sobre la eficiencia de depósito proteico.*

Con dietas adecuadas en proteínas la acreción proteica corporal, en animales muy jóvenes en crecimiento, es una función de la ingesta energética y parece

independiente de la ingesta proteica (Campbell y col., 1988). La relación entre la ingesta energética y la acreción de la proteína corporal determina la distribución de la energía entre los requerimientos para mantenimiento y la proteína y grasa corporales, y en consecuencia indica los efectos que la modificación de la ingesta energética puede ejercer sobre el crecimiento y la composición corporal (Black y col., 1986) (Dunkin y col., 1986).

En cerdos de más de 60 Kg la relación es de forma lineal/meseta, representando la meseta la máxima capacidad de crecimiento de la proteína del animal (Campbell y col., 1985a) (Dunkin y col., 1986). En cerdos de menos peso, el depósito proteico presenta una relación lineal con el aumento de la ingesta energética, hasta el límite del apetito del animal (Campbell y col., 1985b), lo que influye de forma marcada sobre la ganancia ponderal y por tanto sobre la eficiencia de conversión del alimento en peso. De acuerdo con Campbell y col. (1985,a,b), Dunkin y col. (1986) y Whittemore (1986) esta relación tiene consecuencias sobre la expresión de los requerimientos de aminoácidos y de proteína dietaria. Así por ejemplo, la necesidad de mantener constante la razón proteína/energía dietaria para un buen crecimiento de la proteína corporal, permanece válido y es biológicamente el método ideal para expresar los requerimientos proteicos, sólo cuando la acreción proteica se relaciona linealmente con la ingesta energética. Como la ingesta energética es el mayor determinante de la velocidad de depósito proteico, una razón proteína/energía específica puede corregir cambios en la ingesta de alimentos; por ello, la demanda de proteína a nivel tisular será alcanzada por un cambio apropiado en la ingesta proteica. Por el contrario, la relación en meseta de la acreción proteica determina que los requerimientos proteicos tisulares para proteína permanezcan

constantes e independientes de la ingesta energética, por lo que los requerimientos dietarios deben ser expresados sobre una base de ingesta diaria y teóricamente cambiará cuando se modifique la ingesta de alimentos. La relación lineal entre la ingesta energética y el depósito proteico ha sido confirmada en cerdos administrados con GH, entre 25 y 55 Kg de peso (Campbell y col., 1988).

Sin embargo en animales administrados con GH aumentan los requerimientos de energía para mantenimiento y se altera la relación entre la ingesta energética y el depósito proteico, aunque la magnitud de los cambios y los efectos consiguientes sobre la expresión de los requerimientos de proteína están influidos por el sexo del animal, lo que indica que la hormona somatotropa altera la demanda de nutrientes a nivel tisular (Campbell y col., 1991).

## 2.2. COMPOSICIÓN CORPORAL EN LAS DISTINTAS ETAPAS DE LA VIDA

### *2.2.1. Composición corporal en las distintas etapas de la vida*

El conocimiento de los cambios en la composición corporal durante la vida postnatal y hasta la pubertad es fundamental para comprender el crecimiento.

El cambio en el contenido de agua del cuerpo en desarrollo, fue considerado por Moulton (1923) como uno de los principios básicos del desarrollo del mamífero. El otro principio enfatizado por Moulton es que la grasa es la variable más importante de la composición corporal. En el ratón, el porcentaje de proteínas y de cenizas permanece relativamente estable durante el período postdestete, mientras que el porcentaje de agua disminuye (Lang y Legates, 1969) (Bakker, 1974).

Está hoy bien establecido que existe una edad de madurez química, al igual que hay una edad de madurez sexual. Cada especie llega a la edad de su madurez química en un momento peculiar de su propia vida media. Antes de esa edad el porcentaje de agua y la concentración de sodio en el tejido magro disminuye, mientras que las concentraciones de proteína, potasio y calcio aumentan (Widdowson y Dickerson, 1964).

En un momento dado del proceso de crecimiento las proporciones de agua, proteína y minerales en la porción del cuerpo sin grasa, se estabilizan. En este momento, el cuerpo alcanza su "madurez química". La constancia del cuerpo sin grasa, corresponde a esta madurez, que es alcanzada a una edad relativamente constante dentro de la vida media del individuo.

La edad de la madurez química se asocia estrechamente con la edad de la madurez sexual, aunque ello no indique el estado fisiológico del animal antes de esa edad.

Basados en la disminución de la proporción de agua y del incremento de proteína hasta la edad de madurez química, Brody (1945) sugiere que la razón proteína/agua podría servir como indicador del "estado fisiológico". Esta variable se incrementa con la edad mientras que el peso corporal va aumentando, hasta que se hace constante a la edad de la madurez química. Sobre esta base, la edad y el peso en la madurez sexual o química podría coincidir con la edad y el peso al que la razón proteína/agua es máxima.

En todas las especies, los tejidos blandos llegan a la madurez química antes que los duros y desde el punto de vista de la composición corporal total, los huesos se desarrollan antes que el músculo y estos a su vez antes que la grasa (Hammond y col., 1938).

Por lo tanto, en cada etapa de la vida la composición corporal cambia, de tal modo que aparecen diferentes proporciones en los distintos componentes corporales desde el nacimiento y a través de la lactancia, el destete y la pubertad. Dentro de una edad determinada los porcentajes de grasa y proteína se correlacionan negativamente, también es alta y negativa la correlación entre porcentaje de grasa y agua (Eisen y Leatherwood, 1981).

### *2.2.1.1. Composición corporal durante la etapa neonatal*

El crecimiento postnatal inmediatamente después del nacimiento es básico para asegurar la supervivencia del individuo. Widdowson y Crabb (1976), señalan que aunque la ganancia corporal en peso es pequeña, el crecimiento ponderal de los órganos esenciales es muy rápido en cerditos de un día de vida. Igualmente, el crecimiento postnatal del pelo en los animales que nacen desnudos, como ratas y ratones, y la acumulación de grasa en el cerdo (Elliot y Lodge, 1977), son fundamentales como mecanismos protectores frente a las pérdidas de calor metabólico. Aunque los cerditos tienen una capacidad limitada para metabolizar grasa durante los primeros días de vida (Curtis y Rogler, 1970) la grasa se acumula, aunque la ingesta energética sea baja. Además la gran reserva de glucógeno de muchos animales muy jóvenes se usa como fuente energética a corto plazo en la primera vida postnatal (Shelley, 1969), siendo indispensables las reservas de grasa parda para producir calor sin escalofrío.

Widdowson (1950) da valores para la composición corporal de siete especies de animales al nacimiento y pone de relieve la diversidad en la madurez química y física del recién nacido. A los ochenta días desde la concepción, el feto humano tiene más sodio y cloro y menos nitrógeno, potasio, calcio, fósforo y magnesio por kg de peso magro que los neonatos de rata, ratón, conejo y gato, aunque estos tienen menores períodos de gestación (Widdowson y Dickerson, 1964). De ahí la evidencia de que las especies de pequeño tamaño crecen y se desarrollan químicamente a más velocidad que el hombre. Valores más recientes han sido aportados por Sheng y Huggings (1971) para el perro sabueso; Holleman y Dieterich (1978) para el conejo

pardo de Noruega, así como los valores para el ternero y el cordero del Agricultural Research Council (ARC, 1980).

### *2.2.1.2. Composición corporal durante la lactancia*

Los primeros datos sobre este aspecto fueron revisados por Spray y Widdowson (1950). Durante este período de la vida los contenidos absoluto y relativo de grasa corporal se incrementan y por el contrario, la proporción de agua disminuye. La razón proteína/cenizas también cambia cuando el animal crece, pero menos claramente que la relación grasa/agua. El tipo de nutrición es básico en el desarrollo corporal del animal. Norton y col. (1970) estudian los cambios en la composición corporal del cordero prerrumiante durante las primeras ocho semanas de vida, alimentados con sustitutos de la leche que varían en contenido de proteína cruda (Nitrógeno x 6,25) entre 120 y 460 g/kg, mientras Searle y col. (1972) y Searle y Griffiths (1976) estudian estos cambios en los corderos que pastan con sus madres. Sólo los primeros presentan una composición que se correlaciona positivamente al peso corporal y que es más alta que la correlación con la edad o con la velocidad de ganancia en peso. Esta relación también se ha encontrado por Morgan (1969) en terneros y por Fraga y col. (1978) en conejos, pero no es aplicable a todas las especies. Igualmente Campbell y Dunkin (1983) en cerdos que ingieren distintas cantidades de sustitutos de la leche a una composición constante, Widdowson y McCance (1960) en ratas a las que manipulan el número de ratitas que lactan por camada y Spencer y Hull (1984) en conejos a los que doblan la ración alimenticia,

logran aumentar la cantidad de leche ingerida y por lo tanto su tasa de crecimiento. Por lo tanto, el aumento de la ingesta voluntaria de leche en las primeras edades de la vida, determina en el animal joven no sólo un crecimiento más rápido, sino que será más grueso a cualquier peso corporal en relación a los que tienen un crecimiento más lento, lo que demuestra la importancia del nivel nutritivo en animales de esta edad.

La influencia del nivel proteico dietario durante la lactancia también se ha puesto de manifiesto en animales monogástricos como cerdos (Filer y col., 1966), corderos (Norton y col., 1970) y terneros (Donnelly y Hutton, 1976), en los que se ha demostrado que a bajas concentraciones proteicas de la dieta, la cantidad de proteínas que puede depositarse está limitada por el aporte de aminoácidos, mientras que el exceso de energía se almacena como grasa (Fowler, 1974). Sin embargo, a altas concentraciones de proteína el aporte de energía no proteica es limitada, con el resultado de que el exceso de proteína se usa como una fuente de energía y el depósito graso se restringe. Este efecto puede también ser demostrado en rumiantes, cuando son alimentados con dietas con contenido energético variable (Lindsay y Davies, 1981).

#### *2.2.1.2.1. Composición corporal mineral durante la lactancia*

Las modificaciones en la composición mineral según los datos clásicos de Widdowson y Dickerson (1964), no presentan una relación universal entre la concentración de los principales minerales y el peso del cuerpo en canal, al contrario

que sucede con otros componentes como proteína, agua, cenizas y grasa. Sin embargo durante el período de predestete, cuando a los corderos se les suministra un sustituto de la leche de composición constante, el calcio y el fósforo corporales se relacionan estrechamente con el peso corporal vacío (Walker, 1972).

Slater y Widdowson (1962) señalan la disminución en la concentración de calcio y fósforo en el hueso individual y en el cuerpo total de gatos en los primeros días de la lactancia y sugieren que las cantidades de calcio y fósforo de la leche materna, pueden ser insuficientes en varias especies para alcanzar la calcificación del esqueleto, a fin de llegar al incremento de tamaño; así lo encuentran Weidmann y Rogers (1958) en conejos, Dickerson y Widdowson (1960) en ratas y Manners y McCrea (1963) en cerdos.

En todos los mamíferos eutherianos hay una acreción rápida de material mineral en el esqueleto en el último período de la gestación, por lo que los animales que nacen inmaduros y dependen para su depósito mineral del aporte lácteo, presentan grandes dificultades para alcanzar un crecimiento óptimo (Widdowson, 1974b).

### *2.2.1.3. Composición corporal durante el destete*

Bajo condiciones naturales el paso de la alimentación láctea a la sólida es gradual y los cambios en la composición corporal también son graduados (Searle y col., 1972). Sin embargo, en la mayoría de los animales de laboratorio es un proceso relativamente brusco y se produce en una etapa muy temprana del crecimiento.

Muchos autores han señalado una disminución en la velocidad del depósito de grasa después del destete como sucede en el ratón (Stanier y Mount, 1972), mientras que en cerdos o corderos se ha encontrado un cambio poco apreciable de la tasa de proteína depositada (Mitchell y Jagusch, 1972) (Kellaway, 1973) (Searle y Griffiths, 1976), aún cuando los resultados son contradictorios. Por ejemplo Hodge (1974) estudiando el efecto de la restricción energética en cerdos y corderos lactantes, encuentra que la restricción al 80% de la dieta control afecta de forma distinta a ambas especies. Así, mientras que en corderos disminuyen las velocidades de acreción grasa y de proteína, en los cerditos, la tasa de depósito proteico se mantiene y sólo se reduce la de la grasa, lo que puede ser consecuencia de la cantidad de alimento consumido.

Zucker y Zucker (1963) por otra parte, llaman la atención sobre la importancia que tiene comparar la grasa en valores absolutos en vez de hacerlo en porcentaje, puesto que si se hacen comparaciones en forma proporcional se podría concluir falsamente, que los animales pierden grasa al destete aún cuando puedan haberla mantenido o incluso haberla ganado en relación a la cantidad existente antes del destete.

Whittemore (1986) también ha observado en cerdos que el depósito de sustratos después del destete no se distribuye uniformemente entre todos los compartimientos corporales, sino que existen zonas protegidas, las partes "esenciales del cuerpo" a expensas de las "no esenciales". Así, la fracción que contiene los órganos esenciales y la fracción del músculo y hueso tienen siempre un balance positivo, mientras que la fracción grasa se reduce con una pérdida de grasa y una ganancia de agua simultáneas.

Muchos animales recién nacidos acumulan grasa en la etapa postnatal como sucede en el cobaya (Widdowson y McCance, 1955), pero en la primera semana de vida pierde el 70% de la grasa corporal presente al nacimiento. Este hecho podría considerarse atípico aunque el cobaya comienza a comer alimento sólido tan pronto como nace, por lo que la primera semana de vida puede considerarse como el momento del destete.

Uno de los casos más extremos en la naturaleza, es el destete abrupto que se produce en algunas especies de foca. Bryden (1968) encuentra cambios en el lobo de mar durante la edad neonatal y señala que desde el nacimiento (40 kg) los animales ganan peso rápidamente hasta que en el día 22 tienen alrededor de 140 kg. En esta etapa las madres vuelven al océano y los neonatos son destetados de pronto. Entre las 6-7 semanas los animales ayunan y pierden hasta 80 kg de peso, eliminando un 50% de grasa que procede de los órganos internos, mientras que la subcutánea se incrementa (Stewart y Lavigne, 1980) (Whittemore, 1986). El almacén interno no sólo contiene lípidos, sino también proteínas capaces de ayudar al joven lobo marino durante su largo ayuno, lo que representa un ejemplo de protección, en el que la capa aislante subcutánea que es esencial en el agua, es retenida a expensas de los almacenes internos de lípidos más utilizables.

Por el contrario un animal terrestre como el cerdo, pierde grasa procedente del tejido subcutáneo, mucho menos importante para su supervivencia (Whittemore, 1986).

### ***2.2.2. Crecimiento y composición corporal en la rata y el ratón***

El crecimiento del ratón es rápido llegando a la madurez y a su capacidad de reproducción hacia los 40 días de vida. El primer estro se produce a los 35-45 días en la hembra (Aguilar, 1989b).

El incremento en peso durante las primeras tres semanas es casi lineal, siendo en la hembras más rápido (McDowell y col., 1930), aunque después del quinto día hay una reducción progresiva en la velocidad de ganancia ponderal hasta el final del período de destete. Para Timon y Eisen (1970) el crecimiento es más veloz después del destete en los ratones machos que en las hembras.

Según Malik (1984) en el período activo de crecimiento los porcentajes de proteína y grasa aumentan mientras que los de agua y cenizas disminuyen. Así, cuando se llega a la asíntota del peso los porcentajes de proteína, agua y cenizas permanecen constantes en la masa magra corporal.

Cuando se expresan logarítmicamente la composición y el peso corporal, los depósitos de proteína, cenizas, agua y grasa se incrementan linealmente con el peso corporal en el ratón (Bailey y col., 1960).

Asimismo, los pesos de proteína/agua y proteína/cenizas son lineales y muestran alta correlación. En el período de postdestete el porcentaje de proteína y cenizas permanece relativamente estable mientras que el porcentaje de grasa se incrementa y el agua disminuye (Lang y Legates, 1969) (Bakker, 1974).

La grasa se deposita a una velocidad exponencial pero posteriormente en el ciclo vital. De hecho, los incrementos en peso después de la madurez son debidos fundamentalmente al acúmulo de grasa (Vernon, 1975).

Puesto que la mayor proporción de los depósitos corporales es de agua, cualquier cambio en la cantidad de humedad puede alterar la composición corporal. El factor más importante que afecta al agua corporal durante el crecimiento es, sin duda, la edad o el estado de madurez fisiológica. De acuerdo con Schemmel y col. (1969) la razón agua/proteína (Nitrógeno x 6,25) disminuye en la rata desde un valor de 4,5 al destete, hasta un valor de 3,1 a los 60 días de vida en que llega a un valor constante. Datos similares se han encontrado en el ratón (Rucklidge, 1982), aunque se encuentran variaciones de carácter individual en animales con edad, peso e historia nutritiva semejantes, como sucede en cerdos (Kotarbinska, 1969) ovejas o ratas (Blaxter y col., 1982). El agua total y los electrólitos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) se incrementan con la masa magra en el ratón de forma no lineal (Cheek y Holt, 1963), aunque durante el primer período del crecimiento, el potasio como medida de la masa celular, se relaciona linealmente con la proteína corporal (Cheek y Holt, 1963).

La disminución en la concentración de potasio/unidad de proteína durante el período del destete, puede relacionarse (Cheek y Holt, 1963) con un mayor depósito de la proteína intracelular o de membrana, quizá como preparación para el rápido crecimiento durante el postdestete.

Simultáneamente una caída en sodio y cloro del suero se produce a los 10 días de vida, lo que se correlaciona con la reducción del volumen intracelular por unidad de proteína, lo que señala la existencia de un mayor depósito de proteína en relación al agua celular.

Existe una relación estrecha entre el depósito muscular y óseo y entre el acúmulo de proteína y cenizas (Kotarbinska, 1969). Las cenizas, que son vitales desde el punto de vista metabólico y estructural para los primeros períodos del

animal, es una pequeña proporción del peso de la canal, que en el cerdo representa un 20% y en la rata un 15% de la proteína corporal (Barr, 1984).

La triple relación corporal agua/proteína/cenizas, parece no afectarse por el nivel de nutrición o el método de alimentación utilizado, según señalan en la rata Cohn y Joseph (1969), McNiven (1980) y Walks y col. (1983). Sin embargo, ratas alternativamente alimentadas para mantenimiento o *ad libitum* durante 3 días (Heggeness, 1965) contienen menos proteína y una mayor razón agua/proteína que los controles. La relación agua/proteína corporal puede ser alterada en deficiencia proteica, aunque los resultados son conflictivos quizá debido al tipo de dieta, nivel de ingesta o a la etapa de crecimiento a la que la dieta deficiente fue aportada. Por ejemplo, McCracken (1968 y 1975) encuentra que la relación agua/proteína es mucho mayor en las ratas deficientes en proteína, que en las restringidas energéticamente de la misma camada.

Por otra parte Fuller (1983) observa una deshidratación en la masa corporal de cerdos sometidos a una dieta alta en proteína, mientras que una dieta proteína-deficiente determina una pérdida de agua sin cambios en la proteína corporal, lo que sugiere que en el cerdo la razón agua/proteína se relaciona más con la edad que con la dieta (McCracken y McAllister, 1984).

Por último, Schemmel y col. (1969) indican que en la rata, la velocidad de depósito proteico es rápida hasta los 70 días de vida y después disminuye hasta hacerse cero a los 200 días. En este proceso McCracken (1986) identifica tres fases: a) hasta los 70 días de edad, caracterizados por la reducción de la razón agua/proteína, alto acúmulo de proteína y relativamente bajo depósito graso; b) una segunda fase en la que disminuye el depósito proteico con el incremento en la

acreción grasa y el mantenimiento de la relación agua/proteína; y c) periodo de madurez, donde el cambio más importante es la acreción corporal de grasa.

### ***2.2.3. Factores que modifican la composición corporal de los animales adultos y en crecimiento***

La composición corporal de cualquier animal es el resultado de la influencia de la nutrición en un período de tiempo dado, sobre los factores genéticos y fisiológicos que conjuntamente determinan su fenotipo.

#### ***2.2.3.1. Factores genéticos***

Junto con la ingesta alimenticia los genes son determinantes de la composición corporal del individuo. Estudios en gemelos así como en niños adoptados, han cuantificado la contribución relativa del genotipo y del ambiente sobre la composición corporal. En este sentido Mueller (1983), Foch y McClearn (1980) y Borjeson (1976) señalan que un 80% de la variación en el espesor de la piel o en el peso por altura puede ser atribuido al genotipo.

Del mismo modo, en toros y vacas de distintas camadas Allen y Kilkenny (1980) y Southgate (1982) señalan diferencias en la composición de la canal, en especial en la distribución y partición de la grasa. En novillos, Truscott y col. (1983)

indica que la línea Hereford deposita más grasa subcutánea mientras que la Frisona lo hace en la región intra-abdominal.

La predisposición a depositar grasa subcutánea es una consecuencia obvia de la selección tradicional en razas de ganado vacuno. El incremento de la grasa intra-abdominal en animales que lactan, resulta probablemente de la selección para producir leche, ya que la grasa en este depósito tiene un mayor aporte sanguíneo y puede movilizarse rápidamente.

Del mismo modo en los últimos 30 años, la velocidad de crecimiento y el peso corporal, han sido usados como parámetros del crecimiento en estudios de manipulación genética selectiva en ratones (Malik, 1984). La selección ha sido efectiva ocasionando cambios marcados en peso, no alcanzándose su límite hasta la vigésima generación (Roberts y col., 1966).

El proceso de selección en ratones, origina cambios en los componentes corporales que determinan el aumento del peso. Sin embargo, en experimentos a largo plazo, la selección para incrementar o disminuir la tasa de crecimiento tiene poco efecto sobre la forma de la curva de crecimiento (Bakker, 1974), aunque puede alterar la composición química del cuerpo (Eisen y col., 1977) (McPhee y Neill, 1976). La edad de selección es un factor de gran significación para determinar el estado de desarrollo graso en el ratón.

En general, en estos estudios se ha señalado que a una edad determinada las cepas seleccionadas para tener un peso corporal alto, presentan más grasa que las líneas no seleccionadas o que las seleccionadas para un peso corporal más bajo (Hetzl, 1978) (Allen y McCarthy, 1980) (McPhee y Neill, 1976).

En numerosos estudios en los que se ha medido la grasa a distintas edades se ha demostrado que antes de la edad de selección, las líneas seleccionadas para incrementar el peso corporal son más magras sobre una base de peso constante, tendiendo a aumentar la grasa rápidamente en edades posteriores (Fowler, 1958) (Allen y McCarthy, 1980) (Hayes y McCarthy, 1976). Según Hayes y McCarthy (1976) ello se debe a que el ratón seleccionado para incrementar su peso en la vejez, podría consumir más alimento y utilizar menos energía metabolizable para la producción de grasa, que a edades más jóvenes o hasta la edad de selección. Sin embargo, esto no parece ser cierto desde el punto de vista genético, ya que en muchos estudios se ha demostrado que la selección produce ratones magros por reducción del apetito.

Por otra parte Allen y McCarthy (1980) señalan que los depósitos de grasa no contribuyen de igual forma al incremento en el contenido graso corporal de un ratón en crecimiento. Así, la grasa perirrenal y la gonadal se desarrollan más tardíamente pero maduran antes y sufren otros efectos de selección más pronunciadamente que en otras localizaciones. Estos resultados confirman, además, la importancia que tienen las distintas regiones del cuerpo para contribuir a la diferente composición corporal entre líneas de ratón.

Además, según Fowler (1958) si los genes que causan rápido crecimiento con alta velocidad de depósito de proteína y agua, se fijan durante el curso de selección antes que los genes que causan el depósito graso, la selección en las primeras generaciones resultará en aumento del acúmulo proteico, mientras que las generaciones últimas acelerarán el depósito graso. Parece sin embargo difícil alterar

la composición química de la parte magra corporal (Timon y Eisen, 1970) (Sutherland y col., 1974).

### *2.2.3.2. Factores fisiológicos*

Las influencias fisiológicas que interaccionan con los factores nutritivos para determinar la composición corporal, están mediados fundamentalmente por hormonas, Webster (1986) señala que la activación y las modificaciones del sistema endocrino pueden producirse por varios mecanismos:

2.2.3.2.1. Como consecuencia natural del sexo del animal y otras influencias ambientales internas como hormonas

2.2.3.2.2. Influencia del ambiente externo

2.2.3.2.3. Influencia de la madurez

#### *2.2.3.2.1. Influencia del sexo y de las hormonas sexuales*

Los niveles circulantes de las hormonas gonadales se asocian con alteraciones en el peso y la composición corporal de animales alimentados normalmente (Leshner y Collier, 1973).

En ratas hembra, la administración de estrógenos determina una disminución de la ingesta de alimentos, del peso corporal y de la adiposidad, mientras que la progesterona invierte estos efectos (Gray y Wade, 1981). Estos mismos autores

postulan que estas hormonas pueden jugar un papel de gran importancia en el control del depósito graso, quizá a través del aclaramiento de los triglicéridos mediante el incremento de la actividad lipoproteínlipasa (LPL). En este sentido, la ovariectomía duplica el contenido en grasa corporal (Leshner y Collier, 1973) e incrementa la actividad LPL por gramo de tejido adiposo (Hamosh y Hamosh, 1975). Por otra parte, aunque no esté claro como influyen estas hormonas en caso de alteraciones nutritivas, varios investigadores han demostrado que el ayuno puede reducir sustancialmente la actividad LPL de los adipocitos (Hietanen y Greenwood, 1977) (Tan y col., 1977).

En general, los machos tienden a ser más magros que los machos castrados o las hembras. El tratamiento de estos con hormonas exógenas está destinada a conseguir el crecimiento y las características corporales del macho intacto, en especial en animales de consumo humano como el ganado vacuno (Fisher y Wood, 1985).

#### *2.2.3.2.2. Influencia del ambiente externo.*

Factores ambientales como el frío, no sólo reducen la velocidad de crecimiento por incremento de la pérdida energética como calor, sino que tienen profundos efectos sobre todos los aspectos de la composición corporal. Así, Dauncey e Ingram (1983) comparando cerdos jóvenes mantenidos a dos niveles de temperatura ambiente (0°C y 35°C), muestran que en el primer caso disminuye el crecimiento de patas, orejas y hocicos de estos animales, mientras que en el segundo, el músculo

retiene una mayor proporción de proteína. El diferente depósito lipídico parece producirse por la alteración en la retención de energía. Estos efectos pueden atribuirse por una parte a modificaciones en el flujo de sangre hacia los tejidos periféricos y hacia las extremidades; y por otra, a las consecuencias de la adaptación endocrina al frío (Macari y col., 1983).

El ratón presenta una termorregulación característica que ha sido relacionada con su capacidad para almacenar grasa. Entre los 15°C y 20°C, la tasa metabólica del ratón normal es dos veces la encontrada a temperaturas neutras 32°C-33°C (James y Trayhurn, 1976) (McCarthy, 1980). Ratones muy pequeños, debido a su relativamente mayor superficie por unidad de peso, disipan más calor a través de su piel y gastan más energía para mantener la temperatura normal que ratones más grandes, por lo que tienen menos energía disponible para el almacén de grasa. Por el contrario ratones más grandes, tienen demandas menores para termogénesis, lo que resulta en un exceso de energía ingerida, que después de utilizarla en los requerimientos normales del crecimiento, son almacenados como grasa (Malik, 1984). Esta característica fisiológica debe ser tomada en cuenta, en especial en estudios de selección para rápido crecimiento.

#### 2.2.3.2.3. *Influencia de la madurez*

El estado de madurez (quizá mejor definido como la proporción de masa magra madura) es el determinante no nutritivo más importante de la composición corporal y puede predecir la subsecuente composición de la ganancia corporal.

Los animales alcanzan su tamaño en la madurez siguiendo una curva sigmoide de su crecimiento acumulativo. Tasas de crecimiento relativas de tejidos individuales, órganos o músculos son descritos convencionalmente por la ecuación alométrica  $Y = a \cdot X^b$  (Huxley, 1932), descrita en el capítulo anterior. El hueso por ejemplo es un tejido que madura tempranamente ( $b < 1,0$ ) mientras que la grasa madura muy tarde ( $b > 1,0$ ). Los cambios en la composición corporal debido a la madurez descritos en forma de criterios simples, como es la razón músculo/hueso o bien de forma más compleja, como conjuntos de músculos individuales y la distribución de los depósitos grasos, pueden ser expresados por ecuaciones alométricas o similares (Butterfield y col., 1983). Sin embargo los valores de  $b$  (coeficiente alométrico) obtenidos por los diferentes tejidos, no explican por sí mismos el crecimiento como una unidad (Parks, 1982), lo que se debe tener en cuenta en estos estudios.

### 2.2.3.3. Manipulación del medio externo

#### 2.2.3.3.1. Influencia de los factores nutritivos

La composición corporal de un animal a cualquier edad, peso o estado de madurez puede ser influido por la cantidad o la calidad de los alimentos. Por lo tanto, a través de modificaciones en la dieta, es posible modificar la composición corporal de animales que comen *ad libitum* y crecen a su propio ritmo. Webster (1972) postula que los animales tienen un crecimiento dado y que modifican la ingesta a fin de llegar a su máximo desarrollo, de la mejor forma posible. Sin embargo Blaxter

(1968) y Parks (1982) señalan, que la velocidad de crecimiento y la composición corporal de los animales, son simplemente la consecuencia de la cantidad de nutrientes que consumen y de cómo lo hacen. Esto plantea la cuestión de como el animal reconoce su propia composición corporal y regula su ingesta adecuadamente. En este sentido Radcliffe y Webster (1978, 1979) investigando el crecimiento en ratas Zucker magras así como en ratas obesas congénitamente, alimentadas *ad libitum* con dietas de varios niveles de proteína dietaria, distinta calidad proteica y de carbohidratos y con diversas proporciones de energía metabolizable en forma de grasa, encuentran que la ingesta es regulada correctamente en cada sexo y fenotipo para sostener una velocidad máxima de depósito proteico, lo que puede interpretarse como el crecimiento máximo para ese fenotipo. Además, los coeficientes de variación del depósito proteico son pequeños y relativamente constantes en todas las ratas tanto machos como hembras, bien obesas o magras. Sin embargo la velocidad de depósito de grasa varía enormemente en todos los fenotipos, de acuerdo con la razón energía metabolizable (ME)/proteína metabolizable de la dieta, puesto que se incrementa el depósito de grasa al aumentar la grasa dietaria de 20 a 200 mg/g, mientras que al aumentar la celulosa de la dieta de 0 a 300 mg/g el depósito lipídico se reduce. No obstante, el coeficiente de variación del contenido de grasa es similar en ratas obesas y magras, lo que sugiere que no existe aberración alguna por parte de la rata mutante obesa sobre el control de la ingesta y la composición corporal. La conclusión más importante de este estudio es que en ratas (al menos), hay un punto máximo para el crecimiento del tejido magro, que predomina en el control de la ingesta alimentaria. Durante este período, el animal no presta atención al contenido de grasa corporal, por lo que es posible mediante manipulación en la calidad de la dieta sostener un

crecimiento máximo de tejido magro y manipular la composición corporal en una escala variable.

Para Webster (1986) la restricción de la ingesta durante el crecimiento, no solamente reduce la velocidad de ganancia del peso corporal, sino que disminuye el depósito de la razón grasa/proteína, por lo que a cualquier peso, edad o proporción de masa magra corporal, el animal restringido tendrá menos grasa en relación a proteína.

La consecuencia práctica de ello es que se puede manipular la razón masa magra/masa grasa de cualquier genotipo como se ha indicado previamente. La reducción del contenido graso por medios nutritivos determina normalmente una disminución de la ingesta y de la velocidad de crecimiento.

También las modificaciones en el nivel proteico dietario alteran el nivel de ingesta y la ganancia de peso corporal. Así, la tasa de crecimiento de la rata aumenta progresivamente con el contenido proteico de la dieta y después disminuye (Edozien y Switzer, 1978), lo que es corroborado por Mercer y col. (1981) en ratas alimentadas con dietas que contienen de 0 a 27% de proteína. Por otra parte, Meyer y Hargus (1959) señalan que ratas al destete, alimentadas con dietas que contienen un 10% de proteína, no comen más que los que ingieren dietas con un 20% de proteína, a menos que se fueren en gastar energía en un ambiente frío o por ejercicio. Tampoco ratas en crecimiento aumentan su ingesta para aportar proteína a fin de obtener un crecimiento máximo, cuando se someten a una dieta baja en proteínas. Sin embargo, también se han descrito respuestas hiperfágicas en animales sometidos a dietas bajas o marginales en proteína (Tulp y col., 1979) (Laurent y col., 1984).

Se ha propuesto la ingesta voluntaria como factor limitante de la velocidad de crecimiento, ya que determina el grado de utilización de los nutrientes para crecimiento tisular, de modo que incrementando la ingesta puede aumentar la tasa de crecimiento (Beitz, 1980). De acuerdo con esto, Pekas (1985) ha mostrado que alimentando, via fistula gástrica, a cerdos jóvenes con un 120% de la ingesta *ad libitum* provoca la aparición de un incremento en la acumulación muscular y grasa. El autor propone que la regulación del apetito es un factor limitante en el crecimiento de la masa magra. Resultados similares se han obtenido en estudios de pollos alimentados forzosamente (Nir y col., 1974).

En este sentido Sanz y Wolff (1988) señalan que independientemente del régimen dietario, la composición del cuerpo vacío depende de su propio peso. Sin embargo, cualquier peso corporal se alcanzará antes o después, dependiendo del régimen dietario y siempre con la limitación de la ingesta voluntaria, lo que indica la importancia de identificar los factores que, a cualquier nivel nutritivo o fisiológico, determinan dicha ingesta.

#### *2.2.3.3.2. Relación dieta-edad sobre la composición corporal*

La respuesta del animal a la dieta también depende de la edad aunque los estudios en este sentido son hasta ahora escasos. Así, Toyomizu y col. (1988) demuestran que la influencia del nivel de proteína dietaria sobre la ingesta energética y el peso corporal del ratón, en el período entre el destete y la madurez y los requerimientos proteicos necesarios para su crecimiento máximo, sólo pueden ser

considerados específicos a la edad y peso corporal en los que son determinados. Este mismo autor, en estudios sobre la acumulación de proteína y energía corporales en el ratón después del destete en respuesta a distintos niveles de proteína (15-70%), señala que el nivel proteico y la edad tienen un efecto más importante sobre la energía que sobre la proteína corporal, de modo que la grasa corporal, es dependiente más que la proteína corporal de la edad y del nivel dietario, lo que implica que el ratón come para almacenar energía más que para proteína (Toyomizu y col., 1988). A los mismos datos llegan Kleiber (1975) en bueyes y Eisen (1976) en ratones. Según estos autores la grasa es el componente más variable con la edad seguida del agua, mientras que la proteína y los minerales cambian poco.

Por otra parte, la energía corporal se incrementa en el ratón hasta una meseta, alrededor de los 30 días después del destete a cualquier nivel proteico de la dieta (Toyomizu, 1989) (Eisen, 1976), mientras que en ratas (Parks, 1982) y ovejas (Thompson y Parks, 1985) el contenido en energía se incrementa linealmente con el grado de madurez. Sin embargo, el máximo acúmulo de energía corporal se produce desde los 50 a los 70 días de vida con una concentración del 20% de proteína dietaria según las observaciones de Geiger y Canolty (1978), aunque a cada nivel de proteína ingerida, el depósito de energía llega a su máximo antes que el proteico.

Además, la máxima acreción proteica parece producirse a los 7 días después del destete en el ratón (Toyomizu, 1989) y depende del nivel proteico de la dieta (Oltjen y col., 1985), aunque posteriormente disminuyen los efectos dietarios.

Este depósito proteico es máximo con dietas del 45% de proteína, a cualquier edad entre 0 y 70 días, pero en etapas tardías del crecimiento el máximo depósito se alcanza con menores niveles de proteína dietaria.

#### 2.2.3.4. Manipulación del ambiente interno

##### 2.2.3.4.1. Influencia de la manipulación del "status" hormonal

La hormona de crecimiento (GH) es esencial para el crecimiento normal de animales inmaduros, desempeñando un papel fundamental en el control del reparto de nutrientes entre los almacenes tisulares (como la grasa) y la producción de leche o el depósito de tejido magro (Bauman y col., 1982). En los animales en crecimiento, la hormona somatotropa incrementa la velocidad de retención de nitrógeno pero disminuye la tasa de acreción grasa (Hart y Johnsson, 1986), por lo que, su administración exógena puede aumentar la eficacia de los nutrientes en el depósito del tejido magro.

Estas modificaciones de la forma de crecimiento y de la composición corporal por la acción de la GH se han utilizado en la mejora de la masa magra en producción animal (Chung y col., 1985) (Campbell y col., 1988) (Boyd y Bauman, 1989). Así, en cerdos en crecimiento, la administración de pGH determina un incremento de la ganancia ponderal y de la eficacia alimentaria, mientras que disminuye la grasa corporal. El efecto está en función de la dosis empleada de la hormona (Etherton y col., 1987) (McLaren y col., 1990), de la etapa del crecimiento en la que se halla el animal (Kanis y col., 1990), del sexo (Bark y col., 1989) y de la concentración de nutrientes en la dieta ingerida (Newcomb y col., 1990).

Las modificaciones de la ingesta de alimentos son muy variables en los animales GH-tratados respecto a los controles. Se han descrito grandes incrementos (Sandles y Peel, 1987), pequeños (Johnsson y col., 1985) y disminuciones leves o

muy marcadas (Boyd y col., 1986) (Evock y col., 1988) que están inversamente relacionados con la dosis administrada de la hormona (Fabry y col., 1991).

En general, el aumento de la eficacia de conversión del alimento en peso, independientemente de la cantidad de alimento ingerido, favorece el crecimiento del animal y el depósito de tejido magro (Pell y col., 1990), aunque algunos resultados son contradictorios. Así, Johnsson y col. (1987) no pueden reproducir estas acciones de la GH sobre el metabolismo del N, quizá debido a la disminución excesiva de la ingesta. También en novillos prepúberes tratados durante 21 días con GH (Sandles y Peel, 1987) aumenta la ganancia media diaria de peso, pero la composición corporal no se modifica. Muir y col. (1983) tampoco encuentran efectos anabólicos sobre el tejido magro en ovejas tratadas con 7 mg de oGH/día.

Para Pell y col. (1990) estas diferencias pueden atribuirse a las variadas acciones de la GH y sus distintos niveles de actuación: 1) la somatotropa puede aumentar la eficiencia de la absorción de los nutrientes; 2) modificar el metabolismo hepático, a través de sus receptores específicos (Wallis y Daniels, 1980) e incrementar la cantidad de nutrientes liberados por el hígado hacia los tejidos extrahepáticos y redistribuir los sustratos utilizados en la composición corporal; 3) los requerimientos de sustratos por los tejidos blanco, como el músculo, pueden ser diferentes en los animales GH-tratados y 4) la hormona puede alterar el balance endocrino, de tal modo, que el metabolismo se coordine hacia la acreción de la proteína corporal y la hidrólisis de la grasa.

Esta acreción de la proteína corporal por parte de la GH, en especial durante períodos de deficiencia energética, se verifica mediante la estimulación de la incorporación de aminoácidos en proteína y la síntesis proteica muscular a la vez que

deposita glucosa en los tejidos (Raben, 1973) (Kostyo y Nutting, 1974) (Krishnamachar y Canolty, 1986).

Eisemann y col. (1986 y 1989) demuestran el incremento de la síntesis proteica corporal por administración de somatotropa bovina (bST) a ganado vacuno. Sin embargo, parece existir una respuesta diferencial entre los distintos tejidos a la administración exógena de GH ya que la síntesis proteica absoluta se incrementa en varios músculos y en el intestino delgado de novillos GH-tratados, pero la tasa fraccional de síntesis proteica sólo se incrementa en músculo, pero no en hígado ni en intestino (Eisemann y col., 1989).

También la utilización metabólica de los nutrientes puede modificarse por efecto de la hormona. En este sentido Verstegen y col. (1990) señalan que la administración de pGH no afecta la utilización digestiva de la energía, pero sí aumenta la producción de calor, lo que depende de los mayores requerimientos para mantenimiento. Además, aunque la utilización digestiva de la proteína tampoco se modifica (González y col., 1990), su eficacia de retención se incrementa en los cerdos pGH-tratados (Krick y col., 1990), siendo la ganancia proteica relativamente independiente del aporte de energía (Campbell y col., 1988). Esto señala que la función del reparto de nutrientes, depende de los requerimientos para el depósito de proteínas, los cuales se alcanzan gracias a la calidad y la cantidad de la proteína dietaria ingerida y al potencial de crecimiento del animal. El depósito de grasa es posteriormente manipulado por la combinación entre la administración de la hormona y el aporte de energía, lo que corresponde a la diferencia entre la ingesta energética y los requerimientos para mantenimiento y la ganancia en proteína (Noblet y col., 1992).

Por otra parte, la capacidad de la GH para disminuir el depósito graso viene determinado por las modificaciones que la hormona induce sobre la síntesis y la movilización lipídica. La administración exógena de GH deprime la grasa corporal a través del aumento en la lipólisis (Goll y col., 1989) y de la disminución de la lipogénesis (Boyd y Bauman, 1989), siendo la pérdida proporcional al aumento de la dosis administrada de GH.

El efecto se caracteriza por la disminución de los enzimas lipogénicos (complejo ácido graso-sintetasa), por la disminución de la captación y oxidación de la glucosa y de la sensibilidad a la insulina por parte del tejido adiposo (Etherton, 1989) y por el estímulo de la lipólisis (Goodman, 1984), aunque este último efecto es muy discutido (Boyd y Bauman, 1989).

En general, la GH actúa disminuyendo la respuesta del tejido adiposo a señales homeostáticas que estimulan la lipogénesis, aumentando las que afectan a la lipólisis, gracias a lo cual puede redistribuir los sustratos al disminuir los que se depositan como grasa.

La pérdida de la acreción de lípidos se relaciona con el balance energético (Bauman y McCutcheon, 1986), ya que en un animal en crecimiento con alta ingesta energética, la GH reduce la tasa de síntesis lipídica, por lo que los niveles circulantes de ácidos grasos no esenciales (NEFA) no se afectan (Peters, 1986). Sin embargo, en animales con ingesta energética restringida, la tasa lipogénica es baja y el efecto primario de la GH es la movilización grasa (Machlin, 1972) con el aumento consiguiente de los niveles de NEFA (Eisemann y col., 1986). En esta situación, la velocidad de recambio de NEFA y la de su oxidación a  $\text{CO}_2$  aumenta, lo que se

correlaciona con el grado de negatividad del balance energético (Bauman y col., 1988).

El efecto anti-insulínico de la GH sobre el tejido adiposo parece ser debido a un acontecimiento post-receptor ya que la hormona parece inhibir la unión de la insulina a su receptor (Davidson, 1987).

Recientemente se ha encontrado una interacción de la GH a la proteína  $G_i$  de membrana (Roupas y col., 1991), lo que podría impedir la producción de AMPc y aumentar el efecto de los agonistas que estimulan la proteína  $G_s$  (p.e. catecolaminas, agonistas  $\beta$ -adrenérgicos). Esto puede resultar en un aumento del AMPc dependiente de  $G_s$ , capaz de promover la activación de la triacilglicerol lipasa hormona-sensible, por incremento de la actividad proteínquinasa AMPc-dependiente.

Este mecanismo explicaría el aumento de la sensibilidad del tejido adiposo a la lipólisis por acción de las catecolaminas, bajo tratamiento con GH y la depresión en la actividad de la acetil CoA carboxilasa por la fosforilación proteica GH-dependiente de este enzima (Boyd y Bauman, 1989).

Por último, los efectos supresores de la GH sobre el depósito grasa dependen de la etapa de crecimiento del animal. En los jóvenes, la hormona disminuye la síntesis *de novo* de la grasa, mientras en los que crecen más lentamente, más viejos, la lipólisis puede ser el mecanismo principal (Bergen y Merkel, 1991) de la depleción grasa.

Aunque las concentraciones de GH plasmáticas no están correlacionadas al crecimiento total del animal, la secreción diaria media de la hormona se ha relacionado positivamente con el crecimiento del tejido magro y negativamente con el tejido adiposo corporal (Trenkle y Topel, 1978). Este efecto depende de las

actividades lipolíticas y proteogénicas de la hormona. El tratamiento de otros animales con GH, como cerdos (Machlin, 1972) y corderos (Wagner y Veenhuizen, 1978), muestra resultados similares.

Por otra parte, en pollitos entre 14 y 28 días Rosebrough y col. (1989) y en pájaros Stewar y Washburn (1983), encuentran una relación inversa entre los niveles de GH y el crecimiento aunque la administración de GH exógena de lugar a un incremento del peso corporal en pollos (Vasilatos-Younken, 1988a) (Vasilatos-Younken, 1988b); así como un aumento de la retención nitrogenada en rumiantes en crecimiento (Moseley y col., 1982) (Grantley-Smith y col., 1983) (Eisemann y col., 1989).

También la inmunización de animales frente a somatostatina, promueve la velocidad de crecimiento quizá a través de la desinhibición de la formación de GH (Spencer, 1981).

Como se ha señalado los efectos de la GH sobre la síntesis proteica muscular puede ser consecuencia de la producción directa de somatomedina en músculo y de su correspondiente acción paracrina o autocrina (Spencer, 1981). Existe una correlación positiva entre la concentración de somatomedina plasmática y la velocidad de crecimiento en rumiantes (Gregory y col., 1977) (Lund-Larsen y col., 1977) aunque en niños tratados con metil-testosterona, la velocidad de crecimiento es inversamente proporcional a la concentración de somatomedina (Van den Brande y col., 1979).

La somatomedina C (IGF-I) media el crecimiento óseo en primer término, mientras la somatomedina A (IGF-II) media el crecimiento fetal (Perdue, 1983) (Phillips y Vassilopoulou-Sellin, 1980). Ambas somatomedinas se requieren también

para el crecimiento muscular y pueden ser responsables del reparto de la energía dietaria hacia el crecimiento del tejido magro (Rosebrough y col., 1989). En pollitos en crecimiento aparece una relación muy significativa entre la concentración plasmática de Sm-C y el peso relativo del músculo pectoral, como porcentaje del cuerpo total. Por esta razón, se discute si la acción de la Sm-C podría reflejar el estado anabólico proteico del pollo, o si depende de un papel activo de la GH en la acreción proteica.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### 3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

EXPERIMENTO 1: Animales *No Tratados* (NT). ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA EDAD, NIVEL DE PROTEÍNA DIETARIA, SEXO Y DE SUS INTERACCIONES SOBRE INGESTA, EFICACIA ALIMENTARIA, CRECIMIENTO SOMÁTICO Y COMPOSICIÓN CORPORAL DE RATONES BALB/c ENTRE 21 Y 50 DÍAS DE VIDA.

*Lote 1. Control no tratado y sometido al 12% de proteína (caseína+D,L-metionina) en la dieta.*

- nº de animales: 60 ratones BALB/c
  - grupo ♀ 12% NT (30 ratones BALB/c ♀)
  - grupo ♂ 12% NT (30 ratones BALB/c ♂)
- peso inicial:  $11 \pm 1$  g
- edad inicial: 21 días de vida
- período experimental total: 30 días
- períodos experimentales parciales: 21-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45 y 45-50 días de vida.
- Administración de solución salina fisiológica estéril por vía subcutánea, en dosis de 20  $\mu$ l/g de peso, según se expresa en la sección 2.2.3.
- Al final de cada período parcial de experiencia se sacrifican 5 animales machos y 5 hembras.
- Toma de muestra: órganos, piel y canal.

*Lote 2. Control no tratado y sometido al 20% de proteína (caseína+D,L-metionina) en la dieta.*

- nº de animales: 60 ratones BALB/c
  - grupo ♀ 20% NT (30 ratones BALB/c ♀)
  - grupo ♂ 20% NT (30 ratones BALB/c ♂)
- peso inicial:  $11 \pm 1$  g

- edad inicial: 21 días de vida
- período experimental total: 30 días
- períodos experimentales parciales: 21-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45 y 45-50 días de vida.
- Administración de solución salina fisiológica estéril por vía subcutánea, en dosis de 20 µl/g de peso, según se expresa en la sección 2.2.3.
- Al final de cada período parcial de experiencia se sacrifican 5 animales machos y 5 hembras.
- Toma de muestra: órganos, piel y canal.

La influencia de la EDAD de los animales *No Tratados* se observa mediante la comparación entre los diferentes períodos experimentales parciales dentro de cada grupo. El efecto de la DIETA se obtiene por comparación de animales del mismo sexo sometidos a ambos niveles proteicos dietarios (♀ 12% NT con ♀ 20% NT y ♂ 12% NT con ♂ 20% NT). Finalmente, en un mismo nivel proteico se comparan animales de distinto sexo (♀ 12% NT con ♂ 12% NT y ♀ 20% NT con ♂ 20% NT) para observar el efecto sexual. Se estudia también la influencia de las interacciones entre los factores mencionados.

**EXPERIMENTO 2: Animales *Tratados* (T). ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA EDAD, NIVEL DE PROTEÍNA DIETARIO, SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE INGESTA, EFICACIA ALIMENTARIA, CRECIMIENTO SOMÁTICO Y COMPOSICIÓN CORPORAL DE RATONES BALB/c ADMINISTRADOS CON rhGH ENTRE 21 Y 50 DÍAS DE VIDA.**

*Lote 3. Tratado con hormona de crecimiento humana recombinante (rhGH) y sometido al 12% de proteína (caseína+D,L-metionina) en la dieta.*

- nº de animales: 60 ratones BALB/c
  - grupo ♀ 12% T (30 ratones BALB/c ♀)
  - grupo ♂ 12% T (30 ratones BALB/c ♂)

- peso inicial:  $11 \pm 1$  g
- edad inicial: 21 días de vida
- período experimental total: 30 días
- periodos experimentales parciales: 21-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45 y 45-50 días de vida.
- Administración de rhGH por vía subcutánea, en dosis de  $0,074 \mu\text{g}/20 \mu\text{l}$  solución ClNa 9‰/g de peso, según se expresa en la sección 2.2.3.
- Al final de cada período parcial de experiencia se sacrifican 5 animales machos y 5 hembras.
- Toma de muestra: órganos, piel y canal.

*Lote 4. Tratado con hormona de crecimiento humana recombinante (rhGH) y sometido al 20% de proteína (caseína+D,L-metionina) en la dieta.*

- nº de animales: 60 ratones BALB/c
  - grupo ♀ 20% T (30 ratones BALB/c ♀)
  - grupo ♂ 20% T (30 ratones BALB/c ♂)
- peso inicial:  $11 \pm 1$  g
- edad inicial: 21 días de vida
- período experimental total: 30 días
- periodos experimentales parciales: 21-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45 y 45-50 días de vida.
- Administración de rhGH por vía subcutánea, en dosis de  $0,074 \mu\text{g}/20 \mu\text{l}$  sol. salina/g de peso, según se expresa en la sección 2.2.3.
- Al final de cada período parcial de experiencia se sacrifican 5 animales machos y 5 hembras.
- Toma de muestra: órganos, piel y canal.

La influencia de la EDAD de los animales *Tratados* se observa mediante la comparación entre los diferentes periodos experimentales parciales dentro de cada grupo. El efecto de la DIETA se obtiene por comparación de animales del mismo sexo sometidos a ambos niveles proteicos dietarios (♀ 12% T con ♀ 20% T y ♂ 12%

T con ♂ 20% T). Finalmente, en un mismo nivel proteico se comparan animales de distinto sexo (♀ 12% T con ♂ 12% T y ♀ 20% T con ♂ 20% T) para observar el efecto sexual. Se estudia la influencia de las interacciones de los factores mencionados.

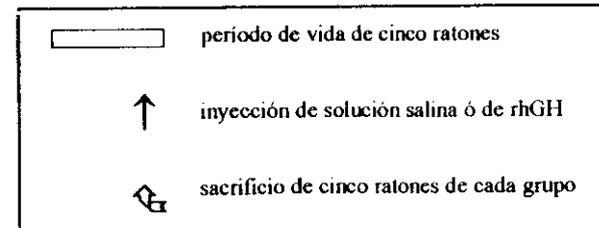
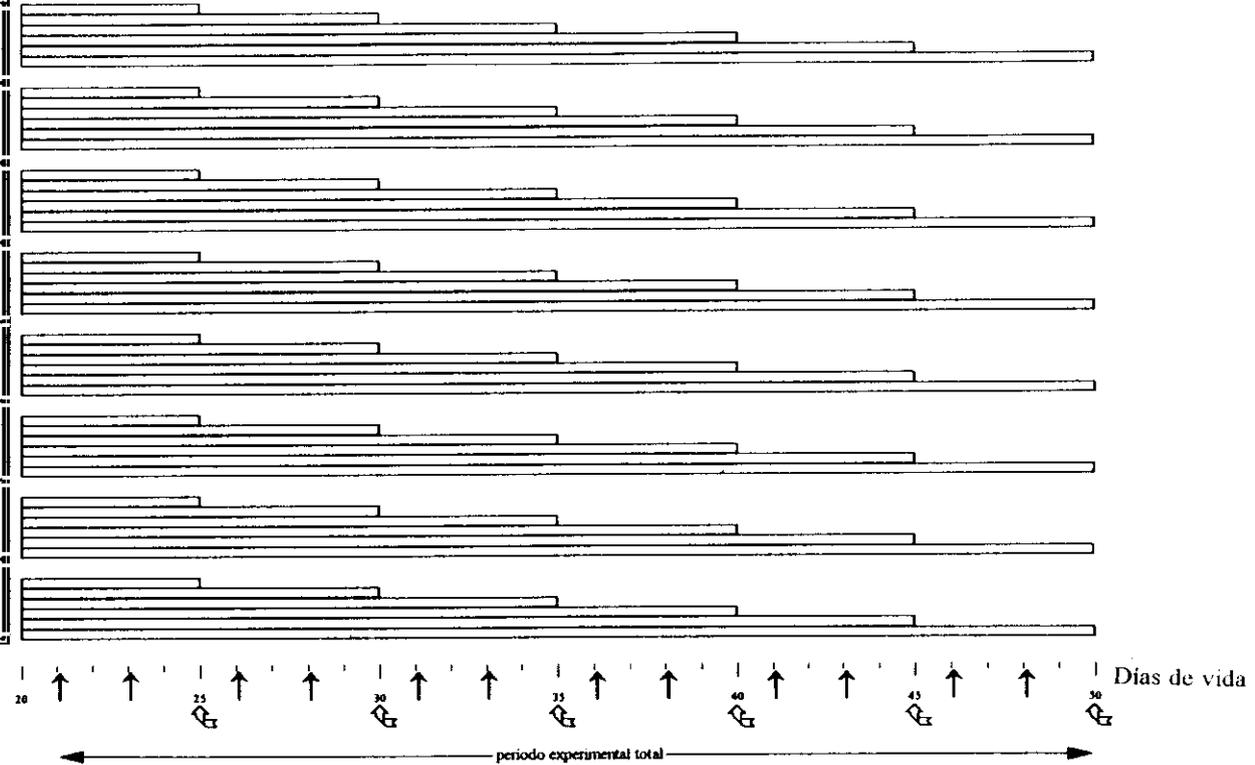
EXPERIMENTO 3: Animales *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T). EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN EXÓGENA DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO HUMANA RECOMBINANTE (rhGH) SOBRE INGESTA, EFICACIA ALIMENTARIA, CRECIMIENTO SOMÁTICO Y COMPOSICIÓN CORPORAL DE RATONES BALB/c ENTRE 21 Y 50 DÍAS DE VIDA. INFLUENCIA DE LAS INTERACCIONES ENTRE TRATAMIENTO, EDAD, DIETA Y SEXO.

La influencia del TRATAMIENTO con rhGH se observa mediante la comparación entre los animales *No Tratados* y *Tratados* de igual sexo y nivel proteico dietario (♀ 12% NT con ♀ 12% T, ♂ 12% NT con ♂ 12% T, ♀ 20% NT con ♀ 20% T y ♂ 20% NT con ♂ 20% T).

Se estudia también el efecto de las interacciones entre los factores: TRATAMIENTO con rhGH, EDAD y DIETA sobre la ingesta y la eficacia alimentaria y algunas interacciones entre TRATAMIENTO con rhGH, EDAD, DIETA y SEXO sobre la composición corporal.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

LOTE	TRATAMIENTO	DIETA	SEXO	Nº
1	NT	12%	♀	30
	NT	12%	♂	30
2	NT	20%	♀	30
	NT	20%	♂	30
3	T	12%	♀	30
	T	12%	♂	30
4	T	20%	♀	30
	T	20%	♂	30



## 3.2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 3.2.1. Composición de las dietas utilizadas

Las dietas fueron preparadas siguiendo las recomendaciones para el ratón del American Institute of Nutrition (AIN, 1977).

#### 3.2.1.1. Dieta del 12% de proteína (Caseína + D,L- metionina).

INGREDIENTES	% S.S.S
CASEÍNA .....	12,0%
METIONINA .....	0,3%
SACAROSA .....	56,15%
ALMIDÓN .....	16,85%
CELULOSA .....	5,0%
ACEITE DE OLIVA .....	5,0%
COLINA .....	0,2%
CORRECTOR MINERAL *	3,5%
CORRECTOR VITAMÍNICO **	1,0%

#### 3.2.1.2. Dieta del 20% de proteína (Caseína + D,L-metionina).

INGREDIENTES	% S.S.S
CASEÍNA .....	20,0%
METIONINA .....	0,3%
SACAROSA .....	50,0%
ALMIDÓN .....	15,0%
CELULOSA .....	5,0%
ACEITE DE OLIVA .....	5,0%
COLINA .....	0,2%
CORRECTOR MINERAL *	3,5%
CORRECTOR VITAMÍNICO **	1,0%

### 3.2.1.3. Suplementos dietarios

#### \* CORRECTOR MINERAL

FOSFATO CÁLCICO HIDRATADO .....	500,00 mg
CLORURO SÓDICO .....	74,00 mg
CITRATO POTÁSICO MONOHIDRATADO .....	220,00 mg
SULFATO POTÁSICO .....	52,00 mg
OXIDO DE MAGNESIO .....	24,00 mg
CARBONATO MAGNÉSICO .....	3,50 mg
CITRATO FÈRRICO .....	6,00 mg
CARBONATO DE ZINC .....	1,60 mg
CARBONATO CÚPRICO .....	0,30 mg
IODATO POTÁSICO .....	0,01 mg
SELENITO SÓDICO .....	0,01 mg
SULFATO CRÓMICO POTÁSICO .....	0,55 mg
SACAROSA para completar hasta .....	1.000,00 mg

#### \*\* CORRECTOR VITAMÍNICO

TIAMINA CLORHIDRATO (B1) .....	600,0 mg
RIBOFLAVINA (B2) .....	600,0 mg
PIRIDOXINA CLORHIDRATO (B6) .....	700,0 mg
ÁCIDO NICOTÍNICO .....	3.000,0 mg
PANTOTENATO CÁLCICO .....	1.600,0 mg
ÁCIDO FÓLICO .....	200,0 mg
D-BIOTINA .....	20,0 mg
CIANOCOBALAMINA (B12) .....	1,0 mg
VITAMINA A .....	120,0 mg
VITAMINA D .....	2,5 mg
VITAMINA E .....	100,0 mg
VITAMINA K .....	5,0 mg
SACAROSA para completar hasta .....	1.000,0 g

### 3.2.1.4. Control de las materias primas y de las dietas

Se realiza el control de riqueza de las materias primas, así como de la composición de las dietas (AOAC, 1990):

**HUMEDAD** por pérdida de peso en estufa de desecación a  $100 \pm 2$  °C a presión atmosférica normal, hasta pesada constante.

**RIQUEZA EN PROTEÍNA TOTAL:** Determinación del contenido de nitrógeno por el método Kjeldahl. El resultado se multiplica por el factor de conversión del nitrógeno total en proteína (6,25).

**CENIZAS** por incineración a 450-500°C durante 15 horas.

**GRASA** mediante la técnica de Soxhlet en una unidad de extracción 1040, modelo SOXTEC SYSTEM (tecaton suecia), con éter de petróleo como líquido extractor.

#### RESULTADOS:

MATERIAS PRIMAS	% RIQUEZA	% HUMEDAD
CASEÍNA	92 ± 0,2	11 ± 0,1
ALMIDÓN	-	12 ± 0,2
CELULOSA	-	5 ± 0,05

DIETAS	% HUMEDAD	% PROTEÍNAS	% GRASA	% CENIZAS
12%	3,8 ± 0,3	12,3 ± 0,2	5,0 ± 0,1	3,0 ± 0,05
20%	5,0 ± 0,1	20,2 ± 0,3	4,9 ± 0,2	3,1 ± 0,1

### **3.2.2. Pauta del experimento**

#### **3.2.2.1. Animales de experimentación**

Se han utilizado como animales de experimentación ejemplares machos y hembras de ratones blancos *Mus musculus* línea BALB/c, de 21 días de edad, con pesos iniciales de  $11 \pm 1$  g y destetados a los 21 días. Proceden del criadero de animales de la Sección Departamental de Fisiología Animal de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Se mantienen en condiciones ideales para el trabajo de laboratorio (BOE 67 18/03/88) siguiendo la Directiva Comunitaria 86/609/CEE (Diario Oficial de las Comunidades Europeas nº L 358, 1986).

#### **3.2.2.2. Agrupación de los animales en conjuntos homogéneos**

Los animales se distribuyen en ocho grupos de 30 ratones cada uno (4 grupos de 30 ratones machos y 4 grupos de 30 ratones hembras) atendiendo a los tres factores de categorización: TRATAMIENTO, DIETA y SEXO. Cada factor admite dos estados o categorías (TRATAMIENTO: animales control (administrados con solución salina) y animales tratados (administrados con rhGH), DIETA: niveles proteicos del 12% y del 20%, SEXO: hembra y macho). Cada grupo se especifica en el cuadro del diseño experimental.

### 3.2.2.3. Régimen de mantenimiento

Los animales se disponen en jaulas individuales ubicadas en una habitación iluminada de 08:00 a 20:00 h y mantenida a una temperatura de  $23 \pm 1$  °C hasta el día de sacrificio de cada grupo.

A lo largo del período experimental total (30 días), el agua y la dieta son administradas *ad libitum* y el peso corporal y la ingesta de alimento son controladas diariamente.

A fin de disminuir la cantidad de alimento desperdiciado se ha diseñado un dispositivo especial para su suministro y medida. El dispositivo se rellena diariamente con 4 g de dieta, pesándolo de nuevo transcurridas 24 h con el contenido que no ha sido consumido. A este valor se le añade el alimento desperdiciado. La ingesta diaria se calcula por diferencia entre la dieta suministrada y la no consumida más la desperdiciada.

Se administra a los animales controles *No Tratados* solución salina fisiológica estéril en dosis de 20  $\mu$ l/g de peso dos veces cada cinco días, incrementando el volumen en proporción al aumento ponderal.

Los animales *Tratados* son administrados con hormona de crecimiento humana recombinante (rhGH). La hormona se disuelve en solución salina obteniendo una concentración de 0,074  $\mu$ g/20  $\mu$ l y se administra dos veces cada cinco días en un volumen de 20  $\mu$ l/g de peso, aumentando la cantidad de rhGH proporcionalmente al incremento de peso. La dosis utilizada es de 0,074  $\mu$ g/20  $\mu$ l/g.

A los 25, 30, 35, 40, 45 y 50 días de vida (al final de cada período experimental parcial), de cada grupo de animales son sacrificados 5 ratones macho

y 5 ratones hembra, por dislocación cervical. Posteriormente se procede a la extracción de sangre y de órganos: encéfalo, timo, bazo, corazón, músculo gastrocnemio, tracto gastro-intestinal, hígado, riñón y piel. Al resto del animal se le denomina canal. El conjunto de piel y la canal se denomina peso vacío.

#### *3.2.2.4. Obtención de las muestras corporales*

Se mantiene al animal en posición decúbito supino y se abren las cavidades abdominal y torácica para la extracción de las vísceras. El encéfalo se extrae quitando la piel de la cabeza y levantando la caja craneana para separar la masa encefálica con unas pinzas, seccionando a nivel de la *medula oblongata*. Todos los órganos se limpian con ClNa 9‰ estéril. La canal, la piel más canal y los órganos son pesados posteriormente en balanza de precisión hasta el límite de mg. Inmediatamente se sumergen los órganos en nitrógeno líquido a una temperatura de -130 °C manteniéndose a -20 °C para la determinación de otros parámetros. El peso vacío se utiliza para la determinación de la composición corporal.

### 3.3. PARÁMETROS CONTROLADOS.

Las variables determinadas se pueden englobar en tres categorías: a) las que se miden diariamente, b) aquellas que se determinan al final de cada período experimental parcial o que son las medias de los cinco días de dicho período (determinaciones periódicas) y c) variables que se calculan entre el día inicial y final de vida (determinaciones globales).

Las variables de determinación diaria se utilizan únicamente para el cálculo de variables periódicas y globales. Mediante las variables periódicas se estudian las diferencias por TRATAMIENTO, EDAD, DIETA y SEXO expuestas previamente en el diseño experimental y también se utilizan para representar su evolución temporal. Con las determinaciones globales se examinan también las diferencias entre los factores antedichos y además se utilizan para la obtención de rectas de regresión que informan sobre la eficacia de utilización y el gasto de los depósitos proteico y graso corporales, así como sobre la prioridad del reparto de dichos componentes corporales.

#### *3.3.1. Determinaciones diarias e individuales*

##### *3.3.1.a. Estudio del crecimiento somático*

**PESO DEL ANIMAL.** Los animales se pesaron diaria e individualmente utilizando balanza de precisión con disposición especial para pesar animales.

##### *3.3.1.b. Estudio de la ingesta de alimentos*

**INGESTA SOLIDA.** Se realizó la medida individual diaria de la toma de alimento por diferencia entre la dieta suministrada y la no ingerida. La medida se

realizó a la misma hora de la mañana. El resultado se expresa sobre sustancia seca.

### ***3.3.2. Determinaciones periódicas***

Comprenden dos tipos de determinaciones:

- 3.3.2.1. Realizadas en el último día de cada período experimental parcial: peso corporal final (PCF), peso corporal final magro (PCFM), composición química relativa y absoluta y relaciones proteína/cenizas (P/C), proteína/humedad (P/H), grasa/humedad (G/H) y grasa/proteína (G/P) que se aplican al estudio del crecimiento somático y de la composición corporal. El cálculo de estas variables se indica en las secciones 3.3.2.1.a. y 3.3.2.1.b.
  
- 3.3.2.2. Los datos del apartado 3.3.1 se aplican para la determinación de las variables: ingesta total diaria (IT), ingesta energética diaria (IE), ingesta proteica diaria (IP), eficacia alimentaria diaria (EA), velocidad absoluta de crecimiento (VAC), velocidad fraccional de crecimiento (VFC). Expresan en períodos correspondientes a los últimos cinco días de experiencia de cada grupo (período experimental parcial), el valor medio diario a fin de poder establecer la evolución temporal de cada una.

La forma de cálculo se indica en la sección 3.3.2.2.a. y 3.3.2.2.b. y los valores se tabulan en las tablas nº 1-3, 7-9, 13-15, 19-24, 31-36 del capítulo de resultados.

#### *Cálculo de las variables*

##### *3.3.2.1.a. Estudio del crecimiento somático*

**PESO CORPORAL FINAL (PCF).** Determinado en el día final del período de vida (25, 30, 35, 40, 45 y 50 días de vida).

**PESO CORPORAL FINAL MAGRO (PCFM).** Calculado como la diferencia entre el PCF y la cantidad de grasa del peso vacío (GA).

*3.3.2.1.b. Estudio de la composición corporal.*

**HUMEDAD RELATIVA (HR).** Porcentaje de humedad del peso vacío.

**HUMEDAD ABSOLUTA (HA).** Cantidad de humedad (g) del peso vacío.

$$HA \text{ (g)} = (HR \cdot \text{peso vacío, g}) / 100.$$

**GRASA RELATIVA (GR).** Porcentaje de grasa del peso vacío.

**GRASA ABSOLUTA (GA).** Cantidad de grasa (g) del peso vacío.

$$GA \text{ (g)} = (GR \cdot \text{peso vacío, g}) / 100.$$

**RELACIÓN GRASA/HUMEDAD (G/H).** Cociente entre la grasa absoluta (GA) y la humedad absoluta (HA).

$$G/H = GA/HA.$$

**PROTEÍNA RELATIVA (PR).** Porcentaje de proteína del peso vacío.

**PROTEÍNA ABSOLUTA (PA).** Cantidad de proteína (g) del peso vacío.

$$PA \text{ (g)} = (PR \cdot \text{peso vacío, g}) / 100.$$

**RELACIÓN PROTEÍNA/HUMEDAD (P/H).** Cociente entre la proteína absoluta (PA) y la humedad absoluta (HA).

$$P/H = PA/HA.$$

RELACIÓN GRASA/PROTEÍNA (G/P). Cociente entre la grasa absoluta (GA) y la proteína absoluta (HA).

$$G/P = GA/PA.$$

CENIZAS RELATIVAS (CR). Porcentaje de cenizas del peso vacío.

CENIZAS ABSOLUTAS (CA). Cantidad de cenizas (g) del peso vacío.

$$CA (g) = (CR \cdot \text{peso vacío, g}) / 100.$$

RELACIÓN PROTEÍNA/CENIZAS (P/C). Cociente entre la proteína absoluta (PA) y las cenizas absolutas (CA).

$$P/C = PA/CA.$$

### 3.3.2.2.a *Estudio de la velocidad de crecimiento somático*

INCREMENTO MEDIO DIARIO DE PESO O VELOCIDAD ABSOLUTA DE CRECIMIENTO (VAC). Se calcula por diferencia entre el peso corporal (g) a día inicial y a día final de cada período experimental parcial (21-25 días, 25-30 días, 30-35 días, 35-40 días, 40-45 días y 45-50 días de edad) dividido por cinco días, según la fórmula:

$$VAC(g/día) = (\text{peso corporal final, g}) - (\text{peso corporal inicial del período, g}) / 5(\text{días})$$

INCREMENTO DE PESO RESPECTO DEL INICIAL EN EL Período CONSIDERADO O VELOCIDAD FRACCIONAL DE CRECIMIENTO (VFC). Este incremento relativo se obtiene hallando el cociente entre la velocidad de crecimiento absoluta (VAC) y el peso del animal en el día inicial de cada período experimental parcial. Se expresa como porcentaje de incremento sobre el peso inicial.

$$VFC (\%/día) = 100 \cdot VAC (g/día) / (\text{peso corporal inicial del período, g})$$

### 3.3.2.2.b. Estudio de la ingesta de alimentos

**INGESTA TOTAL DIARIA (IT).** Media aritmética de la ingesta sólida diaria (g) de cada período experimental parcial.

$$IT \text{ (g/día)} = \sum \text{ingesta sólida diaria en cada periodo (g)} / 5 \text{ (días)}$$

**INGESTA ENERGÉTICA DIARIA (IE).** Media aritmética de la ingesta sólida diaria de cada período experimental parcial, expresada como energía (kJ). Es el producto de la ingesta total diaria por el contenido energético de la dieta considerada (15,39 kJ/g para la dieta de 12% y 15,49 kJ/g para la dieta del 20%).

$$12\% \text{ IE (kJ/día)} = IT \text{ (g/día)} \cdot 15,39 \text{ (kJ/g)}$$

$$20\% \text{ IE (kJ/día)} = IT \text{ (g/día)} \cdot 15,49 \text{ (kJ/g)}$$

**INGESTA PROTEICA DIARIA (IP).** Media aritmética de la ingesta de proteína (g) de cada período experimental parcial. Es el producto de la ingesta total diaria (g) por 0,12 g/g en el caso de la dieta del 12% y por 0,2 g/g en el caso la dieta del 20%.

$$12\% \text{ IP (g/día)} = IT \text{ (g/día)} \cdot 0,12 \text{ (g/g)}$$

$$20\% \text{ IP (g/día)} = IT \text{ (g/día)} \cdot 0,20 \text{ (g/g)}$$

**COEFICIENTE DE EFICACIA ALIMENTARIA DIARIA (EA).** Obtenido como el cociente entre la VAC y la ingesta total diaria (IT).

$$EA = VAC \text{ (g/día)} / IT \text{ (g/día)}$$

### 3.3.3. *Determinaciones globales*

Comprenden valores individuales correspondientes al período de vida de cada grupo de animales (5, 10, 15, 20, 25 y 30 días) y que son utilizados para la obtención de las ecuaciones de regresión lineales correspondientes a las relaciones entre las variables: incremento proteico corporal global (INPCG) (g y kJ), incremento graso corporal global (INGCG) (g y kJ) e incremento energético corporal global (INECG) (kJ) con la ingesta proteica global (IPG) (g) y la ingesta energética global (IEG) (kJ) y asimismo, de las relaciones exponenciales entre la eficacia alimentaria proteica global (EAPG) (g) y la razón (INPCG/INGCG) con la ingesta proteica global (IPG).

#### 3.3.3.a. *Estudio del crecimiento somático*

**INCREMENTO DE PESO CORPORAL GLOBAL (INPECG).** Es la cantidad de gramos que ha incrementado un animal desde el inicio del período experimental total y el final de su período de vida. Diferencia entre el peso corporal final (PCF) (día de sacrificio) y el peso corporal inicial (PCI) (día 21 de vida).

$$\text{INPECG (g)} = \text{peso corporal final (g)} - \text{peso corporal inicial (g)}$$

**INCREMENTO PROTEICO CORPORAL GLOBAL (INPCG).** Es el incremento expresado en peso (g) y en energía (kJ) de proteína, desde el día inicial del período experimental total hasta el último día de vida del ratón. Corresponde a la diferencia entre el contenido proteico inicial y el contenido proteico al sacrificio, calculados ambos mediante las ecuaciones alométricas entre la cantidad de proteína absoluta y el PCF de cada grupo de animales. A continuación se expresan las ecuaciones utilizadas.

## Grupo

♀ 12% NT	$\text{INPCG (g)} = (0,247 \cdot \text{PCF (g)}^{0,77}) - (0,247 \cdot \text{PCI (g)}^{0,77})$
♂ 12% NT	$\text{INPCG (g)} = (0,196 \cdot \text{PCF (g)}^{0,87}) - (0,196 \cdot \text{PCI (g)}^{0,87})$
♀ 20% NT	$\text{INPCG (g)} = (0,176 \cdot \text{PCF (g)}^{0,92}) - (0,176 \cdot \text{PCI (g)}^{0,92})$
♂ 20% NT	$\text{INPCG (g)} = (0,261 \cdot \text{PCF (g)}^{0,80}) - (0,261 \cdot \text{PCI (g)}^{0,80})$
♀ 12% T	$\text{INPCG (g)} = (0,249 \cdot \text{PCF (g)}^{0,77}) - (0,249 \cdot \text{PCI (g)}^{0,77})$
♂ 12% T	$\text{INPCG (g)} = (0,303 \cdot \text{PCF (g)}^{0,71}) - (0,303 \cdot \text{PCI (g)}^{0,71})$
♀ 20% T	$\text{INPCG (g)} = (0,151 \cdot \text{PCF (g)}^{0,97}) - (0,151 \cdot \text{PCI (g)}^{0,97})$
♂ 20% T	$\text{INPCG (g)} = (0,259 \cdot \text{PCF (g)}^{0,78}) - (0,259 \cdot \text{PCI (g)}^{0,78})$

$$\text{INPCG (kJ)} = \text{INPCG (g)} \cdot 26,9 \text{ kJ/g}$$

**INCREMENTO GRASO GLOBAL (INGCG).** Es el incremento expresado en peso (g) y en energía (kJ) de grasa, desde el día inicial del período experimental total hasta el último día de vida del ratón. Corresponde a la diferencia entre el contenido graso inicial y el contenido graso al sacrificio, calculados ambos mediante las ecuaciones alométricas entre la grasa absoluta y el PCF de cada grupo de animales. A continuación se expresan las ecuaciones utilizadas.

## Grupo

♀ 12% NT	$\text{INGCG (g)} = (0,0233 \cdot \text{PCF (g)}^{1,56}) - (0,0233 \cdot \text{PCI (g)}^{1,56})$
♂ 12% NT	$\text{INGCG (g)} = (0,0196 \cdot \text{PCF (g)}^{1,54}) - (0,0196 \cdot \text{PCI (g)}^{1,54})$
♀ 20% NT	$\text{INGCG (g)} = (0,0082 \cdot \text{PCF (g)}^{1,96}) - (0,0082 \cdot \text{PCI (g)}^{1,96})$
♂ 20% NT	$\text{INGCG (g)} = (0,0744 \cdot \text{PCF (g)}^{1,05}) - (0,0744 \cdot \text{PCI (g)}^{1,05})$
♀ 12% T	$\text{INGCG (g)} = (0,0108 \cdot \text{PCF (g)}^{1,82}) - (0,0108 \cdot \text{PCI (g)}^{1,82})$
♂ 12% T	$\text{INGCG (g)} = (0,0053 \cdot \text{PCF (g)}^{2,04}) - (0,0053 \cdot \text{PCI (g)}^{2,04})$
♀ 20% T	$\text{INGCG (g)} = (0,0350 \cdot \text{PCF (g)}^{1,35}) - (0,0350 \cdot \text{PCI (g)}^{1,35})$
♂ 20% T	$\text{INGCG (g)} = (0,0074 \cdot \text{PCF (g)}^{1,84}) - (0,0074 \cdot \text{PCI (g)}^{1,84})$

$$\text{INGCG (kJ)} = \text{INGCG (g)} \cdot 50,8 \text{ kJ/g}$$

**INCREMENTO ENERGÉTICO CORPORAL GLOBAL (INECG).** Energía necesaria para el depósito de proteína y grasa corporal. Es la suma de los costes energéticos debidos al incremento proteico y al incremento graso.

$$\text{INECG (kJ)} = \text{INPCG (kJ)} + \text{INGCG (kJ)}$$

**VELOCIDAD DE ACRECIÓN PROTEICA GLOBAL (VAPG).** Calculado como el cociente entre el incremento proteico corporal global y el número de días de que consta cada período de vida (5, 10, 15, 20, 25, 30) estudiado.

$$\text{VAPG (g/día)} = \text{INPCG (g)} / \text{período (días)}$$

**VELOCIDAD DE ACRECIÓN GRASA GLOBAL (VAGG).** Calculado como el cociente entre el incremento proteico corporal global y el número de días de que consta cada período de vida (5, 10, 15, 20, 25, 30) estudiado.

$$\text{VAGG (g/día)} = \text{INGCG (g)} / \text{período (días)}$$

### *3.3.3.b. Estudio de la ingesta de alimentos*

**INGESTA GLOBAL (IG).** Suma de la ingesta sólida tomada por un animal durante todo el período de vida (desde el día 21 hasta el día del sacrificio).

$$\text{IG (g)} = \sum \text{ingesta sólida en el período de vida (g)}$$

**INGESTA PROTEICA GLOBAL (IPG).** Ingesta global de proteína (g) en el período de vida. Se calcula multiplicando la ingesta global por el contenido en proteína de la dieta considerada (0,12 g/g para la dieta de 12% y 0,20 g/g para la dieta del 20%).

$$12\% \text{ IPG (g)} = \text{IG (g)} \cdot 0,12 \text{ g/g}$$

$$20\% \text{ IPG (g)} = \text{IG (g)} \cdot 0,20 \text{ g/g}$$

**INGESTA ENERGÉTICA GLOBAL (IEG).** Ingesta global de energía (kJ) en el período de vida. Se calcula multiplicando la ingesta global por el contenido energético de la dieta considerada (15,39 kJ/g para la dieta de 12% y 15,49 kJ/g para la dieta del 20%).

$$12\% \text{ IEG (kJ)} = \text{IG (g)} \cdot 15,39 \text{ kJ/g}$$

$$20\% \text{ IEG (kJ)} = \text{IG (g)} \cdot 15,49 \text{ kJ/g}$$

**COEFICIENTE DE EFICACIA ALIMENTARIA GLOBAL (EAG).** Cociente entre el incremento de peso corporal global y la ingesta global.

$$\text{EAG (g/g)} = \text{INPECG (g)} / \text{IG (g)}$$

**COEFICIENTE DE EFICACIA ALIMENTARIA PROTEICA GLOBAL (EAPG).** Cociente entre el incremento proteico corporal global y la ingesta proteica global.

$$\text{EAPG (g/g)} = \text{INPCG (g)} / \text{IPG (g)}$$

### *3.3.3.c. Estudio de la eficacia y coste de los depósitos corporales*

Se estudian las relaciones de regresión lineal y exponencial entre variables de significado nutricional y variables indicadoras del desarrollo somático.

### *3.3.3.c.a. Relaciones lineales*

RELACIONES ENTRE LOS DEPÓSITOS PROTEICO, GRASO Y ENERGÉTICO CORPORALES CON LAS INGESTAS PROTEICA Y ENERGÉTICA (IPG e IEG). Utilización (relación directa) y coste (relación inversa) de la ingesta proteica global y de la ingesta energética global para su depósito como proteína, grasa y energía corporal.

### *3.3.3.c.b. Relaciones exponenciales*

RELACIONES ENTRE LA EFICACIA ALIMENTARIA PROTEICA GLOBAL (EAPG) Y LA INGESTA PROTEICA GLOBAL (IPG).

RELACIONES ENTRE LA RAZÓN INCREMENTO PROTEICO CORPORAL GLOBAL/INCREMENTO GRASO CORPORAL GLOBAL (INPCG/INGCG) Y LA INGESTA PROTEICA GLOBAL (IPG). Partición de la ingesta proteica global entre el depósito proteico y el depósito graso.

### 3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

#### *3.4.1. Técnicas de determinación de la composición corporal*

##### *3.4.1.1. Preparación del peso vacío.*

La canal y la piel una vez secas se trituran en un molinillo Moulinex hasta obtener un producto homogéneo. Dicha mezcla constituyó el peso vacío, del que se tomaron tres porciones para determinar: grasa, nitrógeno total y cenizas.

Los resultados se expresaron en contenido absoluto (g) y en porcentaje corporal (peso vacío).

##### *3.4.1.2. Determinación de la humedad*

###### *3.4.1.2.a. Técnica*

Se dispuso la mezcla corporal en crisoles de porcelana, previamente tarados y desecados, en estufa a una temperatura de 100°C hasta peso constante.

###### *3.4.1.2.b. Cálculos*

$$\% \text{ HUMEDAD} = 100 - [(W1 - W2) \cdot 100 / W1]$$

Donde:

W1: peso inicial de la porción de peso vacío (g).

W2: peso final de la porción de peso vacío (g).

### 3.4.1.3. Determinación de la proteína (Nx6,25)

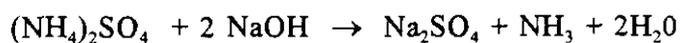
Se emplea el método de Kjeldahl (1883), que se basa en la liberación y conversión del grupo amino de los aminoácidos en amoníaco, el cual se valora posteriormente.

#### 3.4.1.3.a. Reactivos y material:

- ácido sulfúrico concentrado
- pastillas de catalizador
- solución de NaOH al 40%
- solución de ácido bórico al 4%
- indicador Shiro-Tashiro: rojo de metilo al 0,2% en etanol de 95% (A) y azul de metileno al 0,1% en etanol de 95% (B). Se prepara mezclando las soluciones A y B en proporción 1:1. A pH<5,6 presenta coloración rojo-violeta; a pH superior presenta color verde.
- ácido clorhídrico 0,1 N.
- sistema de digestión y de destilación por arrastre de vapor.
- probetas de 25 y 50 ml, erlenmeyer de 250 ml y bureta de 10 ml.

#### 3.4.1.3.b. Fundamento

La riqueza de las proteínas se determina valorando el nitrógeno total que contiene. Mediante la digestión de la muestra con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, el nitrógeno proteico se transforma en (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>. Esta sal amónica se descompone con NaOH en ebullición y libera amoníaco, que se destila sobre un volumen en exceso de ácido clorhídrico, formando cloruro amónico que se valora volumétricamente con HCl.



### 3.4.1.3.c. Técnica

En un tubo de digestión se ataca la muestra, por mezcla de 1 g de peso vacío con 20 ml de ácido sulfúrico concentrado y una pastilla de catalizador. Posteriormente se calienta a 350°C durante 8 h, hasta obtener una disolución transparente. Con este proceso se libera el grupo amino de los aminoácidos y se forma  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ . Se deja enfriar para valorar el nitrógeno, posteriormente, en BÜCHI.

La cantidad de nitrógeno calculado se multiplica por el factor de conversión de nitrógeno en proteína (6,25), ya que se considera que 16 g de nitrógeno total medido equivale a 100 g de proteína (AOAC, 1990).

### 3.4.1.3.d. Cálculos

$$\% \text{ NITRÓGENO} = [(V_A - V_B) \cdot 14007 \cdot N \cdot f] / W.$$

$$\% \text{ PROTEÍNA} = \{[(V_A - V_B) \cdot 14007 \cdot N \cdot f] / W\} \cdot 6,25.$$

Donde:

W: peso de la muestra (g).

$V_A$  y  $V_B$ : ml de gasto de ácido HCl requerido para la muestra y para el blanco.

14007: miliequivalentes de nitrógeno x 100 (%).

N: normalidad de ácido clorhídrico.

f: factor del ácido clorhídrico.

6,25: factor de conversión de nitrógeno en proteína.

### 3.4.1.4. Determinación de la materia grasa

Se empleó el método extracción de grasas con éter de petróleo en Soxhlet (AOAC, 1990).

#### 3.4.1.4.a. Reactivos y material

- éter de petróleo (punto de ebullición 40-60°C)
- aparato de extracción Soxhlet (SOXTEC)..
- vasos metálicos, bolitas de vidrio, cartuchos de papel y algodón.
- balanza de precisión.
- desecador.

#### 3.4.1.4.b. Fundamento

Se determina el peso del residuo etéreo resultante de la maceración y percolación en Soxhlet, después de evaporar el éter de petróleo.

#### 3.4.1.4.c. Técnica

Se cargan los cartuchos, previamente tarados, con aproximadamente 1 g de muestra de peso vacío entre dos trozos de algodón. Se disponen los vasos metálicos con tres bolitas de vidrio para controlar la ebullición y se carga el soxhlet con el éter de petróleo. Se somete el cartucho a la extracción de materias grasas por maceración y percolación etérea. Tras el ciclo de extracción se evaporan los vasos metálicos con el extracto etéreo a sequedad, para lo cual se introducen en la estufa, con lo que queda únicamente el residuo de grasa. Posteriormente se deja enfriar, introduciéndolos en una campana de desecación.

#### 3.4.1.4.d. Cálculos

$$\% \text{ GRASA} = [(W2 - W1) \cdot 100]/W$$

Donde

W: peso de la muestra (g).

W2: peso del vaso metálico con la grasa extraída y bolitas de vidrio.

W1: peso del vaso metálico limpio y desengrasado con las bolitas de vidrio.

### 3.4.1.5. Determinación de cenizas

Término analítico equivalente al residuo inorgánico (sales minerales) que queda después de incinerar la materia orgánica de una muestra.

#### 3.4.1.5.a. Técnica

Se pesan unos crisoles de porcelana completamente secos en una balanza de precisión (se mantienen en desecador después de haberlos secado en una estufa a 70 °C) conteniendo las muestras de 1 g aproximadamente. Posteriormente se hace una calcinación previa de las muestras, a las que se añaden dos gotas de agua oxigenada de 35 volúmenes, en una placa caliente durante 24 h. La calcinación total se realiza en mufla a 525°C durante 15 horas, hasta obtener cenizas blancas.

#### 3.4.1.5.b. Cálculos

$$\% \text{ CENIZAS} = [(W2 - W1) \cdot 100]/W$$

Donde

W: peso de la muestra (g)

W1: peso del crisol vacío (g)

W2: peso del crisol con la muestra calcinada (g)

### ***3.4.2. Aparatos utilizados***

Los animales fueron ubicados en JAULAS METABÓLICAS de metacrilato adaptadas al tamaño y necesidades del ratón.

La pesada de los animales y órganos se realizó en balanza de precisión METTLER PM 460 DELTARANGE. Para las pesadas de reactivos y dietas se utilizaron balanzas analíticas SAUTER 414/13 y METTLER H72.

La humedad de las dietas y de la composición corporal se determinaron en una estufa de desecación y esterilización serie V-300 (P-SELECTA).

Las proteínas de la dieta y de composición corporal se valoraron utilizando un digestor KJELDATHERM y un sistema de determinación Kjeldahl BÜCHI.

Las cenizas se obtuvieron en una mufla SELECT HORN (P-SELECTA).

La grasa corporal se extrajo mediante un Soxhlet modelo SOXTEC SYSTEM M6 1040-001 TECATOR.

### 3.5. MÉTODOS MATEMÁTICO-ESTADÍSTICOS E INFORMÁTICOS

#### 3.5.1. Principios estadísticos

##### 3.5.1.a. Terminología básica

El *caso* o individuo es la unidad básica de la que se extrae información, cada caso en nuestro estudio recoge toda la información de un ratón. La suma de todos los casos (ratones) constituye la *muestra*. Todos los casos deben tratarse siempre de igual forma dentro de una muestra. Desde el punto de vista informático, la información de cada caso está recogida en un *registro*.

Las *variables* son tanto los parámetros medidos (variables continuas o discretas) que toman valores particulares en cada caso, como los factores de clasificación que diferencian los casos en categorías (sexo, dieta, tratamiento). Estas últimas variables también se denominan *factores* cuando se utilizan en el análisis de la varianza (ANOVA). Los factores son los elementos diferenciadores de los individuos bajo estudio (Norušis, 1986).

##### 3.5.1.b. Inferencia estadística

La determinación de diferencias en el valor medio de las variables de los grupos experimentales (o subconjuntos muestrales) es el objeto principal de la inferencia estadística.

Así, se define una hipótesis llamada  $H_0$ , según la cual no hay diferencias en los valores que toma un parámetro estadístico entre cada grupo experimental. La hipótesis alternativa ó  $H_1$  propone, por el contrario, la existencia de diferencias.

Asociadas con las hipótesis  $H_0$  y  $H_1$  se establecen unas probabilidades ( $p$ ) que representan la verosimilitud de cada una de las hipótesis. Es decir, se acepta la existencia o no existencia de diferencias con unos márgenes de seguridad o probabilidades. Por lo general, en este trabajo se sigue la norma de considerar la hipótesis  $H_0$  al nivel de  $p > 0,05$ . De esta forma, se considera que no hay diferencias significativas (NS) entre las medias aritméticas que presenta cada grupo en estudio, a no ser que la probabilidad ( $p$ ) de verosimilitud de  $H_0$  sea inferior a 0,05; en cuyo caso se acepta la hipótesis  $H_1$ , según la cual la diferencia encontrada entre las medias de dichos grupos es cierta con un 95% de certeza.

La existencia de un nivel de confianza es inherente a toda medida en el mundo real, ya que no se puede asegurar identidad o diferencia sin un término de imprecisión aleatorio. Es decir, existe la posibilidad de que no haya diferencia entre las medias aritméticas y la diferencia observada se deba al azar (hipótesis  $H_0$ ). El nivel de significación es la probabilidad de que la hipótesis elegida sea falsa.

#### *3.5.1.d. Medida de la correlación lineal o de Pearson*

La medida de la correlación de Pearson determina el grado de relación (lineal) entre dos o más variables.

Sin embargo, las relaciones entre las variables pueden ser o no lineales. Es necesario determinar el modelo adecuado de la relación existente entre las variables (Statgraphics, 1986):

- Lineal	$Y = a + b \cdot X$
- Potencial	$Y = a \cdot X^b$
- Exponencial	$Y = e^{a + b \cdot X}$
- Recíproca	$1/Y = a + b \cdot X$

Debido a que la estadística disponible sólo contempla relaciones lineales entre las variables se deben transformar adecuadamente los datos de forma que se puedan utilizar como si fueran relaciones lineales (Statgraphics, 1986).

En el presente estudio se ha realizado una transformación logarítmica de los datos de composición corporal y del peso corporal final debido a su adaptación a un modelo potencial (modelo alométrico).

Aunque un gráfico es un paso inicial esencial en el estudio de la asociación entre dos variables, es útil a menudo cuantificar dicha asociación mediante un índice o coeficiente. Una medida utilizada habitualmente es el coeficiente de correlación de Pearson (Draper y Smith, 1966), representado por  $r$  y que se define como:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X}) \cdot (Y_i - \bar{Y})}{(N-1) \cdot S_X \cdot S_Y}$$

donde  $N$  es el número de individuos,  $X_i$  e  $Y_i$  cada uno de los valores experimentales de  $X$  y de  $Y$ ,  $\bar{X}$  e  $\bar{Y}$  las medias aritméticas respectivas y  $S_X$  y  $S_Y$  las desviaciones estándar de las dos variables. El valor absoluto de  $r$  indica la intensidad de la relación lineal. El valor más alto que puede alcanzar es 1, que sucede cuando

todos los puntos resultantes de representar una variable frente a otra, están exactamente en la línea de regresión. Cuando la línea tiene una pendiente positiva, el valor de  $r$  es positivo y cuando la pendiente de la línea es negativa el valor de  $r$  es negativo. Además de la  $r$  se ha calculado la  $p$  de la hipótesis  $H_0$ . Sin embargo, el significado de ésta no es equivalente al especificado en el apartado de las hipótesis de decisión, ya que un valor de  $p$  pequeño ( $p < 0,01$ ) indica que la probabilidad de que los datos estén relacionados linealmente es grande (99%), si  $p$  es grande (mayor de 0,01) se entiende que la relación no es significativa (NS).

Si se ha detectado que existe correlación entre dos variables es útil determinar la recta de regresión para poder establecer de una forma más precisa la relación entre ambas variables (Turner, 1970).

El valor del origen de ordenadas ( $a$ ) y de la pendiente de la recta ( $b$ ) de la recta de regresión se calcula mediante el procedimiento de los mínimos cuadrados. Este procedimiento halla una línea que se ajusta a los datos experimentales, de forma que la suma del cuadrado de las distancias verticales del punto experimental a la línea teórica sea mínima (Norušis, 1986).

El procedimiento para determinar una recta de regresión por el método de mínimos cuadrados es considerar un diagrama donde se representen los  $n$  puntos de intersección de ambas variables (diagrama de dispersión)  $(x,y)$ . Se supone que todos los puntos deberían estar en una cierta recta de regresión verdadera o teórica, si no fuera por la existencia de causas aleatorias que desvían a los valores de  $Y$  teóricos de los reales. De ésta forma, si la línea calculada fuera la verdadera recta de regresión, las distancias de los puntos experimentales a la recta teórica  $d_1, d_2, \dots, d_n$ , serían las desviaciones aleatorias de la línea teórica. El método de los mínimos

cuadrados se elige de entre todas las rectas de regresión posibles, aquella que tenga un valor mínimo de la suma de los cuadrados de las desviaciones de la teórica. Esto es, se encuentra la recta  $Y = a' + b' \cdot X$  (recta de ajuste óptimo) tal que  $\Sigma d_i^2$ . Es decir, la suma del cuadrado de las distancias ha de ser mínimo. Se considera en primer lugar una recta arbitraria,  $Y = a + b \cdot X$ , se calcula el valor de la suma  $\Sigma$  y después los valores de  $a$  y de  $b$  que minimizan  $\Sigma$  (Turner, 1970).

La recta así encontrada se considera como la mejor estimación de la verdadera recta de regresión. Las fórmulas para determinar  $a$  y  $b$  son:

$$a = \frac{n \Sigma X_i \cdot Y_i - (\Sigma X_i)(\Sigma Y_i)}{n \Sigma X_i^2 - (\Sigma X_i)^2}$$

$$b = \frac{(\Sigma Y_i)(\Sigma X_i^2) - (\Sigma X_i)(\Sigma X_i \cdot Y_i)}{n \Sigma X_i^2 - (\Sigma X_i)^2}$$

siendo  $i$  cada uno de los  $n$  puntos experimentales.

**3.5.2. Determinación de diferencias entre medias. Análisis de la varianza. Procedimiento de comparación múltiple LSD (Least Significant Difference). Análisis multifactorial de la varianza**

Para establecer diferencias o semejanzas entre los valores de los parámetros de grupos experimentales diferentes es necesario disponer de unas herramientas estadísticas adecuadas.

Como se expuso anteriormente, el nivel de significación por defecto es del 0,05 ya que es el más apropiado para los datos biológicos (Norušis, 1986).

La diferencia entre las medias de distintos grupos, es debida tanto al azar como a la existencia de diferencias reales entre los mismos, para lo cual es necesario utilizar procedimientos que, independientemente de la variabilidad debida al azar, establezcan la existencia de diferencias reales. Uno de los procedimientos estadísticos más comúnmente utilizados para detectar diferencias entre varias medias muestrales se denomina Análisis de la Varianza o simplemente ANOVA.

Para utilizar el ANOVA de forma apropiada se necesitan una serie de requisitos previos: las muestras deben provenir de poblaciones con distribución normal y de igual varianza, o lo que es lo mismo datos susceptibles de ser manejados según la estadística paramétrica (Norušis, 1986).

El siguiente paso es determinar la certeza de la hipótesis de igualdad de medias entre grupos diferentes (con distinto valor de factor o categoría). Para ello se calcula la suma de las varianzas que aparecen dentro de cada grupo (Varianza Dentro de Grupo, VDG) y la suma de las varianzas que existen entre la media de cada grupo

con la media de toda la muestra (Varianza Entre Grupos, VEG). Con ambas sumas se calcula el estadístico F de Snedecor:

$$F = VEG / VDG$$

Una F estadísticamente significativa solamente indica que existen diferencias entre las medias de los distintos grupos establecidos por el factor. Sin embargo, no se especifica donde se encuentran esas diferencias. A fin de determinar que grupo presenta una media diferente a las de los otros grupos hay un conjunto de técnicas especiales, llamadas pruebas de comparación múltiple (Norušis, 1986).

En el caso particular que ocupa a este trabajo se van a utilizar el procedimiento de comparación múltiple LSD del SPSS/PC<sup>+</sup> (Norušis, 1986), que a diferencia de la prueba *t de Student* es poco sensible a la aparición de falsas diferencias.

Además de los procedimientos de comparación múltiple citados se utilizó el procedimiento LSMEANS (Milliken y Johnson, 1984), que no cabe en el concepto de comparación múltiple, pero que tiene un objetivo común cual es la determinación de diferencias entre los diferentes grupos, con la ventaja de ser menos dependiente de la estadística paramétrica.

En el LSMEANS se hace una estimación por mínimos cuadrados de la media de cada grupo y posteriormente se hace una comparación entre los grupos; lo que le diferencia de la prueba LSD. Sin embargo, en el presente estudio la determinación de diferencias ya sea por el procedimiento LSD o por LSMEANS ofreció los mismos resultados.

Mientras que en el ANOVA unifactorial se comprueban las diferencias a un sólo nivel (el marcado por el factor que se especifique), en el ANOVA multifactorial se determina además la influencia que ejerce la interacción de unos factores sobre

otros en la aparición de diferencias. Por ello, permite estudiar las interacciones a diferentes niveles (p.e. SEXOxDIETA etc.). Sin embargo, no es posible determinar donde se encuentran esas diferencias, como en el caso del LSD, al no existir procedimientos de comparación múltiple para ANOVA multifactorial.

Tanto para el ANOVA unifactorial como para el multifactorial se ha empleado el diseño *Split-plot* del apartado GLM (General Linear Model) del SAS, debido al peculiar diseño de análisis, que posee diferente número de casos por celda de análisis (SAS, 1990). El diseño *Split-plot* se utiliza ampliamente en problemas de biología con diseños experimentales en los que se empleen al menos dos factores, con una estructura de bloques incompletos y al menos con dos unidades experimentales de tamaño diferente entre sí, aunque en nuestro estudio no aparezcan bloques incompletos.

El elemento diferenciador del diseño *Split-plot* frente al diseño de medidas repetidas es que los niveles de tratamiento se pueden aplicar a unidades experimentales de tamaños variados utilizando la aleatorización. Por el contrario, los diseños con medidas repetidas llevan consigo un paso de cálculo, en el que los niveles de al menos un factor (generalmente el tiempo) no se puede asignar al azar (Milliken y Johnson, 1984).

En resumen, el procedimiento seguido (Mead, 1990) para determinar la pertenencia de cada ratón a un grupo es: asignar primariamente el TRATAMIENTO de forma aleatoria con rhGH o con solución salina y la DIETA que va a consumir, ya sea del 12% ó del 20% en proteína. Posteriormente se asigna la EDAD de sacrificio, también de forma aleatoria.

### ***3.5.3. Determinación de diferencias entre las pendientes de dos grupos en modelos de regresión lineal mediante el procedimiento de variables ficticias (Dummy Variables)***

Las *variables ficticias (Dummy Variables)* (Wallace y Silver, 1988) son variables que toman el valor 1 ó 0 y se utilizan para indicar la presencia o ausencia de una o más características cualitativas. De forma que si una característica está presente en un caso la variable ficticia toma el valor 1, de lo contrario toma el valor 0. Es decir, es una codificación sencilla de la existencia o no de características en cada individuo o caso.

Se puede definir una variable ficticia D1, que tomará valor 1 cuando la DIETA suministrada al animal sea del 12% en proteína y 0 en caso contrario, pero además se requiere la creación de otra variable ficticia D2 que tendrá valor 1 cuando la DIETA suministrada sea del 20% y 0 cuando sea la del 12%; es más, si hubiera otro nivel proteico, por ejemplo del 40%, se necesitaría otra variable ficticia D3 que sólo tendría valor 1 para la DIETA del 40%, mientras que para cualquier otro caso tendría valor 0.

Debido a que se han agrupado previamente los animales en ocho grupos atendiendo al TRATAMIENTO, DIETA y SEXO, se definirán ocho variables ficticias D1...D8, si un determinado animal pertenece al grupo primero tendrá un 1 en la variable ficticia D1 y 0 en todas las demás variables D2...D8 y así sucesivamente. Con lo que para cada caso sólo habrá una variable ficticia con valor 1, el resto de las variables ficticias tendrán valor 0.

Si se supone un modelo lineal de regresión donde  $Y_{11}$  es el valor de la variable dependiente  $Y$  para el animal número 1 del grupo 1, se puede definir un modelo lineal para la evolución de la variable  $Y$  a lo largo del tiempo para cada animal.

$$Y_{Lj} = \mu + \tau_L + \varepsilon_{Lj}$$

donde  $L = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$  indica cada uno de los ocho grupos y  $j = 1, 2, 3, \dots, n$  indica el animal concreto. Los términos  $\tau_L$  denotan el efecto que sobre la variable  $Y$  ejerce el pertenecer a uno de los ocho grupos,  $\mu$  es una constante global y  $\varepsilon_{Lj}$  es el término de error o componente aleatorio. Dicho error se asume que tiene una distribución normal con media de cero y varianza  $\sigma^2$  y que es independiente del número de grupo. El modelo general de regresión lineal es:

$$Y_i = \alpha + \beta_1 \cdot X_{1i} + \beta_2 \cdot X_{2i} + \dots + \beta_k \cdot X_{ki} + \varepsilon_i$$

donde  $i = 1, \dots, n$ ; el número de observaciones (o de casos) para cada variable de la muestra en el modelo. Las diferentes variables se representan en el modelo como  $X_{1\dots k}$ , que tienen como pendientes  $\beta_{1\dots k}$ ,  $\alpha$  es el origen de ordenadas y  $\varepsilon$  representa el término de error.

En nuestro estudio se considera un modelo de regresión simple, es decir bivalente, ya que se analiza la evolución de un parámetro como pueda ser el contenido en un componente químico, frente a la evolución del tiempo o del peso corporal. Por ello, el modelo quedará:

$$Y_L = \alpha_L + \beta_L \cdot X_L + \varepsilon_L$$

donde  $L$  indica cada uno de los grupos. La hipótesis que se pretende comprobar es si el modelo de regresión presenta un coeficiente  $\beta$  (pendiente) diferente entre dos grupos.

Por lo tanto, ya que se quieren comparar los grupos dos a dos habrá dos ecuaciones de regresión, una para cada grupo ( $a$  y  $b$ ):

$$Y_a = \alpha_a + \beta_a \cdot X_a + \varepsilon_a$$

$$Y_b = \alpha_b + \beta_b \cdot X_b + \varepsilon_b$$

la hipótesis nula  $H_0$  a comprobar es:

$$H_0: \beta_a = \beta_b$$

frente a la alternativa

$$H_1: \beta_a \neq \beta_b$$

esto es, si la pendiente de la recta de regresión en un grupo determinado (p.e. ♀ 12% NT, grupo 1) es diferente a la de otro grupo equivalente (p.e. ♀ 20% NT, grupo 3). En el modelo de regresión se tiene que introducir la variable ficticia  $D_a$ , que contiene el valor de 1 para los individuos del grupo  $a$  y cero para el resto y la variable ficticia  $D_b$  con el valor uno para el grupo  $b$  y cero para el resto. Con lo que se tiene un modelo de regresión que se denomina *regresión no restringida*, que es de la siguiente forma:

$$Y = \alpha_a D_a + \beta_a (D_a \cdot X) + \alpha_b D_b + \beta_b (D_b \cdot X) + \varepsilon$$

donde  $X$  es la variable independiente (p.e. tiempo o peso) que se mide en todos los grupos,  $\alpha_a$  y  $\alpha_b$  son el origen de ordenadas para el grupo  $a$  y  $b$  respectivamente,  $\beta_a$  y  $\beta_b$  son las pendientes de las rectas de regresión de los grupos  $a$  y  $b$ , y  $\varepsilon$  es el

término de error. Dada la hipótesis nula de que las pendientes son iguales en ambos grupos, el modelo de regresión conocido como *regresión restringida* es:

$$Y = \alpha_a D_a + \alpha_b D_b + \beta_a X + \varepsilon$$

El procedimiento a seguir para determinar si hay o no diferencia entre las pendientes, es el siguiente (Wallace y Silver, 1988):

1. Calcular la *regresión no restringida*. Esto es, la regresión de Y frente a  $D_a$ ,  $D_b$ ,  $(X \cdot D_a)$  y  $(X \cdot D_b)$ , sin incluir el término constante (u origen de ordenadas). Se denomina *regresión no restringida* debido a que se calcula ignorando las restricciones definidas por la hipótesis nula de los parámetros.
2. Calcular la *regresión restringida*. Dicho de otra forma, se imponen restricciones sobre la hipótesis del modelo y se calcula la regresión de Y frente a  $D_a$ ,  $D_b$  y X, sin incluir el término constante de la regresión.
3. Calcular el estadístico F a partir de los resultados obtenidos de ambas regresiones:

$$F = \frac{[SCE(\text{Rest}) - SCE(\text{Nrest})]/m}{SCE(\text{Nrest})/(n-k-1)}$$

donde SCE(Rest) es la suma del cuadrado de los errores de la *regresión restringida* y SCE(Nrest) es la suma del cuadrado de los errores de la *regresión no restringida*. Se divide por  $m$  que es el número de restricciones

definidas en el modelo (en concreto 1),  $n$  es el número de observaciones y  $k$  el número de variables en el modelo, el cociente  $SCE(N_{rest})/(n - k - 1)$ , es la estimación insesgada de la varianza de la *regresión no restringida*. Se puede entonces escribir el denominador como,  $s^2(N_{rest})$ .

4. Comparar la  $F$  calculada con la de la tabla correspondiente para el grado de libertad establecido, con el nivel de significación del 0,05. Si la  $F$  calculada es mayor que la teórica entonces se debe aceptar con un 95% de seguridad, que ambas pendientes son diferentes; si es menor, entonces la diferencia de pendientes no es significativa para los niveles prefijados (NS).

### ***3.5.4. Consideraciones teóricas sobre el análisis matemático del crecimiento***

El complejo e intrincado proceso del crecimiento (Doornenbal, 1971), ha sido objeto de múltiples análisis en la búsqueda de modelos apropiados, sobre los que desarrollar nuevos conocimientos (Bridges y col., 1986).

La aproximación al modelado del crecimiento se ha producido bajo diversas teorías matemáticas (Von Bertalanffy, 1975). Sin embargo, no existe una teoría definitivamente superior a las otras en la fisiología del crecimiento.

El crecimiento se puede contemplar básicamente desde dos perspectivas analíticas: el análisis transversal y el análisis longitudinal. La discusión sobre la conveniencia de una u otra ha sido largamente discutida (Goldstein, 1978). En nuestro estudio se van a emplear ambas.

#### ***3.5.4.1. Análisis transversal del crecimiento.***

En primer lugar se comentará el tratamiento transversal por su mayor sencillez conceptual y matemática.

En el análisis transversal se comparan los distintos grupos pre-establecidos en un mismo punto determinado del crecimiento de los individuos (Goldstein, 1978).

Para la comparación se utiliza el análisis de la varianza (ANOVA) en cada uno de los períodos experimentales parciales (días 25, 30, 35, 40, 45 y 50), así como los períodos de vida (días 21-25, 21-30, 21-35, 21-40, 21-45 y 21-50). Se detectan

diferencias entre los valores medios de cada parámetro en estudio de los grupos de animales utilizando el procedimiento de comparación múltiple LSD.

Con el análisis de la varianza se pretende, en nuestro caso, determinar la influencia que ejercen los factores (SEXO, nivel proteico en la dieta (DIETA), tratamiento con rhGH o solución salina (TRATAMIENTO)) sobre los parámetros en estudio (peso corporal final, grasa absoluta, etc.).

#### *3.5.4.2. Análisis longitudinal del crecimiento.*

En contraste con el análisis transversal, en el análisis longitudinal se pretende averiguar la naturaleza del crecimiento a lo largo del tiempo. Para ello se cuenta con numerosas técnicas (Kowalski y Guire, 1974), aunque se ha de llegar a un compromiso entre la complejidad y el beneficio informativo que proporciona la técnica empleada.

##### *3.5.4.2.a. La ecuación alométrica en el análisis longitudinal*

Frente a ecuaciones cinéticas complejas, donde la comparación entre los diversos animales en estudio es difícil o imposible, el empleo de la ecuación alométrica proporciona una visión sencilla del proceso y permite una fácil comparación entre grupos.

La ecuación alométrica  $Y = \alpha \cdot X^\beta$  es un modelo del crecimiento animal que en un período relativamente corto de tiempo, como es el comprendido entre el destete

y la pubertad en ratones BALB/c suministra una información fiable. El modelo alométrico, compara el crecimiento de una parte distinguible del organismo Y (variable dependiente, que puede ser un órgano o un compartimento corporal como por ejemplo el contenido graso) con el total corporal X (variable independiente). El modelo es sencillo, pero explica de una forma satisfactoria las prioridades que establece un organismo cuando ha de aumentar toda su biomasa y cuando este organismo crece con condicionamientos diferenciales. El modelo es aplicable entonces a cualquier proceso en el que dos elementos estén relacionados de forma jerárquica.

En la ecuación alométrica, las tasas relativas de crecimiento (incremento porcentual del tamaño real) de los elementos X e Y guardan una relación constante en los términos de espacio y tiempo considerados. A partir de ella, es posible conocer como se distribuye el crecimiento en un organismo ya que  $\beta$  representa la relación entre las tasas de crecimiento entre las partes consideradas (Kowalski y Guire, 1974) y tendría el significado de ser la capacidad o la prioridad de crecer del componente orgánico en relación a la totalidad.

Así, si  $\beta < 1$ , un componente crece con una velocidad relativa menor que el conjunto del organismo. Si  $\beta = 1$ , el órgano crece de la misma forma que el total corporal. Finalmente, si  $\beta > 1$ , sucedería en el crecimiento del elemento con una expansión mayor que el organismo en su conjunto (Von Bertalanffy, 1976). Así, se obtienen distintas tasas relativas de crecimiento, dependiendo del órgano considerado, que se verá reflejado en diferentes coeficientes alométricos.

La ecuación alométrica se ha obtenido matemáticamente, bajo el supuesto de un crecimiento exponencial, en principio ilimitado, de los dos elementos relacionados. Sólo

se puede considerar la existencia de crecimiento exponencial cuando el período de tiempo estudiado es pequeño, en caso contrario la función sigmoide es más apropiada.

La desaparición del tiempo en la ecuación alométrica es un hecho crucial, ya que indica que la relación se mantiene independientemente del mismo. Si bien esto puede parecer artificioso, tiene la ventaja de no considerar el tiempo cronológico, que en determinadas circunstancias podría no corresponder con la "edad fisiológica" (Laird, 1965) o serie cronológica de sucesos fisiológicos (Kowalski y Guire, 1974).

#### *3.5.4.2.a.a. Tratamiento estadístico de la ecuación alométrica*

El tratamiento estadístico disponible proporciona unos estimadores adecuados de comparación si se utilizan modelos lineales (SAS, 1990).

La ecuación alométrica es fácilmente linealizable (Shea y col., 1987) (Doornenbal y Tong, 1981), sin más que tomar logaritmos en ambos miembros de la expresión.

$$\ln Y = \ln \alpha + \beta \ln X$$

que tiene la forma general de la recta  $Y = a + b \cdot X$ , donde  $a$  es el origen de coordenadas y  $b$  es la pendiente de la recta.

El modelo alométrico así linealizado es teórico, no existe la variabilidad. Es decir, cada uno de los parámetros calculados debe cumplirse exactamente, lo cual está fuera de toda realidad. Por ello, hay que admitir la existencia de una indeterminación consustancial que se simboliza con un término de error  $\varepsilon$  que tiene una varianza

constante  $\sigma^2$ , distribución normal y un valor medio de 0. Si se hace  $y = \ln Y$ ,  $g = \ln \alpha$ ,  $a = \beta$  y  $x = \ln X$  el modelo queda:

$$y = g + a \cdot x + \varepsilon$$

Por otra parte, cuando una variable dependiente  $Y$  se enfrenta con otra independiente  $X$ , el valor esperado o *esperanza* de obtener  $Y$  con un  $X$  determinado se representa por el *operador esperanza*  $E[Y/X]$  y por tanto:

$$E[y/x] = E[g + a \cdot x + \varepsilon]$$

El *operador esperanza*  $E$ , se define (Phrymes, 1978) como:

$$E[X] = \int_{-\infty}^{\infty} xf(x)dx = \mu$$

Siendo  $X$  una variable aleatoria escalar (unidimensional). Según las propiedades de operación de la *esperanza* queda que:

$$E[y/x] = E[g] + E[a \cdot x] + E[\varepsilon]$$

$$\hat{y} = \hat{g} + E[a] \cdot E[x] + 0$$

$$\hat{y} = \hat{g} + \hat{a} \cdot E[x]$$

con lo que finalmente el modelo lineal toma la forma

$$\hat{y} = \hat{g} + \hat{a} \cdot x$$

donde el valor esperado de  $y$  ( $\hat{y}$ ) es igual al valor esperado de  $g$  ( $\hat{g}$ ) más el valor esperado de  $a$  ( $\hat{a}$ ) multiplicado por  $x$ .

De esta forma se utiliza el tratamiento estadístico lineal proporcionado por el paquete estadístico de SAS (SAS, 1990), STATGRAPHICS (Statgraphics, 1986) o SPSS/PC+ (Norušis, 1986).

*3.5.4.2.b. Los procedimientos de series temporales en el análisis longitudinal del crecimiento.*

La utilización principal de las series temporales es la predicción en el futuro basándose en el pasado; el conocimiento del proceso que gobierna la evolución de la variable considerada, o simplemente una descripción del proceso (Kowalski y Guire, 1974).

Si el tiempo se mide en intervalos discretos regulares, mediciones diarias, se tiene que:

$$X_t = f(t) + \varepsilon_t \quad \text{donde } t=1,2,\dots,n \text{ días}$$

Mediante la fórmula expuesta se representa la medida del parámetro X en los distintos períodos de tiempo t ( $X_t$ ) dependiendo de una parte sistemática f(t) y de un término de error o variación estocástica,  $\varepsilon_t$ . El tiempo sólo tiene efecto sobre el término f(t), mientras que  $\varepsilon_t$  es independiente y con una distribución normal, con media cero y una varianza ( $\sigma^2$ ) (Kowalski y Guire, 1974).

Se utilizan tanto la distancia recorrida ( $X_t$  frente al tiempo) como la velocidad o tasa de incremento ( $\Delta X_t$  frente al tiempo).

La velocidad absoluta de crecimiento (VAC) se obtiene calculando sucesivos incrementos del peso corporal.

$$\Delta X_t = X_t - X_{t-1} \quad (t = 1,2,\dots,n)$$

mientras que la tasa relativa de crecimiento (VFC) se obtiene como:

$$\Delta X_{rel_t} = (X_t - X_{t-1}) / X_{t-1} \quad (t = 1,2,\dots,n)$$

la tasa relativa de crecimiento no tiene dimensiones y está normalizada (no tiene escala específica, por lo que permite las comparaciones de diferentes procedencias).

En este estudio la distancia recorrida de las variables de ingesta y eficacia alimentaria, así como las velocidades de crecimiento obtenidas mediante el ajuste polinómico de los datos (representando la media móvil) se exponen en las gráficas 1, 2, 4, 5, 7 y 8 del capítulo de resultados.

#### *3.5.4.2.c. El ANOVA en el análisis longitudinal del crecimiento.*

Finalmente se considera el análisis de la varianza, que ya se comentó en el análisis transversal. Sin embargo, los datos son aquí analizados por un factor adicional, la EDAD, con lo que se pueden comprobar las hipótesis nulas de no influencia de los factores anteriores (TRATAMIENTO, DIETA, SEXO) y el de la EDAD y sus interacciones (Kowalski y Guire, 1974).

### **3.5.3. Principios informáticos**

#### *3.5.3.1. Preparación de los datos para el análisis*

Antes de analizar la información con un paquete estadístico (SAS, SPSS/PC<sup>+</sup>), se deben crear estructuras para los datos. Esto conlleva dos pasos: a) disponer los datos en un formato adecuado y b) introducir los datos en el ordenador de una forma pre-establecida (Norušis, 1986).

Primariamente se crea un fichero con el formato de una base de datos (tipo dBase IV), por la facilidad existente de entrada de datos y transvase a otro tipo de ficheros. Al final del proceso se obtiene un fichero de datos en formato ASCII (código internacional en el transvase de información entre ordenadores) que será procesado por diversos paquetes estadísticos (SAS, SPSS/PC<sup>+</sup>) y gráficos (GRAPHER).

##### *3.5.3.1.a El fichero de datos*

El fichero de datos es el principal componente del análisis estadístico. La ordenación correcta de los datos es de vital importancia para la mayor eficacia en la obtención de los resultados, sin ella los análisis secundarios estarán limitados e incluso podrán ser erróneos. Finalmente es necesario comprobar la exactitud de la información introducida en el fichero y su identidad con los datos experimentales (Norušis, 1986).

### 3.5.3.1.b. Especificación y transformación de los datos

Para la introducción ordenada de los datos se dispuso la creación de un fichero con formato de base de datos tipo .DBF (dBase IV), donde se especificaron todas las variables medidas en la experiencia. El conjunto de todas las variables de cada ratón constituye un registro. Se asignó un tamaño de cifras y decimales para cada variable, lo suficientemente amplio como para poder percibir la magnitud de los cambios con la suficiente significación.

Posteriormente a la entrada y depuración de los datos, se procedió al cálculo de variables derivadas a partir de las variables primarias. El proceso seguido para crear estas nuevas variables fue: a) asignar espacio en el fichero con formato de base de datos para la nueva variable y especificar las peculiaridades de la misma (tipo de variable: numérica, alfabética, lógica etc.; cifras y decimales que la constituyen) y b) asignar el valor resultante del cálculo aritmético con variables primarias correspondiente a la variable derivada. Esta última operación se realiza con una orden similar a la siguiente:

`REPLACE ALL Nombre_de_la_variable WITH Operación aritmética.`

Donde *Nombre\_de\_la\_variable* es el nombre de la variable derivada (grasa corporal, humedad corporal, etc.) y *Operación aritmética* es el cálculo requerido para hallar dicha variable a partir de las variables primarias necesarias (porcentaje de grasa, porcentaje de humedad, etc.).

### 3.5.3.2. *Material informático utilizado*

Centro de proceso de datos de la U.C.M. Sistema IBM 4381/P22.

- Sistemas Operativos: VM/SP (versión 4.0)
- Herramientas de usuario: DMS/CMS
- Análisis estadístico aplicado: SAS BASIC, SAS EST

Sección Departamental de Fisiología Animal. Facultad de Farmacia. U.C.M. Sistema

COP-AT 286-12 (IBM COMPATIBLE).

- Sistemas Operativos: MS-DOS (versión 6.0)
- Herramientas de usuario: PC Tools 7.1 (Central Point Software Inc.)
- Proceso de textos: Word Perfect V 5.2 (Español)
- Análisis estadístico aplicado: SPSS/PC<sup>+</sup> V 1.1
- Representación gráfica: GRAPHER 1.79 (Golden Software)
- Sistema de base de datos: dBase IV (Español)

## **RESULTADOS**

Los resultados se presentan bajo dos conceptos:

- 1) Descripción de cada grupo de resultados.
- 2) Exposición numérica y gráfica de los mismos  
(tablas y gráficas)

## 4.1. INGESTA, EFICACIA ALIMENTARIA Y DESARROLLO SOMÁTICO

4.1.1. INFLUENCIA DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LOS PARÁMETROS: **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)**, **Ingesta Proteica Diaria (IP)**, **Peso Corporal Final (PCF)**, **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT), DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% Y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 1- 6)

(Gráficas 1-3)

La EDAD afecta significativamente a todos los parámetros en estudio en los grupos de animales *No Tratados* (NT), según el análisis de la varianza de tres factores (tabla 4).

A lo largo del periodo experimental se produce un incremento paulatino de los valores de IT, IE e IP en los grupos sometidos al 12% de proteína, hasta el día 40 de vida en el que se estabilizan (tabla 1), lo que determina una correlación lineal temporal muy significativa con altos coeficientes de correlación ( $\text{♀ } r=0,588$ ;  $\text{♂ } r=0,806$ ) (tabla 5). Este resultado corresponde a un porcentaje de aumento del 44% y del 74% en  $\text{♀}$  y  $\text{♂}$  respectivamente, sobre el valor inicial.

Por el contrario, las ingestas de los grupos sometidos a la dieta del 20% de proteína (tabla 1), permanecen estacionarias a lo largo del tiempo y como resultado se obtiene una correlación temporal no significativa (tabla 5).

Las evoluciones temporales de la media móvil de las tres ingestas pueden observarse en la gráfica 1 (a, b y c).

Asimismo se produce un aumento progresivo en función de la edad en los valores de PCF y PCMF (tabla 2) con altas correlaciones temporales, similares en todos los grupos de animales NT (tabla 6) e incrementos porcentuales que oscilan entre el 55% en animales hembras y el 40% en animales machos de ambas dietas sobre el valor inicial (tabla 2).

Por su parte, los valores de EA, VAC y VFC descienden a lo largo del tiempo (tabla 3) (gráfica 2 a, b y c). Los grupos del 12% de proteína presentan porcentajes de descenso entre el 80% y el 90% en cualquiera de los parámetros reseñados, pasando por ejemplo de un valor medio inicial aproximado de 0,15 g/g/día en EA a 0,01 g/g/día en el día 50 de vida, de 0,40 g/día el día 25 a 0,08 g/día al final de la experiencia en VAC y de 22 %/día (25 días) hasta 2 %/día (50 días) en VFC. Ello determina una alta correlación lineal temporal negativa que demuestra una dependencia inversa con la edad (tabla 6).

Los grupos del 20% de proteína, por su parte, presentan menores descensos aunque significativos en EA y VFC entre los días 25 y 50 de vida, mientras que la VAC se mantiene inalterable en el mismo período de tiempo, según el análisis de comparación LSD (tabla 3 y gráfica 2), siendo sus correlaciones temporales no significativas, a excepción del grupo ♀ 20% cuya VFC ( $r = -0,618$ ) presenta la máxima disminución ( $\approx 60\%$ ) (tabla 6, gráfica 2c).

La DIETA influye de forma desigual sobre los parámetros en estudio, según el análisis de la varianza trifactorial (tabla 4).

Los animales sometidos a la dieta del 12% de proteína dietaria incrementan significativamente los valores de IT e IE respecto de los encontrados en los animales del 20% de proteína (tabla 1), en especial los días 40 y 45 de vida, en porcentajes que oscilan, en ambos sexos, entre un 23% y un 35%, mientras que la cantidad de IP se mantiene a un nivel menor todos los días de la experiencia (gráfica 1c).

Sin embargo, los mayores PCF y PCMF se registran en los animales sometidos al 20% de proteína (tabla 2), en especial en las hembras, que aumentan ambos parámetros a día 50 de vida (17%) y en los machos que presentan sus mayores pesos en el día 45 (16%), respecto de los alimentados con el nivel proteico más bajo.

Aunque globalmente no presentan significación según el ANOVA (tabla 4), los parámetros EA, VAC y VFC tienden a aumentar con carácter puntual a partir del día 40 en los ratones sometidos a la dieta del 20% de proteína respecto de los grupos con nivel proteico más bajo (12%), llegando a porcentajes de aumento significativos a día 50 de vida, que oscilan entre el 70% y el 80% en cualquiera de las tres variables estudiadas (tabla 3).

Por otra parte, como puede observarse en la tabla 4 los parámetros IT e IE se encuentran afectados por el SEXO, según el ANOVA, aún cuando no aparecen diferencias puntuales significativas según la comparación múltiple LSD (tabla 1).

El estudio estadístico del valor de las pendientes de las respectivas rectas de regresión, nos permite deducir la evolución temporal de dichos parámetros en ambos sexos y con ambas dietas (tablas 5 y 6).

Puede observarse que la evolución temporal más rápida de las ingestas (IT, IE e IP) la obtienen los animales sometidos al 12% de proteína, aunque la cantidad absoluta ingerida de IT e IE sea mayor y la de IP inferior respectivamente, a la de los animales sometidos al mayor nivel proteico (tabla 5). Además, son los machos sometidos al 12% quienes presentan las más rápidas evoluciones de crecimiento de las ingestas.

En su conjunto la evolución del resto de los parámetros es distinta en cada uno de los sexos. Así, los machos sometidos al 12% de proteína presentan un *crecimiento ponderal similar a los de mayor nivel proteico* (tabla 6), alcanzando pesos finales total y magro idénticos (tabla 2), aunque los parámetros EA, VAC y VFC de éstos animales descienden más pronunciadamente debido a su mayor velocidad de caída (tabla 6).

Las hembras sometidas al 20% de proteína por su parte, presentan una mayor rapidez en el crecimiento ponderal a lo que contribuye la menor pérdida temporal en los valores de EA aunque se mantiene idéntica la evolución de las tasas de crecimiento absoluta (VAC) y relativa (VFC) (tabla 6).

Se produce pues un efecto importante de interacción ExD y ExS, según señala también el ANOVA de tres factores (tabla 4). Las otras interacciones DxS y ExDxS sólo son significativas sobre el PCF.

Por último, de las ecuaciones de regresión lineal entre la eficacia alimentaria global (EAG) y el PCF, y entre la velocidad fraccional de crecimiento con el PCF (gráfica 3) se deduce la existencia de una correlación lineal inversa entre estos parámetros, con coeficientes de correlación negativos, a excepción del grupo ♂ 20% que es no significativo.

Las mayores pendientes corresponden al grupo de menor nivel proteico dietario, lo que indica que mientras el PCF crece, la EAG y la VFC disminuyen muy rápidamente, especialmente para PCF menores de 15 g, lo que significa que estos animales al tener mayor eficacia alimentaria pueden alcanzar un peso similar a los animales del 20%. Por su parte el grupo ♀ 20%, con menores pendientes, puede crecer fácilmente al mantener más estables tanto la EA como la VFC.

Tabla 1. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)** e **Ingesta Proteica Diaria (IP)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Ingesta Total Diaria (IT) (g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	2,75 ± 0,22 <sup>a</sup>	2,81 ± 0,13 <sup>a</sup>	3,25 ± 0,12 <sup>a</sup>	3,35 ± 0,23 <sup>a</sup>
Día 30	3,85 ± 0,24 <sup>bc</sup>	3,40 ± 0,16 <sup>ab</sup>	3,80 ± 0,14 <sup>a</sup>	3,46 ± 0,19 <sup>a</sup>
Día 35	3,60 ± 0,27 <sup>b</sup>	3,89 ± 0,18 <sup>b</sup>	3,55 ± 0,17 <sup>a</sup>	3,76 ± 0,15 <sup>a</sup>
Día 40	4,18 ± 0,14 <sup>bc*</sup>	4,68 ± 0,25 <sup>c*</sup>	3,38 ± 0,13 <sup>a*</sup>	3,61 ± 0,18 <sup>a*</sup>
Día 45	4,52 ± 0,26 <sup>c*</sup>	4,94 ± 0,31 <sup>c*</sup>	3,68 ± 0,18 <sup>a*</sup>	3,67 ± 0,29 <sup>a*</sup>
Día 50	3,97 ± 0,24 <sup>bc</sup>	4,88 ± 0,41 <sup>c</sup>	3,50 ± 0,33 <sup>a</sup>	3,98 ± 0,24 <sup>a</sup>

	Ingesta Energética Diaria (IE) (kJ/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	42,2 ± 3,3 <sup>a</sup>	43,2 ± 2,0 <sup>a</sup>	50,3 ± 1,8 <sup>a</sup>	51,8 ± 3,5 <sup>a</sup>
Día 30	59,3 ± 3,6 <sup>bc</sup>	52,6 ± 2,4 <sup>ab</sup>	58,8 ± 2,1 <sup>a</sup>	53,3 ± 3,0 <sup>a</sup>
Día 35	55,3 ± 4,1 <sup>b</sup>	59,8 ± 2,8 <sup>b</sup>	54,9 ± 2,5 <sup>a</sup>	58,3 ± 2,3 <sup>a</sup>
Día 40	64,3 ± 2,2 <sup>bc*</sup>	71,9 ± 3,8 <sup>c*</sup>	52,3 ± 2,0 <sup>a*</sup>	55,8 ± 2,7 <sup>a*</sup>
Día 45	69,6 ± 4,0 <sup>c*</sup>	76,0 ± 4,8 <sup>c*</sup>	57,0 ± 2,8 <sup>a*</sup>	56,7 ± 4,5 <sup>a*</sup>
Día 50	61,1 ± 3,7 <sup>bc</sup>	75,1 ± 6,2 <sup>c</sup>	54,2 ± 5,1 <sup>a</sup>	61,6 ± 3,6 <sup>a</sup>

	Ingesta Proteica Diaria (IP) (g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,329 ± 0,0026 <sup>a*</sup>	0,337 ± 0,016 <sup>a*</sup>	0,649 ± 0,023 <sup>a*</sup>	0,670 ± 0,046 <sup>a*</sup>
Día 30	0,462 ± 0,028 <sup>bc*</sup>	0,408 ± 0,019 <sup>ab*</sup>	0,760 ± 0,027 <sup>a*</sup>	0,692 ± 0,039 <sup>a*</sup>
Día 35	0,431 ± 0,032 <sup>b*</sup>	0,466 ± 0,022 <sup>b*</sup>	0,710 ± 0,033 <sup>a*</sup>	0,752 ± 0,031 <sup>a*</sup>
Día 40	0,502 ± 0,017 <sup>bc*</sup>	0,561 ± 0,030 <sup>c*</sup>	0,676 ± 0,026 <sup>a*</sup>	0,721 ± 0,035 <sup>a*</sup>
Día 45	0,542 ± 0,031 <sup>c*</sup>	0,592 ± 0,038 <sup>c*</sup>	0,736 ± 0,036 <sup>a*</sup>	0,733 ± 0,058 <sup>a*</sup>
Día 50	0,474 ± 0,029 <sup>bc*</sup>	0,585 ± 0,049 <sup>c*</sup>	0,700 ± 0,066 <sup>a*</sup>	0,796 ± 0,047 <sup>a*</sup>

(n=5, x ± error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad

En todos los casos p<0,05 (LSD).

**Gráfica 1.** Evolución Temporal de la **Ingesta Total Diaria (IT)** (a), **Ingesta Energética Diaria (IE)** (b) e **Ingesta Proteica Diaria (IP)** (c) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

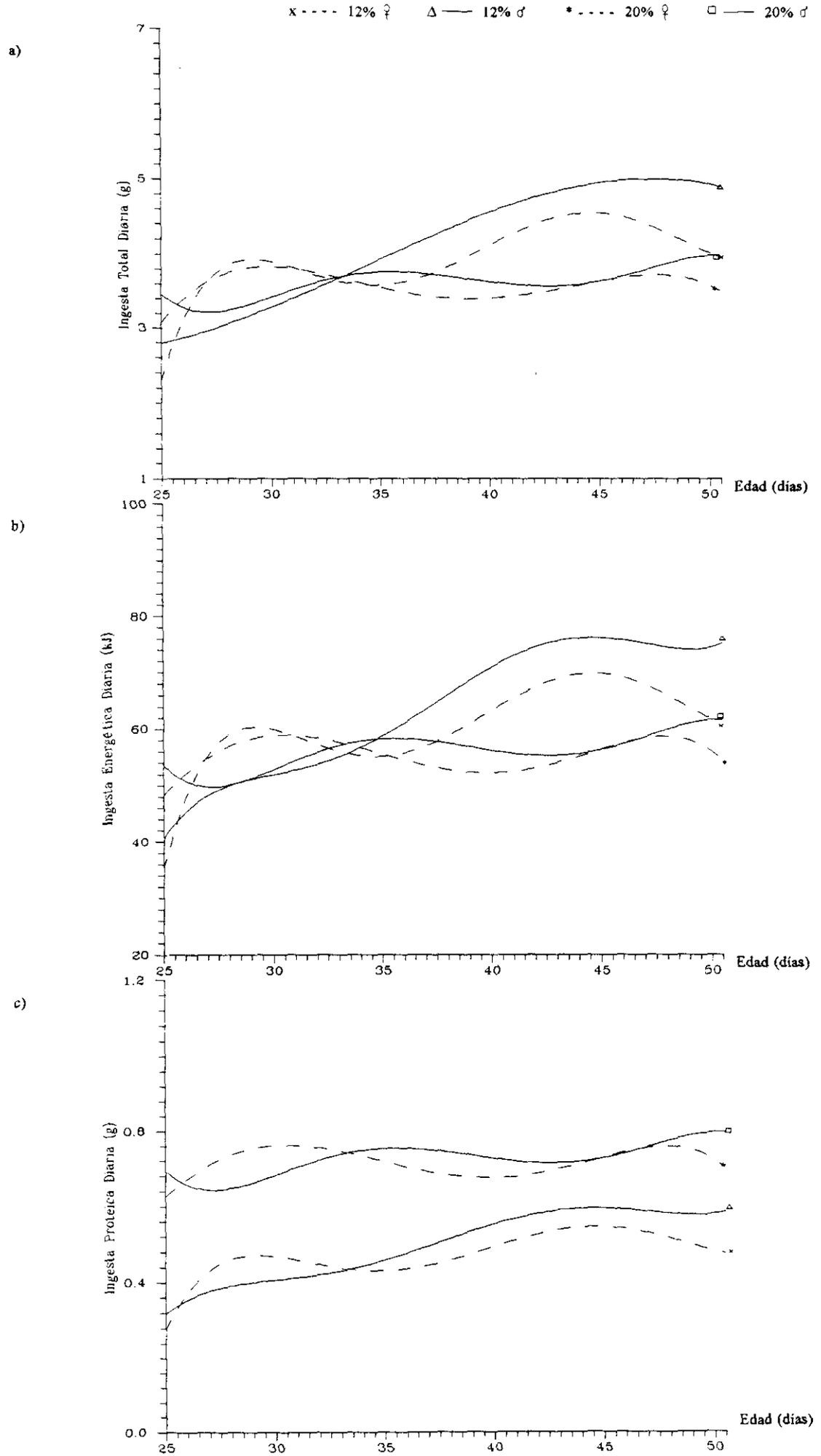


Tabla 2. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Peso Corporal Final (PCF)** y de **Peso Corporal Magro Final (PCMF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Peso Corporal Final (PCF) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	11,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	12,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	13,0 ± 0,5 <sup>a</sup>	13,1 ± 0,4 <sup>a</sup>
Día 30	16,3 ± 0,4 <sup>bc</sup>	14,6 ± 0,4 <sup>b</sup>	15,5 ± 0,5 <sup>b+</sup>	13,0 ± 0,4 <sup>a+</sup>
Día 35	14,9 ± 0,2 <sup>b</sup>	15,6 ± 0,5 <sup>b</sup>	15,5 ± 0,3 <sup>b</sup>	15,2 ± 0,6 <sup>ab</sup>
Día 40	16,2 ± 0,4 <sup>bc</sup>	15,9 ± 0,4 <sup>b</sup>	17,9 ± 0,6 <sup>c</sup>	16,4 ± 0,6 <sup>bc</sup>
Día 45	16,9 ± 0,7 <sup>c</sup>	16,0 ± 0,5 <sup>b*</sup>	18,4 ± 0,5 <sup>c</sup>	18,3 ± 0,7 <sup>c*</sup>
Día 50	17,1 ± 0,5 <sup>c*</sup>	18,6 ± 0,7 <sup>c</sup>	20,5 ± 0,5 <sup>d*</sup>	18,8 ± 1,9 <sup>c</sup>

	Peso Corporal Magro Final (PCMF) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	10,3 ± 0,2 <sup>a*</sup>	11,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	12,0 ± 0,5 <sup>a*</sup>	12,3 ± 0,4 <sup>a</sup>
Día 30	14,8 ± 0,3 <sup>bc</sup>	13,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	13,9 ± 0,5 <sup>b</sup>	12,2 ± 0,4 <sup>a</sup>
Día 35	13,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	14,8 ± 0,5 <sup>b</sup>	14,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	14,3 ± 0,5 <sup>b</sup>
Día 40	14,9 ± 0,3 <sup>bc</sup>	14,6 ± 0,4 <sup>b</sup>	16,2 ± 0,5 <sup>c</sup>	15,2 ± 0,6 <sup>b</sup>
Día 45	15,3 ± 0,6 <sup>bc</sup>	14,7 ± 0,5 <sup>b*</sup>	16,8 ± 0,5 <sup>cd</sup>	17,4 ± 0,7 <sup>c*</sup>
Día 50	15,8 ± 0,5 <sup>c*</sup>	17,2 ± 0,7 <sup>c</sup>	18,1 ± 0,4 <sup>d*</sup>	17,0 ± 1,8 <sup>c</sup>

(n=5, x ± error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos p<0,05 (LSD).

Tabla 3. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de Eficacia Alimentaria Diaria (EA), Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC) y Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Eficacia Alimentaria Diaria (EA) (g/g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,123 ± 0,013 <sup>at</sup>	0,177 ± 0,017 <sup>at</sup>	0,115 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,143 ± 0,009 <sup>a</sup>
Día 30	0,102 ± 0,012 <sup>a</sup>	0,064 ± 0,020 <sup>b</sup>	0,079 ± 0,020 <sup>b</sup>	0,046 ± 0,010 <sup>b</sup>
Día 35	0,015 ± 0,015 <sup>b</sup>	0,052 ± 0,013 <sup>b</sup>	0,057 ± 0,013 <sup>bc</sup>	0,031 ± 0,022 <sup>b</sup>
Día 40	0,044 ± 0,007 <sup>ba</sup>	0,058 ± 0,008 <sup>b</sup>	0,074 ± 0,008 <sup>bc*</sup>	0,054 ± 0,007 <sup>bc</sup>
Día 45	0,050 ± 0,017 <sup>b</sup>	0,019 ± 0,011 <sup>ba</sup>	0,036 ± 0,016 <sup>c</sup>	0,060 ± 0,009 <sup>bc*</sup>
Día 50	0,014 ± 0,009 <sup>ba</sup>	0,024 ± 0,021 <sup>ba</sup>	0,073 ± 0,012 <sup>bc*</sup>	0,096 ± 0,026 <sup>ca</sup>

	Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC) (g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,340 ± 0,050 <sup>ac+</sup>	0,496 ± 0,046 <sup>at</sup>	0,376 ± 0,039 <sup>a</sup>	0,476 ± 0,033 <sup>a</sup>
Día 30	0,404 ± 0,065 <sup>a</sup>	0,220 ± 0,068 <sup>bc</sup>	0,296 ± 0,074 <sup>ab</sup>	0,156 ± 0,035 <sup>b</sup>
Día 35	0,060 ± 0,058 <sup>b</sup>	0,204 ± 0,052 <sup>bc</sup>	0,204 ± 0,047 <sup>bc</sup>	0,120 ± 0,068 <sup>b</sup>
Día 40	0,184 ± 0,028 <sup>bc</sup>	0,272 ± 0,038 <sup>c</sup>	0,252 ± 0,032 <sup>abc</sup>	0,200 ± 0,036 <sup>b</sup>
Día 45	0,224 ± 0,077 <sup>c</sup>	0,084 ± 0,048 <sup>b</sup>	0,132 ± 0,057 <sup>c</sup>	0,212 ± 0,024 <sup>c</sup>
Día 50	0,056 ± 0,032 <sup>ba</sup>	0,104 ± 0,078 <sup>bc*</sup>	0,252 ± 0,042 <sup>abc*</sup>	0,368 ± 0,069 <sup>ac*</sup>

	Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC) (%/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	19,1 ± 2,6 <sup>at</sup>	25,8 ± 2,1 <sup>at</sup>	16,9 ± 1,9 <sup>a</sup>	23,0 ± 1,8 <sup>a</sup>
Día 30	14,2 ± 2,4 <sup>a</sup>	8,4 ± 2,7 <sup>bc</sup>	11,2 ± 3,0 <sup>b</sup>	6,2 ± 1,4 <sup>bc</sup>
Día 35	2,2 ± 2,1 <sup>b</sup>	7,2 ± 2,1 <sup>bc</sup>	7,1 ± 1,5 <sup>bc</sup>	4,0 ± 3,2 <sup>c</sup>
Día 40	6,2 ± 1,1 <sup>b</sup>	9,4 ± 1,3 <sup>c</sup>	7,8 ± 1,1 <sup>bc</sup>	6,7 ± 0,9 <sup>bc</sup>
Día 45	7,3 ± 2,2 <sup>b</sup>	2,6 ± 1,5 <sup>b</sup>	3,9 ± 1,7 <sup>c</sup>	6,3 ± 0,8 <sup>bc</sup>
Día 50	1,6 ± 0,9 <sup>ba</sup>	3,1 ± 3,1 <sup>bc*</sup>	6,9 ± 1,5 <sup>bc*</sup>	10,4 ± 2,7 <sup>ba</sup>

(n=5, x ± error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos p<0,05 (LSD).

Gráfica 2.

Evolución temporal de la Eficacia Alimentaria Diaria (EA) (a), Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC) (b) y Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC) (c) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

x - - - - 12% ♀    Δ — 12% ♂    \* - - - - 20% ♀    □ — 20% ♂

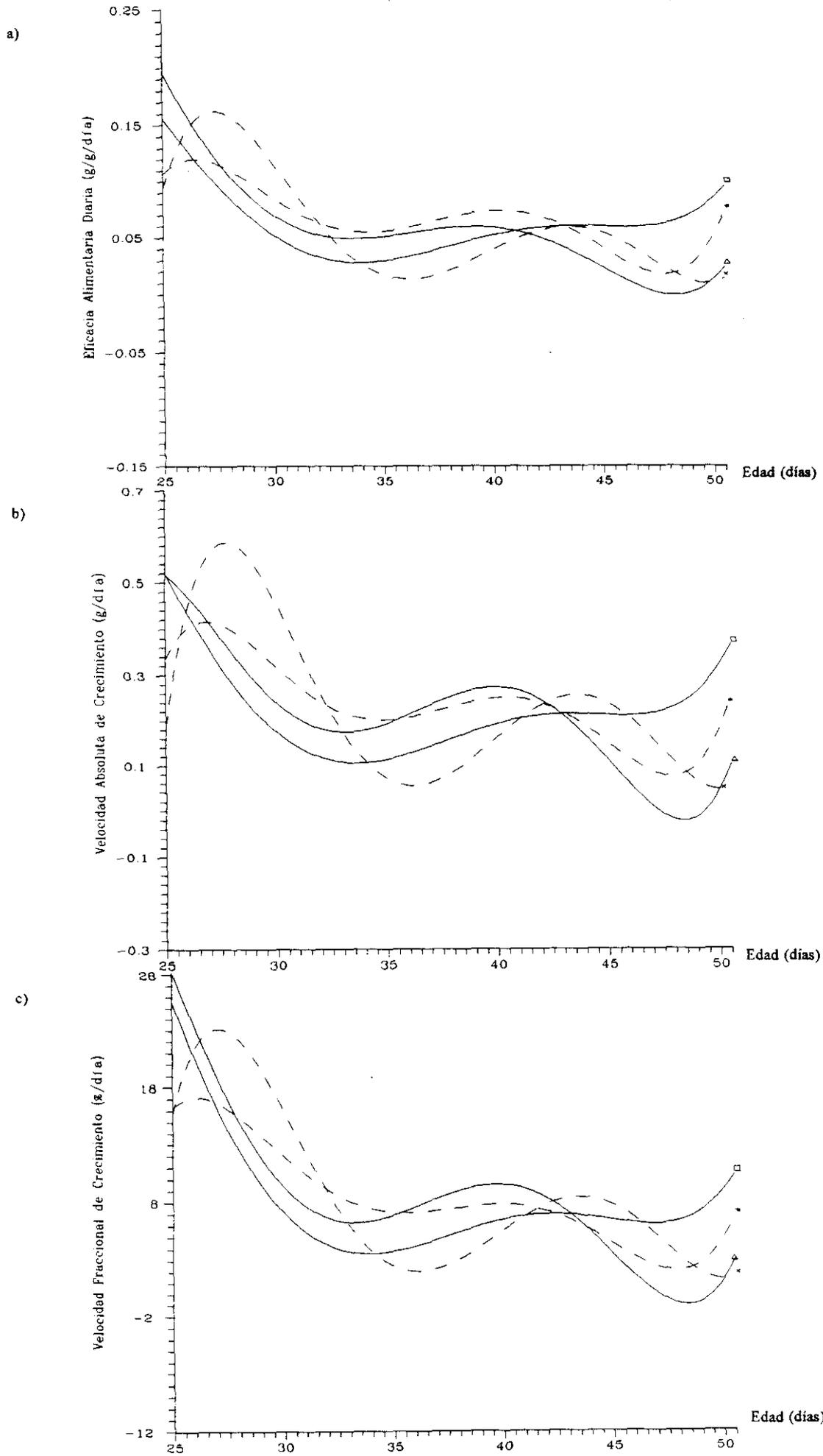


Tabla 4. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)**, **Ingesta Proteica Diaria (IP)**, **Peso Corporal Final (PCF)**, **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	IT	IE	IP	PCF	PCMF	EA	VAC	VFC
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
D	0,0001	0,0001	0,0001	0,003	0,010	NS	NS	NS
S	0,035	0,035	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ExD	0,0001	0,0001	0,005	0,011	0,009	0,001	0,006	0,030
ExS	0,036	0,036	NS	0,044	NS	0,015	0,010	0,004
DxS	NS	NS	NS	0,035	NS	NS	NS	NS
ExDxS	NS							

\* NS (No Significativo,  $p > 0,05$ )

Tabla 5. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)** e **Ingesta Proteica Diaria (IP)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
IT	♀	$y=2,941 + x \cdot 0,0498$	0,0129 <sup>a1</sup>	0,588	0,0006	$y=3,452 + x \cdot 0,0042$	0,0093 <sup>a2</sup>	0,085	NS
	♂	$y=2,522 + x \cdot 0,0900$	0,0125 <sup>b1</sup>	0,806	0,00001	$y=3,277 + x \cdot 0,0206$	0,0099 <sup>a2</sup>	0,366	NS
IE	♀	$y=45,26 + x \cdot 0,767$	0,199 <sup>a1</sup>	0,588	0,0006	$y=53,48 + x \cdot 0,065$	0,145 <sup>a2</sup>	0,085	NS
	♂	$y=38,82 + x \cdot 1,386$	0,192 <sup>b1</sup>	0,806	0,00001	$y=50,76 + x \cdot 0,320$	0,153 <sup>a2</sup>	0,366	NS
IP	♀	$y=0,352 + x \cdot 0,0059$	0,0015 <sup>a1</sup>	0,588	0,0006	$y=0,690 + x \cdot 0,0008$	0,0018 <sup>a2</sup>	0,085	NS
	♂	$y=0,302 + x \cdot 0,0108$	0,0015 <sup>b1</sup>	0,806	0,00001	$y=0,655 + x \cdot 0,0041$	0,0019 <sup>a2</sup>	0,366	NS

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 6. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
PCF	♀	$y=12,12 + x \cdot 0,190$	0,034 <sup>a1</sup>	0,719	0,00001	$y=11,97 + x \cdot 0,278$	0,026 <sup>a2</sup>	0,893	0,00001
	♂	$y=12,22 + x \cdot 0,193$	0,027 <sup>a1</sup>	0,796	0,00001	$y=11,28 + x \cdot 0,260$	0,043 <sup>a1</sup>	0,751	0,00001
PCMF	♀	$y=11,19 + x \cdot 0,171$	0,030 <sup>a1</sup>	0,734	0,00001	$y=11,20 + x \cdot 0,232$	0,021 <sup>a2</sup>	0,899	0,00001
	♂	$y=11,66 + x \cdot 0,164$	0,027 <sup>a1</sup>	0,751	0,00001	$y=10,83 + x \cdot 0,226$	0,042 <sup>a1</sup>	0,706	0,00001
EA	♀	$y=0,125 - x \cdot 0,00384$	0,00078 <sup>a1</sup>	-0,678	0,00001	$y=0,104 - x \cdot 0,00183$	0,00073 <sup>a2</sup>	-0,426	NS
	♂	$y=0,155 - x \cdot 0,00511$	0,00096 <sup>a1</sup>	-0,710	0,00001	$y=0,088 - x \cdot 0,00096$	0,00107 <sup>a2</sup>	-0,166	NS
VAC	♀	$y=0,394 - x \cdot 0,0104$	0,0031 <sup>a1</sup>	-0,528	0,0027	$y=0,358 - x \cdot 0,0060$	0,0025 <sup>a1</sup>	-0,412	NS
	♂	$y=0,460 - x \cdot 0,0131$	0,0033 <sup>a1</sup>	-0,600	0,0004	$y=0,284 - x \cdot 0,0016$	0,0036 <sup>a2</sup>	-0,085	NS
VFC	♀	$y=18,89 - x \cdot 0,598$	0,120 <sup>a1</sup>	-0,685	0,00001	$y=16,07 - x \cdot 0,407$	0,097 <sup>a1</sup>	-0,618	0,0003
	♂	$y=22,27 - x \cdot 0,734$	0,140 <sup>a1</sup>	-0,703	0,00001	$y=15,42 - x \cdot 0,341$	0,153 <sup>a2</sup>	-0,388	NS

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

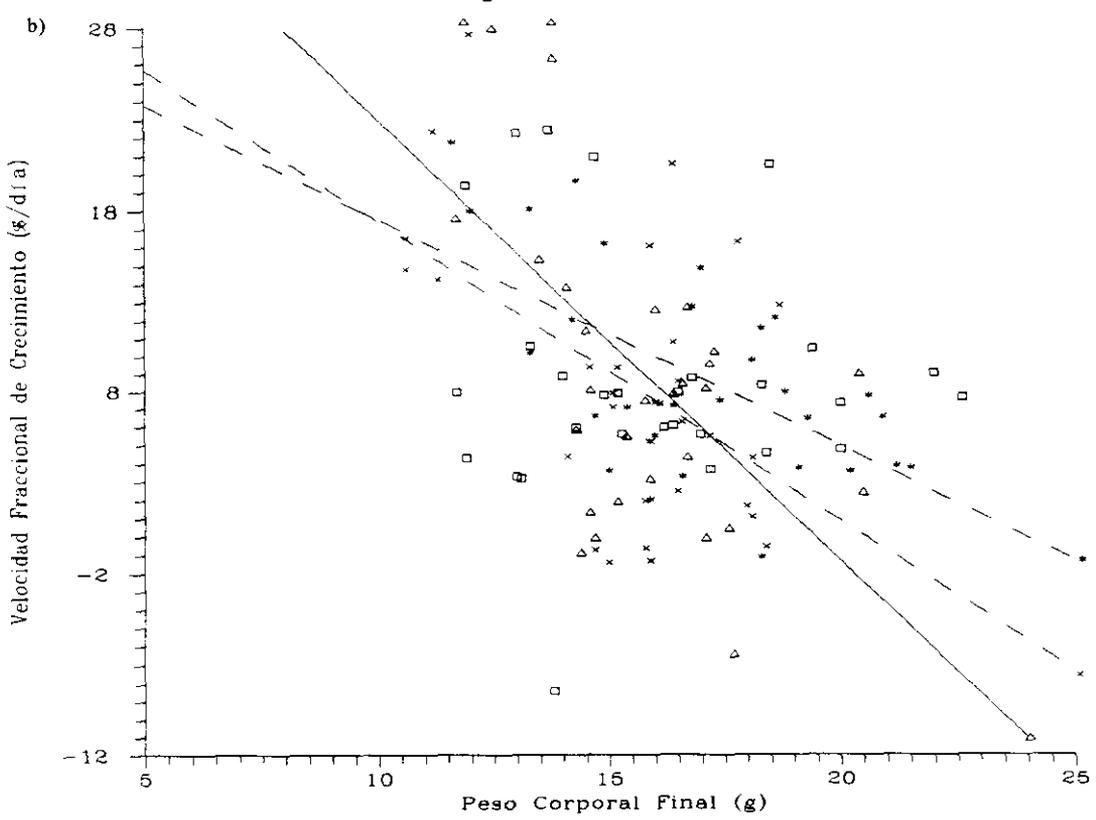
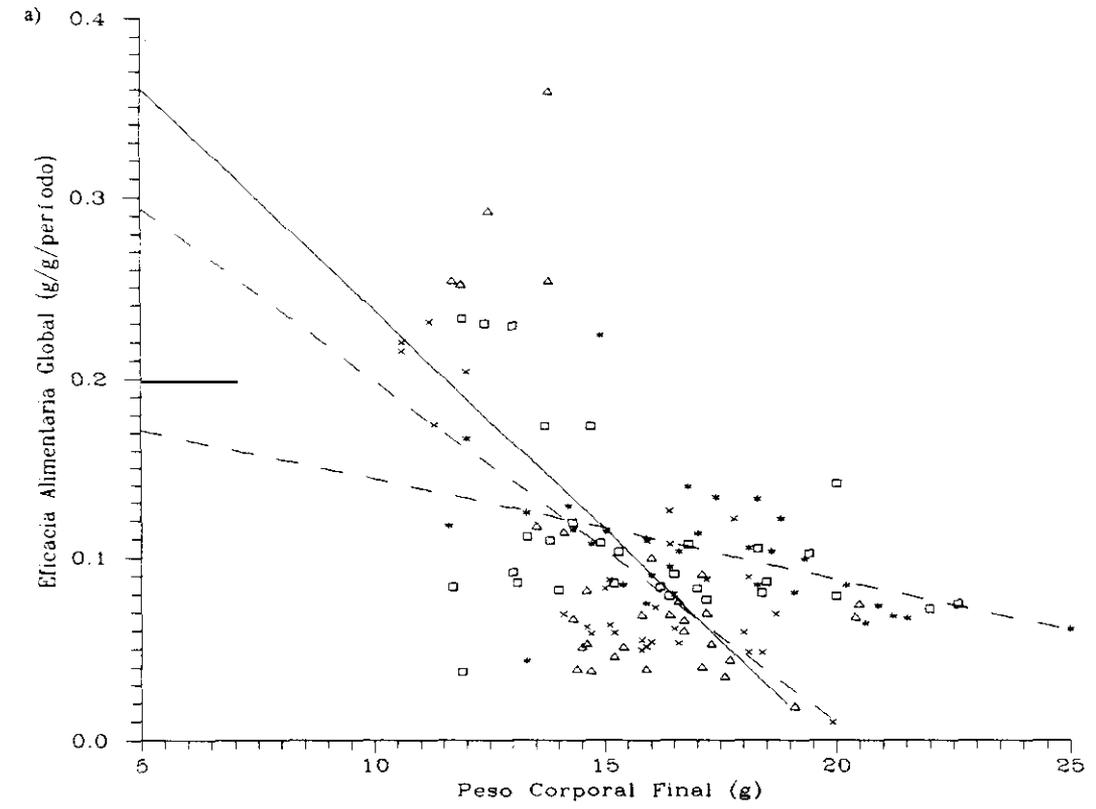
r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

**Gráfica 3.** Relación entre la Eficacia Alimentaria Global (EAG) (a) y la Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC) (b) con el Peso Corporal Final (PCF) en ratones *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	EAG (a)	VFC (b)
x - - - - 12% ♀	0,388 - PCF · 0,018 ± 0,002 <sup>a1</sup>	0,339 - PCF · 0,0164 ± 0,005 <sup>a1</sup>
Δ ——— 12% ♂	0,482 - PCF · 0,024 ± 0,006 <sup>a1</sup>	0,473 - PCF · 0,0243 ± 0,006 <sup>b1</sup>
* - - - - 20% ♀	0,227 - PCF · 0,007 ± 0,001 <sup>a2</sup>	0,300 - PCF · 0,0125 ± 0,003 <sup>a2</sup>
□ ——— 20% ♂	NS	NS



superíndices (diferencias entre pendientes): letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento.

4.1.2. INFLUENCIA DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LOS PARÁMETROS: **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)**, **Ingesta Proteica Diaria (IP)**, **Peso Corporal Final (PCF)**, **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** EN RATONES BALB/c *Tratados* (T) CON rhGH, DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 7-12)

(Gráficas 4-6)

Los animales T se encuentran afectados muy significativamente por la EDAD según el análisis de la varianza de tres factores (tabla 10).

El incremento edad-dependiente de los valores de IT, IE, IP, PCF y PCMF tiene lugar a partir del día 35 de vida, sin modificaciones en los días 25 y 30, según el test de comparación múltiple LSD (tablas 7 y 8).

El carácter edad-dependiente de la evolución de las variables antedichas se pone de manifiesto por los altos valores de los coeficientes de correlación temporal de las respectivas rectas de regresión (tablas 11 y 12), en especial las correspondientes a los animales sometidos al 20% de proteína.

Sin embargo como se observa en las gráficas 4 y 5, se establece una respuesta temporal de carácter bifásico, con una primera etapa descendente (25-30 días) y otra

posterior ascendente (35-50 días) muy evidente para los valores de ingesta (gráfica 4). Las variables EA, VAC y VFC por su parte, presentan una falta de correlación lineal con el tiempo (NS), a excepción del valor de la VAC del grupo ♂ 20% T cuyo coeficiente de correlación ( $r=0,543$ ) es significativo (tabla 12 y gráfica 5). Ello se debe a la intensidad y duración de la disminución inicial de estas variables, especialmente en los grupos del 12% de proteína dietaria, en los que llegan a hacerse negativas, sobre todo en los animales machos (tabla 9 y gráfica 5). La respuesta es más suave y mantenida en los grupos del 20% de proteína, pero en cualquier caso, el incremento en la segunda etapa de la respuesta llega a alcanzar, en general, los valores iniciales, a excepción del grupo ♀ 20% T que presenta un descenso temporal del 58% en los parámetros EA y VFC.

La DIETA afecta muy significativamente a todos los parámetros estudiados a excepción de las variables IT e IE, según el ANOVA (tabla 10).

Todos los valores de IP resultan proporcionales al porcentaje proteico de la dieta, de tal modo que los grupos sometidos al 12% de proteína dietaria, ingieren menos proteína que los grupos sometidos al 20% (tabla 7 y gráfica 4c).

Igualmente, los animales sometidos al mayor nivel proteico obtienen un incremento en PCF y PCMF respecto de los grupos del 12% a partir del día 40 en hembras y del día 45 en machos (tabla 8), aunque las modificaciones de EA, VAC y VFC son más aleatorias (tabla 9).

Por su parte, el SEXO no parece ejercer influencia alguna sobre los parámetros en estudio, a excepción del PCMF según el análisis de la varianza de tres factores (tabla 10).

El estudio de las pendientes de las rectas de regresión (tablas 11 y 12) demuestra que los animales T sometidos a la DIETA del 20% de proteína tienen un crecimiento ponderal más rápido que los del 12% de proteína, debido a una mayor y más rápida ingesta de proteína.

La existencia de la evolución bifásica, también altera el efecto de la interacción ExD, que sólo presenta una influencia significativa sobre los valores de IP, PCF y PCMF (tabla 10), de acuerdo con lo dicho anteriormente en relación a sus pendientes respectivas.

Asimismo, los pesos finales son influidos por la interacción DxS, mientras que la triple interacción ExDxS afecta exclusivamente a los parámetros EA, VAC y VFC de acuerdo con el ANOVA de tres factores (tabla 10).

Además en los animales T ni la EAG ni la VFC presentan correlación lineal alguna con el PCF, por lo que ninguna de éstas variables son proporcionales a los cambios de peso corporal (gráfica 6).

Tabla 7. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)** e **Ingesta Proteica Diaria (IP)** en ratones BALB/c *Tratados (T)* con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Ingesta Total Diaria (IT) (g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	2,88 ± 0,13 <sup>a*</sup>	2,74 ± 0,15 <sup>ab</sup>	2,31 ± 0,09 <sup>a*</sup>	2,64 ± 0,12 <sup>a</sup>
Día 30	2,39 ± 0,30 <sup>a</sup>	2,40 ± 0,18 <sup>b</sup>	2,26 ± 0,17 <sup>a</sup>	2,50 ± 0,26 <sup>a</sup>
Día 35	4,01 ± 0,32 <sup>b*</sup>	3,81 ± 0,27 <sup>c</sup>	3,20 ± 0,31 <sup>b*</sup>	3,82 ± 0,12 <sup>bc</sup>
Día 40	2,98 ± 0,15 <sup>a</sup>	3,49 ± 0,12 <sup>ac</sup>	3,39 ± 0,33 <sup>b</sup>	3,36 ± 0,28 <sup>b</sup>
Día 45	4,07 ± 0,38 <sup>b</sup>	4,06 ± 0,30 <sup>c</sup>	3,66 ± 0,32 <sup>b</sup>	4,32 ± 0,32 <sup>c</sup>
Día 50	4,01 ± 0,23 <sup>b</sup>	3,95 ± 0,46 <sup>c</sup>	4,48 ± 0,18 <sup>c</sup>	4,46 ± 0,20 <sup>c</sup>

	Ingesta Energética Diaria (IE) (kJ/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	44,3 ± 1,9 <sup>a*</sup>	42,1 ± 2,2 <sup>ab</sup>	35,7 ± 1,4 <sup>a*</sup>	40,9 ± 1,8 <sup>a</sup>
Día 30	36,7 ± 4,6 <sup>a</sup>	36,9 ± 2,7 <sup>b</sup>	35,0 ± 2,6 <sup>a</sup>	38,7 ± 4,0 <sup>a</sup>
Día 35	61,6 ± 4,9 <sup>b*</sup>	58,6 ± 4,1 <sup>c</sup>	49,5 ± 4,7 <sup>b*</sup>	59,1 ± 1,8 <sup>bc</sup>
Día 40	45,8 ± 2,3 <sup>a</sup>	53,7 ± 1,8 <sup>ac</sup>	52,4 ± 5,0 <sup>b</sup>	52,0 ± 4,3 <sup>b</sup>
Día 45	62,7 ± 5,8 <sup>b</sup>	62,5 ± 4,6 <sup>c</sup>	56,6 ± 5,0 <sup>b</sup>	66,9 ± 4,9 <sup>c</sup>
Día 50	61,7 ± 3,5 <sup>b</sup>	60,7 ± 7,0 <sup>c</sup>	69,4 ± 2,7 <sup>c</sup>	69,0 ± 3,1 <sup>c</sup>

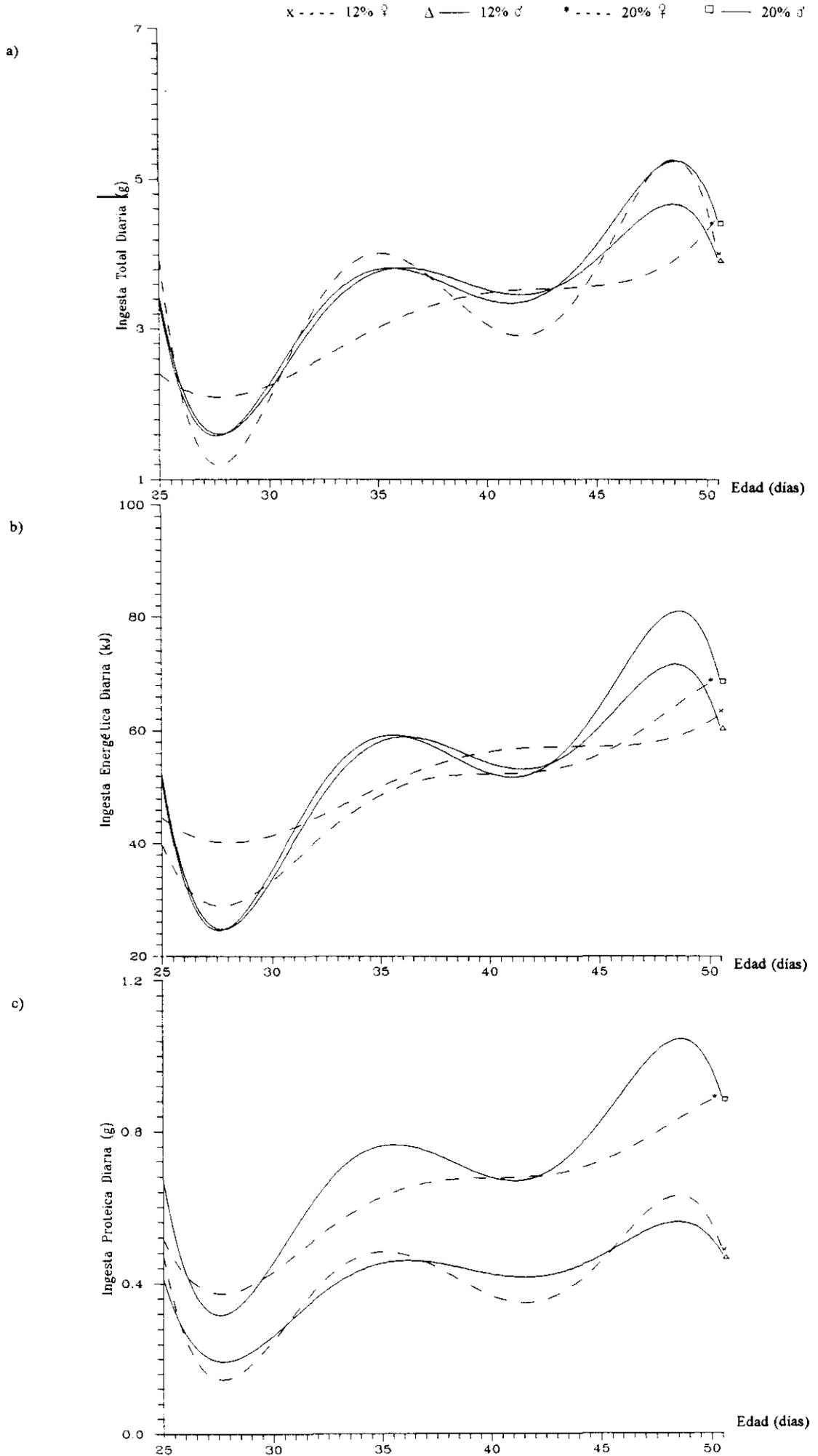
	Ingesta Proteica Diaria (IP) (g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,345 ± 0,015 <sup>a*</sup>	0,328 ± 0,018 <sup>ab*</sup>	0,461 ± 0,018 <sup>a*</sup>	0,528 ± 0,024 <sup>a*</sup>
Día 30	0,286 ± 0,036 <sup>a*</sup>	0,288 ± 0,021 <sup>b*</sup>	0,452 ± 0,034 <sup>a*</sup>	0,500 ± 0,052 <sup>a*</sup>
Día 35	0,481 ± 0,039 <sup>b*</sup>	0,457 ± 0,032 <sup>c*</sup>	0,639 ± 0,061 <sup>b+*</sup>	0,764 ± 0,024 <sup>bc+*</sup>
Día 40	0,357 ± 0,018 <sup>a*</sup>	0,419 ± 0,014 <sup>ac*</sup>	0,677 ± 0,065 <sup>b*</sup>	0,672 ± 0,056 <sup>b*</sup>
Día 45	0,488 ± 0,045 <sup>b*</sup>	0,487 ± 0,037 <sup>c*</sup>	0,731 ± 0,065 <sup>b*</sup>	0,864 ± 0,064 <sup>c*</sup>
Día 50	0,481 ± 0,027 <sup>b*</sup>	0,474 ± 0,055 <sup>c*</sup>	0,896 ± 0,036 <sup>c*</sup>	0,891 ± 0,040 <sup>c*</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

**Gráfica 4. Evolución temporal de la Ingesta Total Diaria (IT) (a), Ingesta Energética Diaria (IE) (b) e Ingesta Proteica Diaria (IP) (c) en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.**



**Tabla 8.** Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Peso Corporal Final (PCF)** y de **Peso Corporal Magro Final (PCMF)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Peso Corporal Final (PCF) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	11,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	11,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	11,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	12,1 ± 0,1 <sup>a</sup>
Día 30	11,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	11,7 ± 0,4 <sup>ab</sup>	11,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	12,0 ± 0,4 <sup>a</sup>
Día 35	14,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	13,0 ± 0,4 <sup>b</sup>	12,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	13,8 ± 0,3 <sup>b</sup>
Día 40	13,3 ± 0,4 <sup>ab*</sup>	14,6 ± 0,5 <sup>c</sup>	15,3 ± 0,5 <sup>b*</sup>	15,8 ± 0,5 <sup>c</sup>
Día 45	14,0 ± 0,5 <sup>b*</sup>	15,2 ± 0,3 <sup>c*</sup>	16,7 ± 0,9 <sup>b+*</sup>	18,3 ± 0,7 <sup>d+*</sup>
Día 50	17,0 ± 0,6 <sup>c*</sup>	15,6 ± 0,5 <sup>c*</sup>	20,1 ± 0,6 <sup>c*</sup>	20,4 ± 1,0 <sup>c*</sup>

	Peso Corporal Magro Final (PCMF) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	11,3 ± 0,3 <sup>ac</sup>	10,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	10,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	11,5 ± 0,1 <sup>a</sup>
Día 30	10,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	11,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	10,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	11,5 ± 0,4 <sup>a</sup>
Día 35	13,2 ± 0,3 <sup>b*</sup>	12,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	11,7 ± 0,5 <sup>a+*</sup>	13,1 ± 0,3 <sup>b+</sup>
Día 40	12,5 ± 0,4 <sup>bc*</sup>	13,6 ± 0,4 <sup>b</sup>	14,5 ± 0,5 <sup>b*</sup>	14,9 ± 0,5 <sup>c</sup>
Día 45	12,9 ± 0,4 <sup>b*</sup>	14,0 ± 0,2 <sup>b*</sup>	15,6 ± 0,9 <sup>b*</sup>	17,2 ± 0,7 <sup>d*</sup>
Día 50	15,5 ± 0,5 <sup>d*</sup>	14,6 ± 0,5 <sup>b*</sup>	18,4 ± 0,5 <sup>c*</sup>	18,6 ± 0,8 <sup>d*</sup>

(n=5, x ± error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos p<0,05 (LSD).

Tabla 9. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de Eficacia Alimentaria Diaria (EA), Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC) y Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC) en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Eficacia Alimentaria Diaria (EA) (g/g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,103 ± 0,018 <sup>a</sup>	0,077 ± 0,024 <sup>a</sup>	0,107 ± 0,013 <sup>ac</sup>	0,087 ± 0,019 <sup>a</sup>
Día 30	-0,001 ± 0,026 <sup>b*</sup>	0,047 ± 0,025 <sup>ac</sup>	0,095 ± 0,023 <sup>ac*</sup>	0,031 ± 0,022 <sup>bc</sup>
Día 35	0,016 ± 0,009 <sup>b</sup>	-0,009 ± 0,022 <sup>b</sup>	0,040 ± 0,016 <sup>b</sup>	0,025 ± 0,005 <sup>b</sup>
Día 40	0,033 ± 0,023 <sup>bc</sup>	0,002 ± 0,013 <sup>bc*</sup>	0,066 ± 0,010 <sup>bc</sup>	0,072 ± 0,020 <sup>ac*</sup>
Día 45	0,030 ± 0,011 <sup>bc+*</sup>	0,066 ± 0,014 <sup>a+</sup>	0,081 ± 0,010 <sup>bc*</sup>	0,072 ± 0,010 <sup>ac</sup>
Día 50	0,078 ± 0,013 <sup>ac+*</sup>	0,041 ± 0,011 <sup>ac+*</sup>	0,045 ± 0,011 <sup>b+*</sup>	0,079 ± 0,003 <sup>a+*</sup>

	Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC) (g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,294 ± 0,049 <sup>ac</sup>	0,208 ± 0,060 <sup>a</sup>	0,248 ± 0,035 <sup>ab</sup>	0,228 ± 0,047 <sup>a</sup>
Día 30	0,027 ± 0,059 <sup>b*</sup>	0,098 ± 0,050 <sup>ab</sup>	0,218 ± 0,056 <sup>ab*</sup>	0,068 ± 0,042 <sup>b</sup>
Día 35	0,075 ± 0,038 <sup>b</sup>	-0,014 ± 0,067 <sup>b</sup>	0,143 ± 0,064 <sup>b</sup>	0,096 ± 0,022 <sup>b</sup>
Día 40	0,106 ± 0,070 <sup>b</sup>	0,009 ± 0,047 <sup>b*</sup>	0,222 ± 0,038 <sup>ab</sup>	0,242 ± 0,071 <sup>ac*</sup>
Día 45	0,137 ± 0,047 <sup>a*</sup>	0,255 ± 0,035 <sup>a</sup>	0,299 ± 0,044 <sup>a*</sup>	0,300 ± 0,029 <sup>ac</sup>
Día 50	0,313 ± 0,050 <sup>c</sup>	0,175 ± 0,060 <sup>a*</sup>	0,202 ± 0,054 <sup>ab+</sup>	0,353 ± 0,007 <sup>c+*</sup>

	Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC) (%/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	14,5 ± 2,4 <sup>a</sup>	10,4 ± 2,9 <sup>a</sup>	13,1 ± 1,6 <sup>a</sup>	11,1 ± 2,3 <sup>ac</sup>
Día 30	1,1 ± 3,1 <sup>bc*</sup>	4,3 ± 2,2 <sup>ab</sup>	10,3 ± 2,3 <sup>ab+*</sup>	2,9 ± 1,9 <sup>b+</sup>
Día 35	2,8 ± 1,3 <sup>bc</sup>	-0,7 ± 2,7 <sup>b</sup>	5,8 ± 2,6 <sup>b</sup>	3,6 ± 0,8 <sup>bc</sup>
Día 40	4,1 ± 2,7 <sup>c</sup>	0,3 ± 1,6 <sup>bc*</sup>	8,1 ± 1,6 <sup>ab</sup>	8,5 ± 2,5 <sup>c*</sup>
Día 45	4,9 ± 1,7 <sup>c*</sup>	9,2 ± 1,4 <sup>a</sup>	9,8 ± 1,5 <sup>ab*</sup>	9,4 ± 1,4 <sup>ac</sup>
Día 50	9,9 ± 1,3 <sup>ac+*</sup>	5,6 ± 1,9 <sup>ac+*</sup>	5,5 ± 1,5 <sup>b+*</sup>	10,8 ± 0,5 <sup>ac+*</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

**Gráfica 5.** Evolución temporal de la **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)** (a), **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** (b) y **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** (c) en ratones BALB/c *T ratadores* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

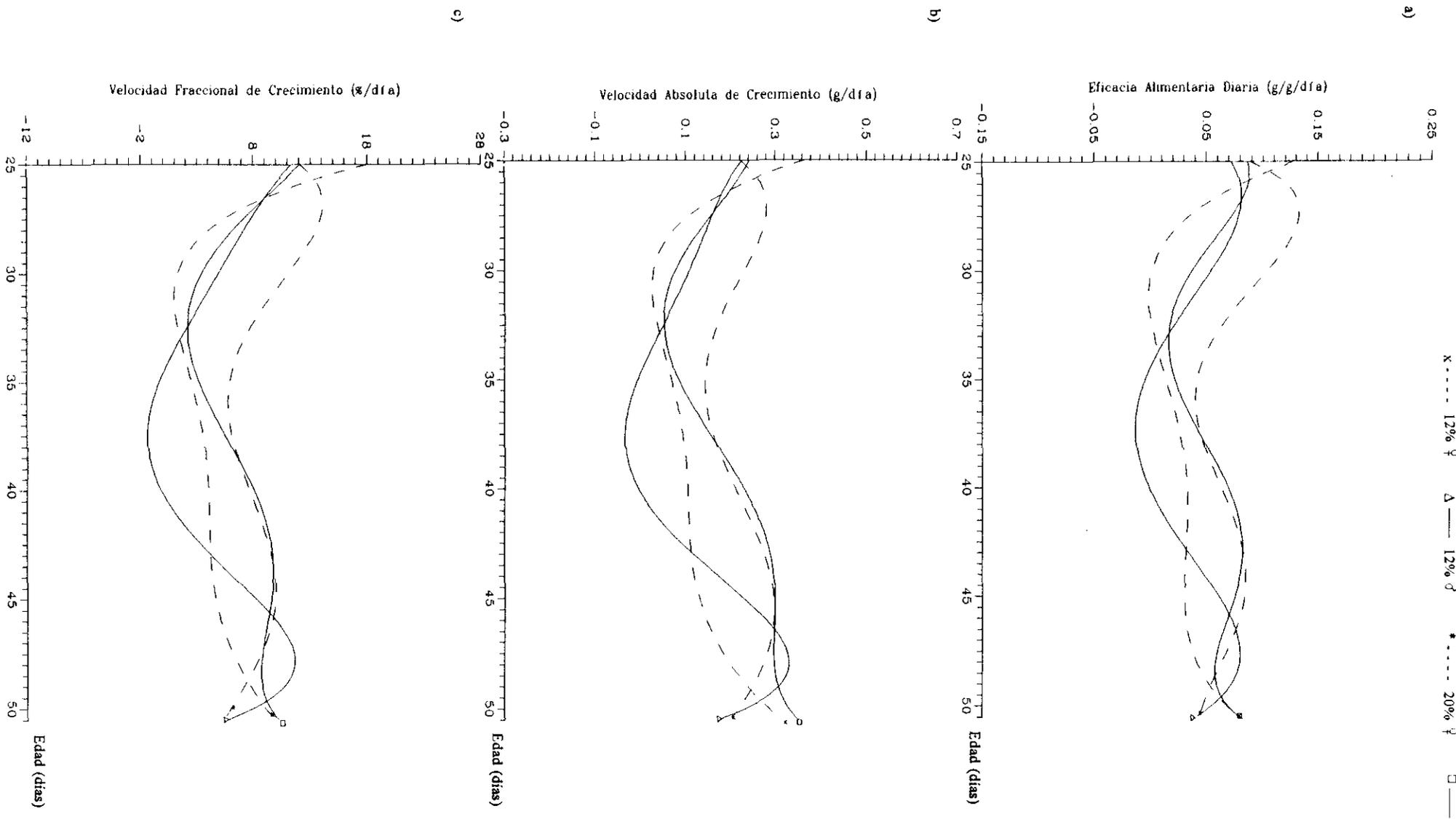


Tabla 10. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)**, **Ingesta Proteica Diaria (IP)**, **Peso Corporal Final (PCF)**, **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	IT	IE	IP	PCF	PCMF	EA	VAC	VFC
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
D	NS	NS	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,001
S	NS	NS	NS	NS	0,022	NS	NS	NS
ExD	NS	NS	0,0001	0,0001	0,0001	NS	NS	NS
ExS	NS							
DxS	NS	NS	NS	0,043	0,032	NS	NS	NS
ExDxS	NS	NS	NS	NS	NS	0,006	0,011	0,012

\* NS (No significativo,  $p > 0,05$ )

Tabla 11. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)** e **Ingesta Proteica Diaria (IP)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
IT	♀	$y=2,420 + x \cdot 0,0553$	0,0157 <sup>a1</sup>	0,552	0,0016	$y=1,688 + x \cdot 0,0871$	0,0119 <sup>a2</sup>	0,810	0,00001
	♂	$y=2,335 + x \cdot 0,0613$	0,0141 <sup>a1</sup>	0,632	0,0002	$y=2,112 + x \cdot 0,0803$	0,0124 <sup>a1</sup>	0,773	0,00001
IE	♀	$y=37,24 + x \cdot 0,851$	0,242 <sup>a1</sup>	0,552	0,0016	$y=26,15 + x \cdot 1,350$	0,184 <sup>a2</sup>	0,810	0,00001
	♂	$y=35,94 + x \cdot 0,943$	0,218 <sup>a1</sup>	0,632	0,0002	$y=32,72 + x \cdot 1,243$	0,192 <sup>a1</sup>	0,773	0,00001
IP	♀	$y=0,290 + x \cdot 0,0066$	0,0018 <sup>a1</sup>	0,552	0,0016	$y=0,337 + x \cdot 0,0174$	0,0023 <sup>a2</sup>	0,810	0,00001
	♂	$y=0,280 + x \cdot 0,0073$	0,0017 <sup>a1</sup>	0,632	0,0002	$y=0,422 + x \cdot 0,0160$	0,0024 <sup>a2</sup>	0,773	0,00001

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 12. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Peso Corporal Final (PCF)**, **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.
PCF	♀	$y=10,64 + x \cdot 0,176$	0,027 <sup>a1</sup>	0,770	0,00001	$y=8,21 + x \cdot 0,363$	0,034 <sup>a2</sup>	0,893	0,00001
	♂	$y=10,32 + x \cdot 0,189$	0,021 <sup>a1</sup>	0,856	0,00001	$y=9,18 + x \cdot 0,357$	0,031 <sup>a2</sup>	0,903	0,00001
PCMF	♀	$y=10,13 + x \cdot 0,149$	0,025 <sup>a1</sup>	0,745	0,00001	$y=7,82 + x \cdot 0,328$	0,031 <sup>a2</sup>	0,889	0,00001
	♂	$y=9,91 + x \cdot 0,164$	0,019 <sup>a1</sup>	0,849	0,00001	$y=9,05 + x \cdot 0,310$	0,028 <sup>a2</sup>	0,898	0,00001
EA	♀	$y=0,044 - x \cdot 0,0000117$	0,00121 <sup>a1</sup>	-0,010	NS	$y=0,105 - x \cdot 0,00186$	0,00076 <sup>a1</sup>	-0,419	NS
	♂	$y=0,048 - x \cdot 0,00065$	0,00108 <sup>a1</sup>	-0,112	NS	$y=0,048 + x \cdot 0,00074$	0,00084 <sup>b1</sup>	0,163	NS
VAC	♀	$y=0,113 + x \cdot 0,0026$	0,0033 <sup>a1</sup>	0,143	NS	$y=0,212 + x \cdot 0,0005$	0,0024 <sup>a1</sup>	0,041	NS
	♂	$y=0,088 + x \cdot 0,0018$	0,0032 <sup>a1</sup>	0,109	NS	$y=0,067 + x \cdot 0,0084$	0,0024 <sup>b2</sup>	0,543	0,0019
VFC	♀	$y=7,22 - x \cdot 0,058$	0,140 <sup>a1</sup>	-0,078	NS	$y=12,48 - x \cdot 0,213$	0,093 <sup>a1</sup>	-0,394	NS
	♂	$y=5,70 - x \cdot 0,047$	0,132 <sup>a1</sup>	-0,068	NS	$y=5,42 + x \cdot 0,131$	0,102 <sup>a1</sup>	0,235	NS

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

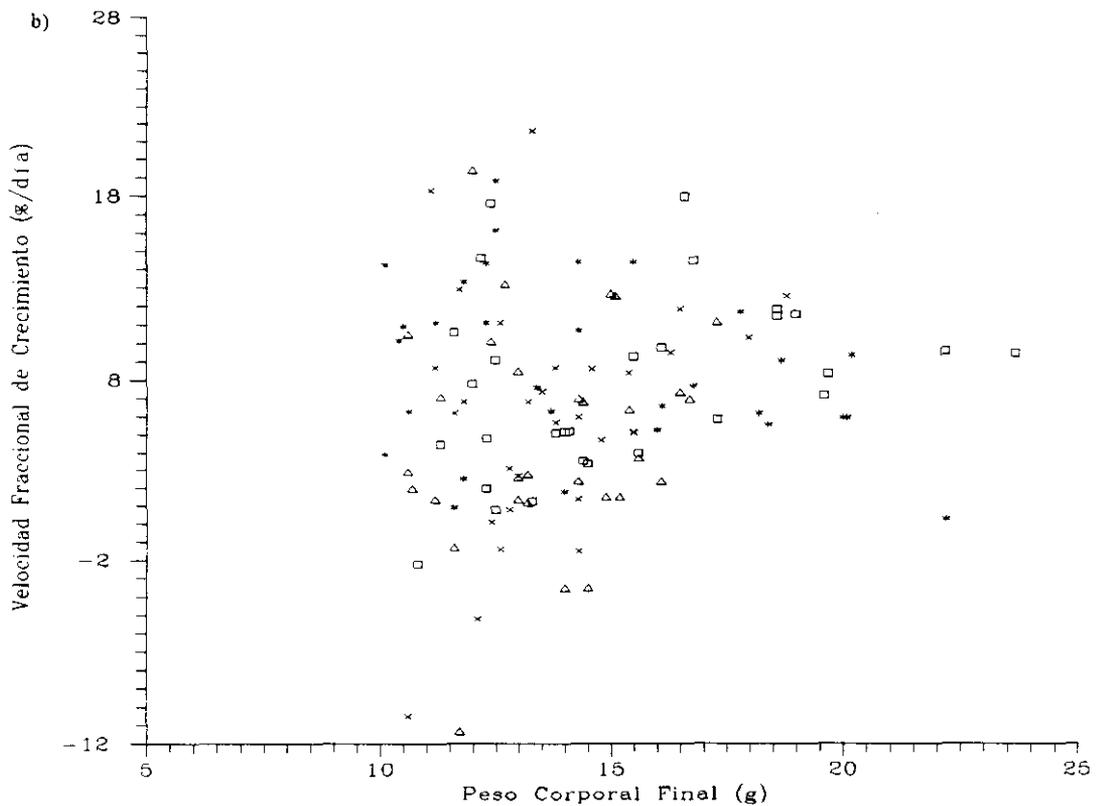
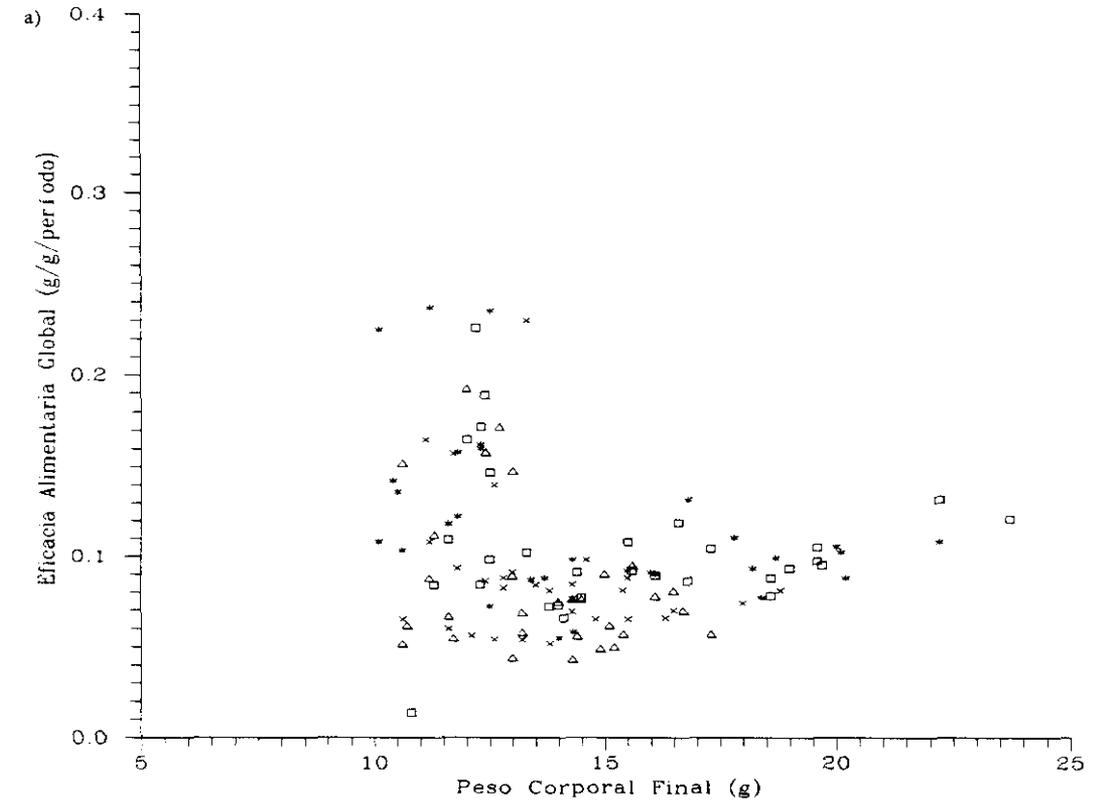
r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

**Gráfica 6.** Relación entre la **Eficacia Alimentaria Global (EAG)** (a) y la **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** (b) con el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rh-GH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	EAG (a)	VFC (b)
x - - - - 12% ♀	NS	NS
△ - - - - 12% ♂		
* - - - - 20% ♀		
□ - - - - 20% ♂		



4.1.3. EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE HORMONA DE CRECIMIENTO (rhGH), DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LOS PARÁMETROS: **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)**, **Ingesta Proteica Diaria (IP)**, **Peso Corporal Final (PCF)**, **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** ENTRE RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON rhGH, DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 13-18)

(Gráficas 7-9)

El efecto de la EDAD, el TRATAMIENTO y la DIETA, así como la interacción ExT resultan muy significativos para todos los parámetros estudiados según el ANOVA de tres factores (tabla 16).

La comparación entre los grupos NT y T indica la actuación de la hormona. Como ya se ha señalado existen dos etapas: una inicial con disminuciones generalizadas en IT, IE, IP, PCF, PCMF, EA, VAC y VFC, y otra final en la que se recuperan todos los valores hasta igualarse o incrementarse sobre los obtenidos por sus respectivos controles (tablas 13, 14 y 15) (gráficas 7 y 8).

Los valores de IT, IE e IP disminuyen en los animales T respecto a los NT de igual sexo y dieta, especialmente a día 30 de vida, en donde el descenso oscila

entre un 30% y un 40%. Posteriormente en los grupos T del 20% de proteína estos valores se igualan al control entre los 35 y 45 días de vida, mientras que en el grupo ♀ 12% se prolonga la disminución hasta el día 40 de vida (tabla 13) y los animales ♂ 12% T permanecen menores durante toda la experiencia.

Del mismo modo, los valores de PCF y PCMF descienden en la primera etapa y posteriormente se igualan a los NT entre los días 40 y 50 de vida, manteniéndose menores en el grupo ♂ 12% T (tabla 14).

Pautas similares son seguidas por los valores de EA, VAC y VFC (tabla 15 y gráfica 8), aunque con máximos decrecimientos en los grupos del 12% T de ambos sexos respecto de sus controles, entre los días 25 y 40 de vida. Los valores llegan a hacerse negativos para incrementarse (♀) o igualarse (♂) con los animales NT a día 45 ó 50 de vida. Por su parte los animales T sometidos al 20% de proteína, en general mantienen e incluso superan los valores alcanzados por los grupos NT de la misma dieta.

La diferente evolución temporal de ambos grupos de animales NT y T (interacción ExT) es debida fundamentalmente a la respuesta bifásica a la hormona y confirma la distinta influencia que el tratamiento ejerce a lo largo del tiempo (gráficas 7 y 8).

Como podemos observar de la comparación entre las pendientes de las rectas de regresión (tabla 17), los animales del grupo ♂ 12% T presentan una menor rapidez de evolución temporal de las ingestas respecto de sus controles ♂ 12% NT; mientras que en los animales ♀ 12% T se mantienen a valor control.

Además, todos los grupos 12% T presentan menores decrementos temporales de los valores EA, VAC y VFC, lo que induce una mayor EA y más rápido crecimiento que sus respectivos controles (12% NT) (tabla 18).

Por su parte todos los animales T sometidos al 20% de proteína tienen una evolución más rápida, con ingestas IT, IE e IP que se incrementan más velozmente que las de los animales NT de la misma dieta (tabla 17). Asimismo, el grupo ♂ 20% T presenta una VAC más rápida que en los animales ♂ 20% NT, mientras que resulta superior la VFC del grupo ♀ 20% T respecto de los ♀ 20% NT (tabla 18).

Así pues, la ingesta de una dieta de bajo contenido proteico impide un crecimiento normal a los animales del grupo ♂ 12% T (tabla 14), al ingerir menores cantidades de proteína. Por el contrario la dieta de mayor nivel proteico (20%), permite un crecimiento final normal equiparable al control, a pesar de las disminuciones de todos los parámetros en las etapas iniciales del tratamiento (tabla 13), lo que señala la interacción ExTxD (tabla 16).

Por otra parte, la distinta evolución de los pesos PCF y PCMF obtenida por los animales T se debe a la influencia que sobre estos parámetros ejerce las interacciones ExD y ExT, mientras que no se aprecian efectos de la triple interacción (tabla 16).

La comparación entre las rectas de regresión correspondientes indica el contraste de efectos entre los animales NT y T respecto a la relación entre EA y VFC con el PCF, que sólo es significativa en animales NT, lo que indica su distinto mecanismo de crecimiento corporal (gráfica 9).

Tabla 13. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)** e **Ingesta Proteica Diaria (IP)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	<b>Ingesta Total Diaria (IT) (g/día)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	2,75 ± 0,22	2,81 ± 0,13	2,88 ± 0,13	2,74 ± 0,15	3,25 ± 0,12*	3,35 ± 0,23*	2,31 ± 0,09*	2,64 ± 0,12*
Día 30	3,85 ± 0,24*	3,40 ± 0,16*	2,39 ± 0,30*	2,40 ± 0,18*	3,80 ± 0,14*	3,46 ± 0,19*	2,26 ± 0,17*	2,50 ± 0,26*
Día 35	3,60 ± 0,27	3,89 ± 0,18	4,01 ± 0,32	3,81 ± 0,27	3,55 ± 0,17	3,76 ± 0,15	3,20 ± 0,31	3,82 ± 0,12
Día 40	4,18 ± 0,14*	4,68 ± 0,25*	2,98 ± 0,15*	3,49 ± 0,12*	3,38 ± 0,13	3,61 ± 0,18	3,39 ± 0,33	3,36 ± 0,28
Día 45	4,52 ± 0,26	4,94 ± 0,31*	4,07 ± 0,38	4,06 ± 0,30*	3,68 ± 0,18	3,67 ± 0,29	3,66 ± 0,32	4,32 ± 0,32
Día 50	3,97 ± 0,24	4,88 ± 0,41*	4,01 ± 0,23	3,95 ± 0,46*	3,50 ± 0,33*	3,98 ± 0,24	4,48 ± 0,18*	4,46 ± 0,20

	<b>Ingesta Energética Diaria (IE) (kJ/día)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	42,2 ± 3,3	43,2 ± 2,0	44,3 ± 1,9	42,1 ± 2,2	50,3 ± 1,8*	51,8 ± 3,5*	35,7 ± 1,4*	40,9 ± 1,8*
Día 30	59,3 ± 3,6*	52,6 ± 2,4*	36,7 ± 4,6*	36,9 ± 2,7*	58,8 ± 2,1*	53,3 ± 3,0*	35,0 ± 2,6*	38,7 ± 4,0*
Día 35	55,3 ± 4,1	59,8 ± 2,8	61,6 ± 4,9	58,6 ± 4,1	54,9 ± 2,5	58,3 ± 2,3	49,5 ± 4,7	59,1 ± 1,8
Día 40	64,3 ± 2,2*	71,9 ± 3,8*	45,8 ± 2,3*	53,7 ± 1,8*	52,3 ± 2,0	55,8 ± 2,7	52,4 ± 5,0	52,0 ± 4,3
Día 45	69,6 ± 4,0	76,0 ± 4,8*	62,7 ± 5,8	62,5 ± 4,6*	57,0 ± 2,8	56,7 ± 4,5	56,6 ± 5,0	66,9 ± 4,9
Día 50	61,1 ± 3,7	75,1 ± 6,2*	61,7 ± 3,5	60,7 ± 7,0*	54,2 ± 5,1*	61,6 ± 3,6	69,4 ± 2,7*	69,0 ± 3,1

	<b>Ingesta Proteica Diaria (IP) (g/día)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,329 ± 0,026	0,337 ± 0,016	0,345 ± 0,015	0,328 ± 0,018	0,649 ± 0,023	0,670 ± 0,046	0,461 ± 0,018	0,528 ± 0,024
Día 30	0,462 ± 0,028*	0,408 ± 0,019*	0,286 ± 0,036*	0,288 ± 0,021*	0,760 ± 0,027*	0,692 ± 0,039*	0,452 ± 0,034*	0,500 ± 0,052*
Día 35	0,431 ± 0,032	0,466 ± 0,022	0,481 ± 0,039	0,457 ± 0,032	0,710 ± 0,033	0,752 ± 0,031	0,639 ± 0,061	0,764 ± 0,024
Día 40	0,502 ± 0,017*	0,561 ± 0,030*	0,357 ± 0,018*	0,419 ± 0,014*	0,676 ± 0,026	0,721 ± 0,035	0,677 ± 0,065	0,672 ± 0,056
Día 45	0,542 ± 0,031	0,592 ± 0,038*	0,488 ± 0,045	0,487 ± 0,037*	0,736 ± 0,036	0,733 ± 0,058	0,731 ± 0,065	0,864 ± 0,064
Día 50	0,474 ± 0,029	0,585 ± 0,049	0,481 ± 0,027	0,474 ± 0,055	0,700 ± 0,066*	0,796 ± 0,047*	0,896 ± 0,036*	0,891 ± 0,040*

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo (LSD).

**Gráfica 7.** Evolución temporal de la Ingesta Total Diaria (IT) (a), Ingesta Energética Diaria (IE) (b) e Ingesta Proteica Diaria (IP) (c) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

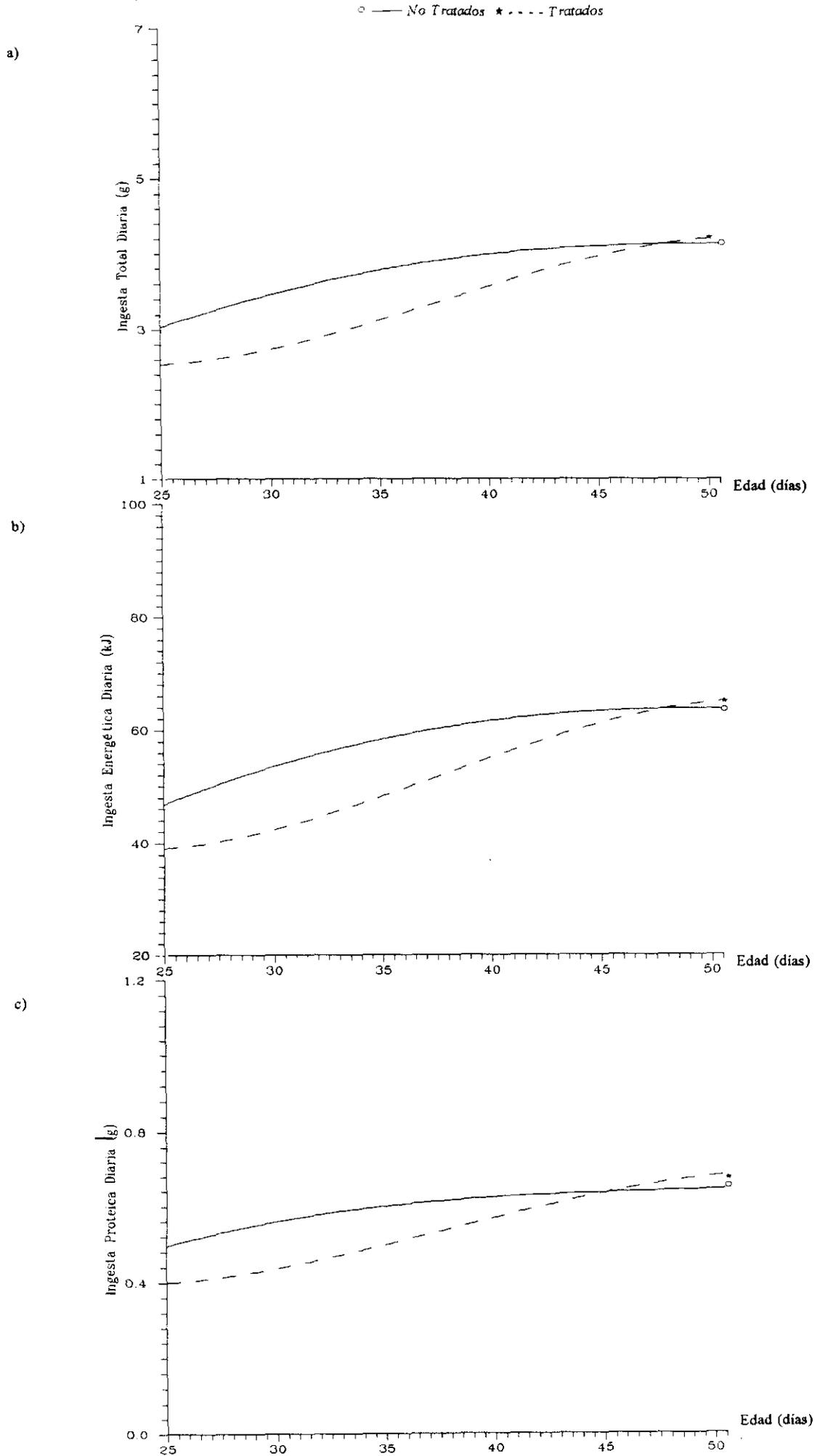


Tabla 14. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Peso Corporal Final (PCF)** y de **Peso Corporal Magro Final (PCMF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rHG, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	<b>Peso Corporal Final (PCF) (g)</b>									
	12%		12%		20%		20%		T	
	NT		T		NT		T		NT	T
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	11,1 ± 0,2	12,7 ± 0,4*	11,9 ± 0,4	11,4 ± 0,4*	13,0 ± 0,5*	13,1 ± 0,4	11,3 ± 0,4*	12,1 ± 0,1		
Día 30	16,3 ± 0,4*	14,6 ± 0,4*	11,8 ± 0,4*	11,7 ± 0,4*	15,5 ± 0,5*	13,0 ± 0,4	11,2 ± 0,5*	12,0 ± 0,4		
Día 35	14,9 ± 0,2	15,6 ± 0,5*	14,1 ± 0,4	13,0 ± 0,4*	15,5 ± 0,3*	15,2 ± 0,6*	12,7 ± 0,5*	13,8 ± 0,3*		
Día 40	16,2 ± 0,4*	15,9 ± 0,4	13,3 ± 0,4*	14,6 ± 0,5	17,9 ± 0,6*	16,4 ± 0,6	15,3 ± 0,5*	15,8 ± 0,5		
Día 45	16,9 ± 0,7*	16,0 ± 0,5	14,0 ± 0,5*	15,2 ± 0,3	18,4 ± 0,5	18,3 ± 0,7	16,7 ± 0,9	18,3 ± 0,7		
Día 50	17,1 ± 0,5	18,6 ± 0,7*	17,0 ± 0,6	15,6 ± 0,5*	20,5 ± 0,5	18,8 ± 1,9	20,1 ± 0,6	20,4 ± 1,0		

	<b>Peso Corporal Magro Final (PCMF) (g)</b>									
	12%		12%		20%		20%		T	
	NT		T		NT		T		NT	T
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	10,3 ± 0,2	11,9 ± 0,4	11,3 ± 0,3	10,9 ± 0,4	12,0 ± 0,5*	12,3 ± 0,4	10,6 ± 0,4*	11,5 ± 0,1		
Día 30	14,8 ± 0,3*	13,8 ± 0,3*	10,9 ± 0,3*	11,1 ± 0,3*	13,9 ± 0,5*	12,2 ± 0,4	10,3 ± 0,4*	11,5 ± 0,4		
Día 35	13,8 ± 0,2	14,8 ± 0,5*	13,2 ± 0,3	12,2 ± 0,3*	14,3 ± 0,2*	14,3 ± 0,5*	11,7 ± 0,5*	13,1 ± 0,3*		
Día 40	14,9 ± 0,3*	14,6 ± 0,4	12,5 ± 0,4*	13,6 ± 0,4	16,2 ± 0,5*	15,2 ± 0,6	14,5 ± 0,5*	14,9 ± 0,5		
Día 45	15,3 ± 0,6*	14,7 ± 0,5	12,9 ± 0,4*	14,0 ± 0,2	16,8 ± 0,5	17,4 ± 0,7	15,6 ± 0,9	17,2 ± 0,7		
Día 50	15,8 ± 0,5	17,2 ± 0,7*	15,5 ± 0,5	14,6 ± 0,5*	18,1 ± 0,4	17,0 ± 1,8	18,4 ± 0,5	18,6 ± 0,8		

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo (LSD).

Tabla 15. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	<b>Eficacia Alimentaria Diaria (EA) (g/g/día)</b>									
	12%					20%				
	NT		T		NT		T		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,123 ± 0,013	0,177 ± 0,017*	0,103 ± 0,018	0,077 ± 0,024*	0,115 ± 0,011	0,143 ± 0,009*	0,107 ± 0,013	0,087 ± 0,019*		
Día 30	0,102 ± 0,012*	0,064 ± 0,020	-0,001 ± 0,026*	0,047 ± 0,025	0,079 ± 0,020	0,046 ± 0,010	0,095 ± 0,023	0,031 ± 0,022		
Día 35	0,015 ± 0,015	0,052 ± 0,013*	0,016 ± 0,009	-0,009 ± 0,022*	0,057 ± 0,013	0,031 ± 0,022	0,040 ± 0,016	0,025 ± 0,005		
Día 40	0,044 ± 0,007	0,058 ± 0,008*	0,033 ± 0,023	0,002 ± 0,013*	0,074 ± 0,008	0,054 ± 0,007	0,066 ± 0,010	0,072 ± 0,020		
Día 45	0,050 ± 0,017	0,019 ± 0,011*	0,030 ± 0,011	0,066 ± 0,014*	0,036 ± 0,016*	0,060 ± 0,009	0,081 ± 0,010*	0,072 ± 0,010		
Día 50	0,014 ± 0,009*	0,024 ± 0,021	0,078 ± 0,013*	0,041 ± 0,011	0,073 ± 0,012	0,096 ± 0,026	0,045 ± 0,011	0,079 ± 0,003		

	<b>Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC) (g/día)</b>									
	12%					20%				
	NT		T		NT		T		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,340 ± 0,050	0,496 ± 0,046	0,294 ± 0,049	0,208 ± 0,060	0,376 ± 0,039	0,476 ± 0,033*	0,248 ± 0,035	0,228 ± 0,047*		
Día 30	0,404 ± 0,065*	0,220 ± 0,068	0,027 ± 0,059*	0,098 ± 0,050	0,296 ± 0,074	0,156 ± 0,035	0,218 ± 0,056	0,068 ± 0,042		
Día 35	0,060 ± 0,058	0,204 ± 0,052*	0,075 ± 0,038	-0,014 ± 0,067*	0,204 ± 0,047	0,120 ± 0,068	0,143 ± 0,064	0,096 ± 0,022		
Día 40	0,184 ± 0,028	0,272 ± 0,038*	0,106 ± 0,070	0,009 ± 0,047*	0,252 ± 0,032	0,200 ± 0,036	0,222 ± 0,038	0,242 ± 0,071		
Día 45	0,224 ± 0,077	0,084 ± 0,048*	0,137 ± 0,047	0,255 ± 0,035*	0,132 ± 0,057*	0,212 ± 0,024	0,299 ± 0,044*	0,300 ± 0,029		
Día 50	0,056 ± 0,032*	0,104 ± 0,078	0,313 ± 0,050*	0,175 ± 0,060	0,252 ± 0,042	0,368 ± 0,069	0,202 ± 0,054	0,353 ± 0,007		

	<b>Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC) (%/día)</b>									
	12%					20%				
	NT		T		NT		T		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	19,1 ± 2,6	25,8 ± 2,1*	14,5 ± 2,4	10,4 ± 2,9*	16,9 ± 1,9	23,0 ± 1,8*	13,1 ± 1,6	11,1 ± 2,3*		
Día 30	14,2 ± 2,4*	8,4 ± 2,7	1,1 ± 3,1*	4,3 ± 2,2	11,2 ± 3,0	6,2 ± 1,4	10,3 ± 2,3	2,9 ± 1,9		
Día 35	2,2 ± 2,1	7,2 ± 2,1*	2,8 ± 1,3	-0,7 ± 2,7*	7,1 ± 1,5	4,0 ± 3,2	5,8 ± 2,6	3,6 ± 0,8		
Día 40	6,2 ± 1,1	9,4 ± 1,3*	4,1 ± 2,7	0,3 ± 1,6*	7,8 ± 1,1	6,7 ± 0,9	8,1 ± 1,6	8,5 ± 2,5		
Día 45	7,3 ± 2,2	2,6 ± 1,5*	4,9 ± 1,7	9,2 ± 1,4*	3,9 ± 1,7*	6,3 ± 0,8	9,8 ± 1,5*	9,4 ± 1,4		
Día 50	1,6 ± 0,9*	3,1 ± 3,1	9,9 ± 1,3*	5,6 ± 1,9	6,9 ± 1,5	10,4 ± 2,7	5,5 ± 1,5	10,8 ± 0,5		

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo (LSD).

**Gráfica 8.** Evolución temporal de la **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)** (a), **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** (b) y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** (c) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

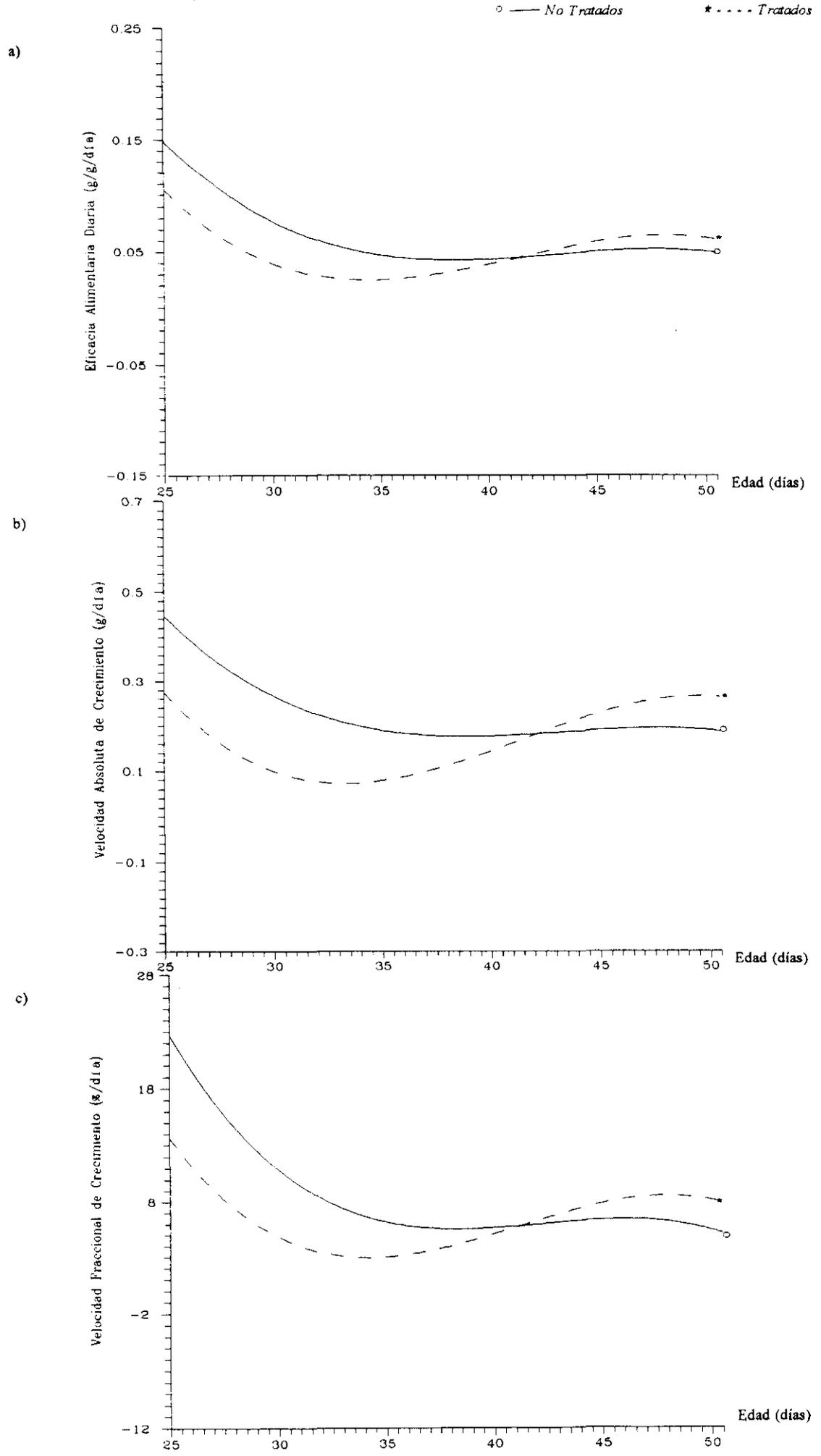


Tabla 16. Influencia de la EDAD, el TRATAMIENTO, la DIETA y sus interacciones sobre **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)**, **Ingesta Proteica Diaria (IP)**, **Peso Corporal Final (PCF)**, **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	IT	IE	IP	PCF	PCMF	EA	VAC	VFC
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
T	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,006	0,0001	0,001
D	0,004	0,004	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,017
ExT	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,0001	0,001	0,0001	0,0001
ExD	NS	NS	NS	0,0001	0,0001	NS	NS	NS
TxD	0,016	0,016	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ExTxD	0,0001	0,0001	0,011	NS	NS	0,010	0,011	0,047

\* NS (No Significativo,  $p > 0,05$ )

Tabla 17. Pendientes de las ecuaciones lineales versus tiempo de los valores de **Ingesta Total Diaria (IT)**, **Ingesta Energética Diaria (IE)** e **Ingesta Proteica Diaria (IP)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		NT		T		NT		T	
		pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.
IT	♀	0,0498	0,0129	0,0553	0,0157	0,0042	0,0093*	0,0871	0,0119*
	♂	0,0900	0,0125*	0,0613	0,0141*	0,0206	0,0099*	0,0803	0,0124*
IE	♀	0,767	0,199	0,851	0,242	0,065	0,145*	1,350	0,184*
	♂	1,386	0,192*	0,943	0,218*	0,320	0,153*	1,243	0,192*
IP	♀	0,0059	0,0015	0,0066	0,0018	0,0008	0,0018*	0,0174	0,0023*
	♂	0,0108	0,0015*	0,0073	0,0017*	0,0041	0,0019*	0,0160	0,0024*

pendiente: pendiente de la recta de regresión entre el tiempo y cada una de las variables especificadas.

e.p. : error estándar de la pendiente media del grupo.

\* : indica diferencias significativas entre las pendientes de los dos tratamientos (NT y T) para una misma dieta y un mismo sexo (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 18. Pendientes de las ecuaciones lineales versus tiempo de los valores de **Peso Corporal Final (PCF)**, **Peso Corporal Magro Final (PCMF)**, **Eficacia Alimentaria Diaria (EA)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento (VAC)** y **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		NT		T		NT		T	
		pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.
PCF	♀	0,190	0,034	0,176	0,027	0,278	0,026*	0,363	0,034*
	♂	0,193	0,027	0,189	0,021	0,260	0,043*	0,357	0,031*
PCMF	♀	0,171	0,030	0,149	0,025	0,232	0,021*	0,328	0,031*
	♂	0,164	0,027	0,164	0,019	0,226	0,042*	0,310	0,028*
EA	♀	-0,00384	0,00078*	-0,00007	0,00121*	-0,00183	0,00073	-0,00186	0,00076
	♂	-0,00511	0,00096*	-0,00065	0,00108*	-0,00096	0,00107	0,00074	0,00084
VAC	♀	-0,0104	0,0031*	0,0026	0,0033*	-0,0060	0,0025	0,0005	0,0024
	♂	-0,0131	0,0033*	0,0018	0,0032*	-0,0016	0,0036*	0,0084	0,0024*
VFC	♀	-0,598	0,120*	-0,058	0,140*	-0,407	0,097*	-0,213	0,093*
	♂	-0,734	0,140*	-0,047	0,132*	-0,341	0,153	0,131	0,102

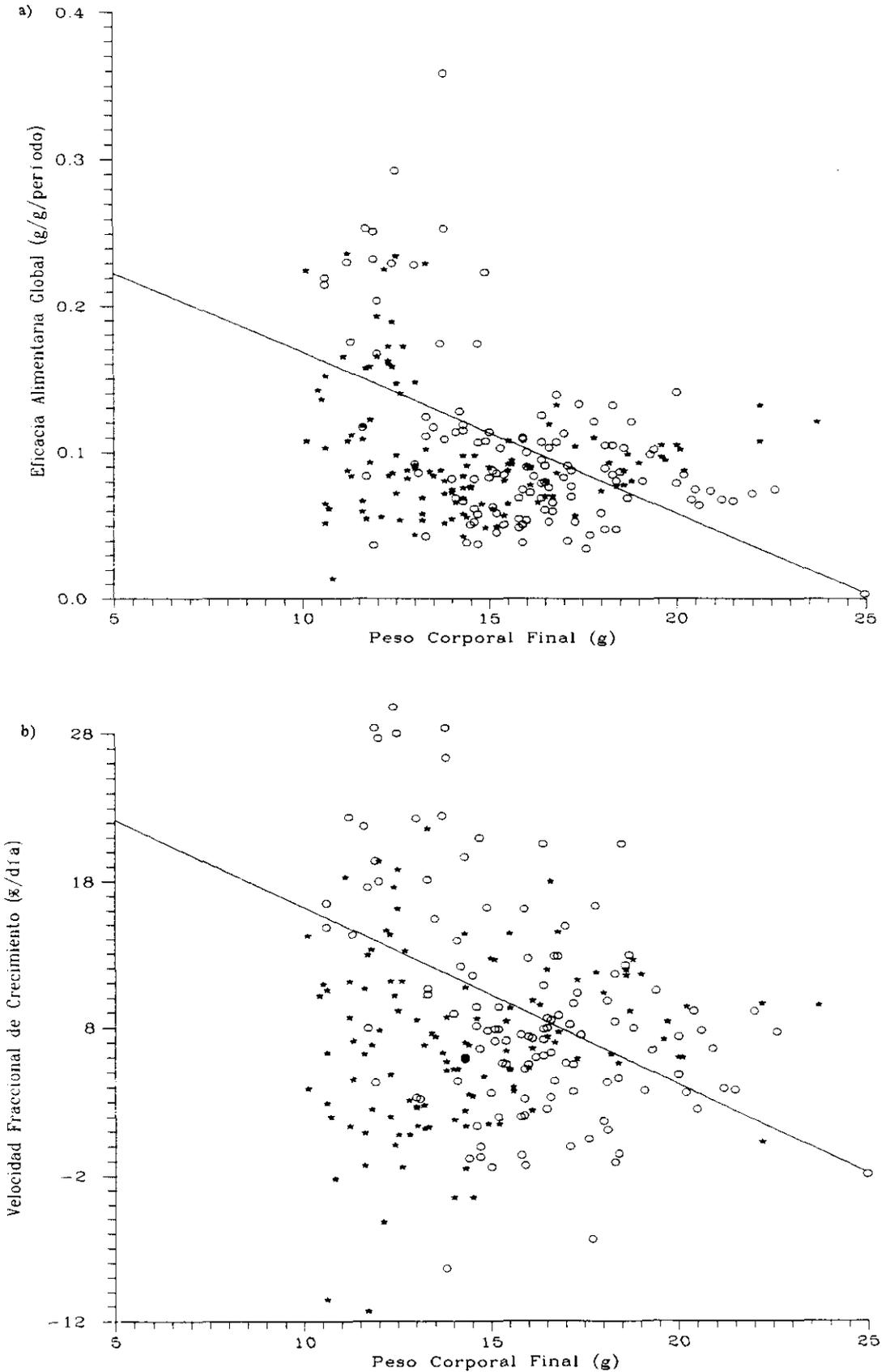
pendiente: pendiente de la recta de regresión entre el tiempo y cada una de las variables especificadas.

e.p. : error estándar de la pendiente media del grupo.

\* : indica diferencias significativas entre las pendientes de los dos tratamientos (NT y T) para una misma dieta y un mismo sexo (según análisis *Dummy Variables*).

**Gráfica 9.** Relación de la **Eficacia Alimentaria Global (EAG)** (a) y la **Velocidad Fraccional de Crecimiento (VFC)** (b) con el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	EAG (a)	VFC (b)
○ — <i>No Tratados</i>	$0,277 - PCF \cdot 0,0109 \pm 0,0018$	$0,281 - PCF \cdot 0,0120 \pm 0,0024$
★ - - - <i>Tratados</i>	NS	NS



## 4.2. COMPOSICIÓN CORPORAL

4.2.1 INFLUENCIA DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PESO VACÍO: VALORES PORCENTUALES O RELATIVOS (R) Y VALORES ABSOLUTOS (A) DE **Humedad (HR)** y (**HA**), **Grasa (GR)** y (**GA**), **Proteína (PR)** y (**PA**), **Cenizas (CR)** y (**CA**); SOBRE LOS PARÁMETROS: **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)**, **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)**, **Velocidad de Acreción Proteica Global (VAPG)**, **Velocidad de Acreción Grasa Global (VAGG)**. Y SOBRE LAS RELACIONES: **Proteína/Cenizas (P/C)**, **Proteína/Humedad (P/H)**, **Grasa/Humedad (G/H)** y **Grasa/Proteína (G/P)** EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON rhGH (*estudiados independientemente*), DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% Y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 19-42)

(Gráficas 10-17)

La EDAD afecta muy significativamente a todos los parámetros en estudio de los animales *No Tratados* (NT) (tablas 25 y 26) y de los animales *Tratados* (T) (tablas 37 y 38), según el análisis de la varianza.

A lo largo del estudio tanto los animales NT (tabla 19) como los T (tabla 31), experimentan un descenso de los valores porcentuales de humedad (HR) y de

proteína (PR) que determina correlaciones temporales negativas y significativas en todos los animales, a excepción del grupo ♀ 12% NT, en el que ambos valores no presentan significación y del grupo ♂ 20% NT cuyo HR tampoco es edad dependiente (tablas 27 y 39).

Por el contrario, los valores absolutos de estos parámetros (humedad absoluta y proteína absoluta) (tablas 20 y 32), se incrementan con la edad de forma paulatina dando lugar a altos coeficientes de correlación temporal en todos los animales estudiados, en especial en los sometidos al 20% de proteína (tablas 27 y 39).

Los depósitos de humedad y proteína parecen ser proporcionales entre sí, puesto que la razón proteína/humedad presenta mínimas modificaciones, con un ligero aumento en los grupos ♂ 12% NT y ♂ 12% T (tablas 24 y 36). Sólo el grupo ♂ 12% NT presenta correlación temporal significativa (tabla 30).

El depósito de proteína del peso vacío se verifica con una velocidad de acreción proteica global que descende en función de la edad en todos los animales estudiados (NT: tablas 21 y 28; T: tablas 33 y 40) a excepción del grupo ♀ 20% NT y de los grupos ♀ y ♂ 20% T en los que permanece estable y en consecuencia resultan edad-independientes (tablas 28 y 40), lo que hace que estos animales presenten los mayores incrementos proteicos corporales globales durante la experiencia (tablas 20 y 32).

No obstante, en los animales T del 20% de proteína se observa una evolución bifásica de las tasas de crecimiento con un brusco descenso entre los 25-35 días de vida, seguido de un aumento paulatino entre los 40-50 días (tabla 33).

Por su parte, los valores absolutos y porcentuales de grasa, el incremento graso corporal (tablas 22 y 34) y las cenizas absolutas y relativas (tablas 23 y 35)

ascienden a lo largo del período experimental en todos los animales NT y T, a excepción del valor relativo de cenizas que no aumenta ni en las hembras del 12% y del 20% NT ni en hembras y machos del 20%T.

Se evidencia la evolución bifásica en los valores de INGCG de los animales T, ya que el ascenso se verifica entre los 35 y 50 días de vida (tabla 34).

Todos estos parámetros presentan en general altas correlaciones temporales a excepción de los grupos ♀ 12% NT y ♂ 20% NT cuya GR no cambia significativamente (tablas 28 y 40), así como en las hembras 12% y 20% NT y los grupos del 20% T, cuyo CR no se modifica (tablas 29 y 41).

La velocidad de acreción grasa, por su parte, desciende en todos los animales NT excepto en el grupo ♀ 20% NT, en el que no se modifica (tabla 21) y es independiente de la edad (tabla 28).

Su evolución bifásica es muy clara en los animales T (tabla 33), con descensos en la primera etapa y aumentos en la segunda que sobrepasan el nivel inicial (grupos 20% T) o no lo alcanzan (♀ 12% T). La VAGG del grupo ♂ 12% T no se modifica.

El gran incremento temporal de la grasa en relación a la humedad y a la proteína, determina un aumento significativo de las razones G/H y G/P (tablas 24 y 36) que es edad-dependiente en todos los animales, a excepción de los grupos ♀ 12% NT y ♂ 20% NT en los que no resulta correlativa con el tiempo (tablas 30 y 42).

Por el contrario la razón proteína/cenizas decrece con la edad (tablas 23 y 35), presentando correlaciones temporales negativas en todos los grupos estudiados, a excepción de los animales hembras del 12% y 20% NT, además del grupo ♀ 20% T en los que la correlación temporal de la razón no es significativa (tablas 29 y 41).

La DIETA afecta significativamente a todas las variables de composición corporal a excepción de los valores de HR, GR (tabla 25) y de las razones G/H y G/P (tabla 26) en los animales NT; y de los valores de HR, GR, GA, INGCG, VAGG (tabla 37) y de las razones P/H y G/H (tabla 38) en los animales T, según el ANOVA trifactorial, aún cuando sí resultan significativos con carácter puntual mediante el análisis de comparación LSD.

Mediante el análisis de comparación múltiple LSD se observa que a partir del día 40 de vida la dieta de mayor nivel proteico origina un aumento de las variables proteína absoluta, incremento proteico corporal (tablas 20 y 32) y velocidad de acreción proteica (tablas 21 y 33) de todos los animales en estudio, NT y T, así como en la humedad absoluta (tabla 32) de los animales T. Incrementos más puntuales se obtienen con ambos grupos de animales (NT y T) en los valores de humedad y proteína relativa (PR) (tablas 19 y 31) así como en HA y GA de los animales NT (tablas 20 y 22), siempre en relación con los grupos de menor nivel proteico.

La mayor velocidad de crecimiento de la grasa la presenta el grupo ♀ 20% NT (tabla 21) y consiguientemente los más altos valores de GA, GR e INGCG (tabla 22) respecto del grupo ♀ 12% NT.

Destaca la caída a lo largo de la experiencia del porcentaje de grasa del grupo ♂ 20% T respecto del grupo ♂ 12% T que se invierte a día 50 de vida y que se acompaña de incrementos simultáneos en la VAGG y en el INGCG (tablas 33 y 34).

También la dieta del 20% de proteína induce un descenso de cenizas relativas en los animales NT (tabla 23), mientras que el valor de las razones P/H y P/C tienden a elevarse respecto a los del 12% de proteína (tablas 23 y 24).

Por otra parte y de acuerdo con el ANOVA de tres factores el SEXO influye sobre todos los parámetros en estudio a excepción de PA, INPCG, VAPG, CR, CA y la razón P/H de los animales NT (tablas 25 y 26), mientras que en los T (tablas 37 y 38) resultan no influidos por este factor los valores de INGCG, VAGG, CR y CA y las razones P/C y P/H.

En general los animales machos NT y T de ambas dietas presentan, respecto a las hembras respectivas, incrementos de los valores relativos de humedad y proteínas (tablas 19 y 31) y aumentos puntuales en los valores absolutos de estos parámetros (HA y PA) (tablas 20 y 32). Ello se corresponde con una mayor VAPG inicial de los animales ♂ NT de ambas dietas (tabla 21) que facilita la elevación del incremento proteico corporal global, especialmente en los animales sometidos al 12% de proteína dietaria (tabla 20). Por el contrario estos valores tienden a ser menores en los animales ♂ T respecto a los ♀ T (tablas 32 y 33).

Sin embargo, los animales machos NT de ambas dietas presentan, los valores absoluto y relativo de la grasa, el INGCG (tabla 22) y la VAGG (tabla 21), así como las razones G/H y G/P (tabla 24) disminuidos significativamente a lo largo del experimento. Los cambios son menos importantes en los T, donde sólo hay diferencias puntuales de distinto signo (tablas 33, 34 y 36).

De la observación de las pendientes de regresión temporal se deduce que la velocidad de crecimiento de las variables estudiadas están afectadas fundamentalmente por la dieta en los animales NT y T, presentando en general los grupos sometidos al 20% de proteína dietaria las mayores velocidades de crecimiento. Así, el mayor nivel proteico de la dieta afecta positivamente a las variables HA, PA, INPCG (tablas 27 y 39), VAPG (sólo en NT), GR, GA, INGCG, VAGG (tablas 28 y 40), CA (tablas

29 y 41) y las relaciones P/H, G/H y G/P (tablas 30 y 42) en relación a los grupos alimentados con el 12% de proteína en uno o en ambos sexos. Por el contrario, la tasa de la variable CR resulta más alta en los grupos de menor nivel proteico dietario respecto a los del 20% (tablas 29 y 41).

La influencia del sexo es distinta dentro de cada nivel dietario. El grupo ♂ 12% NT tiene mayor tasa de GR (tabla 28), CR, CA y relaciones P/C (tabla 29), G/H y G/P que el grupo ♀ 12% (tabla 30), mientras que es más rápido el crecimiento de GA e INGCG del grupo ♀ 20% respecto a los ♂ 20% (tabla 28).

En los animales T, por otro lado, el grupo ♂ 20% presenta menor tasa en las variables HR, PR, HA, PA (tabla 39) y mayor velocidad en los componentes GR, G/H y G/P que el sexo opuesto (♀) (tablas 40 y 42).

Estas modificaciones se corresponden con la influencia que presentan las interacciones ExD, ExS y ExDxS (ANOVA trifactorial, tablas 25, 26, 37 y 38) de los cuales la primera resulta la más significativa. Los parámetros menos afectados son CA y CR y las relaciones P/H y P/C que resultan no significativas para cualquiera de las interacciones en todos los animales estudiados.

Tabla 19. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Humedad Relativa (HR)** y de **Proteína Relativa (PR)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Humedad Relativa (HR) (%)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	61,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	62,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	60,3 ± 0,7 <sup>a+</sup>	62,5 ± 0,4 <sup>a+</sup>
Día 30	56,7 ± 0,5 <sup>b+</sup>	62,6 ± 0,4 <sup>a+</sup>	55,9 ± 0,3 <sup>b+</sup>	62,1 ± 0,2 <sup>a+</sup>
Día 35	59,0 ± 0,1 <sup>o+</sup>	62,4 ± 0,5 <sup>a+</sup>	59,4 ± 1,1 <sup>ac+</sup>	63,0 ± 0,4 <sup>ac+</sup>
Día 40	59,0 ± 0,6 <sup>c*</sup>	59,3 ± 0,4 <sup>b</sup>	56,4 ± 0,5 <sup>b+*</sup>	60,0 ± 0,5 <sup>b+</sup>
Día 45	56,3 ± 0,4 <sup>b+*</sup>	59,1 ± 0,5 <sup>b+*</sup>	58,4 ± 0,8 <sup>c+*</sup>	64,1 ± 0,7 <sup>c+*</sup>
Día 50	59,1 ± 0,4 <sup>c*</sup>	60,1 ± 0,8 <sup>b*</sup>	53,7 ± 1,2 <sup>d+*</sup>	58,3 ± 0,5 <sup>b+*</sup>

	Proteína Relativa (PR) (%)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	20,9 ± 0,27 <sup>a+</sup>	21,7 ± 0,23 <sup>a+*</sup>	21,4 ± 0,18 <sup>a+</sup>	22,4 ± 0,10 <sup>a+*</sup>
Día 30	19,3 ± 0,32 <sup>bd+*</sup>	21,8 ± 0,25 <sup>a+</sup>	20,1 ± 0,07 <sup>bc+*</sup>	21,7 ± 0,22 <sup>bc+</sup>
Día 35	20,1 ± 0,23 <sup>cd+*</sup>	21,3 ± 0,33 <sup>a+</sup>	20,8 ± 0,10 <sup>ac+*</sup>	21,7 ± 0,09 <sup>bc+</sup>
Día 40	20,1 ± 0,25 <sup>cd</sup>	20,5 ± 0,12 <sup>b*</sup>	20,2 ± 0,24 <sup>c+</sup>	21,2 ± 0,21 <sup>c+*</sup>
Día 45	19,1 ± 0,22 <sup>b*</sup>	19,8 ± 0,22 <sup>c*</sup>	20,5 ± 0,27 <sup>c+*</sup>	22,0 ± 0,25 <sup>ab+*</sup>
Día 50	19,8 ± 0,26 <sup>cd</sup>	20,1 ± 0,28 <sup>bc</sup>	19,2 ± 0,38 <sup>d+</sup>	20,4 ± 0,18 <sup>d+</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

Tabla 20. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)** e **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Humedad Absoluta (HA) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	4,76 ± 0,83 <sup>a+</sup>	5,37 ± 0,32 <sup>a+</sup>	5,25 ± 0,14 <sup>a+</sup>	5,83 ± 0,29 <sup>a+</sup>
Día 30	6,27 ± 0,15 <sup>b</sup>	6,09 ± 0,09 <sup>ab</sup>	6,03 ± 0,16 <sup>b</sup>	5,79 ± 0,20 <sup>a</sup>
Día 35	6,05 ± 0,20 <sup>b</sup>	6,33 ± 0,26 <sup>b</sup>	6,45 ± 0,10 <sup>bc</sup>	6,78 ± 0,27 <sup>b</sup>
Día 40	6,40 ± 0,16 <sup>bc</sup>	6,26 ± 0,18 <sup>b</sup>	6,96 ± 0,20 <sup>c</sup>	6,78 ± 0,28 <sup>b</sup>
Día 45	6,22 ± 0,23 <sup>b*</sup>	6,36 ± 0,16 <sup>b*</sup>	7,69 ± 0,28 <sup>d*</sup>	8,33 ± 0,43 <sup>c*</sup>
Día 50	6,99 ± 0,30 <sup>c*</sup>	7,65 ± 0,39 <sup>c</sup>	7,91 ± 0,22 <sup>d*</sup>	8,29 ± 0,27 <sup>c</sup>

	Proteína Absoluta (PA) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	1,62 ± 0,02 <sup>a**</sup>	1,87 ± 0,11 <sup>a+</sup>	1,86 ± 0,06 <sup>a**</sup>	2,09 ± 0,11 <sup>a+</sup>
Día 30	2,13 ± 0,04 <sup>bc</sup>	2,12 ± 0,02 <sup>ab</sup>	2,16 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,02 ± 0,07 <sup>a</sup>
Día 35	2,06 ± 0,07 <sup>b</sup>	2,16 ± 0,08 <sup>b</sup>	2,27 ± 0,05 <sup>b</sup>	2,33 ± 0,10 <sup>b</sup>
Día 40	2,17 ± 0,05 <sup>bc*</sup>	2,17 ± 0,06 <sup>b*</sup>	2,50 ± 0,09 <sup>c*</sup>	2,40 ± 0,10 <sup>b*</sup>
Día 45	2,12 ± 0,10 <sup>b*</sup>	2,13 ± 0,08 <sup>ab*</sup>	2,70 ± 0,10 <sup>cd*</sup>	2,87 ± 0,16 <sup>c*</sup>
Día 50	2,35 ± 0,12 <sup>c*</sup>	2,56 ± 0,14 <sup>c*</sup>	2,84 ± 0,08 <sup>d*</sup>	2,90 ± 0,10 <sup>c*</sup>

	Incremento Proteico Corporal Global (INPCG) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,255 ± 0,017 <sup>a+</sup>	0,391 ± 0,018 <sup>a**</sup>	0,233 ± 0,055 <sup>a+</sup>	0,349 ± 0,010 <sup>a**</sup>
Día 30	0,370 ± 0,032 <sup>b*</sup>	0,295 ± 0,047 <sup>b*</sup>	0,515 ± 0,021 <sup>b**</sup>	0,409 ± 0,035 <sup>b**</sup>
Día 35	0,318 ± 0,020 <sup>b**</sup>	0,434 ± 0,041 <sup>a**</sup>	0,659 ± 0,059 <sup>c**</sup>	0,546 ± 0,026 <sup>c**</sup>
Día 40	0,469 ± 0,036 <sup>c**</sup>	0,571 ± 0,062 <sup>c**</sup>	0,945 ± 0,110 <sup>d**</sup>	0,781 ± 0,055 <sup>ci*</sup>
Día 45	0,587 ± 0,034 <sup>d*</sup>	0,576 ± 0,094 <sup>c*</sup>	0,991 ± 0,025 <sup>d*</sup>	0,934 ± 0,066 <sup>c*</sup>
Día 50	0,632 ± 0,045 <sup>d**</sup>	0,796 ± 0,079 <sup>d**</sup>	1,045 ± 0,076 <sup>d*</sup>	0,982 ± 0,133 <sup>c*</sup>

(n=5, x ± error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos p<0,05 (LSD).

Tabla 21. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG)** y **Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteina dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	<b>Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG) (g/día)</b>			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,051 ± 0,003 <sup>a+</sup>	0,078 ± 0,003 <sup>a+*</sup>	0,046 ± 0,011 <sup>ab+</sup>	0,070 ± 0,002 <sup>a+*</sup>
Día 30	0,037 ± 0,003 <sup>b+*</sup>	0,029 ± 0,004 <sup>b+*</sup>	0,051 ± 0,002 <sup>b+*</sup>	0,041 ± 0,003 <sup>b+*</sup>
Día 35	0,021 ± 0,001 <sup>c+*</sup>	0,029 ± 0,002 <sup>b+*</sup>	0,044 ± 0,003 <sup>ab+*</sup>	0,036 ± 0,002 <sup>b+*</sup>
Día 40	0,023 ± 0,002 <sup>c*</sup>	0,028 ± 0,003 <sup>b*</sup>	0,047 ± 0,005 <sup>ab+*</sup>	0,039 ± 0,002 <sup>b+*</sup>
Día 45	0,023 ± 0,001 <sup>c*</sup>	0,023 ± 0,003 <sup>b*</sup>	0,039 ± 0,001 <sup>ab*</sup>	0,037 ± 0,002 <sup>b*</sup>
Día 50	0,021 ± 0,001 <sup>c+*</sup>	0,026 ± 0,002 <sup>b+</sup>	0,034 ± 0,002 <sup>a*</sup>	0,032 ± 0,004 <sup>b*</sup>

	<b>Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG) (g/día)</b>			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,060 ± 0,004 <sup>a+</sup>	0,069 ± 0,004 <sup>a+*</sup>	0,062 ± 0,016 <sup>a+</sup>	0,048 ± 0,001 <sup>a+*</sup>
Día 30	0,058 ± 0,005 <sup>a+*</sup>	0,029 ± 0,004 <sup>b+</sup>	0,077 ± 0,003 <sup>a+*</sup>	0,028 ± 0,002 <sup>b+</sup>
Día 35	0,031 ± 0,002 <sup>b*</sup>	0,029 ± 0,002 <sup>b*</sup>	0,063 ± 0,005 <sup>a+*</sup>	0,025 ± 0,001 <sup>b+*</sup>
Día 40	0,035 ± 0,002 <sup>b+*</sup>	0,029 ± 0,003 <sup>b+</sup>	0,074 ± 0,008 <sup>a+*</sup>	0,027 ± 0,002 <sup>b+</sup>
Día 45	0,036 ± 0,002 <sup>b+*</sup>	0,023 ± 0,003 <sup>b+</sup>	0,064 ± 0,003 <sup>a+*</sup>	0,027 ± 0,002 <sup>b+</sup>
Día 50	0,032 ± 0,002 <sup>b*</sup>	0,029 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,063 ± 0,002 <sup>a+*</sup>	0,024 ± 0,003 <sup>b+</sup>

(n=5, x ± error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos p<0,05 (LSD).

Tabla 22. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Grasa Relativa (GR)**, **Grasa Absoluta (GA)** e **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Grasa Relativa (GR) (%)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	13,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	11,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	14,0 ± 0,9 <sup>a+</sup>	11,2 ± 0,5 <sup>a+</sup>
Día 30	18,8 ± 0,7 <sup>b+</sup>	11,1 ± 0,5 <sup>a+</sup>	19,8 ± 0,3 <sup>b+</sup>	11,7 ± 0,3 <sup>a+</sup>
Día 35	15,8 ± 0,2 <sup>c+</sup>	11,3 ± 0,7 <sup>a+</sup>	15,3 ± 1,4 <sup>ac+</sup>	10,6 ± 0,6 <sup>ac+</sup>
Día 40	15,7 ± 0,8 <sup>c*</sup>	15,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	19,2 ± 0,7 <sup>b+*</sup>	14,5 ± 0,6 <sup>b+</sup>
Día 45	19,3 ± 0,6 <sup>b+*</sup>	15,6 ± 0,7 <sup>b+*</sup>	16,6 ± 1,1 <sup>c+*</sup>	9,1 ± 0,9 <sup>c+*</sup>
Día 50	15,6 ± 0,5 <sup>c*</sup>	14,4 ± 1,1 <sup>b*</sup>	22,7 ± 1,6 <sup>d+*</sup>	16,6 ± 0,6 <sup>b+*</sup>

	Grasa Absoluta (GA) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	1,02 ± 0,04 <sup>a*</sup>	1,00 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,23 ± 0,11 <sup>a*</sup>	1,05 ± 0,10 <sup>a</sup>
Día 30	2,09 ± 0,13 <sup>b+</sup>	1,08 ± 0,07 <sup>a+</sup>	2,14 ± 0,09 <sup>bc+</sup>	1,09 ± 0,03 <sup>a+</sup>
Día 35	1,62 ± 0,03 <sup>c+</sup>	1,14 ± 0,07 <sup>a+</sup>	1,68 ± 0,20 <sup>c+</sup>	1,15 ± 0,10 <sup>a+</sup>
Día 40	1,71 ± 0,11 <sup>c*</sup>	1,62 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,37 ± 0,14 <sup>b+*</sup>	1,64 ± 0,06 <sup>b+</sup>
Día 45	2,15 ± 0,14 <sup>b+</sup>	1,69 ± 0,12 <sup>b+*</sup>	2,19 ± 0,18 <sup>bc+</sup>	1,18 ± 0,12 <sup>a+*</sup>
Día 50	1,84 ± 0,06 <sup>bc*</sup>	1,81 ± 0,10 <sup>b*</sup>	3,36 ± 0,31 <sup>d+*</sup>	2,36 ± 0,10 <sup>c+*</sup>

	Incremento Graso Corporal Global (INGCG) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,301 ± 0,023 <sup>a+</sup>	0,349 ± 0,022 <sup>a+*</sup>	0,312 ± 0,083 <sup>a</sup>	0,242 ± 0,006 <sup>a*</sup>
Día 30	0,586 ± 0,056 <sup>b+*</sup>	0,294 ± 0,044 <sup>a+</sup>	0,770 ± 0,039 <sup>b+*</sup>	0,282 ± 0,025 <sup>b+</sup>
Día 35	0,472 ± 0,027 <sup>c*</sup>	0,445 ± 0,037 <sup>b*</sup>	0,948 ± 0,092 <sup>c+*</sup>	0,387 ± 0,014 <sup>c+*</sup>
Día 40	0,718 ± 0,061 <sup>d+*</sup>	0,581 ± 0,069 <sup>c+</sup>	1,491 ± 0,174 <sup>d+*</sup>	0,556 ± 0,039 <sup>d+</sup>
Día 45	0,904 ± 0,062 <sup>e+*</sup>	0,584 ± 0,091 <sup>c+</sup>	1,604 ± 0,078 <sup>e+*</sup>	0,680 ± 0,050 <sup>c+</sup>
Día 50	0,976 ± 0,078 <sup>e*</sup>	0,879 ± 0,103 <sup>d</sup>	1,894 ± 0,083 <sup>f+*</sup>	0,722 ± 0,104 <sup>c+</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

Tabla 23. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)** y **Relación Proteína/Cenizas (P/C)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Cenizas Relativas (CR) (%)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	4,8 ± 0,21 <sup>a*</sup>	4,3 ± 0,14 <sup>a*</sup>	4,1 ± 0,16 <sup>a*</sup>	3,7 ± 0,06 <sup>a*</sup>
Día 30	5,0 ± 0,28 <sup>a+*</sup>	4,3 ± 0,14 <sup>a+</sup>	4,0 ± 0,08 <sup>a*</sup>	4,3 ± 0,17 <sup>b</sup>
Día 35	4,9 ± 0,21 <sup>a*</sup>	4,8 ± 0,23 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,23 <sup>a*</sup>	4,6 ± 0,11 <sup>b</sup>
Día 40	5,0 ± 0,07 <sup>a*</sup>	4,6 ± 0,13 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,23 <sup>a*</sup>	4,1 ± 0,12 <sup>ab</sup>
Día 45	5,1 ± 0,25 <sup>a*</sup>	5,3 ± 0,38 <sup>b*</sup>	4,4 ± 0,07 <sup>a*</sup>	4,5 ± 0,17 <sup>b*</sup>
Día 50	5,2 ± 0,19 <sup>a*</sup>	5,3 ± 0,14 <sup>b*</sup>	4,2 ± 0,14 <sup>a*</sup>	4,4 ± 0,09 <sup>b*</sup>

	Cenizas Absolutas (CA) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,379 ± 0,023 <sup>a</sup>	0,376 ± 0,025 <sup>a</sup>	0,358 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,351 ± 0,017 <sup>a</sup>
Día 30	0,564 ± 0,043 <sup>bc+*</sup>	0,428 ± 0,021 <sup>b+</sup>	0,440 ± 0,007 <sup>b*</sup>	0,408 ± 0,022 <sup>b</sup>
Día 35	0,509 ± 0,026 <sup>b</sup>	0,487 ± 0,031 <sup>b</sup>	0,471 ± 0,016 <sup>bc</sup>	0,496 ± 0,018 <sup>c</sup>
Día 40	0,547 ± 0,019 <sup>b+</sup>	0,492 ± 0,019 <sup>b+</sup>	0,499 ± 0,020 <sup>c</sup>	0,467 ± 0,009 <sup>c</sup>
Día 45	0,565 ± 0,015 <sup>b</sup>	0,574 ± 0,030 <sup>c</sup>	0,578 ± 0,017 <sup>d</sup>	0,592 ± 0,014 <sup>d</sup>
Día 50	0,620 ± 0,010 <sup>c</sup>	0,674 ± 0,023 <sup>d</sup>	0,628 ± 0,018 <sup>e</sup>	0,634 ± 0,011 <sup>d</sup>

	Relación Proteína/Cenizas (P/C) (g/g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	4,35 ± 0,22 <sup>a+*</sup>	5,01 ± 0,22 <sup>a+*</sup>	5,21 ± 0,21 <sup>a+*</sup>	5,95 ± 0,10 <sup>a+*</sup>
Día 30	3,86 ± 0,26 <sup>a+*</sup>	5,00 ± 0,22 <sup>ab+</sup>	4,93 ± 0,10 <sup>ab*</sup>	5,00 ± 0,23 <sup>b</sup>
Día 35	4,09 ± 0,24 <sup>a*</sup>	4,51 ± 0,29 <sup>ab</sup>	4,85 ± 0,27 <sup>ab*</sup>	4,72 ± 0,12 <sup>b</sup>
Día 40	3,99 ± 0,10 <sup>a*</sup>	4,43 ± 0,15 <sup>b*</sup>	5,06 ± 0,32 <sup>ab*</sup>	5,14 ± 0,19 <sup>b*</sup>
Día 45	3,77 ± 0,21 <sup>a*</sup>	3,77 ± 0,29 <sup>c*</sup>	4,67 ± 0,11 <sup>ab*</sup>	4,83 ± 0,21 <sup>b*</sup>
Día 50	3,79 ± 0,18 <sup>a*</sup>	3,80 ± 0,13 <sup>c*</sup>	4,53 ± 0,18 <sup>b*</sup>	4,58 ± 0,12 <sup>b*</sup>

(n=5, x ± error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos p<0,05 (LSD).

Tabla 24. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Relación Proteína/Humedad (P/H) (g/g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,342 ± 0,003 <sup>a*</sup>	0,349 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,354 ± 0,002 <sup>a*</sup>	0,358 ± 0,001 <sup>a</sup>
Día 30	0,341 ± 0,004 <sup>a*</sup>	0,348 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,359 ± 0,001 <sup>a+*</sup>	0,349 ± 0,002 <sup>ab+</sup>
Día 35	0,341 ± 0,003 <sup>a*</sup>	0,342 ± 0,003 <sup>ab</sup>	0,352 ± 0,004 <sup>a*</sup>	0,344 ± 0,002 <sup>b</sup>
Día 40	0,341 ± 0,001 <sup>a*</sup>	0,347 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,359 ± 0,003 <sup>a*</sup>	0,354 ± 0,002 <sup>a</sup>
Día 45	0,340 ± 0,004 <sup>a*</sup>	0,334 ± 0,006 <sup>b*</sup>	0,352 ± 0,001 <sup>a*</sup>	0,344 ± 0,002 <sup>b*</sup>
Día 50	0,336 ± 0,003 <sup>a*</sup>	0,335 ± 0,002 <sup>b*</sup>	0,358 ± 0,002 <sup>a*</sup>	0,350 ± 0,001 <sup>ab*</sup>

	Relación Grasa/Humedad (G/H) (g/g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,214 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,187 ± 0,009 <sup>a</sup>	0,234 ± 0,018 <sup>a+</sup>	0,180 ± 0,011 <sup>a+</sup>
Día 30	0,333 ± 0,017 <sup>b+</sup>	0,177 ± 0,010 <sup>a+</sup>	0,356 ± 0,009 <sup>b+</sup>	0,190 ± 0,005 <sup>a+</sup>
Día 35	0,269 ± 0,005 <sup>c+</sup>	0,182 ± 0,014 <sup>a+</sup>	0,261 ± 0,030 <sup>ac+</sup>	0,170 ± 0,011 <sup>a+</sup>
Día 40	0,268 ± 0,017 <sup>c</sup>	0,260 ± 0,011 <sup>b</sup>	0,341 ± 0,016 <sup>b+</sup>	0,243 ± 0,013 <sup>b+</sup>
Día 45	0,345 ± 0,014 <sup>b+*</sup>	0,266 ± 0,015 <sup>b+*</sup>	0,286 ± 0,024 <sup>c+*</sup>	0,143 ± 0,016 <sup>a+*</sup>
Día 50	0,265 ± 0,011 <sup>c*</sup>	0,241 ± 0,023 <sup>b</sup>	0,426 ± 0,040 <sup>d+*</sup>	0,286 ± 0,015 <sup>b+</sup>

	Relación Grasa/Proteína (G/P) (g/g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,627 ± 0,028 <sup>a+</sup>	0,536 ± 0,027 <sup>a+</sup>	0,660 ± 0,047 <sup>a+</sup>	0,502 ± 0,029 <sup>ac+</sup>
Día 30	0,978 ± 0,050 <sup>b+</sup>	0,510 ± 0,031 <sup>a+</sup>	0,989 ± 0,022 <sup>b+</sup>	0,544 ± 0,019 <sup>a+</sup>
Día 35	0,788 ± 0,018 <sup>c+</sup>	0,533 ± 0,043 <sup>a+</sup>	0,737 ± 0,073 <sup>a+</sup>	0,492 ± 0,029 <sup>ac+</sup>
Día 40	0,788 ± 0,050 <sup>c*</sup>	0,750 ± 0,028 <sup>b</sup>	0,948 ± 0,040 <sup>b+*</sup>	0,687 ± 0,037 <sup>b+</sup>
Día 45	1,013 ± 0,036 <sup>d+*</sup>	0,791 ± 0,030 <sup>b+*</sup>	0,814 ± 0,065 <sup>a+*</sup>	0,415 ± 0,046 <sup>c+*</sup>
Día 50	0,790 ± 0,035 <sup>c*</sup>	0,718 ± 0,065 <sup>b</sup>	1,187 ± 0,107 <sup>c+*</sup>	0,517 ± 0,041 <sup>d+</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

Tabla 25. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre **Humedad Relativa (HR)**, **Proteína Relativa (PR)**, **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)**, **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG)**, **Grasa Relativa (GR)**, **Grasa Absoluta (GA)** e **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	HR	PR	HA	PA	INPCG	VAPG	VAGG	GR	GA	INGCG
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
D	NS	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	NS	0,0001	0,0001
S	0,0001	0,0001	0,017	NS	NS	NS	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
ExD	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,002	0,0001	0,0001	0,0001
ExS	0,0001	0,0001	NS	NS	NS	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
DxS	0,0001	NS	NS	NS	0,006	0,018	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
ExDxS	NS	0,0001								

\* NS (No Significativo,  $p > 0,05$ )

Tabla 26. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)**, **Relación Proteína/Cenizas (P/C)**, **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	CR	CA	P/C	P/H	G/H	G/P
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,0001	0,0001
D	0,0001	0,005	0,0001	0,0001	NS	NS
S	NS	NS	0,0001	NS	0,0001	0,0001
ExD	NS	NS	NS	NS	0,0001	0,0001
ExS	NS	0,003	NS	NS	0,0001	0,0001
DxS	0,019	NS	NS	0,004	0,0001	0,002
ExDxS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

\* NS (No Significativo,  $p > 0,05$ )

Tabla 27. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Humedad Relativa (HR)**, **Proteína Relativa (PR)**, **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)** e **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.
HR	♀	y=59,67 - x· 0,063	0,039 <sup>a1</sup>	-0,287	NS	y=60,24 - x· 0,163	0,054 <sup>a2</sup>	-0,492	0,0057
	♂	y=63,44 - x· 0,139	0,031 <sup>b1</sup>	-0,634	0,0002	y=63,49 - x· 0,101	0,044 <sup>a1</sup>	-0,397	NS
PR	♀	y=20,49 - x· 0,032	0,016 <sup>a1</sup>	-0,357	NS	y=21,41 - x· 0,056	0,014 <sup>a1</sup>	-0,595	0,0005
	♂	y=22,40 - x· 0,085	0,012 <sup>a1</sup>	-0,780	0,00001	y=22,52 - x· 0,052	0,012 <sup>a2</sup>	-0,606	0,0004
HA	♀	y=4,984 + x· 0,064	0,012 <sup>a1</sup>	0,702	0,00001	y=4,837 + x· 0,107	0,008 <sup>a2</sup>	0,915	0,00001
	♂	y=5,129 + x· 0,069	0,013 <sup>a1</sup>	0,698	0,00001	y=4,982 + x· 0,113	0,015 <sup>a2</sup>	0,814	0,00001
PA	♀	y=1,712 + x· 0,021	0,004 <sup>a1</sup>	0,662	0,00001	y=1,720 + x· 0,038	0,003 <sup>a2</sup>	0,892	0,00001
	♂	y=1,822 + x· 0,020	0,004 <sup>a1</sup>	0,619	0,0003	y=1,772 + x· 0,032	0,005 <sup>a2</sup>	0,791	0,00001
INPCG	♀	y=0,170 + x· 0,0153	0,0017 <sup>a1</sup>	0,860	0,00001	y=0,154 + x· 0,0329	0,0033 <sup>a2</sup>	0,879	0,00001
	♂	y=0,210 + x· 0,0171	0,0031 <sup>a1</sup>	0,717	0,00001	y=0,170 + x· 0,0284	0,0031 <sup>a2</sup>	0,861	0,00001

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si p>0,01.

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 28. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG), Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG), Grasa Relativa (GR), Grasa Absoluta (GA) e Incremento Graso Corporal Global (INGCG) en ratones BALB/c No Tratados (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.
VAPG	♀	$y=0,0483 - x \cdot 0,00107$	0,00017 <sup>a1</sup>	-0,764	0,00001	$y=0,0531 - x \cdot 0,00052$	0,00025 <sup>a2</sup>	-0,362	NS
	♂	$y=0,0636 - x \cdot 0,00159$	0,00033 <sup>b1</sup>	-0,665	0,0001	$y=0,0622 - x \cdot 0,00111$	0,00022 <sup>b1</sup>	-0,686	0,00001
VAGG	♀	$y=0,0626 - x \cdot 0,00115$	0,00022 <sup>a1</sup>	-0,694	0,0001	$y=0,0698 - x \cdot 0,00013$	0,00039 <sup>a2</sup>	-0,065	NS
	♂	$y=0,0572 - x \cdot 0,00126$	0,00030 <sup>b1</sup>	-0,621	0,0002	$y=0,0425 - x \cdot 0,00070$	0,00015 <sup>b2</sup>	-0,639	0,0002
GR	♀	$y=15,01 + x \cdot 0,082$	0,051 <sup>a1</sup>	0,287	NS	$y=14,25 + x \cdot 0,212$	0,070 <sup>a2</sup>	0,492	0,0057
	♂	$y=10,08 + x \cdot 0,181$	0,041 <sup>b1</sup>	0,635	0,0002	$y=10,03 + x \cdot 0,132$	0,057 <sup>a1</sup>	0,397	NS
GA	♀	$y=1,305 + x \cdot 0,025$	0,008 <sup>a1</sup>	0,502	0,0026	$y=1,019 + x \cdot 0,065$	0,011 <sup>a2</sup>	0,739	0,00001
	♂	$y=0,756 + x \cdot 0,036$	0,004 <sup>a1</sup>	0,849	0,00001	$y=0,686 + x \cdot 0,041$	0,007 <sup>b1</sup>	0,708	0,00001
INGCG	♀	$y=0,202 + x \cdot 0,0261$	0,0029 <sup>a1</sup>	0,858	0,00001	$y=0,074 + x \cdot 0,0626$	0,0048 <sup>a2</sup>	0,925	0,00001
	♂	$y=0,156 + x \cdot 0,0208$	0,0034 <sup>a1</sup>	0,755	0,00001	$y=0,101 + x \cdot 0,0215$	0,0024 <sup>b1</sup>	0,860	0,00001

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).  
 e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.  
 r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.  
 sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 29. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)** y **Relación Proteína/Cenizas (P/C)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
CR	♀	$y=4,818 + x \cdot 0,0136$	0,0095 <sup>a1</sup>	0,262	NS	$y=4,082 + x \cdot 0,0076$	0,0076 <sup>a1</sup>	0,183	NS
	♂	$y=4,060 + x \cdot 0,0430$	0,0100 <sup>b1</sup>	0,629	0,0002	$y=3,952 + x \cdot 0,0214$	0,0076 <sup>a2</sup>	0,469	0,0089
CA	♀	$y=0,406 + x \cdot 0,0071$	0,0014 <sup>a1</sup>	0,670	0,00001	$y=0,316 + x \cdot 0,0102$	0,0007 <sup>a2</sup>	0,932	0,00001
	♂	$y=0,311 + x \cdot 0,0110$	0,0012 <sup>b1</sup>	0,863	0,00001	$y=0,297 + x \cdot 0,0110$	0,0009 <sup>a1</sup>	0,917	0,00001
P/C	♀	$y=4,296 - x \cdot 0,018$	0,009 <sup>a1</sup>	-0,333	NS	$y=5,272 - x \cdot 0,022$	0,009 <sup>a1</sup>	-0,399	NS
	♂	$y=5,403 - x \cdot 0,056$	0,010 <sup>b1</sup>	-0,711	0,00001	$y=5,737 - x \cdot 0,039$	0,009 <sup>a1</sup>	-0,603	0,0004

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 30. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
P/H	♀	$y=0,343 - x \cdot 0,00018$	0,00016 <sup>a1</sup>	-0,209	NS	$y=0,355 + x \cdot 0,00002$	0,00016 <sup>a1</sup>	0,026	NS
	♂	$y=0,353 - x \cdot 0,00060$	0,00017 <sup>b1</sup>	-0,559	0,0016	$y=0,359 - x \cdot 0,00025$	0,00013 <sup>a2</sup>	-0,335	NS
G/H	♀	$y=0,253 + x \cdot 0,0016$	0,0010 <sup>a1</sup>	0,274	NS	$y=0,234 + x \cdot 0,0047$	0,0015 <sup>a2</sup>	0,498	0,0050
	♂	$y=0,157 + x \cdot 0,0035$	0,0008 <sup>b1</sup>	0,633	0,0002	$y=0,155 + x \cdot 0,0026$	0,0010 <sup>a1</sup>	0,419	NS
G/P	♀	$y=0,739 + x \cdot 0,0052$	0,0031 <sup>a1</sup>	0,020	NS	$y=0,656 + x \cdot 0,0132$	0,0041 <sup>a2</sup>	0,519	0,0020
	♂	$y=0,442 + x \cdot 0,0112$	0,0022 <sup>b1</sup>	0,686	0,0002	$y=0,437 + x \cdot 0,0079$	0,0030 <sup>a1</sup>	0,328	NS

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 31. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Humedad Relativa (HR)** y de **Proteína Relativa (PR)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Humedad Relativa (HR) (%)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	62,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	64,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	62,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	63,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>
Día 30	60,3 ± 0,5 <sup>bc+</sup>	63,4 ± 0,5 <sup>a+</sup>	59,9 ± 0,2 <sup>b+</sup>	64,6 ± 0,2 <sup>a+</sup>
Día 35	60,6 ± 0,6 <sup>b</sup>	61,7 ± 0,5 <sup>b*</sup>	60,1 ± 0,1 <sup>b+</sup>	63,4 ± 0,3 <sup>ab+*</sup>
Día 40	61,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	60,5 ± 0,6 <sup>bc*</sup>	62,1 ± 0,5 <sup>ac</sup>	63,0 ± 0,2 <sup>bc*</sup>
Día 45	59,2 ± 0,4 <sup>c*</sup>	59,6 ± 0,6 <sup>c*</sup>	60,9 ± 0,4 <sup>bc*</sup>	61,7 ± 0,3 <sup>c*</sup>
Día 50	57,7 ± 0,3 <sup>d+</sup>	61,6 ± 0,4 <sup>b+*</sup>	57,8 ± 0,8 <sup>d</sup>	57,0 ± 0,4 <sup>d*</sup>

	Proteína Relativa (PR) (%)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	21,9 ± 0,07 <sup>a</sup>	22,2 ± 0,14 <sup>a</sup>	21,7 ± 0,14 <sup>a</sup>	22,2 ± 0,16 <sup>a</sup>
Día 30	21,0 ± 0,14 <sup>b+</sup>	21,8 ± 0,03 <sup>a+</sup>	20,8 ± 0,16 <sup>b+</sup>	22,2 ± 0,05 <sup>a+</sup>
Día 35	20,8 ± 0,04 <sup>bc</sup>	21,0 ± 0,09 <sup>b*</sup>	20,9 ± 0,19 <sup>b+</sup>	21,6 ± 0,13 <sup>b+*</sup>
Día 40	20,5 ± 0,20 <sup>c</sup>	20,6 ± 0,18 <sup>bc*</sup>	20,9 ± 0,17 <sup>b</sup>	21,3 ± 0,24 <sup>b*</sup>
Día 45	19,9 ± 0,13 <sup>d*</sup>	20,1 ± 0,06 <sup>c*</sup>	20,8 ± 0,23 <sup>b*</sup>	21,2 ± 0,16 <sup>b*</sup>
Día 50	19,8 ± 0,23 <sup>d+</sup>	20,8 ± 0,38 <sup>b+*</sup>	20,2 ± 0,31 <sup>c</sup>	19,7 ± 0,14 <sup>c*</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

Tabla 32. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)** e **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Humedad Absoluta (HA) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	4,96 ± 0,11 <sup>a</sup>	4,81 ± 0,12 <sup>a</sup>	4,49 ± 0,19 <sup>a</sup>	4,88 ± 0,07 <sup>a</sup>
Día 30	5,00 ± 0,14 <sup>a*</sup>	5,31 ± 0,15 <sup>b</sup>	4,37 ± 0,12 <sup>a+*</sup>	5,47 ± 0,17 <sup>a+</sup>
Día 35	5,67 ± 0,20 <sup>b</sup>	5,76 ± 0,14 <sup>c</sup>	5,55 ± 0,37 <sup>b+</sup>	6,30 ± 0,20 <sup>b+</sup>
Día 40	5,39 ± 0,16 <sup>ab*</sup>	5,71 ± 0,15 <sup>bc*</sup>	6,25 ± 0,21 <sup>b*</sup>	6,48 ± 0,19 <sup>b*</sup>
Día 45	5,69 ± 0,19 <sup>b*</sup>	6,11 ± 0,13 <sup>c*</sup>	7,02 ± 0,29 <sup>c*</sup>	7,67 ± 0,36 <sup>c*</sup>
Día 50	6,53 ± 0,24 <sup>c*</sup>	6,64 ± 0,19 <sup>d*</sup>	7,79 ± 0,27 <sup>d*</sup>	7,55 ± 0,29 <sup>c*</sup>

	Proteína Absoluta (PA) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	1,73 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,67 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,55 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,70 ± 0,02 <sup>a</sup>
Día 30	1,74 ± 0,05 <sup>a*</sup>	1,82 ± 0,06 <sup>ab</sup>	1,52 ± 0,04 <sup>a+*</sup>	1,88 ± 0,06 <sup>a+</sup>
Día 35	1,95 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,96 ± 0,05 <sup>bc</sup>	1,93 ± 0,13 <sup>b</sup>	2,15 ± 0,07 <sup>b</sup>
Día 40	1,80 ± 0,06 <sup>ab*</sup>	1,95 ± 0,04 <sup>bc*</sup>	2,11 ± 0,09 <sup>b*</sup>	2,19 ± 0,08 <sup>b*</sup>
Día 45	1,92 ± 0,07 <sup>ab*</sup>	2,06 ± 0,04 <sup>c*</sup>	2,40 ± 0,12 <sup>c*</sup>	2,64 ± 0,12 <sup>c*</sup>
Día 50	2,24 ± 0,08 <sup>c*</sup>	2,25 ± 0,07 <sup>d*</sup>	2,72 ± 0,10 <sup>d*</sup>	2,61 ± 0,10 <sup>c*</sup>

	Incremento Proteico Corporal Global (INPCG) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,203 ± 0,025 <sup>a</sup>	0,164 ± 0,027 <sup>a*</sup>	0,251 ± 0,027 <sup>a</sup>	0,213 ± 0,019 <sup>a*</sup>
Día 30	0,205 ± 0,023 <sup>a*</sup>	0,228 ± 0,035 <sup>b</sup>	0,317 ± 0,047 <sup>a*</sup>	0,226 ± 0,051 <sup>a</sup>
Día 35	0,405 ± 0,036 <sup>b</sup>	0,335 ± 0,036 <sup>c*</sup>	0,470 ± 0,042 <sup>b</sup>	0,397 ± 0,025 <sup>b*</sup>
Día 40	0,456 ± 0,038 <sup>b*</sup>	0,444 ± 0,052 <sup>d*</sup>	0,752 ± 0,082 <sup>c*</sup>	0,628 ± 0,060 <sup>c*</sup>
Día 45	0,556 ± 0,040 <sup>c*</sup>	0,543 ± 0,027 <sup>e*</sup>	0,989 ± 0,115 <sup>d*</sup>	0,912 ± 0,063 <sup>d*</sup>
Día 50	0,761 ± 0,055 <sup>d+*</sup>	0,575 ± 0,057 <sup>e+*</sup>	1,398 ± 0,101 <sup>e+*</sup>	1,126 ± 0,096 <sup>e+*</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

Tabla 33. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG)** y **Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG) (g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,040 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,032 ± 0,005 <sup>a*</sup>	0,050 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,042 ± 0,003 <sup>a*</sup>
Día 30	0,020 ± 0,002 <sup>b*</sup>	0,022 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,031 ± 0,004 <sup>bc*</sup>	0,022 ± 0,005 <sup>b</sup>
Día 35	0,027 ± 0,002 <sup>b+</sup>	0,022 ± 0,002 <sup>b+*</sup>	0,031 ± 0,002 <sup>b+</sup>	0,026 ± 0,001 <sup>b+*</sup>
Día 40	0,022 ± 0,002 <sup>b*</sup>	0,022 ± 0,002 <sup>b*</sup>	0,037 ± 0,004 <sup>bc*</sup>	0,031 ± 0,002 <sup>c*</sup>
Día 45	0,022 ± 0,001 <sup>b*</sup>	0,021 ± 0,001 <sup>b*</sup>	0,039 ± 0,004 <sup>c*</sup>	0,036 ± 0,002 <sup>d*</sup>
Día 50	0,025 ± 0,002 <sup>b+*</sup>	0,019 ± 0,002 <sup>b+*</sup>	0,046 ± 0,003 <sup>a+*</sup>	0,037 ± 0,003 <sup>ad+*</sup>

	Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG) (g/día)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,060 ± 0,006 <sup>a*</sup>	0,039 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,039 ± 0,004 <sup>ac*</sup>	0,037 ± 0,003 <sup>ad</sup>
Día 30	0,026 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,027 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,024 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,019 ± 0,004 <sup>b</sup>
Día 35	0,038 ± 0,003 <sup>c+*</sup>	0,029 ± 0,003 <sup>a+</sup>	0,024 ± 0,001 <sup>b*</sup>	0,025 ± 0,001 <sup>c</sup>
Día 40	0,030 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,032 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,031 ± 0,003 <sup>a</sup>	0,032 ± 0,003 <sup>a</sup>
Día 45	0,029 ± 0,002 <sup>b</sup>	0,032 ± 0,002 <sup>a*</sup>	0,034 ± 0,003 <sup>a+</sup>	0,041 ± 0,003 <sup>d+*</sup>
Día 50	0,039 ± 0,003 <sup>c+</sup>	0,029 ± 0,003 <sup>a+*</sup>	0,041 ± 0,003 <sup>c</sup>	0,046 ± 0,005 <sup>d*</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

Tabla 34. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Grasa Relativa (GR)**, **Grasa Absoluta (GA)** e **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** en ratones BALB/c *Tratados (T)* con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Grasa Relativa (GR) (%)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	10,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	9,1 ± 0,5 <sup>a</sup>	11,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	9,7 ± 0,4 <sup>ab</sup>
Día 30	14,1 ± 0,7 <sup>bc+</sup>	10,0 ± 0,7 <sup>a+</sup>	14,6 ± 0,3 <sup>b+</sup>	8,5 ± 0,3 <sup>b+</sup>
Día 35	13,8 ± 0,8 <sup>b</sup>	12,3 ± 0,7 <sup>b*</sup>	14,3 ± 0,2 <sup>b+</sup>	10,0 ± 0,3 <sup>bc+*</sup>
Día 40	12,7 ± 0,5 <sup>b</sup>	13,8 ± 0,8 <sup>bc*</sup>	11,8 ± 0,7 <sup>ac</sup>	10,5 ± 0,3 <sup>ac*</sup>
Día 45	15,5 ± 0,5 <sup>c*</sup>	15,0 ± 0,8 <sup>c*</sup>	13,3 ± 0,5 <sup>bc*</sup>	12,2 ± 0,4 <sup>d*</sup>
Día 50	17,5 ± 0,4 <sup>d+</sup>	12,4 ± 0,5 <sup>b+*</sup>	17,3 ± 1,1 <sup>d</sup>	17,1 ± 0,7 <sup>e*</sup>

	Grasa Absoluta (GA) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,85 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,68 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,78 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,74 ± 0,04 <sup>ac</sup>
Día 30	1,17 ± 0,09 <sup>b+</sup>	0,84 ± 0,08 <sup>a+</sup>	1,07 ± 0,06 <sup>b+</sup>	0,71 ± 0,04 <sup>a+</sup>
Día 35	1,30 ± 0,13 <sup>bc</sup>	1,15 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,33 ± 0,11 <sup>bc+</sup>	0,99 ± 0,01 <sup>bc+</sup>
Día 40	1,11 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,31 ± 0,10 <sup>bc</sup>	1,20 ± 0,12 <sup>b</sup>	1,08 ± 0,04 <sup>b</sup>
Día 45	1,49 ± 0,07 <sup>c</sup>	1,54 ± 0,10 <sup>c</sup>	1,54 ± 0,11 <sup>c</sup>	1,51 ± 0,03 <sup>d</sup>
Día 50	1,98 ± 0,04 <sup>d+</sup>	1,34 ± 0,09 <sup>e+*</sup>	2,34 ± 0,18 <sup>d</sup>	2,28 ± 0,21 <sup>e*</sup>

	Incremento Graso Corporal Global (INGCG) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,262 ± 0,039 <sup>a*</sup>	0,195 ± 0,037 <sup>a</sup>	0,197 ± 0,022 <sup>a*</sup>	0,186 ± 0,017 <sup>a</sup>
Día 30	0,263 ± 0,034 <sup>a</sup>	0,272 ± 0,048 <sup>a</sup>	0,245 ± 0,037 <sup>a</sup>	0,198 ± 0,047 <sup>a</sup>
Día 35	0,577 ± 0,059 <sup>b+*</sup>	0,435 ± 0,052 <sup>b+</sup>	0,372 ± 0,025 <sup>b*</sup>	0,375 ± 0,020 <sup>b</sup>
Día 40	0,599 ± 0,062 <sup>b</sup>	0,649 ± 0,093 <sup>c</sup>	0,636 ± 0,073 <sup>c</sup>	0,648 ± 0,075 <sup>c</sup>
Día 45	0,745 ± 0,073 <sup>c</sup>	0,799 ± 0,057 <sup>cd*</sup>	0,849 ± 0,109 <sup>d</sup>	1,036 ± 0,105 <sup>d*</sup>
Día 50	1,194 ± 0,116 <sup>d+</sup>	0,872 ± 0,110 <sup>d+*</sup>	1,257 ± 0,097 <sup>c</sup>	1,380 ± 0,174 <sup>e*</sup>

(n=5, x ± error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos p<0,05 (LSD).

Tabla 35. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)** y **Relación Proteína/Cenizas (P/C)** en ratones BALB/c *Tratados (T)* con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Cenizas Relativas (CR) (%)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	4,3 ± 0,11 <sup>a</sup>	4,4 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,16 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,11 <sup>a</sup>
Día 30	4,4 ± 0,08 <sup>ac</sup>	4,6 ± 0,15 <sup>ab</sup>	4,5 ± 0,19 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,06 <sup>ab</sup>
Día 35	4,7 ± 0,17 <sup>ac</sup>	4,9 ± 0,13 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,21 <sup>a</sup>	4,7 ± 0,11 <sup>bc</sup>
Día 40	5,3 ± 0,12 <sup>b</sup>	4,9 ± 0,19 <sup>b</sup>	5,0 ± 0,22 <sup>b</sup>	5,0 ± 0,22 <sup>c</sup>
Día 45	5,2 ± 0,15 <sup>b</sup>	5,1 ± 0,20 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,22 <sup>ab</sup>	4,7 ± 0,15 <sup>bc</sup>
Día 50	4,8 ± 0,21 <sup>bc</sup>	5,0 ± 0,32 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,15 <sup>a</sup>	4,6 ± 0,01 <sup>abc</sup>

	Cenizas Absolutas (CA) (g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,345 ± 0,012 <sup>a</sup>	0,330 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,323 ± 0,018 <sup>a</sup>	0,331 ± 0,010 <sup>a</sup>
Día 30	0,371 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,389 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,333 ± 0,016 <sup>a</sup>	0,388 ± 0,012 <sup>a</sup>
Día 35	0,444 ± 0,015 <sup>b</sup>	0,458 ± 0,007 <sup>b</sup>	0,416 ± 0,029 <sup>b</sup>	0,474 ± 0,016 <sup>b</sup>
Día 40	0,467 ± 0,009 <sup>bc</sup>	0,466 ± 0,026 <sup>bc*</sup>	0,508 ± 0,016 <sup>c</sup>	0,515 ± 0,016 <sup>b*</sup>
Día 45	0,504 ± 0,011 <sup>cd</sup>	0,526 ± 0,020 <sup>cd</sup>	0,555 ± 0,020 <sup>cd</sup>	0,584 ± 0,029 <sup>c</sup>
Día 50	0,552 ± 0,029 <sup>d</sup>	0,542 ± 0,038 <sup>d*</sup>	0,612 ± 0,020 <sup>d</sup>	0,618 ± 0,031 <sup>c*</sup>

	Relación Proteína/Cenizas (P/C) (g/g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	5,03 ± 0,14 <sup>a</sup>	5,05 ± 0,10 <sup>a</sup>	4,84 ± 0,20 <sup>a</sup>	5,16 ± 0,16 <sup>a</sup>
Día 30	4,71 ± 0,09 <sup>ab</sup>	4,69 ± 0,16 <sup>ab</sup>	4,60 ± 0,24 <sup>ab</sup>	4,85 ± 0,06 <sup>b</sup>
Día 35	4,41 ± 0,16 <sup>b</sup>	4,29 ± 0,11 <sup>bc</sup>	4,69 ± 0,27 <sup>ab</sup>	4,55 ± 0,12 <sup>bc</sup>
Día 40	3,85 ± 0,12 <sup>c</sup>	4,22 ± 0,20 <sup>bc</sup>	4,17 ± 0,20 <sup>b</sup>	4,28 ± 0,24 <sup>c</sup>
Día 45	3,81 ± 0,13 <sup>c*</sup>	3,94 ± 0,16 <sup>c*</sup>	4,35 ± 0,25 <sup>ab*</sup>	4,54 ± 0,18 <sup>bc*</sup>
Día 50	4,10 ± 0,21 <sup>bc</sup>	4,25 ± 0,37 <sup>bc</sup>	4,46 ± 0,18 <sup>ab</sup>	4,22 ± 0,04 <sup>c</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

Tabla 36. Influencia de la EDAD, la DIETA y el SEXO sobre los valores de **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	Relación Proteína/Humedad (P/H) (g/g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,349 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,347 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,347 ± 0,002 <sup>ac</sup>	0,349 ± 0,001 <sup>a</sup>
Día 30	0,349 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,343 ± 0,002 <sup>ab</sup>	0,348 ± 0,003 <sup>ac</sup>	0,344 ± 0,001 <sup>ab</sup>
Día 35	0,344 ± 0,003 <sup>ac</sup>	0,341 ± 0,002 <sup>ab</sup>	0,348 ± 0,003 <sup>ac</sup>	0,342 ± 0,001 <sup>ab</sup>
Día 40	0,334 ± 0,002 <sup>b</sup>	0,341 ± 0,003 <sup>ab</sup>	0,338 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,337 ± 0,003 <sup>b</sup>
Día 45	0,336 ± 0,002 <sup>b</sup>	0,338 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,342 ± 0,003 <sup>abc</sup>	0,344 ± 0,002 <sup>ab</sup>
Día 50	0,344 ± 0,003 <sup>ac</sup>	0,338 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,349 ± 0,002 <sup>c</sup>	0,346 ± 0,001 <sup>ab</sup>

	Relación Grasa/Humedad (G/H) (g/g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,171 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,143 ± 0,010 <sup>a</sup>	0,176 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,153 ± 0,008 <sup>ab</sup>
Día 30	0,235 ± 0,015 <sup>bc+</sup>	0,159 ± 0,013 <sup>a+</sup>	0,244 ± 0,007 <sup>b+</sup>	0,131 ± 0,006 <sup>a+</sup>
Día 35	0,228 ± 0,017 <sup>b</sup>	0,200 ± 0,013 <sup>b*</sup>	0,239 ± 0,005 <sup>b+</sup>	0,159 ± 0,007 <sup>ab-*</sup>
Día 40	0,207 ± 0,010 <sup>b</sup>	0,230 ± 0,016 <sup>bc*</sup>	0,191 ± 0,014 <sup>ac</sup>	0,168 ± 0,006 <sup>bc*</sup>
Día 45	0,263 ± 0,010 <sup>c*</sup>	0,253 ± 0,016 <sup>c*</sup>	0,219 ± 0,012 <sup>bc*</sup>	0,199 ± 0,009 <sup>c*</sup>
Día 50	0,305 ± 0,009 <sup>d+</sup>	0,202 ± 0,010 <sup>b+*</sup>	0,302 ± 0,025 <sup>d</sup>	0,299 ± 0,016 <sup>d*</sup>

	Relación Grasa/Proteína (G/P) (g/g)			
	12%		20%	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,490 ± 0,022 <sup>a</sup>	0,413 ± 0,029 <sup>a</sup>	0,508 ± 0,022 <sup>a</sup>	0,439 ± 0,022 <sup>a</sup>
Día 30	0,673 ± 0,041 <sup>b+</sup>	0,461 ± 0,033 <sup>a+</sup>	0,702 ± 0,018 <sup>b+</sup>	0,382 ± 0,017 <sup>b+</sup>
Día 35	0,662 ± 0,042 <sup>b</sup>	0,586 ± 0,035 <sup>b*</sup>	0,686 ± 0,013 <sup>b+</sup>	0,465 ± 0,020 <sup>a+*</sup>
Día 40	0,621 ± 0,032 <sup>b</sup>	0,672 ± 0,043 <sup>bc*</sup>	0,565 ± 0,037 <sup>a</sup>	0,496 ± 0,019 <sup>a*</sup>
Día 45	0,781 ± 0,028 <sup>c*</sup>	0,745 ± 0,041 <sup>c*</sup>	0,639 ± 0,032 <sup>b*</sup>	0,578 ± 0,025 <sup>c*</sup>
Día 50	0,886 ± 0,026 <sup>d+</sup>	0,597 ± 0,034 <sup>b+</sup>	0,863 ± 0,069 <sup>c</sup>	0,868 ± 0,046 <sup>d</sup>

(n=5,  $\bar{x} \pm$  error estándar de la media) Superíndices:

- letras distintas indican diferencias significativas en el tiempo.
- + indica diferencias significativas entre sexos en una misma edad.
- \* indica diferencias significativas entre dietas en una misma edad.

En todos los casos  $p < 0,05$  (LSD).

Tabla 37. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre **Humedad Relativa (HR)**, **Proteína Relativa (PR)**, **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)**, **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG)**, **Grasa Relativa (GR)**, **Grasa Absoluta (GA)** e **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** en ratones BALB/c *Tratados (T)* con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	HR	PR	HA	PA	INPCG	VAPG	VAGG	GR	GA	INGCG
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
D	NS	0,001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	NS	NS	NS	NS
S	0,0001	0,0001	0,0001	0,002	0,001	0,001	NS	0,0001	0,0001	NS
ExD	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,015	0,011	0,0001	0,0001	0,002
ExS	0,0001	0,015	NS	NS	NS	NS	NS	0,0001	0,010	NS
DxS	NS									
ExDxS	0,0001	0,001	NS	NS	NS	NS	NS	0,0001	0,026	NS

\* NS (No Significativo,  $p > 0,05$ )

Tabla 38. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)**, **Relación Proteína/Cenizas (P/C)**, **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *Tratados (T)* con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	CR	CA	P/C	P/H	G/H	G/P
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
D	0,016	0,007	0,011	NS	NS	0,017
S	NS	NS	NS	NS	0,0001	0,0001
ExD	NS	0,003	NS	NS	0,0001	0,0001
ExS	NS	NS	NS	NS	0,0001	0,0001
DxS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ExDxS	NS	NS	NS	NS	0,0001	0,0001

\* NS (No Significativo,  $p>0,05$ )

Tabla 39. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Humedad Relativa (HR)**, **Proteína Relativa (PR)**, **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)** e **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
HR	♀	$y=63,24 - x \cdot 0,163$	0,028 <sup>a1</sup>	-0,737	0,00001	$y=62,57 - x \cdot 0,110$	0,035 <sup>a1</sup>	-0,504	0,0045
	♂	$y=64,38 - x \cdot 0,143$	0,031 <sup>a1</sup>	-0,649	0,0001	$y=66,51 - x \cdot 0,240$	0,034 <sup>b2</sup>	-0,800	0,00001
PR	♀	$y=22,10 - x \cdot 0,080$	0,007 <sup>a1</sup>	-0,891	0,00001	$y=21,67 - x \cdot 0,042$	0,010 <sup>a2</sup>	-0,592	0,0006
	♂	$y=22,34 - x \cdot 0,069$	0,011 <sup>a1</sup>	-0,741	0,00001	$y=22,98 - x \cdot 0,090$	0,010 <sup>b1</sup>	-0,852	0,00001
HA	♀	$y=4,580 + x \cdot 0,055$	0,009 <sup>a1</sup>	0,732	0,00001	$y=3,404 + x \cdot 0,143$	0,012 <sup>a2</sup>	0,905	0,00001
	♂	$y=4,574 + x \cdot 0,065$	0,007 <sup>a1</sup>	0,860	0,00001	$y=4,381 + x \cdot 0,115$	0,011 <sup>b2</sup>	0,879	0,00001
PA	♀	$y=1,605 + x \cdot 0,016$	0,003 <sup>a1</sup>	0,638	0,0001	$y=1,176 + x \cdot 0,049$	0,004 <sup>a2</sup>	0,888	0,00001
	♂	$y=1,592 + x \cdot 0,020$	0,002 <sup>a1</sup>	0,819	0,00001	$y=1,512 + x \cdot 0,039$	0,004 <sup>b2</sup>	0,868	0,00001
INPCG	♀	$y=0,0423 + x \cdot 0,0222$	0,0019 <sup>a1</sup>	0,905	0,00001	$y=-0,1068 + x \cdot 0,0459$	0,0039 <sup>a2</sup>	0,908	0,00001
	♂	$y=0,0706 + x \cdot 0,0177$	0,0018 <sup>b1</sup>	0,873	0,00001	$y=-0,1010 + x \cdot 0,0391$	0,0030 <sup>a2</sup>	0,922	0,00001

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 40. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG)**, **Grasa Relativa (GR)**, **Grasa Absoluta (GA)** e **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** en ratones BALB/c *Tratados (T)* con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
VAPG	♀	$y=0,0340 - x \cdot 0,00043$	0,00017 <sup>a1</sup>	-0,421	NS	$y=0,0383 + x \cdot 0,00006$	0,00024 <sup>a1</sup>	0,050	NS
	♂	$y=0,0306 - x \cdot 0,00040$	0,00015 <sup>a1</sup>	-0,454	NS	$y=0,0308 + x \cdot 0,00011$	0,00021 <sup>a1</sup>	0,103	NS
VAGG	♀	$y=0,0423 - x \cdot 0,00035$	0,00027 <sup>a1</sup>	-0,237	NS	$y=0,0279 + x \cdot 0,00027$	0,00021 <sup>a1</sup>	0,050	NS
	♂	$y=0,0347 - x \cdot 0,00018$	0,00022 <sup>a1</sup>	-0,156	NS	$y=0,0221 + x \cdot 0,00066$	0,00024 <sup>a2</sup>	0,459	0,0092
GR	♀	$y=10,35 + x \cdot 0,213$	0,036 <sup>a1</sup>	0,738	0,00001	$y=11,23 + x \cdot 0,144$	0,046 <sup>a1</sup>	0,504	0,0045
	♂	$y= 8,87 + x \cdot 0,187$	0,041 <sup>a1</sup>	0,649	0,0001	$y= 6,51 + x \cdot 0,277$	0,039 <sup>b2</sup>	0,801	0,00001
GA	♀	$y=0,678 + x \cdot 0,036$	0,005 <sup>a1</sup>	0,805	0,00001	$y=0,475 + x \cdot 0,051$	0,006 <sup>a2</sup>	0,817	0,00001
	♂	$y=0,594 + x \cdot 0,031$	0,004 <sup>a1</sup>	0,782	0,00001	$y=0,208 + x \cdot 0,058$	0,006 <sup>a2</sup>	0,864	0,00001
INGCG	♀	$y=-0,0059 + x \cdot 0,0350$	0,0038 <sup>a1</sup>	0,863	0,00001	$y=-0,1447 + x \cdot 0,0421$	0,0037 <sup>a2</sup>	0,902	0,00001
	♂	$y=0,0196 + x \cdot 0,0295$	0,0032 <sup>a1</sup>	0,862	0,00001	$y=-0,2378 + x \cdot 0,0500$	0,0048 <sup>a2</sup>	0,891	0,00001

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 41. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)** y **Relación Proteína/Cenizas (P/C)** en ratones BALB/c *Tratados (T)* con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
CR	♀	$y=4,296 + x \cdot 0,0312$	0,0083 <sup>a1</sup>	0,575	0,0009	$y=4,518 + x \cdot 0,0090$	0,0095 <sup>a2</sup>	0,175	NS
	♂	$y=4,396 + x \cdot 0,0257$	0,0088 <sup>a1</sup>	0,483	0,0068	$y=4,447 + x \cdot 0,0132$	0,0069 <sup>a1</sup>	0,339	NS
CA	♀	$y=0,300 + x \cdot 0,0083$	0,0007 <sup>a1</sup>	0,910	0,00001	$y=0,237 + x \cdot 0,0125$	0,0009 <sup>a2</sup>	0,924	0,00001
	♂	$y=0,304 + x \cdot 0,0084$	0,0009 <sup>a1</sup>	0,851	0,00001	$y=0,278 + x \cdot 0,0117$	0,0009 <sup>a2</sup>	0,920	0,00001
P/C	♀	$y=5,113 - x \cdot 0,045$	0,008 <sup>a1</sup>	-0,724	0,00001	$y=4,837 - x \cdot 0,018$	0,010 <sup>a2</sup>	-0,307	NS
	♂	$y=5,041 - x \cdot 0,036$	0,009 <sup>a1</sup>	-0,567	0,0011	$y=5,187 - x \cdot 0,033$	0,007 <sup>a1</sup>	-0,647	0,0001

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 42. Ecuaciones de regresión lineal versus tiempo de los valores de **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		ecuación <sup>(A)</sup>	e. p.	r	sig.	ecuación <sup>(A)</sup>	e.p.	r	sig.
P/H	♀	$y=0,349 - x \cdot 0,00040$	0,00015 <sup>a1</sup>	-0,447	NS	$y=0,346 - x \cdot 0,00006$	0,00016 <sup>a2</sup>	-0,069	NS
	♂	$y=0,347 - x \cdot 0,00031$	0,00014 <sup>a1</sup>	-0,379	NS	$y=0,345 - x \cdot 0,00011$	0,00011 <sup>b1</sup>	-0,182	NS
G/H	♀	$y=0,161 + x \cdot 0,0041$	0,0007 <sup>a1</sup>	0,738	0,00001	$y=0,177 + x \cdot 0,0028$	0,0009 <sup>a1</sup>	0,506	0,0043
	♂	$y=0,137 + x \cdot 0,0034$	0,0007 <sup>a1</sup>	0,639	0,0001	$y=0,090 + x \cdot 0,0053$	0,0007 <sup>b2</sup>	0,792	0,00001
G/P	♀	$y=0,459 + x \cdot 0,0129$	0,0019 <sup>a1</sup>	0,787	0,00001	$y=0,261 + x \cdot 0,0083$	0,0025 <sup>a1</sup>	0,531	0,0043
	♂	$y=0,393 + x \cdot 0,0106$	0,0022 <sup>a1</sup>	0,672	0,0001	$y=0,513 + x \cdot 0,0157$	0,0022 <sup>b2</sup>	0,803	0,00001

(A) : Ecuaciones de regresión de cada una de las variables dependientes (y) con el tiempo (x).

e.p.: error estándar de la pendiente media del grupo.

r : coeficiente de correlación lineal de Pearson.

sig. : significación de la correlación; NS si  $p > 0,01$ .

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas entre las pendientes de cada sexo dentro de una misma dieta y para cada variable. Los superíndices con números distintos indican diferencias significativas entre las pendientes de cada dieta y para un mismo sexo en cada una de las variables dependientes (según análisis *Dummy Variables*).

4.2.2. EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE HORMONA DE CRECIMIENTO (rhGH), DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PESO VACÍO: VALORES PORCENTUALES O RELATIVOS (R) Y VALORES ABSOLUTOS (A) DE **Humedad (HR)** y (HA), **Grasa (GR)** y (GA), **Proteína (PR)** y (PA), **Cenizas (CR)** y (CA); SOBRE LOS PARÁMETROS: **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)**, **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)**, **Velocidad de Acreción Proteica Global (VAPG)**, **Velocidad de Acreción Grasa Global (VAGG)**. Y SOBRE LAS RELACIONES: **Proteína/Cenizas (P/C)**, **Proteína/Humedad (P/H)**, **Grasa/Humedad (G/H)** y **Grasa/Proteína (G/P)** POR *comparación* ENTRE RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON rhGH, DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% Y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 43-54)

El TRATAMIENTO y la EDAD son los factores que presentan las mayores influencias significativas sobre los parámetros estudiados según el ANOVA de tres factores (tablas 49 y 50).

La comparación de los resultados de la composición corporal entre los animales NT y T indica los efectos de la administración exógena de la hormona de crecimiento según la comparación LSD (tablas 43, 44, 45, 46, 47 y 48). Se puede apreciar en general las dos fases características de la respuesta, con disminuciones generalizadas de casi todas las variables estudiadas entre los días 25 y 35 de vida,

que puede prolongarse hasta el día 40, ó el día 50 en algunos casos, seguida entre los días 35-40 de vida de una fase de recuperación al mismo nivel o superior al de los valores de los animales NT.

Se observan, por lo tanto, en la primera etapa (25-35 días) descensos en los valores de HA, PA, INPCG, VAPG (tablas 44 y 45), GR, GA, INGCG y VAGG (tablas 45 y 46) en todos los animales T respecto de los NT, aunque las pérdidas más profundas y persistentes las registran el grupo ♂ 12% T que prolonga durante toda la experiencia la caída de los valores de HA, PA, INPCG, GA, VAPG y CA, y el grupo ♀ 20% T cuyos componentes: GR, GA, INGCG y VAGG también disminuyen a lo largo del experimento.

Los valores de CR y CA (tabla 47) presentan modificaciones más aleatorias y con caídas más pronunciadas en los animales del 12% de proteína especialmente en el grupo ♀ 12% T, mientras que los grupos de mayor nivel proteico presentan incrementos puntuales de estas variables. Incrementos en las variables HR y PR (tabla 43) también se producen en todos los animales T respecto de los NT, menos en el grupo ♂ 12% T, en el que no se alteran.

Por el contrario, la recuperación de los componentes se verifica entre los 35 y 50 días de vida incrementándose las variables: HA, PA, INPCG, GR, GA, INGCG, VAPG y VAGG, a excepción del grupo ♂ 12% T en el que no se recuperan los valores antes mencionados. También las variables relacionadas con la grasa permanecen disminuidas en el grupo ♀ 20% T.

La profunda pérdida de la grasa respecto al agua y a la proteína induce la caída generalizada de las razones G/H y G/P en todos los grupos de animales T, aunque las menores modificaciones se observan en el grupo ♂ 12% T (tabla 48). Los

cambios en las razones P/C y P/H son más aleatorias, dependiendo de la dieta y del sexo de cada grupo (tablas 47 y 48).

Del estudio de las pendientes de las rectas de regresión (tablas 51, 52, 53 y 54) se deduce, que los animales T sometidos al 12% de proteína, presentan en general velocidades de depósito de sus componentes corporales iguales a las de los animales NT, a excepción de los valores HR, PR y relación P/C del grupo ♀ 12% T, que presentan un descenso más rápido (pendientes más negativas) (tablas 51 y 53), mientras que los valores de INPCG, GR, INGCG, VAGG y las razones G/H y G/P crecen más de prisa en el tiempo (tablas 51, 52 y 54). Asimismo, los valores de CA, VAGG y la razón P/C crece y decrecen menos, respectivamente, en el grupo ♂ 12% T en relación a su control NT (tablas 52 y 53).

Los mismos resultados que en el grupo ♀ 12% T se observan en los animales ♂ 20% T respecto de sus controles, aunque en este caso, también el valor absoluto de grasa se incrementa más rápidamente. En el grupo ♀ 20% T se observa un aumento temporal de los depósitos de HA, PA, INPCG y CA en relación al grupo ♀ 20% NT (tablas 51, 52 y 53), aunque crece con menos velocidad el INGCG. Todos estos resultados confirman el efecto de la interacción EDADxDIETA (tablas 49 y 50).

La DIETA no tiene efecto significativo en los valores porcentuales de humedad y grasa, ni sobre las relaciones G/H y G/P. Tampoco resulta relevante su efecto sobre el valor de cenizas absolutas. Por último, el SEXO no tiene efectos significativos sobre las variables HR, PA, INPCG, VAPG, CR, CA y P/H (tablas 49 y 50). El resto de las interacciones presenta poca influencia sobre estos parámetros.

Tabla 43. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Humedad Relativa** (HR) y de **Proteína Relativa** (PR) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	<b>Humedad Relativa (HR) (%)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	61,1 ± 0,3*	62,2 ± 0,3*	62,9 ± 0,3*	64,1 ± 0,4*	60,3 ± 0,7*	62,5 ± 0,4	62,7 ± 0,3*	63,7 ± 0,3
Día 30	56,7 ± 0,5*	62,6 ± 0,4	60,3 ± 0,5*	63,4 ± 0,5	55,9 ± 0,3*	62,1 ± 0,2*	59,9 ± 0,2*	64,6 ± 0,2*
Día 35	59,0 ± 0,1	62,4 ± 0,5	60,6 ± 0,6	61,7 ± 0,5	59,4 ± 1,1	63,0 ± 0,4	60,1 ± 0,1	63,4 ± 0,3
Día 40	59,0 ± 0,6*	59,3 ± 0,4	61,4 ± 0,4*	60,5 ± 0,6	56,4 ± 0,5*	60,0 ± 0,5*	62,1 ± 0,5*	63,0 ± 0,2*
Día 45	56,3 ± 0,4*	59,1 ± 0,5	59,2 ± 0,4*	59,6 ± 0,6	58,4 ± 0,8*	64,1 ± 0,7*	60,9 ± 0,4*	61,7 ± 0,3*
Día 50	59,1 ± 0,4	60,1 ± 0,8	57,7 ± 0,3	61,6 ± 0,4	53,7 ± 1,2*	58,3 ± 0,5	57,8 ± 0,8*	57,0 ± 0,4

	<b>Proteína Relativa (PR) (%)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	20,9 ± 0,27*	21,7 ± 0,23	21,9 ± 0,07*	22,2 ± 0,14	21,4 ± 0,18	22,4 ± 0,10	21,7 ± 0,14	22,2 ± 0,16
Día 30	19,3 ± 0,32*	21,8 ± 0,25	21,0 ± 0,14*	21,8 ± 0,03	20,1 ± 0,07*	21,7 ± 0,22*	20,8 ± 0,16*	22,2 ± 0,05*
Día 35	20,1 ± 0,23*	21,3 ± 0,33	20,8 ± 0,04*	21,0 ± 0,09	20,8 ± 0,10	21,7 ± 0,09	20,9 ± 0,19	21,6 ± 0,13
Día 40	20,1 ± 0,25	20,5 ± 0,12	20,5 ± 0,20	20,6 ± 0,18	20,2 ± 0,24*	21,2 ± 0,21	20,9 ± 0,17*	21,3 ± 0,24
Día 45	19,1 ± 0,22*	19,8 ± 0,22	19,9 ± 0,13*	20,1 ± 0,06	20,5 ± 0,27	22,0 ± 0,25*	20,8 ± 0,23	21,2 ± 0,16*
Día 50	19,8 ± 0,26	20,1 ± 0,28	19,8 ± 0,23	20,8 ± 0,38	19,2 ± 0,38*	20,4 ± 0,18	20,2 ± 0,31*	19,7 ± 0,14

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo (LSD).

Tabla 44. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)** e **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	<b>Humedad Absoluta (HA) (g)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	4,76 ± 0,08	5,37 ± 0,32*	4,96 ± 0,11	4,81 ± 0,12*	5,25 ± 0,14*	5,83 ± 0,29*	4,49 ± 0,19*	4,88 ± 0,07*
Día 30	6,27 ± 0,15*	6,09 ± 0,09*	5,00 ± 0,14*	5,31 ± 0,15*	6,03 ± 0,16*	5,79 ± 0,20	4,37 ± 0,12*	5,47 ± 0,17
Día 35	6,05 ± 0,20	6,33 ± 0,26	5,67 ± 0,20	5,76 ± 0,14	6,45 ± 0,10*	6,78 ± 0,27	5,55 ± 0,37*	6,30 ± 0,20
Día 40	6,40 ± 0,16*	6,26 ± 0,18	5,39 ± 0,16*	5,71 ± 0,15	6,96 ± 0,20*	6,78 ± 0,28	6,25 ± 0,21*	6,48 ± 0,19
Día 45	6,22 ± 0,23	6,36 ± 0,16	5,69 ± 0,19	6,11 ± 0,13	7,69 ± 0,28	8,33 ± 0,43	7,02 ± 0,29	7,67 ± 0,36
Día 50	6,99 ± 0,30	7,65 ± 0,39*	6,53 ± 0,24	6,64 ± 0,19*	7,91 ± 0,22	8,29 ± 0,27	7,79 ± 0,27	7,55 ± 0,29

	<b>Proteína Absoluta (PA) (g)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	1,62 ± 0,02	1,87 ± 0,11*	1,73 ± 0,04	1,67 ± 0,04*	1,86 ± 0,06*	2,09 ± 0,05*	1,55 ± 0,06*	1,70 ± 0,02*
Día 30	2,13 ± 0,04*	2,12 ± 0,02*	1,74 ± 0,05*	1,82 ± 0,06*	2,16 ± 0,06*	2,02 ± 0,05	1,52 ± 0,04*	1,88 ± 0,06
Día 35	2,06 ± 0,07	2,16 ± 0,08	1,95 ± 0,08	1,96 ± 0,05	2,27 ± 0,05*	2,33 ± 0,07	1,93 ± 0,13*	2,15 ± 0,07
Día 40	2,17 ± 0,05*	2,17 ± 0,06*	1,80 ± 0,06*	1,95 ± 0,04*	2,50 ± 0,09*	2,40 ± 0,07	2,11 ± 0,09*	2,19 ± 0,08
Día 45	2,12 ± 0,10	2,13 ± 0,08	1,92 ± 0,07	2,06 ± 0,04	2,70 ± 0,10	2,87 ± 0,11	2,40 ± 0,12	2,64 ± 0,12
Día 50	2,35 ± 0,12	2,56 ± 0,14*	2,24 ± 0,08	2,25 ± 0,07*	2,84 ± 0,08	2,90 ± 0,08	2,72 ± 0,10	2,61 ± 0,10

	<b>Incremento Proteico Corporal Global (INPCG) (g)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,255 ± 0,017*	0,391 ± 0,018*	0,203 ± 0,025*	0,164 ± 0,027*	0,233 ± 0,055	0,349 ± 0,010*	0,251 ± 0,027	0,213 ± 0,019*
Día 30	0,370 ± 0,032*	0,295 ± 0,047	0,205 ± 0,023*	0,228 ± 0,035	0,515 ± 0,021*	0,409 ± 0,035*	0,317 ± 0,047*	0,226 ± 0,051*
Día 35	0,318 ± 0,020*	0,434 ± 0,041*	0,405 ± 0,036*	0,335 ± 0,036*	0,659 ± 0,059*	0,546 ± 0,026*	0,470 ± 0,042*	0,397 ± 0,025*
Día 40	0,469 ± 0,036	0,571 ± 0,062*	0,456 ± 0,038	0,444 ± 0,052*	0,945 ± 0,110	0,781 ± 0,055*	0,752 ± 0,082	0,628 ± 0,060*
Día 45	0,587 ± 0,034	0,576 ± 0,094	0,556 ± 0,040	0,543 ± 0,027	0,991 ± 0,025	0,934 ± 0,066	0,989 ± 0,115	0,912 ± 0,063
Día 50	0,632 ± 0,045*	0,796 ± 0,079*	0,761 ± 0,055*	0,575 ± 0,057*	1,045 ± 0,076*	0,982 ± 0,133	1,398 ± 0,101*	1,126 ± 0,096

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo (LSD).

Tabla 45. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG)** y **Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	<b>Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG) (g/día)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,051 ± 0,003*	0,078 ± 0,003*	0,040 ± 0,005*	0,032 ± 0,005*	0,046 ± 0,011	0,070 ± 0,002*	0,050 ± 0,005	0,042 ± 0,003*
Día 30	0,037 ± 0,003*	0,029 ± 0,004	0,020 ± 0,002*	0,022 ± 0,003	0,051 ± 0,002*	0,041 ± 0,003*	0,031 ± 0,004*	0,022 ± 0,005*
Día 35	0,021 ± 0,001*	0,029 ± 0,002*	0,027 ± 0,002*	0,022 ± 0,002*	0,044 ± 0,003*	0,036 ± 0,002*	0,031 ± 0,002*	0,026 ± 0,001*
Día 40	0,023 ± 0,002	0,028 ± 0,003*	0,022 ± 0,002	0,022 ± 0,002*	0,047 ± 0,005*	0,039 ± 0,002*	0,037 ± 0,004*	0,031 ± 0,002*
Día 45	0,023 ± 0,001	0,023 ± 0,003	0,022 ± 0,001	0,021 ± 0,001	0,039 ± 0,001	0,037 ± 0,002	0,039 ± 0,004	0,036 ± 0,002
Día 50	0,021 ± 0,001*	0,026 ± 0,002*	0,025 ± 0,002*	0,019 ± 0,002*	0,034 ± 0,002*	0,032 ± 0,004	0,046 ± 0,003*	0,037 ± 0,003

	<b>Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG) (g/día)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,060 ± 0,004	0,069 ± 0,004*	0,060 ± 0,006	0,039 ± 0,007*	0,062 ± 0,016*	0,048 ± 0,001*	0,039 ± 0,004*	0,037 ± 0,003*
Día 30	0,058 ± 0,005*	0,029 ± 0,004	0,026 ± 0,003*	0,027 ± 0,004	0,077 ± 0,003*	0,028 ± 0,002*	0,024 ± 0,003*	0,019 ± 0,004*
Día 35	0,031 ± 0,002*	0,029 ± 0,002	0,038 ± 0,003*	0,029 ± 0,003	0,063 ± 0,005*	0,025 ± 0,001	0,024 ± 0,001*	0,025 ± 0,001
Día 40	0,035 ± 0,002	0,029 ± 0,003	0,030 ± 0,003	0,032 ± 0,004	0,074 ± 0,008*	0,027 ± 0,002	0,031 ± 0,003*	0,032 ± 0,003
Día 45	0,036 ± 0,002*	0,023 ± 0,003*	0,029 ± 0,002*	0,032 ± 0,002*	0,064 ± 0,003*	0,027 ± 0,002*	0,034 ± 0,003*	0,041 ± 0,003*
Día 50	0,032 ± 0,002*	0,029 ± 0,003	0,039 ± 0,003*	0,029 ± 0,003	0,063 ± 0,002*	0,024 ± 0,003*	0,041 ± 0,003*	0,046 ± 0,005*

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo (LSD).

Tabla 46. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Grasa Relativa (GR)**, **Grasa Absoluta (GA)** e **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** en ratones BALB/c *No Tratados (NT)* y *Tratados (T)* con rh-GH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

<b>Grasa Relativa (GR) (%)</b>									
	12%				20%				
	NT		T		NT		T		
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	
Día 25	13,1 ± 0,4*	11,6 ± 0,4*	10,7 ± 0,4*	9,1 ± 0,5*	14,0 ± 0,9*	11,2 ± 0,5	11,0 ± 0,4*	9,7 ± 0,4	
Día 30	18,8 ± 0,7*	11,1 ± 0,5	14,1 ± 0,7*	10,0 ± 0,7	19,8 ± 0,3*	11,7 ± 0,3*	14,6 ± 0,3*	8,5 ± 0,3*	
Día 35	15,8 ± 0,2	11,3 ± 0,7	13,8 ± 0,8	12,3 ± 0,7	15,3 ± 1,4	10,6 ± 0,6	14,3 ± 0,2	10,0 ± 0,3	
Día 40	15,7 ± 0,8*	15,4 ± 0,5	12,7 ± 0,5*	13,8 ± 0,8	19,2 ± 0,7*	14,5 ± 0,6*	11,8 ± 0,7*	10,5 ± 0,3*	
Día 45	19,3 ± 0,6*	15,6 ± 0,7	15,5 ± 0,5*	15,0 ± 0,8	16,6 ± 1,1*	9,1 ± 0,9*	13,3 ± 0,5*	12,2 ± 0,4*	
Día 50	15,6 ± 0,5	14,4 ± 1,1	17,5 ± 0,4	12,4 ± 0,5	22,7 ± 1,6*	16,6 ± 0,6	17,3 ± 1,1*	17,1 ± 0,7	

<b>Grasa Absoluta (GA) (g)</b>									
	12%				20%				
	NT		T		NT		T		
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	
Día 25	1,02 ± 0,04	1,00 ± 0,07*	0,85 ± 0,05	0,68 ± 0,03*	1,23 ± 0,11*	1,05 ± 0,10*	0,78 ± 0,03*	0,74 ± 0,03*	
Día 30	2,09 ± 0,13*	1,08 ± 0,07	1,17 ± 0,09*	0,84 ± 0,08	2,14 ± 0,09*	1,09 ± 0,03*	1,07 ± 0,06*	0,71 ± 0,03*	
Día 35	1,62 ± 0,03*	1,14 ± 0,07	1,30 ± 0,13*	1,15 ± 0,08	1,68 ± 0,20*	1,15 ± 0,10	1,33 ± 0,11*	0,99 ± 0,01	
Día 40	1,71 ± 0,11*	1,62 ± 0,06*	1,11 ± 0,05*	1,31 ± 0,10*	2,37 ± 0,14*	1,64 ± 0,06*	1,20 ± 0,12*	1,08 ± 0,03*	
Día 45	2,15 ± 0,14*	1,69 ± 0,12	1,49 ± 0,07*	1,54 ± 0,10	2,19 ± 0,18*	1,18 ± 0,12	1,54 ± 0,11*	1,51 ± 0,02	
Día 50	1,84 ± 0,06	1,81 ± 0,10*	1,98 ± 0,04	1,34 ± 0,09*	3,36 ± 0,31*	2,36 ± 0,10	2,34 ± 0,18*	2,28 ± 0,17	

<b>Incremento Graso Corporal Global (INGCG) (g)</b>									
	12%				20%				
	NT		T		NT		T		
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	
Día 25	0,301 ± 0,023	0,349 ± 0,022*	0,262 ± 0,039	0,195 ± 0,037*	0,312 ± 0,083*	0,242 ± 0,006*	0,197 ± 0,022*	0,186 ± 0,017*	
Día 30	0,586 ± 0,056*	0,294 ± 0,044	0,263 ± 0,034*	0,272 ± 0,048	0,770 ± 0,039*	0,282 ± 0,025*	0,245 ± 0,037*	0,198 ± 0,047*	
Día 35	0,472 ± 0,027*	0,445 ± 0,037	0,577 ± 0,059*	0,435 ± 0,052	0,948 ± 0,092*	0,387 ± 0,014	0,372 ± 0,025*	0,375 ± 0,020	
Día 40	0,718 ± 0,061	0,581 ± 0,069	0,599 ± 0,062	0,649 ± 0,093	1,491 ± 0,174*	0,556 ± 0,039	0,636 ± 0,073*	0,648 ± 0,075	
Día 45	0,904 ± 0,062*	0,584 ± 0,091*	0,745 ± 0,073*	0,799 ± 0,057*	1,604 ± 0,078*	0,680 ± 0,050*	0,849 ± 0,109*	1,036 ± 0,105*	
Día 50	0,976 ± 0,078*	0,879 ± 0,103	1,194 ± 0,116*	0,872 ± 0,110	1,894 ± 0,083*	0,722 ± 0,104*	1,257 ± 0,097*	1,380 ± 0,174*	

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo (LSD).

Tabla 47. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)** y **Relación Proteína/Cenizas (P/C)** en ratones BALB/c *No Tratados (NT)* y *Tratados (T)* con rh-GH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

	<b>Cenizas Relativas (CR) (%)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	4,8 ± 0,21*	4,3 ± 0,14	4,3 ± 0,11*	4,4 ± 0,07	4,1 ± 0,16	3,7 ± 0,06*	4,5 ± 0,16	4,3 ± 0,11*
Día 30	5,0 ± 0,28*	4,3 ± 0,14	4,4 ± 0,08*	4,6 ± 0,15	4,0 ± 0,08*	4,3 ± 0,17	4,5 ± 0,19*	4,5 ± 0,06
Día 35	4,9 ± 0,21	4,8 ± 0,23	4,7 ± 0,17	4,9 ± 0,13	4,3 ± 0,23	4,6 ± 0,11	4,5 ± 0,21	4,7 ± 0,11
Día 40	5,0 ± 0,07	4,6 ± 0,13	5,3 ± 0,12	4,9 ± 0,19	4,0 ± 0,23*	4,1 ± 0,12*	5,0 ± 0,22*	5,0 ± 0,22*
Día 45	5,1 ± 0,25	5,3 ± 0,38	5,2 ± 0,15	5,1 ± 0,20	4,4 ± 0,07	4,5 ± 0,17	4,8 ± 0,22	4,7 ± 0,15
Día 50	5,2 ± 0,19	5,3 ± 0,14	4,8 ± 0,21	5,0 ± 0,32	4,2 ± 0,14	4,4 ± 0,09	4,5 ± 0,15	4,6 ± 0,01

	<b>Cenizas Absolutas (CA) (g)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,379 ± 0,023	0,376 ± 0,025	0,345 ± 0,012	0,330 ± 0,005	0,358 ± 0,007	0,351 ± 0,017	0,323 ± 0,018	0,331 ± 0,010
Día 30	0,564 ± 0,043*	0,428 ± 0,021	0,371 ± 0,007*	0,389 ± 0,007	0,440 ± 0,007*	0,408 ± 0,022	0,333 ± 0,016*	0,388 ± 0,012
Día 35	0,509 ± 0,026*	0,487 ± 0,031	0,444 ± 0,015*	0,458 ± 0,007	0,471 ± 0,016	0,496 ± 0,018	0,416 ± 0,029	0,474 ± 0,016
Día 40	0,547 ± 0,019*	0,492 ± 0,019	0,467 ± 0,009*	0,466 ± 0,026	0,499 ± 0,022	0,467 ± 0,009*	0,508 ± 0,016	0,515 ± 0,016*
Día 45	0,565 ± 0,015*	0,574 ± 0,030	0,504 ± 0,011*	0,526 ± 0,020	0,578 ± 0,017	0,592 ± 0,014	0,555 ± 0,020	0,584 ± 0,029
Día 50	0,620 ± 0,010*	0,674 ± 0,023*	0,552 ± 0,029*	0,542 ± 0,038*	0,628 ± 0,018	0,634 ± 0,011	0,612 ± 0,020	0,618 ± 0,031

	<b>Relación Proteína/Cenizas (P/C) (g/g)</b>							
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	4,35 ± 0,22*	5,01 ± 0,22	5,03 ± 0,14*	5,05 ± 0,10	5,21 ± 0,21	5,95 ± 0,10*	4,84 ± 0,20	5,16 ± 0,16*
Día 30	3,86 ± 0,26*	5,00 ± 0,22	4,71 ± 0,09*	4,69 ± 0,16	4,93 ± 0,10	5,00 ± 0,23	4,60 ± 0,24	4,85 ± 0,06
Día 35	4,09 ± 0,24	4,51 ± 0,29	4,41 ± 0,16	4,29 ± 0,11	4,85 ± 0,27	4,72 ± 0,12	4,69 ± 0,27	4,55 ± 0,12
Día 40	3,99 ± 0,10	4,43 ± 0,15	3,85 ± 0,12	4,22 ± 0,20	5,06 ± 0,32*	5,14 ± 0,19*	4,17 ± 0,20*	4,28 ± 0,24*
Día 45	3,77 ± 0,21	3,77 ± 0,29	3,81 ± 0,13	3,94 ± 0,16	4,67 ± 0,11	4,83 ± 0,21	4,35 ± 0,25	4,54 ± 0,18
Día 50	3,79 ± 0,18	3,80 ± 0,13	4,10 ± 0,21	4,25 ± 0,37	4,53 ± 0,18	4,58 ± 0,12	4,46 ± 0,18	4,22 ± 0,04

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo (LSD).

Tabla 48. Influencia del TRATAMIENTO sobre los valores de **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

<b>Relación Proteína/Humedad (P/H) (g/g)</b>								
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,342 ± 0,003*	0,349 ± 0,002	0,349 ± 0,002*	0,347 ± 0,001	0,354 ± 0,002*	0,358 ± 0,001*	0,347 ± 0,002*	0,349 ± 0,001*
Día 30	0,341 ± 0,004*	0,348 ± 0,002	0,349 ± 0,001*	0,343 ± 0,002	0,359 ± 0,001*	0,349 ± 0,002	0,348 ± 0,003*	0,344 ± 0,001
Día 35	0,341 ± 0,003	0,342 ± 0,003	0,344 ± 0,003	0,341 ± 0,002	0,352 ± 0,004	0,344 ± 0,002	0,348 ± 0,003	0,342 ± 0,001
Día 40	0,341 ± 0,001*	0,347 ± 0,002	0,334 ± 0,002*	0,341 ± 0,003	0,359 ± 0,003*	0,354 ± 0,002*	0,338 ± 0,003*	0,337 ± 0,003*
Día 45	0,340 ± 0,004	0,334 ± 0,006	0,336 ± 0,002	0,338 ± 0,003	0,352 ± 0,001*	0,344 ± 0,002	0,342 ± 0,003*	0,344 ± 0,002
Día 50	0,336 ± 0,003	0,335 ± 0,002	0,344 ± 0,003	0,338 ± 0,004	0,358 ± 0,002*	0,350 ± 0,001	0,349 ± 0,002*	0,346 ± 0,001

<b>Relación Grasa/Humedad (G/H) (g/g x1000)</b>								
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	214 ± 8*	187 ± 9*	171 ± 8*	143 ± 10*	234 ± 18*	180 ± 11	176 ± 8*	153 ± 8
Día 30	333 ± 17*	177 ± 10	235 ± 15*	159 ± 13	356 ± 9*	190 ± 5*	244 ± 7*	131 ± 6*
Día 35	269 ± 5	182 ± 14	228 ± 17	200 ± 13	261 ± 30	170 ± 11	239 ± 5	159 ± 7
Día 40	268 ± 17*	260 ± 11	207 ± 10*	230 ± 16	341 ± 16*	243 ± 13*	191 ± 14*	168 ± 6*
Día 45	345 ± 14*	266 ± 15	263 ± 10*	253 ± 16	286 ± 24*	143 ± 16*	219 ± 12*	199 ± 9*
Día 50	265 ± 11	241 ± 23	305 ± 9	202 ± 10	426 ± 40*	286 ± 15	302 ± 25*	299 ± 16

<b>Relación Grasa/Proteína (G/P) (g/g)</b>								
	12%				20%			
	NT		T		NT		T	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Día 25	0,627 ± 0,028*	0,536 ± 0,027*	0,490 ± 0,022*	0,413 ± 0,029*	0,660 ± 0,047*	0,502 ± 0,029	0,508 ± 0,022*	0,439 ± 0,022
Día 30	0,978 ± 0,050*	0,510 ± 0,031	0,673 ± 0,041*	0,461 ± 0,033	0,989 ± 0,022*	0,544 ± 0,019*	0,702 ± 0,018*	0,382 ± 0,017*
Día 35	0,788 ± 0,018*	0,533 ± 0,043	0,662 ± 0,042*	0,586 ± 0,035	0,737 ± 0,073	0,492 ± 0,029	0,686 ± 0,013	0,465 ± 0,020
Día 40	0,788 ± 0,050*	0,750 ± 0,028	0,621 ± 0,032*	0,672 ± 0,043	0,948 ± 0,040*	0,687 ± 0,037*	0,565 ± 0,037*	0,496 ± 0,019*
Día 45	1,013 ± 0,036*	0,791 ± 0,030	0,781 ± 0,028*	0,745 ± 0,041	0,814 ± 0,065*	0,415 ± 0,046*	0,639 ± 0,032*	0,578 ± 0,025*
Día 50	0,790 ± 0,035	0,718 ± 0,065*	0,886 ± 0,026	0,597 ± 0,034*	1,187 ± 0,107*	0,517 ± 0,041	0,863 ± 0,069*	0,868 ± 0,046

(n=5, x ± error estándar de la media, p<0,05) \* indica diferencias significativas entre tratamientos para una misma edad, una misma dieta y un mismo sexo.

Tabla 49. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre **Humedad Relativa (HR)**, **Proteína Relativa (PR)**, **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)**, **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG)**, **Grasa Relativa (GR)**, **Grasa Absoluta (GA)** e **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	HR	PR	HA	PA	INPCG	VAPG	VAGG	GR	GA	INGCG
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
T	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,020
D	NS	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,008	NS	0,002	0,005
S	NS	0,0001	0,027	NS	NS	NS	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
ExT	0,016	NS	NS	NS	0,0001	0,0001	0,002	0,024	0,013	NS
ExD	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,006	0,022	0,0001	0,0001	0,006
TxD	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,003	NS	NS	NS
TxS	0,002	0,003	0,003	NS	NS	0,027	0,0001	0,002	0,004	0,001
DxS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,001	NS	NS	0,025
ExTxD	NS	NS	NS	NS	0,003	0,007	NS	NS	NS	NS
TxDxS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,0001	NS	NS	0,001

\* NS (No Significativo, p>0,05)

Tabla 50. Influencia de la EDAD, la DIETA, el SEXO y sus interacciones sobre **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)**, **Relación Proteína/Cenizas (P/C)**, **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

ANOVA DE 3 FACTORES (2x2x6)\*

	CR	CA	P/C	P/H	G/H	G/P
E	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
T	0,002	0,002	NS	0,0001	0,0001	0,0001
D	0,0001	NS	0,0001	0,0001	NS	NS
S	NS	NS	0,006	NS	0,0001	0,0001
ExT	0,006	0,010	NS	0,003	0,038	NS
ExD	NS	0,0001	NS	NS	0,0001	0,0001
TxD	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	NS	NS
TxS	NS	NS	NS	NS	0,001	0,001
DxS	NS	NS	NS	0,036	NS	NS
ExTxD	NS	NS	NS	NS	NS	NS
TxDxS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

\* NS (No Significativo,  $p > 0,05$ )

Tabla 51. Pendientes de las ecuaciones lineales versus tiempo de los valores de **Humedad Relativa (HR)**, **Proteína Relativa (PR)**, **Humedad Absoluta (HA)**, **Proteína Absoluta (PA)** e **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		NT		T		NT		T	
		pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.
HR	♀	-0,063	0,039*	-0,163	0,028*	-0,163	0,054	-0,110	0,035
	♂	-0,139	0,031	-0,143	0,031	-0,101	0,044*	-0,240	0,034*
PR	♀	-0,032	0,016*	-0,080	0,007*	-0,056	0,014	-0,042	0,010
	♂	-0,085	0,012	-0,069	0,011	-0,052	0,012*	-0,090	0,010*
HA	♀	0,064	0,012	0,055	0,009	0,107	0,008*	0,143	0,012*
	♂	0,069	0,013	0,065	0,007	0,113	0,015	0,115	0,011
PA	♀	0,021	0,004	0,016	0,003	0,038	0,003*	0,049	0,004*
	♂	0,020	0,004	0,020	0,002	0,032	0,005	0,039	0,004
INPCG	♀	0,0153	0,0017*	0,0222	0,0019*	0,0329	0,0033*	0,0459	0,0039*
	♂	0,0171	0,0031	0,0177	0,0018	0,0284	0,0031*	0,0391	0,0030*

pendiente: pendiente de la recta de regresión entre el tiempo y cada una de las variables especificadas.

e.p. : error estándar de la pendiente media del grupo.

\* : indica diferencias significativas entre las pendientes de los dos tratamientos (NT y T) para una misma dieta y un mismo sexo (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 52. Pendientes de las ecuaciones lineales versus tiempo de los valores de **Velocidad Absoluta de Crecimiento Proteico Global (VAPG)**, **Velocidad Absoluta de Crecimiento Graso Global (VAGG)**, **Grasa Relativa (GR)**, **Grasa Absoluta (GA)** e **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		NT		T		NT		T	
		pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.
VAPG	♀	-0,00107	0,00017	-0,00043	0,00017	-0,00052	0,00025	0,00006	0,00024
	♂	-0,00159	0,00033	-0,00040	0,00015	-0,00111	0,00022	0,00011	0,00021
VAGG	♀	-0,00115	0,00022*	-0,00035	0,00027*	-0,00013	0,00039	0,00027	0,00021
	♂	-0,00126	0,00030*	-0,00018	0,00022*	-0,00070	0,00015*	0,00066	0,00024*
GR	♀	0,082	0,051*	0,213	0,036*	0,212	0,070	0,144	0,046
	♂	0,181	0,041	0,187	0,041	0,132	0,057*	0,277	0,039*
GA	♀	0,025	0,008	0,036	0,005	0,065	0,011	0,051	0,006
	♂	0,036	0,004	0,031	0,004	0,041	0,007*	0,058	0,006*
INGCG	♀	0,0261	0,0029*	0,0350	0,0038*	0,0626	0,0048*	0,0421	0,0037*
	♂	0,0208	0,0034*	0,0295	0,0032*	0,0215	0,0024*	0,0500	0,0048*

pendiente: pendiente de la recta de regresión entre el tiempo y cada una de las variables especificadas.

e.p. : error estándar de la pendiente media del grupo.

\* : indica diferencias significativas entre las pendientes de los dos tratamientos (NT y T) para una misma dieta y un mismo sexo (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 53. Pendientes de las ecuaciones lineales versus tiempo de los valores de **Cenizas Relativas (CR)**, **Cenizas Absolutas (CA)** y **Relación Proteína/Cenizas (P/C)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria, entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		NT		T		NT		T	
		pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.
CR	♀	0,0136	0,0095	0,0312	0,0083	0,0076	0,0076	0,0090	0,0095
	♂	0,0430	0,0100	0,0257	0,0088	0,0214	0,0076	0,0132	0,0069
CA	♀	0,0071	0,0014	0,0083	0,0007	0,0102	0,0007*	0,0125	0,0009*
	♂	0,0110	0,0012*	0,0084	0,0009*	0,0110	0,0009	0,0117	0,0009
P/C	♀	-0,018	0,009*	-0,045	0,008*	-0,022	0,009	-0,018	0,010
	♂	-0,056	0,010*	-0,036	0,009*	-0,033	0,009	-0,033	0,007

pendiente: pendiente de la recta de regresión entre el tiempo y cada una de las variables especificadas.

e.p. : error estándar de la pendiente media del grupo.

\* : indica diferencias significativas entre las pendientes de los dos tratamientos (NT y T) para una misma dieta y un mismo sexo (según análisis *Dummy Variables*).

Tabla 54. Pendientes de las ecuaciones lineales versus tiempo de los valores de **Relación Proteína/Humedad (P/H)**, **Relación Grasa/Humedad (G/H)** y **Relación Grasa/Proteína (G/P)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre 25 y 50 días de vida.

variable	sexo	12%				20%			
		NT		T		NT		T	
		pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.	pendiente	e.p.
P/H	♀	-0,00018	0,00016	-0,00040	0,00015	0,00002	0,00016	-0,00006	0,00016
	♂	-0,00060	0,00017	-0,00031	0,00014	-0,00025	0,00013	-0,00011	0,00011
G/H	♀	0,0016	0,0010*	0,0041	0,0007*	0,0047	0,0015	0,0028	0,0009
	♂	0,0035	0,0008	0,0034	0,0007	0,0026	0,0010*	0,0053	0,0007*
G/P	♀	0,0052	0,0031*	0,0129	0,008*	0,0132	0,0041	0,0083	0,0025
	♂	0,0112	0,0022	0,0106	0,009	0,0079	0,0030*	0,0157	0,0022*

pendiente: pendiente de la recta de regresión entre el tiempo y cada una de las variables especificadas.

e.p. : error estándar de la pendiente media del grupo.

\* : indica diferencias significativas entre las pendientes de los dos tratamientos (NT y T) para una misma dieta y un mismo sexo (según análisis *Dummy Variables*).

### 4.3. RELACIONES ALOMÉTRICAS

#### 4.3.1. RELACIONES ALOMÉTRICAS ENTRE EL PESO DE LOS COMPONENTES CORPORALES QUÍMICOS (HUMEDAD, GRASA, PROTEÍNA Y CENIZAS) Y EL PESO CORPORAL FINAL EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON rhGH.

(Gráficas 10-17)

Las relaciones entre estas variables se han investigado usando la ecuación alométrica,  $Y = a \cdot X^b$  descrita en el apartado de material y métodos, donde Y es el peso (g) de cada uno de los componentes, X es el peso corporal final (g),  $a$  el coeficiente de proporcionalidad y  $b$  el coeficiente alométrico.

En estas condiciones  $b$  estima "la contribución en porcentaje del crecimiento postnatal de Y al del total corporal " (Berg y Butterfield, 1977).

Las ecuaciones alométricas con coeficientes alométricos ( $b$ ) estimados para el peso de humedad, grasa, proteína y cenizas se presentan incorporados a los respectivos diagramas de dispersión, que muestran las curvas de regresión entre las variables estudiadas y el PCF, predichas por la ecuación alométrica correspondiente (gráficas 10, 12, 14 y 16). También se presenta la relación exponencial entre el porcentaje de los componentes corporales y el PCF (gráficas 11, 13, 15 y 17).

En la gráfica 10 (a y b) se observa que tanto en animales NT como T el peso de la humedad (HA) se incrementa a medida que lo hace el PCF, aunque dicho aumento se produce en menor proporción que el conjunto de los componentes del

PCF. Se aprecian diferencias sexuales en animales NT, diferencias de sexo y dieta en T así como el efecto del tratamiento sobre el grupo ♂ 12% T respecto de su control, según su coeficiente alométrico. Ello corresponde a un descenso paulatino en el porcentaje de agua a medida que aumenta el PCF (gráficas 11a y 11b).

La aportación de la proteína corporal al PCF resulta menor que el del conjunto de los otros componentes, aunque su depósito se incrementa a medida que aumenta el peso corporal, de acuerdo con los coeficientes alométricos de los animales estudiados que son menores que la unidad tanto en animales NT como en T (gráfica 12 a y b).

Este aumento de la proteína absoluta se corresponde con un leve descenso, con tendencia a la estabilización, del valor relativo de la proteína que es muy similar en todos los animales estudiados (gráfica 13 a y b).

De los diagramas de dispersión del peso absoluto de proteína frente al PCF y del valor de su coeficiente alométrico, se deduce que los grupos ♀ 20% NT y T (gráfica 12) presentan las mayores proporciones en aporte de proteína al PCF, dando lugar a diferencias de dieta y sexo (T) y de dieta (NT), siendo su crecimiento casi igual al aumento del peso corporal, aunque sus coeficientes de proporcionalidad ( $a$ ) son los más bajos. La GH induce un menor coeficiente alométrico en el grupo ♂ 12% T respecto a sus controles.

Los coeficientes alométricos del peso de la grasa en relación al PCF, resultan superiores a la unidad en animales NT y T (gráfica 14 a y b), lo que señala que el aporte de grasa al peso corporal durante el crecimiento es mayor que el resto de los componentes para todo el rango de pesos corporales obtenidos (alometría positiva). Los grupos ♀ 20% NT y ♀ 20% T incrementan sus lípidos en una mayor y menor

velocidad, respectivamente, que el resto de los animales con el mismo tratamiento. Por el contrario, los grupos ♂ 20% NT y ♂ 12% T aportan la menor y la mayor cantidad de grasa al PCF respectivamente, lo que indica diferencias en el aporte de grasa debidas a la dieta y al sexo en ambos grupos de animales NT y T (gráfica 14).

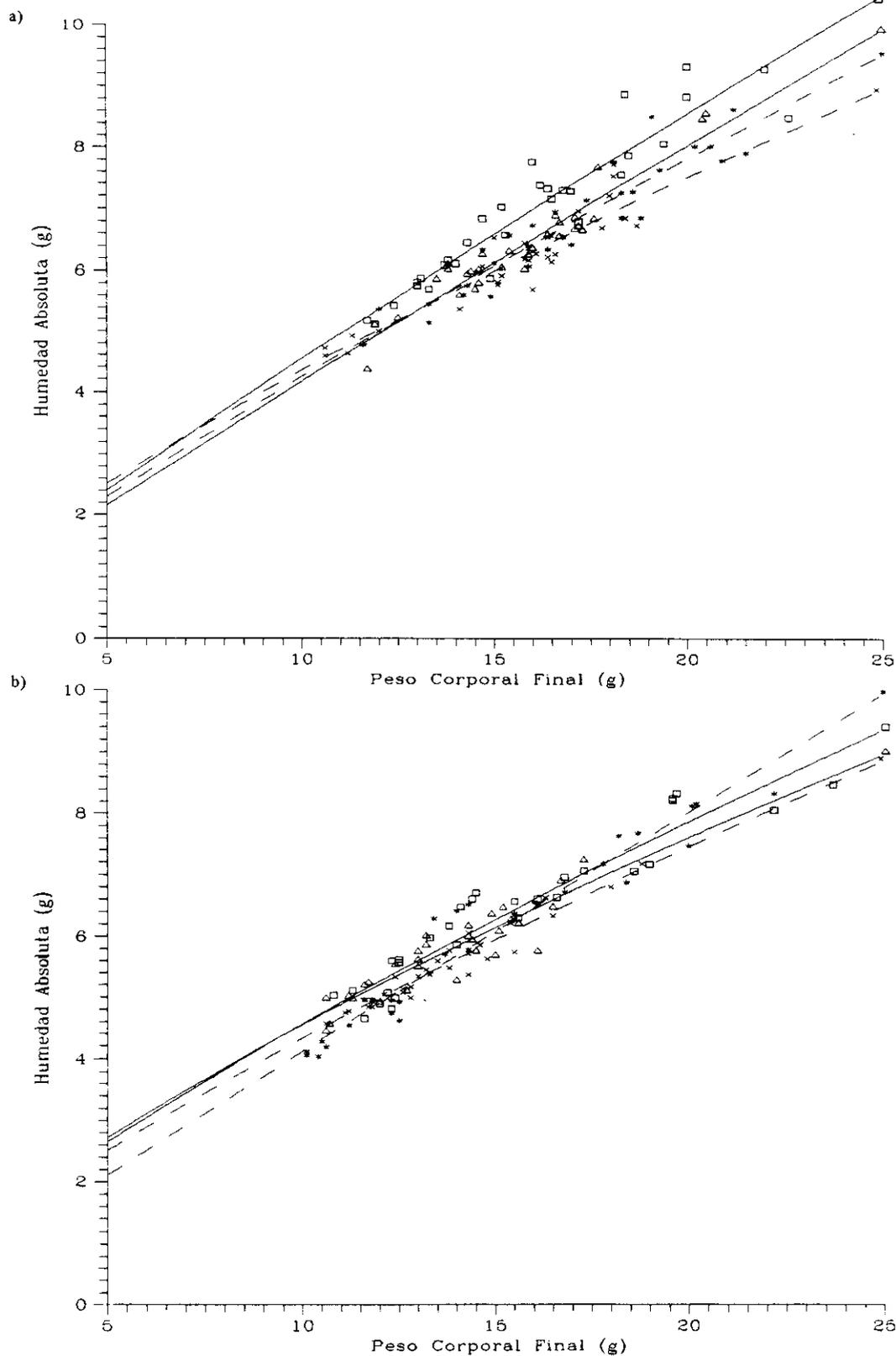
Ello se corresponde con el incremento paralelo del porcentaje de grasa a medida que crece el peso corporal en todos los animales estudiados, en especial en las hembras NT de ambas dietas (gráfica 15a) y en los animales ♀ y ♂ T sometidos a la dieta del 12% (gráfica 15b). Sin embargo, la alometría del componente graso entre los animales NT y T (gráfica 14 a y b) resulta significativamente diferente, produciendo una inversión en la tendencia sexual de dicho depósito en especial en los animales ♂ T respecto de los ♂ NT, lo que indica que el crecimiento de la grasa está influenciada por el tratamiento con GH.

En general, el porcentaje de grasa aumenta, mientras que el porcentaje de humedad disminuye, debido a que la pérdida porcentual de humedad se produce a expensas del incremento graso, lo que determina una alta correlación recíproca entre ambas variables ( $r=0,985$   $p<0,00001$ ).

El peso de las cenizas por su parte, aumenta en la misma proporción que el peso corporal, como indican los coeficientes alométricos de los grupos de animales NT y T, que alcanzan un valor aproximado a 1 (gráfica 16 a y b). Se exceptúa el aporte más rápido de la CA sobre el PCF del grupo ♂ 12% NT, cuyo coeficiente (1,42) se aparta considerablemente del valor medio antedicho, por lo que da lugar a diferencias de carácter sexual, dietario y de tratamiento. Como se puede observar, el valor de cenizas relativas tiende a la estabilidad según se incrementa el PCF (gráfica 17 a y b).

**Gráfica 10.** Relación entre la **Humedad Absoluta (HA)** y el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

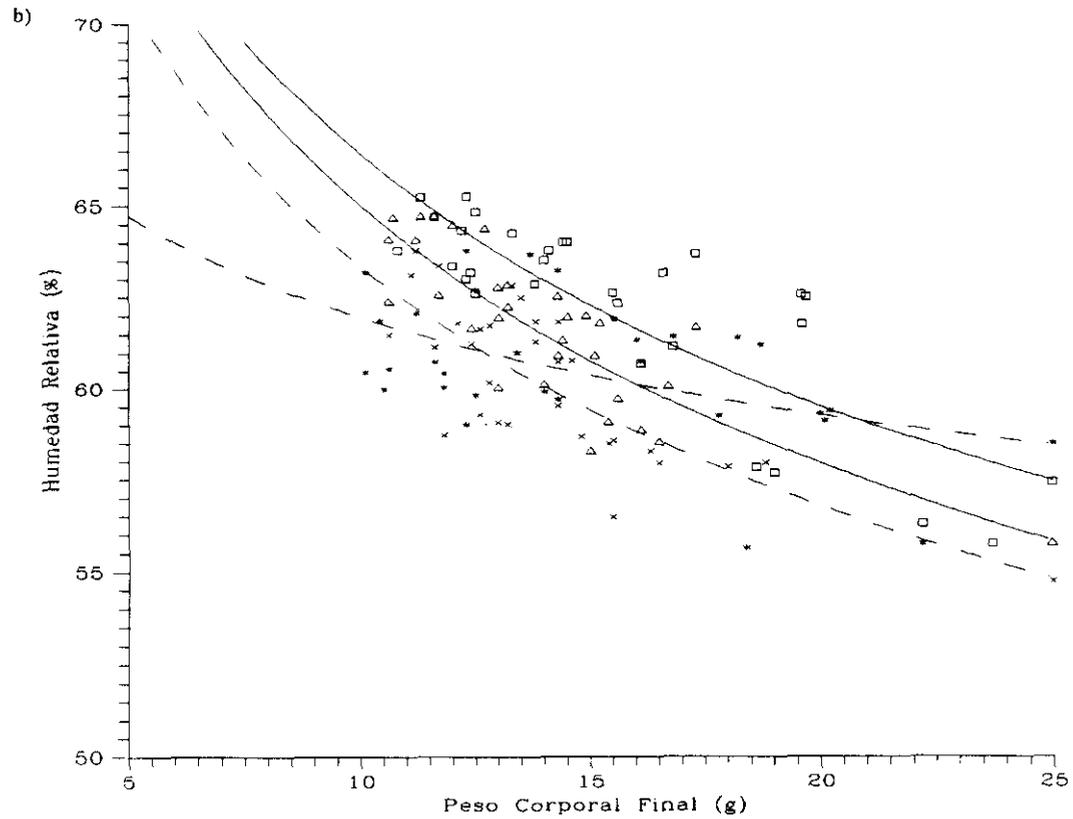
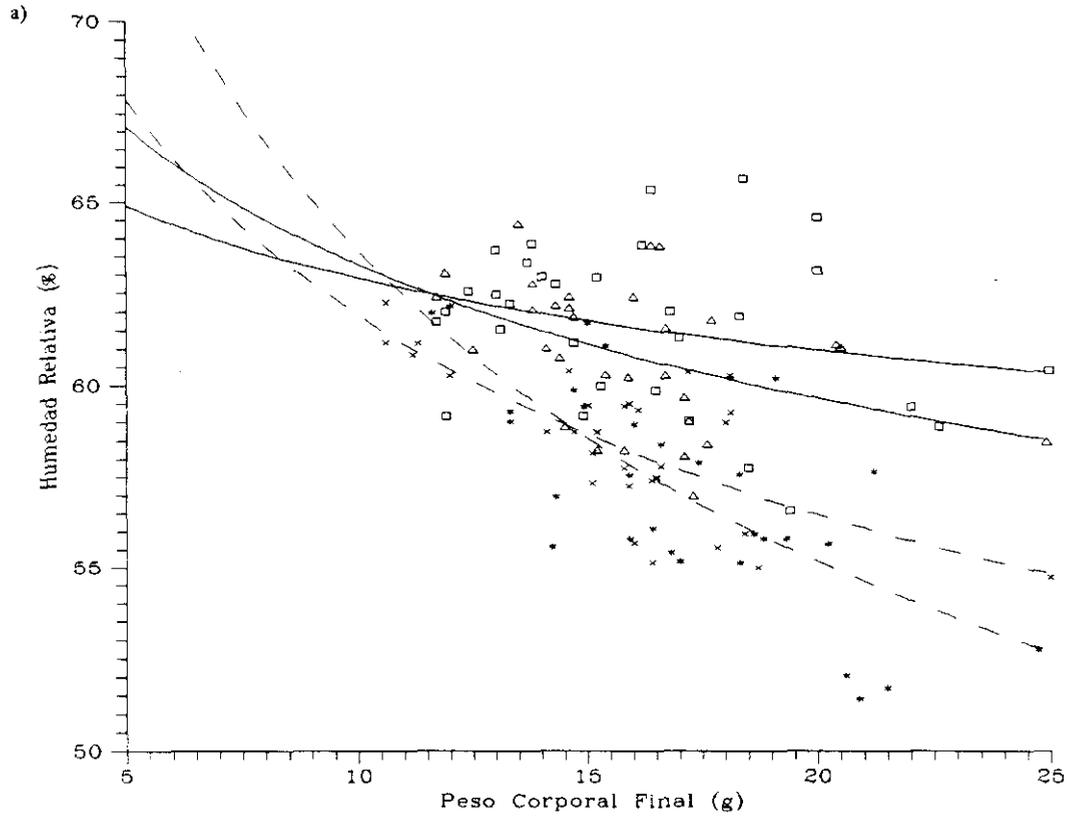
	HA (a)	HA (b)
x - - - 12% ♀	$0,705 \cdot PCF^{0,78 \pm 0,05 a1}$	$0,711 \cdot PCF^{0,78 \pm 0,03 a1}$
$\Delta$ — 12% ♂	$0,469 \cdot PCF^{0,94 \pm 0,06 b1^*}$	$0,826 \cdot PCF^{0,74 \pm 0,06 a1^*}$
* - - - 20% ♀	$0,555 \cdot PCF^{0,88 \pm 0,05 a1}$	$0,447 \cdot PCF^{0,96 \pm 0,04 a2}$
$\square$ — 20% ♂	$0,550 \cdot PCF^{0,91 \pm 0,08 a1}$	$0,749 \cdot PCF^{0,78 \pm 0,05 b1}$



superíndices (diferencias entre pendientes): letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

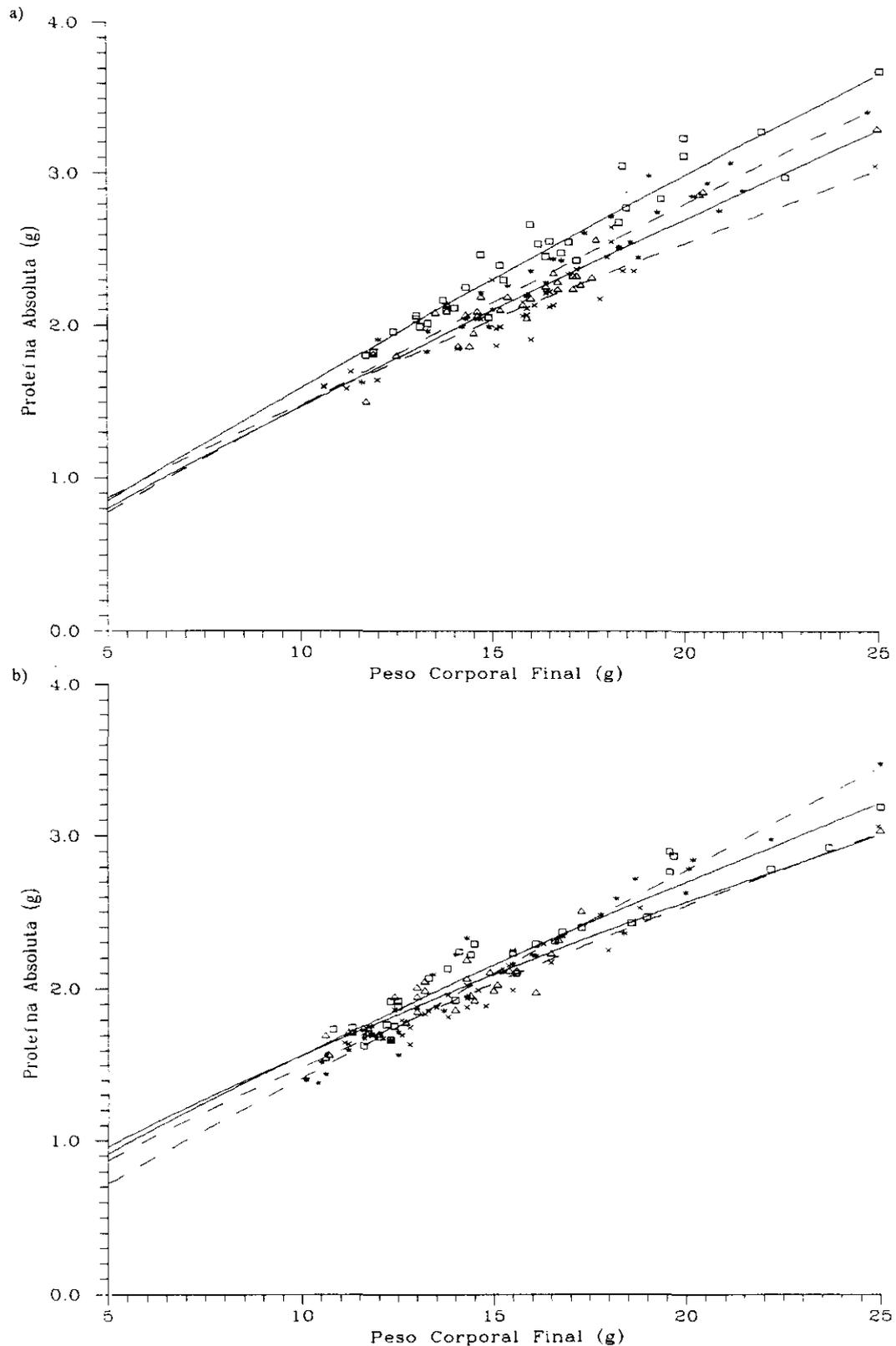
**Gráfica 11.** Relación entre la **Humedad Relativa (HR)** y el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

x - - - 12% ♀    Δ — 12% ♂    \* - - - 20% ♀    □ — 20% ♂



**Gráfica 12.** Relación entre la **Proteína Absoluta (PA)** y el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

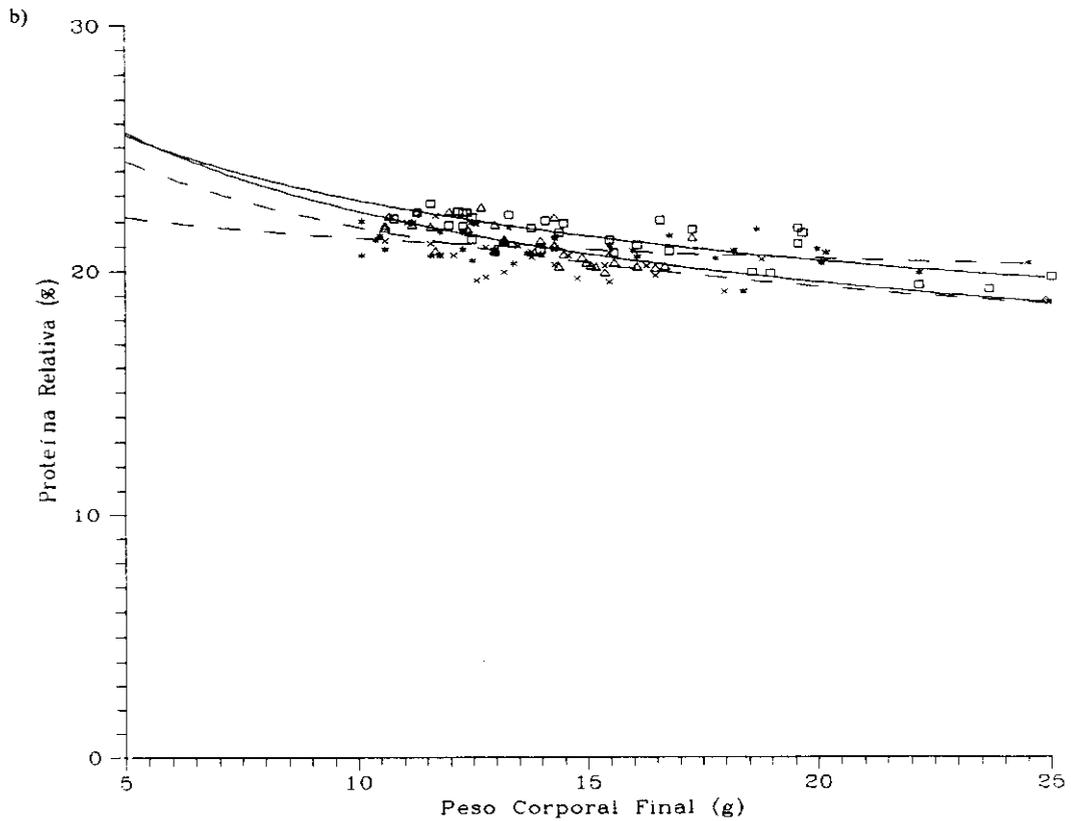
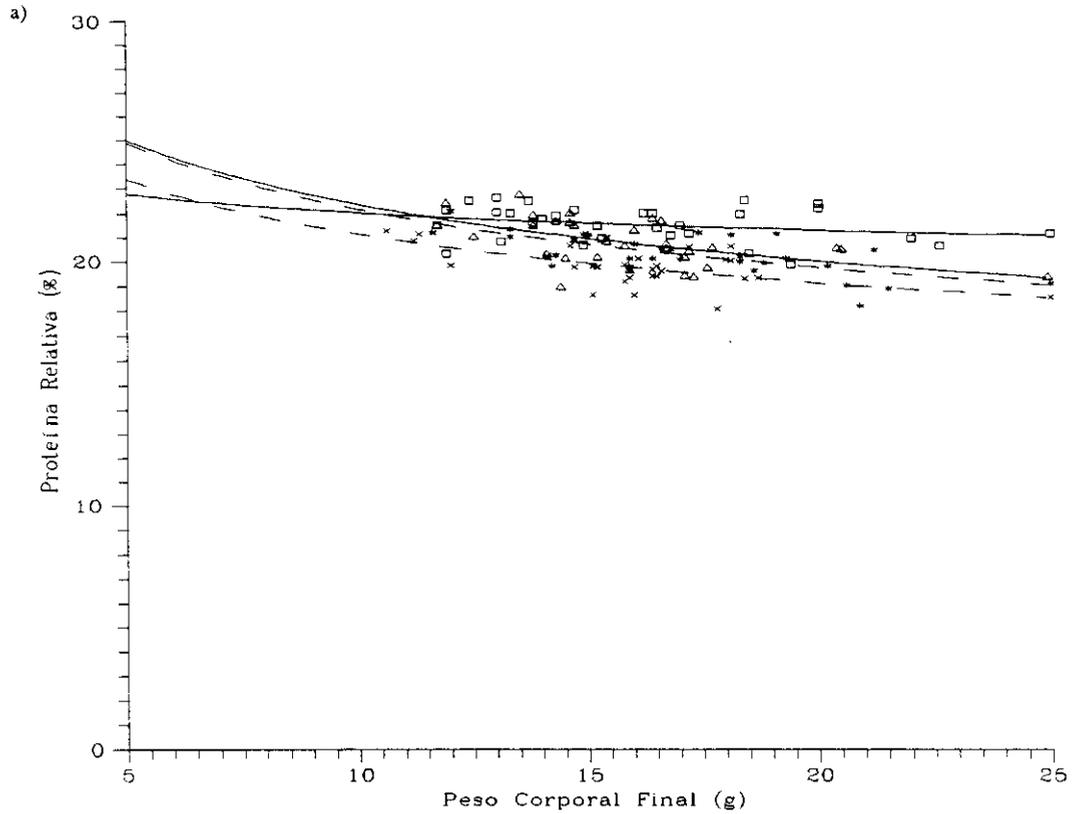
	PA (a)	PA (b)
x - - - - 12% ♀	0,247 · PCF <sup>0,77 ± 0,06 a1</sup>	0,249 · PCF <sup>0,77 ± 0,05 a1</sup>
Δ ——— 12% ♂	0,196 · PCF <sup>0,87 ± 0,07 a1*</sup>	0,303 · PCF <sup>0,71 ± 0,06 a1*</sup>
* - - - - 20% ♀	0,176 · PCF <sup>0,92 ± 0,05 a2</sup>	0,151 · PCF <sup>0,97 ± 0,04 a2</sup>
□ ——— 20% ♂	0,196 · PCF <sup>0,90 ± 0,08 a1</sup>	0,259 · PCF <sup>0,78 ± 0,04 b1</sup>



**superíndices (diferencias entre pendientes):** letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

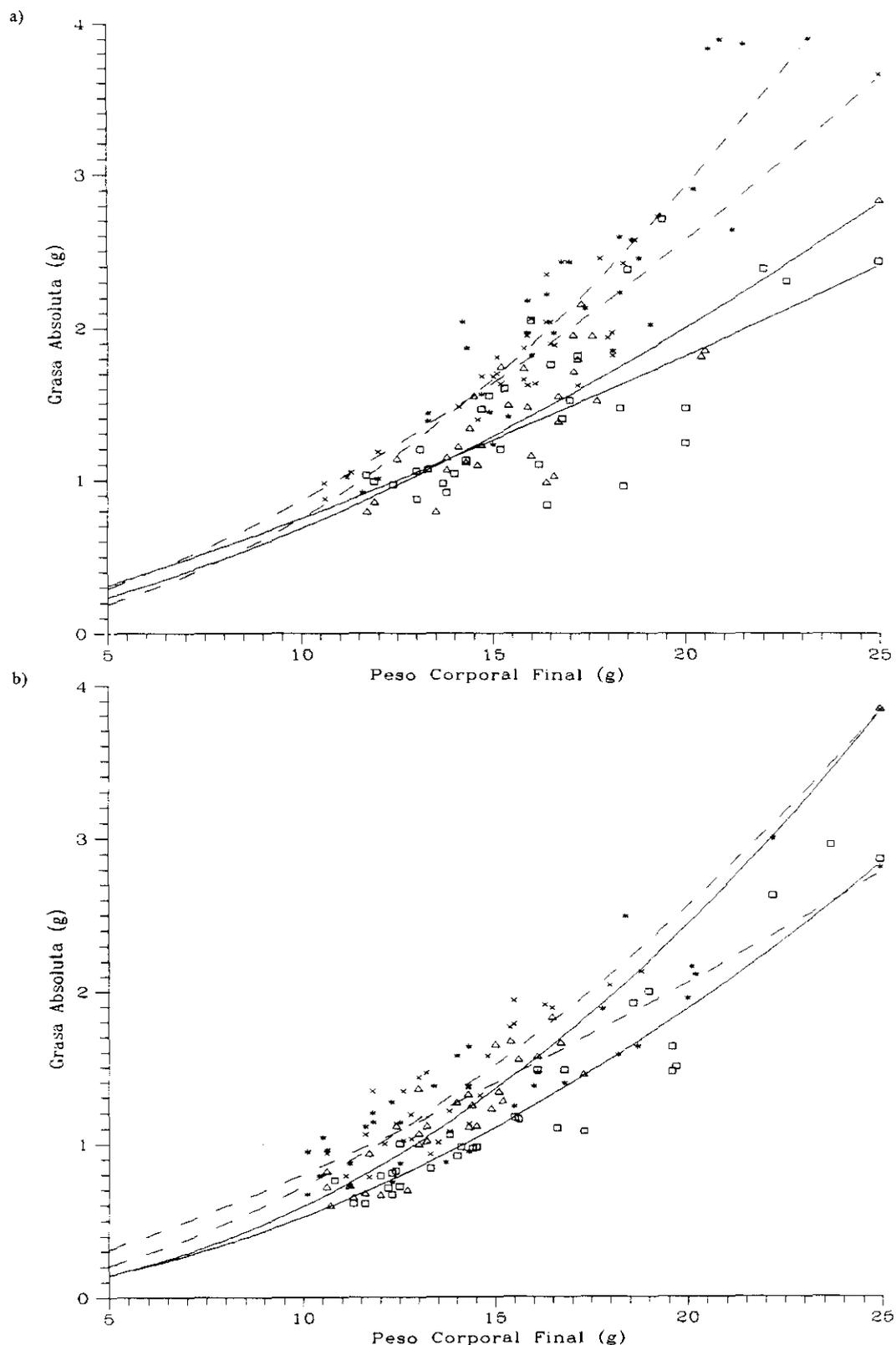
**Gráfica 13.** Relación entre la **Proteína Relativa (PR)** y el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

x - - - - 12% ♀    Δ ——— 12% ♂    \* - - - - 20% ♀    □ ——— 20% ♂



**Gráfica 14.** Relación entre la **Grasa Absoluta (GA)** y el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

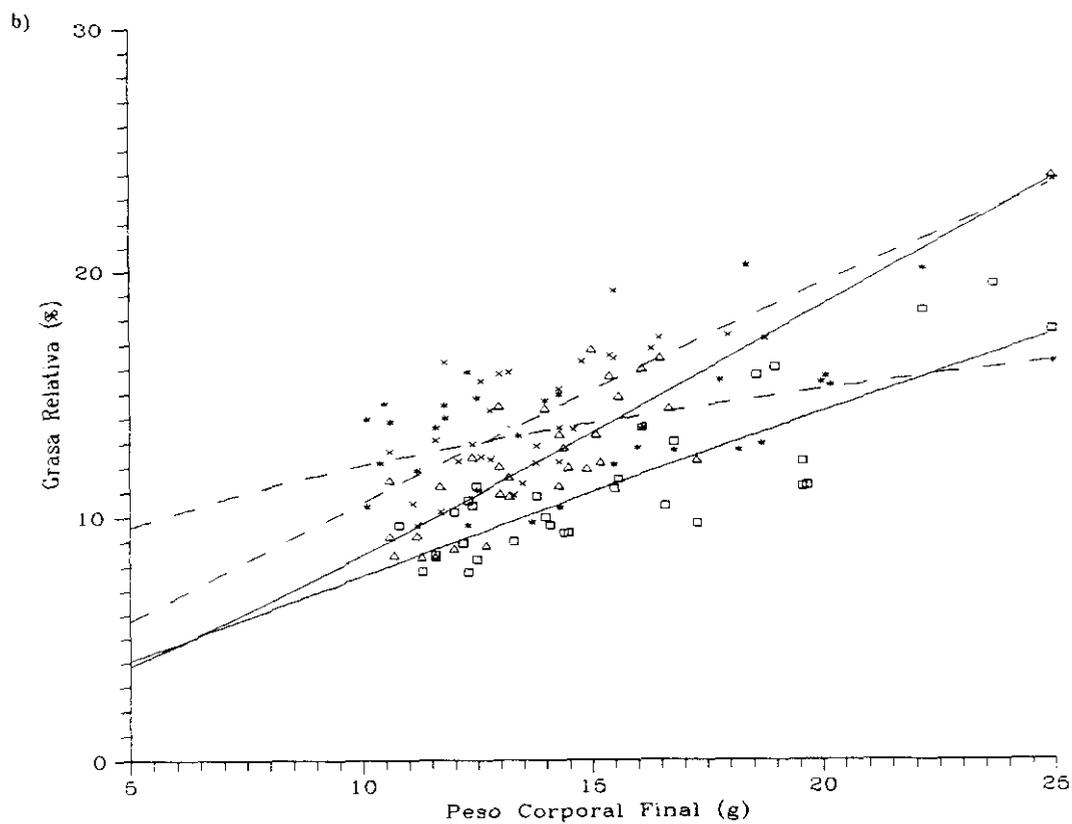
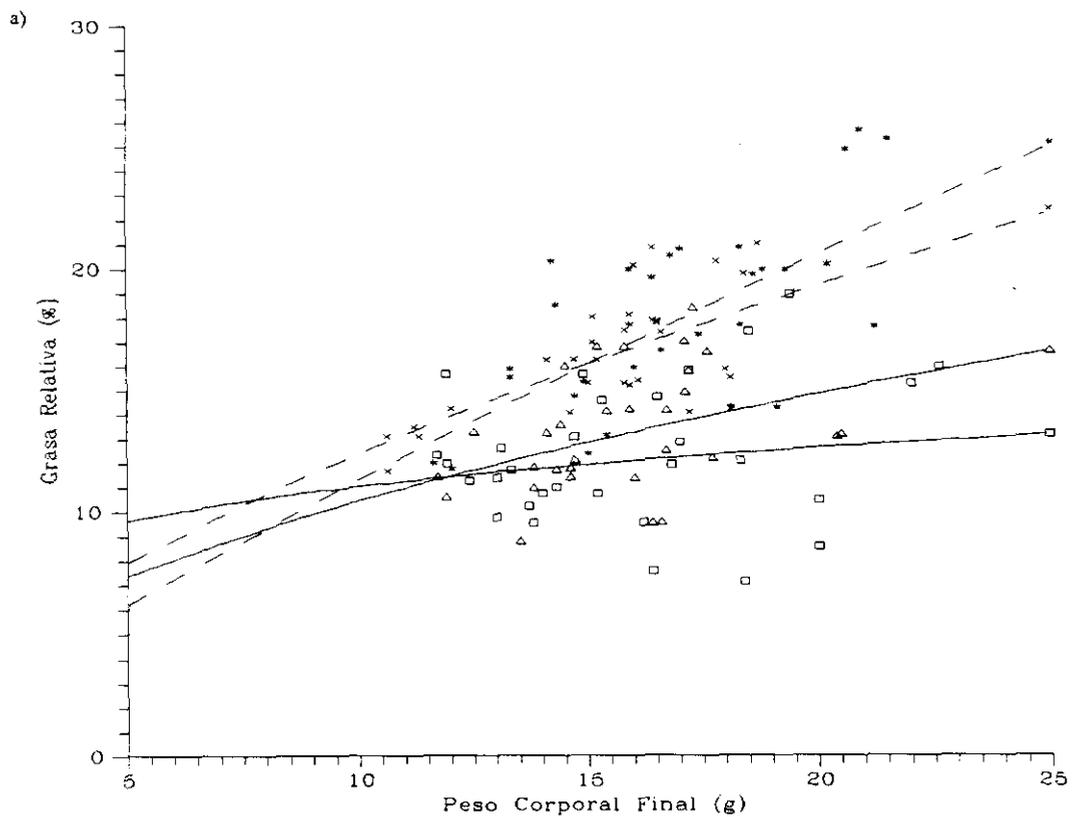
	GA (a)	GA (b)
x - - - - 12% ♀	$0,023 \cdot PCF^{1,56} \pm 0,11 \text{ a1}$	$0,010 \cdot PCF^{1,82} \pm 0,20 \text{ a1}$
△ ——— 12% ♂	$0,019 \cdot PCF^{1,54} \pm 0,25 \text{ a1}^*$	$0,005 \cdot PCF^{2,04} \pm 0,19 \text{ a1}^*$
* - - - - 20% ♀	$0,008 \cdot PCF^{1,96} \pm 0,18 \text{ a2}^*$	$0,035 \cdot PCF^{1,35} \pm 0,14 \text{ a2}^*$
□ ——— 20% ♂	$0,040 \cdot PCF^{1,27} \pm 0,27 \text{ b1}^*$	$0,007 \cdot PCF^{1,84} \pm 0,12 \text{ b1}^*$



superíndices (diferencias entre pendientes): letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

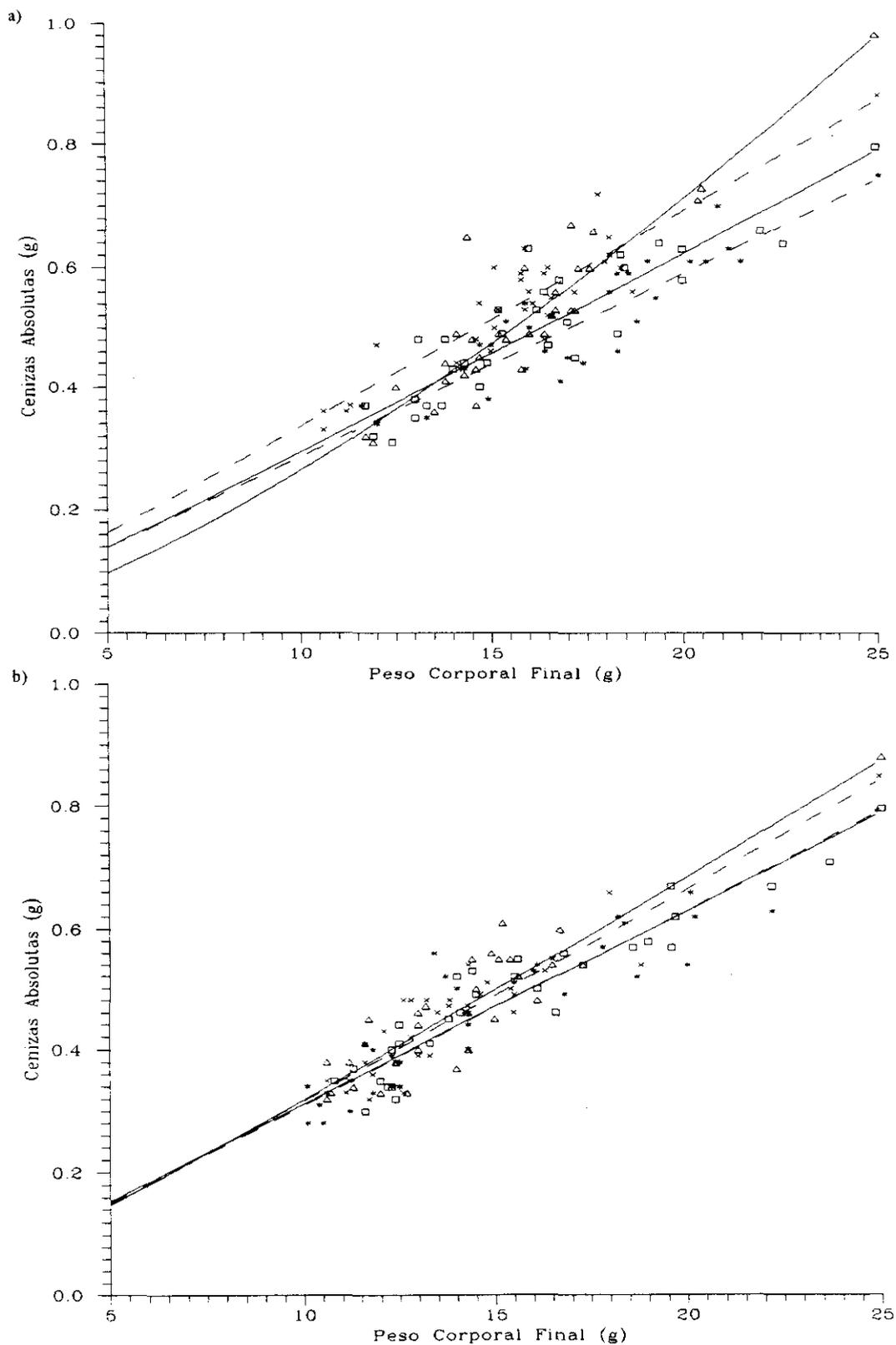
**Gráfica 15.** Relación entre la **Grasa Relativa (GR)** y el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

x - - - - 12% ♀    Δ — 12% ♂    \* - - - - 20% ♀    □ — 20% ♂



**Gráfica 16.** Relación entre las **Cenizas Absolutas (CA)** y el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

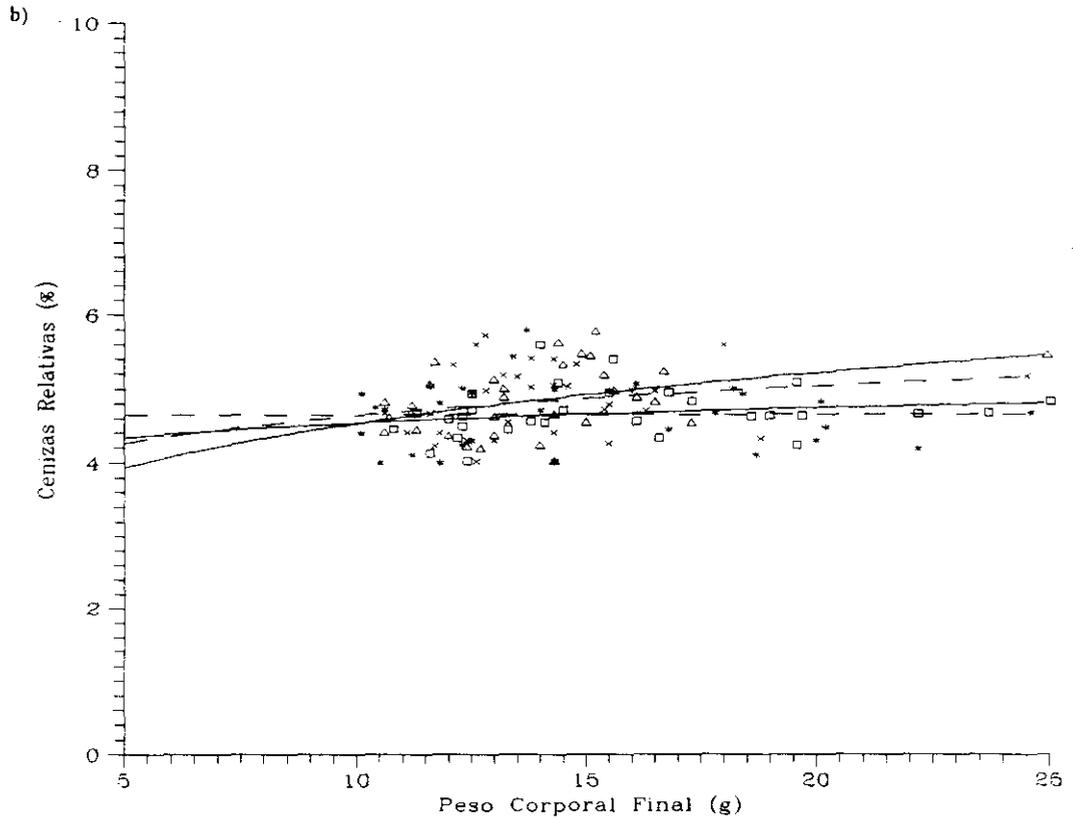
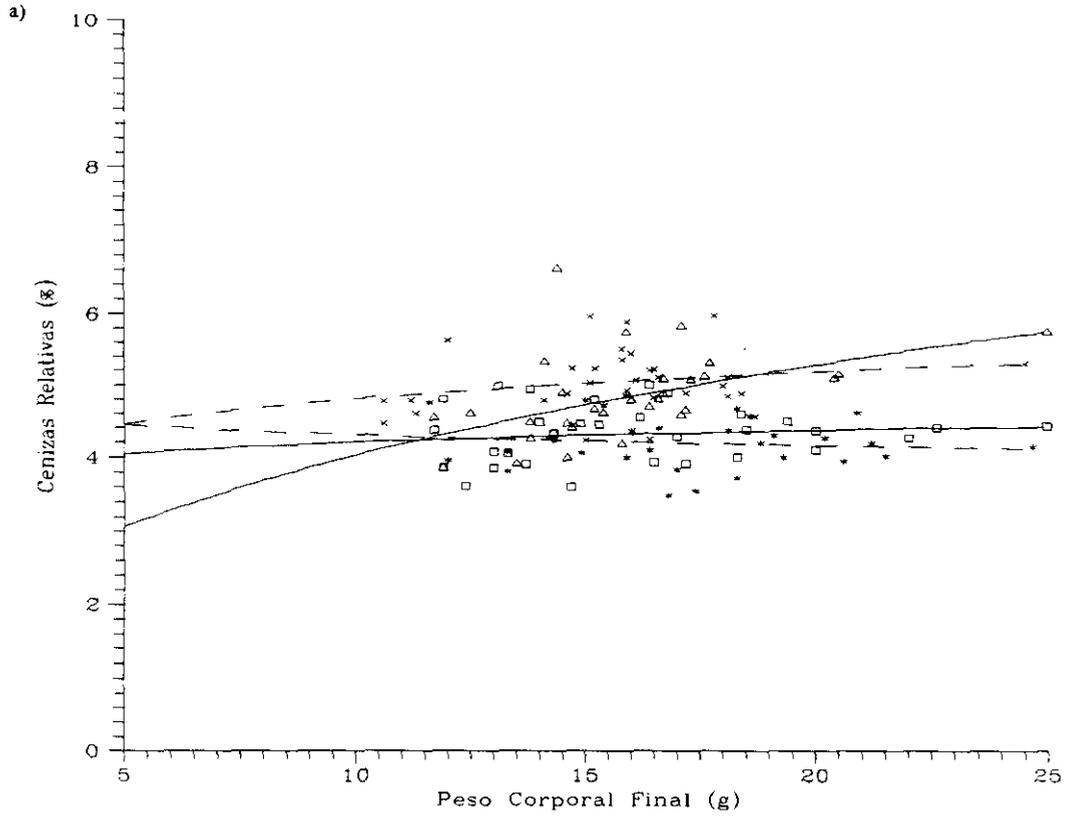
	CA (a)	CA (b)
x - - - - 12% ♀	$0,031 \cdot PCF^{1,03 \pm 0,09 a1}$	$0,027 \cdot PCF^{1,06 \pm 0,12 a1}$
$\Delta$ ——— 12% ♂	$0,009 \cdot PCF^{1,42 \pm 0,15 b1^*}$	$0,024 \cdot PCF^{1,11 \pm 0,14 a1^*}$
* - - - - 20% ♀	$0,025 \cdot PCF^{1,04 \pm 0,10 a1}$	$0,028 \cdot PCF^{1,02 \pm 0,08 a1}$
$\square$ ——— 20% ♂	$0,024 \cdot PCF^{1,07 \pm 0,14 a2}$	$0,030 \cdot PCF^{1,00 \pm 0,08 a1}$



**superíndices (diferencias entre pendientes):** letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

**Gráfica 17.** Relación entre las **Cenizas Relativas (CR)** y el **Peso Corporal Final (PCF)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

x - - - - 12% ♀    Δ ——— 12% ♂    \* - - - - 20% ♀    □ ——— 20% ♂



#### 4.4. RELACIONES LINEALES ENTRE VARIABLES DE SIGNIFICADO NUTRICIONAL Y VARIABLES INDICADORAS DEL DESARROLLO SOMÁTICO.

##### 4.4.1. RELACIÓN DIRECTA (UTILIZACIÓN) E INVERSA (COSTE) ENTRE LOS DEPÓSITOS DE PROTEÍNA, GRASA Y ENERGÍA CORPORALES Y LAS INGESTAS PROTEICA Y ENERGÉTICA, EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON rhGH.

(Gráficas 18-24, 25a)

Las ecuaciones de regresión lineal entre el incremento proteico corporal global y las ingestas proteica y energética globales (utilización de sustratos para el crecimiento), demuestran que el depósito corporal de proteínas es directamente proporcional a ambas ingestas (gráfica 18 y 19), de tal modo que el acúmulo proteico se incrementa a medida que lo hacen las ingestas, hasta el límite de consumo del animal.

En general, los animales NT y T sometidos a la dieta del 20% de proteína depositan una mayor cantidad de proteína con coste energético más bajo, en especial a partir de la IEG (gráfica 19). Asimismo, los animales ♀ T mejoran la utilización de la proteína respecto al sexo opuesto (♂ T).

También, el depósito graso corporal aumenta en proporción directa al incremento en las ingestas proteica (gráfica 20) y energética (gráfica 21). En este

caso, las diferencias se deben más al sexo que al nivel de proteínas en la dieta en todos los animales NT y T.

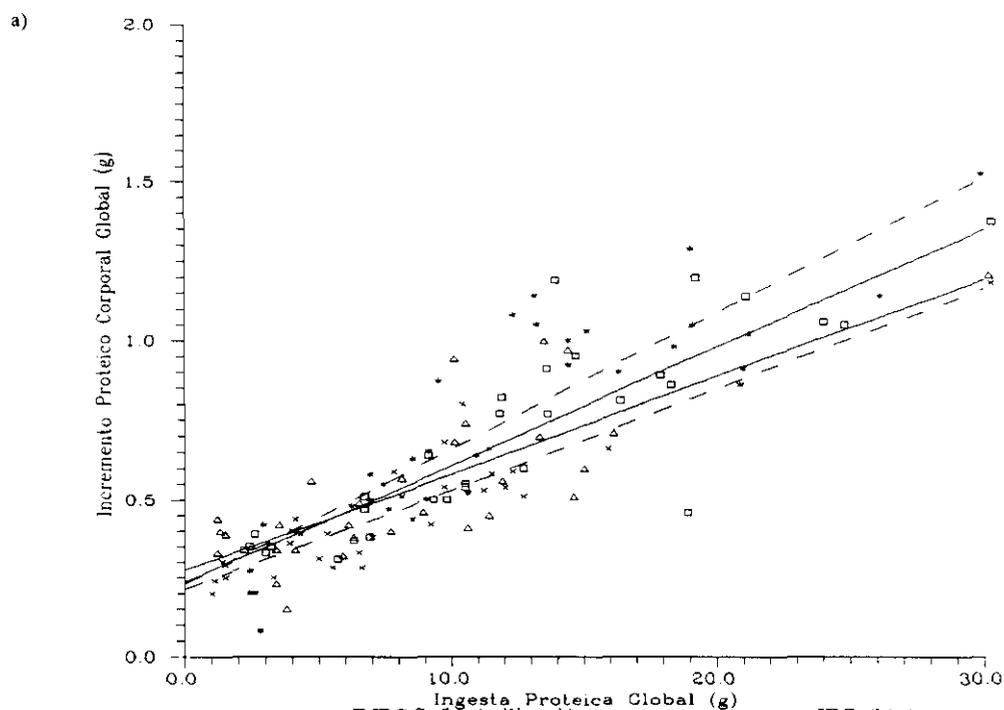
Por último, la misma relación lineal se establece entre el incremento energético corporal global y la ingesta energética global (gráfica 22), presentando diferencias de sexo y de dieta en todos los animales estudiados.

En general, los animales T utilizan más eficazmente las ingestas proteica y energética en los depósitos proteico, graso y energético (Gráficas 23, 24 y 25a), de tal modo que es mayor el depósito de sustratos para IPG superiores a 10 g y para IEG por encima de 1000 kJ, a excepción del depósito graso corporal dependiente de IPG que no se modifica (gráfica 24a).

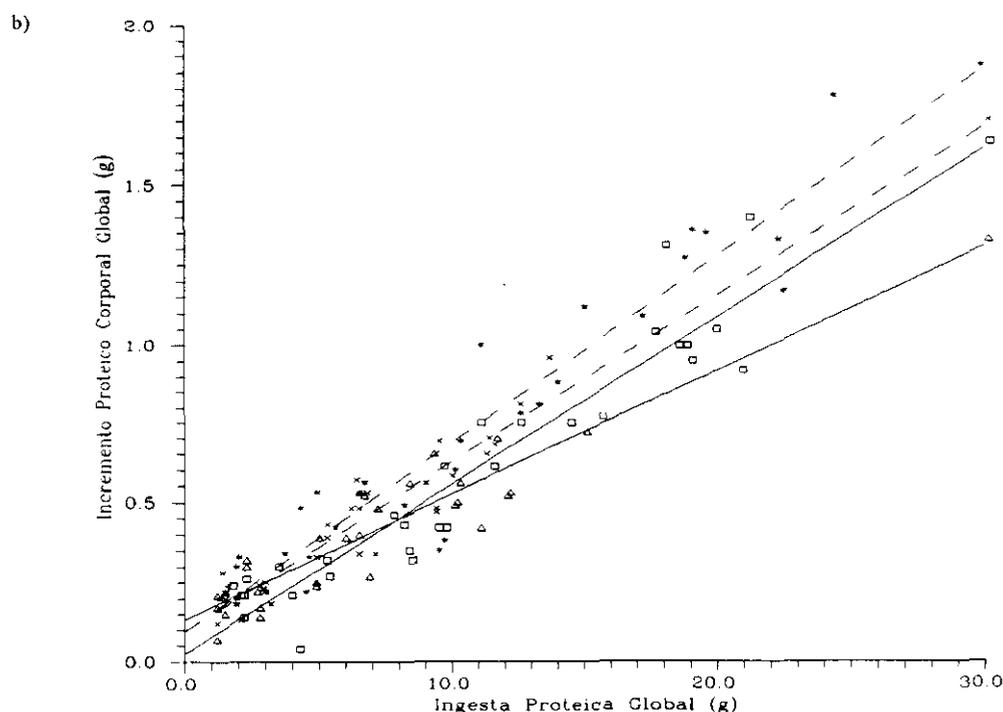
Por otra parte, mientras que la utilización de las ingestas para proteína se hace con igual o menor coste energético que en los animales NT (gráfica 23), la utilización de la ingestas para los depósitos graso y energético se hace con un mayor coste energético que en animales NT (gráficas 24 y 25a).

**Gráfica 18.** Relación (utilización y coste) entre el **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)** (g) y la **Ingesta Proteica Global (IPG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

	INPCG (a) (utilización)	IPG (a) (coste)
x - - - - 12% ♀	$0,214 + IPG \cdot 0,031 \pm 0,004^{a1*}$	$-2,42 + INPCG \cdot 21,67 \pm 2,77^{a1*}$
Δ ——— 12% ♂	$0,274 + IPG \cdot 0,030 \pm 0,005^{a1}$	$-0,37 + INPCG \cdot 15,83 \pm 3,07^{a1}$
* - - - - 20% ♀	$0,230 + IPG \cdot 0,042 \pm 0,004^{a2*}$	$-0,91 + INPCG \cdot 17,20 \pm 1,93^{a1}$
□ ——— 20% ♂	$0,236 + IPG \cdot 0,037 \pm 0,004^{a1*}$	$-1,03 + INPCG \cdot 18,92 \pm 2,32^{a1}$



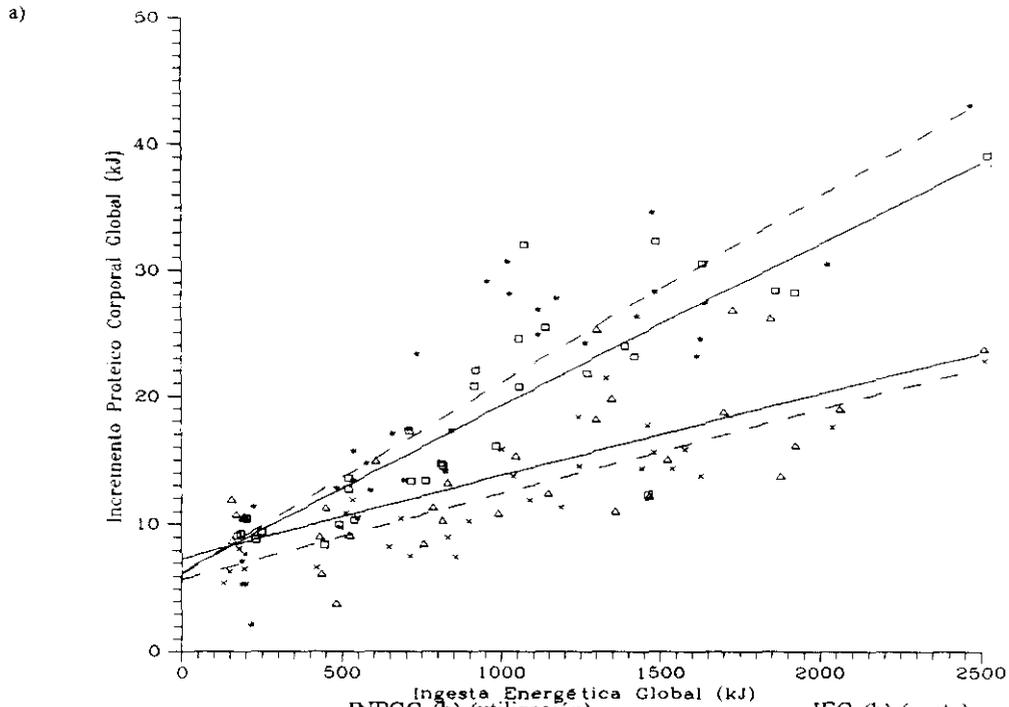
	INPCG (b) (utilización)	IPG (b) (coste)
x - - - - 12% ♀	$0,096 + IPG \cdot 0,053 \pm 0,003^{a1*}$	$-0,83 + INPCG \cdot 16,56 \pm 1,16^{a1*}$
Δ ——— 12% ♂	$0,133 + IPG \cdot 0,039 \pm 0,004^{b1}$	$-1,17 + INPCG \cdot 19,72 \pm 2,03^{a1}$
* - - - - 20% ♀	$0,095 + IPG \cdot 0,060 \pm 0,004^{a1*}$	$-0,48 + INPCG \cdot 15,29 \pm 0,94^{a1}$
□ ——— 20% ♂	$0,026 + IPG \cdot 0,053 \pm 0,004^{a2*}$	$0,71 + INPCG \cdot 16,78 \pm 0,11^{b2}$



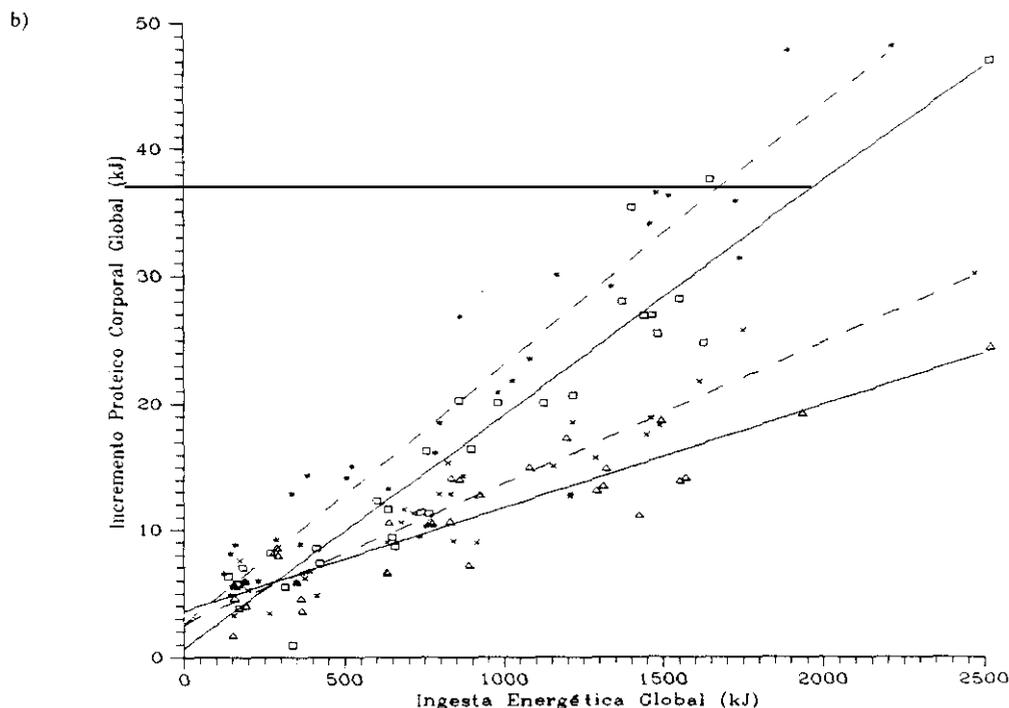
superíndices (diferencias entre pendientes): letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

**Gráfica 19.** Relación (utilización y coste) entre el **Incremento Proteico Corporal Global** (INPCG) (kJ) y la **Ingesta Energética Global** (IEG) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

	INPCG (a) (utilización)	IEG (a) (coste)
x - - - - 12% ♀	$5,7 + IEG \cdot 0,0066 \pm 0,0008^{a1*}$	$-311,2 + INPCG \cdot 123,3 \pm 13,2^{a1*}$
Δ ——— 12% ♂	$7,3 + IEG \cdot 0,0064 \pm 0,0012^{a1}$	$-48,7 + INPCG \cdot 75,3 \pm 14,6^{b1}$
* - - - - 20% ♀	$6,1 + IEG \cdot 0,0149 \pm 0,0016^{a2*}$	$-70,5 + INPCG \cdot 49,5 \pm 5,6^{a2}$
□ ——— 20% ♂	$6,3 + IEG \cdot 0,0129 \pm 0,0015^{a2*}$	$-80,5 + INPCG \cdot 54,5 \pm 6,7^{a1}$



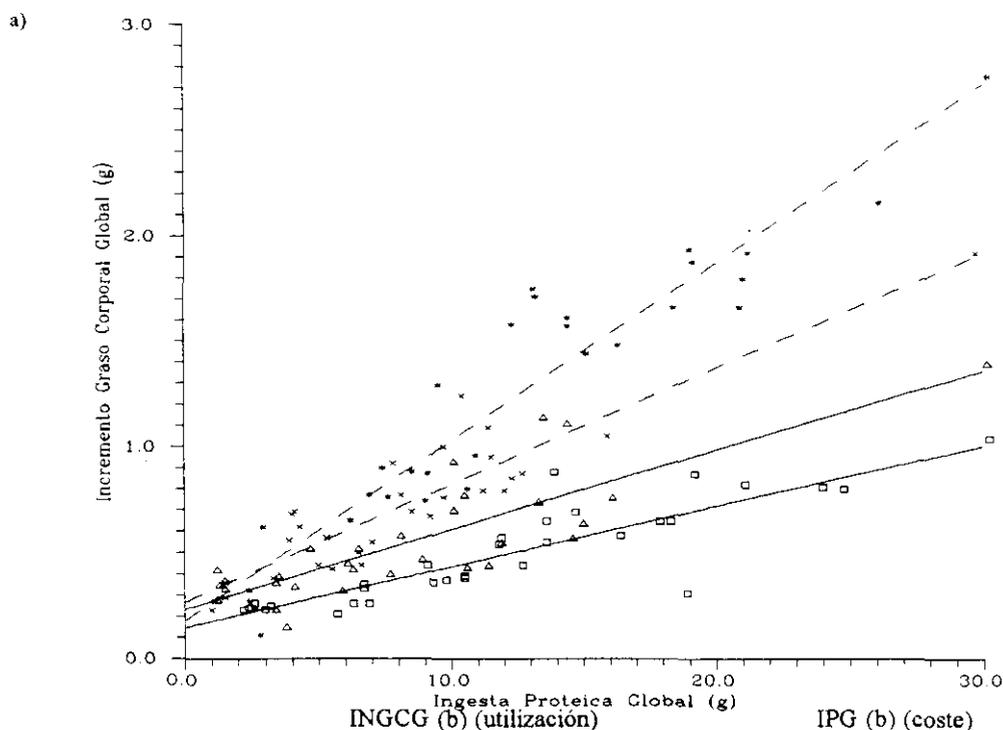
	INPCG (b) (utilización)	IEG (b) (coste)
x - - - - 12% ♀	$2,5 + IEG \cdot 0,0111 \pm 0,0007^{a1*}$	$-107,1 + INPCG \cdot 79,0 \pm 5,5^{a1*}$
Δ ——— 12% ♂	$3,5 + IEG \cdot 0,0081 \pm 0,0008^{b1}$	$-150,9 + INPCG \cdot 94,1 \pm 9,7^{a1}$
* - - - - 20% ♀	$2,5 + IEG \cdot 0,0206 \pm 0,0012^{a2*}$	$-37,4 + INPCG \cdot 44,0 \pm 2,7^{a2}$
□ ——— 20% ♂	$0,7 + IEG \cdot 0,0181 \pm 0,0010^{b2*}$	$55,2 + INPCG \cdot 48,3 \pm 2,2^{a2}$



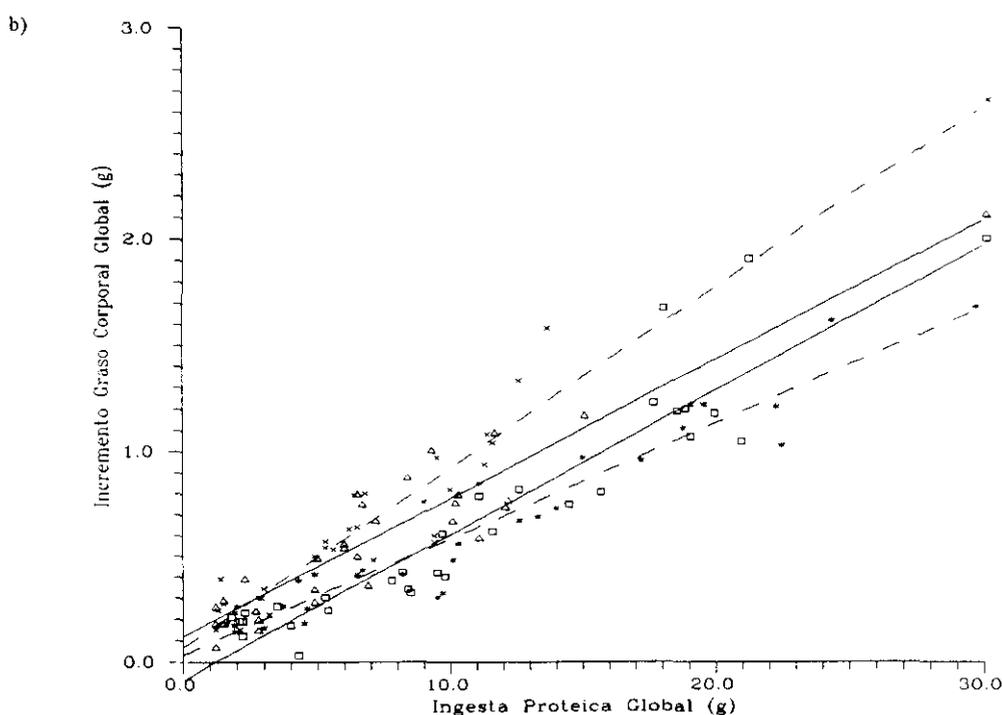
**superíndices (diferencias entre pendientes):** letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

**Gráfica 20.** Relación entre el **Incremento Graso Corporal Global** (INGCG) (g) y la **Ingesta Proteica Global** (IPG) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

	INGCG (a) (utilización)	IPG (a) (coste)
x - - - - 12% ♀	$0,268 + IPG \cdot 0,055 \pm 0,006^{a1*}$	$-1,47 + INGCG \cdot 12,9 \pm 1,5^{a1*}$
Δ ——— 12% ♂	$0,232 + IPG \cdot 0,037 \pm 0,006^{b1*}$	$0,09 + INGCG \cdot 14,5 \pm 2,4^{a1}$
* - - - - 20% ♀	$0,183 + IPG \cdot 0,084 \pm 0,005^{a2*}$	$-0,49 + INGCG \cdot 10,3 \pm 0,7^{a2*}$
□ ——— 20% ♂	$0,147 + IPG \cdot 0,028 \pm 0,003^{b1*}$	$-0,50 + INGCG \cdot 25,2 \pm 2,9^{b2*}$



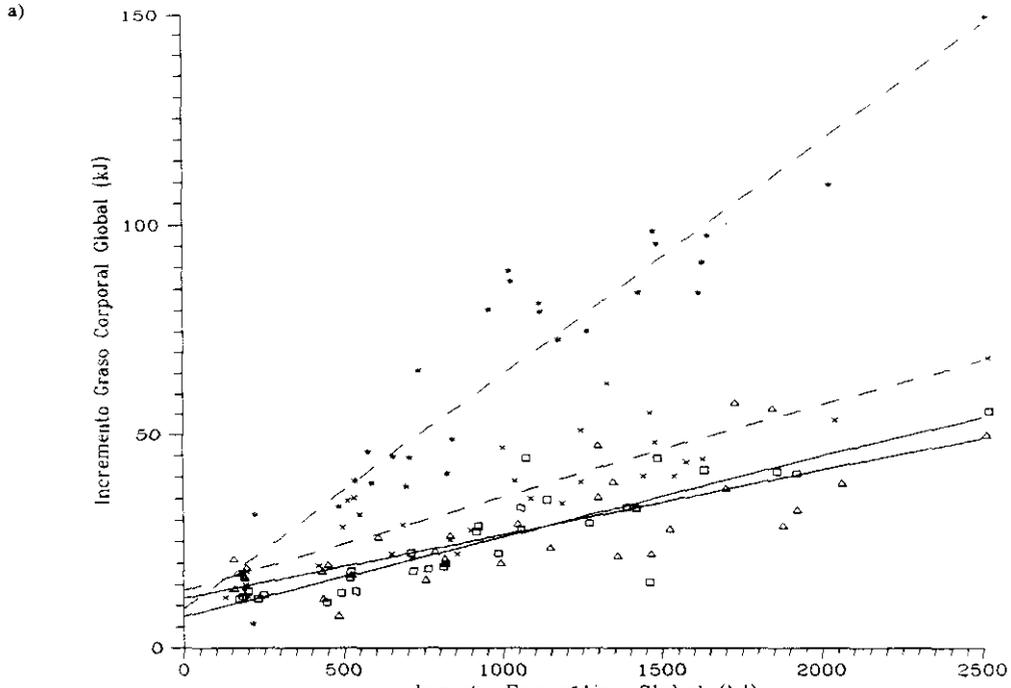
	INGCG (b) (utilización)	IPG (b) (coste)
x - - - - 12% ♀	$0,066 + IPG \cdot 0,085 \pm 0,007^{a1*}$	$0,37 + INGCG \cdot 9,7 \pm 0,8^{a1*}$
Δ ——— 12% ♂	$0,120 + IPG \cdot 0,065 \pm 0,006^{b1*}$	$0,06 + INGCG \cdot 11,7 \pm 1,2^{a1}$
* - - - - 20% ♀	$0,035 + IPG \cdot 0,054 \pm 0,003^{a2*}$	$0,32 + INGCG \cdot 16,6 \pm 0,9^{a2*}$
□ ——— 20% ♂	$-0,082 + IPG \cdot 0,068 \pm 0,005^{b1*}$	$2,61 + INGCG \cdot 12,3 \pm 0,9^{b1*}$



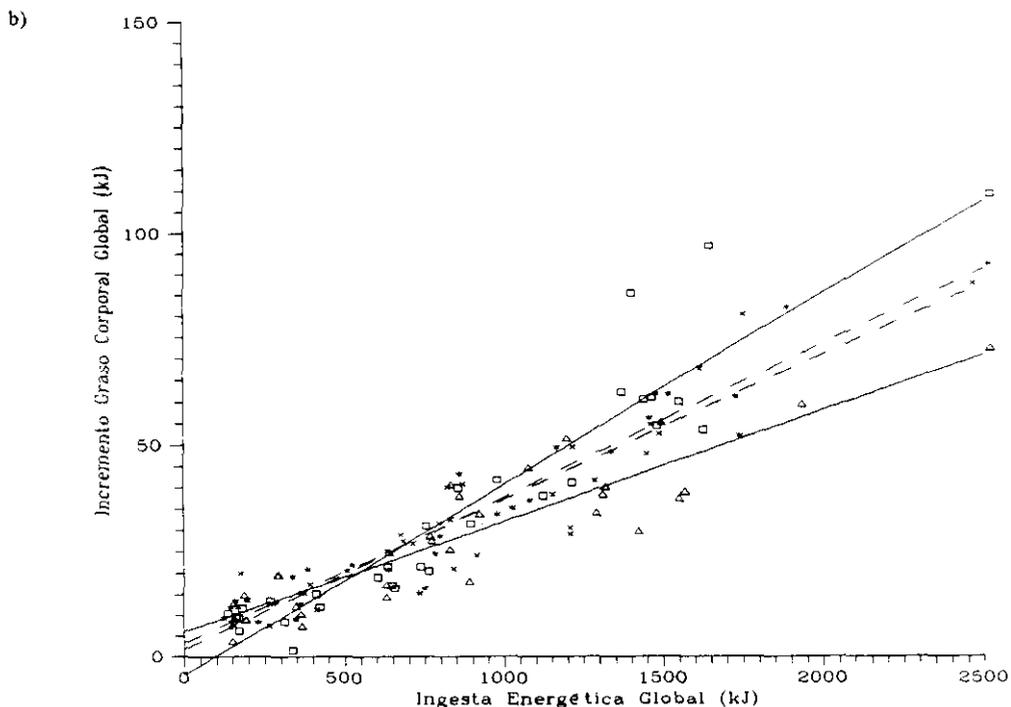
superíndices (diferencias entre pendientes): letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

**Gráfica 21.** Relación entre el **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** (kJ) y la **Ingesta Energética Global (IEG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

	INGCG (a) (utilización)	IEG (a) (coste)
x - - - - 12% ♀	$13,6 + IEG \cdot 0,0218 \pm 0,0026^{a1*}$	$-188,8 + INGCG \cdot 32,7 \pm 3,9^{a1*}$
Δ ——— 12% ♂	$11,8 + IEG \cdot 0,0149 \pm 0,0025^{b1*}$	$11,8 + INGCG \cdot 36,7 \pm 6,3^{a1}$
* - - - - 20% ♀	$9,3 + IEG \cdot 0,0554 \pm 0,0038^{a2*}$	$-38,3 + INGCG \cdot 15,8 \pm 1,1^{a2*}$
□ ——— 20% ♂	$7,4 + IEG \cdot 0,0187 \pm 0,0021^{b1*}$	$-39,1 + INGCG \cdot 38,5 \pm 4,5^{b1*}$



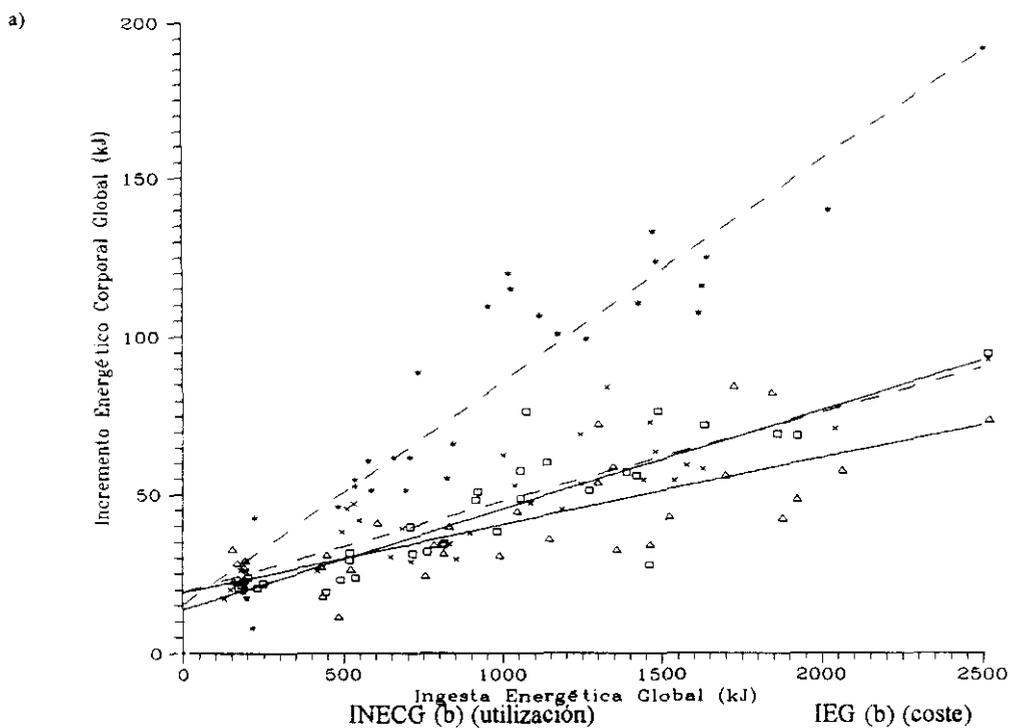
	INGCG (b) (utilización)	IEG (b) (coste)
x - - - - 12% ♀	$3,4 + IEG \cdot 0,0338 \pm 0,0028^{a1*}$	$47,4 + INGCG \cdot 24,7 \pm 2,0^{a1*}$
Δ ——— 12% ♂	$6,1 + IEG \cdot 0,0260 \pm 0,0026^{b1*}$	$7,8 + INGCG \cdot 29,5 \pm 3,0^{a1}$
* - - - - 20% ♀	$1,8 + IEG \cdot 0,0359 \pm 0,0021^{a1*}$	$25,0 + INGCG \cdot 25,3 \pm 1,5^{a1*}$
□ ——— 20% ♂	$-4,2 + IEG \cdot 0,0449 \pm 0,0035^{b2*}$	$202,3 + INGCG \cdot 18,9 \pm 1,5^{b2*}$



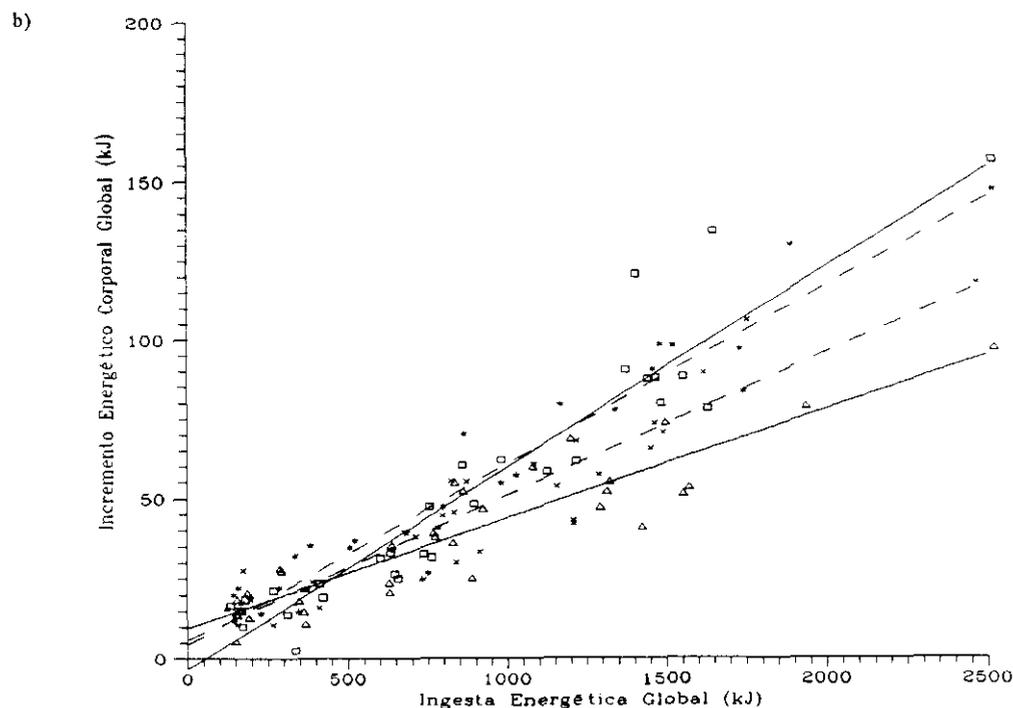
**superíndices (diferencias entre pendientes):** letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

**Gráfica 22.** Relación (utilización y coste) entre el **Incremento Energético Corporal Global (INECG)** (kJ) y la **Ingesta Energética Global (IEG)** en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

	INECG (a) (utilización)	IEG (a) (coste)
x - - - - 12% ♀	$19,3 + \text{IEG} \cdot 0,0285 \pm 0,0034 \text{ a1}^*$	$-224,6 + \text{INECG} \cdot 25,0 \pm 2,9 \text{ a1}^*$
Δ ——— 12% ♂	$19,1 + \text{IEG} \cdot 0,0214 \pm 0,0037 \text{ a1}^*$	$-13,7 + \text{INECG} \cdot 24,8 \pm 4,4 \text{ a1}$
* - - - - 20% ♀	$15,4 + \text{IEG} \cdot 0,0703 \pm 0,0054 \text{ a2}^*$	$-57,7 + \text{INECG} \cdot 12,1 \pm 0,9 \text{ a2}^*$
□ ——— 20% ♂	$13,7 + \text{IEG} \cdot 0,0316 \pm 0,0037 \text{ b2}^*$	$-57,4 + \text{INECG} \cdot 22,6 \pm 2,7 \text{ b1}^*$



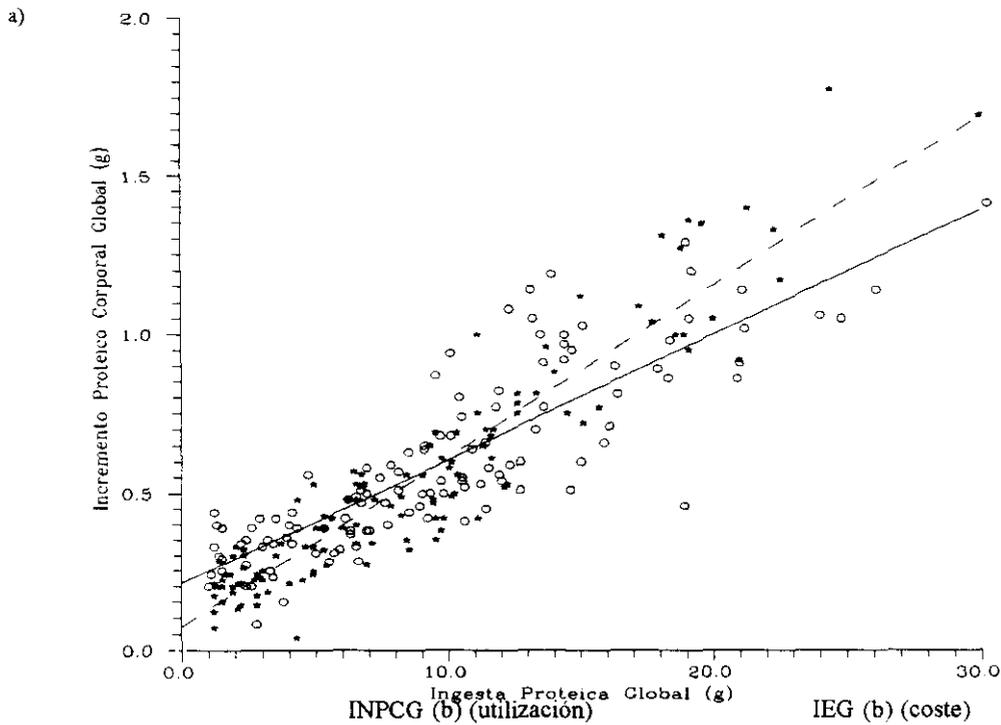
	INECG (b) (utilización)	IEG (b) (coste)
x - - - - 12% ♀	$5,9 + \text{IEG} \cdot 0,0449 \pm 0,0035 \text{ a1}^*$	$7,1 + \text{INECG} \cdot 18,9 \pm 1,5 \text{ a1}^*$
Δ ——— 12% ♂	$9,7 + \text{IEG} \cdot 0,0341 \pm 0,0035 \text{ b1}^*$	$-32,2 + \text{INECG} \cdot 22,5 \pm 2,3 \text{ a1}$
* - - - - 20% ♀	$4,4 + \text{IEG} \cdot 0,0564 \pm 0,0033 \text{ a2}^*$	$1,8 + \text{INECG} \cdot 16,1 \pm 0,9 \text{ a2}^*$
□ ——— 20% ♂	$-3,5 + \text{IEG} \cdot 0,0633 \pm 0,0047 \text{ a2}^*$	$158,6 + \text{INECG} \cdot 13,6 \pm 1,0 \text{ b2}^*$



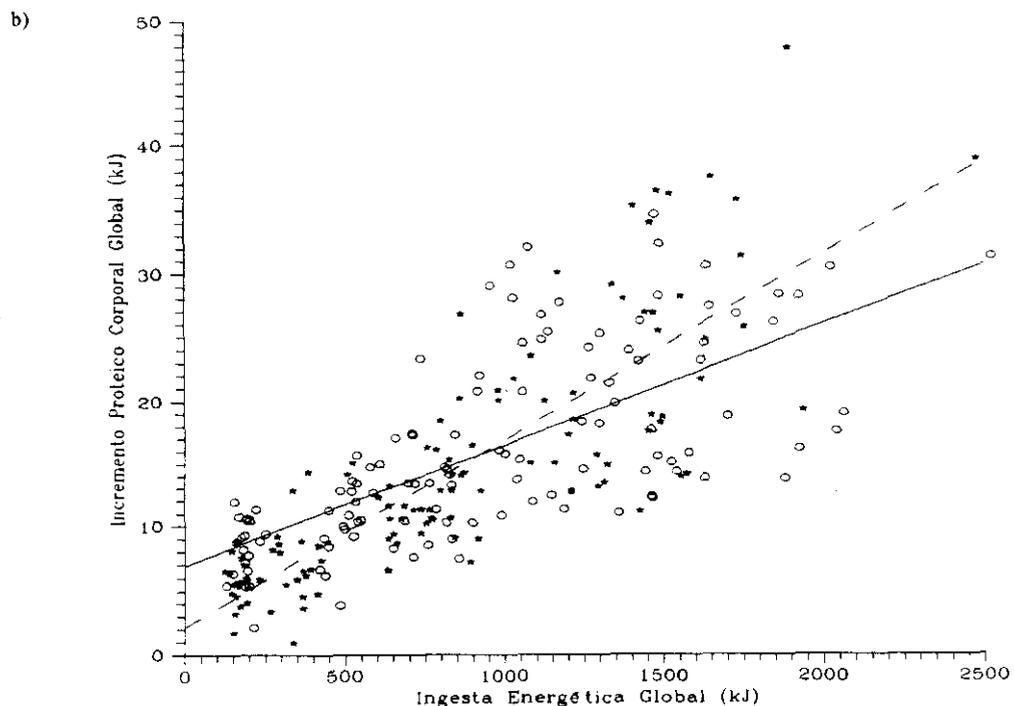
**superíndices (diferencias entre pendientes):** letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

**Gráfica 23.** Efecto de la administración de la hormona del crecimiento (rhGH) en ratones BALB/c de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida, sobre las relaciones del **Incremento Proteico Corporal Global (INPCG)** con la **Ingesta Proteica Global (IPG)** (a) y con la **Ingesta Energética Global (IEG)** (b).

	INPCG (a) (utilización)	IPG (b) (coste)
○ — NT	$0,212 + IPG \cdot 0,039 \pm 0,002^*$	$-1,00 + INPCG(g) \cdot 17,9 \pm 1,0^*$
★ - - - T	$0,072 + IPG \cdot 0,054 \pm 0,001^*$	$-0,07 + INPCG(g) \cdot 16,0 \pm 0,5^*$



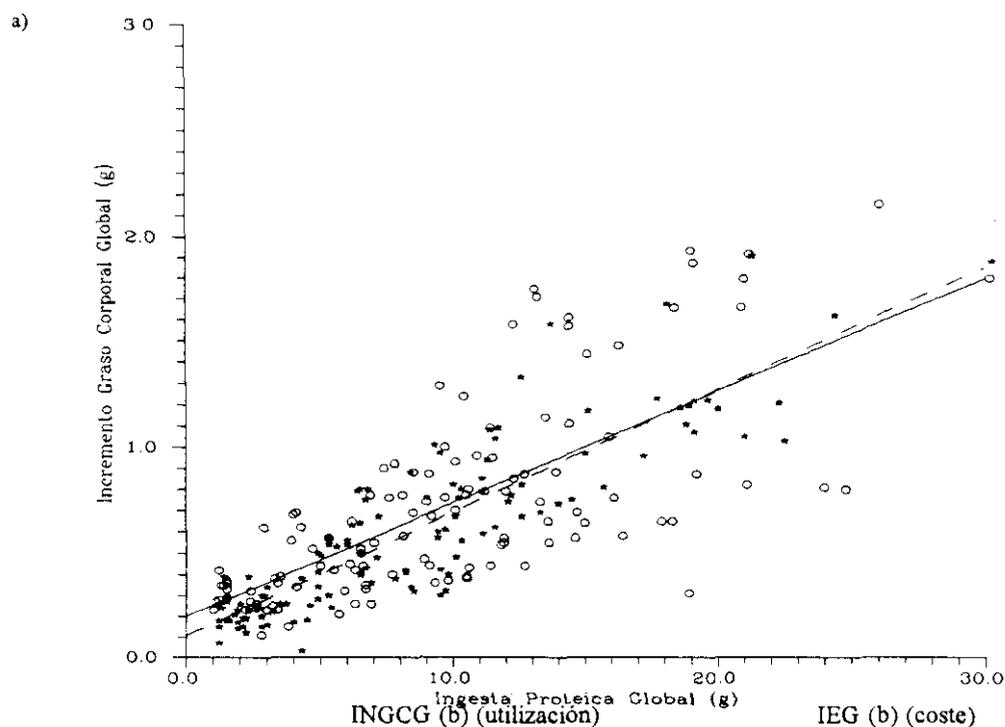
	INPCG (b) (utilización)	IEG (b) (coste)
○ — NT	$6,9 + IEG \cdot 0,0093 \pm 0,0009^*$	$156,7 + INPCG(kJ) \cdot 48,60 \pm 4,79$
★ - - - T	$2,2 + IEG \cdot 0,0147 \pm 0,0009^*$	$164,4 + INPCG(kJ) \cdot 45,62 \pm 2,93$



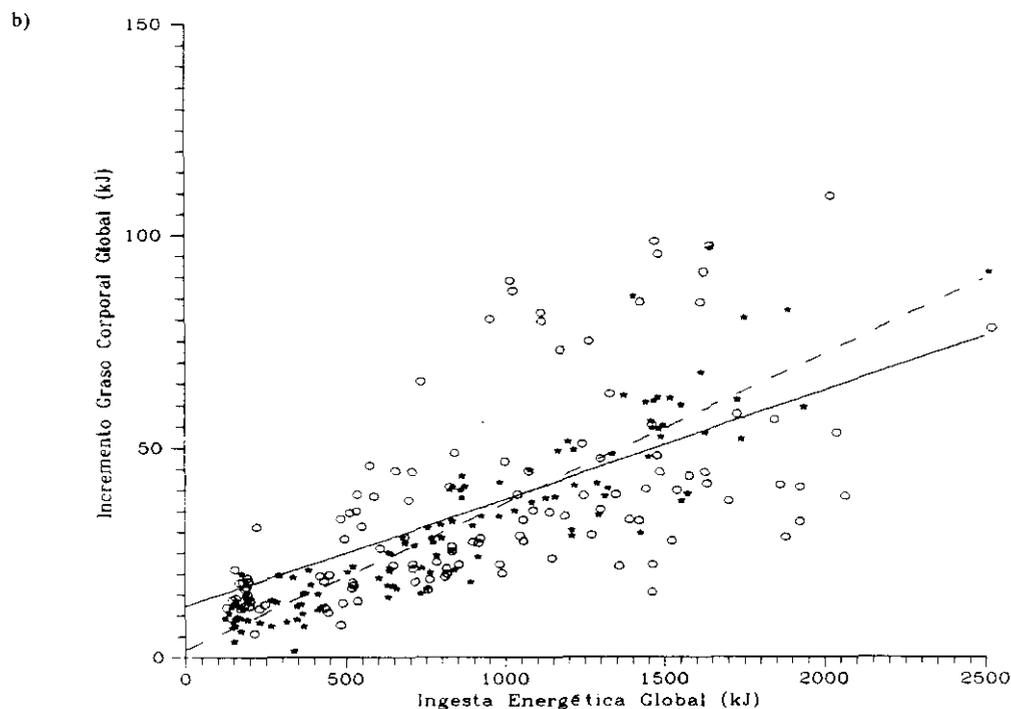
superíndices (diferencias entre pendientes): el asterisco marca las diferencias entre NT y T.

**Gráfica 24.** Efecto de la administración de la hormona del crecimiento (rhGH) en ratones BALB/c de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida, sobre las relaciones del **Incremento Graso Corporal Global (INGCG)** con la **Ingesta Proteica Global (IPG)** (a) y con la **Ingesta Energética Global (IEG)** (b).

	INGCG (a) (utilización)	IPG (a) (coste)
○ — NT	$0,201 + IPG \cdot 0,053 \pm 0,005$	$3,11 + INGCG(g) \cdot 9,04 \pm 0,86^*$
★ - - - T	$0,108 + IPG \cdot 0,058 \pm 0,003$	$0,57 + INGCG(g) \cdot 13,07 \pm 0,67^*$



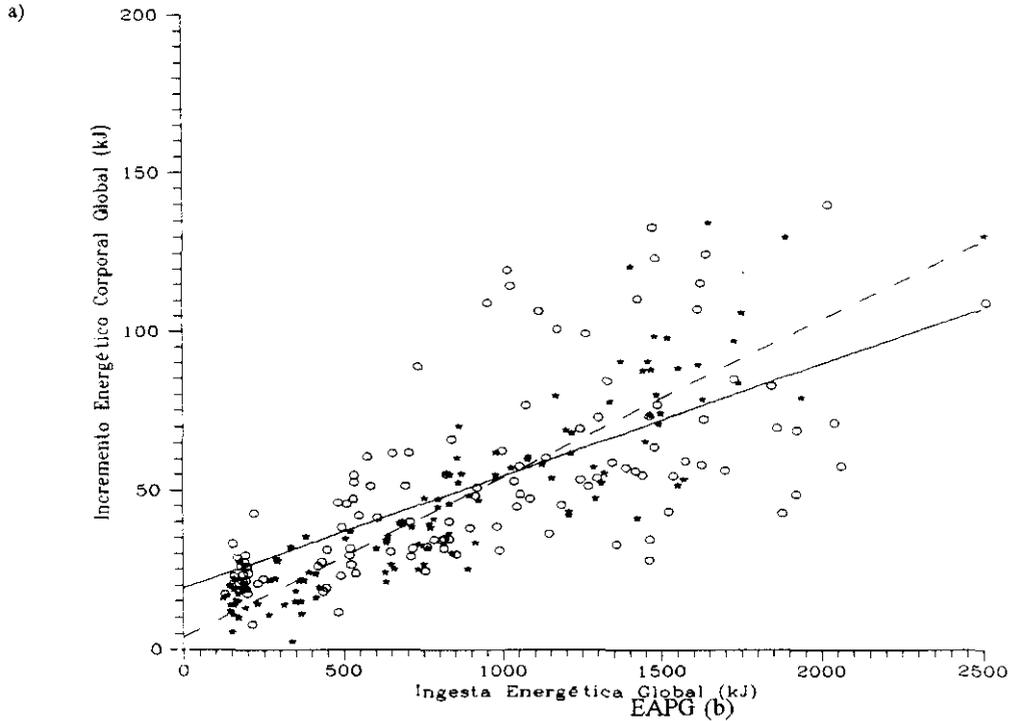
○ — NT	$12,2 + IEG \cdot 0,0256 \pm 0,0032^*$	$432,1 + INGCG(kJ) \cdot 13,69 \pm 1,71^*$
★ - - - T	$1,7 + IEG \cdot 0,0352 \pm 0,0015^*$	$109,3 + INGCG(kJ) \cdot 23,12 \pm 1,01^*$



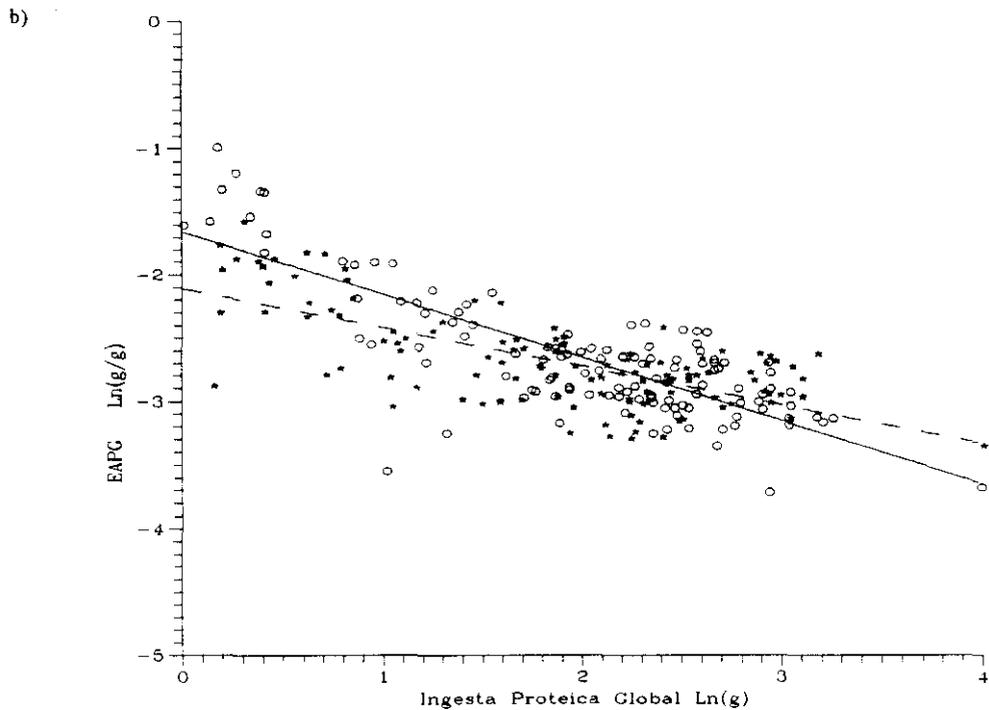
superíndices (diferencias entre pendientes): el asterisco marca las diferencias entre NT y T.

**Gráfica 25.** Efecto de la administración de la hormona del crecimiento (rhGH) en ratones BALB/c de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida, sobre la relación del **Incremento Energético Corporal Global (INECG)** con la **Ingesta Energética Global (IEG)** (a) y de la **Eficacia Alimentaria Proteica Global (EAPG)** con la **Ingesta Proteica Global (IPG)** (b).

	INECG (a) (utilización)	IEG (a) (coste)
○ — NT	$19,1 + IEG \cdot 0,0352 \pm 0,0039^*$	$325,8 + INECG \cdot 11,5 \pm 1,28^*$
★ - - - T	$3,9 + IEG \cdot 0,0499 \pm 0,0023^*$	$99,6 + INECG \cdot 15,9 \pm 0,73^*$



	EAPG (b)
○ — NT	$0,20 \cdot IPG^{-0,49 \pm 0,03^*}$
★ - - - T	$0,12 \cdot IPG^{-0,29 \pm 0,03^*}$



superíndices (diferencias entre pendientes): el asterisco marca las diferencias entre NT y T.

#### 4.5. RELACIONES EXPONENCIALES ENTRE VARIABLES DE SIGNIFICADO NUTRICIONAL Y VARIABLES INDICADORAS DEL DESARROLLO SOMÁTICO.

##### 4.5.1. RELACIÓN EXPONENCIAL ENTRE LA **Eficacia Alimentaria Proteica Global** (EAPG) Y LA **Ingesta Proteica Global** (IPG) EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON rhGH.

(Gráficas 25b y 26)

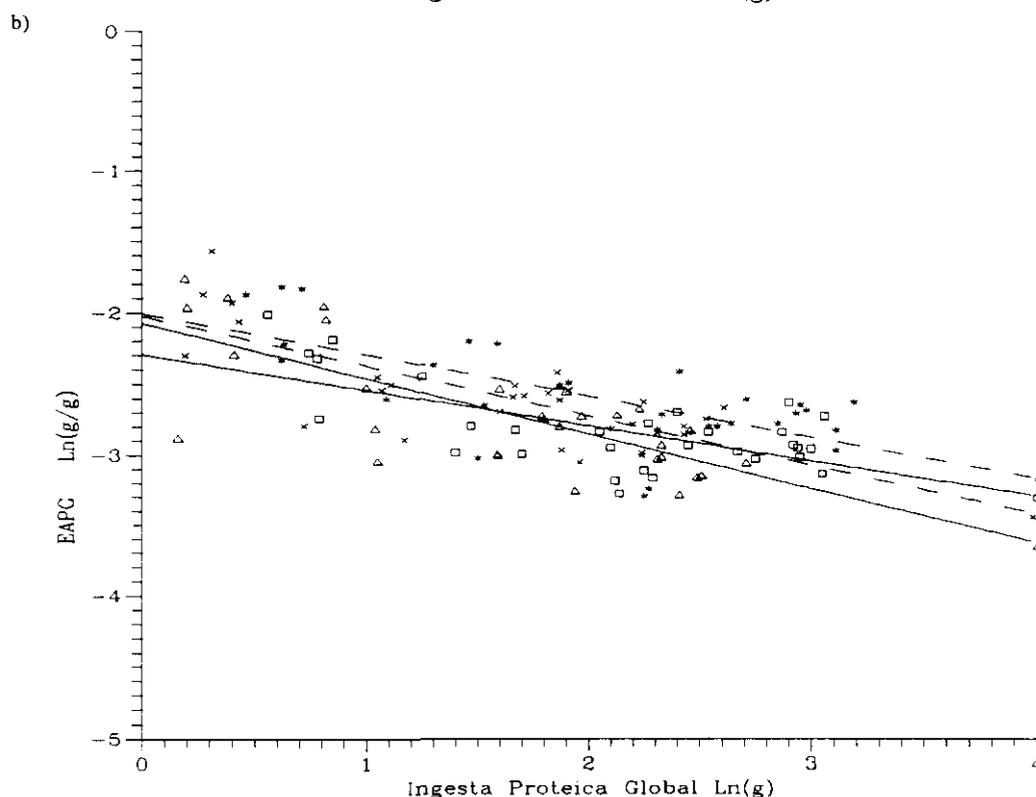
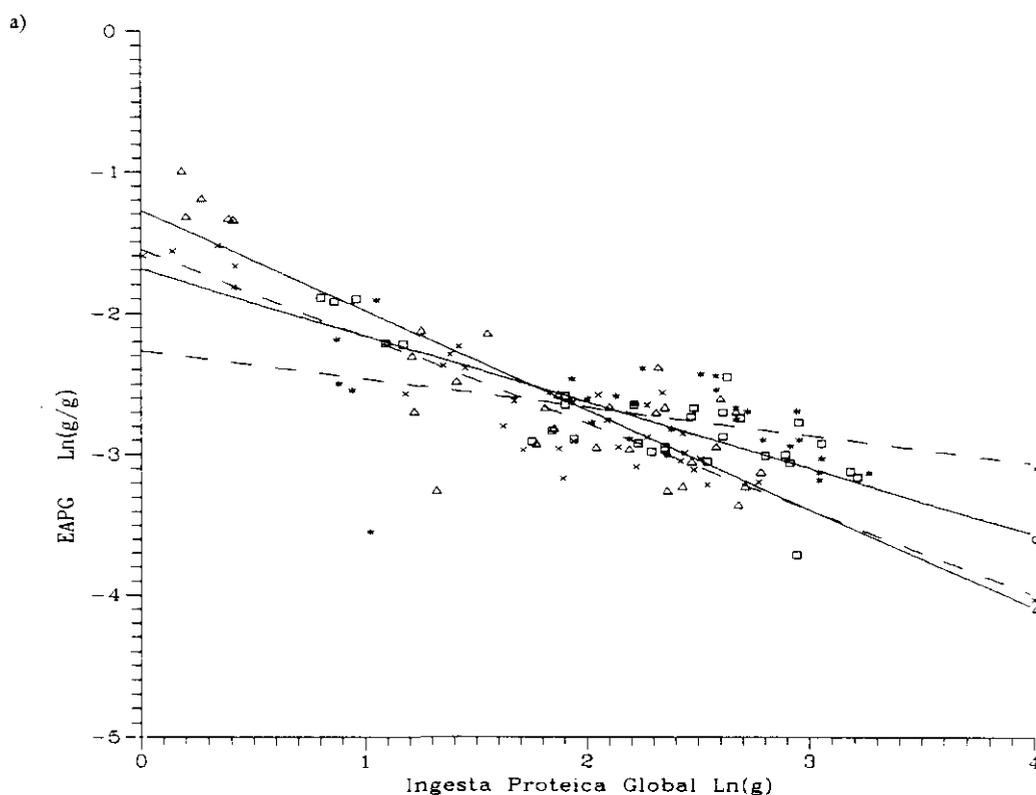
La eficacia alimentaria de la proteína disminuye a medida que se incrementa la ingesta proteica en todos los animales estudiados, siendo los animales NT sometidos al 20% quienes utilizan más eficazmente la proteína, especialmente los ratones ♀ 20% NT (gráfica 26a), aunque los animales del 12% de proteína presentan las más altas eficacias para menores ingestas proteicas.

Entre los animales T hay, sin embargo, escasas diferencias, puesto que sólo el grupo ♂ 20% T presenta una eficacia superior al grupo ♂ 12% T (gráfica 26b).

No obstante, a excepción del grupo ♀ 20% T cuya eficacia de utilización de la proteína es igual a la del grupo control ♀ 20% NT, todos los animales T utilizan más eficazmente la proteína que los animales NT respectivos (gráfica 25b).

**Gráfica 26.** Relación entre la Eficacia Alimentaria Proteica Global (EAPG) y la Ingesta Proteica Global (IPG) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

	EAPG (a)	EAPG (b)
x - - - - 12% ♀	$0,210 \cdot \text{IPG}^{-0,61 \pm 0,04 \text{ a1}^*}$	$0,131 \cdot \text{IPG}^{-0,34 \pm 0,05 \text{ a1}^*}$
$\Delta$ ——— 12% ♂	$0,278 \cdot \text{IPG}^{-0,70 \pm 0,07 \text{ a1}^*}$	$0,125 \cdot \text{IPG}^{-0,38 \pm 0,06 \text{ a1}^*}$
* - - - - 20% ♀	$0,103 \cdot \text{IPG}^{-0,20 \pm 0,07 \text{ a2}}$	$0,134 \cdot \text{IPG}^{-0,28 \pm 0,05 \text{ a1}}$
$\square$ ——— 20% ♂	$0,184 \cdot \text{IPG}^{-0,46 \pm 0,06 \text{ b2}^*}$	$0,081 \cdot \text{IPG}^{-0,17 \pm 0,10 \text{ a2}^*}$



**superíndices (diferencias entre pendientes):** letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

4.5.2. RELACIÓN EXPONENCIAL ENTRE LA RAZÓN **Incremento Proteico Corporal Global/Incremento Graso Corporal Global (INPCG/INGCG)** Y LA **Ingesta Proteica Global (IPG)**, EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON rhGH.

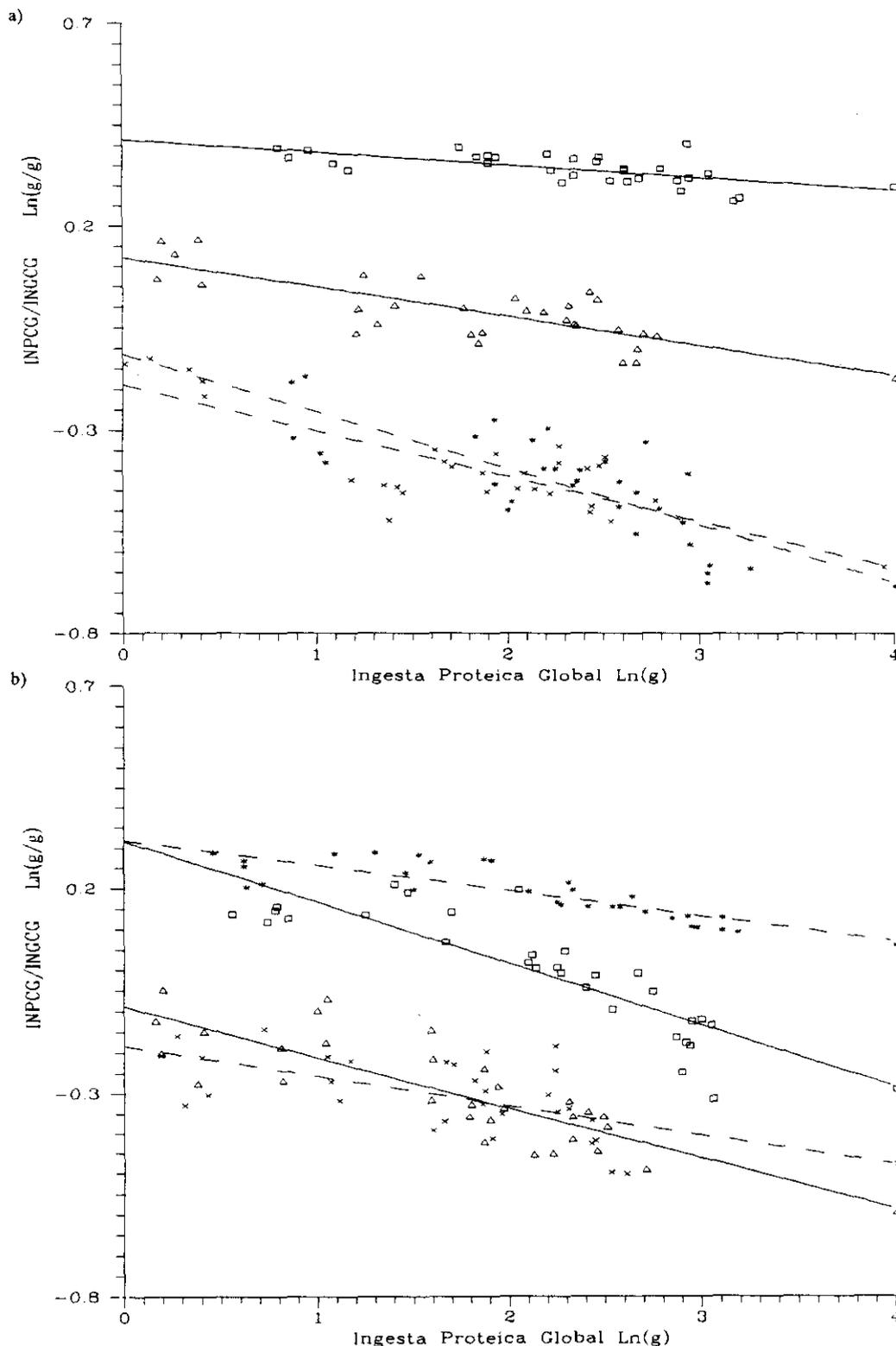
(Gráfica 27)

Los animales ♂ NT (gráfica 27a) de ambas dietas tienden a depositar más proteína que grasa para cualquier cantidad de IPG consumida, según indican las pendientes de las rectas de regresión, siendo esta tendencia mayor en los animales sometidos al nivel más alto de proteína (20%). Los animales ♀ por el contrario depositan inicialmente más grasa que proteína (razón INPCG/INGCG  $\approx$  0,86) y la tendencia sigue la misma pauta, independientemente de la dieta.

En los animales T se invierte el reparto de sustratos relativo a la IPG, de tal modo que aunque inicialmente los animales de la dieta del 20% depositan proporcionalmente más (razón INPCG/INGCG = 1,37) y los del 12% menos proteína respecto a grasa (razón INPCG/INGCG  $\approx$  0,87) la tendencia de depósito indicada por las pendientes de las rectas de regresión respectivas, muestran que los animales ♀ depositan más proteína que grasa mientras que los ♂, por el contrario, acumulan más grasa que proteína cuanto más ingesta proteica consumen (gráfica 27b).

Gráfica 27. Relación entre la razón Incremento Proteico Corporal Global/Incremento Graso Corporal Global (INPCG/INGCG) y la Ingesta Proteica Global (IPG) en ratones BALB/c *No Tratados* (NT) (a) y *Tratados* (T) (b) con rhGH, de ambos sexos, sometidos a 12% y 20% de proteína dietaria entre los 25 y 50 días de vida.

	INPCG/INGCG (a)	INPCG/INGCG (b)
x - - - - 12% ♀	$0,82 \cdot IPG^{-0,112 \pm 0,016 \text{ a1}^*}$	$0,83 \cdot IPG^{-0,073 \pm 0,019 \text{ a1}^*}$
Δ ——— 12% ♂	$1,12 \cdot IPG^{-0,071 \pm 0,011 \text{ b1}^*}$	$0,91 \cdot IPG^{-0,124 \pm 0,017 \text{ b1}^*}$
* - - - - 20% ♀	$0,89 \cdot IPG^{-0,139 \pm 0,022 \text{ a1}^*}$	$1,37 \cdot IPG^{-0,061 \pm 0,007 \text{ a1}^*}$
□ ——— 20% ♂	$1,51 \cdot IPG^{-0,031 \pm 0,007 \text{ b2}^*}$	$1,37 \cdot IPG^{-0,149 \pm 0,017 \text{ b1}^*}$



superíndices (diferencias entre pendientes): letras distintas indican dif. sig. entre sexos para una misma dieta y un mismo tratamiento. Números distintos indican dif. sig. entre dietas para un mismo sexo y un mismo tratamiento. El asterisco marca las diferencias entre NT y T.

## **DISCUSIÓN**

## 5.1. INGESTA, EFICACIA ALIMENTARIA Y DESARROLLO SOMÁTICO

5.1.1. INFLUENCIA DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LOS PARÁMETROS DE INGESTA, EFICACIA ALIMENTARIA Y CRECIMIENTO SOMÁTICO EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT), DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 1-6)

(Gráficas 1-3)

La velocidad de depósito proteico tanto corporal como muscular en los animales en crecimiento refleja por una parte, la capacidad de la dieta para proveer sustratos en este período de la vida, así como la puesta en marcha de una respuesta reguladora que active los procesos anabólicos que intervienen en el crecimiento.

El primero de estos factores depende no sólo de la concentración de la proteína en la dieta, sino de la cantidad de alimento consumido. De hecho el nivel dietario condiciona la cantidad de alimento, de calorías y de proteínas consumidas por el ratón BALB/c NT que pueden ser utilizados para crecimiento, lo que a su vez está influido por la edad del animal.

Como puede observarse en la tabla y gráfica 1, el mantenimiento estacionario de las ingestas (IT, IE e IP) por parte de los animales NT sometidos al 20% de

proteína, indica que ya a los 25 días de vida han alcanzado el máximo de ingesta necesaria, estableciéndose una meseta que abarca todo el periodo experimental por lo que la toma de alimento de estos animales no varía en función de la edad. También Blaxter y col. (1982) en ovejas y Gettys y col. (1988) en ratas encuentran que la estabilización del apetito se produce inmediatamente después del destete. Así pues, la ingesta alimenticia aumenta con la edad hasta un máximo en el que se mantiene, aunque posteriormente disminuye en forma exponencial (Thompson y Parks, 1983) (Roberts, 1981). Para Toyomizu (1988) la meseta aparece alrededor de los 7-14 días postdestete en el ratón, lo que parece coincidir con nuestros datos (grupo 20%).

Sin embargo los animales del grupo 12% NT, incrementan el valor absoluto y la evolución temporal de sus ingestas (IT, IE e IP) (tabla 5), hasta el día 40 de vida en el que se estabilizan, por lo que la meseta se obtiene posteriormente en el tiempo respecto a los grupos de mayor nivel proteico (tabla y gráfica 1). Ello parece indicar que la ingesta de una dieta marginal en proteínas, prolonga el tiempo de estabilización de la cantidad ingerida de alimentos quizá para compensar el déficit, puesto que el nivel de consumo define, de acuerdo con Parks (1982), las fuentes nutritivas utilizables por el animal durante el crecimiento y hasta la madurez. Toyomizu (1988) por el contrario, señala su carácter edad-independiente.

Por otra parte, la cantidad de IT e IE consumidas parece ser inversamente proporcional a la concentración proteica de la dieta, ya que disminuye en los grupos que consumen el más alto nivel de proteína y por ello la cantidad total de alimento y de energía consumidos por los ratones del 12% de proteína, es superior que en aquellos, en especial entre los 40 y 45 días de vida (tabla 1, gráfica 1 a y b). Por el

contrario, la ingesta proteica diaria sí resulta directamente proporcional al porcentaje proteico dietario, puesto que su consumo es mayor en los grupos sometidos al 20% de proteína (tabla 1, gráfica 1c), al igual que sucede en ratones ddY en crecimiento (Toyomizu, 1988).

Así pues, los ratones sometidos al 12% de proteína dietaria parecen reconocer la necesidad de consumir más proteína a través del aumento progresivo del consumo total de alimento. Ello puede representar, de acuerdo con Claeysens y col. (1990), un mecanismo por el que se compensen los bajos niveles de ingesta proteica.

Esta respuesta hiperfágica a dietas bajas o marginales en proteína no es, sin embargo demasiado sorprendente, dado que existen en la literatura un variado rango de respuestas que oscilan entre ingestas mantenidas o elevadas (Miller y Payne 1962) (Tulp y col., 1979) (Gurr y col., 1980) (Rothwell y Stock, 1982) (Lunn y Austin 1983) (Laurent y col., 1984) e ingestas disminuidas (McCracken y McAllister, 1984) (Harri y Brockway, 1985) respecto del valor control.

En cualquier caso los ratones BALB/c alcanzan a día 50 su peso corporal final (tabla 2), a través de un crecimiento paulatino edad-dependiente que se inscribe en la S de la curva sigmoide de crecimiento, desde la fase de máxima velocidad de crecimiento hasta el comienzo de la fase de estabilización (Cheek y Holt, 1963), dado que el período estudiado (25-50 días), corresponde aproximadamente a 1/35 de la vida total del ratón (2,5 años) (Malik, 1984) en la que el peso corporal aumenta con la máxima velocidad. Del mismo modo, en ratones normales y seleccionados para crecer a grandes y pequeños tamaños, el mayor aumento corporal se produce entre la sexta y la decimotercera semana de vida (Roberts, 1981).

El valor absoluto de PCF alcanzado por el ratón BALB/c ( $\approx 18-20$  g) (tabla 2) coincide con el encontrado en la literatura para esta cepa de ratón, alimentado con una dieta estándar del 20% de proteína (Lane y col., 1991).

Simultáneamente al incremento de peso corporal, la eficacia alimentaria y la tasa relativa de crecimiento decrecen en función de la edad (tabla 3 y gráfica 2), lo que significa que el potencial de crecimiento se pierde a medida que se alcanza la madurez, puesto que cada vez menos cantidad de alimento o de energía se transforma en peso (Salmon y col., 1990).

Los máximos valores de estos parámetros aparecen por lo tanto entre los 25 y 40 días de vida, al igual que sucede en ratas y ratones, en los que el máximo incremento de peso (g/día) se verifica entre la cuarta y la sexta semana de vida (Bakker y col., 1976). En general los roedores presentan las más altas velocidades de crecimiento después del nacimiento, hasta un 6% aproximadamente de su vida media (Reeds y Fiorotto, 1990). El ratón BALB/c utilizado se encuentra en el 5,4% de su vida.

La menor pérdida temporal de los valores de EA y VFC (gráfica 2 a y c) y el mantenimiento del incremento ponderal absoluto (g/día) (gráfica 2b) de los animales sometidos al mayor nivel de proteína dietaria (tabla 3), hace que a día 50 de vida estos parámetros sean superiores a los de los grupos sometidos al 12% de proteína, cuya mayor rapidez en el descenso de la tasa neta de crecimiento en relación a la ingesta total, determina la mayor caída de la eficacia alimentaria diaria y en consecuencia de la velocidad fraccional de crecimiento. También Priestley y Robertson (1973) encuentran en ratones de lento crecimiento descensos similares de la velocidad fraccional de crecimiento (20%/día a las 4ª semana y 3%/día a la 7ª

semana). Así pues, la concentración de proteína en la dieta modifica la evolución del crecimiento ponderal a lo largo del tiempo, ya que las velocidades de crecimiento y la transformación del alimento son directamente proporcionales al porcentaje dietario de la proteína. De igual modo Prewitt y col. (1982) señalan, que el peso corporal aumenta en proporción directa al nivel de proteína consumida para cada edad del animal, lo que depende de la influencia de la interacción ExD (tabla 4).

A pesar de la disminución temporal de estos parámetros, los animales machos NT sometidos al 12% de proteína, logran alcanzar a día 50 un peso corporal final igual al de los ratones machos de mayor nivel proteico (tabla 2), lo que parece relacionarse con el incremento de la cantidad de alimento ingerido y la mayor rapidez de evolución temporal de la ingesta, llevándoles a mantener el mismo crecimiento que los animales del 20%. Por el contrario, los animales ♀ 12% NT con similares parámetros temporales de crecimiento ponderal que el sexo opuesto (♂ 12%) no consiguen alcanzar el peso corporal de las hembras del grupo de mayor nivel proteico a consecuencia de la menor eficacia en la utilización de la ingesta que induce la pérdida del potencial de crecimiento de estos animales (gráfica 26), como se describe más abajo. Igualmente en ratas Wistar al destete Mohan y Narasinga Rao (1983) señalan que los animales sometidos al 10% de proteína alcanzan menores PCF que los controles del 20% de proteína, al consumir igual ingesta pero con menor eficacia alimentaria.

Sin embargo debería esperarse que las mayores ingestas condujeran a mayores eficacias. Si se sustraen los requerimientos para mantenimiento en una ingesta dada, el resto es utilizable para crecimiento. Los animales que comen poco más que para

cumplimentar su mantenimiento, no podrán crecer y serán ineficientes, los que coman más podrán crecer y ser más eficientes (Roberts, 1981).

Por ello, puesto que la ganancia ponderal es el resultado de la cantidad de alimento ingerida y de su eficacia, es preciso conocer la magnitud real de su contribución al cambio ponderal.

En este sentido, la correlación existente entre la eficacia alimentaria global y el PCF y entre la velocidad fraccional de crecimiento y el PCF (gráfica 3), explica las diferencias en el crecimiento entre los distintos grupos de animales NT. Así, mientras los grupos del 20% de proteína mantienen una eficacia alimentaria global cuasi-constante en relación al PCF (correlación lineal no significativa en los machos), con un mínimo descenso que asegura un crecimiento paulatino; los grupos del 12% de proteína presentan valores de EAG superiores a aquellos para pesos corporales menores de 15 g, por lo que transforman más eficazmente el alimento en peso y obtienen una velocidad fraccional de crecimiento también superior a las obtenidas por los animales del 20% de proteína, en un rango ponderal entre los 10 y 15 g de peso corporal, lo que les permite superar el déficit de proteínas en la dieta.

Sin embargo, aunque la dinámica del crecimiento corporal es semejante en los animales hembras y machos del 12% de proteína, el reparto de nutrientes y su utilización en el depósito de sustratos difiere notablemente entre ambos sexos.

El PCF alcanzado por el grupo ♂ 12% NT no sólo depende de su mayor ingesta sino de su mejor eficacia de depósito hacia la proteína corporal. Por el contrario, el grupo ♀ 12% NT con una mayor tendencia hacia el depósito graso no logra depositar suficiente masa magra y su PCF no se equilibra con los controles (gráfica 27a), lo que puede relacionarse con una mayor acción promotora del

crecimiento de las hormonas sexuales masculinas sobre las femeninas en el período puberal, que facilita el crecimiento de la masa magra a día 50 de vida.

La observación de un crecimiento normal en ratones de esta edad, que ingieren dietas de un nivel de proteína medio o bajo, es excepcional, puesto que a pesar de la hiperfagia, la respuesta normal es un retardo en el crecimiento (Coyer y col., 1987), aunque Jepson y col. (1988) describen en ratas sometidas a un 8% de caseína dietaria, que el peso de los animales se mantiene a nivel control (20%) debido al incremento de la ingesta diaria y su eficacia de utilización.

El estudio de la forma de distribución de sustratos corporales en ambos sexos, puede definir, por lo tanto, la causa real de la forma del crecimiento corporal de estos animales, sometidos a dos niveles de proteína dietarios, como se discutirá más adelante.

5.1.2. EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE HORMONA DE CRECIMIENTO (rhGH), DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LAS INGESTAS, EFICACIA ALIMENTARIA Y VELOCIDADES ABSOLUTA Y FRACCIONAL DE CRECIMIENTO EN RATONES BALB/c *Tratados* (T) CON rhGH, DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% Y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 7-18)

(Gráficas 4-9)

La administración exógena de la hormona somatotropa induce un importante cambio en la evolución temporal de la ingesta de alimentos en los animales T (tabla 7, gráfica 4), dando lugar a una respuesta bifásica en la que se aprecia un descenso en la cantidad de alimento ingerido durante la primera etapa (25-30 días), seguido de un incremento paulatino en el segundo período (30-50 días).

Estas modificaciones parecen consecuencia del efecto directo sobre la ingesta de alimentos por parte de la GH, cuyo efecto negativo también ha sido puesto de manifiesto por Boyd y col. (1986) en cerdos machos tratados con pGH y en cerdos castrados (Etherton y col., 1986), lo que parece relacionarse linealmente con la dosis de hormona empleada (Ivy y col., 1986).

La consecuencia inmediata de la caída de la ingesta, que llega a ser de un 30% a un 40% menor que en animales control, conlleva el desencadenamiento de un déficit calórico o proteico-calórico, que es la causa de la pérdida de potencial de

crecimiento que se manifiesta durante la primera etapa de la respuesta en todos los animales estudiados.

En contraste al superior descenso de la ingesta cuanto mayor es el porcentaje de proteína consumido, encontrado en cerdos sometidos a GH por Grant y col. (1991), la hipofagia de los animales estudiados es equivalente en todos los grupos, independientemente de la dieta consumida (tabla 13) (gráficas 4 y 7). Sin embargo, la caída temporal de la eficacia del alimento y la pérdida de las tasas de crecimiento absoluta y relativa, es mayor en los animales sometidos al 12% de proteína (tabla 9, gráfica 5), lo que induce una mayor pérdida de sustratos que les impide la recuperación posterior, mientras que la mayor disponibilidad de aminoácidos por parte de los animales del 20% de proteína facilita su rehabilitación durante la segunda etapa de la respuesta.

Por lo tanto, la disminución de la EA y de las tasas de crecimiento de los animales T respecto de los NT de la misma dieta (tabla 15, gráfica 8) durante la etapa inicial del tratamiento impide el incremento ponderal de los animales estudiados, retrasando notablemente el crecimiento normal en un momento clave de su curva de crecimiento (Malik, 1984) (Reeds y Fiorotto, 1990). Ello parece señalar que el efecto deplecionante del déficit calórico predomina sobre la acción anabólica de la hormona, retrasando la llegada a un peso corporal final maduro (Salmon y col., 1990).

De igual modo, la masa total corporal, la masa total corporal sin grasa y la masa de algunos órganos decrecen en estados de malnutrición proteica y proteico-calórica o durante el ayuno, a través de modificaciones en la velocidad de crecimiento (Stephens, 1980) (Harris, 1980a, 1980b).

Este profundo efecto deplecionante sólo es explicable teniendo en cuenta el momento fisiológico en el que tiene lugar la administración hormonal, el destete, en el que los importantes cambios metabólicos relacionados con el paso de la alimentación láctea a la sólida (Issad y col., 1988) pueden determinar la dificultad de adaptación a la brusca disminución de la ingesta provocada por la rhGH.

En este sentido Speck y col. (1988) señalan que el dramático decrecimiento de la grasa, inmediatamente después del destete en ratones hembra transgénicos, expresando el gen de la oGH, refleja probablemente la ingestión reducida de alimentos asociada a la adaptación del tracto digestivo a los alimentos sólidos.

Durante la segunda fase de la respuesta a la hormona, el crecimiento se ve favorecido en todos los animales T, los cuales recuperan un peso corporal final que alcanza (tabla 14) los valores de los animales NT a excepción del grupo ♂ 12% T que no se rehabilita. Ello se debe al incremento paulatino de la ingesta de alimentos entre los 35 y 50 días de vida (tabla 7 y gráfica 4) que llega incluso a hacerse superior a la de los animales NT (tabla 13 y gráfica 7) y que parece un posible mecanismo de autorregulación cuya dependencia de la rhGH es, de momento, desconocida.

El efecto anabólico de la hormona parece manifestarse en esta segunda etapa mediante grandes incrementos temporales de la tasa absoluta de crecimiento (tabla 15, gráfica 8b), que junto al aumento de la ingesta, permite incrementar la eficacia de conversión del alimento en peso y la velocidad fraccional de crecimiento a nivel de los animales NT (tabla 15, gráfica 8c).

Sin embargo, la profunda pérdida de la EA y de la velocidad de crecimiento sufridos por el grupo ♂ 12% T, les impide crecer a nivel control (tabla 14).

También en cerdos sometidos a npST y rpST (Machlin, 1972) (Boyd y col., 1986) (Etherton y col., 1986) (McLaren y col., 1990) y en ratas tratadas con pGH (Sillence y Etherton 1991), con bGH (Baker y col. 1984) y con rGH (Groesbeck y col. 1987) se han encontrado incrementos en la ganancia de peso diaria y en la eficacia alimenticia

Otros resultados son menos concluyentes. Así, en novillos prepúberes no aparecen modificaciones en la ingesta ni en la conversión del alimento en peso después del tratamiento con bST (Sandles y Peel, 1987), mientras que en corderos GH-tratados se aumenta la eficacia alimentaria sin alteraciones en la ingesta de alimentos (Wagner y Veenhuizen, 1978) (Muir y col. 1983). Por su parte Johnson y col. (1985), no encuentran diferencias en la ingesta, pero sí aumentos en la eficacia alimentaria con el resultado de una mayor velocidad de crecimiento en corderos hembra tratados con la hormona.

Por otra parte, la capacidad de rehabilitación de los animales del 20% puede relacionarse con el incremento de las necesidades de aminoácidos demandadas por la GH para poder ejercer su acción anabólica, que requiere un mínimo de concentración proteica dietaria entre el 16 y el 18% en cerdos en crecimiento GH-tratados (Etherton, 1989).

Por el contrario, en cerdos administrados con pGH y sometidos a un 14% de proteína en la dieta, la ganancia de peso diaria y la eficacia alimentaria disminuyen (Grant y col., 1991) respecto a los sometidos a un mayor porcentaje en proteína (20%), llegando la privación nutritiva a limitar la expresión total de los efectos anabólicos de la GH, como también señalan Buonomo y Baile (1991). Ello explica la menor capacidad de rehabilitación de los ratones T sometidos al 12% de proteína.

No obstante y a pesar de no alcanzar el crecimiento deseado, el efecto que genera la hormona en los animales ♂ sometidos al 12% de proteína es mayor proporcionalmente al que ejerce sobre los grupos que se alimentan con el 20% de proteína. Así, el porcentaje de incremento respecto a animales control de los parámetros estudiados, oscila entre un 200% y un 250% en los animales ♂ del 12% T, mientras que sólo aumentan entre un 30% y un 50% en los animales ♂ del 20% T. El mismo efecto se observa en el grupo ♀ 12% T.

Ello supone que en animales con déficit proteico dietario, la administración de rhGH ejerce un mayor efecto anabólico para contrarrestar la deficiencia, lo que puede ser la causa de su utilización en la mejora del catabolismo proteico producido por enfermedades deplecionantes o en procesos quirúrgicos (Lunnberg y col., 1991).

De lo expuesto se deduce que, el efecto anabólico de la hormona parece capaz, no sólo de sobrepasar el efecto negativo de la primera etapa de la respuesta, sino también de alcanzar más rápidamente el mismo PCF que los ratones control al incrementar los mecanismos de crecimiento, pero en condiciones de concentraciones adecuadas de proteína en la dieta.

## 5.2. COMPOSICIÓN CORPORAL

5.2.1. INFLUENCIA DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PESO VACÍO EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON rhGH, DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 19-42)

(Gráficas 18-27)

El conocimiento de los cambios temporales en la composición corporal es fundamental para comprender el crecimiento, puesto que las modificaciones en la cinética del incremento de la masa corporal, inducen cambios paralelos en la composición corporal y en la eficiencia con que se producen (Bailey y col., 1960).

Las diferencias entre individuos de la misma especie son consecuencia, básicamente, de las cantidades relativas de los nutrientes ingeridos que se distribuyen entre el coste energético de mantenimiento y el contenido energético de los componentes incrementados, por lo que la exacta composición corporal en las distintas etapas del crecimiento, dependerá de la prioridad relativa de los distintos tejidos para cada nutriente (McMeekan, 1940). A ello se une la influencia de factores hormonales que pueden afectar la redistribución de los sustratos en distintas direcciones, como es el caso de la somatotropa (Bauman y col., 1982). Así pues, los cambios en la ingesta de alimentos, así como en los parámetros del crecimiento

anteriormente mencionados, inducen modificaciones simultáneas de la composición corporal a través de modificaciones en la utilización del alimento y en la tasa de acreción de sustratos.

En el ratón, cada componente químico presenta un crecimiento particular entre el nacimiento y la madurez (Malik, 1984). En ratones BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) el contenido total de agua, proteínas, cenizas y grasa del cuerpo vacío se incrementa en función de la edad (tablas 20, 22, 23, 32, 34 y 35), al igual que señalan Cheek y Holt (1963) en el ratón y Bridges y col. (1986) en el cerdo.

El aumento es más paulatino en los ratones NT a consecuencia de su mejor adaptación a la alimentación sólida en el momento del destete (Issad y col., 1988) y se realiza a velocidades de depósito que en general descienden con la edad, por lo que la acreción más rápida se produce a la edad más temprana. Así, la máxima velocidad de acreción proteica global del peso vacío se produce entre los 25 y 30 días de vida (tabla 21), lo que coincide también con la mayor eficacia alimentaria y la más alta velocidad absoluta de crecimiento (tabla 3), especialmente en los animales machos de ambas dietas. El mismo resultado se ha obtenido en cerdos en crecimiento (Campbell y col., 1984) (Campbell y Taverner, 1985a) y en ratas Sprague-Dawley sometidas a sobrealimentación (Drewry y col., 1988), lo que parece reflejar una mayor capacidad para depositar proteína. Por ello el depósito proteico corporal en términos acumulativos y absolutos (tabla 20) se incrementa, presentando la mayor tasa de incremento proteico corporal global el grupo ♀ 20% NT, el cual llega a ser un 348% más grande entre los 25 y 50 días de vida, a consecuencia del mantenimiento temporal de su tasa de crecimiento diaria (tabla 21).

Además, la tasa de acreción grasa con máximos valores a día 25 de vida, cae bruscamente a día 30 en los animales ♂, permaneciendo estable en las ♀, especialmente en el grupo de mayor nivel de proteína dietaria (♀ 20% NT), lo que les permite presentar el máximo incremento acumulado de grasa corporal en el período estudiado (tablas 21 y 22), siempre proporcional al nivel de proteína ingerida. Muchos autores han señalado a este respecto la reducción de la velocidad de depósito de grasa corporal después del destete en el ratón (Stannier y Mount, 1972), asociada con menores pérdidas en la velocidad de depósito proteico (Mitchell y Jagusch 1972) (Robelin, 1977), aún cuando parecen existir muchas diferencias entre las especies.

Para Hetzel (1986) la producción de grasa corporal está ligada al momento en el que se alcanza la madurez sexual, creciendo una vez alcanzada la madurez química, alrededor de los 35 días de edad (Malik, 1984). El hecho de que el depósito lipídico siga aumentando durante toda la experiencia, significa que su crecimiento se prolonga más allá de los 50 días de vida en el ratón BALB/c. A este respecto Toyomizu (1989) indica que en ratones ddY en crecimiento, el acúmulo de energía y de proteína se incrementa con la edad hasta una meseta, alrededor de los días 50 y 60, respectivamente, después del destete.

Por otra parte, el crecimiento de los componentes corporales de los animales GH-tratados se produce más tardíamente (a partir del día 35 de vida) a consecuencia de las modificaciones en la ingesta de alimentos provocada por la administración exógena de la hormona y que da lugar a una respuesta bifásica temporal en estos animales.

La estasis del crecimiento ponderal observado entre los días 25-35 de vida, se manifiesta por la estabilización simultánea de los depósitos corporales absolutos,

lo que depende de la pérdida de las tasas de acreción de sustratos (en especial de las velocidades de depósito de la proteína y la grasa corporales (tabla 33)) y deriva del déficit calórico o proteico-calórico inducido por la disminución de la ingesta. También Ferrell y Koong (1986) indican que los componentes corporales disminuyen cuando el nivel de alimento es bajo, a consecuencia de la pérdida en la velocidad de depósito de los sustratos en ratas Sprague-Dawley sometidas a bajos niveles nutritivos.

La aparición de la hiperfagia facilita el incremento de todos los componentes corporales y de sus velocidades de depósito entre los días 35 y 50 de vida, lo que da lugar a la recuperación del crecimiento corporal de los animales T, quizá a consecuencia de la acción anabólica de la somatotropa, que puede favorecer la rehabilitación. De acuerdo con esto, Searle y col. (1992) indican que los componentes corporales aumentan después del destete en ratones transgénicos, en especial a partir del día 39 de vida.

El aumento temporal del valor absoluto de los componentes corporales, se acompaña en los animales NT, de modificaciones en su proporción relativa, de tal modo que el porcentaje de agua y proteína desciende levemente a lo largo de la edad (tabla 19), mientras que la concentración de grasa se eleva (tabla 22) y la de cenizas aumenta o no se modifica (tabla 23). A este respecto Lang y Legates (1969) y Bakker (1974), señalan que los porcentajes de cenizas y proteínas permanecen relativamente estables durante el crecimiento después del destete, mientras que la concentración de grasa aumenta y la de agua disminuye. Cambios similares se detectan en los animales GH-tratados (tablas 31, 34 y 35), aunque Siddiqui y col.

(1990) no encuentra modificación alguna en la composición química de ratones seleccionados para altas concentraciones de IGF-I.

Moulton (1923) considera que el punto de madurez química se alcanza cuando los porcentajes de proteína, cenizas y agua del cuerpo magro se estabilizan. A este respecto Bailey y col. (1960) recomiendan la razón proteína/agua, como una medida de la "edad fisiológica". Esta razón se incrementa con la edad hasta su estabilización, en el período de la madurez química. En este caso, la relación proteína/humedad no varía ni en animales NT (tabla 24) ni en los T (tabla 36), lo que significa que la ganancia de agua y proteínas son proporcionales entre sí en el período estudiado, y que la madurez química parece ya alcanzada, quizá por haber rebasado la máxima velocidad de depósito de proteína (25 días). Ello coincide con el período entre los 21 y 40 días de vida, momento en el que se produce el primer estro en la hembra (37 días) (Aguilar, 1989b) y que para Cheek y Holt (1963), corresponde a la etapa de madurez en el ratón. También en el ratón albino (Cheek y Holt, 1963) se ha encontrado una relación lineal entre la proteína y el agua corporales.

Además, gracias al progresivo aumento en la formación de grasa respecto de la proteína y del agua (Reid y col., 1968), las razones grasa/proteína y grasa/humedad se incrementan, tanto en animales NT (tabla 24) como en los T (tabla 36), sugiriendo que durante el período estudiado, los sustratos se desvían preferentemente hacia la masa grasa, gracias a la cual, como señalan Bailey y col. (1960), alcanzan el peso corporal final.

Esta tendencia puede relacionarse con la capacidad para consumir una mayor cantidad de ingesta energética (tablas 1 y 7) y su utilización para el crecimiento, lo que deriva en un mayor depósito energético corporal, ya que la cantidad de energía

corporal depositada es directamente proporcional a la ingesta energética (gráfica 22a y b) en todos los animales estudiados. Igualmente en ratones seleccionados para aumentar la eficacia alimentaria, el crecimiento se produce por una mayor cantidad de energía utilizada en el depósito energético corporal (Timon y Eisen, 1970) (Stannier y Mount, 1972).

Por otra parte, el crecimiento de los depósitos absolutos de todos los componentes corporales resulta proporcional al nivel de proteína dietario, puesto que los animales sometidos a la dieta del 20% de proteína incrementan no sólo la cantidad absoluta de los componentes corporales, sino también la rapidez de su depósito (tablas 27, 28 y 39, 40). Así el incremento acumulado de la proteína aumenta un 40% en animales NT y un 90% en T, en relación a los ratones de menor nivel de proteína (tablas 20 y 32) a consecuencia de la elevación de la tasa de acreción proteica, que oscila entre el 60 y el 100% en los animales NT (tabla 21) y entre el 55% y el 80% en los animales T (tabla 33).

Igualmente el depósito graso es superior en los animales ♀ 20% NT debido a su mayor velocidad de acreción grasa (tabla 21), lo que le permite depositar más energía y grasa corporal (gráficas 21a y 22a). Sin embargo, en los animales T sólo los machos sometidos al 20% presentan mayores velocidades e incrementos grasos a día 40 y 50 de vida, lo que parece invertir la acción lipolítica de la hormona (tablas 33 y 34) (gráficas 21b y 22b).

En este sentido, Searle y col. (1992) encuentran contenidos en grasa corporal muy variables a cualquier edad en ratones transgénicos que expresan el gen MT1a-GH, aunque con diferencias poco claras en relación a los animales control.

Las modificaciones antedichas originan, a su vez, la redistribución porcentual de los depósitos corporales, dando lugar a un incremento de la proteína corporal relativa (tabla 31) y la disminución simultánea de la concentración de grasa en los animales T (tabla 34) y de las cenizas en los NT (tabla 23), siempre en relación a los grupos sometidos al 12% de proteína dietaria.

También Ferrell y Koong (1986) en ratas sometidas a varios niveles nutritivos, Harris y col. (1984) en ratas subnutridas y Smith y col. (1989) y Easter (1987) en cerdos tratados con somatotropa, encuentran modificaciones similares de los depósitos corporales con el aumento de la proteína dietaria.

Este efecto se debe posiblemente a la mejor utilización de la proteína y de la energía ingeridas, por parte de los animales NT y de los T, hacia el depósito de proteína corporal ya que el contenido proteico en peso y en energía corporal aumentan proporcionalmente a la cantidad de ingesta proteica global y a la de ingesta energética global y lo hace con más rapidez en los animales del 20% que en los del 12% de proteína (gráficas 18 y 19).

En este sentido Campbell y col. (1985a y 1989b) señalan que el depósito proteico responde en forma lineal al incremento de la ingesta hasta llegar al límite del apetito del animal y que la acreción proteica aumenta con el incremento de la proteína dietaria, tanto en animales controles como en los tratados con GH (Campbell y col., 1991), lo que coincide con nuestros datos.

Aún cuando la eficacia alimentaria proteica global (EAPG) disminuya con el aumento de la proteína ingerida (gráfica 26), en los animales 20% NT, la conversión de la proteína en peso es superior a la del grupo 12% NT para una misma IPG, lo que favorece su mejor utilización. No obstante para IPG muy bajas (< 1,8 g) sólo

consumidas por estos últimos animales, la EAPG es mucho mayor, lo que puede facilitar el depósito proteico corporal de los ratones NT de menor nivel proteico. Este efecto es similar a la relación entre eficacia alimentaria global y PCF anteriormente estudiada, en la que para pesos menores de 15 g es más eficaz el grupo de menor nivel proteico.

Por el contrario, el descenso en la eficacia alimentaria de la proteína en relación al aumento de la ingesta proteica es idéntico para todos los animales T a excepción del grupo ♂ 20% T cuya menor pendiente respecto al grupo ♂ 12% T facilita el mayor incremento absoluto y acumulado de la proteína corporal (tabla 32).

Por otra parte, también la dieta del 20% de proteína determina en general un aumento de las razones P/H y P/C, en especial en los animales ♀ NT (tablas 23 y 24). Esto puede significar la aparición de un mayor desarrollo muscular respecto al óseo en los animales NT mejor nutridos, dada la estrecha relación que existe entre el crecimiento del músculo estriado y del hueso y entre la deposición de proteína y de cenizas. Sin embargo, los datos son conflictivos a este respecto, puesto que Cohn y Joseph (1959), McNiven (1980) y Walks y col. (1983) señalan que la relación agua/proteína/cenizas no se afecta por las modificaciones dietarias, al igual que sucede en los animales T.

De todo lo expuesto se deduce que la proteína y la grasa corporal durante el crecimiento está influida por la edad y por el nivel de proteína de la dieta en todos los animales estudiados. Sin embargo, para Toyomizu (1988) mientras que la grasa corporal es dependiente tanto de la proteína dietaria como de la edad, la proteína corporal es independiente de estos factores.

Por último, la distribución de sustratos también se encuentra influida por el sexo. Así, los depósitos relativos de agua y de proteína son superiores en los animales machos NT, mientras que por el contrario, el porcentaje de grasa y energía predominan en las hembras NT (tablas 19 y 22), lo que señala de acuerdo con Schemmel y col. (1969) que los animales machos presentan un mayor porcentaje de proteína, crecen más de prisa y depositan más proteína que el sexo opuesto, debido a su mayor tasa de crecimiento de la proteína corporal, en especial en los animales más jóvenes (tablas 20 y 21).

También Radcliffe y Webster (1978) en ratas Zucker magras y obesas de ambos sexos encuentran, utilizando porcentajes de proteína dietarios por encima del 10% tasas de depósito de proteína corporal superiores en animales machos que en hembras, especialmente en las ratas magras. Estos mismos autores (Radcliffe y Webster, 1978) indican que el mecanismo fundamental por el que se regula la acreción de proteínas durante el crecimiento, es a través del control de la ingesta de nutrientes. En este sentido se puede comprobar (gráficas 18a y 19a), que los ratones BALB/c NT de ambos sexos depositan la misma cantidad de proteína corporal para una cantidad de ingesta proteica y energética dada, lo que sugiere que el límite para depositar proteína es igual para los animales ♀ y los ♂, y que las diferencias encontradas en el potencial de crecimiento parecen depender de los distintos porcentajes proteicos dietarios, indicativos de la influencia de la interacción DxS.

Por el contrario, los animales ♀ NT sometidos a ambas dietas (12% y 20%), depositan más grasa corporal a partir de ambas ingestas (IPG e IEG) que los animales ♂ NT respectivos (gráficas 20a y 21a) lo que parece confirmar su potencial genético para la acreción de grasa.

Sin embargo, en los animales tratados con somatotropa existen modificaciones poco definidas en la composición corporal entre ambos sexos, aunque en general los animales hembras del 12% tienden a depositar más proteína, grasa y energía que los machos del 12%, mientras que los machos del 20% por el contrario, depositan más grasa e igual proteína que las hembras del 20% para una misma IPG (gráficas 18b, 20b y 22b) y menos proteína y más grasa para una misma IEG (gráficas 19b, 21b y 22b), lo que parece invertir la tendencia normal de cada sexo en el depósito de sustratos.

Este efecto parece estar relacionado con el diferente patrón de pulsatilidad en la liberación de la hormona de crecimiento por parte de cada sexo y cuya alteración, debido al aporte exógeno de la GH, induce cambios en la diferenciación sexual (Robinson, 1993).

No sólo la redistribución de sustratos corporales se altera por la GH, sino también la diferenciación sexual de la función hepática, feminizando la expresión de los genes del citocromo P450C12 en el hígado de rata macho, posiblemente por la modificación de la capacidad de unión del DNA a factores de la transcripción como los factores hepatocíticos nucleares 1 y 3 (HNF-1 y HNF-3), según indican Gustaffson y col. (1993). También Devesa (1989) encuentra que la supresión de la pulsatilidad en la liberación de la GH induce en las hembras una masculinización y en los machos una feminización, no mediada por esteroides sexuales, de las actividades de enzimas hepáticos como el 5- $\alpha$  reductasa y el 15- $\beta$  hidroxilasa.

Por otra parte, Campbell y col. (1989a) señalan que la administración exógena de GH parece eliminar la diferencia sexual existente en el crecimiento de los componentes corporales de los animales control, mientras que Siddiqui y col. (1990) en ratones en crecimiento seleccionados para diferentes niveles de IGF, encuentran mayores cantidades de proteína y agua corporal en los ratones macho que en las hembras y en éstas más grasa que en los machos con menores pesos corporales, aunque el efecto sexual no es siempre significativo, lo que da idea de la dificultad de demostrar los efectos sexuales en los animales GH-tratados

5.2.2. EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE HORMONA DE CRECIMIENTO (rhGH), DE LA EDAD, LA DIETA, EL SEXO Y SUS INTERACCIONES SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PESO VACÍO EN RATONES BALB/c *Tratados* (T) CON rhGH, DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA DIETARIA (12% Y 20%) ENTRE 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Tablas 43-54)

(Gráficas 23-25)

La composición corporal y la distribución de los sustratos en ratones BALB/c en crecimiento administrados con rhGH, está influido por la respuesta bifásica a la hormona, manifestada cuando se comparan los animales T con los controles NT.

Durante la primera etapa de dicha respuesta (25-30 días) los depósitos absolutos de proteína, agua, cenizas y grasa disminuyen por efecto de la hormona (tablas 44, 45, 46 y 47) a consecuencia de la disminución de la ingesta total (tabla 13), eficacia alimentaria (tabla 15) y velocidades absoluta y fraccional de crecimiento corporal, lo que se corresponde con la parada del crecimiento somático que conlleva la pérdida del peso corporal final en todos los animales T respecto de los controles. El efecto es más profundo y duradero en los animales sometidos al nivel más bajo de proteína dietaria (12%) y afecta especialmente al grupo ♂ 12% T.

Esta depleción de sustratos se asocia con la baja utilización de las ingestas proteica y energética hacia los depósitos de proteína y grasa corporal por parte de los

animales T para IPG por debajo de 10 g e IEG por debajo de 1000 kJ, en comparación con los animales NT (gráficas 23 y 24).

Ello se refleja en el descenso de las velocidades de acreción de la proteína y de la grasa corporal que llegan a ser entre un 50% y un 60% más bajas que en los animales controles (tabla 45) lo que induce la pérdida del incremento acumulado de estos sustratos y en definitiva de su depósito corporal (tablas 44 y 46) en esta primera etapa de la respuesta a la hormona.

El difícil momento del destete parece influir de forma decisiva en el comportamiento de los animales sometidos a la rhGH, facilitando la aparición de un déficit calórico que desencadena la depleción de sustratos. Sin embargo, Searle y col. (1992) describen en ratones transgénicos que expresan el gen de oveja MT1a-GH, un crecimiento muy rápido dos semanas antes del destete seguido de un período de estasis en las semanas anterior y posterior, lo que sugiere la interrelación de efectos entre la acción hormonal y el paso a la alimentación sólida.

La recuperación del agua, de la proteína y de las cenizas corporales, se produce durante la segunda etapa de la respuesta a la hormona (35-50 días de vida). El aumento de la velocidad de acreción de la proteína (tabla 45) que pasa de 31 a 46 mg/día en los animales ♀ T sometidos al 20% de proteína y en menor medida en el grupo ♀ 12% T (20 a 25 mg/día), les permite igualar (♀ 12%) o incrementar (♀ 20% T) el porcentaje de depósito proteico corporal respecto de los animales controles NT (tabla 43).

Por el contrario la velocidad de acreción grasa (tabla 45), el depósito graso absoluto y el incremento graso corporal (tabla 46) decrecen en este período en los animales ♀ 20% T respecto a los ratones NT, mientras que en los grupos ♂ 20% y ♀

12% T aumentan bruscamente entre los 45 y 50 días de vida, llegando a rebasar el nivel control, aunque el valor absoluto del depósito graso es menor o igual al de los NT, lo que indica la gran variabilidad de la grasa corporal en los animales GH-tratados. También Searle y col. (1992) encuentran en ratones transgénicos, un crecimiento progresivo de los depósitos de proteína, agua y grasa a partir del día 39 de vida hasta sobrepasar al de los animales control, aunque la diferencia en grasa parece mucho más variable y menos significativa.

El incremento en la utilización y/o en la absorción de la proteína dietaria puede facilitar el depósito proteico corporal de los animales sometidos a la hormona durante este segundo período de la respuesta, ya que dicho depósito es directamente proporcional al aumento de la IPG, especialmente a partir de un consumo global de 10 g (gráfica 23a) y resulta superior (38%) al de los animales NT, con un coste energético inferior (10%). Estos datos sugieren que en los animales GH-tratados el depósito proteico depende de la cantidad de ingesta proteica consumida.

Además, el hecho de que también el depósito proteico dependa de la ingesta energética global (gráfica 23b) y que la GH incremente un 58% su utilización frente a la de los animales controles, con un coste energético similar al de estos (como sucede en cerdos muy jóvenes de menos de 50 kg; Whittemore y col., 1988) puede estar asociado con el efecto antilipogénico de la hormona y quizá con el aumento simultáneo de la capacidad de utilización de la energía para síntesis proteica como señala Campbell (1988), lo que parece señalar una mayor eficacia de depósito de la IEG.

Sin embargo para Caperna y col. (1990) la utilización de la proteína dietaria en cerdos GH-tratados de mayor peso corporal es más eficiente y la utilización de la

energía dietaria es menos eficiente para la acreción de tejido magro que en animales controles, lo que podría depender según Campbell y col. (1988) bien, de que los requerimientos de energía para mantenimiento son superiores en los animales sometidos a la hormona o bien, de que el alto coste energético asociado con el depósito de proteínas se compense con el menor depósito grasoso.

En este sentido Walton y Etherton (1989) y Smith y Kasson (1990) señalan también que la somatotropa exógena puede utilizar más eficientemente la proteína dietaria, a través de un efecto directo o mediante el aumento del factor IGF-I plasmático.

Las modificaciones en la distribución de sustratos inducidas por la hormona, están a su vez influidas por el nivel de proteína dietaria, ya que en esta segunda etapa de la respuesta a la rhGH, los animales T sometidos al 20% de proteína pueden incrementar más fácilmente e igualar el depósito de proteína de los animales NT (tabla 44), mientras que sólo el grupo ♀ 12% T puede alcanzar el nivel control a día 50 de vida. Estos resultados son consecuencia de las mayores velocidades de acreción e incrementos corporales globales de la proteína de los primeros respecto de los segundos (tablas 32 y 33), lo que les permite un incremento proteico corporal superior a los controles (tabla 44) y por lo tanto presentar una mayor cantidad de masa magra. También Campbell y col. (1991) encuentran en cerdos administrados con GH un aumento del depósito proteico de 119 a 215 g/día (un 81%) cuando la concentración de proteína en la dieta pasa del 10,6% al 18%, lo que significa que el aumento del porcentaje proteico dietario es directamente proporcional a la capacidad de depósito proteico.

No obstante, el efecto hormonal es superior en los animales ♀ de menor nivel de proteína dietaria, ya que el depósito proteico a partir de la IPG aumenta un 70% (gráfica 18 a y b) y a partir de la IEG un 68% (gráfica 19 a y b) respecto de los animales NT de la misma dieta, mientras que los ratones del 20% de proteína sólo aumentan un 43% a partir de IPG (gráfica 18 a y b), y un 40% a partir de IEG (gráfica 19 a y b).

Ello significa que la acción anabólica de la hormona es similar con ambas dietas, al incrementar la eficacia de la utilización de los nutrientes para proteína corporal, pero el grado de respuesta varía dependiendo de la disponibilidad de los aminoácidos, puesto que a pesar de la mejor eficacia proteica, el menor contenido de proteína en la dieta impide a los animales T del 12% de proteína alcanzar los depósitos proteicos de los grupos del 20% de proteína. Por lo tanto la acción anabólica de la GH se favorece con el aumento de la proteína dietaria, como señala Smith y Kasson (1991) en cerdos tratados con la hormona respecto a los controles, de tal modo que el incremento de la acreción proteica inducida por la GH es función del contenido proteico de la dieta.

Este comportamiento demuestra, de acuerdo con Pell y col. (1990), la acción anabólica proteica de la hormona favoreciendo la eficiencia nutritiva para la deposición de la masa magra corporal y logrando la recuperación del crecimiento a pesar de la depleción de la primera etapa de la respuesta.

Por otra parte, el descenso del contenido en lípidos del peso vacío registrado en los animales T, entre los 25 y 40 días de vida respecto a los controles (tabla 46) puede depender de la interacción entre la movilización de los depósitos energéticos como mecanismo homeostático frente al déficit calórico con el incremento de la

lipólisis causado por la somatotropa exógena, al igual que señalan Vaisman y col. (1992) en pacientes con secreción subnormal de GH o en cerdos en crecimiento (Boyd y Bauman, 1989). Para Etherton (1989), no obstante, parte de la disminución del crecimiento del tejido adiposo en cerdos tratados crónicamente con GH, se debe a la disminución de la actividad de los enzimas lipogénicos y de la captación y oxidación de la glucosa, así como por la pérdida de la sensibilidad del tejido a la insulina causada por la hormona.

Esta pérdida de grasa corporal afecta marcadamente la composición del peso vacío y la eficacia alimentaria (Etherton y col., 1987) a consecuencia de que la sensibilidad del tejido adiposo a la GH aumenta durante el crecimiento, lo que se asocia a las modificaciones en la velocidad de crecimiento del depósito graso. En este sentido, ya se ha indicado cómo la pérdida de la tasa de acreción grasa contribuye a la caída de la grasa corporal en los animales T respecto a los NT en el período anteriormente considerado.

Sin embargo, el efecto lítico de la hormona sobre el depósito graso se inhibe entre los 45 y 50 días de vida especialmente en los grupos ♀ 12% T y ♂ 20% T, ya que la grasa se recupera a valores control (tabla 46), lo que puede depender del aumento en la utilización de IEG, a partir de 1000 kJ ingeridos, para el depósito graso corporal (gráfica 24b), así como para el depósito energético corporal global (gráfica 25a), que resulta superior en los animales T respecto a los NT, aunque con un coste energético mayor.

Este comportamiento anómalo de la grasa corporal viene determinado por la modificación de la tendencia al acúmulo graso a partir de la proteína y la energía dietarias de los animales T. Así, todos los animales excepto el grupo ♀ 20% T utilizan tanto la IPG como la IEG (gráficas 20 y 21) más hacia grasa que los animales NT, lo que viene facilitado por su mayor velocidad de acreción grasa y consiguientemente de energía corporal. Por ello, la eficacia energética del grupo ♀ 12% T llega a alcanzar aproximadamente un 60% de incremento respecto a los animales NT del 12% de proteína (gráfica 22 a y b), a lo que contribuye su menor coste energético. Por su parte los ratones ♂ 20% T aumentan un 100% su eficacia energética, fundamentalmente grasa, respecto de los ♂ 20% NT (gráfica 22 a y b), lo que resulta realmente sorprendente, puesto que parece invertir el efecto normal de la hormona cuyo más claro mecanismo se hace a través de una mayor eficacia proteica y no grasa.

Sólo los ratones ♀ 20% T presentan una mayor eficacia proteica, ya que utilizan menos IPG e IEG hacia grasa que los NT (gráficas 20 y 21 a y b) y más hacia proteína (gráficas 18 y 19 a y b), un comportamiento "normal" de la hormona y en donde aparece claramente la pérdida de grasa frente a NT, por lo que se deduce que es el grupo más eficiente para crecimiento (gráfica 27 a y b) al depositar más proteína que grasa corporal respecto de los ratones control. El mayor nivel de proteína dietaria también puede influir en este resultado, puesto que de acuerdo con Campbell y col. (1990), la velocidad de acreción grasa se reduce en animales GH-tratados sometidos a dietas altas en proteína. Igualmente Noblet y col. (1992) indican que en cerdos jóvenes la hormona de crecimiento provoca una utilización de la

energía más hacia proteína y menos hacia el depósito energético, por lo que su eficacia energética es más baja.

La administración exógena de la hormona parece invertir, por lo tanto, la tendencia natural de cada sexo hacia el depósito de sustratos, en especial en los animales sometidos al 20% de proteína dietaria, ya que las hembras con una propensión normal hacia la grasa depositan más proteína y los machos con una tendencia natural a la proteína desarrollan más eficacia grasa, siempre en relación a los animales NT (gráfica 27 a y b), lo cual parece estar de acuerdo con lo expuesto anteriormente en el sentido de que la administración exógena de rhGH induce una modificación en el dimorfismo sexual. Este efecto depende de las interacciones entre los factores TxS, DxS y TxDxS que influyen entre animales NT y T, puesto que los animales NT presentan un comportamiento inverso. También Beerman y col. (1990) indica a este respecto que la interacción TxS influye sobre los porcentajes lipídico, proteico y de humedad de la canal de ovejas tratadas con GH.

El comportamiento de los animales T parece depender de la adaptación metabólica tanto a la disminución de la ingesta de alimentos durante la fase inicial de la respuesta a la rhGH, como al mecanismo hiperfágico desarrollado durante la segunda etapa, lo que induce la recuperación del crecimiento. Sin embargo, el hecho de que la energía sea desviada en gran parte hacia el depósito graso, para señalar la puesta en marcha de un crecimiento compensador, como se produce durante la rehabilitación que sigue a una subnutrición (Dulloo y Girardier, 1990).

Este mecanismo no impide sin embargo, el predominio del efecto lipolítico normal de la hormona, puesto que el resultado neto es una disminución del componente graso frente al proteico, con la correspondiente caída de la razón G/P (tabla 48), excepto en el grupo ♂ 20% T, lo que significa que la hormona rhGH mediante el aumento del anabolismo proteico y del catabolismo graso, facilita la recuperación del crecimiento ponderal de los animales T, al igual que encuentran Campbell y col. (1991) en cerdos, Wise y col. (1988) en corderos y Wagner y Veenhuizen (1978) en ovejas, tratados todos ellos con somatotropa.

5.3. CRECIMIENTO DE LOS COMPONENTES SOMÁTICOS RESPECTO AL PESO CORPORAL. SU DEPENDENCIA DE LA EFICACIA DE UTILIZACIÓN DE LAS INGESTAS EN EL DEPÓSITO DE SUSTRATOS EN RATONES BALB/c *No Tratados* (NT) y *Tratados* (T) CON HORMONA DE CRECIMIENTO (rhGH), DE AMBOS SEXOS, SOMETIDOS A DOS NIVELES DE PROTEÍNA EN LA DIETA (12% y 20%) ENTRE LOS 25 Y 50 DÍAS DE VIDA.

(Gráficas 10-17)

La composición corporal es más predecible en relación al tamaño corporal que en relación con la edad (Cheek y Holt, 1963). El análisis alométrico permite la determinación de los porcentajes de contribución de cada componente al crecimiento del cuerpo total, lo que refleja de una forma general el patrón de crecimiento del individuo así como los posibles efectos específicos de cada componente o de cada órgano.

En general las tasas relativas de crecimiento que son determinadas por los coeficientes alométricos, indican los cambios que se producen en la composición corporal con la madurez. En el ratón BALB/c son el agua y la proteína los componentes que maduran primero a un peso corporal final más pequeño, de acuerdo con sus coeficientes alométricos ( $b < 1$ ) (gráficas 10 y 12), mientras que las cenizas crecen en proporción al peso y por lo tanto maduran simultáneamente al cuerpo ( $b \approx 1$ ) a excepción del grupo ♂ 12% NT con un mayor coeficiente alométrico (gráfica 16). Por el contrario el alto coeficiente alométrico ( $b > 1$ ) de la grasa refleja su

crecimiento exponencial en relación al peso corporal (gráfica 14), e indica que este componente sigue depositándose a pesos cada vez más altos y por lo tanto su madurez es más tardía, como señala Butterfield y col. (1983). Según Zaika y Makarova (1989) la alometría también señala el grado de actividad metabólica de los tejidos. Así, tejidos u órganos de alta actividad metabólica, tendrían bajos coeficientes alométricos y aquellos que presentaran actividad metabólica baja, altos coeficientes. Sin embargo, los autores se refieren a tejidos completamente desarrollados y no en crecimiento, por lo que se pueden encontrar diferencias notables si se compara con datos de animales en diversos estados de desarrollo.

Los coeficientes alométricos de los componentes de los animales *No Tratados* (NT), se ajustan en general a las relaciones antedichas con el peso corporal, pero no obstante el nivel de la dieta y el sexo, modifican tanto la cantidad de algunos depósitos como su contribución al crecimiento somático.

Destacan específicamente dos de los grupos estudiados: los animales ♂ 12% NT que contribuyen con un mayor porcentaje de agua y de cenizas respecto al grupo ♀ 12% NT y sólo de cenizas, respecto al grupo ♂ 20% NT (gráficas 10 y 16), mientras los animales del grupo ♀ 20% NT superan en la contribución de la proteína (gráfica 12) a los animales de menor nivel proteico (♀ 12% NT) y en la grasa a los grupos ♀ 12% NT y ♂ 20% NT (gráfica 14).

En ratón bien nutrido, Bailey y col. (1960) señalan que cuando los componentes corporales (proteína, agua, cenizas y grasa) y el peso corporal se expresan en logaritmos, los primeros aumentan linealmente respecto al segundo. Sin embargo, en estados de deficiencia nutritiva puede cambiar la distribución de estos componentes.

En especial, la disponibilidad de aminoácidos afecta al depósito proteico, por lo que la contribución de la proteína corporal al PCF se modifica.

También Zucker y Zucker (1963) en un estudio sobre la evaluación del depósito graso en ratas, señalan que el acúmulo lipídico se relaciona estrechamente con el peso corporal magro y es independiente de la edad. Tulloh (1963) llega a la misma conclusión en ovejas y cerdos.

La relación grasa-PCF (gráfica 14a) presenta un modelo bifásico lineal de acuerdo con Searle y col. (1972) y Searle y col. (1988), con el punto de inflexión en un rango entre 14 y 15 g de peso. Este peso coincide con los 30-35 días de vida del ratón, es decir con el período de madurez, en el que empiezan a depositar más grasa.

Sorprende por otra parte, el gran incremento en cenizas del grupo ♂ 12% NT respecto al peso corporal, relacionado quizá con un exceso de depósito de tejido óseo en estos animales. Sin embargo, es posible que este incremento refleje la estabilización del componente mineral frente al descenso del resto de los depósitos, compensando básicamente el menor incremento proteico.

En otro sentido, la distribución de los componentes corporales y por lo tanto la composición del tejido formado para un peso dado, depende también de las características del crecimiento, es decir, de la eficacia alimentaria, velocidad de crecimiento, eficacia y coste energético de los depósitos para cada individuo. Por ello, cada grupo de animales estudiados presenta una diferente contribución de sus componentes al peso corporal final, que aparece relacionada con su forma de crecimiento.

La mejor eficacia alimentaria y mayores tasas de crecimiento de los animales sometidos al 20% de proteína, tanto en relación a la edad como al PCF, favorecen

el crecimiento equilibrado de los sustratos, en especial en el grupo ♂ 20% NT, puesto que la proporción en la que todos los componentes contribuyen al PCF está cercana a la unidad (gráficas 10, 12, 14 y 16). Ello depende de que la utilización de la ingesta proteica y energética se hace preferentemente hacia depósito proteico con un bajo coste energético, consiguiendo un depósito proteico máximo (gráficas 18a y 19a) y por lo tanto la razón INPCG/INGCG es superior a 1 (gráfica 27a).

Sin embargo en el grupo ♀ 20% NT la grasa se incrementa significativamente a partir de 14 g de peso corporal, manteniéndose alta en todo el rango de pesos corporales examinados (gráfica 14a), lo que se produce a expensas del peso del agua. Estos animales crecen con más grasa para un mismo PCF, que el resto de los animales NT de acuerdo con su coeficiente de crecimiento ( $b=1,96$ ).

Aunque la utilización de la IPG y de la IEG para depósito proteico (gráficas 18a y 19a) es la misma que la del grupo ♂ 20% NT lo que coincide con su coeficiente alométrico ( $b=0,92$ ), su tendencia al depósito graso es mucho mayor, a un menor coste (gráfica 27a), por lo que obtiene mayores eficacias grasa y energética (gráficas 20a, 21a y 22a). Sin embargo, debido a que la grasa tiene mucho mayor contenido energético que la proteína, estos animales depositando más grasa resultan menos eficientes, desde el punto de vista proteico, en la utilización de la energía que los grupos que depositan más proteína y agua (Malik, 1984).

Por su parte, los animales ♂ 12% NT con EAG y velocidades de crecimiento menores que los de los animales sometidos al 20% de proteína mantienen, como ya se ha señalado, una EAG y una VFC muy altas para pesos corporales finales entre 10 y 15 g, lo que les permite alcanzar el PCF de los animales ♂ 20% NT (gráfica 3).

Ello se realiza mediante un crecimiento de los componentes corporales muy distinto a la de los grupos considerados anteriormente, puesto que desarrollan en especial los depósitos de cenizas ( $b=1,42$ ) (gráfica 16) y grasa ( $b=1,54$ ) (gráfica 14) a expensas de un menor aporte de la proteína ( $b=0,87$ ) (gráfica 12), siempre en relación al PCF. Por lo tanto, a pesar del aumento en las ingestas total y energética y a consecuencia del déficit proteico, estos animales no logran mantener las características de crecimiento de los animales con mayor nivel de proteína.

Sin embargo, la utilización de la proteína dietaria hacia el depósito corporal proteico (gráfica 18a) es igual y la de la IEG es menor (gráfica 19a) que la de los ratones ♂ 20% NT debido a que la eficacia alimentaria de la proteína se incrementa a bajas IPG (gráfica 26a), por lo que estos animales tienen una mayor tendencia a depositar proteína respecto a grasa (gráfica 27a), pero su baja ingesta proteica global, pese a la hiperfagia, determina que el aporte de grasa sea mayor que el de proteína, en proporción al PCF resultando en una menor eficacia energética (gráfica 22a).

Campbell y Dunkin (1983) también señalan en cerdos, que la eficacia de la proteína alimentaria aumenta con dietas bajas en proteína, pero sin embargo, los datos acerca de la eficacia energética son más conflictivos, puesto que se han descrito incrementos (Coyer y col., 1987), disminuciones (Walker y Norton, 1971) (Fattet y col., 1984) o la estabilización de la eficacia energética (Close y col., 1983) cuando se reduce el contenido energético de la dieta.

Por último, como ya se ha discutido, el grupo ♀ 12% NT con características semejantes de crecimiento que los machos de la misma dieta, pero con una eficacia alimentaria y una velocidad de crecimiento ligeramente más bajos, no alcanzan el PCF de los animales ♀ 20% NT y además la contribución de sus componentes resulta

mucho menos equilibrada. En este caso, la energía y la proteína ingeridas se reparten en un incremento de grasa ( $b=1,56$ ) (gráfica 14) a expensas de la proteína ( $b=0,77$ ) (gráfica 12) y del agua ( $b=0,78$ ) (gráfica 10) que quedan seriamente comprometidas respecto al PCF.

Ello se debe a que el depósito proteico a partir de la ingesta energética se hace con un coste energético muy alto (gráfica 19a) mientras que la utilización de las ingestas hacia grasa es mayor que en el grupo ♂ 12% NT con el mismo coste energético, por lo que la eficiencia grasa es alta (gráficas 20a y 21a), presentando una mayor tendencia a la masa grasa (razón INPCG/INGCG < 1; gráfica 27a), lo que le impide depositar suficiente masa magra y alcanzar el mismo peso que los animales ♀ 20% NT.

Entre los animales *Tratados* (T) por su parte, se produce una diferencia notable en la forma de crecimiento de los componentes corporales respecto al PCF. Las modificaciones más importantes se producen en los grupos ♂ 12% T y ♀ 20% T. El grupo ♂ 12% T presenta una mayor contribución al PCF en forma de grasa de acuerdo a su alto coeficiente alométrico ( $b=2,04$ ) (gráfica 14b), mientras que en el grupo ♀ 20% T destaca su mayor aporte de agua ( $b=0,96$ ) (gráfica 10b) y de proteínas ( $b=0,97$ ) (gráfica 12b) que resultan proporcionales al crecimiento corporal y el menor aporte de grasa ( $b=1,35$ ) (gráfica 14b), en relación a los grupos ♂ 20% T y ♀ 12% T.

Así pues, el aporte de los distintos componentes corporales al PCF en los animales sometidos a la hormona dependen del nivel de la proteína ingerida y del sexo, puesto que sólo la dieta de mayor nivel de proteína parece ejercer una influencia positiva sobre el depósito de proteínas y negativa sobre el depósito lipídico, de acuerdo con los efectos clásicos de la GH, confirmados sobre la base del

peso corporal. En este sentido, McRae y col. (1991) señalan la necesidad de disponer de una cantidad de proteína adecuada para sostener la respuesta anabólica proteica en corderos tratados con la hormona. De modo similar, el tratamiento crónico con GH resulta en una relativa reducción de la acreción lipídica, sólo cuando los animales se alimentan *ad libitum* y no cuando ingieren una dieta restringida (Peters, 1986).

También los animales T presentan una relación grasa-PCF de tipo bifásico, en la que el punto de inflexión se ubica en los 15 g de peso corporal, correspondiente a los días 40-45 de vida (etapa anabólica de la acción de la hormona), a partir de los cuales la contribución de la grasa al PCF se incrementa de forma mucho más rápida (gráfica 14b).

Por otra parte, aunque es difícil observar la diferencia sexual en el depósito corporal de los animales GH-tratados sobre una base alométrica, en general la grasa corporal aumenta en razón inversa del incremento de la proteína y también en razón inversa de la propensión al depósito graso de cada sexo, de acuerdo con los resultados de Campbell (1984).

Las modificaciones en la contribución de la composición corporal al PCF de los animales administrados con somatotropa reflejan, al igual que en los animales controles NT, sus características de crecimiento.

El más equilibrado aporte de los componentes corporales se produce en el grupo ♀ 20% T, según sus coeficientes de crecimiento muy cercanos a la unidad, que indican su contribución proporcional al PCF. Los otros grupos ♂ 20% T, ♀ y ♂ 12% T sin embargo presentan una alta contribución grasa ( $b=1,82 - 2,04$ ) (gráfica 14b) en detrimento tanto del agua ( $b=0,78$ ) (gráfica 10b) como de la proteína ( $b=0,78$ ) (gráfica 12b). Llama la atención que la contribución de los componentes al

crecimiento corporal se realiza de forma semejante en estos últimos grupos a pesar de la diferencia dietaria y sexual de cada uno.

La pauta de crecimiento del grupo ♀ 20% T se explica al utilizar mejor la ingesta energética (gráfica 19 a y b) y proteica (gráfica 18) hacia depósito proteico en relación tanto a los animales T como a su control ♀ 20% NT. Ello conduce a depositar preferentemente proteína y no grasa según indica la menor caída de la pendiente de la razón INPCG/INGCG frente a IPG, que mantiene una relación mayor que la unidad para todos los niveles de IPG, lo que significa la constancia del depósito proteico.

Por el contrario, el grupo ♂ 20% T con una utilización igual de la IPG (gráfica 18b) y peor de la IEG hacia proteína que el grupo ♀ 20% T (gráfica 19b), siempre es más eficaz que el grupo control ♂ 20% NT, aunque desvía preferentemente sus sustratos hacia depósito graso, especialmente a partir de la IEG (gráficas 21b), incrementando así su eficacia energética ( $6,3 \pm 0,4$  %) con los menores costes (13,6 kJ IEG/kJ energía depositada) (gráfica 22b). Por ello la pendiente de la relación INPCG/INGCG frente a IPG es la más negativa ( $-0,149 \pm 0,017$ ) (gráfica 27b).

La IPG es utilizada para el depósito proteico de una forma similar tanto por el grupo ♀ 12% T como por el grupo ♀ 20% T; pero su utilización, con poco coste energético, para el depósito graso es mayor en el grupo ♀ 12% T (gráfica 20b). Sin embargo, su utilización de la IEG para proteína corporal se realiza con un coste mucho mayor en (gráfica 19b), siéndole más fácil depositar grasa ( $b=1,82$ ) que proteína ( $b=0,77$ ). Debido a ello, la razón INPCG/INGCG se mantiene siempre en unos valores sensiblemente inferiores a los del grupo ♀ 20% T (gráfica 27b), por lo que desde el punto de vista proteico resulta menos eficaz.

Por último el grupo ♂ 12% T, resulta el menos eficiente desde todos los puntos de vista, puesto que con la más baja utilización de las ingestas IPG e IEG para cualquier depósito corporal y con mayores costes energéticos, desvía los sustratos y especialmente la proteína hacia grasa (gráfica 27b), pese a lo cual el incremento energético corporal es el más bajo, con el mayor coste energético de los animales T (gráfica 22b).

En general, la acción anabólica de la hormona somatotropa mejora tanto la eficacia de utilización de las ingestas IPG e IEG hacia el depósito proteico corporal como la eficacia alimentaria de la proteína (gráficas 18 y 19 a y b, 23 y 26). Sin embargo, el excesivo depósito graso de los animales administrados con GH parece depender, como ya se ha señalado, de la necesidad de conservación de la energía en el período de rehabilitación que sigue al déficit calórico durante la primera etapa de respuesta a la hormona. Este crecimiento compensatorio se añade a la acción de la GH y parece invertir su efecto lipolítico (gráficas 24b y 27b).

#### 5.4. INFLUENCIA DE LA ETAPA FISIOLÓGICA DEL ANIMAL SOBRE LA RESPUESTA A LA ADMINISTRACIÓN EXÓGENA DE rhGH. CRECIMIENTO COMPENSATORIO.

La respuesta bifásica a la hormona de crecimiento puesta de manifiesto en este estudio no puede ser sólo atribuida a la acción de la GH, sino a su conjunción con el efecto de la edad, como señala la interacción ExT.

El papel que la duración del tratamiento tiene sobre la magnitud de la respuesta a la GH está muy poco estudiado. Bates y Pell (1991) observan las modificaciones de la composición corporal por la administración exógena de la hormona en ratones Snell enanos y hacen énfasis en que los cambios pueden oscilar tanto entre los distintos momentos de la respuesta, que el valor medio del período global estudiado sea muy distinto al de cada momento en particular, por lo que la interpretación de la acción hormonal puede cambiar radicalmente.

No obstante, además del tiempo propiamente dicho, el elemento fundamental a tener en cuenta como se demuestra en este estudio, es el momento fisiológico y metabólico en el que se encuentra el individuo, ya que puede condicionar la forma de respuesta a la hormona.

Es evidente que los mecanismos fisiológicos que actúan durante el destete y también en la pubertad, parecen afectar esencialmente dicha respuesta, ya que la importante disminución de la ingesta de alimentos provocada por la administración exógena de somatotropa durante la etapa inicial (25-30 días) en el ratón BALB/c en crecimiento, coincide con el momento del destete del animal.

Durante el período de pre-destete se ha descrito en roedores (Issad y col., 1987), un fenómeno muy marcado de resistencia tisular a la insulina, que desaparece alrededor del día 28 de vida, una vez que el animal es destetado y alimentado con una dieta rica en carbohidratos. La resistencia a la insulina en este período, conduce a una disminución de la lipogénesis hepática y adiposa y al aumento simultáneo de la glicolisis (Terrettaz y col., 1986), mecanismos que desaparecen después del destete por el cambio de dieta.

La resistencia insulínica se relaciona por lo tanto, con la transición nutritiva desde una dieta alta en grasa y baja en carbohidratos, típica de la lactancia, a una dieta alta en carbohidratos y baja en grasa (Issad y col., 1988), asociada con grandes modificaciones en los sustratos energéticos y en las hormonas circulantes, entre las que es esencial la acción insulínica para la adaptación a la nueva dieta (Henning, 1981).

A nuestro juicio, la administración exógena de rhGH en este momento, puede antagonizar la acción de la insulina (Vernon, 1978) impidiendo sus efectos y manteniendo el estado metabólico anterior al destete. La reducción de la lipogénesis y quizá el incremento de la lipólisis inducidos por la somatotropa, sería la causa de la pérdida de los depósitos lipídicos corporales observada en esta etapa. En consecuencia, la liberación de los ácidos grasos libres, determinaría de acuerdo con Walls y Koopmans (1989), la disminución de la ingesta alimentaria actuando a nivel hipotalámico.

De acuerdo con esto Campbell (1989b) sugiere, que la disminución de la ingesta involuntaria puede ser una consecuencia directa del bloqueo de la lipogénesis por acción de la GH, que al estimular la acreción de la proteína, podría inhibir el

potencial de almacenaje de otros nutrientes como la grasa y por lo tanto disminuir el apetito.

El efecto más dramático de la disminución de la ingesta es sin duda, la pérdida del potencial de crecimiento y por consiguiente de los componentes corporales y de la eficacia de su depósito, a consecuencia de la instauración de un déficit calórico por restricción dietaria, que en los animales sometidos al 12% de proteína se suma a la deficiencia en proteínas de la dieta que, en este momento de la vida de altos requerimientos nutritivos, hace imposible la acción anabólica de la hormona.

La restricción calórica es el eje del comportamiento de los animales en estudio durante los días 25 y 30 de vida, ya que parecen desencadenar los siguientes efectos:

- 1) la movilización de los almacenes endógenos energéticos que se suman a la acción lipolítica de la GH, para mantener la homeostasis.
- 2) El incremento de la resistencia tisular a la GH que comprometería la diferenciación funcional del intestino (dependiente de GH) y la capacidad de digestión del alimento sólido (Glasscock y col., 1990). Ello sería debido al efecto de la malnutrición que induce además, de acuerdo con Merimée y col. (1982), la insensibilidad de los tejidos a la somatotropa, a través de la disminución del número de receptores de GH (Maes y col., 1984) y/o de mecanismos post-receptor (Maes y col., 1986).
- 3) La disminución de la actividad promotora del crecimiento de la hormona somatotropa, que dependería de la caída en la formación del factor IGF-I a

consecuencia de la insensibilidad de los tejidos a la GH (Breier y col., 1988) y de la malnutrición (Ho y col., 1988). El estado nutritivo podría ser un factor de primera importancia para la determinación del crecimiento y la regulación del eje somatotrópico en el período postnatal a través de la pérdida del IGF-I (Breier y col., 1986).

- 4) La pobre sensibilidad natural de los tejidos a la GH en este período de vida, ya que sólo el 50% del crecimiento somático depende de la hipófisis (Glasscock y col., 1991), lo que también puede influir en la baja tasa de crecimiento.

Estos mecanismos explicarían la estasis en el crecimiento durante la primera etapa de administración de la rhGH y que es revertido durante el segundo período (35-50 días de vida), en el que la capacidad de crecimiento se recupera.

En esta segunda etapa, desencadenada por la autorregulación de la ingesta y la aparición de la hiperfagia, se mezclan dos tipos de efectos que están a su vez interrelacionados y que son difíciles de seccionar:

- a) La acción hormonal parece ser efectiva a partir del día 35 de vida lo que depende, de acuerdo con Glasscock (1991), del aumento paulatino de la sensibilidad de los tejidos a la GH. Ello da lugar al incremento de la acreción de la proteína a consecuencia del aumento en la eficacia de utilización de la energía y de la proteína dietarias en el depósito corporal, especialmente en los animales bien alimentados.

- b) El desarrollo de un mecanismo de rehabilitación del peso corporal después de la restricción alimenticia, similar al crecimiento compensatorio, determina un significativo incremento de la grasa en aquellos animales que necesitan conservar la energía corporal (Mersmann y Koong, 1984). El mecanismo del acúmulo de grasa parece verificarse por la tendencia a utilizar la ingesta, especialmente la energética, hacia la grasa, dando lugar a una alta eficiencia en el uso de la grasa y energética. Estas dos características son típicas de la partición de nutrientes durante el período de recuperación que sigue a una privación calórica (Dulloo y Girardier, 1992). En ratas ayunadas y realimentadas, Harris y col. (1986) encuentran el mismo tipo de rehabilitación del peso corporal y señalan que la prioridad del depósito de sustratos corporales depende de la naturaleza y la duración de la privación dietaria (Wilson y Osburn, 1960).

En estudios posteriores (López-Oliva, 1994) se ha comprobado que a nivel muscular el crecimiento compensatorio, mediante el aumento de los componentes no proteicos, tiene lugar en los animales con menor nivel de proteína dietaria, mientras que la acción anabólica de la hormona se manifiesta en los animales bien nutridos al incrementar la proteína muscular.

Por otra parte, la acción proteogénica de la GH encontrada en el ratón BALB/c durante la segunda etapa del estudio (35-50 días), coincide con la proximidad de la madurez sexual y con la aparición de la pubertad. Boulware y col. (1990) indican que la terapia con GH conduce a cambios en glucosa, aminoácidos e insulina que son cuantitativamente similares a los observados durante la pubertad,

lo que parece indicar que la administración de la hormona durante este período, puede ayudar a la aceleración lineal del crecimiento y al desarrollo físico de los adolescentes.

En estudios sobre cultivo de hipófisis anterior de rata, se ha demostrado (Simard y col., 1986) que los estrógenos aumentan los niveles de GH plasmáticos a través de un efecto estimulador directo sobre la síntesis y la liberación de la hormona a nivel hipofisario, que no requiere modulación hipotalámica alguna. Esta conclusión es compatible con el incremento en circunstancias basales de somatotropa en vacas tratadas con estradiol independientemente del nivel nutritivo (Breier y col., 1988).

Existen importantes interrelaciones entre GH y hormonas sexuales no bien conocidas pero que parecen ser operativas, no sólo a nivel de la pituitaria y de las gónadas, sino también en tejidos periféricos donde las hormonas sexuales pueden modificar los efectos metabólicos y promotores del crecimiento de la GH, lo que explicaría el fuerte efecto anabólico encontrado en la segunda fase de nuestro estudio. De hecho se ha utilizado la administración de GH en terapéutica durante el crecimiento puberal (Vanderschueren y col., 1987). Testosterona y estradiol, por lo tanto incrementan el contenido en GH hipofisario y aumentan bajo condiciones fisiológicas, la máxima respuesta de los tejidos al estímulo somatotrópico (Zachmann, 1992).

El efecto sinérgico del estradiol con GH podría explicar el mejor comportamiento del grupo ♀ 20% T, puesto que en animales bien nutridos Breier (1988) demuestra un incremento de la secreción de GH, del número y afinidad de los receptores para la hormona y de la formación de IGF-I e IGF-II, lo que facilita la velocidad de crecimiento, demostrando así una respuesta coordinada del eje

somatotrópico a la administración del estradiol. Por el contrario, Stanhope y col. (1992) no encuentran incrementos en la velocidad de crecimiento en chicos tratados con GH, aunque sí el avance de la madurez sexual.

De todo ello se deduce que la administración de la hormona somatotropa en el momento del destete induce un déficit calórico por disminución de la ingesta que obliga a un crecimiento acelerado posterior, lo que debe tenerse en cuenta en su administración en animales muy jóvenes.

El estudio de las interrelaciones metabólicas durante el destete su modificación por la somatotropa y los mecanismos que se desencadenan, así como la posible mediatización de la hormona en el crecimiento compensador, abre nuevas perspectivas a este trabajo.

## **CONCLUSIONES**

- 1) La interacción entre los factores: edad, nivel proteico de la dieta y sexo modifican la ingesta de nutrientes y la composición corporal de los ratones BALB/c tratados con rhGH exógena, entre el destete y la pubertad.
- 2) Dietas marginales en proteína permiten el crecimiento normal de ratones BALB/c ♂ gracias al desarrollo de un mecanismo de hiperfagia y al incremento de la eficacia de depósito proteico corporal para valores bajos de ingesta proteica. La mayor eficacia grasa de los ratones ♀ 12% NT les impide alcanzar el mismo peso corporal.
- 3) El ratón BALB/c entre el destete y la pubertad responde de forma bifásica a la administración exógena de rhGH.
- 4) Durante la primera etapa de la respuesta a la hormona (25-35 días de vida), se desencadena un déficit calórico por disminución de la ingesta y de su eficacia de depósito que conduce al cese del crecimiento, mediante la depleción de los componentes corporales, la pérdida de la tasa de acreción de sustratos y consiguientemente del peso corporal.
- 5) El incremento autorregulado del consumo de alimentos induce la aparición de la segunda etapa de la respuesta a la rhGH (35-50 días de vida), que se manifiesta por la mejora de la dinámica del crecimiento y de la eficacia de depósito proteico, sobrepasando el carácter negativo de la primera etapa y alcanzando el peso corporal de los animales NT.
- 6) La conservación de la energía corporal en forma de grasa de los animales T con rhGH, en contraste con el efecto lítico de la hormona, sugiere su coexistencia con un mecanismo de carácter compensador que ayuda a la

recuperación del peso corporal, de forma similar al desencadenado durante la rehabilitación que sigue a una privación calórica.

- 7) La acción anabólica hormonal se verifica a través de la modificación de la eficacia de utilización de los nutrientes en el depósito de sustratos.
- 8) La máxima respuesta anabólica a la hormona en las condiciones del estudio depende de un nivel de proteína dietaria adecuado. Por ello, los animales 20% T presentan el mayor depósito proteico gracias a su mejor eficacia de utilización de las ingestas.
- 9) La administración exógena de rhGH parece invertir la tendencia natural de cada sexo hacia el depósito de sustratos, aunque en el caso de la grasa corporal se le suma el efecto del crecimiento compensador.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**Aguilar E.:** Integración neuroendocrina. En: *Fisiología endocrina*. (Tresguerres JAF. ed.). pp 64-95. EUDEMA. Madrid. 1989 a.

**Aguilar E.:** Pubertad. En: *Fisiología endocrina*. (Tresguerres JAF. ed.). pp 311-325. EUDEMA. Madrid. 1989 b.

**AIN:** American Institute of Nutrition. Report of the AIN Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 107:1340-1348. 1977.

**Albertson-Wikland K.; Isaksson O.:** Development of responsiveness of young normal rats to growth hormone. *Metabolism.* 25:742-759. 1976.

**Allen D.; Kilkenny B.:** *Planned Beef Production*. Grenada. London. UK. 1980.

**Allen P.; McCarthy J.C.:** The effects of selection for high and low body weight on the proportion and distribution of fat in mice. *Anim. Prod.* 31:1-11. 1980

**Allen R.E.; Dodson M.V.; Boxhorn L.K.; Davis S.L.; Hossner K.L.:** Satellite cell proliferation in response to pituitary hormones. *J. Anim. Sci.* 62: 1596-1601. 1986.

**AOAC:** Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15<sup>th</sup> ed. Whashington. USA.1990.

**Apter D.:** Serum steroids and pituitary hormones in female puberty: a partly longitudinal study. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. 12:107-112. 1980.

**ARC:** Agricultural Research Council. *The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock*. Commonwealth Agricultural Bureaux. Slough. UK. 1980.

**ARC:** Agricultural Research Council. *The Nutrient Requirements of Pigs*. Commonwealth Agricultural Bureaux. Slough. U.K. 1981.

**Arrenbrecht S.; Sorkin E.:** Growth hormone induced T cell differentiation. *Eur. J. Immunol.* 30:601-604. 1973.

**Aynsley-Green A.; Zachmann M.; Prader A.:** Interrelation of the therapeutic effects of growth hormone and testosterone on growth in hypopituitarism. *J. Pediatr.* 89:992-999. 1976.

**Bach J.F.:** Thymic hormones: biochemistry. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 17:281-291. 1977.

**Baile C.A.; Della-Fera M.A.; McLaughlin C.L.:** Performance and carcass characteristics of swine injected daily with bacterially synthesised human growth hormone. *Growth* 47: 225-236. 1983.

**Bailey C.B.; Kitts W.D.; Wood A.J.:** Changes in the gross chemical composition of the mouse during growth in relation to the assessment of physiological age. *Can. J. Anim. Sci.* 40:143-155. 1960.

**Baker P.K.; Dalrymple R.H.; Ingle D.L.; Ricks C.A.:** Level of  $\beta$ -adrenergic agonist to alter muscle and fat deposition in lambs. *J. Anim. Sci.* 59:1256-1261. 1984.

**Bakker H.:** *Effect of Selection for Relative Growth Rate and Body Weight of Mice on Rate, Composition and Efficiency of Growth.* Medcd. Landbouwhogeschool. 74-8. Wageningen. The Netherlands. 1974.

**Bakker H.; Nagai J.; Eisen E.J.:** Average genetic and heterotic effects on growth in mice selected for large 6-week body weight or rapid postweaning gain. *J. Anim. Sci.* 43:1145-1151. 1976.

**Bark L.J.; Stahly T.S.; Cromwell G.L.:** Influence of genetic capacity for lean tissue growth on responses of pigs to recombinant somatotropin. *J. Anim. Sci.* 67 (Suppl.1):212 (Abstr.). 1989.

**Barr G.D.; Allen C.M.; Shinefield H.R.:** Height and weight of 7500 children of three skin colors. Pediatric Multiphasic Program. Report 3. *Am. J. Dis. Child.* 124:866. 1972.

**Barr H.G.:** *Factors Influencing Food Intake and Energy Balance in the Laboratory Rat.* PhD Thesis. The Queen's University of Belfast. UK. 1984.

**Bates P.C.; Pell J.M.:** Action and interaction of growth hormone and the  $\beta$ -agonist, clenbuterol, on growth, body composition and protein turnover in dwarf mice. *Br. J. Nutr.* 65:115-129. 1991.

**Bauman D.E.; Eisemann J.H.; Currie W.B.:** Hormonal effects on partitioning of nutrients for tissue growth: role of growth hormone and prolactin. *Fed. Proc.* 41: 2538-2544. 1982.

**Bauman D.E.; McCutcheon S.N.; Steinhour W.D.; Eppard P.J.; Sechen S.J.:** Sources of variation and prospects for improvement of productive efficiency in the dairy cow: a review. *J. Anim. Sci.* 60: 583-592. 1985.

**Bauman D.E.; McCutcheon S.N.:** The effects of growth hormone and prolactin on metabolism. In: *Proceedings VI International Symposium on Ruminant Physiology Control of Digestion and Metabolism in Ruminants.* (Milligan LP. Grorum WL. Dobson B. eds.). pp: 436-455. Prentice-Hall. Englewood Cliffs. N.Y. USA. 1986.

**Bauman D.E.; Peel C.J.; Steinhou W.D.; Reynolds P.J.; Tyrrell H.F.; Brown A.C.G.; Haaland G.L.:** Effect of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy-cows. Influence on rates of irreversible loss and oxidation of glucose and non-esterified fatty acids. *J. Nutr.* 118:1031-1040. 1988.

**Beerman D.H.; Hogue D.E.; Fishell V.K.; Aronica S.; Dickson H.W.; Schricker B.R.:** Exogenous human growth hormone releasing factor and ovine somatotropin improve growth performance and composition of gain in lambs. *J. Anim. Sci.* 68: 4122-4133. 1990.

**Beitz D.C.:** Physiology and metabolic systems important to animal growth: an overview. *J. Anim. Sci.* 61 (Suppl. 2):1-20. 1980.

**Berelowitz M.; Szabo M.; Fireston S.; Chu L.; Hintz R.; Frohman L.A.:** Somatomedin-C (Sm-C) effects of hypothalamic somatostatin (SRF) and pituitary GH release in vitro. Evidence for a negative feedback role in the regulation of GH secretion. *Clin. Res.* 28:A760. 1980.

**Bergen W.G.; Merkel R.A.:** Body composition of animals treated with partitioning agents: implications for human health. *FASEB.* 5:2951-2957. 1991.

**Bizzozero G.:** An address on the growth and regeneration of the organism. *Br. Med. J.* i:728-732. 1894.

**Black J.L.; Campbell R.G.; Williams L.H.; James K.J.; Davis G.T.:** Stimulation of energy and amino acid utilization in the pig. *Res. Dev. Agr.* 3:121-134. 1986.

**Blaxter K.L.:** The effect of dietary energy supply on growth. In: *Growth and Development of Mammals.* (Lodge GA. Lamming GE. eds.). pp. 329-344. Butterworths. London. UK. 1968.

**Blaxter K.L.; Fowler V.R.; Gill J.C.:** A study of the growth of sheep to maturity. *J. Agr. Sci. (Camb.)*. 98:405-420. 1982.

**Bonvalet J.P.:** Evidence of induction of new nephrons in immature kidneys undergoing hypertrophy. *Yale J. Biol.* 51:315-319. 1978.

**Borjeson M.:** The aetiology of obesity in children. *Acta Paediatr. Scand.* 65:279-287. 1976.

**Boulware S.D.; Caprio S.; Jones T.W.:** Metabolic alterations induced by growth hormone treatment changes during normal adolescence. *Pediatr. Res.* 27:72A.1990.

**Bourguignon J.P.:** Linear growth as a function of age at onset of puberty and sex steroid dosage: therapeutic implications. *Endocrine Rev.* 9:467-488. 1988.

**Boyd D.R.; Bauman D.E.; Beermann D.H.; De Neergaard A.F.; Souzal L.; Butler W.R.:** Titration of the porcine growth hormone dose which maximize growth performance and lean deposition on swine. *J. anim. Sci.* 63 (Suppl. 1): 218 (Abstr.). 1986.

**Boyd D.R.; Wray-Cahen J.P.; Krick B.:** Implication of somatotropin on nutrient requirements of growing swine. *Proc. Cornell Nutr. Conf.* pp: 81-92. 1988.

**Boyd D.R.; Bauman D.E.:** Mechanism of action of somatotropin in growth. In: *Animal Growth Regulation.* (Campion DR. Hausman GJ. Martin RJ. eds.) pp: 257-293. Plenum. N.Y. USA. 1989.

**Brandsch H.; Kadry A.E.H.:** The relative importance of prenatal and postnatal maternal influences on growth in mice. *Theor. Appl. Genet.* 69:499-506. 1977.

**Breier B.H.; Bass J.J.; Butler J.K.; Gluckman P.D.:** The somatotrophic axis in young steers: influence of nutritional status on pulsatile release of growth hormone and circulating concentrations of insulin-like growth factor-I. *J. Endocrinol.* 111: 209-215. 1986.

**Breier B.H.; Gluckman P.O.; Bass J.J.:** The somatotrophic axis in young steers: Influence of nutrition status and oestradiol- 17 $\beta$  on hepatic high and low affinity somatotrophic binding sites. *J. Endocrinol.* 116: 169-177. 1988.

**Bridges T.C.; Turner L.W.; Smith E.M.; Stahly T.S.; Loewer O.J.:** A mathematical procedure for estimating animal growth and body composition. *TASAE*. 29:1342-1347. 1986.

**Brody S.; Ragsdale A.C.:** The equivalence of age in animals. *J. Genet. Physiol.* 5:205-214. 1922.

**Brody S.:** *Bioenergetics and Growth*. Reinhold. N.Y. USA. 1945.

**Brown L.A.; Graham D.E.; Nissley S.P.; Hill D.J.; Strain A.J.; Rechler M.:** Developmental regulation of insulin-like growth factor II mRNA in different rat tissue. *J. Biol. Chem.* 261: 13144-13150. 1986.

**Bryden M.M.:** *Study of the Biology of the Southern Elephant Seal *Mirounga leonina* (Linn): Development and Growth*. PhD Thesis. University of Sydney. Australia. 1968.

**Buonomo F.C.; Baile C.A.:** Influence of nutritional deprivation on IGF-I, GH and metabolic hormones in swine. *J. Anim. Sci.* 69:733-760. 1991.

**Burgess W.H.; Maciag T.:** The heparin-binding (fibroblast) growth-factor family of proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 58:575-606. 1989.

**Burmeister W.; Bingert A.:** Die quatitativen Veränderungen der menschlichen Zellmasse zwischen dem 8 und 90 Lebensjahr. *Klin. Wschr.* 45:409-416. 1967.

**Butterfield R.M.; Griffiths D.A.; Thompson J.M.; Zamora J.; James A.M.:** Changes in body composition relative to weight and maturity in large and small strain of Australian merino rams. 1. *Anim. Prod.* 36:29-38. 1983.

**Campbell R.G.; Dunkin A.C.:** The effects of energy intake and dietary protein on nitrogen retention, growth performance, body composition and some aspects of energy metabolism of baby pigs. *Br. J. Nutr.* 49:221-230. 1983.

**Campbell R.G.; Tavemer M.R.; Curic D.M.:** Effect of feeding level and dietary protein content on the growth, body composition and rate of protein deposition in pigs growing from 45 to 90 kg. *Anim. Prod.* 38:233-240. 1984.

**Campbell R.G.; Tavemer M.R.; Curic D.M.:** The influence of feeding level on the protein requirement of pigs between 20 and 45 kg live weight. *Anim. Prod.* 40: 489-496, 1985 a.

**Campbell R.G.; Tavemer M.R.; Curic D.M.:** The effects of sex and energy intake between 48 and 90 Kg live weight on protein deposition in growing pigs. *Anim. Prod.* 40: 497-512. 1985 b.

**Campbell R.G.; Steele N.C.; Caperna T.J.; McMurtry J.P.; Solomon M.B.; Mitchell A.D.:** Interrelationships between energy intake and exogenous porcine growth hormone administration on the performance, body composition and protein and energy metabolism of growing pigs weighing 25 to 55 kilograms live weight. *J. Anim. Sci.* 66:1643-1654. 1988.

**Campbell R.G.; Steele N.C.; Caperna T.J.; McMurtry J.P.; Solomon M.B.; Mitchell A.D.:** Interrelationships between sex and exogenous porcine growth hormone administration on performance, body composition and protein and fat accretion of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 67: 117-186. 1989 a.

**Campbell R.G.; Johnson R.J.; King R.H.:** Implications of biotechnological techniques for manipulating animal growth and development on tissue and dietary nutrient requirement of pig. In: *Biotechnology and Acceptability* (Van der Wal P. Nieuwhof GJ. Politiek RD. eds). pp: 137-144. Pudoc. Wageningen. The Netherlands. 1989 b.

**Campbell R.G.; Johnson R.G.; King R.H.; Tavemer M.R.; Messenger D.:** Interaction of dietary protein content and exogenous porcine growth hormone administration on protein and lipid accretion rates in growing pig. *J. Anim. Sci.* 68: 3217-3225. 1990.

**Campbell R.G.; Johnson R.G.; Taverner M.R.; King R.H.:** Interrelationships between exogenous porcine somatotropin (pST) administration and dietary protein and energy intake on protein deposition capacity and energy metabolism of pigs. *J. Anim. Sci.* 69: 1522-1531. 1991.

**Caperna T.J.; Steele N.C.; Komarek D.R.; McMurtry J.P.; Rosebrough R.W.; Solomon M.B.; Mitchell A.D.:** Influence of dietary protein and recombinant porcine somatotropin administration in young pigs: Growth, body composition and hormone status. *J. Anim. Sci.* 68:4243-4251. 1990.

**Caprio S.; Boulware S.D.; Tamborlane V.:** Growth hormone and insulin interactions. *Horm. Res.* 38 (Suppl.2):47-49. 1992.

**Claeysens S.; Lavoinne A.; Fresel-Ragot M.; Bois-Joyeux B.; Chanez M.; Peret J.:** Metabolic changes in rats fed a low protein diet during post-weaning growth. *Metabolism.* 39:676-681. 1990.

**Clemmons D.R.; Van Wyk J.I.:** Somatomedin C and platelet derived growth factor stimulate human fibroblast replication. *J. Cell. Physiol.* 106. 361-167. 1981.

**Clemmons D.R.; Snyder D.K.; Williams R.; Underwood L.E.:** Growth hormone administration conserves lean body mass during dietary restriction in obese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 64: 878-883. 1987.

**Clemmons D.R.; Underwood L.E.:** Role of insulin-like growth factors and growth hormone in reversing catabolic states. *Horm. Res.* 38 (Suppl. 2):37-40. 1992.

**Close W.H.; Berschauer F.; Heavens R.P.:** The influence of protein: energy value of the ration and level of feed intake on the energy and nitrogen metabolism of the growing pig. 1. Energy metabolism. *Br. J. Nutr.* 49:255-269. 1983.

**Cohn C.; Joseph D.:** Changes in composition attendant on force feeding. *J. Nutr.* 196:965-968. 1959.

**Congote L.F.; Esch F.:** The major erythropoietin of bovine Cohn fraction V has the N-terminal sequence of insulin-like growth factor II with isoleucine at position 35. *Biochem. Biophys Res. Commun.* 149:1026-1032. 1987.

**Corring T.:** Some aspects of development and nutrition in the monogastric animals during postnatal life. *Wld. Rev. Nutr. Diet.* 39:124-190. 1982.

**Coyer P.A.; Rivers J.P.W.; Millward D.J.:** The effect of dietary protein and energy restriction on heat production and growth costs in the young rat. *Br. J. Nutr.* 58:73-85. 1987.

**Curtis S.E.; Rogler J.C.:** Thermoregulatory ontogeny in piglets sympathetic and adipokinetic responses to cold. *Am. J. Physiol.* 218:149-152. 1970.

**Chatelain P.:** Paracrine role of insulin like growth factor I in tissue maturation. *Acta Paediatr. Scand.* (Suppl). 343. 1988.

**Cheek D.B.; Holt A.B.:** Growth and body composition of the mouse. *Am. J. Physiol.* 205:913-918. 1963.

**Cheek D.B.; Graystone J.E.:** The action of insulin, growth hormone and epinephrine on cell growth in liver, muscle and brain of the hypophysectomized rat. *Pediatr. Res.* 3:77-88. 1969.

**Cheek D.B.; Hill D.E.:** Muscle and liver cell growth: role of hormones and nutritional factors. *Fed. Proc.* 29:1503-1509. 1970.

**Cheek D.B.; Hill D.E.;** Effect of growth hormone on cell and somatic growth; in Altszuler N: Actions of growth hormone on carbohydrate metabolism. In: *Handbook of Physiology vol. 4.* (Knobil E. Sawyer WH. eds.). 2. 159-185. Am. Physiol. Soc. Washington D.C. USA. 1974.

**Chenat M.C.; Auroisseau B.; Vermorel M.;** Influence de l'ingestion d'acide caproïque sur l'utilisation de l'énergie et de l'azote ingérés par le rat en croissance en fonction de l'âge de animaux et de la teneur en azote de régimes. *Annls. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 16:603-622. 1976.

**Cheng J.S.; Kalant N.;** Independence of growth hormone effects on nitrogen retention and free fatty acid mobilization. *Can J. Biochem.* 46: 1269-1275. 1968.

**Chung E.S.; Etherton T.D.; Wiggins J.P.;** Stimulation of swine growth by porcine growth hormone. *J. Anim. Sci.* 60: 118-130. 1985.

**Dalke B.S.; Roeder R.A.; Kasser T.R.; Veenhuizer J.J.; Hunt C.W.; Hinman D.D.; Schelling G.T.;** Dose response effects of recombinant bovine somatotropin implants on feedlot performance in steers. *J. Anim. Sci.* 70:2130-2137. 1992.

**Daughaday W.H.; Herington A.C.; Phillips L.S.;** The regulation of growth by endocrines. *Ann. Rev. Physiol.* 37:211-231. 1975.

**Daughaday W.H.;** Hormonal regulation of growth by somatomedin and other tissue growth factors. *Clin. Endocrinol. Metab.* 6:117-135. 1977.

**Daughaday W.H.;** Growth Hormone and the somatomedins. in: *Endocrine Control of Growth.* (Daughaday WH. ed.). pp. 1-24. Elsevier. N.Y. USA. 1981.

**Dauncey M.J.; Ingram D.L.;** Evaluation of the effects of environmental-temperature and nutrition on body composition. *J. Agr. Sci. (Camb.)*. 101:351-358. 1983.

**Davidson M.B.:** Effect of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Endocrinol. Rev.* 8:115-131. 1987.

**Dayhoff M.O. (ed.):** *Atlas of Protein Sequence and Structure*. Natl. Biomed. Res. Foundation. Washington. USA. 1972.

**Dembinski A.B.; Johnson L.R.:** Effect of epidermal growth factor on the development of rat gastric mucosa. *Endocrinology*. 116:90-96. 1985.

**Desmoulin B.:** Qualités de carcasse du porc Large White: aptitudes aux rationnements suivant le sexe et après la castration. *Journées Rech. Porc. France*. 5. 189-201. 1973.

**Devesa J.:** Hormona de crecimiento y somatomedinas: acciones biológicas y control de su secreción. En: *Fisiología endocrina*. (Tresguerres JAF. ed.). pp 141-178. EUDEMA. Madrid. 1989.

**Dickerson J.W.T.; Widdowson E.M.:** Some effects of accelerating growth. II Skeletal development. *Proc. Royal Soc.* B152:207-217. 1960.

**Donnelly P.E.; Hutton J.B.:** Effects of dietary-protein and energy on growth of Friesian bull calves. 1. Food-intake, growth, and protein-requirements. *N. Zealand J. Agr. Res.* 19:289-297. 1976.

**Doornbal H.:** Growth, development and chemical composition of the pig. I. Lean tissue and protein. *Growth*. 35:281-295. 1971.

**Doornbal H.; Tong K.W.:** Growth, development and chemical composition of the pig. IV. Relative growth of visceral organs. *Growth*. 45:279-285. 1981.

**Draper N.R.; Smith H.:** *Applied Regression Analysis*. Wiley. NY. USA. 1966.

**Drewry M.M.; Harris R.B.S.; Martin R.J.:** Developmental-changes in response to overfeeding-effect on composition of gain, liver-metabolism and adipocyte cellularity in rats. *J. Nutr.* 118:194-198. 1988.

**Dreyfus J.C.; Kruh J.; Schapira G.:** Metabolism of myosin and life time of myofibrils. *Biochem. J.* 75:574-578. 1960.

**Drop S.L.; Sarbe-Claus L.; Visser H.K.:** The effect of puberty and short-term oral administration of testosterone undecanoate on GH tests and sex-steroid related plasma compounds in GH deficient patients. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. 16:375-381. 1982.

**Dulloo A.G.; Girardier L.:** Adaptative-changes in energy expenditure during refeeding following low-calorie intake. Evidence for a component favoring fat storage. *Am. J. Clin. Nutr.* 52:415-420. 1990.

**Dulloo A.G.; Girardier L.:** Influence of dietary composition on energy expenditure during recovery of body weight in the rat: Implications for catch-up growth and obesity relapse. *Metabolism*. 41:1336-1342. 1992.

**Dunkin A.C.; Black J.L.; James K.J.:** Nitrogen balance in relation to energy intake in entire male pigs weighing 75 kg. *Br. J. Nutr.* 55: 201-216. 1986.

**Easter R.A.:** Nutritional requirement and repartitioning agents. Proc., the partitioning revolution: Impact of somatotropin and  $\beta$ -adrenergic on future pork production. *Pork Industry Conference* pp: 193-199. Univ. Illinois, Urbana. USA. 1987.

**Eden S.:** Age and sex related differences in episodic growth hormone secretion in the rat. *Endocrinology*. 105:555-560. 1979.

**Edozien J.C.; Switzer B.R.:** Influence of diet on growth in the rat. *J. Nutr.* 108:282-290. 1978.

**Eisemann J.H.; Tyrel H.F.; Hammond A.C.; Reynolds P.J.; Bauman D.E.; Haaland G.L.; McMurtry J.P.; Varga G.A.:** Effect of bovine growth hormone administration on metabolism of growing Hereford Heifers: dietary digestibility, energy and nitrogen balance. *J. Nutr.* 116:157-163. 1986.

**Eisemann J.H.; Hammond A.C.; Rumsey T.S.:** Tissue protein synthesis and nucleic acid concentration in steers treated with somatotropin. *Br. J. Nutr.* 62:657-671. 1989.

**Eisen E.J.; Legates J.E.; Robison O.W.;** Selection for 12 day litter weight in mice. *Genetics.* 64:111-118. 1970.

**Eisen E.J.:** Results of growth curve analyses in mice and rats. *J. Anim. Sci.* 42:1008-1023. 1976.

**Eisen E.J.; Bakker H.; Nagai J.:** Body composition and energetic efficiency in two lines of mice selected for rapid growth rate and their F<sub>1</sub> crosses. *Theor. Appl. Genet.* 49:21-34. 1977.

**Eisen E.J.; Leatherwood J.M.:** Predicting percent fat in mice. *Growth.* 45:100-107. 1981.

**El-Etr M.S.; Shorderet-Slatkine S.; Baulien E.E.:** Meiotic maturation in *Xenopus laevis* oocytes initiated by insulin. *Science (Washington DC).* 205:1397-1399. 1979.

**Elliot J.L.; Lodge G.A.;** Body-composition and glycogen reserves in neonatal pig during 1<sup>ST</sup> 96 hours postpartum. *Can. J. Anim. Sci.* 57:141-150. 1977.

**Ellis S.; Zapf J.; Froesch E.R.; Humbel R.E.;** Stimulation of body weight increase and epiphyseal cartilage growth in hypophysectomized rats by insulin-like growth factor. *Endocrinology.* 108:103 (Abstr.).1981.

**Ernest M.; Froesch E.R.;** Growth hormone dependent stimulation of osteoblast-like cells in serum-free cultures via local synthesis of insulin like growth factor I. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 151:142-147. 1988.

**Etherton T.D.; Wiggins J.P.; Chung C.S.; Evock C.M.; Rebhun J.F.; Walton P.E.;** Stimulation of pig growth performance by porcine growth hormone and growth hormone-releasing factor. *J. Anim. Sci.* 63: 1389-1401. 1986.

**Etherton T.D.; Wiggins J.P.; Evock C.M.; Chung C.S.; Rebhun J.F.; Walton P.E.; Steele N.C.;** Stimulation of pig growth performance by porcine growth hormone: Determination of the dose-response relationship. *J. Anim. Sci.* 64: 433-451. 1987.

**Etherton T.D.;** The mechanism by which porcine growth hormone improves pig growth performance. In: *Biotechnology in Growth Regulation*. (Heap RB. Proseer CG. Larming GE. eds.). pp 97-105. Butterworths. London. UK. 1989.

**Evock C.M.; Etherton T.D.; Chung C.S.; Ivy R.E.;** Pituitary porcine growth hormone (pGH) and a recombinant pGH analog stimulate pig growth performance in a similar manner. *J. Anim. Sci.* 66: 1928-1933. 1988.

**Fabry J.; Demeyer D.; Thieleman M.F.; Deroanne C.; Van de Voorde G.; Deroover E.; Dalrymple R.H.;** Evolution of recombinant porcine somatotropin on growth performance, carcass characteristics, meat quality, and muscle biochemical properties of Belgian landrace pigs. *J. Am. Sci.* 69: 4007-4018. 1991.

**Fagin J.A.; Melmed S.;** Relative increase in insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acid levels in compensatory renal hypertrophy. *Endocrinology.* 120:718-724. 1987.

**FAO/WHO:** *Energy and Protein Requirements*. Report of a joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee. *Tech. Rep. Ser. Wld. Hlth. Org.* 522. 1973.

**FAO/WHO/UNU:** *Energy and Protein Requirements*. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. *Tech. Rep. Ser. Wld. Hlth. Org.* 724. 1985.

**Fattet I.; Hovell F.D.D.E.B.; Ørskov E.R.; Kyle D.J.; Pennie K.; Smart R.I.:** Undernutrition in sheep. The effect of supplementation with protein on protein accretion. *Br. J. Nutr.* 52:561-572. 1984.

**Felig, P.; Marliss, E.B.; Cahill, G.F.:** Metabolism response to human growth hormone during prolonged starvation. *J. Clin. Invest.* 50: 411-421. 1971.

**Ferrell C.L.; Koong K.J.:** Influence of plane of nutrition on body composition, organ size and energy utilization of Sprague-Dawley rats. *J. Nutr.* 116:2525-2535. 1986.

**Filer L.J.; Owen G.M.; Fomon S.J.:** In: *Swine in Biomedical Research*. (Bastad LK. McClellan RO. Burns MP. eds.) pp. 141-149. Richland Washington: Pacific Northwest Laboratory. USA. 1966.

**Finkelstein J.W.; Roffwarg H.P.; Boyar R.M.; Krema J.; Hellman L.:** Age-related change in the twenty four hour spontaneous secretion of growth hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 25: 665-670. 1972.

**Fisher A.V.; Wood J.D.:** The effects of some anabolic agents on the growth-performance and carcass composition of male cattle twins. *Anim. Prod.* 40:537-538. 1985.

**Florini J.R.; Ewton D.Z.; Falen S.L.; Van Wyk J.J.:** Biphasic concentration dependency of stimulation of myoblast differentiation by somatomedins. *Am. J. Physiol.* 250. 771-778. 1986.

**Florini J.R.; Ewton D.Z.; Magri K.A.:** Hormones, growth factors, and myogenic differentiation. *Annu. Rev. Physiol.* 53:201-216. 1991.

**Foch T.T.; McClearn G.E.:** Genetics, body weight and obesity. In: *Obesity*. (Stunkard AJ. ed.) . pp. 48-71. Saunders. Philadelphia. USA. 1980.

**Forbes G.B.:** Body composition in adolescence. In: *Human Growth Vol. II*. . (Falkner F. Tanner JM.). pp. 234-272. Plenum Press. N.Y. USA. 1978.

**Forest M.G.; Peretti E.; Bertrand J.:** Hypothalamic pituitary gonadal relationships in man from birth to puberty. *Clin. Endocrinol.* 5:551-569. 1976.

**Fowler R.E.:** The growth and carcass composition of strains of mice selected for large and small body size. *J. Agr. Sci. (Camb.)*. 51:137-148. 1958.

**Fowler V.A.:** In: *Meat Animals: Growth and Productivity*. (Lister D. Rhodes DN. Fowler VR. Fuller MF. eds.). pp. 285-299. Plenum Press. N.Y. USA. 1974.

**Fowler V.A.; Kanis J.K.:** Use of recombinant porcine somatotropin (pST) in Europe: Research experience and perspectives. In: *Biotechnology for Control of Growth and Product Quality in Swine Implications and Acceptability*. (Van der Wal P. Nieuwhof GJ. Politek RD. eds.). Pudoc. Wageningen, The Netherlands. 1989.

**Fraga M.J.; Torres A.; Pérez E.; Gálvez J.F.; Blas J.C.D.:** Body composition in suckling rabbits. *J. Anim. Sci.* 47:166-175. 1978.

**Froesch E.R.; Schmid Chr.; Schwander J.; Zapf J.:** Actions of insulin-like growth factors. *Annu. Rev. Physiol.* 47:443-467. 1985.

**Fuller M.F.:** Weight with diets of differing protein content. *J. Nutr.* 113:15-20. 1983.

**Garn S.M.; Rohmann C.G.:** Crosslinked inheritance of developmental timing in man. *Nature*. 196:695. 1962.

**Gam S.M.; Pesick S.D.:** Relationship between various maternal body mass measures and size of newborn. *Am. J. Nutr.* 36:664. 1982.

**Geiger L.W.; Canolty N.L.:** Influence of dietary protein concentration upon energy utilization in mice fed diets containing varying levels of fat and carbohydrate. *J. Nutr.* 108:1540-1545. 1978.

**Gettys T.W.; Mills S.; Henricks D.M.:** An evaluation of the relation between food consumption rate and equilibrium body-weight on male rats. *Br. J. Nutr.* 60:151-160. 1988.

**Glasscock G.F.; Gelber S.E.; Lamson G.; McGeetkula R.; Rosenfeld R.G.:** Pituitary control of growth in the neonatal rat: effects of neonatal hypophysectomy on somatic and organ growth, serum insulin-like growth factors IGF-I and -II levels, and expression of IGF binding proteins. *Endocrinology* 127: 1792-1803. 1990.

**Glasscock G.F.; Gin K.K.L.; Kim J.D.; Hintz R.L.; Rosenfeld R.G.:** Ontogeny of pituitary regulation of growth in the developing rat: comparison of effects of hypophysectomy and hormone replacement on somatic and organ growth, serum insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II levels, and IGF-binding protein-levels in the neonatal and juvenile rat. *Endocrinology*. 128:1036-1047. 1991.

**Gluckman P.D.; Butler J.H.; Elliott T.B.:** The ontogeny of somatotropic binding sites in urine hepatic membranes. *Endocrinology*. 112. 1507-1512. 1983.

**Goldberg A.L.:** Mechanisms of growth and atrophy of skeletal muscle. *Muscle Biol.* 1:89-118. 1972.

**Golde D.W.; Bersch N.; Li C.H.:** Growth hormone species-specific stimulation of erythropoiesis in vitro. *Science*. 196:112-1113. 1977.

**Golde D.W.;** *In vitro* effects of growth hormone. In: *Growth Hormone and Other Biologically Active Peptides*. (Pecile A. Muller EE. eds.). pp. 52-62. Excerpta Medica. Amsterdam. 1979.

**Goldspink D.F.; Goldberg A.L.:** Influence of pituitary growth hormone on DNA synthesis in rat tissues. *Am. J. Physiol.* 228:302-309. 1975.

**Goldstein H.:** Sampling for growth studies. In: *Human Growth. 1 Principles and Prenatal Growth*. (Falkner F. Tanner JM. eds.). Plenum Press. N.Y. USA. 1978.

**Goll P.E.; Kleese W.C.; Szpacenko A.:** Skeletal muscle proteases and protein turnover. In: *Animal Growth Regulation*. (Campion DR. Hausman GJ. Martin RJ.). pp 141-182. Plenum. NY. USA. 1989.

**González A.; Easter R.A.; Jones R.W.:** Effect of porcine somatotropin (pST) on apparent ileal digestibility values of amino-acids. *J. Anim. Sci.* 68(Suppl. 1):361(Abstr.). 1990.

**Goodband R.D.; Nelseen J.L.; Hines R.H.; Kroph D.H.; Thaler R.C.; Schricker B.R. Fitzgner G.E.:** The effects of porcine somatotropin (pST) and dietary lysine level on growth performance and carcass characteristics of finishing swine. *J. Anim. Sci.* 60 (Suppl. 1): 95 (Abstr). 1988.

**Goodman H.; Coiro M.:** Induction of sensitivity to the insulin-like action of growth hormone in normal rat adipose tissue. *Endocrinology.* 108:113-119. 1981.

**Goodman H.M.:** Biological activity of bacterial derived human growth hormone in adipose tissue of hypophysectomized rats. *Endocrinology.* 114:131. 1984.

**Goss R.J.:** Turnover in cells and tissues. In: *Advances in Cell Biology*. (Prescott DM. Goldstein L. McConkey EM. eds.). pp. 233-296. Appleton Centruy Crofts. N.Y. USA. 1970.

**Goss R.J.:** *The Physiology of Growth*. Academic Press. N. Y. USA. 1978.

**Goss R.J.:** Animals models for growth. *Proc. Nutr. Soc.* 39:213-217. 1980.

**Goss R.J.:** Physiological adaptations of growth. *Comp. Anim. Nutr.(Karger Basel)*. 4:1-32. 1981.

**Gracey M.:** Normal growth and nutrition. *Wld. Rev. Nutr. Diet.(Karger Basel)*.49:160-210. 1987.

**Graham NMcC.; Searle T.W.; Griffiths D.A.:** Basal metabolic rate in lambs and young sheep. *Australia J. Agr. Res.* 25:957-971. 1974.

**Grant A.L.; Helferich S.A.; Kramer R.A.; Bergen W.G.:** Administration of growth hormone to pigs alters the relative amount of insulin like growth factor-I mRNA in liver and skeletal muscle. *J. Endocrinol.* 130: 331-338. 1991.

**Grantley-Smith M.P.; Oldman J.D.; Hart J.C.:** *Proceedings of IV<sup>th</sup> International Symposium of Protein Metabolism and Nutrition*. (Arnad M. ed.). pp. 161-164. INRA. Clermon Ferrand. France. 1983.

**Gray J.M.; Wade G.N.:** Food-intake, body-weight, and adiposity in female rats. Actions and interactions of progestins and anti-estrogens. *Am. J. Physiol.* 240:E474-E481. 1981.

**Greaves J.P.; Tan J.:** The amino acid pattern of the British diet. *Nutrition (Lond.)*. 20:112-115. 1966.

**Green H.; Morikawa M.; Nixon T.:** A dual effect on theory of growth hormone action. In: *Human Growth Hormone Symposium*. Plenum Press. N.Y. USA. 1984.

**Gregory N.G.; Lowell R.D.; Wood J.D.; Lister D.:** Insulin-secreting ability in Pietrain and Large White pigs. *J. Agr. Sci.* 89:407-412. 1977.

**Groesbeck M.D.; Parlow A.F.; Daughaday W.H.:** Stimulation of supranormal growth in prepubertal adult plateaued, and hypophysectomized female rats by large doses of growth hormone: Physiological effects and adverse consequences. *Endocrinology.* 120:1063-1075.1987.

**Grumbach M.M.:** The central nervous system and the onset of puberty. In: *Human Growth Vol. II.* (Falkner F. and Tanner JM. eds.). pp 215-238. Plenum Press. N.Y. USA. 1978 a.

**Grumbach M.M.; Richards G.E.; Conte I.A.; Kaplan S.L.:** Clinical disorders of adrenal function and puberty: an assessment of the role of the adrenal cortex in normal and abnormal puberty in man and evidence for an ACTH-like pituitary adrenal androgen stimulating hormone. In: *The Endocrine Function of the Human Adrenal Cortex.* Academic Press. N.Y. USA. 1978 b.

**Grumbach M.M.:** The neuroendocrinology of puberty. *Hosp. Prac.* 15:51-60. 1980.

**Guler H.P.; Zapf J.; Scheiwiller E.; Froesch E.R.:** Recombinant human insulin-like growth factor I stimulates growth and has distinct effects on organ size in hypophysectomized rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85:4889-4893. 1988.

**Gurr M.J.; Mawson R.; Rothwell N.J.; Stock M.J.:** Effects of manipulating dietary protein and energy intake on energy balance and thermogenesis in the pig. *J. Nutr.* 110:532-542.1980.

**Gustafsson J.Å.; Ström A.; Tollet P.; Eguchi H.; Lahuna O.; Westin S.; Legraverend C.; Mode A.:** Mechanisms of sex differentiation and growth hormone regulation of hepatic P450 genes in the rat. *Workshop on Neuroendocrinology of Growth.* Institute Juan March, Centre for International meetings on Biology. 1993.

**Hall K.; Enberg G.; Ritzén M.; Svan H.; Fryklund L.; Takano K.:** Somatomedin A levels in serum from healthy children and from children with growth hormone deficiency and delayed puberty. *Acta Endocrinol.* 94:155-165. 1980.

**Hammond J.C.; Hendricks W.A.; Titus H.W.:** Effect of percentage of protein in the diet on growth and feed utilization of male chickens. *J. Agr. Res.* 56:791-810. 1938.

**Hamosh M.; Hamosh P.:** Effect of estrogen on lipoprotein-lipase activity of rat adipose tissue. *J. Clin. Inv.* 55:1132-1135. 1975.

**Harri M.; Brockway J.M.:** Effect of dietary protein concentration and ambient temperature on the energy, protein and water metabolism of the rat. *Br. J. Nutr.* 53:363-372. 1985.

**Harris P.M.:** Changes in adipose tissue of the rat due to early undernutrition followed by rehabilitation 1. Body composition and adipose tissue cellularity. *Brit. J. Nutr.* 43: 15-26. 1980 a.

**Harris P.M.:** Changes in adipose tissue of the rat due to early undernutrition followed by rehabilitation. 2. Strain differences and adipose tissue cellularity. *Brit. J. Nutr.* 43: 27-31. 1980 b.

**Harris P.M.; Hodgson D.F.; Broadhurst R.B.:** Response of male and female rats to undernutrition. 1. Changes in energy utilization, body composition and tissue turnover during undernutrition. *Br. J. Nutr.* 52:289-306.1984

**Harris R.B.; Kasser T.R.; Martin R.J.:** Dynamic of recovery of body composition after overfeeding food restriction or starvation of mature female rats. *J.Nutr.* 116: 2536-2546. 1986.

**Hart L.C.; Morant S.V.:** Roles of prolactin, GH, insulin and thyroxine in steroid induced lactation in goats. *J. Endocrinol.* 84:343-350. 1980.

**Hart L.C.; Johnson L.D.:** Growth hormone and growth in meat producing animals. In: *Control and Manipulation of Animal Growth*. (Buttery P.J. Haynes N.B. Lindsey D.B. eds.). pp 135-159. Butterworths. London. UK. 1986.

**Haselbacher G.; Schwab M.E.; Pasi A.; Humbel R.E.:** Insulin-like growth factor II (IGF II) in human brain regional distribution of IGF II and higher molecular mass forms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 82:2153-2157. 1985.

**Hausman C.:** Anthropometry and related data, anthropometry skinfold thickness measurements. In: *Human Growth and Development*. (McCammon ed.). Thomas Springfield. USA. 1970.

**Hayden P.; Gambino J.J.:** Growth and development of the little pocket mouse *Perognathus longimembris*. *Growth*. 30:187-190. 1966.

**Hayes J.F.; McCarthy J.C.:** The effects of selection at different ages for high and low body weight on the pattern of fat deposition in mice. *Genet. Res. (Camb.)*. 27:389-403. 1976.

**Heggeness F.W.:** Effect of intermittent food restriction on growth, food utilization and body composition of rat. *J. Nutr.* 86:265-270. 1965.

**Henning S.J.:** Postnatal-development. Coordination of feeding, digestion, and metabolism. *Am. J. Physiol.* 241:G199-G214. 1981.

**Herington A.C.; Cornell H.J.; Kuffer A.D.:** Recent advances in the biochemistry and physiology of the insulin-like growth factor somatomedin family. *Int. J. Biochem.* 15:1201-1210. 1983.

**Hetzel D.J.S.;** *Genetic Studies of Growth and Body Composition in Mice*. PhD Thesis Dissertation. Univ. Sydney. Australia. 1978.

**Hetzel D.J.S.:** Growth efficiency and body composition of mice selected for post-weaning weight gain on *ad libitum* or restricted feeding. *Genet. Res. (Camb.)*. 48:101-109. 1986.

**Hietanen E.; Greenwood M.R.C.:** Comparison of lipoprotein-lipase activity and adipocyte differentiation in growing male rats. *J. Lipid Res.* 18:480-490. 1977.

**Hintz R.L.; Liu F.:** Demonstration of specific plasma protein binding sites for somatomedin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:988-995. 1977.

**Hintz R.L.; Thorsson A.V.; Enberg G.; Hall K.:** IGF-II binding on human lymphoid cells: demonstration of a common high affinity receptor for insulin-like peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 118:774-782. 1984.

**Hizuka N.K.; Takano K.; Shizume K.; Asakawa K.; Miyakawa M.:** Insulin-like growth factor I stimulates growth in normal growing rats. *Eur. J. Pharmacol.* 125:143-146. 1986.

**Ho K.Y.; Evans W.S.; Blizzard R.M.; Vedhuis J.D.; Merriam G.R.; Samojlik E.; Furlanetto R.; Rogol A.D.; Kaiser D.L.; Thorne M.O.:** Effects of sex and age on the twenty-four-hour profile of growth hormone secretion in man: Importance of endogenous estradiol concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 64:51-62. 1987.

**Ho K.Y.; Velhuis J.D.; Johnson M.L.; Furlanetto R.; Evans W.S.; Alberti K.G.M.M.; Thorne M.O.:** Fasting enhances growth hormone secretion and amplifies the complex rhythms of growth hormone secretion in man. *J. Clin. Invest.* 81:968-975. 1988.

**Hodge R.W.:** Efficiency of food conversion and body composition of the preruminant lamb and the young pig. *Br. J. Nutr.* 32:113-126. 1974.

**Holleman D.F.; Dieterich R.A.:** Postnatal changes in body-composition of laboratory maintained brown lemmings *lemmus sibiricus*. *Lab. Anim. Sci.* 28:529-535. 1978.

**Honegger A.; Humbel R.E.:** Insulin-like growth factor I and II in fetal and adult bovine serum. *J. Biol. Chem.* 261. 569-575. 1986.

**Hsu C.J.; Hammond J.M.:** Gonadotropins and estradiol stimulate the secretion of insulin-like growth factor I by porcine granulosa cells in culture. *Endocrinology.* 120:198-213. 1987 a.

**Hsu C.J.; Hammond J.M.:** Concomitant effects of growth hormone on secretion of insulin-like growth factor I and progesterone by cultured porcine granulosa cells. *Endocrinology.* 121:1343-1348. 1987 b.

**Huxley J.S.:** *Problems of Relative Growth.* Dial Press. N.Y. USA. 1932.

**Hynes M.A.; Van Wyk J.J.; Brooks P.J.; D'Ercole A.J.; Jansen M.; Lund P.K.:** Growth hormone dependence of somatomedin-C/insulin-like growth factor I and Insulin-like growth factor II messenger ribonucleic acids. *Mol. Endocrinol.* 1:233-242. 1987.

**Illig R.; Prader A.:** Effect of testosterone on growth hormone secretion in patients with anorchia and delayed puberty. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30:615-618. 1970.

**Isaksson O.G.P.; Jansson J.; Gause I.A.M.:** Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. *Science.* 216. 1237-1238. 1982.

**Isaksson O.G.P.; Lindahl A.; Nilsson A.; Isgaard J.:** Mechanism of the stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone growth. *Endocrinol. Rev.* 8:426-438. 1987.

**Isgaard J.; Carlsson L.; Isaksson O.G.P.; Jansson J.O.:** Pulsatile intravenous growth hormone (GH) infusion to hypophysectomized rats increases insulin-like growth

factor I mRNA in skeletal tissues more effectively than continuous GH infusion. *Endocrinology*. 123:2605-2610. 1988.

**Issad T.; Coupé C.; Ferré P.; Girard J.:** Insulin resistance during suckling period in rats. *Am. J. Physiol.* 253:E142-E148. 1987.

**Issad T.; Coupé C.; Pastor-Anglada M.; Ferré P.; Girard J.:** Development of insulin-sensitivity at weaning in the rat. *Biochem. J.* 251:685-690. 1988.

**Ivy R.E.; Wolfram G.W.; Edwards C.K.:** Effects of growth hormone and RALGRO (zeranol) in finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 63 (Suppl. 1):217 (Abstr.).1986.

**James W.P.T.; Trayhurn P.:** An integrated view of the metabolic and genetic basis for obesity. *Lancet*. 770-773. 1976.

**Jansson J.O.; Eden S.; Isaksson O.G.P.:** Sexual dimorphism in the control of growth hormone secretion. *Endocrinol. Rev.* 6:128. 1985.

**Jepson M.M.; Bates P.C.; Millward D.J.:** The role of insulin and thyroid hormones in the regulation of muscle growth and protein turnover in response to dietary protein in the rat. *Br. J. Nutr.* 59:397-415. 1988.

**Johnsson L.D.; Hart L.C.; Butler-Hogg B.W.:** The effects of exogenous bovine growth hormone and bromocriptine on growth, body development, fleece weight and plasma concentrations of growth hormone, insulin and prolactin in female lambs. *Anim. Prod.* 41:207-217. 1985.

**Johnsson L.D.; Hathorn D.J.; Wilde R.M.; Treacher T.T.; Butler-Hogg B.W.:** The effects of dose and method of administration of biosynthetic bovine somatotropin on

live-weight gain, carcass composition and wool growth in young lambs. *Anim. Prod.* 44:405-414. 1987.

**Jost A.:** Hormonal factors in the development of the fetus. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 16:167-181. 1952.

**Joubert D.M.:** A study of prenatal growth and development in the sheep. *J. Agr. Sci. (Camb.)*. 47:382-391. 1956.

**Kanis E.; Nieuwhof G.J.; Degreef K.H.; Van der Hel W.; Verstegen M.W.; Huisman J.; Van der Wal P.:** Effect of recombinant porcine somatotropin on growth and carcass quality in growing pigs: Interactions with genotype, gender and slaughter weight. *J. Anim. Sci.* 68:1193-1200. 1990.

**Kelch R.P.; Markovs M.; Hull J.:** LH and FSH responsiveness to intravenous gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in children with hypothalamic or pituitary disorders: Lack of effect of replacement therapy with human growth hormone. *J. Endocrinol. Metab.* 42:1104-1110. 1976.

**Kellaway R.C.:** Effects of plane of nutrition genotype and sex on growth, body composition and wool production in grazing sheep. *J. Agr. Sci. (Camb.)*. 80:17-27. 1973.

**Kielanowski J.:** Utilization of energy and protein on growing animals. *7th Symp. Energy Metabolism of Farm Animals: Feeding Efficiency and Genotype Nutrition Interaction in Growing Animals, Particularly in Cattle for Beef Production*. Teix. 1976.

**Kjeldahl J.:** Neue Methode zur bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Z. Anal. Chem.* 22:366. 1883.

**Kleiber M.:** *The Fire of Life. An Introduction to Animal Energetics.* pp. 41-59. Krieger Publishing Huntington, N.Y. USA. 1975.

**Knobil E.; Motchkiss J.:** Growth Hormone. *Ann. Rev. Physiol.* 26:47-74. 1964.

**Konyshev V.A.:** Growth regulatory substances and nutrition. *Comp. Anim. Nutr.* 4:187-227. 1981.

**Kostyo J.L.; Nutting D.F.:** Growth hormone and protein metabolism, in Altszuler N.: Action of growth hormone on carbohydrate metabolism. In: *Handbook of physiology Vol. 4.* (Knobil E. Sawyer WH. eds.). 2. pp. 187-210. Am. Physiol. Soc. Washington D.C. 1974.

**Kostyo J.L.; Isaksson O.G.P.:** Growth hormone and regulation of somatic growth. *Int. Rev. Physiol. Reprod. Physiol II.* 13:255-274. 1977.

**Kotarbinska M.:** *Badania nad przemiana energii u rosnacych swin.* Wroclaw: Instytut Zootechniki n 238. 1969.

**Kowalski C.J.; Guire K.E.:** Longitudinal data analysis. *Growth.* 38:131-169. 1974.

**Krick B.J.; Roneker K.R.; Boyd R.D.; Beermann D.H.; Ross D.A.:** Impact of porcine somatotropin on the lysine requirement of a fast-growing genotype from 55 to 100 kg live weight. *J. Anim. Sci.* 68(Suppl. 1):384 (Abstr.). 1990.

**Krishnamachar S.; Canolty N.L.:** Influence of diet composition on intake and utilization of protein and energy in diabetic and control rats. *J. Nutr.* 116:461-471. 1986.

**Kulin H.E.; Samojlik E.; Santen R.; Santner S.:** The effect of growth hormone on the Leydig cell response to chorionic gonadotropin in boys with hypopituitarism. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 15:463-467. 1981.

**Kurtz A.; Zapf J.; Eckardt K.U.; Clemmons G.; Froesch E.R.; Bauer C.:** Insulin-like growth factor I stimulates erythropoiesis in hypophysectomized rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85:9825-7829. 1988.

**Laird A.K.:** Dynamics of relative growth. *Growth.* 29:249-263. 1965.

**Lane H.W.; Keith R.E.; Strahan S.; White M.T.:** The effect of diet, exercise and 7,12-dimethylben(a)anthracene on food intake, body composition and carcass energy levels in virgin female BALB/c mice. *J. Nutr.* 121:1876-1882. 1991.

**Lang B.J.; Legates J.E.:** Rate, composition and efficiency of growth in mice selected for large and small body weight. *Theor. Appl. Genet.* 39:306-314. 1969.

**Laurent B.C.; Moldawer L.L.; Young V.R.; Bistrrian B.R.; Blackburn G.L.:** Whole body leucine and muscle protein kinetics in rat fed varying protein intake. *Am. J. Physiol.* 246:E444- E451. 1984.

**Ledet T.:** Growth hormone stimulates the growth of arterial medial cells *in vitro*. *Diabetes.* 25:1011-1017. 1976.

**Ledet T.; Vuust J.:** Arterial procollagen type I, type III and fibronectin. Effects of diabetic serum glucose, insulin ketone and growth hormone studied on rabbit aortic myoma dial cell cultures. *Diabetes.* 29:904-970. 1980.

**Leshner A.J.; Collier G.:** Effects of gonadectomy on sex-differences in dietary self-selection patterns and carcass compositions of rats. *Physiol. Behav.* 11:671-676. 1973.

**Lestrel P.E.; Brown H.D.:** Fourier Analysis of Adolescent growth of the cranial vaults: a longitudinal study. *Hum. Biol.* 48:517-528. 1976.

**Levi-Montalcini R.; Calissano P.:** Nerve growth factor as a paradigm for other polypeptide growth factors. *Trends Neurosci.* Oct. 473-482. 1986.

**Lewis S.E.M.; Kelly F.J.; Goldspink D.F.:** Pre- and post-natal growth and protein turnover in smooth muscle, heart and slow and fast-twitch skeletal muscles of the rat. *Biochem. J.* 217: 517-526. 1984.

**Lincoln E.M.; Spillman R.:** Studies on the hearts of children. II. Roentgen-ray studies. *Am. J. Dis. Child.* 35:791-810. 1928.

**Lindsay J.A.; Davies H.L.:** Dietary nitrogen concentration in growing cattle. The effect on growth-rate, feed-utilization and body-composition. *Anim. Prod.* 32:85-93. 1981.

**Longcope C.; Pratt J.H.; Scheneider S.H.; Fineberg S.E.:** Aromatization of androgens by muscle and adipose tissue *in vivo*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46:146-149. 1978.

**López-Oliva M.E.;** *Crecimiento celular y metabolismo proteico del músculo gastrocnemio del ratón BALB/c entre el destete y la pubertad, durante la respuesta bifásica a la administración exógena de rhGH. Influencia de la edad, la dieta y el sexo.* Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 1994.

**Lubchenco L.O.; Hausman C.; Dressler M.; Boyd E.:** Intrauterine growth as estimated from liver born birth weight data at 24 to 42 weeks of gestation. *Pediatrics.* 33:793-797. 1963.

**Lund-Larsen T.R.; Sundby A.; Kruse V.; Velle W.:** Relation between growth-rate, serum somatomedin and plasma testosterone in young bulls. *J. Anim. Sci.* 44:189-194. 1977.

**Lunn P.G.; Austin S.:** Dietary manipulation of plasma-albumin concentration. *J. Nutr.* 113:1791-1802. 1983.

**Lunnberg S.; Belfrage M.; Wernerman J.; Von der Decken A.:** Growth hormone improves muscle protein metabolism and whole body nitrogen economy in man during a hyponitrogenous diet. *Metabolism*. 40:315-322.1991.

**Macari M.; Dauncey M.J.; Ramsden D.B.; Ingram D.L.:** Thyroid-hormone metabolism after acclimatization to a warm or cold temperature under conditions of high or low-energy intake. *Quarterly J. Exp. Physiol.* 68:709-718. 1983.

**Machlin L.J.:** Effect of porcine growth hormone on growth and carcass composition of the pig. *J. Anim. Sci.* 35:794-798. 1972.

**Madsen K.; Friberg U.; Roos P.; Eden S.; Isaksson O.G.P.:** Growth hormone stimulates the proliferation of cultured chondrocytes from rabbit ear and rat rib growth cartilage. *Nature*. 304:345-347. 1983.

**Maes M.; De Hertogh R.; Watrin-Granger P.; Ketelslegers J.M.:** Ontogeny of liver somatotropic and lactogenic binding sites in male and female rats. *Endocrinology*. 113:1325-1332. 1983.

**Maes M.; Wolter R.; Vanderschueren M.:** Effects of human growth hormone and gonadotropins on the testicular response to human chorionic gonadotropin in prepuberal GH deficient children. *Pediatr. Res.* 18:1220 (Abstr.). 1984.

**Maes M.; Amand Y.; Ketelslegers J.M.:** Decreased serum somatomedin-C (Sm-C) response to growth hormone (GH) in hypophysectomized rats fed a low protein diet. Evidence for a post-receptor defect. *Pediatr. Res.* 20:1185(Abstr.). 1986.

**Magri K.A.; Gopinath R.; Etherton T.D.:** Inhibition of lipogenic enzyme activities by porcine growth hormone (pGH). *J. Anim. Sci.* 65 (Suppl. 1):258 (Abstr). 1987.

**Malik R.C.:** Genetic and physiological aspects of growth, body composition and feed efficiency in mice: a review. *J. Anim. Sci.* 58:577-590. 1984.

**Manners M.J.; McCrea M.R.:** Changes in the chemical composition of sow-reared piglets during the first month of life. *Br. J. Nutr.* 17:495-513. 1963.

**Maresh M.M.:** Growth of the heart related to bodily growth during childhood and adolescence. *Pediatrics (Springfield)*. 2:382-404. 1948.

**Marshall W.A.; Tanner J.M.:** Puberty. In: *Davis Dobbing Scientific Foundations in Paediatrics*. pp 176-209. Heinemann. London. UK. 1981.

**Martin L.G.; Clark J.W.; Connor T.B.:** Growth hormone secretion enhanced by androgens. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 28:425-428. 1968.

**Martin L.G.; Grossman M.S.; Connor T.B.; Levitsky L.L.; Clark J.W.; Camitta F.D.:** Effect of androgen on growth hormone secretion and growth in boys with short stature. *Acta Endocrinol. (Copenhagen)*. 91:201-208. 1979.

**Massarano A.; Pringle P.J.; Hindmarsh P.L.; Stanhope R.; Preece M.A.; Brook C.G.D.:** 24 Hour growth hormone profiles in Turner syndrome and the effects of oxandrolone. *Pediatr. Res.* 23:127. (Abstr.). 1988.

**Mathews L.S.; Norstedt G.; Palmiter R.D.:** Regulation of insulin like growth factor I gene expression by growth hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83:9343-9347. 1986.

**McCance R.A.; Widdowson E.M.:** Glimpses of comparative growth and development. In: *Human Growth. Vol I.* (Falkner F. and Tanner J.M. eds.). pp. 145-166. Plenum Press. N.Y. USA. 1978.

**McCarthy J.C.; Doolittle D.P.:** Effects of selection for independent changes in two highly correlated body weight traits in mice. *Genet. Res. (Camb.)*. 29:133-145. 1977.

**McCarthy J.C.:** Morphological and physiological aspects of selection. In: *Experiments in Laboratory and Domestic Animals*. (Robertson A. ed.). Proc. Symp. Selection. CAB. Slough. U.K. 1980.

**McCracken K.J.:** *Energy Metabolism of Young Rats Subjected to a Deficiency of Calories or of Protein*. PhD Thesis. University of Cambridge. UK. 1968.

**McCracken K.J.:** Effects of feeding pattern on the energy metabolism of rats given low-protein diets. *Br. J. Nutr.* 33:277-289. 1975.

**McCracken K.J.; McAllister A.:** Energy metabolism and body composition of young pigs given low-protein diets. *Br. J. Nutr.* 51:225-234. 1984.

**McCracken K.J.:** Nutritional obesity and body composition. *Proc. Nutr. Soc.* 45:91-100. 1986.

**McDonald P.C.; Madden J.D.; Brunner P.F.; Wilson J.D.; Siiteri P.K.:** Origin of estrogen in normal men and in women with testicular feminization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49:905-910. 1979.

**McDowell E.C.; Gates W.H.; McDowell C.G.:** The influence of the quantity of nutrition upon the growth of the suckling mouse. *J. Genet. Physiol.* 13:529-545. 1930.

**McGillivray M.H.:** Disorder of growth and development. In: *Endocrinology and Metabolism*. (Felig PH. Baxter JD. Broadus ME. Frohman LA. ed.). pp. 1581. McGraw Hill Book Company. N.Y. USA. 1987.

**McLaren D.P.G.; Bechtel P.J.; Grebner G.L.; Novakofski J.; McKeith F.K.; Jones R.W.; Dalrymple R.H.; Easter R.A.:** Dose response in growth of pigs injected daily with porcine somatotropin from 57 to 103 kilograms. *J. Anim. Sci.* 68:640-647. 1990.

**McManus J.P.; Whitfield J.F.:** Inhibition by the thyrocalcitonin of the mitogenic actions of parathyroid hormone and cyclic AMP on rat thymocytes. *Endocrinology*. 86:934-939. 1970.

**McMeekan C.P.:** Growth and development in the pig, with special reference to carcass quality characteristics. *J. Agr. Sci.* 30:276-569. 1940.

**McNiven M.:** *The Effect of Body Fatness on the Maintenance Energy Requirements of Adults Rats*. PhD Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. Sweden. 1980.

**McPhee C.P.; Neill A.R.:** Changes in the body composition of mice selected for high and low eight week weight. *Theor. Appl. Genet.* 47:21-26. 1976.

**McRae J.C.; Bruce C.A.; Hovell F.D.; Hart I.C.; Inkster J.; Walter A.; Atkinson T.:** Influence of protein nutrition on the response of growing lambs to exogenous bovine growth hormone. *J. Endocrinol.* 130: 53-61. 1991.

**Mead R.:** Split unit designs and repeated measurements. In: *The Design of Experiments: Statistical Principles for Practical Applications*. Cambridge University Press. UK. 1990.

**Mercer L.P.; Watson D.F.; Ramlet J.S.:** Control of food intake in the rat by dietary protein concentration. *J. Nutr.* 111:1117-1123. 1981.

**Mercola K.E.; Cline M.J.; Golde D.W.:** Growth hormone stimulation of normal and leukaemic human T lymphocyte proliferation *in vitro*. *Blood*. 58:337-340. 1981

**Merchav V.S.; Tatarsky I.; Hochberg Z.:** Enhancement of human granulopoiesis *in vitro* by biosynthetic insulin-like growth factor I/somatomedin C and human growth hormone. *J. Clin. Inv.* 81:791-797. 1988.

**Merimée T.J.; Zapf J.; Froesch E.R.:** Insulin-like growth factor II, and nerve growth factors in the fed and fasted states. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55:999-1002. 1982.

**Mersmann H.J.; Koong L.J.:** Effect of plane of nutrition on adipose tissue lipid metabolism in genetically-obese and lean pigs. *J. Nutr.* 114:862-868. 1984.

**Metcalf D.; Moore M.A.:** Regulation of growth and differentiation in haemopoietic colonies growing in agar. In: *Haemopoietic Stem Cells*. pp 157-182. Elsevier, Amsterdam. The Netherlands. 1973.

**Meyer H.; Ahlswede L.:** Über das intrauterine Wachstum und die Körperzusammensetzung von Fohlen sowie den Nährstoffbedarf Tragender Stuten. *Tierernahrung*. 4:263-267. 1976.

**Meyer I.H.; Hargus W.A.:** Factors influencing food intake of rats fed low-protein rations. *Am. J. Physiol.* 197:1350-1352. 1959.

**Miller D.S.; Payne P.R.:** Weight maintenance and food intake. *J. Nutr.* 78:255-262. 1962.

**Milliken G.A.; Johnson D.E.:** Simultaneous designs involving several sizes of experimental units. In: *Analysis of Messy Data. Vol I. Designed Experiments*. pp 67-92. Van Nostrand Reinhold Company. N.Y. USA. 1984.

**Millward D.J.; Rivers J.P.:** The nutritional role of indispensable amino acids and the metabolic basis for their requirements. *Eur. J. Clin. Nutr.* 42:367-393. 1988.

**Mitchell H.H.; Jagusch K.T.:** Energy balance studies with weaned lambs. 1. Utilization of metabolizable energy of lucerne by lambs weaned at five weeks of age. *N. Zealand J. Agr. Res.* 15:788-794. 1972.

**Mohan P.F.; Narasinga Rao B.S.:** Adaptation to underfeeding in growing rats effect of energy restriction at two dietary protein levels on growth, feed efficiency, basal metabolism and body composition. *J. Nutr.* 113:79-85. 1983.

**Moll G.; Rosenfield R.L.; Fang V.S.:** Administration of low-dose estrogen rapidly and directly stimulates growth hormone production. *Am. J. Dis. Child.* 140:124-128. 1986.

**Morgan J.H.L.:** Body composition and carcass characteristics of calves fed on different levels of whole milk relative to body weight. *N. Zealand J. Agr. Res.* 12:75-86. 1969.

**Moseley W.M.; Krabill L.F.; Olsen R.F.:** Effect of bovine growth hormone administered in various patterns on nitrogen metabolism in the Holstein steer. *J. Anim. Sci.* 55:1062-1070. 1982.

**Moses A.C.; Nissley S.P.; Short P.A.; Rechler M.M.; White R.M.; Knigh A.B.; Higa O.Z.:** Increased levels of multiplication-stimulating activity and insulin-like growth factor in fetal rat serum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77:3649-3653. 1980.

**Moss F.P.; Leblond C.P.:** Nature of dividing nuclei in skeletal muscle of growing rats. *J. Cell. Biol.* 44:459-463. 1970.

**Motil K.J.; Bier D.M.; Matthews D.E.; Burke J.F.; Young V.R.:** Whole body leucine and lysine metabolism studies with [ $1-^{13}\text{C}$ ] leucine and [ $\alpha-^{15}\text{N}$ ] lysine: response in healthy young men given excess energy intake. *Metabolism.* 30:783-791. 1981.

**Moulton C.R.:** Age and chemical development in mammals. *J. Biol. Chem.* 57:79-97. 1923.

**Mueller W.A.:** The genetics of human fatness. *Yearbook Phys. Anthropol.* 26:215-230. 1983.

**Muir C.A.; Wein S.; Duquette P.F.; Rickes E.L.; Cordes E.H.:** Effects of exogenous growth hormone and diethylestilbestrol on growth and carcass composition of growing lambs. *J. Anim. Sci.* 56:1315-1323. 1983.

**Munro H.N.:** General aspects of the regulation of protein metabolism by diet and by hormones. In: *Mammalian protein metabolism*. (Munro HN, Allison JB, eds.), vol 1, pp 381-481. Academic Press. N.Y. USA. 1964.

**Nadal-Ginard B.:** Commitment, fusion and biochemical differentiation of a myogenic cell line in the absence of DNA synthesis. *Cell.* 15:855-864. 1978.

**NRC.:** National Research Council. *Nutrient requirements of laboratory animals*. 2nd revised ed. N°10, p 117. Natl. Acad. Sci. Washington. USA. 1972.

**NRC.:** National Research Council. *Nutrient requirements of laboratory rabbits*. p 30. Natl. Acad. Sci. Washington. USA. 1977.

**Newcomb M.D.; Van Kempen T.; Bechtel P.J.; McKeith F.K.; Novakofski J.; Easter R.A.; Jones R.W.; Dalrymple R.H.:** Response of finishing pigs treated with porcine somatotropin (pST) to hyperalimentation. *J. Anim. Sci.* 68(Suppl. 1):385 (Abstr.). 1990.

**Nicoll C.S.:** Comparative aspects of prolactin physiology: is prolactin the initial growth hormone in mammalian species also?. *Dev. Endocrinol.* 2:178-187. 1978.

**Nilsson L.; Sara V.R.; Nordberg A.:** Insulin-like growth factor I stimulates the release of acetylcholine from rat cortical slices. *Neurosci. Lett.* 88:221-226. 1988.

**Nir I.; Shapira N.; Nitsan Z.; Dror Y.:** Force-feeding effects on growth, carcass, and blood composition in the young chick. *Br. J. Nutr.* 32:229-239. 1974.

**Nixon B.T.; Green H.:** Growth hormone promotes the differentiation of myoblast and preadipocytes generated by azacytidine treatment of 10 T1/2 Cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81:3429-3432. 1984.

**Noblet J.; Herpin P.; Dubois S.:** Effect of recombinant porcine somatotropin on energy and protein utilization by growing pigs interaction with capacity for lean tissue growth. *J. Anim. Sci.* 70:2471-2484. 1992.

**Norton B.W.; Jagusch K.T.; Walker D.M.:** Body composition studies with milk-fed lamb. 3. Effect of protein and energy intake on composition of live-weight gain. *J. Agr. Sci. (Camb.)* 75:287-292. 1970.

**Norušis M.J.:** *SPSS/PC<sup>+</sup> Statistics Guide.* SPSS Inc. Chicago, IL. USA. 1986.

**Nowinski W.W.; Goss R.J.:** *Compensatory Renal Hypertrophy.* Academic Press. N.Y. USA. 1969

**Nutting D.F.:** Ontogeny of sensitivity to growth hormone in rat diaphragm muscle. *Endocrinology.* 98:1273-1283. 1976.

**Oltjen J.W.; Bywater A.C.; Baldwin R.L.:** Simulation of normal protein accretion in rats. *J. Nutr.* 115:45-52. 1985.

**Parizkova J.:** *Body Fat and Physical Fitness.* Nijhoff. The Hague. The Netherlands. 1977.

**Parks J.R.:** *A Theory of Feeding and Growth of Animals.* Springer-Verlag. N.Y. USA. 1982.

**Payne P.R.; Waterlow J.C.:** Relative energy requirements for maintenance, growth and physical activity. *Lancet.* 2:210-211. 1971.

**Pekas J.C.:** Animal growth during liberation from appetite suppression. *Growth*. 49:19-27. 1985.

**Pell J.M.; Bates P.C.:** Collagen and non-collagen protein turnover in skeletal muscle of growth hormone-treated lambs. *J. Endocrinol.* 115:R1. 1987.

**Pell J.M.; Elcock C.; Harding R.L.; Morrell D.J.; Simmonds A.D.; Wallis M.:** Growth, body composition, hormonal and metabolic status in lambs treated long-term with growth hormone. *Br. J. Nutr.* 63:431-445. 1990.

**Perdue J.F.:** Chemistry and function of somatomedin insulin-like growth factors and their receptors. *In vitro*. 19:268(Abstr.). 1983.

**Peters J.P.:** Consequences of accelerated gain and growth hormone administration for lipid metabolism in growing beef steers. *J. Nutr.* 116:2490-2503. 1986.

**Petrovic A.; Stutzmann J.:** Hormone somatotrope: Modalités d'action sur la croissance des diverses variétés de cartilage. *Path. Biol.* 28:43-58. 1980.

**Phillips A.F.; Persson B.; Hall K.; Lake M.; Skottner A.; Sanengen T.; Sara V.R.:** The effects of biosynthetic insulin-like growth factor I supplementation on somatic growth, maturation, and erythropoiesis on the neonatal rat. *Pediatr. Res.* 23:298-305. 1988.

**Phillips L.S.; Herington A.C.; Daughaday W.H.:** Hormone effects on somatomedin action and somatomedin generation. In: *Advances in Human Growth Hormone Research*. (Raiti S. ed.). pp. 50-67. DHEW Pub. n°(NIH). 74-612. DHEW. Washington DC. USA. 1974.

**Phillips L.S.; Vassilopoulou-Sellin R.:** Somatomedins. *New Engl. J. Med.* 302:371-380. 1980.

**Phrymes P.J.:** *Introductory Econometrics*. Springer-Verlag. NY. USA. 1978.

**Plotnick L.P.; Thompson R.G.; Beiting L; Blizzard R.M.:** Integrated concentration of growth hormone correlated with stage of puberty and estrogen level in girls. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38:436-440. 1974.

**Postel-Vinay M.C.; Corvol M.T.; Lang F.; Frand F.; Guyda H.; Posner B.:** Receptors for insulin-like growth factors in rabbit articular and growth plate chondrocytes in culture. *Exp. Cell Res.* 148:105-116. 1983.

**Prewitt T.E.A.; D'ercole A.J.; Switzer B.R.; Van Wyk J.J.:** Relationship of serum immunoreactive somatomedin-C to dietary protein and energy in growing rats. *J. Nutr.* 112:144-150. 1982.

**Priestley G.C.; Robertson S.M.:** Protein and nucleic acid metabolism in organs from mice selected for larger and smaller body size. *Genet. Res.(Camb.)* 22: 255-278. 1973.

**Pullar J.D.; Webster A.J.F.:** Heat loss and energy retention during growth in congenitally obese and lean rats. *Br. J. Nutr.* 31:377-392. 1974.

**Raben M.S.:** In: *Methods in Investigative and Diagnostic Endocrinology*. (Benson IH. Yalow RS. eds.). pp. 261. North Holland. Amsterdam. The Netherlands. 1973.

**Radcliffe J.D.; Webster A.J.F.:** Sex, body composition and regulation of food intake during growth in the Zucker rat. *Br. J. Nutr.* 39:483-492. 1978.

**Radcliffe J.D.; Webster A.J.F.:** The effect of varying the quality of dietary protein and energy on food intake and growth in the Zucker rat. *Br. J. Nutr.* 41:111-124. 1979.

**Reeds P.T.; Fiorotto M.L.:** Growth in perspective. *Proc. Nutr. Soc.* 49:411-420.1990

**Reid J.R.; Bensadoun A.; Bull L.S.; Burton J.H.; Gleeson P.A.; Han I.K.; Joo Y.D.; Johnson D.E.; McManus W.R.; Paladines O.L.; Stroud J.W.; Tyrell H.F.; Van Niekerk B.D.H.; Wellington G.W.:** Some peculiarities in the body composition of animals. In: *Body Composition in Animals and Man*. Natl. Acad. Sci. Pub. Washington DC. USA. 1968.

**Rerat A.; Henry Y.; Desmoulin B.:** Influence d'une restriction énergétique sur le besoin azoté de croissance du porc femelle. *Journées Rech. Porc. France* 3. 65-72. 1971.

**Rimoin D.L.; Merimée T.J.; McKusick V.A.:** Growth hormone deficiency in man: an isolated recessively inherited defect. *Science*. 152:1635-1637. 1966.

**Rivarola M.A.; Heinrich J.J.; Podesta E.J.; De Chwojnik M.F.; Bergada C.:** Testicular function in hypopituitarism. *Pediatr. Res.* 6:634-639. 1972.

**Robelin J.:** Chemical composition of male lambs from 1 to 16 weeks. *Ann. Zootech.* 26:69-81. 1977.

**Roberts C.T.Jr.; Brown A.L.; Graham D.E.; Seelig S.; Berry S.; Gabbay K.H.; Rechler M.M.:** Growth hormone regulates the abundance of insulin-like growth factor I RNA in adults rat liver. *J. Biol. Chem.* 261:10025-10028. 1986.

**Roberts C.T.Jr.; Lasky S.R.; Lowe W.L.Jr.; Seaman W.T.; Leroith D.:** Molecular cloning of rat insulin growth Factor I complementary deoxyribonucleic acids: differential messenger ribonucleic acid processing and regulation by growth hormone in extrahepatic tissue. *Mol. Endocrinol.* 1:243-248. 1987.

**Roberts R.C.:** Limits to artificial solution for body weight in the mouse. I. the limits attained in earlier experiments. *Genet. Res. (Camb.)*. 8:347-353. 1966.

**Roberts R.C.:** The growth of mice selected for large and small size in relation to food intake and the efficiency of conversion. *Genet. Res. (Camb.)*. 38:9-24. 1981.

**Robinson I.C.A.F.:** Generation and actions of growth hormone pulsatility. *Workshop on Neuroendocrinology of Growth*. Institute Juan March, Centre for International meetings on Biology. 1993.

**Rolland A.; Job J.C.:** Traitement du nanisme hypophysaire: faut il traiter le déficit des androgènes surrénaux ?. *Arch. Fr. Pédiatr.* 41:381-384. 1984.

**Rosebrough R.W.; McMurtry J.P.; Steele N.C.:** Protein energy relations in the broiler chicken. *Br. J. Nutr.* 61:223-233. 1989.

**Rosenfeld R.G.; Hintz R.L.; Johanson A.J.; Brasel J.A.; Burstein S.; Chernaussek S.D.; Clabots T.; Frane J.; Gotlin R.W.; Kuntze J.; Lippe B.M.; Mahoney P.C.; Moore W.V.; New M.L.; Saenger P.; Stoner E.; Sybert V.:** Methionil human growth hormone and oxandrolone in Turner syndrome: preliminary results of a prospective randomized trial. *J. Pediatr.* 109:936-941. 1986.

**Rothwell N.J.; Stock M.J.:** Effects of early overnutrition and undernutrition on metabolic response to overnutrition in later life. *J. Nutr.* 112:426-435. 1982.

**Roupas P.; Chou S.Y.; Towns R.J.; Kostyo J.L.:** Growth hormone inhibits activation of phosphatidylinositol phospholipase-C in adipose plasma membranes. Evidence for a growth hormone induced change in G-protein function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88:1691-1695. 1991.

**Rucklidge G.J.:** Differences in body compositions growth and food intakes between mice which have been selected for a small or large body size. *Br. J. Nutr.* 48:341-351. 1982.

**Rutledge J.J.; Robison O.W.; Eisen E.J.; Legates J.E.:** Dynamics of genetic and maternal effects in mice. *J. Anim. Sci.* 35:911-918. 1972.

**Rutter J.A.:** Conditions before slaughter. *Vet. Rec.* 102:489-490. 1978.

**Sæz J.M.; Morere A.M.; Gallet D.:** Opposite effects of ACTH and glucocorticoids on adrenal DNA synthesis in vivo. *Endocrinology.* 100:1268-1275. 1977.

**Salmon R.K.; Bailey D.R.C.; Weingardt R.; Berg R.T.:** Growth efficiency in mice selected for increased body weight. *Can. J. Anim. Sci.* 70:371-381. 1990.

**Sandles L.D.; Peel C.J.:** Growth and carcass composition of pre-puberal dairy heifers treated with bovine growth hormone. *Anim. Prod.* 44:21-26. 1987.

**Sands J.; Dobbing J.; Gratrix C.:** Cell number and cell size organ growth and development and the control of catch-up growth in rats. *Lancet.* 2:503-506. 1979.

**Sanz R.D.; Wolff J.E.:** Effect of  $\beta$ -agonist, cimaterol on growth, body composition and energy expenditure in rats. *Br. J. Nutr.* 60: 84-90. 1988.

**Sara V.R.; Hall K.:** Insulin-like growth factors and them binding protein. *Physiol. Rev.* 70: 591-613. 1970.

**SAS.:** *Statistical Analysis System. GLM procedure. User's Guide.* Version 6, 4<sup>th</sup> Ed. SAS Institute Inc. Cary, N.C. USA. 1990.

**Scammon R.E.:** The measurement of the body in childhood. In: *The Measurement of Man.* (Morris, Jackson, Peterson, Scammon eds.). University of Minnesota Press. Duluth. USA. 1930.

**Scheiwiller E.; Guler H.P.; Merryweather J.:** Growth restoration of insulin-deficient diabetic rats by recombinant human insulin-like growth factor I. *Nature (Lond.)*. 323:169-171. 1986.

**Schemmel R.; Mickelsen O.; Tolgany Z.:** Dietary obesity in rats: influence of diet, weight, age and sex on body composition. *Am. J. Physiol.* 216:373-379. 1969.

**Schmid C.; Steiner T.; Froesch E.R.:** Preferential enhancement of myoblast differentiation by insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) in primary cultures of chicken embryonic cells. *FEBS Lett.* 161:117-121. 1983.

**Schmid C.; Steiner T.; Froesch E.R.:** Insulin-like growth factor I supports differentiation of cultured osteoblast-like cells. *FEBS Lett.* 173:48-52. 1984.

**Schoenle E.J.; Zapf J.; Hauri C.; Steiner T.; Froesch E.R.:** Comparison of in vivo effects of insulin-like growth factors I and II and of growth hormone in hypophysectomized rats. *Acta Endocrinol.* 108:167-174. 1985.

**Searle T.W.; Graham N.McC.; O'Callaghan M.:** Growth in sheep. 1. The chemical composition of the body. *J. Agr. Sci. (Camb.)* 79: 371-382. 1972.

**Searle T.W.; Griffiths D.A.:** Differences in body composition between three breeds of sheep. *Proc. Australian Soc. Anim. Prod.* 11:57-60. 1976.

**Searle T.W.; Graham N.McC.; Griffiths D.A.; Margan D.E.:** Longitudinal studies of body composition during growth in male, female and castrate male sheep of two breeds with different wool growing capabilities. *J. Agr. Sci. (Camb.)*. 110:239-247. 1988.

**Searle T.W.; Murray J.D.; Baker P.J.:** Effect of increased production of growth hormone on body composition in mice: transgenic versus control. *J. Endocrinol.* 132:285-291.1992.

**Shea B.T.; Hammer R.E.; Binster R.L.:** Growth allometry of the organs in giant transgenic mice. *Endocrinology*. 121:1924-1930. 1987.

**Shelley H.J.:** Carbohydrate metabolism in foetus and newly born. *Proc. Nutr. Soc.* 28:42-49. 1969.

**Sheng H.P.; Huggins R.A.:** Growth of beagle. Changes in chemical composition. *Growth*. 35:369-376. 1971.

**Siddiqui R.A.; Blair H.T.; McCutcheon S.N.; McKenzie D.D.; Gluckman P.D.; Breier B.H.:** Developmental patterns of plasma insulin-like growth factor I (IGF-I) and body growth in mice from lines divergently selected on the basis of plasma IGF-I. *J. Endocrinol.* 124:151-158. 1990.

**Silbermann M.; Kedar T.:** Observation on the growth of normal male mouse. *Acta Anat.* 98:253-256. 1977.

**Sillence M.N.; Etherton T.D.:** Cortisone arrests growth but enhances the inductive effect of porcine growth hormone on plasma IGF-I concentration in female rats. *J. Anim. Sci.* 69:2815-2821. 1991.

**Simard J.; Hubert J.F.; Huseinzadeh T.; Labrie F.:** Stimulation of growth hormone release and synthesis by estrogens in rat anterior pituitary cells in culture. *Endocrinology*. 119:2004-2011. 1986.

**Sizonenko P.C.:** Endocrinology in preadolescent and adolescents. 1. Hormonal changes during normal puberty. *Am. J. Dis. Child.* 132:704-712. 1978 a.

**Sizonenko P.C.:** Pre-adolescent and adolescent endocrinology-physiology and physiopathology 2. Hormonal changes during abnormal pubertal development. *Am. J. Dis Child.* 132:797-805. 1978 b.

**Skottner A.; Clark R.G.; Robinson L.C.; Fryklund L.:** Recombinant human insulin-like growth factor: testing the somatomedin hypothesis in hypophysectomized rats. *J. Endocrinol.* 112:123-132. 1987.

**Slater J.E.; Widdowson E.M.:** Skeletal development of suckling kittens with and without supplementary calcium phosphate. *Br. J. Nutr.* 16:39-48. 1962.

**Smith D.W.; Bierman E.L.:** *The biologic ages of man.* Saunders. Philadelphia. USA. 1973.

**Smith D.W.; Truog W.; Rogers J.E.; Greitzer L.J.; Skinner A.L.; McCann J.J.; Harvey M.S.:** Shifting linear growth during infancy. Illustration of genetic factors in growth from fetal life through infancy. *J. Pediatr.* 89:225-229. 1976.

**Smith P.J.; Wise L.S.; Berkowitz R.; Wan C.; Rubin C.S.:** Insulin-like growth factor I is an essential regulator of the differentiation of 3T3-L1 adipocytes. *J. Biol Chem.* 263:9402-9408. 1988.

**Smith V.G.; Kasson C.W.; Ash A.; Paulissen J.B.:** The relationship between CP concentrations and recombinant porcine somatotropin (rpST) on growth and carcass quality of pigs. *J. Anim. Sci.* 67(Suppl.1):165 (Abstr.). 1989.

**Smith V.G.; Kasson C.W.:** Growth performance and carcass characteristics of pigs administered recombinant porcine somatotropin during 30 to 110 kilogram live. *J. Anim. Sci.* 68:4109-4116. 1990.

**Smith V.G.; Kasson C.W.:** The interrelationship between crude protein and exogenous porcine somatotropin on growth, feed and carcass measurements of pigs. *J. Anim. Sci.* 69: 571-577. 1991.

**Southgate J.R.:** In: *Beef Production from Different Dairy Breeds and Dairy Beef Crosses*. (More GJ. O'Ferrall eds.). pp. 333-358. Martinus Nijhoff. The Hague. The Netherlands. 1982.

**Speck P.A.; Wynn P.C.; O'Grady J.; Hich G.N.:** Enhanced growth in oGH transgenic mice is not due to increased efficiency of feed utilization. *Proc. Nutr. Soc. Australia* 13:96-101. 1988.

**Spencer G.S.:** *Proceedings of a Colloquium on Somatomedins*. Bristol Somatomedin Club. UK. 1981.

**Spencer S.A.; Hull D.:** The effect of over-feeding newborn rabbits on somatic and visceral growth, body composition and long-term growth potential. *Br. J. Nutr.* 51:389-402. 1984.

**Spiliotis B.E.; August G.P.; Hung W.; Sonis W.; Mendelson W.; Bercu B.B.:** Growth hormone neurosecretory dysfunctions: a treatable cause of short stature. *JAMA*. 251:2223-2228. 1984.

**Spray C.M.; Widdowson E.M.:** The effect of growth and development on the composition of mammals. *Br. J. Nutr.* 4:332-353. 1950.

**Stanhope R.; Albanese A.; Hindmarsh P.; Brook C.G.D.:** The effects of growth hormone therapy on spontaneous sexual development. *Horm. Res.* 38(Suppl. 1):9-13. 1992.

**Stannier M.W.; Mount L.E.:** Growth rate, food intake and body composition before and after weaning in strains of mice selected for mature body-weight. *Br. J. Nutr.* 28:307-325. 1972.

**Statgraphics: User's Guide.** STSC. Rockville, Maryland. USA. 1986.

**Stephens D.N.:** Growth and the development of dietary obesity in adulthood of rats which have been undernourished during development. *Br. J. Nutr.* 44:215-227. 1980.

**Stewart R.A.; Lavigne D.M.:** Neonatal growth of northwest atlantic harp seals *Pagophilus grownlandicus*. *J. Mammal.* 61:670-680. 1980.

**Stewart R.A.; Washburn K.W.:** Variation in growth hormone, triiodothyronine (T<sub>3</sub>) and lipogenic enzyme activity in broiler strains differing in growth and fatness. *Growth.* 47:411-425. 1983.

**Stiles C.D.; Capone G.L.; Sher C.D.; Antoniadis H.N.; Van Wyk J.J.; Pledger W.J.:** Dual control of cell growth by somatomedin and platelet-derived growth factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76:1279-1283. 1979.

**Stutzmann J.; Petrovic A.:** Régulation intrinsèque de la vitesse de croissance du cartilage condrylien de la mandibule. *Path. Biol.* 28:9-16. 1980.

**Susanne C.; Hauspie Y.; Lepage M.; Vercauteren M.:** Nutrition and Growth. *Wld. Rev. Nutr. Diet.* 53:69-170. 1987.

**Sutherland T.M.; Biondini P.E.; Ward G.M.:** Selection for growth rate, feed efficiency and body composition in mice. *Genetics.* 78: 525-540. 1974.

**Tan M.H.; Sata T.; Havel R.J.:** Significance of lipoprotein-lipase in rat skeletal muscles. *J. Lipid Res.* 18:363-370. 1977.

**Tanner J.M.; Healy M.J.R.; Lockhart R.D.; McKenzie J.O.; Whitehouse R.H.:** Prediction of adult body measurements from measurement taken every year from birth to 5 years. *Arch. Dis. Child.* 31:372-384. 1956.

**Tanner J.M.:** *Growth at Adolescence.* 2<sup>th</sup> ed. Blackwell. Oxford. UK. 1962.

**Tanner J.M.:** Regulation of growth in size of animals. *Nature* 199:845. 1963.

**Tanner J.M.; Whitehouse R.H.; Takaishi M.:** Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity and weight velocity: British Children 1965. *Arch. Dis. Child.* 41:613-635. 1966.

**Tanner J.M.; Whitehouse R.H.; Hughes P.C.R.; Carter B.S.:** Relative importance of growth hormone and sex steroids for the growth at puberty of trunk length, limb length, and muscle width in growth-hormone deficient children. *J. Pediatr.* 89:1000-1010. 1976

**Tanner J.M.; Davies P.S.W.:** Clinical longitudinal standards for height and height velocity for North American children. *J. Pediatr.* 107:317-320. 1985.

**Terrettaz J; Assimacopoulos-Jeannet F.; Jeanrenaud B.:** Inhibition of hepatic glucose production by insulin in vivo in rats. Contribution of glycolysis. *Am. J. Physiol.* 250:E346-E351. 1986.

**Thompson A.M.; Billewicz W.Z.; Hytten F.E.:** The assessment of fetal growth. *J. Obstet. Gynaecol. Brit. Commonw.* 75:903-916. 1968.

**Thompson J.M.; Parks J.R.:** Food intake, growth and mature size in Australian Merino and Dorset Horn sheep. *Anim. Prod.* 36:471-479. 1983.

**Thompson J.M.; Parks J.R.:** Food intake, growth and body composition in Australian Merino sheep selected for high and low weaning weigh. III. Energy balance. *Anim. Prod.* 40:85-91. 1985.

**Thompson R.G.; Rodríguez A.; Kowarski A.; Migeon C.J.; Blizzard R.M.:** Integrated concentrations of growth hormone correlated with plasma testosterone and bone age in preadolescent and adolescent males. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 35:344-349. 1972.

- Thorbek G.:** Studies on energy metabolism in growing pigs. Beretn. Statens. Husdyrbrugs forsøg N° 424 p 159. København. 1975.
- Thomgren K.G.; Hansson L.I.:** Bioassay of growth hormone I determination of longitudinal bone growth with tetracycline in hypophysectomized rats. *Acta Endocrinol.* 75:653-668. 1974.
- Timon V.M.; Eisen E.J.:** Comparisons of *ad libitum* and restricted feeding of mice selected for preweaning and postweaning growth. *J. Anim. Sci.* 45:18-23. 1970.
- Toyomizu M.; Hayashi K.; Yamashita K.; Tomita Y.:** Response surface analysis of the effects of dietary protein on feeding and growth patterns in mice from weaning to maturity. *J. Nutr.* 118:86-92. 1988.
- Toyomizu M.:** Body protein and energy accretion in response to dietary protein level in mice from weaning to maturity. *J. Nutr.* 119:1028-1033. 1989.
- Trenkle A.:** Stimulates of the kinetic parameters of growth hormone metabolism in fed and fasted calves and sheep. *J. Anim. Sci.* 43: 1035-1043. 1976.
- Trenkle A.; Topel D.G.:** Relationships of some endocrine measurements to growth and carcass composition of cattle. *J. Anim. Sci.* 46:1604-1609. 1978.
- Truscott T.G.; Wood J.D.; McFie H.J.H.:** Fat deposition in Hereford and Friesian steers. 1. Body composition and partitioning of fat between depots. *J. Agr. Sci. (Camb.)* 100:257-270. 1983.
- Tulp O.L.; Krupp P.P.; Danforth E.jr.; Horton E.S.:** Characteristics of thyroid function in experimental protein-malnutrition. *J. Nutr.* 109:1321-1322. 1979.

**Tulloh N.M.:** The carcass compositions of sheep, cattle and pigs as functions of body weight. In: *Carcass Composition and Appraisal of Meat Animals*. pp 5-1. CSIRO. Melbourne. Australia. 1963.

**Turner J.C.:** *Modern Applied Mathematics Probability-Statistics-Operational Research*. The English Universities Press. London. UK. 1970.

**Turpin R.; Chassagne P.; Lefebvre J.:** La megalothymie prebutaire. Etude plain graphique du thymus au cours de la croissance. *Ann. Endocrinol.* 1:358-378. 1939.

**Vaisman N.; Zadik Z.; Shamai Y.; Franklin L.; Dukham R.:** Changes in body composition of patients with subnormal spontaneous secretion of growth hormone, during the first year of treatment with growth hormone. *Metabolism.* 41:483-486. 1992.

**Van Buul-Offers S.; Hoogerbrugge C.M.; Branger J.; Feijbrief M.; Van den Brande L.J.:** Growth-stimulating effects of somatomedin/insulin-like peptides in snell dwarf mice. *Horm. Res.* 29:229-236. 1988.

**Van Buul-Offers S.; Van den Brande L.J.:** The Snell dwarf mouse. General growth pattern before and during hormone thyroxine therapy. *Acta Endocrinol.* 89:632-645. 1989.

**Van den Brande L.J.; Van Buul-Offers S.; Ducaju M.V.L.; Price D.A.; Wiet J.M.; Bougers-Schokking O.:** In: *Somatomedins and Growth*. (Giordino G. Van Wyk JJ. Minuto F. eds.). p 255. Academic Press. London. UK. 1979.

**Van Es A.J.H.:** Maintenance. In: *Handbuch der Tierernahrung*. 2 Bd. pp 1-54. Parey. Hamburg. RFA. 1972.

**Vandermeers-Piret M.C.; Pokomi E.; Wodon C.; Christophe J.:** Retentissement d'une carence en lysine sur le foie du rat. *J. Arch. Int. Physiol. Biochem.* 72:703-705. 1964.

**Vanderschueren-Lodeweyckx M.; Van den Broeck J.; Walter R.; Malvaux P.:** Early initiation of growth hormone treatment: Influence on final height. *Acta Paediatr. Scand. Suppl.* 337:4-11. 1987.

**Vasilatos-Younken R.; Cravener T.L.; Cogburn L.A.; Mast M.G.; Wellenre R.H.:** Effect of pattern of administration on the response to exogenous, pituitary-derived chicken growth hormone by broiler-strain pullets. *Genet. C. Endocrinol.* 71:268-283. 1988 a.

**Vasilatos-Younken R.; Bacon W.L.; Nestor K.E.:** Relationship of plasma growth hormone to growth within and between turkey lines selected for differential growth rates. *Poultry Sci.* 67:826-834. 1988 b.

**Veldhuis J.D.; Rodgers R.J.; Dee A.; Simpson E.R.:** The insulin-like growth factor, somatomedin C, induces the synthesis of cholesterol side-chain cleavage cytochrome P-450 and adrenodoxin in ovarian cells. *J. Biol. Chem.* 261:2499-2502. 1986.

**Veldhuis J.D.; Iranmanesh A.; Ho K.L.; Waters M.J.; Johnson M.L.; Lizarralde A.:** Dual defects in pulsatile growth hormone secretion and clearance subserve the hyposomatotropin of obesity in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 72: 51-59. 1991.

**Vernon R.G.:** Effect of dietary safflower oil upon lipogenesis in neonatal lamb. *Lipids.* 10:284-289. 1975.

**Vernon R.G.:** Lipogenesis in sheep adipose tissue maintained in tissue culture; effects of insulin and growth hormone. *Biochem. Soc. Trans.* 6:988-990. 1978.

**Verstegen M.W.A.; Van der Hel W.; Henken A.M.; Huisman J.; Kanis E.; Van der Wal P.; Van Weerd E.J.:** Effect of exogenous porcine somatotropin administration on nitrogen and energy metabolism in 3 genotypes of pigs. *J. Anim. Sci.* 68:1008-1016. 1990.

**Von Bertalanffy L.:** Perspectives on General System Theory. In: *Scientific-Philosophical Studies*. George Braziller Inc. N.Y. USA. 1975.

**Von Bertalanffy L.:** *Teoría General de los Sistemas*. pp 54-91. Fondo de Cultura Económica. Madrid. 1976.

**Von Puttkamer K.; Bierich J.R.; Brugger F.:** Östrogentherapie bei Mädchen mit Konstitutionellem Hochwuchs. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 102:983-988. 1977.

**Wagner J.F.; Veenhuizen E.L.:** Growth performance, carcass composition and plasma hormone levels in wether lambs when treated with growth hormone and thyroprotein. *J. Anim. Sci.* 47(Suppl. 1): 397 (Abstr.). 1978.

**Walker D.G.; Simpson M.E.; Asling C.W.; Evans H.M.:** Growth and differentiation in the rat following hypophysectomy at 6 days of age. *Anat. Rec.* 106:539-554. 1950.

**Walker D.M.; Norton B.W.:** Nitrogen balance studies with milk-fed lamb. 9. Energy and protein requirements for maintenance, live-weight gain and wool growth. *Br. J. Nutr.* 26:15-21. 1971.

**Walker D.M.:** Calcium and phosphorus retention by milk-fed lamb with estimates of endogenous losses. *J. Agr. Sci. (Camb.)* 79:171-179. 1972.

**Walks D.; Lavau M.; Preston E.; Yang M.V.; Bjorntor P.:** Refeeding after fasting in the rat. Effects of dietary-induced obesity on energy balance regulation. *Am. J. Clin. Nutr.* 37:387-395. 1983.

**Walton A.; Hammond J.:** The maternal effects of growth and conformation in shire-horse-Shetland pony crosses. *Proc. R. Soc (Lond.)*. B125:311-335. 1938.

**Walton P.E.; Etherton T.O.; Chung C.S.:** Exogenous pituitary and recombinant growth hormone induce insulin and IGF-I resistance in pig adipose tissue. *Domest. Anim. Endocrinol.* 4: 183-194. 1987.

**Walton P.E.; Etherton T.D.:** Effects of porcine growth hormone and insulin-like growth factor (IGF-I) on immunoreactive IGF-binding protein concentration in pigs. *J. Endocrinol.* 120:153-160. 1989.

**Wallace T.D.; Silver J.L.:** *Econometrics, an Introduction.* Addison-Wesley Publishing. Massachusetts. USA. 1988.

**Wallis M.; Daniels M.:** Actions of growth hormone and thyroxine on protein synthesis in the hypopituitary dwarf mouse. *J. Endocrinol.* 87:P54-P55. 1980.

**Walls E.K.; Koopmans M.S.:** Effect of intravenous nutrient infusions on food-intake in rats. *Physiol. Behav.* 45:1223-1226. 1989.

**Webster A.S.F.:** Selection for leanness and energetic efficiency of growth in meat animals. *Proc. Nutr. Soc.* 36:53-59. 1972.

**Webster A.S.F.:** Factors affecting the body composition of growing and adult animals. *Proc. Nutr. Soc.* 45:45-53. 1986.

**Weeler E.; Tan S.P.:** Trends in the growth of ethnic chinese children living in London. *Ann. Hum. Biol.* 10:441-447. 1983.

**Weidmann S.M.; Rogers H.J.:** Studies on the skeletal tissues. 5. Influence of age upon the degree of calcification and the incorporation of P32 in bone. *Biochem. J.* 69:338-343. 1958.

**Weinstein R.L.; Kelch R.P.; Jenner M.R.; Kaplan S.L.; Grumbach M.M.:** Secretion of unconjugated androgens and estrogens by the normal and abnormal human testes before and after human chorionic gonadotropin. *J. Clin. Invest.* 53:1-11. 1974.

**Weiss P.; Kavanan J.L.:** A model of growth and growth control in mathematical terms. *J. Genet. Physiol.* 41: 1-8. 1957.

**Whittemore C.T.:** Causes of variation in the body composition of growing pigs. *Proc.Nutr. Soc.* 45:111-117. 1986.

**Whittemore C.T.; Tullis J.B.; Emmans G.C.:** Protein-growth in pigs. *Anim. Prod.* 46:437-445. 1988.

**Widdowson E.M.:** Chemical composition of newly born mammals. *Nature.* 166:626-628. 1950.

**Widdowson E.M.; McCance R.A.:** Physiological undernutrition in the newborn guinea-pig. *Br. J. Nutr.* 9:316-321. 1955.

**Widdowson E.M.; McCance R.A.:** Some effects of accelerating growth. I. General somatic development. *Proc. Royal Soc.* B152:188-206. 1960.

**Widdowson E.M.; Dickerson J.N.T.:** In: *Mineral Metabolism: an Advanced Treatise. Vol. II part A.* (Lomar CL. Bronner F. eds.). pp. 2-247. Academic Press. N.Y. USA. 1964.

**Widdowson E.M.; Crabb D.; Millner R.D.G.:** Cellular development of some human organs before birth. *Arch. Dis. Child.* 47:652-660. 1972.

**Widdowson E.M.:** Immediate and long term consequences of being large or small at birth: a comparative approach in size at birth. *Foundations Symposium 27* (New Series) (Elliot K. Knight J. eds.). p 65-76. Ciba-Elsevier. Amsterdam. The Netherlands. 1974 a.

**Widdowson E.M.:** Feeding the newborn: comparative problems in man and animals. *Proc. Nutr. Soc.* 33:97-102. 1974 b.

**Widdowson E.M.; McCance R.A.:** New thoughts on growth. *Pediatr. Res.* 9:154-159. 1975.

**Widdowson E.M.; Crabb D.E.:** Changes in the organs of pigs in response to feeding for the first 24 hours after birth. 1. The internal organs and muscles. *Biol. Neonat.* 28:261-271. 1976.

**Widdowson E.M.:** Definitions of Growth. In: *Growth in Animals*. (Lawrence TLJ. ed.). pp. 1-6 Butterworths. London. UK. 1980.

**Widdowson E.M.:** Nutrition. In: *Scientific Foundations of Paediatrics*. (Dobbing D. ed.). Heinemann. London. UK. 1981.

**Widdowson E.M.:** Growth and body composition in childhood. In: *Clinical Nutrition of the Young Child*. (Brunsen, Carraza, Gracey, Nichols, Senterre eds.). pp. 1-14. Raven Press. N.Y. USA. 1985.

**Wilson P.N.; Osbourn D.F.:** Compensatory growth after undernutrition in mammals and birds. *Biol. Rev.* 35:324-363. 1960.

**Wingard J.; Solomon I.L.; Schoen E.J.:** Parent-specific height standards for preadolescent children of three racial groups. *Pediatrics.* 52:555-563. 1973

**Winick M.; Noble A.:** Quantitative changes in DNA, RNA and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. *Dev. Biol.* 12:451-466. 1965.

**Winick M.:** Fetal malnutrition and growth process. *Hosp. Pract.* 34:33-42. 1970.

**Winick M.:** Nutrition growth and development. In: *The Year in Metabolism.* (Freinkel N. ed.), p 179. Plenum Press, N.Y. USA. 1977.

**Wise D.F.; Kensinger R.S.; Harpster H.W.; Schricker B.R.; Carbaugh D.E.:** Growth performance and carcass merit of lambs treated with growth hormone releasing factor (GRF) or somatotropin (ST). *J. Anim. Sci.* 66(Suppl. 1):275(Abstr.). 1988.

**Yamada K.; Ohta M.; Yoshimura K.; Hasekura H.:** A possible association of Y chromosome heterochromatin with stature. *Hum. Genet.* 58:268-270. 1981.

**Yorek M.A.; Dunlap J.A.; Ginsberg B.H.:** Amino acid and putative neurotransmitter transport in human Y79 retinoblastoma cells. *J. Biol. Chem.* 262:10986-10993. 1987.

**Young R.W.; Bok D.:** Participation of the retinal pigment epithelium in the rod outer segment renewal process. *J. Cell. Biol.* 42:392-396. 1962.

**Zachmann M.:** The evaluation of testicular endocrine function before and in puberty. *Acta Endocrinol. (Copenhagen).* (Suppl.). 164:1-6. 1972.

**Zachmann M.:** Interrelations between growth hormone and sex hormones. Physiology and therapeutic consequences. *Horm. Res.* 38(Suppl. 1):1-8. 1992.

**Zadik Z.; Chalew S.A.; McCarter R.J.; Meistas M.; Kowarski A.A.:** The influence of age on the twenty four-hour integrated concentration of growth hormone in normal individuals. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 60: 513-515. 1985.

Заика В.Е.; Макарова Н.П.: Связь аллометрии метаболизма и роста организмов с относительной массой малоактивных структур. *Зоологический журнал*. 68:1-3. 1989.

(**Zaika V.E.; Makarova N.P.:** Relación entre metabolismo y alometría de crecimiento y peso relativo de estructuras poco activas metabólicamente. *Zoologicheskii Zhurnal*. 68:1-3. 1989.)

**Zapf J.; Morell B.; Walter H.; Laron Z.; Froesch E.R.:** Serum levels of insulin-like growth factor (IGF) and its carrier protein in various metabolic disorders. *Acta Endocrinol.* 95: 505-519. 1980.

**Zapf J.; Haury C.; Waldvogel M.; Froesch E.R.:** Acute metabolic effects and half-lives of intravenously administered insulin-like growth factors I and II in normal and hypophysectomized rats. *J. Clin. Invest.* 77: 1768-1775. 1986.

**Zucker T.F.; Zucker L.M.:** Fat accretion and growth in the rat. *J. Nutr.* 80:6-19. 1963.

## ABREVIATURAS

CA:	Cenizas Absolutas
CR:	Cenizas Relativas
EA:	Eficacia Alimentaria diaria
EAG:	Eficacia Alimentaria Global
EAPG:	Eficacia Alimentaria Proteica Global
G/P:	Relación Grasa/Proteína
G/H:	Relación Grasa/Humedad
GA:	Grasa Absoluta
GR:	Grasa Relativa
HA:	Humedad Absoluta
HR:	Humedad Relativa
IE:	Ingesta Energética diaria
IEG:	Ingesta Energética Global
INGCG:	Incremento Graso Corporal Global
INPCG:	Incremento Proteico Corporal Global
IP:	Ingesta Proteica diaria
IPG:	Ingesta Proteica Global
IT:	Ingesta Total diaria
P/H:	Relación Proteína/Humedad
P/C:	Relación Proteína/Cenizas
PA:	Proteína Absoluta
PCF:	Peso Corporal Final
PCMF:	Peso Corporal Magro Final
PR:	Proteína Relativa
VAC:	Velocidad Absoluta de Crecimiento
VAGG:	Velocidad de Acreción Grasa Global
VAPG:	Velocidad de Acreción Proteica Global
VFC:	Velocidad Fraccional de Crecimiento

Presidente:  
Dr. Alfonso Araujo

Vocales:  
Dr. Diego Fuenlabrada  
Dr. Fernando Paredes  
Dr. Gerardo Paredes - HP

Secretario:  
Dr. Diego Paredes

Reunido, en el día de hoy, el Tribunal que al  
presente se expresa, para juzgar esta tesis doctoral,  
con el voto Unanimitad calificaria  
de Apto con lauds  
Madrid, 24 de Febrero de 1924

El Secretario del Tribunal:  
