

***Efecto del retardo prenatal de crecimiento sobre el crecimiento postnatal de ratas. Influencia de las hormonas de crecimiento y sexuales***

***Lic. Fabián Aníbal Quintero***

***DIRECCIÓN: Dra. Evelia Edith Oyhenart***

***CODIRECCIÓN: Dr. Luis Manuel Guimarey***

***Facultad de Ciencias Naturales y Museo  
Universidad Nacional de La Plata***

***- 2008-***

Agradecimientos:

A Evelia Oyhenart, por su sabia paciencia y su dedicación.

A Luis Guimarey, por su confianza y optimismo.

A Luis Castro, siempre dispuesto a ayudar y enseñar.

## RESUMEN

El crecimiento intrauterino es un proceso dinámico que se encuentra condicionado tanto por factores genéticos como ambientales (epigenéticos). Si bien durante los primeros estadios de la vida embrionaria priman los primeros, estos comienzan rápidamente a ser condicionados por los segundos, principalmente a partir de la implantación de la placenta. Cuando el crecimiento intrauterino se encuentra restringido, una de las consecuencias es el retardo prenatal de crecimiento (RPC), término genérico que engloba a todos los recién nacidos cuyo peso o longitud se encuentra por debajo del percentilo 10 para su edad gestacional. Un tercio de estos casos están determinados por factores genéticos y dos tercios por factores ambientales, siendo la insuficiencia uteroplacentaria la de mayor prevalencia. Es además una de las causas más frecuentes de morbi-mortalidad perinatal y se ha asociado en la vida postnatal con baja talla adulta, modificación de proporciones corporales y alteraciones metabólicas con gravedad dependiente del sexo.

Los organismos con RPC pueden recuperar su tamaño corporal a través de un período de aceleración del crecimiento (crecimiento compensatorio). Sin embargo este mecanismo puede limitarse cuando el factor que provocó el retraso en el crecimiento, por ejemplo la desnutrición, opera durante la gestación y lactancia. El crecimiento compensatorio de los niños con RPC es escasamente predecible y aproximadamente entre el 10 y 30% no presentan crecimiento compensatorio postnatal, resultando en adultos con talla baja.

La terapia con GH es considerada como un tratamiento eficaz para normalizar la talla baja en niños nacidos pequeños para su edad gestacional, sin embargo no es seguro que la misma restaure la alometría normal de crecimiento. Sumado a esto, el papel de los esteroides sexuales en el control sistémico del crecimiento es controvertido. Parte de la actividad de la GH se encuentra íntimamente vinculada a las hormonas sexuales. No se cuenta aún con información suficiente sobre la acción de la GH y su relación con las hormonas sexuales (andrógenos y estrógenos) frente al retardo prenatal del crecimiento y su eventual recuperación. Consecuentemente, se hace necesario efectuar investigaciones longitudinales controladas que permitan obtenerla.

El presente trabajo pone a prueba la hipótesis de nulidad: *La recuperación del crecimiento postnatal en individuos con retardo prenatal del crecimiento no es mediada por las hormonas de crecimiento y sexuales.* Su rechazo conducirá a la necesidad de

evaluar la acción específica de dichas hormonas en el proceso de diferenciación ponderal y morfológica.

El objetivo general es *analizar el crecimiento postnatal ponderal y esquelético y la maduración ósea de ratas con retardo prenatal del crecimiento y las modificaciones inducidas por tratamientos hormonales específicos (hormona de crecimiento y hormonas sexuales)*. Los objetivos específicos consisten en determinar: 1) los cambios del crecimiento ponderal y esquelético craneofacial, axial y apendicular ocurridos durante el período de lactancia y postlactancia en ratas normonutridas sometidas experimentalmente a RPC, 2) los mecanismos actuantes en el RPC y su recuperación postnatal y 3) la acción de las hormonas de crecimiento y sexuales sobre el crecimiento y la maduración ósea postnatal en substrato de RPC.

El objetivo específico 1) muestra el patrón de crecimiento postnatal control y RPC. El 2) permite evaluar la presencia o ausencia de un crecimiento compensatorio en RPC y por último el objetivo 3) es indicador de la acción específica que ejercen las hormonas de crecimiento y sexuales (andrógenos y estrógenos) en la modulación del crecimiento y la maduración postnatal luego del efecto del RPC.

La muestra se integró con Ratas “Wistar” endocruzadas del bioterio del Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA), que fueron colocadas en apareo. El inicio de la preñez se determinó por la presencia de espermatozoides en el examen exfoliativo vaginal. Las hembras preñadas fueron separadas en cajas individuales, recibiendo dieta “stock” y agua ad libitum. Las crías constituyeron los siguientes grupos experimentales:

- Control (machos y hembras): Animales sin tratamiento quirúrgico u hormonal.
- RPC (machos y hembras): Animales a cuyas madres se les realizó obstrucción parcial de las arterias uterinas el día 14 de gestación, mediante laparotomía abdominal bajo anestesia, con retracción de ambos cuernos uterinos y ligamiento simple con compresión parcial en el extremo inferior de cada arteria. Los cuernos uterinos fueron vueltos a la cavidad abdominal y se procedió a suturar por planos.

Al nacimiento, las crías con RPC fueron aleatoriamente subdivididas en los siguientes subgrupos: 1) RPC: animales con retardo prenatal de crecimiento sin tratamiento hormonal y/o quirúrgico, 2) RPC+GH: Animales con retardo prenatal de crecimiento e inyectados subcutáneamente con GH (Genotropin®) en dosis de 3.0 mg/kg/día partir de los 21 y hasta los 60 días de edad, 3) RPC+Ca: crías orquidectomizadas y ooforectomizadas, 4) RPC+Ca+GH: crías orquidectomizadas y

ooforectomizadas, tratadas con GH, 5) RPC+Te: crías machos tratadas con testosterona (Testoviron Depot®, Schering) en dosis de 0.01mg/g/día y 6) RPC+Es: crías hembras tratadas con estradiol (Progynon Depot, Schering) en dosis de 0.001mg/g/día.

Todos los animales recibieron dieta “stock” ad libitum y semanalmente se registró el peso y el consumo alimentario. Se obtuvieron placas radiográficas a los 1, 21, 42, 63 y 84 días de edad, en las cuales se midieron longitud, ancho y altura del neuro y del esplacnocráneo, longitud de la columna vertebral, longitud pélvica, anchos pélvico superior, medio e inferior, ancho y longitud humeral, femoral y tibial. Para el análisis de maduración ósea se evaluó longitudinalmente (a los 1, 21, 42, 63 y 84 días de edad) el espesor del cartílago tibial sobre cada Rx, asumiendo tres niveles diferentes de madurez ósea. Los datos métricos fueron analizados por prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov Smirnov, análisis de la varianza, prueba de rango múltiple, diferencia mínima significativa, correlación simple y múltiple, análisis discriminante y análisis de componentes principales. Los datos de maduración ósea fueron analizados por el método de  $\chi^2$  y correlación de Spearman.

Los resultados obtenidos permiten concluir que la disminución del flujo sanguíneo materno-fetal en el último tercio de la gestación modifica, al nacimiento, el crecimiento ponderal, craneofacial, axial y apendicular. Los cambios producidos conducen a retardo prenatal de crecimiento como consecuencia en la reducción diferencial de las dimensiones óseas –modificación en el crecimiento alométrico-, presentando además, variabilidad de acuerdo al sexo –modificación del dimorfismo-.

El impacto de las adaptaciones fetales a un ambiente uterino desfavorable resulta crítico tanto en las respuestas inmediatas como en aquellas que perduran o se manifiestan a largo plazo. De esta forma, el retardo del crecimiento ponderal persiste en los machos hasta la edad adulta, mientras que las hembras presentan crecimiento compensatorio incompleto. A nivel craneofacial, las modificaciones en el crecimiento también se manifiestan sexualmente diferentes, puesto que el retardo continúa en las hembras hasta la adultez y en los machos hay recuperación parcial a nivel del esplacnocráneo a partir de los 42 días de edad.

Los cambios observados en el crecimiento alométrico, sin asociación con modificaciones madurativas óseas, evidencian que la rehabilitación nutricional durante la lactancia y postlactancia es insuficiente para revertir los efectos de la reducción del flujo sanguíneo uteroplacentario sobre el crecimiento fetal.

La acción específica que ejerce la hormona de crecimiento en la modulación del crecimiento postnatal luego del efecto del RPC indica que existe: a)- respuesta dimórfica a la terapia con GH en animales con RPC respecto a la ganancia de peso corporal siendo escasa o nula en machos y efectiva en hembras, b)- recuperación del tamaño y la forma corporal con crecimiento compensatorio armónico y completo en hembras (como consecuencia de la aceleración en la maduración ósea) e incompleto en machos, c)- crecimiento diferencial en ambos componentes mayores: recuperación en el neurocráneo y respuesta en mosaico en el esplacnocráneo y d)- crecimiento postcraneano compensatorio, completo en hembras e incompleto en machos.

Las hormonas sexuales presentan acción modular sobre el crecimiento, la cual es dependiente a la naturaleza androgénica o estrogénica y a su vez diferente a la producida por GH. La testosterona en machos con RPC provoca modificación alométrica por efecto de la estimulación diferencial del crecimiento sobre los huesos largos. El estradiol en hembras RPC induce inhibición armónica del crecimiento, afectando el tamaño final y no la forma. Ambas hormonas y en ambos sexos, inducen aceleración madurativa, siendo en hembras mayor que en machos.

La ausencia de testosterona afecta severamente el crecimiento en los machos con impacto inhibitorio diferencial sobre variables craneanas y postcraneanas. La ausencia de estrógenos en hembras, por el contrario, estimula el crecimiento de la mayoría de las variables craneanas y algunas dimensiones de los huesos largos como el ancho femoral y las longitudes humeral y tibial.

Se observa programación temprana por exposición a las hormonas sexuales, principalmente la testosterona, con efecto sobre el eje somatotrópico por cuanto su ausencia inhibe la ganancia de peso corporal de modo tal que la administración de GH no permite lograr crecimiento compensatorio. Contrariamente, la ausencia de estrógenos en hembras, promueve el catch-up en peso corporal. Este crecimiento compensatorio comienza tempranamente en presencia de GH, pero su efecto se anula una vez que el tratamiento ha finalizado.

Los animales castrados con o sin terapia de GH consumen relativamente más alimento, sugiriendo la ausencia de un efecto anabólico de las hormonas esteroides en este modelo.

Los resultados hallados se encuentran en concordancia con la hipótesis de estimulación del cartílago de crecimiento por aromatización periférica a estradiol, el “paradigma de Utah”, la hipótesis del origen fetal o “hipótesis de Barker” con efecto

tardío diferencial en los sexos y el postulado de Tanner de la mejor canalización femenina, mostrando la importancia de la perspectiva epigenética en la comprensión de los procesos adaptativos.

## SUMMARY

Intrauterine growth is a dynamic process that is affected by the genetic program as well as by environmental conditions (eschatogenetics). Even though during the first stages of embryonic life the former dominates the genetic input soon begins to be conditioned by the latter, mainly from the beginning of placental implantation. When intrauterine growth becomes restricted, one of the more extreme consequences is the slowing of prenatal growth: thus, intrauterine-growth retardation (IUGR) is a generic term that encompasses all those neonates whose weight or length is found to be below its percentile for their particular gestational age. A third of these cases of IUGR result from genetic determinants, while the remaining two-thirds arise from the influence of environmental circumstances, with the uteroplacental insufficiency being of the greatest prevalence. In addition, these extragenetic influences are one of the most frequent causes of perinatal morbidity-mortality and have been correlated with a low height in adults as well—with these modifications in body proportions and metabolic alterations occurring with a severity depending on sex.

Organisms affected by IUGR can, however, recover their normal body size through a period of growth acceleration, referred to as compensatory growth. Nevertheless, this recovery mechanism can be limited when the influence that provoked the growth retardation (*e. g.*, undernourishment) operated during both gestation and lactation. In the last analysis, compensatory growth in such children is scarcely predictable, so that in approximately 10 – 30% of the cases this postnatal response does not occur, and they thus develop into adults of short stature.

Although postnatal therapy with somatotropin, or growth hormone (GH), is considered an effective treatment for normalizing the low stature in children born undersize for their gestational age, nevertheless this intervention provides no guarantee of restoring normal growth halometry. In addition to these considerations, the role of sex steroids in the systemic control of growth is debatable. Although part of the action of GH is closely involved with the activity of the sex hormones (*i. e.*, androgens and estrogens), no information is as yet available concerning the action of GH and its relationship to the sex hormones within the context of IUGR and subsequent compensatory growth. As a consequence, controlled longitudinal investigations are needed to elucidate this issue.

The present work puts to the test the following null hypothesis: *Postnatal compensatory growth in individuals with IUGR is not mediated by GH or sex hormones.*

The general objective is: *to analyze postnatal growth in terms of body weight, skeletal size, and bone maturation in rats with IUGR and look for modifications in these parameters induced by treatment with specific hormones—namely, GH, androgens, or estrogens.* The specific objectives consist in determining: (1) the changes in body-weight and skeletal (craneofacial, axial, appendicular) growth occurring during lactation and postlactation in normonourished rats submitted experimentally to IUGR, (2) the mechanisms operating in IUGR and its postnatal recovery, and (3) the effect of GH and the sex hormones on postnatal growth and bone maturation within the experimental context of IUGR.

The first specific objective, (1), shows the pattern of postnatal growth in the control and IUGR animals; the second, (2), permits an evaluation of the presence or absence of compensatory growth in the rats with IUGR; while the final one, (3), is an indicator of the specific action exerted by GH and the sex hormones in modifying postnatal growth and maturation after the effects of IUGR have taken place.

The experimental animals—Wistar-strain rats inbred in the vivarium of the Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA)—were caged in male-female pairs. The initiation of pregnancy was determined by the presence of spermatozoa in a vaginal smear. The pregnant females were then separated into individual cages and given access to standard rat chow and water *ad libitum*. The litters consisted in the following experimental groups:

Controls (males and females): animals without surgical or hormonal treatment.

IUGR (males and females): animals whose mothers received a partial obstruction of the uterine arteries on day 14 of gestation after laparotomy under anesthesia—involving withdrawal of both branches of the uterus, simple ligation by partial compression of the lower end of each artery, return of the branches to the abdominal cavity, and suturing-up of the incision by planes.

Upon birth, the litters with IUGR were randomly divided into the following subgroups:

(1) IUGR: IUGR animals without hormonal and/or surgical treatment

(2) IUGR + GH: IUGR animals injected s. c. with GH (Genotropin®) at 3 mg/g/day from 21 to 60 days of age

(3) IUGR + Csn: IUGR- animals orchietomized and oophorectomized

(4) IUGR + Csn + GH: IUGR- animals orchietomized and oophorectomized. Both sexes treated with GH.

(5) IUGR + TTN: IUGR- male animals treated with testosterone (Testoviron Depot®, Schering) at 0.01 mg/g/day from 21 to 60 days of age

(6) IUGR + ESD: IUGR- female animals treated with estradiol (Progynon Depot®, Schering) at 0.001 mg/g/day |from 21 to 60 days of age

All animals received standard rat chow *ad libitum* and were weighed and their food consumption monitored weekly. Radiographs were obtained at 1, 21, 42, 63, and 84 days of age, in which images the dimensions of the following bones were measured: the length, width, and height of the neuro- and splanchnocranium; the length of the vertebral column; the pelvic length and upper, middle, and lower pelvic width; and the lengths of the humerus, femur, and tibia. For the analysis of bone maturation, the thickness of the tibial cartilage was evaluated longitudinally (at 1, 21, 42, 63, and 84 days of age) on each radiogram, assuming three different levels of bone maturity. The measurement data were analyzed by the Kolmogorov Smirnov test; analysis of variance; the multiple-range, minimal-significant-difference, and simple- and multiple-correlation tests; discriminant analysis; and principal-component analysis. The data on bone maturation were analyzed by the Chi method and the Spearman correlation.

The results obtained show that the reduction in maternal-fetal blood flow introduced during the last trimester of gestation modified, at birth, the body-weight and skeletal (craneofacial, axial, appendicular) growth of the offspring. The changes produced cause IUGR as determined by the differential reduction of the bone dimensions—allometric growth modification—and the variability between sexes—modification in dimorphism.

The impact of the fetal adaptations to an unfavorable uterine environment prove to be critical not only in the immediate responses but also in the changes that either continue or become manifest in the long term. Thus, the retardation in body-weight gain persists in the males up to adulthood, while the females evince an incomplete compensatory growth. With respect to craneofacial characteristics, the growth modifications also manifested sex-related differences, given that the retardation continued in the females up to adulthood, while in the males there occurred a partial recovery at the level of the splanchnocranium from 42 days of age on.

The changes observed in allometric growth, without accompanying modifications in bone maturation, demonstrated that nutritional rehabilitation during lactation and postlactation is insufficient to reverse the effects of the previous reduction in uteroplacental blood flow on fetal growth.

The specific action that GH exerts in modulating postnatal growth after the effect of IUGR indicates that there exists: (a) a dimorphic response to GH therapy in animals with IUGR with respect to body-weight gain, with the effect being little or none in males but appreciable in females; (b) a recovery of body size and shape through compensatory growth that is symmetrical and complete in females (as a result of an acceleration in bone maturation), but incomplete in males; (c) a differential growth in both major cranial components—a recovery in the neurocranium, but a mosaic response in the splanchnocranium; and (d) compensatory postcranial growth that is complete in females, but incomplete in males.

The sex hormones exhibit a modulatory action on growth that is androgen- or estrogen-dependent and also different from the effect produced by GH. In males with IUGR testosterone evoked an allometric modification through a differential growth stimulation of the long bones; while in females with IUGR estradiol induced a symmetrical growth inhibition, affecting final body size but not the shape. Both hormones in both sexes caused a maturational acceleration, with this effect being greater in females than in males.

The absence of testosterone severely affected growth in the males, with a differential inhibitory impact being manifest with respect to the cranial and postcranial variables. The absence of estrogens in females, by contrast, stimulated growth with respect to the majority of the cranial variables and certain dimensions of the long bones, such as the width of the femur and the lengths of the humerus and tibia.

An early programming is observed upon exposure to the sex hormones, and principally to testosterone, with respect to its effect on the somatotrophic axis in that its absence inhibits the gain in body weight in the same way that the administration of GH does not permit the occurrence of compensatory growth. By contrast, the absence of estrogens in females facilitates this growth recovery in them. Compensatory growth begins early on in the presence of GH, but its effect becomes nullified once the treatment is concluded.

The castrated animals either with or without GH therapy consume more food than the intact rats, suggesting the absence of an anabolic effect of the steroid hormones in this experimental model. The observed results would be in agreement with the theory of a stimulation of cartilaginous growth through the peripheral aromatization of testosterone to estradiol, the "Utah paradigm"; with the so-called "hypothesis of fetal origin", or "Baker's hypothesis", showing a late differential effect on the sexes; and with Tanner's postulate of "feminine buffering", demonstrating the importance of an epigenetic perspective in the understanding of adaptive processes.

# ÍNDICE GENERAL

## Capítulo I INTRODUCCIÓN

1. CRECIMIENTO	1
1.1. Introducción	1
1.2 Crecimiento Prenatal	3
1.2.1 Hormona de crecimiento	4
1.2.2. Influencia de la Hormonal de crecimiento en el crecimiento fetal	5
1.2.3. Factores de Crecimiento de tipo Insulínico (IGF)	7
1.2.4. Interrelación entre GH e IGFI	8
1.2.5. Interacción entre GH y hormonas sexuales	10
1.3. Retardo Prenatal de Crecimiento	13
1.4. Crecimiento compensatorio	16
1.5. Tratamiento del Retardo Prenatal de Crecimiento con Hormona de Crecimiento	19
2. MÉTODO EXPERIMENTAL	20
2.1. Introducción	20
2.2. Modelo experimental de RPC	22
3. OBJETIVOS	30
3.1. Objetivo General	30
3.2. Objetivos Específicos	30

## Capítulo II MATERIAL Y METODOS

1. CUIDADOS Y MANTENIMIENTO DEL BIOTERIO	32
--	----

2. DESARROLLO DEL EXPERIMENTO	36
3. OBTENCIÓN DE LOS DATOS	40
3.1. Estudio radiológico longitudinal	41
3.2. Estimación de la maduración	45
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
4.1. Distribución de datos	46
4.2. Análisis de la varianza y pruebas de comparación múltiple	47
4.3. Prueba de rango múltiple	49
4.4. Correlación simple y correlación múltiple para variables métricas óseas	52
4.5. Análisis Discriminante	54
4.6. Análisis de Componentes Principales	57
4.7. Analisis de los datos de maduración	59
4.8. Correlación de Spearman	62

### **Capitulo III RESULTADOS**

1. Prueba de bondad del ajuste:	64
2. Análisis de la Varianza:	64
3. Comparaciones Post Hoc – Prueba de Rango Multiple (LSD)	65
3.1. Efecto Sham (Control - Sham )	65
3.2. Efecto del RPC inducido - Comparación Sham / RPC	66
3.3. Efecto de la GH	68
3.3.1. Comparación RPC / RPC+GH	68
3.3.2. Comparación Sham / RPC+GH	69
3.4. Efecto de la Castración RPC / RPC-Ca	71
3.5. Efecto de la Castración y tratamiento con GH - Comparación RPC / RPC-Ca + GH	73

3.6. Efecto de las hormonas gonadales - Comparación RPC / RPC-Es/Te	74
4. Correlación múltiple	76
4.1. Correlación múltiple para Crecimiento	76
4.2. Correlación múltiple a la edad final del experimento	76
5. Análisis de Componentes Principales y Discriminante a la edad final del experimento	77
5.1. Efecto del RPC	77
5.2. Efecto de la GH en sustrato de RPC	79
5.3. Efecto de la Castración Sham / RPC / RPC-Ca	81
5.4. Efecto de la Castración y GH Sham / RPC / RPC-Ca + GH	83
5.5. Efecto de las hormonas gonadales Sham / RPC / RPC-Es/Te)	85
6. Análisis de Componentes Principales con todos los tratamientos	87
6.1. ACP estandarizado para comparación global entre sexos y tratamientos	87
6.2. ACP sin estandarizar para cada sexo.	88
7. Resultados del análisis de datos de maduración	91
7.1. Comparación de proporciones	91
7.2. Correlación de Spearman	92

#### **Capítulo IV DISCUSIÓN y CONCLUSIONES**

Discusión	93
Efecto Sham	93
Retardo Prenatal de Crecimiento	94
Acción de la terapia con GH en el Retardo Prenatal de Crecimiento	101
Acción de la terapia con hormonas sexuales sobre el Retardo Prenatal de Crecimiento	106
Acción de la ausencia de hormonas sexuales por castración en el Retardo Prenatal de Crecimiento	111

Acción de la terapia con GH en ausencia de hormonas sexuales por castración en el	
Retardo Prenatal de Crecimiento	114
Maduración ósea y Retardo Prenatal de Crecimiento	117
Integración general	121
Función hormonal y fenotipo en el contexto adaptativo.	126
Conclusiones	135
Comentarios finales	138
Anexos	139
Tablas	139
Figuras	183
Bibliografía	204
Abreviaturas utilizadas	227

# CAPITULO I

## Introducción



*En los campos de Vermont circula la historia de un hombre quien sostenía que su familia poseía un hacha desde hacía 150 años. Cuando se le preguntaba cómo era posible, respondía que la familia se había preocupado por sustituir siete veces el mango y tres veces la hoja.*

Richard C. Lewontin. La vida maravillosa

## **INTRODUCCIÓN:**

### **1. CRECIMIENTO**

#### **1.1. Introducción**

Se entiende por crecimiento el aumento de la masa corporal, tanto por hiperplasia (incremento en el número de células) como por hipertrofia (incremento del volumen celular), el cual se encuentra acompañado por cambios morfológicos y funcionales denominados maduración, de tal manera que el organismo logre las características propias en tamaño y madurez, del individuo adulto. Esto implica la integración de tres procesos entendidos como aumento de tamaño, diferenciación y morfogénesis (Hernández Rodríguez, 2002).

Cada grupo filético presenta un patrón particular de crecimiento, no obstante, los taxa emparentados muestran una organización similar del patrón de regulación y control del crecimiento.

El crecimiento de los primates superiores tiene ciertas características que lo diferencian del resto de los mamíferos. La curva de crecimiento ponderal se encuentra caracterizada por una primera fase de aceleración y desaceleración correspondiente al período fetal y los primeros meses de vida, seguida de un período de crecimiento estable y posteriormente de una

segunda etapa de aceleración y desaceleración que representa al empuje puberal (Tanner, 1989; Hernandez Rodríguez, 2002).

No obstante, todos los mamíferos placentarios comparten una organización semejante en su biología del desarrollo. Durante su evolución ontogenética pasan por un estadio intrauterino embrionario-fetal, caracterizado por un sistema de órganos utero-placentario que permite el intercambio de nutrientes y desechos entre el embrión y la madre. Le sigue a este un período de vida postnatal característico del grupo, denominado lactacional, en donde las crías dependen de la madre en nutrición y cuidados. De esta forma, el crecimiento puede ser desagregado en dos etapas con características diferentes. Una prenatal o intrauterina con grandes cambios en la organización durante la cual el organismo tiene un desarrollo en complejidad biológica y fisiológica hasta lograr la funcionalidad indispensable para la vida extrauterina y otra postnatal, en la cual la velocidad de crecimiento y el avance madurativo permiten diferenciar tres períodos: el primero (primera infancia) muestra un crecimiento rápido pero en constante desaceleración. Este es seguido por un período de crecimiento estable entre los 3 y 11 años, al que por último le sucede la aceleración de crecimiento correspondiente a la pubertad (Camacho-Hübner, 2002; Hernandez Rodríguez, 2002).

La maduración física es un proceso complejo íntimamente relacionado al crecimiento. Sin embargo, no todos los individuos de una especie presentan

el mismo grado de maduración física respecto de su edad cronológica (Tanner, 1962). Tales condiciones han hecho necesario desarrollar formas de medir la edad de desarrollo, siendo el indicador de maduración ósea el más comúnmente utilizado (Tanner, 1971).

## **1.2 Crecimiento Prenatal**

El crecimiento intrauterino se encuentra condicionado por factores genéticos y ambientales (epigenéticos). Si bien durante los primeros estadios de la vida embrionaria priman los primeros, estos comienzan rápidamente a ser condicionados por los segundos, principalmente a partir de la implantación de la placenta.

Durante las primeras 18 semanas el embrión humano crece casi exclusivamente por hiperplasia, continuando un periodo en donde se va reduciendo el índice mitótico e incrementando el tamaño celular. Aunque en las primeras fases del desarrollo embrionario existe un sistema elemental en la regulación del crecimiento celular, posteriormente el control y la regulación se hacen más complejos, ya que, al patrón integrado por los factores locales estimuladores e inhibidores del crecimiento, se superpone un mecanismo endócrino o sistémico (Blizzard, 1989).

La placenta constituye un órgano endócrino que regula mecanismos fisiológicos fetales y maternos, sintetizando hormonas como la de crecimiento placentaria, lactógeno placentaria y progesterona placentaria,

además de actuar como regulador para proteínas transportadoras de las hormonas tiroideas hacia el feto y de hormonas peptídicas y factores de crecimiento del feto hacia la madre (Camacho-Hübner, 2002; Morreale de Escobar y Escobar del Rey, 2002).

En términos funcionales, las hormonas componen un vínculo complejo entre el genotipo y el ambiente de tal manera que, el sistema endócrino, puede interpretar las fluctuaciones ambientales para producir un rango de fenotipos a partir del mismo genoma. En este sentido las relaciones del complejo materno-fetal constituyen un ambiente particular que pueden condicionar el desarrollo ontogenético inclusive durante la vida postnatal (Dufty et al., 2002).

### **1.2.1. Hormona de crecimiento**

La capacidad funcional de la glándula pituitaria para promover el crecimiento fue descrita por primera vez por Evans y Long (1921), cuando demostraron que se podía acelerar el crecimiento de ratas con extractos salinos del lóbulo anterior de la hipófisis de vaca. Posteriormente, Li y Evans (1944) aislaron y caracterizaron por primera vez la sustancia de la glándula pituitaria capaz de promover el crecimiento.

Se ha determinado que la hormona de crecimiento presenta especificidad notable entre especies asociada a sus distancias filogenéticas (Hayashida y Contopoulos, 1967). Así la hormona de crecimiento de

teleósteos posee escasa actividad en la rata, pero inversamente la hormona de crecimiento de la rata es notablemente activa en teleosteos. De manera similar el mono rhesus y el hombre responden debilmente a la hormona de crecimiento de otros mamíferos como la rata, pero estos últimos muestran una respuesta notable a la hormona humana y de mono (Hayashida, 1970; Kosugiyama et al., 1971; Hayashida et al., 1975; Barrington, 1975, 1987).

La hormona de crecimiento es una proteína globular de 21,5 kDa de peso molecular sintetizada por las células somatotropas de la hipófisis anterior y constituye aproximadamente el 25% de la producción total de hormonas por parte de dicha glándula (Aguilar, 1992). En el ser humano, la presencia de hormona de crecimiento en hipófisis es detectable desde la 10ª semana de vida intrauterina, mientras que en la rata lo es a partir del día 19 de vida fetal (Diéguez et al., 2002).

### **1.2.2. Influencia de la Hormona de crecimiento en el crecimiento fetal**

Bauer et al. (1985) han sostenido que el crecimiento posnatal está determinado por la interacción entre el potencial genético de un organismo y las limitaciones ambientales, siendo el eje somatotrópico un importante mediador de esta interacción.

Bassett y Gluckman, (1986) detectaron altas concentraciones de hormona de crecimiento (GH) durante la vida fetal. Por otra parte Bauer et al.

(1985), encontraron una amplia distribución de los receptores de GH (GHR<sup>1</sup>) en muchos tejidos fetales, aunque en concentraciones más bajas que en los adultos, sugiriendo un rol activo de GH y GHR durante el desarrollo fetal normal.

Se considera a la nutrición como el más importante regulador fisiológico del eje somatotrópico (Durst-Zivcovic, 1977; Ohkawa et al., 1991). En la vida postnatal la desnutrición conduce a un aumento en la concentración de GH, mientras que la afinidad hepática de los GHR está reducida. Esto lleva a una relativa insensibilidad periférica de GH que está asociada con disminución de las concentraciones plasmáticas de factores de crecimiento (IGF-I<sup>2</sup>) (Bauer et al., 1985).

En individuos con retardo prenatal de crecimiento existe en edades infante juveniles heterogeneidad en la secreción hipotalámica de GH. Resultados tales como los obtenidos por Ackland et al. (1988) dan cuenta de que estos niños pueden presentar respuestas séricas normales a las pruebas de estímulo, pero perfiles de secreción espontánea anormales, caracterizados por picos de secreción únicos o escasos o bien múltiples pero de poca amplitud. Concordantemente, Rochiccioli et al. (1989) en 16 de los 24 niños con RPC estudiados, encontraron alteraciones en el perfil secretorio de GH.

---

<sup>1</sup> Sigla utilizada para referir a receptores de la membrana celular con afinidad por la hormona de crecimiento. Del inglés “growth hormone receptor”.

<sup>2</sup> IGF1, del inglés “insuline-like growth factor 1” – en castellano “factor de crecimiento insulinoide tipo 1”. Factor perteneciente a una familia de proteínas estrechamente relacionadas denominado sistema IGF.

### **1.2.3. Factores de Crecimiento de tipo Insulínico (IGF)**

Los factores de crecimiento IGF I y II son péptidos promotores del crecimiento, pertenecientes a una superfamilia de hormonas similares a la insulina que incluyen a la relaxina en vertebrados y la bombixina y el péptido de moluscos simil-insulina en invertebrados (Rinderknecht et al, 1978; Isaacs et al, 1978 ; Lagueux et al 1990). Sin embargo, la insulina y los IGF son los que están más estrechamente relacionados entre sí en cuanto a la estructura primaria y la actividad biológica.

Durante el desarrollo evolutivo de la superfamilia de IGF, la primera duplicación de un gen ancestral resultó en la divergencia entre la relaxina y el proto-gen de IGF. Con anterioridad a la evolución de los vertebrados, un evento similar separó la insulina del IGF (Zapf y Froesch 1986).

IGFI, IGFII e insulina se encuentran estrechamente relacionados, causando efectos similares, ya que sus receptores son semejantes en estructura y sistema de señalización intracelular (Werner y LeRoith, 1995; LeRoith, 1997).

Los distintos miembros de la superfamilia de IGF proporcionan la capacidad de fraccionar parcialmente el uso de nutrientes (Zapf y Froesch 1986) y se considera muy probable que estas hormonas evolucionaron para estimular el metabolismo de poblaciones diferentes de células. Por esto y debido a la segregación en la locación de los receptores de IGF e insulina, los

miembros de la familia de IGF ocuparon roles distintos pero solapados para dividir la utilización de los nutrientes (McCuker, 1998).

#### **1.2.4. Interrelación entre GH e IGF1**

En las últimas tres décadas diversos autores sugieren que tanto los IGF1 como la GH tienen la capacidad de estimular el crecimiento longitudinal óseo (Holder et al.,1981; Guler et al., 1988; Laron et al., 1992; Kupfer et al.,1993; Clark et al.,1994)

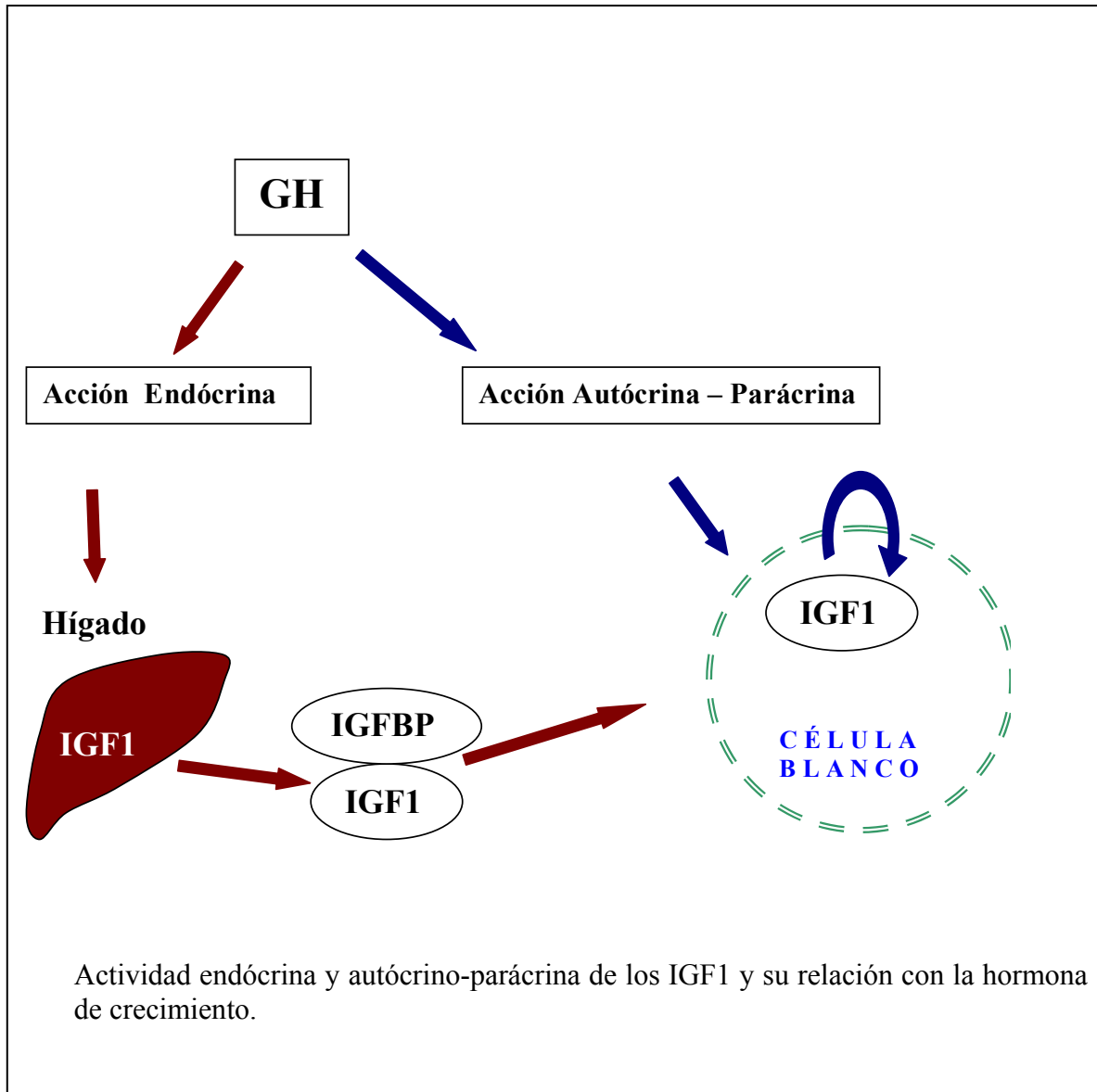
Desde que Daughaday et al. (1972) propusieron la hipótesis de las somatomedinas, se entiende que el efecto principal de las acciones biológicas de la GH no es directo, y se encuentra mediado por factores de crecimiento (D'Ercole et al., 1984; Stracke et al., 1984; Clark y Robinson, 1985; Russell y Spencer, 1985)

El factor principal de crecimiento del eje somatotrópico es el IGF1 (D'Ercole, 1996) que se encuentra muy emparentado con el IGFII, siendo ambos péptidos producidos durante la vida fetal en diversos tejidos con importantes efectos en el desarrollo y crecimiento fetal (Le Roid et al., 1995).

Si bien el hígado es la fuente principal de los IGF circulantes en respuesta a la presencia sistémica de GH, los cuales pueden ejercer una acción a distancia asociados a proteínas transportadoras (IGFBP), se ha comprobado que en la mayoría de los tejidos los IGF tienen además una

acción local autocrina-paracrina (Ilustración 1) (Werner y LeRoith ,1995; LeRoith ,1997; Ferry et al., 1999).

### Ilustración 1



La relación entre GH y el tamaño al nacimiento es incierto (Geary et al., 2003). Los neonatos secretan grandes cantidades de GH y el perfil secretorio es similar al observado en la acromegalia, con elevación

persistente de las concentraciones (Miller et al., 1993; Ogilvy-Stuart et al., 1998). A pesar de estas concentraciones de GH elevadas, las concentraciones de IGF-I al nacimiento son más bajas que durante la niñez, sugiriendo que hay otros factores que lo regulan. En este sentido es probable que el crecimiento en los humanos no sea totalmente dependiente de la GH hasta después de 6 meses de vida postnatal (Goossens et al., 1986; Low et al., 2001).

Los niveles de IGFI en el cordón umbilical se han relacionado directamente con peso y talla al nacimiento tanto en humanos como en animales de laboratorio (Baxter, 1990; Camacho-Hübner 2002), encontrándose en modelos experimentales de retraso de crecimiento intrauterino que las concentraciones de IGFI se encuentran disminuidas (Le Roid et al., 1995).

### **1.2.5. Interacción entre GH y hormonas sexuales**

La pubertad es la fase de desarrollo en la que los individuos de una especie adquieren madurez sexual como consecuencia de cambios hormonales y físicos (Ojeda, 2002). Se inicia por un mecanismo complejo en donde intervienen un aumento de la secreción de la Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), activación de señales de IGFI y liberación pulsátil de Hormona luteinizante (LH) (Ojeda y Bilger, 1999). Se ha sugerido que la capacidad de los estrógenos de estimular la secreción de hormona luteinizante

no se observa en individuos prepuberales, pero se hace notoria en las fases finales de la pubertad, lo que implicaría que el mecanismo de retroalimentación positiva del estradiol es uno de los últimos mecanismos que madura durante la pubertad (Ojeda, 2002).

Los estrógenos son esenciales para el cierre normal de los cartílagos de crecimiento en ambos sexos, siendo responsables además del dimorfismo sexual esquelético que se acentúa durante la pubertad (Vanderschueren y Bouillon, 1995). Así, por ejemplo la resistencia estrogénica y la deficiencia de aromatasa se encuentra asociada con la edad ósea retrasada y la talla alta (Morishima et al., 1997).

Las hormonas sexuales desempeñan un importante papel en la regulación del desarrollo puberal y en el control de la secreción de GH (Diéguez et al., 2002) habiéndose señalado que la secreción espontánea de GH en ratas es dependiente de la función gonadal (Argente y Chowen, 1992). En este sentido, Gonzalez-Parra et al (1996) sugieren que los cambios en los niveles circulantes de esteroides sexuales modulan la síntesis, volumen y secreción de GH de la hipófisis anterior.

El dimorfismo sexual de secreción de la hormona de crecimiento en ratas ha sido extensamente estudiado. En machos, los perfiles de GH se caracterizan por una elevada amplitud de los pulsos e interpulsos con bajas concentraciones, mientras que en hembras los pulsos presentan menor

regularidad y concentraciones elevadas en los interpulsos (Eden, 1979; Janson et al., 1985; Jaffe et al., 1998, 2002; Geary et al., 2003).

Tentler et al. (1997) postulan que en la maduración orgánica durante el desarrollo puberal de la rata, existe un importante papel combinado entre GH y testosterona, sugiriendo que la funcionalidad de los receptores alfa-adrenérgicos involucrados en el control de la secreción de GH tienen una dependencia crítica de exposición a la testosterona (Tena-Sempere et al., 1996). En ratas, Gonzalez-Parra et al. (1998) encontraron que la testosterona tiene efectos diferenciales sobre los niveles de secreción de las hormonas de la hipófisis anterior así como sobre el porcentaje entre células somatotropas y lactotropas en el animal adulto. Sugirieron de este modo el importante papel de los esteroides sexuales en la síntesis de hormonas de la hipófisis anterior y composición celular. Sin embargo, la influencia de los estrógenos sobre el crecimiento no es clara aún, detectándose acciones tanto anabólicas como catabólicas. En estudios experimentales empleando ratas desnutridas, la aplicación de estradiol indujo un efecto “masculinizante” que amortiguó el efecto inhibitorio de la desnutrición (Dahinten y Pucciarelli, 1986; Orden et al., 1998).

Guimarey et al., (1999), observaron una respuesta sexual diferencial a la aplicación de r-hGH en ratas con RPC, por cuanto hubo aumento de la velocidad de variación ponderal comprobable en la curva de distancia en la tercera semana de administración hormonal en las hembras y 14 días más

tarde en los machos. Por otra parte, los machos tuvieron menor consumo alimentario por unidad de peso. Estas respuestas sugirieron la existencia de una mediatización por parte de las hormonas sexuales en la modulación de dicho proceso.

Chowen et al. (2004) postularon que los esteroides modulan sistémicamente el crecimiento a través de numerosos niveles fisiológicos y sitios blanco. Esto puede deberse a la acción directa hipotalámica e hipofisaria regulando los niveles de producción y secreción de GH, lo que a su vez dependería de la acción sobre la respuesta del tejido blanco por dos vías: (1) modulación de la expresión del receptor o los mecanismos de señalización celular e intracelular y (2) por la interacción con factores de crecimiento a nivel celular e intracelular. Esta acción tan diversificada puede explicar, al menos en parte, la controversia que existe en la literatura sobre el papel de los esteroides sexuales en el control sistémico del crecimiento.

### **1.3. Retardo Prenatal de Crecimiento**

El crecimiento intrauterino es considerado un signo clínico relevante en torno a la determinación del bienestar fetal. La evaluación del mismo ha mejorado notoriamente con los avances tecnológicos de diagnóstico prenatal (Hadlock et al., 1991; Papp et al., 2003).

Existe una multiplicidad de factores capaces de afectar el crecimiento normal en el medio intrauterino. Entre ellos cabe mencionar la edad, el estado

de salud y la nutrición materna, la situación socioeconómica y los factores hormonales y genéticos. De esta forma el retardo prenatal de crecimiento (RPC) no representa una entidad etiológica definida, desde que un tercio de estos casos están determinados por factores genéticos y dos tercios por factores ambientales (Polani, 1974; Garagorri, 2002).

El retardo prenatal de crecimiento es un término que engloba a todos los recién nacidos cuyo peso o longitud al nacimiento se encuentra por debajo del percentilo 10 correspondiente para su edad gestacional (Caulfield, 1991; Hinchliffe et al.,1992). Tanto la condición como la severidad del retardo prenatal de crecimiento han sido asociadas con un elevado riesgo de muerte neonatal (Grandi et al., 2005).

Haas et al. (1987) observaron que un grupo de recién nacidos con RPC presentaba reducción armónica del peso y longitud corporal, caracterizándolos como de crecimiento proporcionalmente retardado. En tanto que a otros con sólo reducción del peso pero no de la talla se los consideró como con retardo desproporcionado. Actualmente se denominan retardos de crecimiento prenatal simétrico o crónico y asimétrico o agudo, respectivamente.

El RPC simétrico (o intrínseco) se produce al inicio de la gestación principalmente por enfermedades genéticas, síndromes congénitos, infecciones fetales o el efecto de tóxicos que provocan una limitación de la división y crecimiento celulares, con escasas posibilidades de crecimiento

compensatorio. El RPC asimétrico es más frecuente y es provocado por reducción del aporte de oxígeno y/o sustratos durante el último tercio de la gestación, afectando el peso y el índice ponderal (Peso/Longitud) pero no el desarrollo esquelético y cerebral (Garagorri, 2002).

El principal condicionante del crecimiento en la vida prenatal es sin dudas el adecuado intercambio materno fetal. La insuficiencia uteroplacentaria es la causa más frecuente de RPC. Este concepto engloba un conjunto de condiciones que dificultan el normal intercambio fetomaterno de nutrientes, gases, agua, calor, etc., como consecuencia –entre otras causas- de una perfusión placentaria insuficiente, defectos estructurales de la placenta, drogas, hipertensión gravídica, alcoholismo, etc, factores todos que afectan la homeostasis fetal (Block et al., 1989; Antebi et al., 1991; Thornburg, 1991).

La hipertensión gravídica ya sea aislada o en forma de preeclampsia, es cuantitativamente la causa médica materna más importante de repercusión negativa sobre el desarrollo fetal. Le sigue a ésta, en países desarrollados, el tabaquismo en mujeres embarazadas, el cual ocasiona el 40% de los casos de RPC (Garagorri, 2002).

Otro de los factores de gran incidencia en RPC, principalmente en países subdesarrollados, es la desnutrición materna. La relación entre nutrición materna y retardo del crecimiento fetal con consecuente disminución del peso corporal está bien documentada en humanos y animales (Scott y Usher, 1964; 1966; Srebnik y Budd, 1981; Mello et al., 1987; Bolzán

et al.,1999; Grandi, 2003). Shrader y Zeman (1973), informaron además que la privación proteica materna provoca un retardo significativo en la aparición de sitios de osificación fetal, situación que no es corregida por nutrición normal postnatal.

Una explicación probable del retardo del crecimiento fetal es la baja provisión de glucosa materna (Ogata et al., 1990). Koski et al. (1986) también coinciden en que la glucosa es la principal fuente metabólica para el crecimiento embrionario y fetal. La hipoglucemia resultante conduce además a una disminución de la insulina plasmática. Por ser la insulina un factor estimulante del crecimiento fetal, su limitación junto a la menor disponibilidad de glucosa provoca entonces retardos en el crecimiento fetal (Ogata et al., 1990). En consecuencia la hipoglucemia e hipoinsulinemia deterioran el crecimiento en el período de gestación (Mello et al., 1987).

#### **1.4. Crecimiento compensatorio**

El crecimiento compensatorio<sup>3</sup>, resulta de un período de aceleración del crecimiento que permite a los organismos recuperar su tamaño corporal perdido por déficit previo (Williams, 1981). Este crecimiento compensatorio puede limitarse cuando el factor que provocó el retraso en el crecimiento, por ejemplo la desnutrición, opera durante la gestación y lactancia (Toews y Lee, 1975). Widdowson y McCance (1960) y Williams et al., (1974) indicaron,

---

<sup>3</sup> A este fenómeno se lo encuentra mencionado comúnmente por su designación en inglés catch-up.

por ejemplo, que existe relación entre el crecimiento compensatorio alcanzado y el estado madurativo del tejido u órgano en el momento en que actuó el estrés nutricional. Cuanto más temprano actúa un estrés existe menor capacidad de recuperación (Winick y Rosso, 1969; Zeman, 1970; Beck et al., 1983).

En el ser humano, cuando la injuria ocurre entre las 27 y 34 semanas de gestación se observa reducción tanto en tejido adiposo como muscular. En cambio, cuando el estrés se circunscribe al último mes de gestación, sólo existe disminución del peso al nacimiento con conservación de masa muscular (Villar y Belizan, 1982).

El crecimiento compensatorio de los niños con RPC es impredecible. Entre el 10 y 30% no presentan crecimiento compensatorio postnatal, resultando en adultos con talla baja (Karlberg y Albertsson-Wikland, 1995; Albanese y Stanhope, 1997). La falta de recuperación del crecimiento ha sido asociada a la etiología del proceso (Lejarraga y Sola, 1977), a factores del ambiente familiar y al ritmo de crecimiento durante los primeros meses de vida (Karlberg et al., 1996), a la variabilidad individual y al estado nutricional (Stanley y Speidel, 1985). También a disfunciones endócrinas tales como insuficiente secreción de hormona de crecimiento (GH) (Hokken-Koelega et al., 1991) o baja actividad somatomedínica (Job, 1992).

Estudios epidemiológicos y clínicos de las últimas décadas indican que muchos de los niños con RPC además de presentar alteraciones del

crecimiento lineal en la lactancia y la niñez, pueden manifestar alteraciones metabólicas durante la vida adulta. (Perez-Escamilla y Pollit, 1992; Desai y Hales, 1997; Chatelain, 2000; Camacho-Hübner, 2002; Latini et al., 2004).

Cooper et al. (1997), han propuesto la existencia de una programación intrauterina y postnatal temprana sobre el crecimiento esquelético, encontrando una fuerte relación entre el peso en la infancia y la talla adulta, siendo esta relación mayor en varones que en mujeres.

Por otra parte, estudios experimentales realizados por Cha et al. (1987) determinaron que ratas con RPC moderado, cuyos pesos al nacimiento se ubicaron entre -1 y -2 DS respecto de control, presentaron un temprano crecimiento compensatorio, no así las con RCP severo ( $< -2$  DS). Informaron además, que no todas las variables tuvieron recuperación durante la lactación normal. El crecimiento compensatorio alcanzado dependió del rasgo y sexo considerado, siendo las hembras con RPC más resistentes que los machos al estrés impuesto.

Winick y Rosso (1969), Smart et al. (1973) y Amiel-Tison y Pettigrew (1991) hallaron reducción del número de células del cerebro por efecto de una desnutrición en el período de gestación o durante la lactancia, que persistió aún después que el animal recibió dieta adecuada. Coincidentemente, Adlard y Dobbing (1972) informaron un menor peso del cerebelo. A nivel esquelético, Alippi et al. (1984) observaron que las deficiencias proteicas en ratas producen un retardo del crecimiento de la

longitud de la mandíbula. Sugirieron además, que el crecimiento en longitud y ancho no fueron igualmente afectados, lo que resultaría en alteraciones de las proporciones óseas. Por lo tanto, la deformación de la mandíbula parece ocurrir como consecuencia del efecto diferencial de la dieta sobre la unidad esquelética específica y sobre el crecimiento longitudinal y aposicional. Yanagita et al., (1992) encontraron que el maxilar superior, la cavidad nasal y la faringe fueron fuertemente alterados por efectos ambientales que podrían estar asociados con las funciones masticatorias y respiratorias.

### **1.5. El tratamiento del Retardo Prenatal de Crecimiento con Hormona de Crecimiento**

Desde el punto de vista asistencial, los primeros intentos terapéuticos realizados con GH de extracción cadavérica, no mostraron resultados muy positivos debidos, probablemente, a factores tales como las pequeñas dosis utilizadas y la discontinuidad de su aplicación (Tanner et al., 1971; Grunt et al. 1972; Arya 2006). Sin embargo esta situación cambió en las últimas décadas. Desde que es posible producir GH por métodos recombinantes (r-hGH) (Fryklund et al., 1986), se ha retomado la idea de su uso terapéutico en individuos con RPC. En este sentido, Albertsson-Wikland (1989) y Stanhope et al. (1989) informaron que el tratamiento con hormona de crecimiento recombinante humana (r-hGH) provocó aceleración del crecimiento y mejoría en el pronóstico de estatura final en niños con RPC. No obstante, durante

mucho tiempo no se logró establecer de manera fehaciente que la estatura adulta de los niños con RPC mejore tratándolos con r-hGH (Chaussian et al., 1994; de Zegher et al., 1994). Al respecto, de Zegher et al (2000) proponen que la GH constituye un eficaz tratamiento para normalizar la talla baja en niños nacidos pequeños para su edad gestacional que no presentan deficiencia de GH durante la niñez temprana y la pubertad, señalando que tanto las dosis bajas y continuas como las dosis altas y discontinuas con GH fueron efectivas.

Carel et al. (2003) concluyeron que el potencial para el catch-up espontáneo en adolescentes con RPC es limitado y que los niños tratados con GH se encontraron más cerca de la estatura final esperada y con mayores probabilidades de lograr la estatura adulta de los controles. A diferencia de los autores citados anteriormente, la dosis empleada fue mayor y la duración del tratamiento más corta.

## **2. MÉTODO EXPERIMENTAL**

### **2.1. Introducción**

El proceso experimental no se inicia en la simple observación, sino en el planteo de un problema que delimitará consecuentemente el universo de investigación. Esto puede surgir como el resultado de múltiples y discrepantes interpretaciones sobre un fenómeno dado, observaciones semejantes de diferentes autores o desprenderse de evidencia epidemiológica,

lo que conlleva generalmente a postular hipótesis que necesitan ser contrastadas. En este sentido, la comprobación de hipótesis o teorías implica la definición de modelos conceptuales y analíticos, junto con un adecuado diseño metodológico que permita alcanzar los criterios de causalidad (Durán, 2004).

En ciencias de la salud, el método experimental con animales de laboratorio es aplicado a múltiples problemáticas. En este sentido, cuando resulta metodológicamente posible, los modelos experimentales en animales permiten lograr profundizar la comprensión tanto de los mecanismos patofisiológicos involucrados en las enfermedades, como de sus correlatos clínicos (Rodríguez-Garay, 2003).

En Antropología, la utilización del método experimental constituye una larga tradición, mostrando ser una técnica adecuada para la resolución de problemas complejos de la disciplina (Washburn y Detwiler, 1943; Washburn, 1947; Moss, 1954; Pucciarelli, 1974).

La similitud del experimento realizado con el hecho biológico observado depende en gran medida del sujeto experimental empleado. Se entiende por sujeto experimental al conjunto de individuos de la especie elegida para la experimentación. El objeto experimental corresponderá al grupo o especie a la que va dirigida la investigación, en este caso el hombre.

La experimentación con roedores permite realizar experiencias en plazos cortos y con costos razonables, así como extremar el efecto de los

factores a estudiar. Sin embargo tiene como desventaja de la gran distancia taxonómica entre objeto de estudio y sujeto de experimentación (Pucciarelli 1974, 1981).

La distancia entre sujeto y objeto de estudio debe resolverse mediante la generalización (Pucciarelli, 1974; Oyhenart, 1988), es decir, a partir de relaciones fenomenológicas compartidas por los taxa involucrados que permiten realizar inferencias en común. En este sentido, las semejanzas entre sujeto y objeto experimental en términos de organización biológica del desarrollo y el control, y la regulación hormonal del crecimiento así como la maduración, permiten realizar generalizaciones consistentes con la clase mamíferos, desde donde se puede realizar la contrastación de hipótesis.

## **2.2. Modelo experimental de RPC**

El crecimiento fetal se encuentra condicionado por el suministro de substratos, la ganancia de masa y de energía, y por los sistemas de regulación, siendo esta una distinción muy útil al momento de clasificar los distintos tipos de abordaje experimental (Hill, 1984; Schröder, 2003).

Además, existe una complejidad anátomo-funcional categórica respecto del feto, el cual se localiza dentro de la unidad placentaria-uterina que a su vez se localiza dentro de la madre. Así por ejemplo, cuando se considera el estudio de los efectos de la reducción de aporte de oxígeno para el crecimiento y desarrollo del cerebro fetal, deben tenerse en cuenta que la

restricción de disponibilidad de oxígeno puede estar relacionada a varios niveles en la secuencia de suministro.

- 1- Reducción del consumo materno de oxígeno.
- 2- Reducción de la cantidad de oxígeno transferido en la unidad de intercambio utero-placentaria.
- 3- Transferencia restringida de oxígeno de la placenta al feto.
- 4- Transferencia restringida de oxígeno a través de la vena umbilical.
- 5- Reducción selectiva del suministro de oxígeno al cerebro del feto.

Hipotéticamente estos cinco niveles representan cinco posibles modelos experimentales (Schröder, 2003).

En la práctica, se han desarrollado diversos modelos capaces de provocar restricción del crecimiento fetal basados en la limitación alimentaria materna (Lechner, 1987; Woodall et al., 1996), reducción de la circulación útero-placentaria (van Martens et al., 1975; Carter, 1993), embolización placentaria (Clapp et al., 1984; Charlton y Johengen 1987) y reducción de la circulación umbilical (Emmanouilides et al., 1968). En estos modelos experimentales han sido utilizadas numerosas especies de mamíferos, principalmente roedores (72%), ovejas (9%) y cerdos (8%) (Schröder, 2003).

La obstrucción de las arterias uterinas es un ejemplo extremo de insuficiencia utero-placentaria por lo que se han desarrollado modelos de ligamiento de las mismas. Estos provocan restricción del aporte de glucosa, menor disponibilidad de aminoácidos y alteraciones de variables fisiológicas

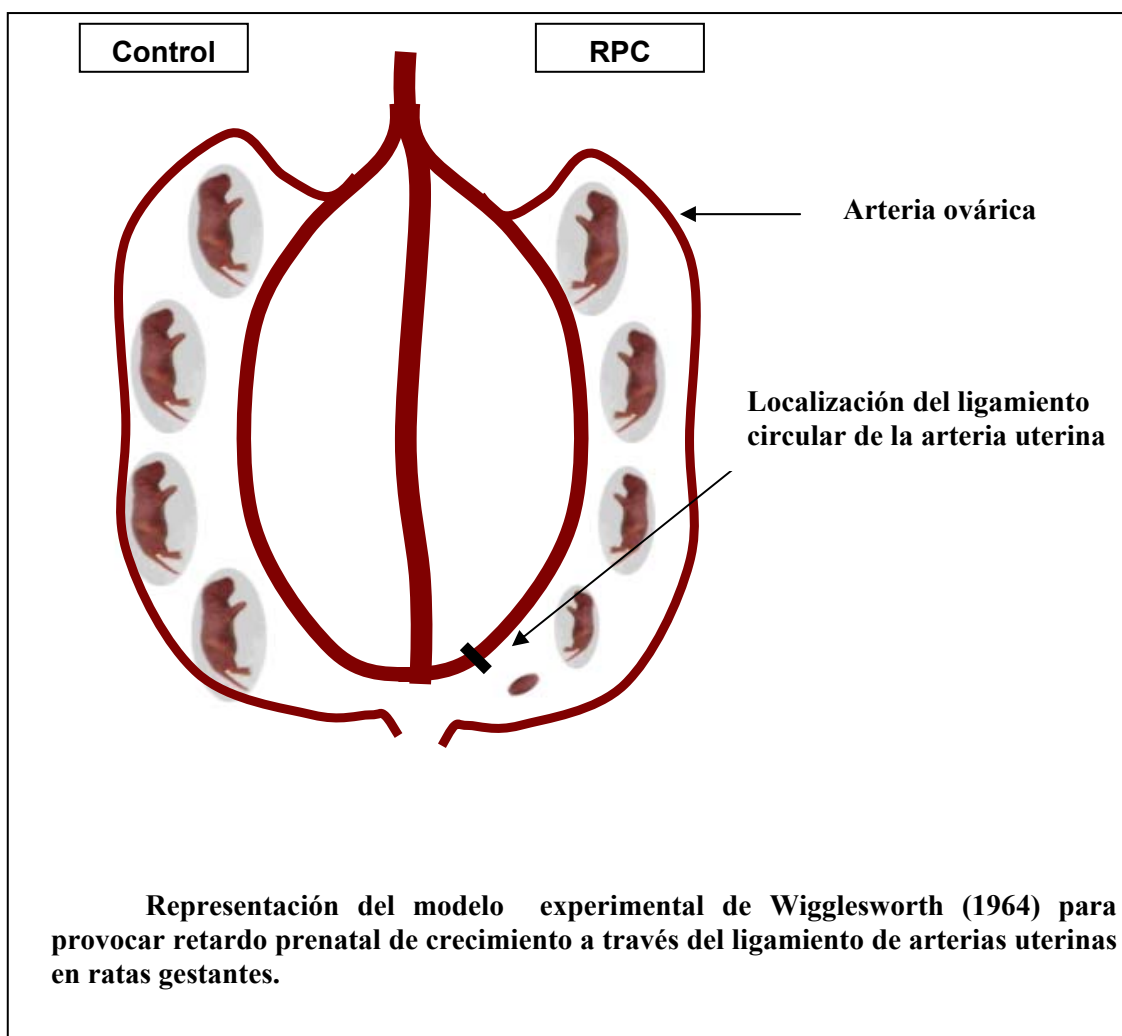
en el feto incluyendo el intercambio gaseoso llevando al RPC (Simmons et al., 1992).

Wigglesworth (1964) desarrolló un modelo de ligamiento de arterias uterinas en ratas gestantes, que ha mostrado su validez a lo largo del tiempo (Kollée et al., 1979; Huizinga et al., 2004). Mediante la aplicación del mismo se consiguen animales pequeños para la edad gestacional que presentan bajos niveles de glucosa en sangre (Chanez et al, 1971; Levitsky et al., 1977) así como menor proporción de grasa y de proteínas (Hohenhauer y Ho, 1969).

El modelo original consistió en el ligamiento circular de la arteria uterina cerca del extremo inferior de uno de los cuernos uterinos, provocando una obstrucción completa de la circulación sanguínea y dejando el opuesto contralateral intacto (Ilustración 2). Los animales nacidos del cuerno intacto fueron considerados control. El resultado final indicó muerte y reabsorción del 30% de los fetos y un gradiente creciente del peso corporal desde el extremo inferior al superior debido a la compensación por derivación de la arteria ovárica en el extremo superior.

## Ilustración 2

### Modelo experimental propuesto por Wigglesworth (1964)



El modelo descrito ha sido muy empleado por diversos autores para estudiar los efectos del retardo de crecimiento intrauterino al nacimiento (Hohenauer, 1969; Nitzan y Groffman, 1971; Chanez et al 1971).

Posteriormente, Levitsky (1977) sugirió que los fetos de un cuerno uterino intacto no podrían ser considerados control, aún cuando presentaban homogeneidad genética respecto a los del otro cuerno. En el modelo original de Wigglesworth ambos grupos fueron expuestos a técnicas operatorias y anestesia de la madre, situación que los apartaba de la condición “control”. Sugirió además, que otro factor importante era la posibilidad de que esa reducción del flujo de sangre diera como resultado un flujo aumentado al cuerno opuesto. Por consiguiente, los animales del cuerno contralateral en el modelo clásico de Wigglesworth no serían los controles más satisfactorios (Kolleé et al., 1979).

En muchas ocasiones el tratamiento en estudios experimentales incluye un dispositivo necesariamente asociado. Todas las manipulaciones relacionadas a la técnica quirúrgica y procedimientos vinculados con los tratamientos pueden causar efectos los cuales deben ser necesariamente controlados. En este sentido el estrés quirúrgico y la anestesia asociadas al modelo de inducción de RPC pueden jugar un papel importante en las respuestas metabólicas materna, fetal y neonatal (Levitsky, 1977).

Para eliminar los procedimientos quirúrgicos y anestésicos como una variable se hace necesario otro tipo de control, el cual recibe el nombre de Sham. El grupo Sham es un grupo control específico creado para determinar los posibles efectos ocasionados por el dispositivo asociado al tratamiento

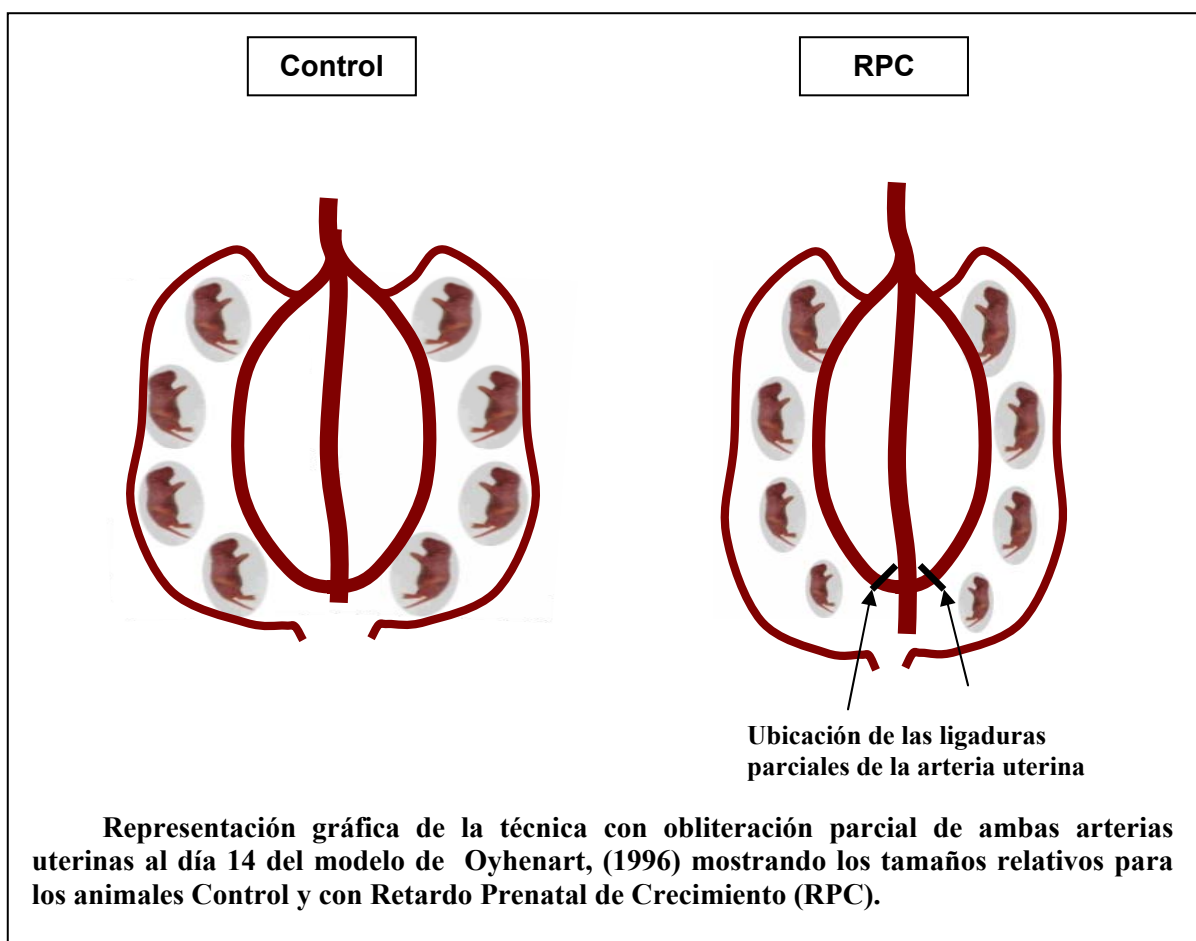
experimental a través de una operación simulada. Sobre este grupo se efectúan todas las manipulaciones relacionadas a la técnica experimental, pero no se desarrolla el tratamiento específico, de tal manera de poder separar los efectos de la técnica operatoria del efecto provocado por el tratamiento.

Factores tales como el período de la gestación en que se realiza el ligamiento y el tipo de obliteración de las arterias uterinas (completa o parcial) pueden conducir a resultados variables. Cuando el objetivo es provocar un RPC asimétrico con obliteración completa, esta puede realizarse al día 17 de gestación (en períodos previos solo se logra un RPC simétrico) (Fodor, comunicación personal). Otra forma se basa en una obliteración parcial de ambas arterias uterinas al día 14, restringiendo el flujo en forma parcial durante el último tercio de la gestación (Oyhenart et al., 1996).

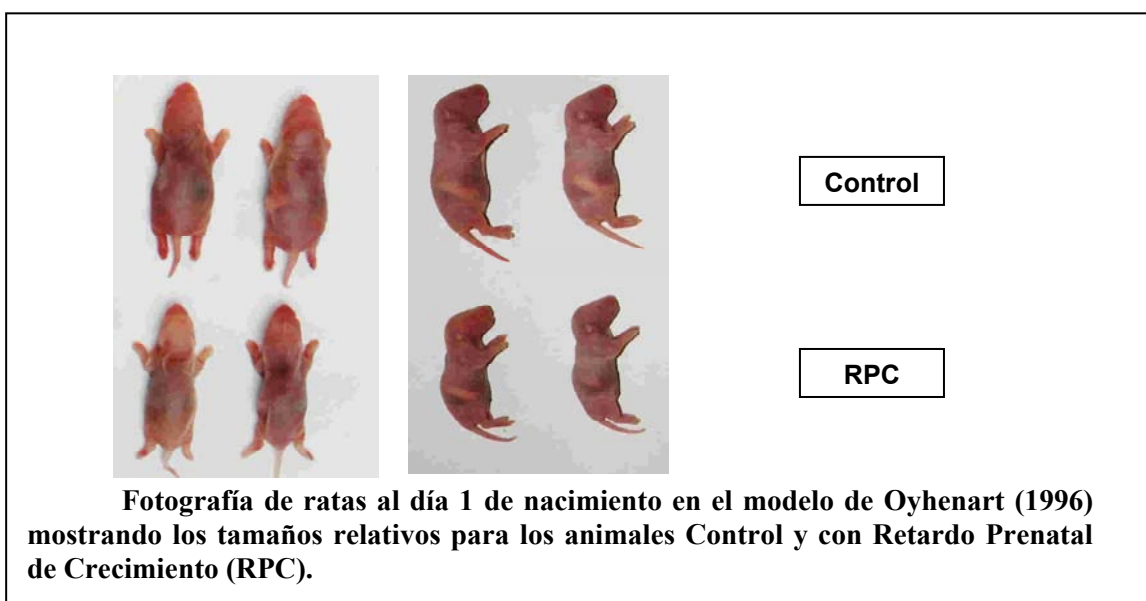
Resultados obtenidos por Oyhenart et al. (1996; 1998) permitieron determinar que la obstrucción parcial de las arterias uterinas en ratas gestantes, provoca retardos en el crecimiento corporal y craneofacial al nacimiento (Ilustraciones 3 y 4), además de modificar los patrones de dimorfismo sexual presentes en condiciones de nutrición normal.

### Ilustración 3

#### Modelo experimental utilizado por Oyhenart (1996)



### Ilustración 4



En síntesis, el retardo prenatal de crecimiento es un término genérico bajo el cual se agrupan los niños recién nacidos con crecimiento prenatal restringido por alteración de origen multicausal que puede estar determinado tanto por factores genéticos como ambientales y es una de las causas más frecuentes de morbi-mortalidad perinatal y de afección postnatal del crecimiento.

Los efectos a largo plazo incluyen, entre otros, baja talla adulta, modificación de proporciones corporales y alteraciones metabólicas durante la vida adulta.

No hay acuerdo a la fecha de si se trata de una patología o un proceso adaptativo, siendo probablemente una combinación de ambos.

La terapia con GH ha sido utilizada con buenos resultados para restaurar la talla, sin embargo no es seguro que restaure la alometría normal de crecimiento. Sumado a esto parte de la actividad de la GH pareciera estar íntimamente vinculada a las hormonas sexuales, existiendo discrepancia entre diversos autores acerca de si el RPC y/o la terapia con GH en sustrato de RPC tengan algún efecto sobre la maduración, ya que no ha sido posible lograr evidencias concluyentes a partir de ensayos clínicos.

De acuerdo a lo expuesto se hace evidente que aún no se cuenta con información suficiente sobre la acción de la GH y su relación con las hormonas sexuales (andrógenos y estrógenos) frente a retardos prenatales del crecimiento y su eventual recuperación. Surge, consecuentemente, la

necesidad de efectuar investigaciones longitudinales controladas que permitan obtenerla.

El presente estudio experimental permitirá contrastar la hipótesis de nulidad: “La recuperación del crecimiento posnatal en individuos con retardo prenatal del crecimiento no es influenciada por las hormonas de crecimiento y sexuales”. Su rechazo conducirá a la necesidad de evaluar la acción específica de dichas hormonas en el proceso de diferenciación ponderal y morfológica.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo General**

Analizar el crecimiento posnatal ponderal y esquelético y la maduración ósea de ratas con retardo prenatal del crecimiento y las modificaciones inducidas por tratamientos hormonales específicos (hormona de crecimiento y hormonas sexuales).

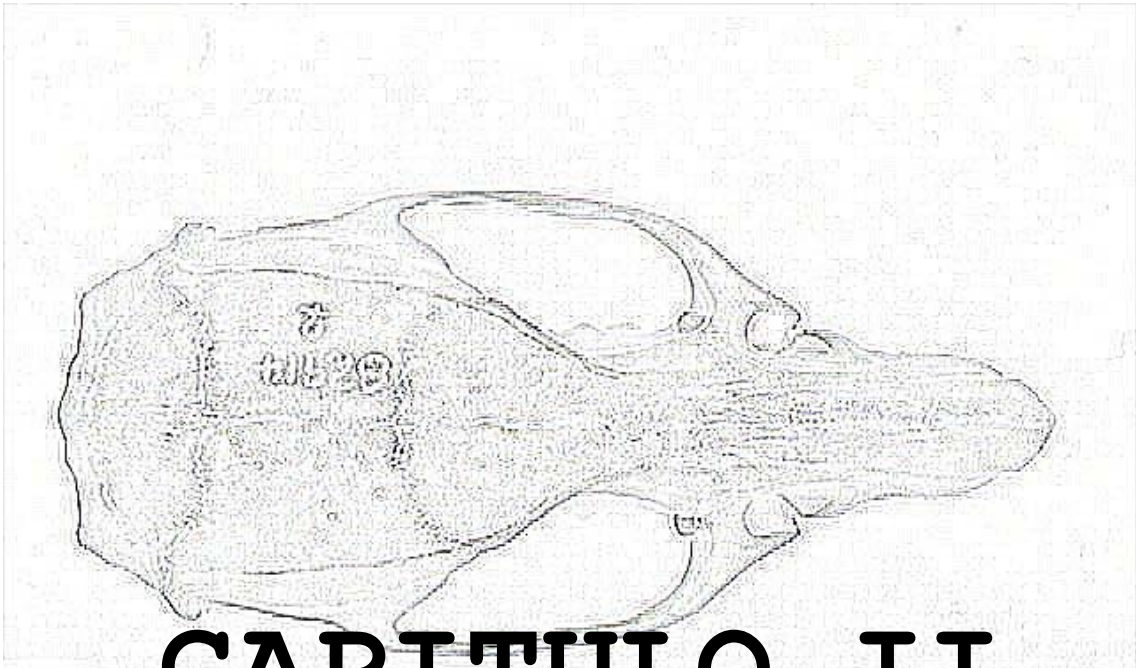
#### **3.2. Objetivos Específicos**

Determinar:

- 1) Los cambios del crecimiento ponderal y esquelético craneofacial, axial y apendicular ocurridos durante el período de lactancia y poslactancia en ratas sometidas experimentalmente a RPC.
- 2) Los mecanismos actuantes en el RPC y su recuperación postnatal.

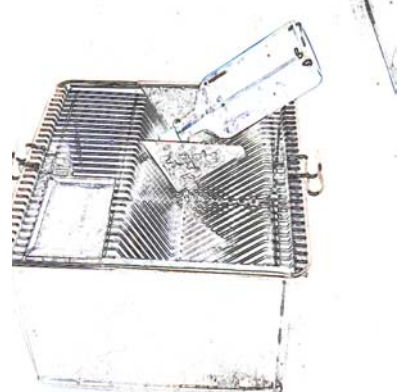
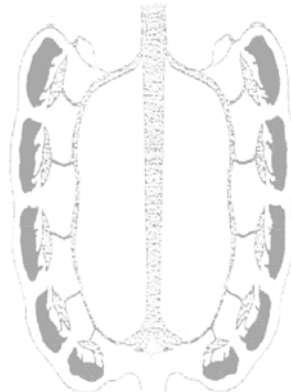
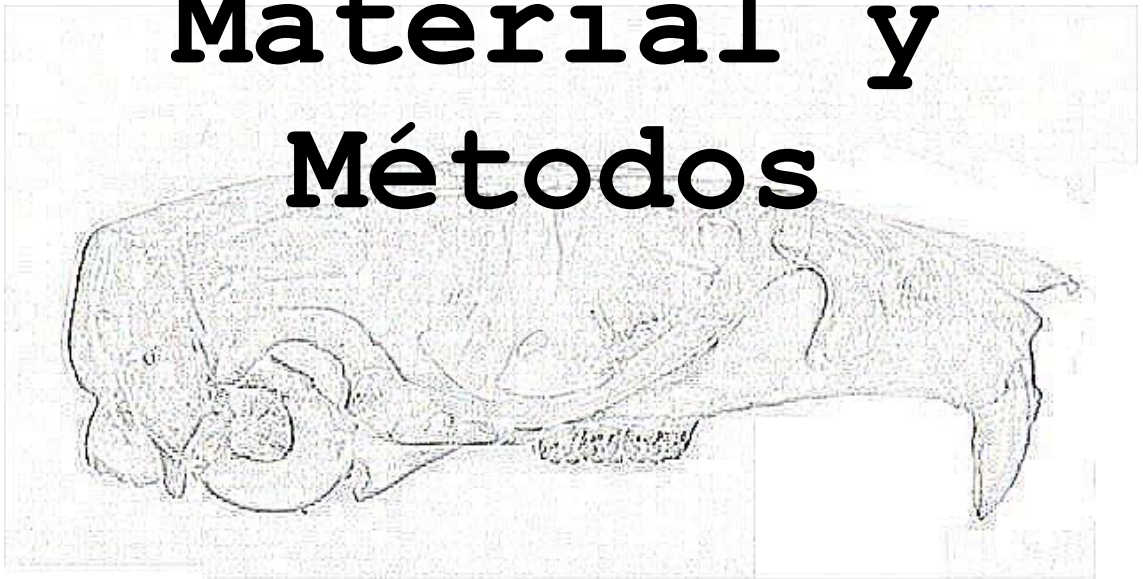
3) La acción de las hormonas de crecimiento y sexuales sobre el crecimiento y la maduración ósea postnatal en substrato de RPC.

El objetivo específico 1) mostrará el patrón de crecimiento posnatal control y experimental RPC. El objetivo 2) permitirá evaluar la presencia o ausencia de un crecimiento compensatorio en RPC y por último el objetivo 3) será indicador de la acción específica que ejercen las hormonas de crecimiento y sexuales (andrógenos y estrógenos) en la modulación del crecimiento y la maduración postnatal luego del efecto del RPC.



## CAPITULO II

# Material y Métodos



*Lo verdadero, dicho brevemente, es solo el expediente de nuestro modo de pensar, de igual forma que lo justo es solo el expediente del modo de conducirnos.*  
William James. Pragmatismo.

## MATERIAL Y METODOS

### I)-Cuidados y Mantenimiento del bioterio

En el desarrollo del experimento se emplearon animales de la especie *Rattus norvegicus albinus*, variedad Wistar, pertenecientes a una colonia del bioterio del Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

#### Condiciones de Bioterio:

Con la finalidad de mantener las condiciones del microambiente experimental, de manera tal que permitiera a los animales crecer, llegar a la madurez sexual, reproducirse, comportarse con normalidad y conservar un buen estado de salud (Hume, 1976; Harkness y Wagner, 1980; Saiz Moreno, 1983), se tuvieron en consideración los siguientes factores:

- a) Temperatura ambiental: las temperaturas mínimas y máximas fueron controladas diariamente y se mantuvieron dentro del rango  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  mediante calefacción eléctrica y refrigeración termostatzada.
- b) Iluminación: fue controlada mediante un reloj eléctrico de corte automático, cronometrando un fotoperíodo cíclico de doce horas de luz y doce horas de oscuridad, temporizados de 06:01 a 18:00 y 18:01 a 06:00, respectivamente.
- c) Ventilación: Se realizó mediante extractor de aire de corte automático en períodos regulares.

d) Habitáculos: La densidad de población por habitáculo se determinó teniendo en cuenta la relación superficie de ocupación/peso corporal en los términos ideales de  $250 \text{ cm}^2$  para los animales de 300grs de peso corporal. Esta relación fue adecuada a los dos tipos de habitáculos utilizados:

I)- Jaulas individuales: Caja de acero inoxidable con enrejado superior que consta de depósito de alimento, orificio para bebedero y tarjetero identificadorio.

Dimensiones: 30 x 30 x 17 cm.

Sobre la superficie de  $900 \text{ cm}^2$  se



determinó el peso máximo de 600gr. equivalente a dos individuos adultos o cuatro individuos en crecimiento, con una relación final de  $450 \text{ cm}^2/300 \text{ grs.}$

Estas mismas cajas fueron utilizadas para albergar a las hembras lactantes con su camada.

II) - Jaulas colectivas: Jaula metálica con suelo enrejado y batea de acero inoxidable para recolección del excremento. Tapa superior de acceso, depósito de alimento, orificio para bebedero y tarjetero



identificadorio. Dimensiones: 31 x 45 x 22 cm. Sobre la superficie de

1395cm<sup>2</sup>, se determinó un peso máximo de 1600 grs., obteniendo una relación final de 260cm<sup>2</sup>/300grs. Estas jaulas fueron utilizadas para el apareo de los animales.

***Características de volumen y superficie de hábitat de jaulas de bioterio***

Jaulas	ancho	profundidad	altura	Superficie	Capacidad en peso	Espacio real	Espacio ideal
Individuales	30 cm	30 cm	17 cm	900 cm <sup>2</sup>	600 grs.	450cm <sup>2</sup> /300grs.	250cm <sup>2</sup> /300grs.
Colectivas	31 cm	45 cm	22 cm	1395 cm <sup>2</sup>	1600 grs.	260cm <sup>2</sup> /300grs.	250cm <sup>2</sup> /300grs.

- Suministro de alimento: Se efectuó a través de comederos con ranuras que aseguraron el acceso al alimento sin que el animal pudiera contaminarlo.
  - Suministro de agua: Se realizó a través de bebederos de vidrio con tapón de goma perforado atravesado por tubo de acero inoxidable. El extremo exterior fue colocado dentro de la jaula para que los animales pudieran beber agua por succión.
  - Lechos para jaulas individuales (camas): Se utilizó viruta fina de madera de pino esterilizada, debido a su capacidad de absorción y atoxicidad.
- e) Higiene: fue realizada tres veces por semana. Consistió en el recambio de la cama y lavado, secado y esterilización de jaulas.

f) Manipulación de animales: Fue realizada por un único operador a intervalos



regulares. Se efectuó la sujeción cubriendo con la palma de la mano toda la región dorsal del tronco, con los dedos rodeando el cuerpo por debajo de las patas delanteras. La sujeción por la cola solo se realizó en forma temporal.

g) Otros factores: Se controlaron además ruido, intromisión de sustancias químicas y/o aromáticas, así como horarios de ingreso y empleo de indumentaria adecuada del personal autorizado previo entrenamiento en medidas biosanitarias.

h) Eutanasia: El sacrificio de los animales se realizó por inhalación de éter

sulfúrico en cámara cerrada, en concordancia con las Recomendaciones del

Reporte del Panel en Eutanasia de la

Asociación Americana de Medicina

Veterinaria; la Ley Nacional 14.346 de

la Republica Argentina (sancionada el

27/09/1954 - promulgada el 27/10/1954

en B° Oficial 05/11/1954) y los Derechos Internacionales de los Animales

(ONU-UNESCO).



## II) - Desarrollo del Experimento

Al inicio se conformaron jaulas de apareo poligámico (6 hembras y 2 machos) con animales de aproximadamente 70 días de edad con peso corporal comprendido entre 200 y 250 g. A fin de proceder a la determinación del día 1 de preñez, los animales fueron colocados diariamente en apareo entre las 18 y 19 horas. En las primeras horas del día siguiente, se realizó un examen exfoliativo vaginal (frotis) para determinar presencia de espermatozoides que, en caso positivo, fue considerado como inicio de la preñez.

Las hembras preñadas fueron separadas en cajas individuales de cría y mantenidas durante la gestación con agua y dieta stock *ad libitum* con la siguiente composición\*:

- Agua: 13.00%
- Proteínas: 23.00%
- Lípidos: 3.50%
- Cenizas: 8.00%
- Calcio 1.20%
- Fósforo: 0.80%

\*(Dieta stock *Nutrimiento S.A.*)

Cada tres días se registró el peso corporal y se calculó el consumo alimentario de las madres ( $CA = AT - AR$ ) donde CA = consumo alimentario; AT = cantidad de alimento suministrado y AR = cantidad de alimento remanente.

A partir del día 1 de preñez, las ratas madre constituyeron los siguientes grupos experimentales:

- (a) Madres Control
- (b) Madres Operadas
- (c) Madres Sham-operadas

Las ratas madre Control no recibieron ningún tratamiento quirúrgico.

A las ratas madre Operadas se les practicó, a los 14 días de gestación, la obstrucción parcial de ambas arterias uterinas según técnica descrita por Oyhenart et al. (1996) como sigue.

Se realizó bajo anestesia una laparotomía mediante incisión abdominal longitudinal en todos sus planos, se retrajeron ambos cuernos uterinos y se procedió a efectuar ligamiento simple, con compresión parcial del extremo inferior de las arterias uterinas izquierda y derecha. Una vez ligadas las arterias, ambos cuernos uterinos fueron devueltos a la cavidad abdominal y se procedió a suturar por planos.

Con el objeto de descartar posibles efectos de la técnica operatoria, a las madres del grupo sham-operadas, se les realizó la misma práctica operatoria que a las madres operadas, sin el ligamiento de las arterias uterinas.

Al nacimiento, con la finalidad de garantizar la nutrición normal y estandarizar la cantidad de leche ingerida por animal, la camada fue restringida a 8 animales (4 machos y 4 hembras) por nodriza. Cuando el número se redujo por muerte de algún animal, se realizó su reposición por una cría de la misma edad y sexo que no formó parte del grupo experimental.

La determinación del sexo se realizó por observación de la distancia urogenital al momento de nacimiento (4 mm en los machos y 2 a 2,5 mm en las hembras).

Las crías al nacimiento pasaron a constituir uno de los siguientes grupos experimentales:

- 1) Control: Crías provenientes de madres Control, que no recibieron ningún tratamiento hormonal o quirúrgico.
- 2) RPC: Crías provenientes de madres con ligamiento parcial de las arterias uterinas las cuales fueron separadas de acuerdo al sexo y aleatoriamente subdivididas en los subgrupos que se detallan a continuación:
  - a) RPC: sin tratamiento hormonal y/o quirúrgico.
  - b) RPC+GH: crías machos y hembras tratadas con hormona de crecimiento (GH).
  - c) RPC+Ca: crías orquidectomizadas y ooforectomizadas.
  - d) RPC+Ca+GH: crías orquidectomizadas y ooforectomizadas y tratadas con GH.
  - e) RPC+Te: crías machos tratados con testosterona.

RPC+Es: crías hembras tratadas con estradiol.

La composición de la muestra figura en la Tabla 1.

La orquidectomía bilateral (subgrupos c y d) se realizó empleando anestesia Ketalar ( Parke Davis), 50mg/ml en dosis de 0,005ml por cada 100gr de peso, completado con mascarilla de éter etílico. Se practicó en zona ventral baja (region central del hipogastrio), una incisión abdominal de 3 mm de longitud. Una vez externalizados los testículos se procedió a bloquear la arteria testicular antes de la ablación. Posteriormente, se suturó por planos con hilo de sutura (catgut N° 04).

La ooforectomía bilateral (subgrupos c y d) se realizó bajo igual anestesia que la orquidectomía. Se practicó en flancos laterales derecho e izquierdo en el límite con el hipocondrio, mediante incisión abdominal de 3 mm de longitud. Una vez externalizados los ovarios se procedió a bloquear las arterias uterina y ovárica antes de la ablación. Posteriormente, se suturó por planos con hilo de sutura (catgut Nro. 04).

A partir de los 21 y hasta los 60 días de edad, los animales de los subgrupos (b) y (d) fueron inyectados subcutáneamente con GH (Genotropin®, Pharmacia) en dosis de 3.0 mg/kg/día (Kawaguchi et al.,1997; Rol De Lama et al., 2000). En el mismo período las ratas macho pertenecientes al grupo RPC+Te fueron inyectadas con testosterona (Testoviron Depot®, Schering) en dosis de 0.01mg/g/día y las hembras del grupo RPC+Es inyectadas con valerato de

estradiol (Progynon Depot, Shering) en dosis de 0.001mg/g/día (Dahinten y Pucciarelli, 1986).

A fin de descartar la posible acción del diluyente hormonal y las maniobras operatorias de la castración, a las crías provenientes de madres sham (grupo 2), se les practicó la maniobra operatoria de orquidectomía y ooforectomía sin extirpación de las gónadas y se les inyectó el diluyente hormonal en dosis y periodicidad equivalente a los inyectados con GH, Te (machos) y Es (hembras).

A fin de descartar factores producto de la operación materna sobre el amamantamiento, las crías provenientes de madres operadas y sham operadas (grupos 2 y 3), fueron transferidas a madres control el día del nacimiento.

Las madres y las crías de todos los grupos experimentales, luego del destete, recibieron durante el experimento dieta stock ad libitum.

Las comparaciones efectuadas entre los distintos grupos y subgrupos experimentales permitieron despejar los factores que se detallan en la Tabla 2.

### **III)- Obtención de los Datos**

Cada siete días se registró el peso corporal y el consumo alimentario y se calculó el Índice de Consumo Alimentario Relativo (CAR) según la siguiente fórmula:

$$\text{CAR} = 100 * (\text{Consumo alimentario (mg)} / \text{peso corporal (g)}).$$

El índice de masa corporal (IMC) se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IMC} = \text{Peso (g)} / [\text{longitud total (mm)} / 100]^2$$

La longitud total fue calculada como:

$$\text{longitud total} = \text{LN} + \text{LE} + \text{LC}$$

Siendo:

LN= longitud del neurocráneo

LE= longitud el esplacnocraneo

LC= longitud de la columna vertebral

### **Estudio radiológico longitudinal**

Para la realización de mediciones esqueléticas los animales de todos los grupos y subgrupos fueron radiografiados periódicamente en norma superior y lateral a las edades de 1, 21, 42, 63 y 84 días. Para tal fin se empleó un aparato de Rx dental con chasis con pantalla reforzadora de tierras raras y placas de alta sensibilidad.

En cada toma radiográfica se procedió a nivelar el eje de emisión de rayos X en forma vertical. A fin de asegurar la menor distorsión posible de las dimensiones de la bóveda craneana, el animal fue ubicado en norma frontal y lateral situando el foco de emisión en el centro geométrico de la norma craneana correspondiente. Para ello, se utilizaron una plomada sujeta a un cordel

milimetrado con los cuales se calcularon el centro de emisión y la distancia focal en cada toma radiográfica. Las posibles distorsiones de paralaje fueron evaluadas mediante la inclusión de un testigo metálico de dimensiones conocidas.

Desde la perspectiva de la teoría craneano-funcional (van der Klaauw, 1948; Moss y Young, 1960) - entendiéndose que el cráneo consiste en una serie de componentes funcionales cada uno de los cuales soporta o protege específica y operacionalmente relacionado, tejidos blandos denominados matrices funcionales y que todo atributo estructural esquelético refleja las demandas prioritarias de estas matrices - se establecieron dos unidades funcionales: esplanocráneo (asociada a las funciones respiratoria y digestiva) y el neurocráneo (asociada al telencéfalo).

Sobre cada placa radiográfica se relevaron mediante el empleo de un calibre digital Mitutoyo (0.05mm de precisión), las siguientes mediciones:

CRANEANAS:

Neurocráneo:

- (a) longitud (LN) desde el punto medio de la sutura fronto-nasal hasta el opistocráneo.
- (b) ancho (AN): ancho biparietal máximo (eurion-aurion).
- (c) altura (HN): desde la sincondrosis eseno-occipital al vértex.

Esplacnocráneo:

- (a) longitud (LE): desde el punto medio y anterior de los nasales al punto medio de la sutura fronto-nasal.
- (b) ancho (AE): ancho premaxilar máximo.
- (c) altura (HE): desde los primeros molares a la sutura fronto-nasal.

POSTCRANEANAS:

Esqueleto axial:

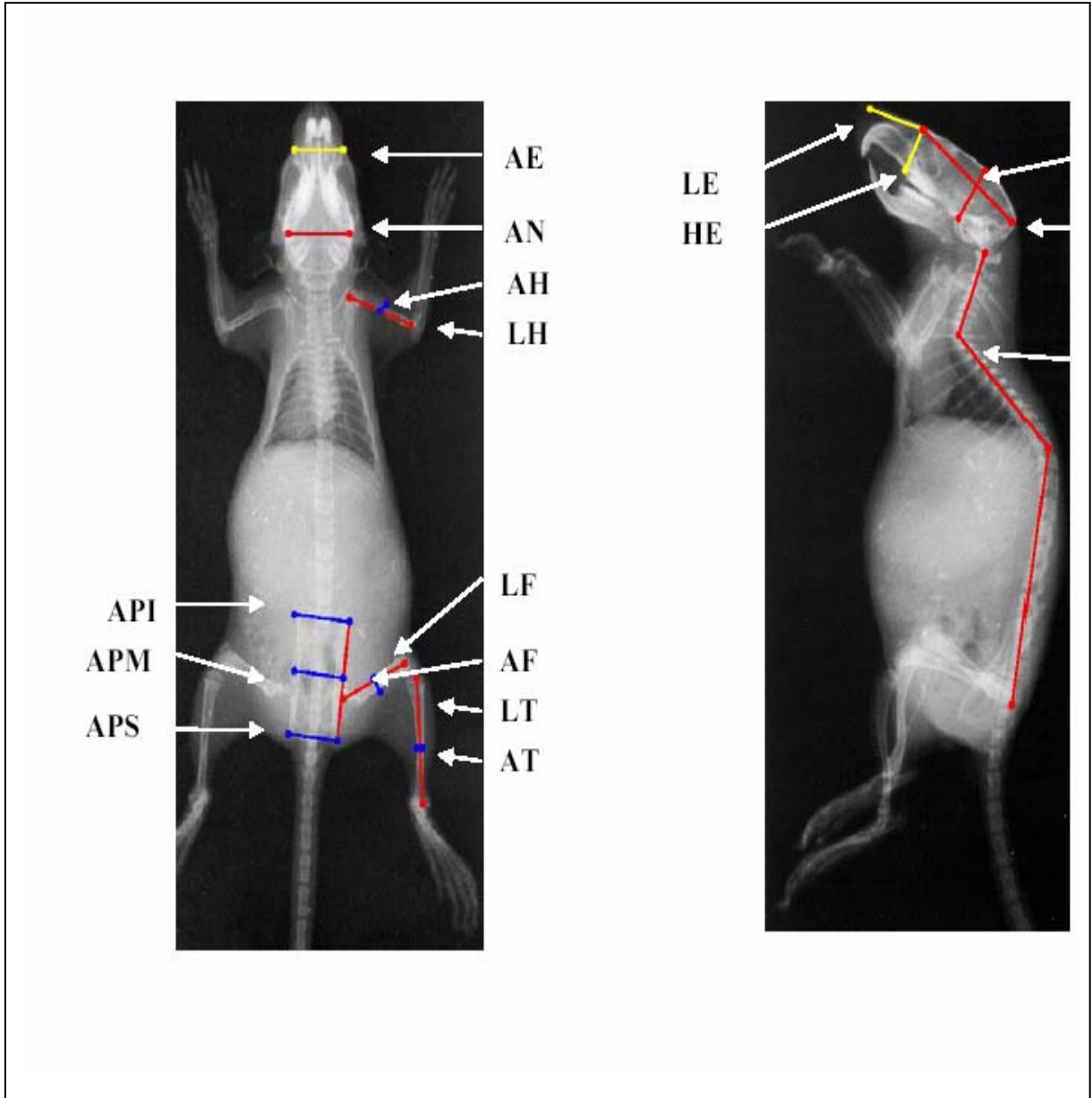
- (a) longitud de la columna vertebral (LC): desde la primera vértebra cervical hasta la última vértebra sacra.
- (b) longitud pélvica (LP): desde el punto anterior del isquion al punto posterior del ilion.
- (c) ancho pélvico superior (APS): ancho máximo del isquion.
- (d) ancho pélvico medio (APM): ancho mínimo interno del pubis.
- (e) ancho pélvico inferior (API): ancho máximo del ilion.

Esqueleto apendicular:

- (a) longitud humeral (LH): desde la cabeza del húmero al cóndilo medial.
- (b) ancho humeral (AH): ancho del húmero en su porción media.
- (e) longitud femoral (LF): desde la cabeza del fémur al punto medio del cóndilo.
- (f) ancho femoral (AF): ancho del fémur en su porción media.
- (g) longitud tibial (LT): desde el extremo medio y anterior tibial al punto medio del maléolo.

(h) ancho tibial (AT): ancho de la tibia en su porción media.

*Relevamiento métrico realizado sobre placas radiográficas*

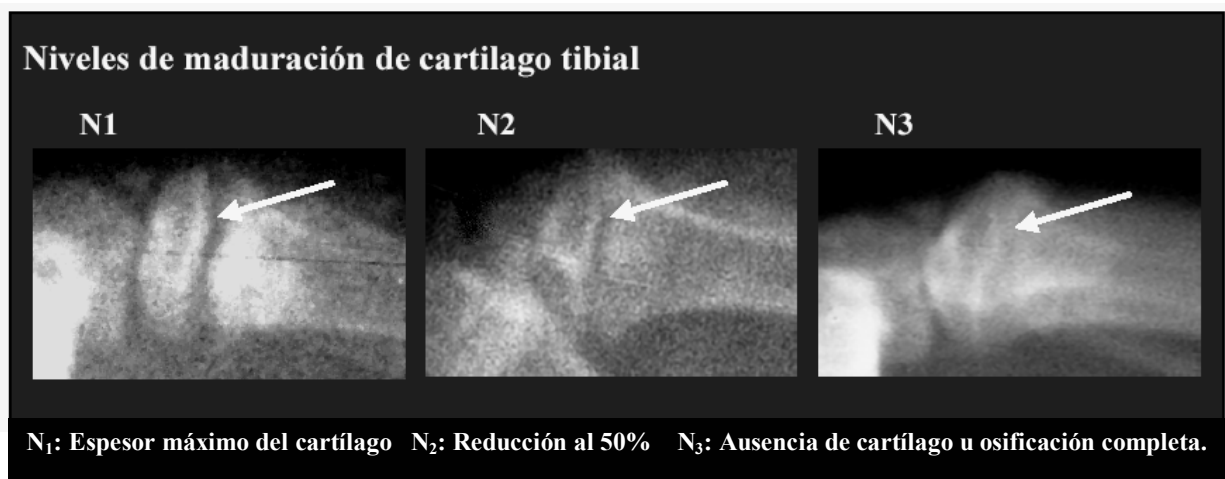


Todas las mediciones fueron realizadas por un mismo observador (el autor de la presente tesis) y repetidas tres veces consecutivas, tomando el valor promedio como dato real.

El error intraobservador fue evaluado, controlado y reducido por entrenamiento hasta alcanzar niveles de estándar de confiabilidad de acuerdo a la metodología de Caino et al. (2002).

### **Estimación de la maduración**

El espesor del cartílago tibial se evaluó longitudinalmente, sobre cada Rx, a los 1, 21, 42, 63 y 84 días de edad. Para su análisis se asumieron tres niveles diferentes de madurez ósea: El nivel 1 (el más inmaduro) representado por el máximo espesor observado del cartílago, el nivel 2 en el cual el cartílago se presenta con una reducción al 50% respecto del observado en el nivel 1 y el nivel 3 en el cual el cartílago ha desaparecido (cierre) el que se asume como el nivel de máxima madurez alcanzado.



Con los datos obtenidos se elaboraron los siguientes índices de tiempo medio relativo de maduración (TMRM) y precocidad (PM)

$$- \text{TMRM} = \frac{T_f - T_i}{T_t}$$

$$- \text{PM} = \frac{T_i}{T_t}$$

Donde:

$T_i$  = Tiempo de inicio de la reducción del cartílago tibial.

$T_f$  = Tiempo de cierre total del cartílago tibial

$T_t$  = Tiempo total del ciclo vital (84 días)

#### 4)- Análisis Estadístico

##### Distribución de datos

La prueba de bondad de ajuste fue desarrollada por Kolmogorov para probar hipótesis acerca de distribuciones continuas. Es una prueba considerada como conservadora, basada en:

$$P(\text{rechazar } H_0 / H_0 \text{ verdadera}) < \alpha \quad (\text{Steel y Torrie, 1980})$$

Este contraste, que es válido únicamente para variables continuas, compara la función de distribución (probabilidad acumulada) teórica con la observada, calculando un valor de discrepancia  $D$  que determina el punto en el que estas dos distribuciones muestran la mayor divergencia, es decir, la

discrepancia máxima en valor absoluto entre la distribución observada y la distribución teórica, proporcionando asimismo un valor de probabilidad P, que corresponde a la probabilidad de obtener una distribución que discrepe tanto como la observada si verdaderamente se hubiera obtenido una muestra aleatoria, de tamaño n, de una distribución normal. Es considerada como uno de los métodos mas adecuados para el análisis de distribución de los datos (Zar, 1984).

En el presente estudio, fue utilizada para determinar la normalidad en los datos correspondientes a peso corporal, consumo alimentario y variables métricas craneanas y postcraneanas.

Aceptando la hipótesis de nulidad que establece una distribución normal de los datos, se consideró que los datos estuvieron normalmente distribuidos cuando su valor crítico fue  $D \leq D_{\alpha}$  siendo  $P \leq 0.01$ .

### **Análisis de la varianza y pruebas de comparación múltiple**

El análisis de la varianza, prueba ideada por Ronald A. Fisher, es esencialmente un procedimiento aritmético que descompone una suma total de cuadrados en componentes asociados con fuentes de variación reconocida (Steel y Torrie 1980).

Sirve para decidir/determinar si las diferencias que existen entre las medias de tres o más grupos (niveles de clasificación) son estadísticamente significativas. En términos sencillos consiste en descomponer la varianza total en varianzas parciales, correspondientes a fuentes distintas de variación, para

establecer si la varianza explicada por los grupos formados es suficientemente mayor que la varianza residual o no explicada.

Donde:

Varianza total: es la suma de cuadrados total dividida por los grados de libertad.

Varianza entre grupos: se suprime la varianza dentro de cada grupo reemplazandolos por la media. Así, en el caso de ser 2 grupos corresponde 1 grado de libertad y cuando son más grupos es igual al número de grupos menos 1.

Varianza dentro de grupos: Suma de cuadrados de cada grupo respecto a su propia media divididos por la suma de grados de libertad.

Luego por medio del estadístico denominado prueba de F, se compararan estas varianzas entre si:

$$F = \frac{\text{Varianza entre los grupos}}{\text{Varianza dentro de los grupos}}$$

y se determina el valor crítico de F para los grados de libertad del numerador y denominador.

En el presente estudio se aplicó el modelo I de Anova, el cual supone que las diferencias entre medias se derivan de efectos de tratamientos fijos determinados previamente por el experimentador (Sokal y Rohlf, 1981; Zar, 1984).

Posteriormente, fue realizado un análisis factorial de la varianza, tomando simultáneamente los factores sexo y tratamiento, permitiendo despejar de la varianza total, las fracciones correspondientes al sexo, tratamiento y su interacción.

La comparación entre las series de mediciones se realizó asumiendo la hipótesis de nulidad la cual considera que los distintos niveles de un factor aplicado no difieren en cuanto a sus efectos sobre una variable determinada.

El rechazo de la hipótesis nula no implicó necesariamente que todas las medias difirieran entre si.

### **Prueba de rango múltiple**

Esta es una prueba apropiada cuando las comparaciones han sido planeadas con sentido en términos de la naturaleza de los tratamientos (Steel y Torrie, 1980).

Un procedimiento recomendado para su realización es efectuar previamente una prueba de tratamientos y solamente continuar si F resulta significativa. Como F conduce a descartar o aceptar una hipótesis que incluye todas las medias, la unidad para comparar la tasa de error ya no es la

comparación sino el experimento. Este procedimiento se conoce como la dms protegida de Fisher.

Una vez determinada la existencia de diferencias significativas entre las medias, es posible profundizar el análisis a través de las denominadas pruebas de rango múltiple, por medio de las cuales se puede identificar las diferencias entre pares de medias con el nivel de significación adecuado.

Uno de los análisis mas utilizados para comparaciones múltiples se basa en la comparación entre medias a través del estadístico t de Student con un nivel de significación ajustado a las múltiples comparaciones.

Para dos poblaciones con medias  $\mu_1$  y  $\mu_2$  bajo la hipótesis nula de no presencia de diferencias, t se define como

$$t = \frac{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2}{S \sqrt{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2}}$$

Siendo

$\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2$  : la diferencia entre dos medias aleatorias de una población normal

$S \sqrt{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2}$  : la desviación estándar apropiada para una diferencia entre dos medias aleatorias de una población normal

Entre las formas de realizar todas las posibles comparaciones por pares de medias figura el cálculo de la diferencia más pequeña que pueda determinarse

como significativa y la comparación con ella del valor absoluto de cada una de las diferencias observadas. El valor muestral de t debería ser igual o mayor que el valor crítico tabulado de t. Para una prueba con nivel  $\alpha$  con alternativas bilaterales, la prueba se declarará significativa cuando:

$$\frac{|\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2|}{S \sqrt{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2}} \geq t_{\alpha/2}$$

ó

$$|\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2| \geq t_{\alpha/2} S \sqrt{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2}$$

El criterio de prueba para examinar las diferencias entre las medias se denomina *diferencia mínima significativa* o dms (en inglés *least significant difference* (LSD)) y está dado por:

$$dsm = LSD = t_{\alpha/2} S \sqrt{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2}$$

$$LSD = t_{\alpha/2} S \sqrt{\frac{2}{r}}$$

Donde S es la raíz cuadrada de la varianza del error combinada.

La tasa de error está dada por comparación que resulta del: número de diferencias erróneas / número de diferencias realizadas, siendo apropiados los niveles de probabilidad tabulados para t.

En el presente estudio cuando se obtuvieron valores de “F” significativos para la varianza en función del sexo y/o tratamiento se aplicó la prueba de rango múltiple LSD.

### **Correlación simple y correlación múltiple para variables métricas óseas**

La correlación es una medida del grado en el que dos variables varían conjuntamente o una medida de la intensidad de su asociación.

El coeficiente de correlación lineal o momento producto es definido por Steel y Torrie (1980) como:

$$r = \frac{\sum xy}{\sqrt{\sum x^2 \sum y^2}} \quad \text{donde:}$$

$$\sum xy = \sum_{i=1}^n (x_i - X)(y_i - Y) \quad \text{: sumatoria de los productos de los desvíos de cada valor respecto a la}$$

media

$$\sum x^2 = \sum_{i=1}^n (x_i - X)^2$$

: sumatoria de los desvíos cuadráticos de la variable x

$$\sum y^2 = \sum_{i=1}^n (y_i - Y)^2$$

: sumatoria de los desvíos cuadráticos de la variable y

Cuando se consideró la interrelación entre tres o más variables fue utilizado el procedimiento denominado correlación múltiple.

Dada una serie de M variables ( X1...Xy), todas las correlaciones posibles entre las mismas dan por resultado una matriz simétrica en donde cada elemento de la diagonal principal  $r_{ii}$  es igual a 1.0 , representando la correlación perfecta positiva de cada variable respecto de si misma. Una característica de esta matriz es que las mitades superior e inferior son idénticas (Zar, 1984).

La matriz de correlación permitió visualizar en forma general las relaciones entre las distintas variables.

Cuando la correlación múltiple se efectuó sobre variables en crecimiento a lo largo de un tiempo T, los valores cercanos a 1 indicaron que las variables cambiaron isométricamente con el tiempo. A este comportamiento se lo

denomina efecto tamaño y depende de que el coeficiente de determinación alcanzado supere el 80% de la variación ( $r \geq 0.90$ ). Por otra parte, cuanto mayor es el valor de la porción no explicable a partir de la covariación, mayor es la influencia del efecto forma (Shea, 1985; Orden et al, 1999).

Cuando la correlación múltiple se efectuó a una edad determinada, el efecto tamaño expresó las relaciones isométricas entre las variables por efecto del tamaño relativo entre las mismas y en este sentido fue considerado como un indicador indirecto del resultado del proceso de crecimiento. Las correlaciones positivas indicaron relaciones simétricas y las negativas asimétricas.

Cuando se evidenció la ruptura del efecto tamaño o de las relaciones de simetría por efecto del tratamiento, se procedió a realizar un análisis de componentes principales a fin de profundizar sobre el análisis de las variables involucradas.

### **Análisis Discriminante**

El Análisis Discriminante (AD), es una técnica inferencial estadística utilizada principalmente para clasificar individuos o unidades experimentales en dos o mas poblaciones definidas de manera única (Fisher, 1936; Johnson, 2001).

El AD construye nuevas variables denominadas funciones discriminantes, que son combinaciones lineales de las variables originales y que tienen la propiedad de maximizar la varianza entre los grupos, minimizando la varianza dentro de grupos. Las funciones son ortogonales e independientes, de tal manera

que, en sus contribuciones a la discriminación entre los grupos no exista superposición.

Con cierta frecuencia es posible interpretar las nuevas variables, lo que incrementa su utilidad. Sin embargo aún cuando estas funciones no puedan interpretarse, el análisis permite visualizar las distancias reales entre las poblaciones que se están investigando en un espacio dimensional reducido.

Usualmente se incluyen en el estudio múltiples variables a fin de determinar cuales contribuyen en la discriminación entre los grupos. En dicho caso se obtiene una matriz de varianza-covarianza total y una matriz de varianza-covarianza intragrupal. Esas dos matrices se pueden comparar por un test de F multivariado a fin de determinar si existen o no diferencias significativas entre los grupos respecto a todas las variables. Este procedimiento es semejante al análisis multivariado de la varianza o Manova. Además es posible obtener valores de  $\chi^2$  a fin de probar el número de funciones que discriminan significativamente entre los grupos. Quedarán incluidas solamente las funciones con valor significativo de discriminación.

El análisis otorga un Lambda de Wilk's total que permite verificar el poder de discriminación del modelo, además de Lambdas parciales asociados a la contribución de cada variable al poder discriminatorio del modelo.

El Lambda de Wilk's para un conjunto de  $p$  variables mide las desviaciones dentro de cada grupo respecto de las desviaciones totales sin distinguir grupos en un espacio  $p$  dimensional generado por los valores de las  $p$

variables. Si dicho valor es pequeño, la variabilidad total será debida a las diferencias entre los grupos y, por lo tanto, el conjunto de variables correspondientes discriminará los grupos.

El análisis permite obtener coeficientes estandarizados para cada variable, en cada función discriminante, los cuales deben ser interpretados como la contribución parcial de cada variable en la función discriminante. De esta forma, cuanto más grande sea el coeficiente estandarizado, mayor será la contribución de la respectiva variable en la discriminación entre grupos.

Se puede identificar la naturaleza de la discriminación para cada función observando las medias de los grupos para las funciones. Es posible visualizar cómo dos funciones discriminan entre grupos realizando una graficación de los puntajes individuales para las dos funciones discriminantes dadas.

La determinación de las variables que definen una función discriminante particular es a través de la observación de la estructura de factor (*factor structure*). El coeficiente de estructura de factor (*factor structure coefficient*) es la correlación, en el modelo, entre las variables y la función discriminante. Puede asimilarse al Análisis de Componentes Principales, considerando que dicha correlación es la “carga” de las variables en cada función discriminante.

El AD constituye en consecuencia, un método inferencial que permite concluir la existencia de diferencias reales entre los grupos evaluados, discriminar unidades experimentales en poblaciones definidas por el tratamiento y determinar entre que grupos las funciones respectivas permiten discriminar

mediante la graficación de las funciones discriminantes significativas. Finalmente, se pueden identificar “significados” para las funciones, los cuales resultan de gran utilidad a la hora de interpretar las diferencias.

### **Análisis de Componentes Principales (ACP)**

El análisis de componentes principales (ACP) es un método de ordenación descrito por Karl Pearson (1901), utilizado para reducir el número de variables y para detectar estructuras de correlación entre las mismas. El ACP es una herramienta estadística normalmente utilizada para analizar datos de variables múltiples correlacionadas entre sí, de tal manera que al crear nuevas variables hipotéticas no correlacionadas, denominadas “componentes principales” se puede reducir la dimensionalidad del conjunto de datos (Hotelling, 1933; Jackson, 2003 ).

Aunque no siempre es posible ni necesario interpretar los componentes principales, cuando esto es factible, se pueden elaborar explicaciones de conjunto en relación a la naturaleza de las variables involucradas y las agrupaciones de las unidades experimentales (Johnson, 2001; Pucciarelli, 1993a).

Este análisis permite comprender mejor la estructura de correlación entre las respuestas. Además, las calificaciones de las componentes principales pueden ser utilizadas en programas estadísticos para validar los resultados de programas de agrupación o contrastarlas con factores externos al análisis.

El ACP puede realizarse sobre una matriz de varianza-covarianza o de correlación. Si una variable tiene una varianza mayor que el resto, dominará notoriamente el primer componente principal, independiente de la estructura de la covarianza de las variables (Johnson, 2001).

Cuando se realiza sobre los datos estandarizados, se obtendrá un ACP sobre la matriz de correlaciones. En este caso la varianza de cada variable estandarizada es igual a 1.

Es de suma importancia al realizar el ACP determinar la dimensionalidad real de los datos, es decir, el número de componentes principales que se tomarán del análisis. Si bien existen varios métodos utilizados para la toma de decisión, deberá tenerse en cuenta que a medida que se incrementa el número de componentes, se reduce la capacidad explicativa de cada uno.

Uno de los métodos se basa en tomar el mayor porcentaje posible de la variabilidad total, idealmente el 100%, procedimiento que puede acrecentar demasiado el número de componentes. Un modo eficaz de decidir el número de componentes es a través de una gráfica de autovalores, que se construye situando el valor de cada autovalor con el recíproco. Cuando los puntos de la gráfica tienden a nivelarse, estos autovalores están suficientemente cercanos a cero como para poder ignorarse.

En el caso de realizar un ACP sobre datos estandarizados, existe un tercer método que consiste en tomar los componentes con autovalores mayores que 1, siendo la varianza de cada variable estandarizada igual a 1 y, por lo tanto, no se

consideran aquellos componentes que no puedan explicar más variación que una variable por sí misma.

En el presente estudio el ACP permitió el agrupamiento de unidades experimentales en subgrupos por similitud en el comportamiento de las variables, profundizando el análisis en la estructura de correlación entre las respuestas. Posibilitó además, contrastar variables métricas con las obtenidas para maduración. Con los tres primeros ejes del ACP para cada sexo y los índices de maduración y precocidad, se realizaron correlaciones de Spearman. Se realizaron tres ACP a saber:

- 1) ACP estandarizado para determinación de efectos de cada tratamiento.
- 2) ACP estandarizado para comparación global entre sexos y tratamientos.
- 3) ACP sin estandarizar para cada sexo, utilizado para extraer componentes y correlacionar con índices de maduración tibial.

### **Analisis de los datos de maduración**

Los datos obtenidos en la medición del espesor del cartílago tibial son datos de carácter enumerativo. En los datos de enumeración se realiza una clasificación por atributos siendo uno de las principales características el hecho de que los individuos estudiados varían de forma discreta. El análisis de los datos enumerativos implica el uso de tablas de contingencia.

Una tabla de contingencia es una clasificación múltiple que proporciona una técnica para la investigación de relaciones cuya existencia se sospecha (Mood y Graybill, 1978).

El procedimiento más utilizado para analizar datos en tablas de contingencia es el estadístico denominado  $\chi^2$  (chi cuadrado), una prueba que permite determinar si las frecuencias observadas difieren significativamente de las frecuencias esperadas (Moroney, 1970).

La técnica de  $\chi^2$  ( $X^2$ ) se basa en la comparación de los números efectivamente observados en ciertas clases de objetos, con los números teóricos calculados para esa clase según cierta hipótesis de la siguiente forma:

$$X^2 = \sum \frac{(x)^2}{m}$$

En donde  $m$  es el número teórico de una clase y  $m+x$  es el número observado (Lison, 1968).

En otros términos (Steel and Torrie, 1980) esta prueba puede ser definida como:

$$X^2 = \sum \frac{(\text{Observados} - \text{Esperados})^2}{\text{Esperados}}$$

La presencia de ceros en una tabla suelen ocasionar una serie de problemas vinculados al análisis de datos, dependiendo de si los mismos son ceros estructurales o ceros maestres. Los ceros estructurales son valores

imposibles desde el punto de vista teórico. Sin embargo en muchos casos, aunque una celda está vacía, su probabilidad real es positiva, de tal manera que es teóricamente posible tener observaciones en la celda y de hecho, un conteo positivo ocurrirá cuando la muestra sea lo suficientemente grande. A estos se los denomina ceros maestres ya que poseen baja probabilidad y se manifiestan como tales en las pequeñas muestras (Agresti, 1996).

Un cero muestral es parte del conjunto de datos y contribuye a la función de probabilidad. Un cero estructural, por otro lado, no es una observación y por lo tanto no es parte del conjunto de datos.

Por otro lado, las celdas vacías en las tablas de contingencia pueden generar problemas en los estimadores y empobrecer las aproximaciones en términos de la bondad de ajuste de los  $\chi^2$ . Un remedio para superar el problema de estimación es agregar una constante pequeña al conteo de las celdas antes de realizar un análisis. Agresti (1996) propone como solución agregar  $\frac{1}{2}$  por cada celda, operación que constituye una solución fuertemente conservadora y por lo tanto implica el riesgo de encubrir la existencia de efectos reales.

En el presente estudio, en razón de la naturaleza exigua de algunas frecuencias de estados de maduración, en las edades de 63 y 84 días los datos fueron comparados por el método de  $\chi^2$  ajustado según la recomendación de Agresti (1996). Los datos de las edades 1, 21 y 42 no fueron comparados por no presentar varianzas.

## Correlación de Speerman

El coeficiente de correlación de Speerman se aplica a datos en forma de rangos y, a diferencia del coeficiente de correlación  $r$ , no exige suponer una distribución normal bivariante. Dicho coeficiente, en tanto mide la correspondencia entre rangos, no es necesariamente una magnitud de correlación lineal (Steel and Torrie 1980). Se define por:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{(n-1)n(n+1)}$$

$r_s$  = coeficiente de correlación de rangos de Speerman

$d_i$  = diferencia para el  $i$  enésimo par ( diferencia en rangos para las observaciones pareadas)

$n$  = número de  $d$

En donde:

$$t = r_s \sqrt{\frac{n-2}{1-r_s^2}}$$

Se distribuye como una  $t$  de Student con  $n-2$  grados de libertad.

Al igual que el coeficiente de correlación de Pearson, los valores del coeficiente de Spearman oscilan entre 1 y -1, pudiendo ser interpretados del mismo modo. Valores próximos a 1 indican una correlación fuerte y positiva. Valores próximos a -1 indican una correlación fuerte y negativa (Conover, 1998).

### **Tamaño Muestral:**

El calculo del tamaño muestral se encuentra definido por:

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 * S^2}{d^2}$$

( $Z_{\alpha}$ ) = Nivel de confianza o seguridad (1- $\alpha$ ). para una seguridad del 99% = 2.58.

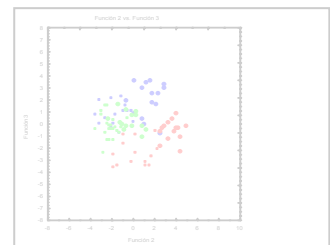
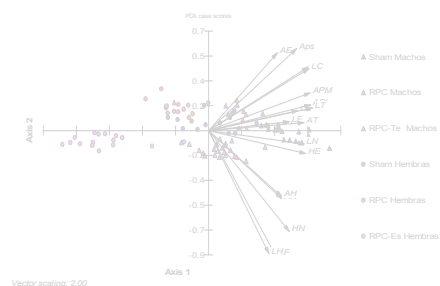
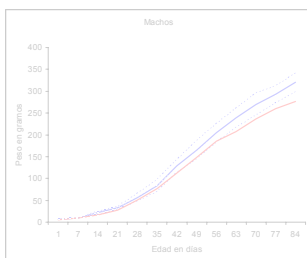
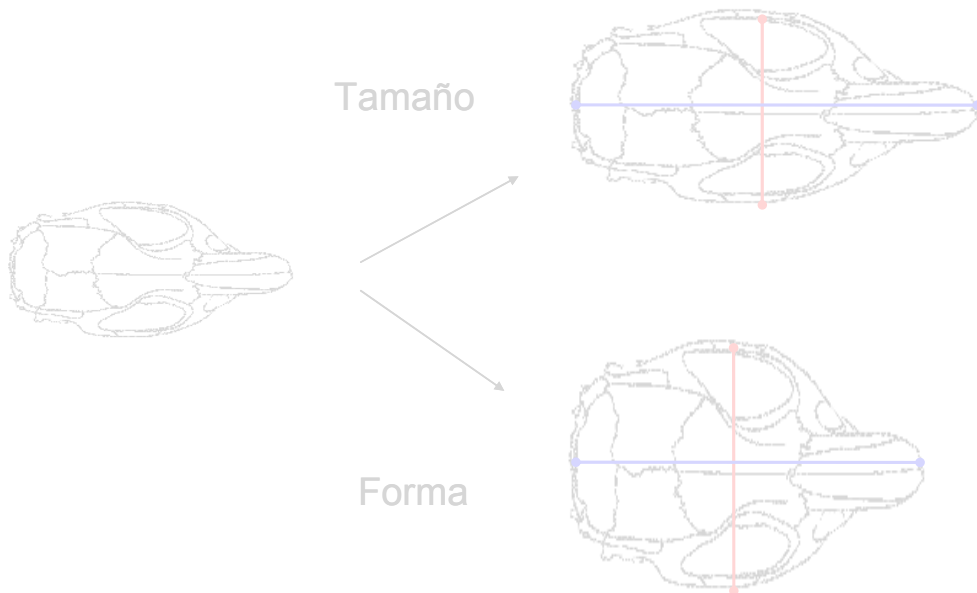
$d$  = La precisión con que se desea estimar el parámetro.

$S^2$  = La varianza de la distribución de la variable cuantitativa.

En el presente estudio se calculó el tamaño muestral a partir de la variación que presentó el grupo sham, ajustado para pequeñas muestras con iteraciones para hallar diferencias significativas superiores al 1% . Esto dio como resultado un  $n$  ideal de 12 animales por grupo, por sexo.

# CAPITULO III

## Resultados



*Todo lo que parece desorden, inversión, anomalía, entra sin cesar en el orden mismo y hasta concurre a él.*

Jean Baptiste de Monet. Filosofía zoológica.

## RESULTADOS

### 1. Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov

La prueba de Kolmogorov-Smirnov ( $p \leq 0.05$ ) indicó distribución normal para peso e índice de masa corporal, consumo alimentario, neuro y esplacnocráneo y esqueleto postcraneano. Las excepciones se presentaron en: peso corporal a los 7 y 14 días de edad; consumo alimentario absoluto a los 35, 49, 77 y 84 días y relativo a los 28 y 63 días de edad. A nivel craneano las diferencias significativas sólo se presentaron en la altura del neurocráneo y el ancho del esplacnocráneo al día 1 y en la altura del esplacnocráneo a la edad de 84 días. Por último en el postcráneo hubo diferencias en ancho y longitud del fémur del húmero al día 1 de edad; el ancho de la tibia a los 1, 21, 63 y 84 días de edad; la longitud de la tibia al día 1 y el ancho pélvico superior a los 42 días de edad (Tablas 3 y 4 AyB).

### 2. Análisis de la Varianza

El análisis de la varianza mostró diferencias altamente significativas para edad, sexo y tratamiento en todas las variables analizadas. En cuanto a la interacción sexo-tratamiento, a excepción del CAR, ancho del neurocráneo y longitud y altura del esplacnocráneo las restantes variables presentaron diferencias significativas (Tabla 5).

### **3. Comparaciones Post Hoc – Prueba de Rango Múltiple (LSD)**

#### **3.1. Efecto Sham (Comparación Control - Sham)**

La prueba de rango múltiple para peso corporal mostró, en machos, diferencias significativas a los 7, 21, 35, 77 y 84 días de edad. En el caso de las hembras, las diferencias se presentaron a las edades de 7, 21 y 28 días (Tabla 6). Los valores promedios en ganancia de peso corporal se presentan en las Figuras 1 A y B.

Sólo hubo diferencias significativas en hembras para consumo alimentario relativo a los 28 días de edad e índice de masa corporal a los días 1 y 21 (Tabla 6).

Respecto de las mediciones craneanas, los machos presentaron diferencias significativas en longitud del neurocráneo a los 1, 63 y 84 días de edad y en los anchos neuro y esplanocraneanos a la edad de 84 días. Las hembras en cambio, mostraron diferencias en la altura del neurocráneo a los 1 y 21 días, en el ancho del esplanocráneo a los 1, 42, 63 y 84 días y en la altura del esplanocráneo al día 1 de edad (Tabla 7).

En las mediciones postcraneanas los machos presentaron diferencias significativas en longitud del fémur a los 1 y 84 días de edad; ancho del fémur a los 84 días; longitud del húmero a los 63 días; ancho del húmero a los 42 días; ancho de la tibia a los 21, 42 y 84 días y longitud de la columna a los

21 días. Las hembras presentaron diferencias significativas para longitud del fémur a los 21 días; longitud de la tibia a los 63 días; ancho de la tibia a los 21, 42, 63 y 84 días y longitud de la columna al día 1 y 21 de edad. En la pelvis de machos hubo diferencias significativas en longitud (21 y 63 días), anchos pélvicos inferior y medio (84 días) y en el superior (63 y 84 días) y de hembras sólo hubo diferencias en el ancho pélvico superior (21 y 63 días) (Tabla 8).

### **3.2. Efecto del RPC inducido (Comparación Sham- RPC)**

La comparación entre machos Sham-operados, respecto de los con RPC, mostró en el peso corporal diferencias significativas con valores positivos en la mayoría de las edades a excepción de los 7 días. En hembras, las diferencias significativas con valores positivos se presentaron a las edades de 1, 14, 21, 63, 70, 77 y 84 días (Tabla 9). Los promedios de peso de los animales con RPC fueron inferiores a los sham en todas las edades y en ambos sexos (Figura 2 A y B).

El CAR mostró en los machos diferencias significativas con valores negativos en las edades de 63 y 77 días. En las hembras las diferencias se presentaron en las edades de 28, 70, 77 y 84 días. Excepto a la edad de 70 días, en la que se observaron valores positivos, en las restantes edades todos los valores fueron negativos (Tabla 9).

Hubo diferencias significativas y positivas en el IMC a las edades de 1, 21, 63 y 84 días en los machos y de 1 y 21 días (éste último con valores negativos) en las hembras (Tabla 9).

Al nacimiento, hubo diferencias significativas y positivas en la mayoría de las variables craneanas. Las excepciones fueron el ancho del neurocráneo en machos y la altura del esplacnocráneo en ambos sexos. A partir de los 21 días y hasta los 84 días de edad, la totalidad de las variables neurocraneanas, tanto de machos como de hembras, presentaron diferencias significativas. En el esplacnocráneo en cambio, hubo en machos diferencias significativas en longitud y ancho (1 y 21 días) y en altura (21, 63 y 84 días) y en hembras en la mayoría de las variables a excepción del ancho (21 días) y la altura (1 día) (Tabla 10).

En el postcráneo, los machos presentaron diferencias significativas en la longitud del fémur a los 1 y 84 días de edad; anchos de fémur y húmero entre 1 y 84 días; longitud de húmero a los 1, 21 y 63 días; longitud de tibia a los 1, 21 y 84 días; ancho de tibia a los 1, 21, 42 y 84 días; longitud de columna a los 1, 21, 42 y 84 días; longitud de la pelvis a los 1, 21 y 84 días; anchos pélvicos inferior y medio a los 1, 21, 63 y 84 días y ancho pélvico superior a los 1, 21 y 84 días. Las hembras mostraron diferencias significativas en la longitud de fémur a los 1, 21, 42 y 63 días de edad; ancho del fémur entre 1 y 84 días; longitud de húmero a los 1 y 21 días; ancho de

húmero a los 1, 21, 63 y 84 días; longitud de tibia a los 1, 21, 42 y 84 días; ancho de tibia a los 1, 21, 63 y 84 días; longitud de columna y pelvis entre 1 y 84 días; ancho pélvico inferior a los 1, 21 y 84 días y anchos pélvicos superior y medio a los 1, 21, 63 y 84 días (Tabla 11).

### **3.3. Efecto de la GH**

#### **3.3.1. Comparación RPC-RPC+GH**

La comparación entre grupos con RPC y con RPC tratados con GH mostró para peso corporal en machos diferencias significativas y positivas sólo a los 28 días. En hembras en cambio, las diferencias se presentaron a los 56 y entre los 70 y 84 días, con valores negativos (Tabla 12, Figura 3 A y B).

El CAR mostró sólo diferencias significativas a los 70 días en los machos (negativas) y a los 84 en machos (positiva) y hembras (negativa) (Tabla 12).

En el IMC hubo diferencias significativas y de signo negativo a la edad de 1 día en machos y hembras y positivo a los 21 días en hembras y 42 días en machos (Tabla 12).

A nivel craneano, en los machos se presentaron diferencias significativas con valores negativos en longitud de neurocráneo a los 84 días de edad y en altura de neurocráneo a los 63 y 84 días, positivos en longitud y ancho y negativos en la altura del esplacnocráneo, a los 84 días. En hembras,

se observaron valores negativos con diferencias significativas en longitud de neurocráneo desde los 42 hasta los 84 días de edad y en altura del neurocráneo a los 63 y 84 días. El ancho del esplacnocráneo en cambio, mostró valores positivos significativos desde los 42 y hasta los 84 días de edad. La altura del esplacnocráneo mostró diferencia significativa y valor negativo a los 63 días (Tabla 13).

Los machos con RPC respecto de los RPC tratados con GH mostraron diferencias significativas y valores negativos en ancho femoral (42 y 63 días de edad); ancho humeral (42 y 84 días); longitud tibial (84 días); longitud pélvica (84 días); ancho pélvico inferior (84 días) y ancho pélvico superior (63 y 84 días) y valor positivo en longitud humeral (63 días). También existieron diferencias significativas con valores negativos en la longitud femoral de las hembras (63 días); ancho femoral y longitud y ancho humeral (84 días); longitud tibial (63 y 84 días); ancho tibial y longitud pélvica (42-84 días), anchos pélvico inferior (63 y 84 días); medio (63 y 84 días) y superior (42-84 días) y en la longitud de la columna (63 días) (Tabla 14).

### **3.3.2. Comparación Sham-RPC+GH**

La comparación del peso corporal entre grupos Sham y con RPC tratados con GH indicó en machos diferencias significativas y positivas para todas las edades. En las hembras en cambio, las diferencias se presentaron a

los 28 días, no mostrando significación en el resto de las edades comparadas (Tabla 15). Esta respuesta diferencial entre sexos se observó claramente en las curvas de promedio de peso corporal (Figura 4 A y B).

El CAR mostró diferencias significativas negativas en los machos a los 63 y 77 días de edad, mientras que en las hembras las diferencias se observaron a los 42, 49 y 56 días con valores positivos y a los 77 y 84 con valores negativos (Tabla 15).

El índice de masa corporal en los machos presentó diferencias significativas y positivas entre los 42 y 84 días de edad, mientras que en las hembras no se constataron diferencias (Tabla 15).

Respecto a las variables craneanas, los machos mostraron diferencias significativas positivas en la longitud del neurocráneo a los 42 días de edad; ancho del neurocráneo desde los 42 y hasta los 84 días; altura del neurocráneo y longitud del esplacnocráneo a los 42 días; ancho del esplacnocráneo a los 84 días y altura del esplacnocráneo a los 42 y 63 días (Tabla 16).

Las hembras presentaron diferencias negativas en la longitud del neurocráneo a los 84 días de edad y positivas en el ancho del neurocráneo a los 42, 63 y 84 días; en la altura del neurocráneo a los 42 y 63 días y en la longitud del esplacnocráneo a los 42 días (Tabla 16).

Respecto a las variables postcraneanas, los machos mostraron diferencias significativas positivas en la longitud del fémur a los 42 días de

edad; ancho del fémur a los 63 y 84 días; longitud del húmero a los 84 días; ancho del húmero a los 63 días; longitud de la pelvis a los 63 días; ancho pélvico inferior a los 84 días y ancho pélvico medio y longitud de columna desde los 42 y hasta los 84 días de edad. En las hembras también hubo diferencias significativas positivas para longitud de fémur a los 42 días de edad y negativas para los anchos pélvico inferior (63 días) y superior (42 días) (Tabla 17).

### **3.4. Efecto de la Castración (Comparación RPC- RPC+Ca)**

En machos hubo diferencias significativas y positivas en peso corporal desde los 28 y hasta los 84 días de edad. Las hembras en cambio, mostraron diferencias significativas y positivas desde la edad de 28 días y hasta la de 49 días y negativas los 84 días (Tabla 18, Figura 5 A y B).

Tanto los machos como las hembras castrados mostraron valores de CAR negativos y significativos desde la edad de 28 días y hasta la de 70. Las hembras presentaron además diferencias significativas positivas a los 84 días (Tabla 18).

El índice de masa corporal en los machos mostró diferencias significativas con valores positivos a los 21-84 días y en las hembras a los 21 días, siendo negativo a los 84 días (Tabla 18).

A nivel craneano en los machos las diferencias significativas (positivas) correspondieron a las edades de 63 y 84 días para la longitud de neurocráneo; 42-84 para longitud del esplacnocráneo y 84 para el ancho esplacnocraneano. En ancho y altura del neurocráneo se presentaron diferencias significativas y valores negativos a los 42-84 días y en hembras en longitud del neurocráneo a los 84; ancho del neurocráneo y altura del neurocráneo desde los 42 y hasta los 84 días; longitud del esplacnocráneo a los 84 días y altura del esplacnocráneo a los 63 y 84 días de edad (Tabla 19).

En machos se presentaron diferencias significativas y valores positivos en longitud de fémur a los 42 y 63; ancho de fémur a los 42; ancho de húmero a los 42 y 63; longitud de la tibia a los 42-84; ancho de tibia a los 42 y 63; longitud de pelvis a los 42-84; anchos pélvico inferior, medio y superior 42-84 y longitud de la columna a los 42-84 días de edad. En hembras hubo diferencias significativas y valores positivos en longitud y ancho de fémur a los 42; ancho de húmero a los 42; longitud de pelvis a los 42 y 63; anchos pélvico inferior y medio a los 42 y superior 42 y 63 y longitud de la columna a los 42 y 63 días de edad. Se presentaron además, diferencias significativas negativas para ancho de fémur a los 84 días; longitud de húmero a los 63 y 84 días y longitud de tibia a los 84 días (Tabla 20).

### **3.5. Efecto de la Castración y tratamiento con GH (Comparación RPC-RPC+Ca+GH)**

Para el peso corporal en los machos las diferencias significativas con valores positivos correspondieron a los 28 y a los 49 a 84 días de edad y en hembras sólo a los 28 días (Tabla 21, Figura 6 A y B).

Para el CAR, se presentaron diferencias significativas (con valores negativos) en machos a los 35-56 y 70 y en hembras a los 28-42, 56-70 y 84 días de edad (con valores positivos) (Tabla 21).

Para el índice de masa corporal los machos presentaron diferencias significativas con valores positivos a los 63 y 84 días y negativos a los 21 días de edad. En las hembras hubo diferencias significativas negativas a los 63 días de edad (Tabla 21).

A nivel craneano los machos mostraron diferencias significativas con valores negativos en el ancho y la altura del neurocráneo y ancho del esplacnocráneo a los 42-84 días de edad y positivos en la longitud del esplacnocráneo a los 84 días. En hembras se presentaron valores negativos con diferencias significativas en el ancho y la altura del neurocráneo y altura del esplacnocráneo a los 42-84 días y valores positivos en la longitud del esplacnocráneo a los 42 días y el ancho del esplacnocráneo a los 63 y 84 días (Tabla 22).

En las mediciones postcraneanas los machos mostraron diferencias significativas con valores negativos en longitud femoral a los 84 días; ancho femoral a los 63 y 84 días y longitud humeral a los 42-84 días y con valores positivos en ancho humeral a los 42 y 63 días; longitudes tibial y pélvica y anchos pélvico inferior y medio a los 42-84 días; ancho pélvico superior a los 42 y 63 días y longitud de la columna a los 63 días de edad (Tabla 23).

En las hembras los valores negativos significativos correspondieron a longitud y ancho femoral a los 84; longitud humeral a los 42-84 y longitud y ancho tibial a los 63 y 84 días de edad y positivos en anchos femoral, humeral y pélvicos inferior y medio a los 42 días y longitud pélvica a los 84 días (Tabla 23).

### **3.6. Efecto de las hormonas gonadales (Comparación RPC-RPC+Es/Te)**

Respecto al peso corporal los machos mostraron valores positivos significativos a los 28 y 56-84 días y las hembras desde los 28 y hasta los 84 días de edad (Tabla 24) (Figura 7 A y B).

Para el CAR se presentaron diferencias significativas con valores negativos en machos a los 28-70 y 84 días de edad y en hembras desde los 35-63 y a los 77 días de edad (Tabla 24).

El índice de masa corporal mostró en los machos diferencias significativas con valores negativos al día 1 y a los 42 días y positivos a los 84

días. En hembras se presentaron diferencias significativas positivas a los 63 y 84 días de edad (Tabla 24).

A nivel craneano, en los machos se presentaron diferencias significativas con valores negativos en el ancho y la altura del neurocráneo a los 42 y 63 días de edad y con valores positivos en la longitud del neurocráneo a los 84 días; la longitud del esplacnocráneo a los 42 y 84 días y el ancho del esplacnocráneo a los 84 días de edad. En hembras en cambio se observaron diferencias significativas con valores negativos en el ancho del neurocráneo a los 42 y 63 días y la altura del neurocráneo a los 63 días y con valores positivos en la longitud del neurocráneo y altura del esplacnocráneo a los 84 días y longitud y ancho del esplacnocráneo desde los 42-84 días (Tabla 25).

En las mediciones postcraneanas los machos presentaron diferencias significativas con valores negativos en el ancho del fémur a los 63 y 84 días; la longitud del húmero desde los 42 y hasta los 84 días y el ancho del húmero a los 84 días y con valores positivos en la longitud del fémur a los 63 días; las longitudes de tibia y de pelvis y columna a los 63 y 84 días; el ancho pélvico inferior a los 84 días; los anchos pélvicos medio y superior desde los 42 y hasta los 84 días de edad. En las hembras, hubo diferencias significativas con valores positivos en longitudes de fémur, tibia, pelvis y columna y anchos pélvicos inferior, medio y superior a los 42-84 días; el ancho del húmero a los

42 y 63 días y el ancho de la tibia a los 63 y 84 días. El ancho del fémur mostró diferencias significativas con valor negativo a los 84 días (Tabla 26).

#### **4. Correlación múltiple**

##### **4.1. Correlación múltiple para crecimiento**

Todos los valores de los coeficientes para la matriz de correlación en crecimiento, tanto de machos como hembras, mostraron correlación positiva altamente significativa. Los valores oscilaron entre 0.76 y 1.00 en machos y entre 0.72 y 1.00 en hembras (Tabla 27).

Ambas matrices mostraron la misma estructura respecto a los coeficientes que no alcanzaron el valor esperado para efecto tamaño ( $r \geq 0.90$ ) para los anchos humeral y neurocraneano y la altura neurocraneana. Las hembras sin embargo, tuvieron valores menores respecto a los machos (Tabla 27).

##### **4.2. Correlación múltiple a la edad final del experimento**

En los machos, aproximadamente la mitad de los valores de la matriz tuvieron correlaciones positivas, presentando además un gran número de variables no correlacionadas. La longitud humeral se correlacionó negativamente con la longitud y ancho tibial, la longitud de la columna, la longitud pélvica y los anchos pélvico inferior, medio y superior. La longitud

femoral se correlacionó negativamente con la longitud pélvica. Las hembras presentaron correlación positiva entre la mayoría de las variables, a excepción del ancho y altura neurocraneana y el ancho femoral (Tabla 28).

## **5. Análisis de Componentes Principales y Discriminante a la edad final del experimento**

La longitud de la columna mostró, para ambos sexos, una varianza notoriamente mayor que el resto de las variables (Figura 8), situación que no pudo ser corregida por logaritmicación. A fin de evitar que dicha variable tomara preponderancia sobre el primer componente se decidió realizar el análisis de componentes principales (ACP), con datos estandarizados. La estandarización no afectó la estructura de agrupamientos para ninguno de los componentes extractados, resultando los mismos sistemas de agrupamientos que en el ACP sin estandarizar. Sin embargo la estandarización permitió amortiguar el gran efecto sobre el primer factor causado por la longitud de la columna.

### **5.1. Efecto del RPC**

El primer eje del análisis de ACP capturó el 62% de la variabilidad con un eigenvalor de 10,5 (Tabla 29). Todas las variables se correlacionaron positivamente con este eje, exhibiendo una relación de correlación isométrica

entre las mismas, conduciendo a definir este primer eje por su efecto tamaño (Figura 9 A).

El eje 2 capturó un 8,5% más de variabilidad en relación a la forma, y mostró un eigenvalor de 1,44 separando a los animales Sham de los con RPC (Tabla 29; Figura 9 A).

El eje 3 obtuvo 5,5% de la variación total, exhibió un eigenvalor menor que 1 y mostró escaso ordenamiento distinguible entre los grupos (Tabla 29, Figura 9 B).

El resto de los ejes y al igual que el eje 3, no separaron a los grupos, acumularon escaso porcentaje de varianza y sus eigenvalores resultaron ser menores que 1, por lo que se decidió reducir la dimensionalidad de los datos a los 2 primeros ejes (Figura 9 B).

El análisis discriminante mostró significación tanto para el modelo general como para las tres funciones resultantes, las cuales explicaron en forma acumulativa el 75, 94 y 100% de la variación total (Tabla 30).

Los coeficientes de correlación de cada variable para las tres funciones se muestran en la Tabla 30. Se observó que la primer función quedó definida en orden decreciente por las longitudes tibial y pélvica y el ancho pélvico inferior, todas correlacionadas positivamente, mostrando un gran poder discriminatorio entre sexos. La segunda función, se definió por la longitud tibial y el ancho esplanocraneano ambos con valores negativos, permitiendo

discriminar a los animales con RPC de los animales Sham (Figura 10 A). Por último, la tercera función quedó definida por el ancho esplanocraneano correlacionada positivamente y por la longitud pélvica negativamente. Esta última función solo separó machos de hembras con RPC (Figura 10 B).

## **5.2. Efecto de la GH en sustrato de RPC**

El primer eje del ACP capturó el 54,2% de la variabilidad y mostró un eigenvalor de 9,2 (Tabla 31). Todas las variables se correlacionaron positivamente con este eje, exhibiendo una correlación isométrica o efecto tamaño (Figura 11 A).

La mayor parte de la variación respecto al tamaño correspondió a diferencias sexuales, ya que todos los machos resultaron con mayor tamaño que las hembras. Entre los machos el mayor tamaño correspondió a los Sham, siguiendo en forma decreciente RPC+GH y RPC. Las hembras Sham y RPC+GH resultaron iguales y mayores que RPC.

El eje 2 capturó un 7,5 % más de variabilidad y la varianza en relación a la forma, agrupando a todos los Sham con RPC+GH en un sólo conglomerado y separando a los RPC (Figura 11 A y B).

El eje 3 obtuvo 5,8% de la variación total y mostró escaso ordenamiento distinguible entre los grupos (Figura 11 B).

El resto de los ejes no separó a los grupos, acumuló escaso porcentaje de varianza y sus eigenvalores resultaron ser menores que 1, por lo que se decidió reducir la dimensionalidad de los datos a los 3 primeros ejes.

El análisis discriminante mostró significación tanto para el modelo general como para las cinco funciones resultantes, las cuales explicaron en forma acumulativa el 66, 84, 93, 97 y 100% respectivamente de la variación total. Para definir la dimensionalidad del modelo se utilizó el método de los eigenvalores estandarizados, por el cual se seleccionaron las primeras tres funciones (Tabla 32).

Los coeficientes de correlación de cada variable para las tres primeras funciones se muestran en la Tabla 32. Se observó que la primera función quedó definida en orden decreciente por las longitudes tibial y pélvica, anchos pélvicos superior y medio, femoral, longitud femoral y ancho neurocraneano, todas correlacionadas negativamente, mostrando un gran poder discriminatorio entre sexos. La segunda función, se definió por el ancho pélvico superior correlacionado negativamente mientras que la longitud tibial y el ancho esplacnocraneano, lo fueron positivamente. Esta función discriminó a los animales RPC del resto. Por último, la tercera función quedó definida por los anchos femoral, pélvico medio y neurocraneano, longitud humeral, ancho y longitud esplacnocraneana todas correlacionadas

negativamente. Esta última función solo separó a los machos Sham de los machos con RPC+GH (Figura 12 A y B).

### **5.3. Efecto de la Castración**

El primer eje del ACP capturó el 47,8% de la variabilidad y mostró un eigenvalor de 8,13. Todas las variables se correlacionaron positivamente con este eje (Tabla 33).

La variación respecto al tamaño no correspondió totalmente a diferencias sexuales, ya que los machos Sham y con RPC resultaron con mayor tamaño que las hembras de su grupo, mostraron los machos y hembras con RPC+Ca tamaños similares (Figura 13 A).

La ordenación por tamaños mostró a los machos Sham como los más grandes, seguidos de machos RPC. Las hembras Sham y con RPC+Ca y machos con RPC+Ca presentaron tamaños similares. Por último las hembras con RPC resultaron con el menor tamaño (Figura 13 A).

El eje 2 obtuvo un 13.3% más de variabilidad y capturó la varianza en relación a la forma, agrupando a todos los Sham y a los con RPC en un sólo conglomerado y separando a los con RPC+Ca (Figura 13 A y B).

El eje 3 capturó un 7% de la variación total y mostró tendencia a separar los grupos RPC de los Sham (Figura 13 B).

El resto de los ejes no separó a los grupos, acumuló escaso porcentaje de varianza y sus eigenvalores resultaron ser iguales o menores que 1, por lo que se decidió reducir la dimensionalidad de los datos a los 3 primeros ejes.

El análisis discriminante mostró para el modelo un Lambda de Wilks con valores de F altamente significativos. Los eigenvalores para las primeras tres funciones mostraron ser significativos, explicando en forma acumulativa el 62, 83 y 94% respectivamente de la variación total (Tabla 34).

La primer función quedó definida por longitud pélvica, ancho pélvico medio y superior, longitud tibial y ancho femoral, todas correlacionadas negativamente. Esta función mostró poder de discriminación entre tratamientos para todos los grupos y entre sexos para los grupos Sham y con RPC (Tabla 34, Figura 14 A). La segunda quedó definida por longitud tibial, longitud humeral, ancho neurocraneano, ancho y longitud femorales, todas correlacionada negativamente agrupando a las hembras Sham y con RPC y separándolas del resto de los grupos que conformaron un cúmulo (Figura 14 A y B). La tercer función quedó definida por longitud femoral, longitud tibial, ancho esplanocraneano y longitud humeral todas correlacionadas negativamente y anchos pélvico superior, femoral y neurocraneano correlacionadas positivamente, mostrando poder de discriminación entre los animales Sham y los RPC (Figura 14 B).

Ninguna función con significación discriminó entre sexos dentro del grupo de animales con RPC+Ca.

#### **5.4. Efecto de la Castración y GH**

El primer eje del ACP capturó el 48,8% de la variabilidad y mostró un eigenvalor de 8,3 correlacionándose todas las variables positivamente con este eje (Tabla 35).

La mayor parte de la variación respecto al tamaño correspondió a diferencias sexuales, ya que los machos resultaron con mayor tamaño que las hembras (Figura 15 A).

Entre los machos la ordenación por tamaños mostró a los Sham como los más grandes, seguidos de RPC y RPC+Ca+GH que resultaron similares. Entre las hembras, Sham y RPC+Ca+GH resultaron similares entre sí y mayores que RPC (Figura 15 A).

El eje 2 obtuvo un 14,6% más de variabilidad con un eigenvalor de 2,48 y capturó la varianza en relación a la forma, agrupando los Sham con RPC en un solo conglomerado y separando a los RPC+Ca+GH (Figura 15 A y B).

El eje 3 capturó un 7,1% de la variación total y mostró tendencia a separar los grupos con RPC de los Sham (Figura 15 B).

El resto de los ejes no separó a los grupos, acumuló escaso porcentaje de varianza y sus eigenvalores resultaron ser menores que 1, por lo que se decidió reducir la dimensionalidad de los datos a los 3 primeros ejes.

El análisis discriminante mostró para el modelo un Lambda de Wilks con valores de F altamente significativos. Los eigenvalores para las primeras tres funciones mostraron ser significativos, explicando en forma acumulativa el 57, 81 y 92% de la variación total respectivamente (Tabla 36).

La primera función quedó definida por longitud pélvica, ancho pélvico superior, longitudes humeral, tibial, neurocraneana y femoral, todas correlacionadas negativamente y discriminó entre tratamientos (Tabla 36). La segunda quedó definida por longitudes tibial y humeral, altura y longitud neurocraneana, ancho pélvico superior, longitud femoral, ancho tibial y ancho esplanocraneano todas correlacionada negativamente y discriminó entre sexos para los grupos Sham y con RPC, no así para los RPC+Ca+GH (Figura 16 A). La tercer función quedó definida por ancho esplanocraneano, longitud femoral, altura neurocraneana, longitud humeral, pélvica y tibial y longitud neurocraneana todas correlacionadas positivamente y mostró poder de discriminación entre sexos para el grupo RPC+Ca+GH (Figura 16 B).

## 5.5. Efecto de las hormonas gonadales

El primer eje del ACP capturó el 65,1% de la variabilidad y mostró un eigenvalor de 11,07. Todas las variables se correlacionaron positivamente con este eje (Tabla 37).

Gran parte de la variación respecto al tamaño correspondió a diferencias sexuales, ya que todos los machos resultaron ser mayores que las hembras de su propio grupo. No obstante, los machos con RPC+Te resultaron con tamaños similares a las hembras Sham (Figura 17 A).

Tanto en machos como en hembras, la ordenación por tamaño mostró a los Sham como los más grandes, seguidos de RPC y RPC tratados con Te o Es (Figura 17 A) .

El eje 2 obtuvo un 8,6% más de variabilidad y un eigenvalor de 1,47. Separó a los animales con RPC de los animales con RPC+Te/Es, ubicando a los Sham en una posición intermedia (Figura 17 A y B).

El eje 3 capturó un 6,4% más de variabilidad con un eigenvalor de 1,09. Agrupó hacia los valores positivos a RPC de ambos sexos y RPC+Te y hacia los valores negativos a Sham de ambos sexos y RPC+Es (Figura 17 B).

El resto de los ejes no separó a los grupos, acumuló escaso porcentaje de varianza y sus eigenvalores resultaron ser menores que 1, por lo que se decidió reducir la dimensionalidad de los datos a los 3 primeros ejes.

El análisis discriminante mostró para el modelo un Lambda de Wilks con valores de F altamente significativos. Los eigenvalores para las primeras tres funciones mostraron ser significativos, explicando en forma acumulativa el 56, 85 y 97% respectivamente de la variación total (Tabla 38).

La primera función quedó definida por longitudes pélvica y tibial, ancho pélvico superior, longitud femoral y anchos esplacocraneano y neurocraneano, todas correlacionadas negativamente. La segunda quedó definida por longitudes humeral, femoral y tibial, correlacionadas positivamente con la función y ancho pélvico superior correlacionado negativamente. La tercer función quedó definida por ancho femoral, ancho pélvico superior, ancho neurocraneano y longitudes tibial y humeral correlacionadas negativamente y longitud femoral y ancho esplacocraneano correlacionadas positivamente (Tabla 38).

El gráfico por pares permitió determinar capacidad discriminatoria para las tres funciones a las cuales pudo asignársele significado de discriminación (Figuras 18 A y B).

La primera función discriminó tanto para sexo como para tratamiento en el grupo con RPC+Te/Es y sólo entre sexos para Sham y con RPC, formando claramente cuatro agrupaciones: machos Sham con machos RPC, hembras Sham con hembras RPC, hembras RPC+Es y machos RPC+Te (Figura 18 A).

La segunda función discriminó entre sexos y separó al grupo con RPC+Te del resto de los grupos conformando tres agrupaciones; hembras Sham junto a RPC y RPC+Es, machos Sham con RPC y machos RPC+Te. (Figura 18 A).

La tercera función discriminó entre tratamientos Sham y RPC, dejando al grupo RPC+Te/Es en una posición intermedia (Figura 18 B).

## **6. Análisis de componentes principales con todos los Tratamientos**

### **6.1. ACP estandarizado para comparación global entre sexos y tratamientos**

A fin de realizar una comparación global de todos los factores se procedió a realizar un ACP con datos estandarizados que incluyó todos los tratamientos y ambos sexos.

Los tres primeros componentes explicaron en forma acumulativa el 52,8; 64, 7 y 70,8 % respectivamente de la varianza, con eigenvalores de 8,9, 2 y 1 respectivamente (Tabla 39). El primer componente mostró relación isométrica entre variables, por lo cual se lo significó como efecto tamaño, posicionando a los machos de la siguiente forma: Sham como los de mayor tamaño, seguidos por RPC+GH y luego RPC y RPC+Ca+GH que mostraron tamaños similares (Figura 19 A). A estos le siguieron los RPC+Te y por último el grupo RPC+Ca (Figura 19 A).

En las hembras, los grupos Sham, RPC+GH, RPC+Ca y RPC+Ca+GH evidenciaron tamaños similares siendo los grupos mayores, seguidos por RPC y por último RPC+Es (Figura 19 A).

El segundo eje, al que le fue asignado efecto forma, mostró dos grandes agrupaciones. Una conformada por Sham, RPC y RPC+GH de ambos sexos con mayores tamaños en variables pélvicas y menores en longitudes humeral y femoral y otra por RPC+Ca y RPC+Ca+GH de ambos sexos y RPC+Te, con relaciones de tamaño inversas a las anteriores. El grupo con tratamiento RPC+Es adoptó una posición intermedia (Figura 19 A y B).

El tercer eje no mostró agrupamientos distinguibles (Figura 19 B).

## **6.2. ACP sin estandarizar para cada sexo.**

Este ACP fue realizado a fin de extraer componentes y correlacionar con índices de maduración tibial.

Para ambos sexos la gráfica de eigenvalores recíprocos presentó un descenso brusco entre el primer y el segundo componente (Figura 20 A y B) y la correspondiente graficación en caja mostró el predominio de la longitud de la columna en cuanto a la varianza (Figura 20 C y D).

Para los machos, los tres primeros componentes explicaron en forma acumulativa el 84,9; 90,8 y 93,1 % respectivamente de la varianza, con eigenvalores respectivos de 54,7; 3,7 y 1,5 (Tabla 40).

El primer componente mostró relación isométrica entre variables exceptuando la longitud del fémur y la longitud del húmero que presentaron correlaciones negativas, situación que se interpretó como ruptura del efecto tamaño (Figura 21A). Para todas las variables con correlación positiva, los mayores tamaños estuvieron representados por los grupos Sham, seguidos de RPC+GH, RPC, RPC+Ca+GH, siendo los RPC+Ca y RPC+Te los grupos de menor tamaño para dichas variables. Sin embargo, por encontrarse este componente con correlaciones de ambos signos, se interpretó que parte de la varianza acumulada se encontró asociada al efecto de proporciones de magnitud entre las variables y no al tamaño absoluto.

El segundo componente separó al grupo RPC+GH del grupo RPC+Ca+GH, a partir de los tamaños relativos entre variables pélvicas (anchos pélvicos superior, medio e inferior) y la longitud tibial respecto de las longitudes de la columna, fémur y húmero (Figura 21 A y B).

El tercer componente separó al grupo RPC+Ca de RPC+Te principalmente porque este último presentó valores relativos mayores en longitudes de húmero, pélvica y fémur y anchos pélvico medio e inferior (Figura 21 B).

En las hembras los tres primeros componentes explicaron en forma acumulativa el 90,2; 93,4 y 95,9% con eigenvalores de 92,3; 3,3 y 2,5 respectivamente (Tabla 41 ).

El primer componente mostró relación isométrica entre todas las variables con una marcada incidencia de los componentes pélvicos (longitud y anchos superior medio e inferior) y longitud de la columna (Figura 22 A). Los grupos Sham y con RPC+GH resultaron similares y con mayores tamaños que el resto. A éstos grupos le siguieron en forma decreciente RPC, RPC+Ca y RPC+Ca+GH con tamaños similares entre sí y por último el grupo RPC+Es los cuales presentaron los menores tamaños (Figura 22 A).

El segundo componente separó a los grupos por diferencias relativas de tamaño entre los componentes pélvicos y la longitud de la columna, que presentaron valores de correlación opuestos (Figura 22 A y B). Los grupos que más se distanciaron fueron los RPC+GH que presentaron mayores tamaños relativos de longitud de columna y menores de los componentes pélvicos de los RPC+Ca+GH. El resto de los grupos mostró una posición intermedia (Figura 22 A y B).

El tercer componente (Figura 22 B) separó a ambos grupos castrados (RPC+Ca y RPC+Ca+GH) del resto por presentar mayores tamaños relativos en longitud de huesos largos (longitudes tibial, humeral y femoral) (Figura 22 B).

Para ambos sexos se redujo la dimensionalidad de los datos a los tres primeros componentes por dos razones: 1) los eigenvalores del tercer componente se presentaron muy cercanos a 1 (Tablas 40 y 41), indicando que

el valor explicativo del componente es cercano al de una variable individual y  
2) para ambos sexos el tercer componente ofreció agrupamientos que pudieron definirse y por lo tanto hicieron factible una interpretación.

## **7. Resultados del análisis de datos de maduración**

Para las edades 1, 21 y 42 días todos los grupos presentaron el 100% de las frecuencias en el nivel 1 de osificación a excepción de RPC+Es que a los 42 días presentó 78,6% en el nivel 1 y 21,4% en el nivel 2. A partir de los 63 días hubo presencia de los niveles 1, 2 y 3, en porcentajes variables. A los 84 días de edad, los porcentajes para el nivel 3 resultaron ser en los machos: RPC+Ca 59,1%, RPC+Ca+GH 73,9%, Sh 92,9 y RPC+GH 94,4%, siendo para el resto de los grupos del 100%. En las hembras, para este mismo estado de osificación fueron: RPC+Ca 89,5%, Sh 93,8% y el resto de los grupos el 100% (Tabla 42).

### **7.1. Comparación de proporciones:**

La prueba de  $\chi^2$  para las edades de 63 y 84 días se presentan en la Tabla 43.

Los grupos Sham y con RPC no mostraron diferencias significativas en las frecuencias de maduración para ninguno de los sexos y ninguna de las edades.

A la edad de 63 días los machos de los grupos RPC+Ca, RPC+Ca+GH y RPC+Te presentaron diferencias significativas respecto de Sham, mientras que en las hembras se presentaron diferencias en los grupos RPC+GH y RPC+Es. A la edad de 84 días los machos de los grupos RPC+Ca y RPC+Ca+GH presentaron diferencias significativas comparados con Sham, mientras que en las hembras no hubo (Tabla 43).

## **7.2. Correlación de Spearman:**

Los resultados de las correlaciones de Spearman entre los tres primeros ejes del ACP para cada sexo y los índices de tiempo medio relativo de maduración (TMRM) y precocidad se muestran en la Tabla 44.

Los machos tuvieron correlación significativa entre el TMRM y el tercer componente del ACP. En las hembras, el primer componente mostró correlación significativa con ambos índices y el tercer componente con el índice de precocidad (Tabla 44).

# CAPITULO IV

## Discusión

### y

## Conclusiones



*¿Por que nos inquieta que el mapa este incluido en el mapa y las mil y una noches en el libro de Las Mil y Una Noches?*

Jorge Luis Borges. Magias Parciales del Quijote.

## **DISCUSIÓN y CONCLUSIONES**

### **Discusión**

#### **Efecto Sham**

El grupo control se encuentra excluido de toda práctica manipulatoria que no resulte estrictamente necesaria para la viabilidad adecuada del animal. El grupo Sham, en cambio, se halla expuesto al mismo tipo de manipulaciones que los animales del grupo experimental, circunstancia que resulta en el control de mayor similitud en el contexto manipulatorio del experimento. En nuestra experiencia, los animales sham tuvieron peso corporal superior a los controles, resultando en machos esta diferencia aún mayor. El efecto sham positivo observado, condujo a la determinación de tomar como referencia de comparación a este grupo.

En general, es de esperar que toda maniobra realizada resulte en un factor estresante con efectos negativos sobre el organismo, sin embargo aquí el efecto fue opuesto. En tal sentido, se ha postulado que los eventos postnatales tempranos pueden tener consecuencias de gran alcance en el fenotipo de la descendencia.

Clinchy et al. (2001) consideraron que la manipulación realizada sobre animales de estudio produce efectos fisiológicos y comportamentales que

pueden durar meses o años, llegando a afectar seriamente la interpretación de los datos. El acicalamiento y cuidados que brindan las ratas madres a sus crías, producirían una descendencia adulta menos sensible a los factores estresantes que aquella proveniente de madres que no presentan estos tipos de comportamientos, como consecuencia de los efectos mediados a través del eje adreno-cortico-trópico (Francis y Meaney, 1999). Al respecto, Duffy (2002) encontró que, el manejo en el laboratorio de ratas jóvenes también provocaba reducción de la sensibilidad suprarrenal en la adultez. Indicó además que, a pesar de involucrar mayor manipulación de animales que los estudios de campo, esta perspectiva no ha sido adecuadamente explorada. Pryce y Feldon (2003) también encontraron que el manejo sistemático de las crías producía ratas adultas que manifiestan mayor actividad exploratoria y baja respuesta de corticosterona plasmática frente a factores estresantes tales como la inyección de diluyentes.

A la luz de los resultados anteriores, es posible inferir que el aumento en el peso corporal de los animales sham se pueda corresponder a factores de esta naturaleza.

### **Retardo Prenatal de Crecimiento**

El crecimiento fetal se encuentra principalmente determinado por la disponibilidad de nutrientes del feto, siendo la función y el tamaño placentario

los mayores determinantes del crecimiento fetal en mamíferos. Trabajos experimentales han demostrado que existe un significativo incremento del peso fetal durante el último tercio de la gestación, conjuntamente con un progresivo aumento en el flujo sanguíneo del tejido uterino (Dowel y Kauer, 1997).

El ligamiento bilateral de la arteria uterina en la última semana de preñez es un modelo animal utilizado en la simulación de insuficiencia uteroplacentaria (Ogata et al., 1985; Oyhenart et al., 1998). Esta insuficiencia provoca restricción del aporte de glucosa, menor disponibilidad de aminoácidos y alteraciones fisiológicas en el feto incluyendo el intercambio gaseoso (Simmons et al., 1992). Como consecuencia de estos estresores, hay deterioro del crecimiento y desarrollo fetal (Antebi et al., 1991; Inaloz et al., 2000). En coincidencia, nuestros resultados mostraron un fuerte efecto de la técnica de obstrucción parcial de las arterias uterinas sobre el peso corporal al nacimiento, tanto en machos como en hembras. Ratifican además, lo expresado por Wolmann (1998) respecto a la preponderancia de los factores ambientales sobre los genéticos en la expresión del peso corporal al nacimiento.

La insuficiencia sanguínea utero-placentaria evidentemente generó un estrés de importancia puesto que provocó retardo, no sólo el peso corporal al nacimiento, sino en el crecimiento craneano y post-craneano.

A nivel craneofacial, la mayoría de las variables correspondientes a los componentes funcionales mayores presentaron retraso de crecimiento a

diferencia de lo informado por Oyhenart et al. (1998) quienes, aplicando obliteración de las arterias uterinas al inicio de la preñez, encontraron mayor modificación en las variables faciales respecto de las neurales. Una explicación posible radicaría en el período en que el estrés actuó por cuanto los efectos del RPC se correlacionan con el momento de inicio de la perturbación (Wigglesworth 1964, 1974; Kollée et al, 1979; Jansson et al, 1986; Schröder, 2003; Huizinga et al, 2004). McMillen et al., (2001) han expresado que las adaptaciones específicas de los fetos a un ambiente intrauterino adverso, incluyendo la limitación en el ritmo de crecimiento, dependen de la naturaleza, el tiempo y la intensidad de los cambios intrauterinos. Es conocido que el componente neural es de crecimiento más rápido (Young, 1959; Baer y Harris, 1969; Zelditch et al., 1992) y que el feto tiene una importante capacidad adaptativa, permitiéndole la aceleración en la madurez neurológica en determinadas regiones (Amiel-Tison y Petigrew, 1991).

En el presente estudio, el hecho que la obliteración de las arterias uterinas se produjera en el último tercio de la gestación impidió cualquier tipo de compensación dando como resultado, al nacimiento, que no sólo ambos componentes craneanos mayores fueran similarmente afectados, sino que también se presentarían importantes modificaciones en longitud y ancho de los huesos largos.

Autores tales como Hales (1997), Godfrey y Barker (2000), Tenhola et al.

(2000), Metha et al. (2002), Holt y Byrne (2002), Houdijk et al. (2003) y Engelbregt et al. (2004), refieren que los factores perinatales nutricionales adversos sólo comienzan a tener efecto tardíamente, mucho tiempo después que el ambiente de protección intrauterino fue abandonado. Resultados obtenidos por Oyhenart et al. (1996; 1998) informaron que no todas las variables presentaban recuperación durante el período de lactancia normal. El catch-up alcanzado fue dependiente del rasgo y sexo considerado, siendo las hembras con RPC más resistentes que los machos al estrés impuesto. Interesó en consecuencia, conocer si las modificaciones en la morfología encontradas al momento del nacimiento continuaban o podían ser revertidas luego de un período de lactancia y postlactancia "normal", es decir, sin que mediaran factores nutricionales estresantes.

El retardo en el crecimiento ponderal se mantuvo hasta los 84 días de edad post-natal, presentando diferenciación sexual. Mientras que en machos el peso corporal fue menor en todas las edades analizadas, las hembras presentaron catch-up en edades intermedias (desde el día 28 al 56) para luego retornar a valores menores que los Sham. De manera similar a lo observado para peso corporal, las diferencias en el índice de masa corporal en las hembras sólo se presentaron en la lactancia, mientras que en machos se mantuvieron hasta la edad final del experimento, indicando una variación armónica y temporal en las primeras.

A nivel craneofacial el retardo continuó en hembras hasta los 84 días en todas las variables y en machos, si bien se advirtió la misma tendencia, la longitud y el ancho del esplanocráneo mostraron recuperación a partir de los 42 días de edad.

En el postcráneo, también se observó retardo sostenido en la mayoría de las variables, con algunas excepciones como las longitudes humeral y femoral que, en ambos sexos, mostraron recuperación después del período de lactancia. Resultados similares indicando que los anchos de los huesos largos permanecían significativamente retardados fueron informados por Oyhenart et al. (2002) en ratas con RPC por insuficiencia utero-placentaria y por Reichling y German (2000) en ratas con RPC por déficit proteico.

De esta forma, el retardo prenatal de crecimiento presentó, desde una perspectiva longitudinal, patrones de impacto diferenciados de acuerdo al segmento corporal considerado, alterando tal como fue informado por Woodall et al. (1996) y Oyhenart et al. (2002), el crecimiento óseo relativo.

El dimorfismo sexual en el crecimiento comienza antes del nacimiento y se refleja, por ejemplo, en el mayor peso al nacimiento de los varones comparados con las mujeres (Hindmarsh et al., 2002; Geary et al., 2003). Las mayores demandas nutricionales de los fetos masculinos pueden hacerlos más inestablemente balanceados a nivel nutricional y más vulnerables ante la disminución del suministro. La elevada sensibilidad de los fetos masculinos a la

nutrición materna es referida al hallazgo en algunos estudios en los que la suplementación nutricional de madres desnutridas mejoró el peso de los varones al nacimiento. Por otra parte, los embriones o fetos masculinos presentan mayor prevalencia de ser abortados en el embarazo bajo condiciones de desnutrición materna (Mora et al., 1979; Adair y Pollitt, 1985). Desde hace varias décadas se ha postulado la existencia de una mejor canalización del crecimiento en las hembras respecto de los machos (Tanner, 1962). A nivel experimental, la disminución del flujo sanguíneo intrauterino redujo el dimorfismo sexual al nacimiento (Oyhenart et al., 1998; Dressino et al., 2002). Las hembras en general son menos afectadas que los machos al estrés que impone el RPC (Williams et al., 1974) y poseen mayor capacidad de recuperación en el período postnatal (Houdijk et al., 2000). Sin embargo, en el presente estudio la mayor canalización en las hembras sólo se observó y de manera parcial en el peso e índice de masa corporal. En el cráneo por el contrario, fueron los machos quienes lograron a nivel esplacnocraneano crecimiento compensatorio completo. En los restantes segmentos corporales, ambos sexos presentaron disminución de tamaño y alteraciones análogas de forma, vinculadas a las mismas variables óseas.

El efecto morfométrico observado en ambos sexos, con tendencia general sobre las mismas variables, podría entenderse como resultado del proceso adaptativo. En este sentido, Engelbregt et al (2004), en un modelo de RPC

experimental en ratas, informaron que el volumen mineral óseo total corporal ajustado para el peso, fue normal en ambos sexos, indicando que existe un ajuste del esqueleto al crecimiento después del RPC.

Por otro parte, la posible relación entre RPC y alteraciones en el desarrollo madurativo presenta controversia. Diversos autores han sugerido la influencia del estrés prenatal y alteraciones en el proceso de maduración ósea (Towes y Lee, 1975; Glockner et al., 1992). En este sentido, Engelbregt et al (2000) propusieron que el RPC en ratas durante la gestación tardía se encuentra asociado a un retardo del inicio de la pubertad. Sin embargo, Hokken-Koelega (2002) encontró un escaso rango de variación para el inicio de la pubertad en niños nacidos con bajo peso para la edad gestacional. Quintero et al. (2004) en un modelo de RPC experimental, informaron que tanto los animales RPC como los control mostraron similares patrones en las tasas de maduración ósea. En coincidencia, en el presente estudio, los resultados indicaron que el RPC no parece alterar en forma significativa el proceso normal de maduración ósea.

En síntesis, el aporte sanguíneo materno es esencial para el crecimiento fetal. Una disminución en el flujo sanguíneo provoca retardo de crecimiento que no puede ser restablecido aún frente a condiciones normales en el periodo de lactancia y postlactancia conduciendo a menores dimensiones y cambios de forma en la edad adulta que podrían interpretarse como resultado de un proceso adaptativo más que una patología (Warshaw, 1985).

## **Acción de la terapia con GH en el Retardo Prenatal de Crecimiento**

El crecimiento postnatal se encuentra determinado por la interacción entre el potencial genético del organismo y el ambiente, siendo la GH un importante mediador (Bauer-Dantoin et al., 1995). Autores tales como Gluckman (1995); Woodall et al. (1996, 1998) y Chatelain, (2000) han informado que el RPC puede modificar la programación endócrina por diferentes caminos. Aunque la acción de la GH sobre el crecimiento compensatorio de niños RPC no es clara, la terapia con esta hormona es recomendada (Vicens-Calvet et al., 1999; Christesen et al., 2006).

A los 84 días de edad, el análisis de componentes principales (ACP) indicó que el primer eje capturó gran parte de la varianza ordenando a los grupos por tamaño, de tal manera que los animales más grandes, representados por los machos, se posicionaron hacia los valores positivos del eje y las hembras hacia los negativos. Entre los machos se observó una gradación de tamaño. En orden decreciente correspondió a Sham, seguido por RPC tratado con GH y RPC, e indicó que el tratamiento con GH no fue suficiente para lograr crecimiento compensatorio en términos de tamaño, a pesar de permitir una cierta recuperación. En las hembras, el grupo RPC se separó del conglomerado formado por RPC tratados con GH y Sham mostrando a diferencia de lo que ocurría en machos, crecimiento compensatorio completo por acción de la GH.

El segundo eje, que ordenó por forma, agrupó hacia los valores positivos a machos y hembras RPC, mientras que el resto de los grupos tendieron a ubicarse hacia los valores negativos del eje. Las cargas de las variables sobre el eje indicaron que la restricción de los anchos respecto de la longitud de los huesos largos observada en los animales RPC pudo ser revertida por la GH. De este modo, la GH actuó sobre el restablecimiento en las proporciones óseas de los huesos largos.

Cuando se aplicó análisis discriminante, se observó que las diferencias en tamaño fueron provocadas en primera instancia por el sexo, efecto esperable para los patrones de dimorfismo sexual de esta especie (Hughes and Tanner, 1970, Jansson y Isaksson, 1983, Rol de Lama et al., 2001) y secundariamente por el RPC. Una vez despejado el efecto dimórfico, el retardo de crecimiento fue el responsable de discriminación entre los grupos. Por último, sólo el 9% de la variación total correspondió a diferencias métricas entre machos Sham y RPC tratados con GH. En hembras en cambio, ninguna función discriminó entre las RPC tratadas con GH y Sham.

Estos resultados permitieron inferir que el RPC provoca restricción diferencial de las variables métricas con efecto alométrico, la cual puede ser revertida por efecto de la GH. Consecuentemente, el tratamiento con GH mostró actividad tanto en la recuperación del tamaño absoluto como relativo de las variables.

Sin embargo, aunque ambos sexos mostraron crecimiento compensatorio por acción de la GH, en machos fue menor que en hembras. Este efecto dimórfico de la GH podría encontrarse asociado a una respuesta particular ante la injuria por RPC, ya que en animales normales, la acción de la GH ha mostrado no tener una actividad dimórfica (Stephan et al., 1971; Cabello y Wrutniak, 1989; Oyhenart y Pucciarelli, 1992).

Cuando se analizaron los cambios en el crecimiento desde una perspectiva longitudinal, se encontró que la ganancia de peso entre grupos RPC y RPC tratados con GH, mostró patrones diferentes para cada sexo. Los machos tratados con GH, sólo presentaron a los 28 días de edad el peso corporal mayor que los RPC. Las hembras, en cambio, mostraron acción sostenida de la GH en la ganancia de peso corporal desde los 56 y hasta los 84 días de edad. La respuesta dimórfica a la GH en relación con la ganancia de peso se ha reportado en diversos estudios. Así, Guimarey et al. (2003) y Oyhenart et al. (2003) encontraron que la GH mejoró desde edades tempranas la ganancia de peso corporal en hembras RPC.

Por otra parte, si bien ambos sexos presentaron crecimiento compensatorio en el postcráneo, las hembras mostraron una mayor recuperación desde edades más tempranas, lo que podría explicar en gran parte lo observado en el ACP.

Tanto machos como hembras recuperaron la longitud y la altura del

neurocráneo, mientras que el ancho, menos afectado por el RPC, no mostró signos de recuperación. Sin embargo, en los machos el esplancocráneo presentó una respuesta en mosaico con recuperación de algunas variables (altura) e inhibición de otras (longitud y ancho) que no habían presentado efecto del RPC. En hembras, tanto la longitud como la altura del esplancocráneo no mostraron recuperación y el ancho fue significativamente menor que en animales con RPC.

A nivel del postcráneo en machos no todas las variables afectadas por el RPC se recuperaron completamente. Las hembras con GH, sin embargo, mostraron crecimiento compensatorio en todas las variables que habían sido afectadas por el retardo del crecimiento alcanzando valores comparables a los sham. Diversos autores han observado respuesta dimórfica al tratamiento con GH (Rol de Lama et al., 1998; Guimarey et al., 2003; Quintero et al., 2005), sugiriendo que las hembras se encuentran en una situación ventajosa con respecto a la recuperación de las variables afectadas por el RPC.

Jaffe et al. (1998) demostraron la existencia de dimorfismo sexual en la regulación de secreción de GH en humanos que se expresó a nivel central e involucró tanto la pulsatividad espontánea de la GH como la retroalimentación negativa por parte de los IGF1, atribuyendo esta diferencia principalmente al papel más predominante de la somatostatina SRIH hipotalámica en los hombres respecto de las mujeres. Adicionalmente, sugirieron que la inhibición de secreción de GHRH hipotalámico por el IGF1 podría jugar un importante rol en

el control de secreción de GH en las mujeres.

En ratas, una posible explicación fue propuesta por Froesch et al (1990) y posteriormente reafirmada por Rol de Lama et al. (2000) quienes, propusieron que los machos normales tienen una velocidad máxima de crecimiento durante el período peripuberal y la administración de GH no es capaz de incrementarla. En cambio, las hembras de la misma edad tienen una velocidad de crecimiento más reducida, que puede ser potenciada por acción de la GH. Si bien las razones fisiológicas y los alcances adaptativos de este mecanismo están lejos de ser entendidos, esta respuesta diferencial podría explicar por que los machos con RPC no recuperaron completamente la longitud corporal y conformación ósea esperada a pesar del tratamiento con GH, sobre todo cuando la injuria es de importancia tal como la disminución del flujo sanguíneo en momentos de gran organogénesis.

El papel de la GH sobre la maduración esquelética ha sido largamente discutido (Towes and Lee, 1975; Hamilton, 1979; Glockner et al., 1992; Tresguerres et al., 1995; Hermanussen et al., 1996) mostrando los resultados de dichos trabajos un elevado nivel de controversia. Kamp et al. (2002) sugieren que tratamientos con altas dosis de GH pueden inducir aceleración de la maduración ósea y comienzo precoz de la pubertad, pudiendo provocar retraso de crecimiento debido al mayor efecto sobre la maduración que sobre el crecimiento lineal.

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que, en tanto en los machos no se evidencian alteraciones significativas de la maduración, en las hembras la GH provoca un incremento a los 63 días de edad. Esta respuesta es altamente sugestiva, ya que los machos tratados con GH no presentan alteraciones en la maduración ósea pero tampoco logran un crecimiento compensatorio completo, mientras que en las hembras la presencia de un incremento en maduración ósea no parece retardar el crecimiento, permitiéndoles lograr una recuperación completa del tamaño corporal.

### **Acción de la terapia con hormonas sexuales sobre el Retardo Prenatal de Crecimiento**

La pubertad constituye un período caracterizado por un notable crecimiento, el cual se encuentra influenciado por numerosos factores, siendo la nutrición y los efectos endocrinos de la GH y las hormonas sexuales los principales factores vinculados al proceso (Styne, 2003). Por otra parte, es conocido que los andrógenos promueven el crecimiento lineal, ponderal y ejercen marcadas acciones sobre el crecimiento craneofacial (Zemel y Katz, 1986; Dahinten et al., 1988; Oyhenart y Pucciarelli, 1991; Barrett y Harris, 1993; Ornoy et al., 1994; Orden et al., 1998). No obstante, la acción estrogénica, es controvertida en tanto se han detectado en substrato de desnutrición y/o castración tanto acciones anabólicas (Dahinten y Pucciarelli, 1986) como

catabólicas (Oyhenart y Pucciarelli, 1991; Orden et al., 1998).

En el presente estudio los animales RPC inyectados con testosterona o estradiol, presentaron los valores más altos de consumo alimentario por unidad de peso y significativa reducción de la ganancia de peso corporal, especialmente a edades avanzadas. Así, a diferencia de la mejora en la eficiencia alimentaria inducida por la GH, las hormonas gonadales parecen deteriorar la relación peso corporal/consumo alimentario, sugiriendo un efecto catabólico.

Clásicamente se ha asociado a la testosterona con una acción anabólica y un fuerte efecto inductor del empuje puberal, principalmente por su acción sobre los huesos largos. Sin embargo la visión tradicional de la acción de la testosterona y el estradiol sobre el crecimiento se está modificando a partir de la publicación de casos de resistencia estrogénica causada por la mutación en el gen del receptor para estrógeno, que ponen en evidencia la gran importancia de los estrógenos para el crecimiento óseo en ambos sexos (Smith et al., 1994; Juul, 2001; Khosla et al., 2002).

Durante mucho tiempo se le atribuyó a los estrógenos la capacidad de inducir el cierre de los cartílagos epifisarios, por lo que fue utilizado como tratamiento en casos de acromegalia o para suprimir el crecimiento de mujeres con pronóstico de elevada estatura final. Este resultado se consigue aún con dosis más bajas comparadas con las utilizadas inicialmente, presentando menos efectos colaterales (Drop et al., 1998). Sin embargo, actualmente se considera

que la actividad de los estrógenos sobre el crecimiento es compleja.

Juul (2001) concluyó que el estrógeno es de gran importancia para el crecimiento puberal normal tanto en varones como en mujeres. Concentraciones muy bajas de estrógeno pueden también estimular el crecimiento óseo sin afectar directamente la maduración sexual o el cartílago de crecimiento a través de la estimulación del eje GH-IGF, sin embargo dosis superiores de estrógeno estimulan la aparición de características sexuales secundarias y la fusión epifisaria.

En el presente estudio, el cráneo presentó respuesta heterogénea a las hormonas sexuales. La altura y el ancho del neurocraneo mostraron estimulación del crecimiento que se detuvo a partir de los 63 días, permitiendo que a edad final resultaran con magnitudes equiparables a las de los animales con RPC. El esplanocraneo mostró inhibición del crecimiento con un efecto más marcado en las hembras.

Por otro lado a nivel postcraneano pudo observarse un mosaico de respuestas a la actividad de las hormonas sexuales, con estimulación de algunas regiones (húmero y fémur) e inhibición de otras (tibia y pelvis).

Trabajos recientes (Grumbach, 2000; Steyn, 2003) sostienen que el principal efecto sobre el empuje puberal en ambos sexos es provocado localmente por el estradiol, relacionando el fuerte efecto observado por la testosterona como resultado de la aromatización periférica a estradiol por la

enzima aromatasa. En concordancia con estos hallazgos Chagin et al. (2006) hallaron que el crecimiento longitudinal óseo en fetos de rata es promovido por estrógeno localmente producido en el cartílago de crecimiento.

Sin embargo, se ha propuesto que los andrógenos de por sí, sin la conversión a estrógeno, también parecen estimular el crecimiento longitudinal de los huesos. En los niños de edad puberal, la dihidrotestosterona, un andrógeno no aromatizable, puede acelerar el crecimiento lineal, efecto no asociado con un aumento plasmático de GH o IGF-1 (Keenan et al., 1993; Nilsson et al., 2005). Chowen et al (2004) advierten sobre el elevado nivel de complejidad de la modulación armónica del crecimiento por parte de los esteroides, a través de una multiplicidad de niveles de control que van desde la vía general hipotalámica e hipofisiaria que regula los niveles de producción y secreción de GH, la interacción con factores de crecimiento a nivel celular e intracelular, la modificación de las vías de señalamiento hasta la regulación de la expresión de receptores de membrana de las células de los tejidos blanco.

Un sistema tan complejo de controles respecto de la actividad de las hormonas sexuales sobre el crecimiento podría dar cuenta de las respuestas antagónicas de diferentes regiones óseas. En las edades adultas, los machos con RPC inyectados con testosterona presentaron restricción moderada del tamaño general respecto del RPC, con alteración notoria del crecimiento en términos alométricos. También tuvieron cambios en la forma esquelética de manera tal

que, las longitudes femoral y humeral fueron mayores y las pélvicas y la longitud de la columna menores. Como resultado, estos animales tendrían miembros más largos y troncos más cortos. Las hembras inyectadas con estrógenos en cambio, mostraron fuerte inhibición del crecimiento en todas las variables resultando en restricción del tamaño respecto a los controles, por lo que los cambios de forma respecto de los RPC fueron escasos.

Tanto en machos como en hembras en la última edad del experimento, el esplanocráneo resultó más afectado que el neurocráneo por restricción del crecimiento. Una explicación a dichos resultados podría basarse en las dosis de estradiol aplicadas en el grupo RPC+Es, las cuales estarían induciendo una maduración temprana con el consecuente cierre de los cartílagos de crecimiento. La testosterona aplicada al grupo RPC+Te, actuando por un mecanismo diferente, principalmente a través de una actividad indirecta en la maduración por aromatización, permitiría a los machos mayor tiempo de vida media de los cartílagos de crecimiento y a la vez provocaría un fuerte estímulo en crecimiento que resultaría más notable en la longitud de los huesos largos.

Sin embargo, el significado fisiológico de esta diferencia sexual en los mecanismos de actividad hormonal puede ser explorado desde el punto de vista adaptativo. Desde una perspectiva funcional se sostiene en la actualidad, que una propiedad crítica del hueso es la fuerza de las cargas mecánicas que soporta. La contracción muscular es la mayor carga fisiológica sobre el hueso, por lo que

existe una adaptación de la fuerza del hueso a la fuerza del músculo (Frost, 2000<sup>1</sup>).

El “paradigma de Utah” de fisiología esquelética, proporciona un modelo explicativo de desarrollo óseo que describe cómo la estructura ósea es regulada por efectos mecánicos locales que pueden ser ajustados por la actividad hormonal (Frost, 1998). Desde esta perspectiva, las diferencias sexuales en la adaptación ósea durante la pubertad se encuentran reguladas en gran parte por la influencia de estrógeno en las hembras, mientras que la testosterona en cambio, no parece tener dicho efecto aunque se asocia en forma directa a la mayor cantidad de masa muscular alcanzada por los varones comparados con las mujeres (Schoenau, 2006). Esta hipótesis concuerda con los postulados de actividad indirecta de la testosterona por aromatización periférica a estradiol (Grumbach, 2000; Styne, 2003), con notables derivaciones desde el punto de vista fisiológico y adaptativo.

### **Acción de la ausencia de hormonas sexuales por castración en el Retardo Prenatal de Crecimiento**

Se ha establecido que el crecimiento es un proceso sexualmente dimórfico y que los esteroides gonadales juegan un importante papel en su progresión. La manipulación de secreción gonadal de esteroides sexuales altera en forma evidente el crecimiento somático en roedores (Jansson et al., 1985; Ogawa et al.,

2000; Wehrenberg y Giustina, 1992).

En este sentido, estudios en ratas ovariectomizadas muestran que la aplicación de estrógeno provoca inhibición dosis-dependiente del crecimiento en longitud (Chow et al., 1992, Turner et al., 1994). Wallen et al., (2001) en un estudio experimental en ratas, observaron que mientras los machos castrados tenían reducción del peso corporal asociada a disminución del consumo alimentario, las hembras castradas incrementaban significativamente el peso corporal. De ello dedujo que, en ambos sexos, existe modulación de la ganancia de peso y del consumo alimentario por parte de las hormonas sexuales. Estos resultados coinciden parcialmente con los obtenidos en el presente estudio por cuanto la gonadectomía incrementó el consumo alimentario en machos y hembras. Sin embargo, mientras los animales orquidectomizados ganaron menos peso corporal que cualquier otro grupo, los ovariectomizados lo aumentaron de manera notoria, con la consecuente disminución del dimorfismo sexual. Efectos sexualmente opuestos por castración fueron encontrados por otros autores (Gevers et al., 1995).

El análisis de las variables esqueléticas mostró que la castración afectó severamente el crecimiento en los machos con un impacto diferencial sobre variables craneanas y postcraneanas. La mayoría mostró efecto inhibitorio siendo la excepción el ancho y altura del neurocráneo. En hembras, se evidenció un estímulo de crecimiento en prácticamente todas las variables craneanas y en

algunas dimensiones de los huesos largos como el ancho femoral y las longitudes humeral y tibial.

Cuando se analizó el tamaño adulto alcanzado se observó que en los machos estuvo reducido y en las hembras en cambio, hubo crecimiento compensatorio de manera tal que el resultado final fue una morfología similar en ambos sexos. Los animales con RPC castrados al alejarse del patrón morfológico esperable para cada sexo, coincidieron en una tercera posición con pérdida de dimorfismo tanto para el tamaño como la forma. Este resultado de similitud que se observó en los tres ejes del ACP, fue verificado en el AD, el cual no logró construir ninguna función capaz de discriminar entre sexos al punto de tener que considerar a ambos grupos como pertenecientes al mismo conjunto de individuos.

Estos resultados concuerdan con lo informado por Dahinten y Pucciarelli (1988), quienes comparando distancias morfológicas craneanas con distancias  $D^2$  de Mahalanobis, encontraron que mientras existe una pérdida de dimorfismo craneano en animales castrados, se evidencia un incremento de dimorfismo entre machos control y hembras castradas y una disminución entre machos castrados y hembras control.

## **Acción de la terapia con GH en ausencia de hormonas sexuales por castración en el Retardo Prenatal de Crecimiento**

La administración de GH a los animales castrados sólo restauró parcialmente el peso corporal. En machos castrados, la ganancia de peso mejoró sin alcanzar los valores de RPC, mientras que en hembras se inhibió llevándolas a los valores RPC.

El seguimiento longitudinal del consumo alimentario relativo mostró incremento en ambos sexos similar al que se obtuvo en los castrados. De esta manera, la relación peso corporal-consumo alimentario, fue nuevamente inversamente proporcional.

A nivel esquelético, el tratamiento con GH en substrato de castración en machos actuó incrementando levemente el tamaño, pero sin modificaciones evidentes sobre el efecto forma. Por el contrario, no ejerció grandes modificaciones en las hembras, conservando una posición similar a las hembras con RPC castradas.

La diferenciación sexual quedó confirmada por la creación de una tercera función del análisis discriminante que permitió diferenciar a los machos de las hembras. Así, la GH estaría reestableciendo moderadamente el dimorfismo sexual en el tamaño perdido por la castración, aunque sin grandes modificaciones sobre la forma, principalmente por un efecto de estimulación de crecimiento en los machos.

En ambos sexos, en los dos grupos castrados (con y sin GH) la altura y ancho del neurocráneo mostraron ser significativamente mayores que en RPC, con una estimulación marcada del crecimiento desde edades tempranas. Sin embargo estas variables no mostraron estimulación ante la aplicación de GH.

Las respuestas por exceso y defecto de hormonas sexuales así como su relación con el eje somatotrópico son en la actualidad muy controvertida. Desde hace décadas ha sido observada una actividad necesariamente conjunta entre la GH y la testosterona (Zachmann, 1987), siendo probablemente un efecto indirecto de la testosterona por la vía de los IGF1 hepáticos. Esta interpretación es apoyada por la observación que la testosterona no produce un incremento significativo en la longitud del cuerpo en ausencia de GH como resulta en el caso de ratas hipofisectomizadas (Simpson et al., 1944; Scow and Hagan, 1965 Jansson et al., 1983). Sin embargo, Zung et al., (1999) sostienen que la testosterona posee capacidad para inducir una moderada ganancia de peso independientemente de la GH, efecto de promoción de crecimiento no mediado por los IGF1 hepático.

A estas controversias se suma el hecho que no se conoce completamente el papel de las hormonas sexuales en relación al desarrollo del dimorfismo sexual secundario.

Rol de Lama et al. (2001), encontraron en neonatos que, ni la castración de machos, ni la administración de testosterona en hembras castradas fueron

capaces de inducir un patrón de crecimiento femenizante o masculinizante completo, siendo necesarios tratamientos peripuberales con estas hormonas para completar los cambios en el patrón de crecimiento dependiente del sexo.

Si bien se sostiene que la testosterona y los estrógenos afectan los ritmos neuroendócrinos de la GH y, a su vez, la GH potencia muchas de las acciones metabólicas de los esteroides sexuales (Mauras, 2001), también se conoce desde hace décadas que el crecimiento inducido por la GH es parcialmente inhibido por tratamiento simultáneo con estrógeno (Holder et al 1983). Por otro lado, Zung et al. (1999), encontraron que la promoción del crecimiento por parte de la testosterona no está mediado por la expresión de los factores insulínicos de crecimiento del tipo 1 (IGF1) a nivel hepático ni por sus receptores. Asimismo observaron que la moderada ganancia de peso por aplicación de testosterona es independiente del efecto de la GH, al menos en ratas juveniles.

Concordantemente, Phillip et al (2001), en un modelo experimental con ratas hipofisectomizadas y castradas encontraron que la aplicación de testosterona incrementó la abundancia de receptores IGF1 del cartílago de crecimiento de manera dosis dependiente, concluyendo que la testosterona tiene un efecto local e independiente de la GH en el crecimiento del cartílago de crecimiento y en la expresión de receptores IGF1.

Franz y Rabkin (1965) fueron los primeros en reportar que la administración del estrógeno a dosis sumamente bajas podía aumentar la

secreción de GH en los adultos saludables, y en este sentido, presentaron las primeras pruebas de que la argumentación por la hipótesis de represión estrogénica sobre la secreción de GH estaba equivocada.

La interacción entre los ejes somatotrópico y gonadotrópico juegan un importante papel en el crecimiento somático de los mamíferos. Sin embargo, los mecanismos precisos a través de los cuales los esteroides gonadales afectan al eje somatotrópico y al crecimiento no se comprenden en su totalidad. Estos pueden incluir dimorfismo tanto para la sensibilidad a la GH como para sus patrones de secreción (Liu et al., 2000; Ogawa et al. 2000).

Tres mecanismos mayores han sido propuestos para explicar los efectos de los esteroides sexuales en el crecimiento: uno indirecto, a través de las condiciones de secreción de GH y dos directos; uno por medio de los factores de crecimiento locales y otro por alteración de la sensibilidad a la GH. En este sentido se ha sugerido que las condiciones de secreción de GH son alteradas por modulación de esteroides gonadales en ratas y humanos (Jansson et al., 1985; Wehrenberg y Giustina, 1992).

### **Maduración ósea y Retardo Prenatal de Crecimiento**

Se ha sugerido que el retardo de crecimiento intrauterino implica cambios en el desarrollo del hombre y de otros mamíferos como la rata (Delemarre-van de Waal, 2002). Engelbregt et al. (2000) encontraron que el RPC en el último

tercio de la gestación provocaba retardo en el comienzo de la pubertad en ratas machos y hembras sugiriendo que el período perinatal es crítico en el proceso madurativo. Mientras que Lienhardt et al (2002), halló respuestas similares en humanos, otros estudios realizados indican un bajo rango de variación en el comienzo de la pubertad en niños pequeños para la edad gestacional (Hokken-Koelega, 2002). Preece (1997) sostiene que el tiempo de inicio y el patrón general de la pubertad es bastante normal en los niños nacidos con RPC aunque el empuje puberal de crecimiento es, por término medio, un poco menos intenso que en la población normal. Refiere en este sentido que en estos niños, la estatura adulta se encuentra significativamente comprometida debido a un empuje puberal atenuado.

En el presente estudio, cuando se realizaron las correlaciones de Spearman entre los tres primeros ejes del ACP para cada sexo y los índices de persistencia (tiempo medio relativo de maduración) y precocidad, los machos no mostraron correlación significativa con ninguno de los dos primeros componentes. El tercer componente, se asoció a un efecto de la forma vinculado principalmente a las longitudes de húmero, fémur y pelvis, respecto del resto de las variables, sugiriendo un posible efecto en la maduración (TMRM) e indicando una probable relación entre velocidad de maduración y cambios sobre la forma que afecta principalmente a huesos largos y pelvis. Este hallazgo se encuentra reforzado por el hecho que, los machos de ambos grupos castrados

mostraron un retardo significativo en la maduración del cartílago de crecimiento tibial, mientras que el grupo tratado con testosterona presentaron precocidad de maduración.

En las hembras, sin embargo, el primer componente mostró correlación altamente significativa con ambos índices. A este primer componente se asoció el efecto tamaño y en este sentido interpretamos la restricción en tamaño del grupo RPC+Es por efecto de un inicio temprano de la maduración y una vida media corta del cartílago de crecimiento. El segundo componente no mostró correlación con ninguno de los índices y el tercero se correlacionó con el índice de precocidad. Este tercer componente separó por un lado a los dos grupos castrados (RPC+Ca; RPC+Ca+GH) y al grupo RPC+Es, por otro. Los grupos castrados presentaron mayores longitudes femoral y humeral y menor longitud de la columna que el grupo con estradiol. Esto implica que tanto el efecto del estradiol como el de la castración afectan el tiempo de inicio del cierre del cartílago, en el primer caso adelantándolo y en el segundo demorándolo.

El efecto del RPC sobre la maduración dista de estar clarificado. Delemarre-van de Waal et al. (2002), encontraron que el RPC y la desnutrición postnatal en ratas inducirían una pubertad retrasada en los machos, mientras que en las hembras solo lo provoca el RPC. Sin embargo en el presente estudio no se encontró asociación entre índices de maduración ósea y modificaciones morfométricas provocadas por el RPC, ni tampoco se constataron efectos sobre

las frecuencias de estados de maduración del cartílago tibial.

Diversos autores han reportado una respuesta dimórfica ante la aplicación de la GH (Froesch et al, 1990; Subramanian et al 1995; Rol De Lama 2000; Münzer et al 2001) y así como la asociación entre RPC y desarrollo madurativo es controvertida, la acción de la GH en niños con RPC también lo es. Hamilton (1979) ha puesto en tela de juicio la efectividad del tratamiento con GH, alegando la posibilidad de que se altere la relación entre maduración ósea y ganancia de estatura por interrupción del crecimiento. Sin embargo, Milner et al., (1980) indican que no se puede sostener la sugerencia de que el tratamiento con GH causa, en último término, un detenimiento en el crecimiento debido a una mayor maduración ósea que al crecimiento en altura.

Por otro lado, Kamp et al. (2002) sostienen que en humanos, altas dosis de GH en tratamientos previos a la pubertad provocan una aceleración en edad ósea e induce un comienzo temprano de la pubertad. Lienhardt et al. (2002), describen un retardo en el inicio de la pubertad en niños de baja estatura nacidos RPC y asocian el tratamiento con GH a una reducción en la amplitud del empuje puberal, hallazgo que ha sido evaluado en ensayos clínicos.

En un ensayo experimental, Quintero et al. (2004) sugirieron que la aplicación de GH en ratas con RPC podría tener un efecto de aceleración de la osificación del cartílago tibial en hembras pero no en machos, efecto dimórfico probablemente asociado a la acción de las hormonas sexuales. Los resultados

del presente estudio muestran un efecto dimórfico sobre la maduración ósea asociada a la administración de GH, resultados que precedentemente hemos advertido como sugestivos por mostrar una relación inversa con el catch up en tamaño corporal.

### **Integración general**

Matsushita et al. (1995) en un estudio longitudinal en humanos durante el período prenatal, analizaron el crecimiento de los huesos largos (húmero, cúbito, radio, fémur, tibia y peroné) con técnicas multivariadas. Los resultados dieron cuenta que existen diferentes patrones de crecimiento entre las porciones cartilaginosas y las óseas de los huesos largos. Comparadas con la longitud total del cuerpo, las variables relacionadas a la construcción de articulaciones mostraron alometría positiva y los anchos centrales de las diáfisis presentaron alometría negativa. Los coeficientes de alometría resultaron equivalentes entre los huesos del mismo miembro, resultando que los huesos homólogos para los miembros superiores e inferiores crecieron en proporciones diferentes. Así, los huesos largos del miembro inferior presentaron crecimiento en mayor proporción que los del miembro superior. En coincidencia, se ha informado modificación de los distintos segmentos corporales durante el desarrollo intrauterino fetal, producto del RPC (Hobbins, 1997) así como del área grasa, pliegue tricipital y proporciones entre largo del tronco y talla de niños que viven

en situación de desnutrición subclínica crónica (Bolzán et al., 1993; Pucciarelli et al., 1993-b).

Se conoce además, desde hace décadas, que las modificaciones endócrinas provocan cambios en la robustez esquelética expresándose como un mosaico de respuestas en diferentes secciones del esqueleto (Riesenfeld 1974, 1975). Sin embargo los mecanismos subyacentes distan de ser conocidos.

Los resultados del presente estudio dan cuenta también, de la existencia de un fuerte efecto alométrico de crecimiento. La matriz de correlación para la última edad considerada, que incluyó a todos los grupos del mismo sexo, mostró en forma general las relaciones entre las distintas variables. En los machos, cerca de la mitad de los valores de la matriz se encontraron cercanos a 1, indicando que las variables cambiaron isométricamente, presentándose además un gran número de variables no correlacionadas o con correlaciones negativas.

En este sentido, la estructura de la matriz de correlación en machos evidenció ruptura del efecto tamaño por acción del tratamiento. Las longitudes humeral, femoral y pélvica mostraron ser las variables más afectadas por el efecto forma, con valores de correlación negativos. Esto no se observó en la matriz de correlación para hembras, las cuales presentaron correlaciones positivas para la mayoría de las variables a excepción del ancho femoral y del ancho y la altura neurocraneana que mostraron correlación nula. Este efecto alométrico pudo ser examinado con mayor profundidad en el análisis de

componentes principales.

En ratas con RPC pudo observarse alteración de los patrones de crecimiento de las variables óseas, de tal manera que, a los 84 días, se evidenciaron modificaciones de la relaciones de alometría esperable para los animales control.

La aplicación de GH a animales con RPC mostró efectividad en reponer la alometría normal de crecimiento, sin embargo en los machos el efecto fue incompleto, mostrando en el caso de las hembras una mayor eficacia.

La castración modificó el patrón alométrico de crecimiento y redujo el dimorfismo sexual en términos osteométricos igualando ambos sexos, de tal forma que, el análisis discriminante, no indicó ninguna función con poder discriminatorio.

Se ha demostrado por la vía experimental que las ratas machos secretan mayores cantidades de GHRH que las hembras, fenómeno relacionado con la mayor amplitud en los picos de secreción de GH en los primeros, el cual es dependiente de la exposición hipotalámica a hormonas gonadales tanto durante el período neonatal como en la vida adulta (Diéguez et al 2002). El incremento de esteroides sexuales durante la pubertad es esencial para lograr el normal empuje puberal de crecimiento en ambos sexos, siendo además requerido una exposición a los esteroides sexuales durante el período neonatal (Chowen et al 2004). El tratamiento con GH de animales castrados y con RPC provocó un

efecto dimórfico corroborado en la tercera función discriminante, sin alterar sensiblemente el patrón alométrico de la castración.

La testosterona en cambio, afectó potentemente el patrón alométrico en los machos, impactando diferencialmente en huesos largos y componentes pélvicos. Por otro lado, el estradiol redujo el tamaño en forma proporcionada, sin alterar la forma.

Pazos et al. (2000), sugieren que el cambio del equilibrio fisiológico entre andrógenos y estrógenos modifica el crecimiento corporal normal siendo este efecto parcialmente mediado por los niveles disminuidos de IGF1 en suero. También, el bloqueo de receptores del andrógeno y la falta de oposición a la acción estrogénica disminuyen la expresión génica de los IGF1 hepática que son la fuente principal de IGF1 circulante, sin modificar la expresión del gen de GH pituitario o la reserva de GH. Durante el desarrollo puberal, el mecanismo de diferenciación sexual del crecimiento somático puede estar relacionado con la disminución de GH causada por la acción negativa de un elevado efecto relativo del estrógeno en la expresión de los genes de GHR e IGF1.

Bajo este panorama complejo, el ACP con todos los grupos y ambos sexos permitió esclarecer algunos aspectos morfométricos. Los dos primeros ejes permitieron construir los siguientes tres subconjuntos:

El primer subconjunto definido solamente por las hembras RPC tratadas con estradiol, las cuales mostraron marcada disminución de tamaño sin

alteraciones evidentes de forma.

El segundo subconjunto conformado por los grupos Sham, RPC y RPC tratados con GH de ambos sexos, con diferencias de tamaño como consecuencia del tratamiento y de sexo.

El tercer subconjunto compuesto por todos los animales castrados y los RPC tratados con estradiol donde se observó pérdida de dimorfismo y alteraciones en variables craneanas, pélvicas y en la longitud de huesos largos.

Según Robson et al. (2002) el cartílago de crecimiento epifisario es un órgano que constituye un punto de convergencia para las interacciones entre las hormonas circulantes y la acción local de factores autocrino/paracrino que son alcanzados por regulación mutua entre disponibilidad de la hormona y de la expresión del receptor en los condrocitos. De este modo, los autores sugieren que las vías de señalización de GH, IGF-I, Glucocorticoides y T3 están integradas por complejas interacciones de regulación. Sin embargo no son claras las relaciones de regulación hormonal. Mientras que Chowen et al. (1996) sugieren que los esteroides sexuales tanto en neonatos como en animales adultos, influyen el patrón de secreción de la GH por modulación de la somatostatina y la hormona liberadora de la GH, Fodor et al. (2001) sostienen que las neuronas que expresan el gen para la hormona liberadora de la GH no son el blanco directo de los andrógenos, por lo que, el efecto conocido de la testosterona sobre la expresión de dicho gen, debe ser producido a través de

algún otro proceso intermediario neuronal o endocrino.

### **Función hormonal y fenotipo en el contexto adaptativo.**

Los cambios alométricos en relación al tamaño, el crecimiento ontogenético y la plasticidad fenotípica representan tres rasgos fundamentales en el desarrollo de los organismos (Wu et al., 2003; Schoenau, 2006). Estos se encuentran adaptativamente asociados a las determinaciones del entorno. Dufty (2002), sostiene que el sistema endócrino puede interpretar las fluctuaciones ambientales para producir un rango de fenotipos a partir del mismo genoma, constituyendo un vínculo complejo entre el genotipo y el ambiente. Señala asimismo que, la plasticidad del fenotipo representa las interacciones dinámicas entre los genes y el ambiente, siendo estas interacciones influenciadas por el fenotipo existente pudiendo tener consecuencias evolutivas.

La diferenciación sexual de los patrones reproductivos y del comportamiento son inducidos principalmente por hormonas gonadales. En muchos vertebrados superiores, una parte integral de este proceso es la inducción de diferencias sexuales permanentes en la función nerviosa central, en respuesta a la secreción temprana de hormonas gonadales durante el desarrollo (MacLusky and Naftolin, 1981).

El logro de la competencia reproductiva es central en la historia de vida de todos los organismos con reproducción sexual. En los mamíferos esta se

manifiesta como la madurez sexual y el inicio del estro, mientras que en humanos como la pubertad. Los rasgos importantes en relación a la aptitud reproductiva incluyen el patrón de crecimiento, el tiempo de las fases del crecimiento, el tamaño del cuerpo óptimo y la longevidad, así como los determinantes de la fecundidad y la reproducción, incluyendo la edad de competencia reproductiva y el número de descendencia (Stearns y Koella, 1986). Los factores medioambientales a considerar incluyen el ambiente físico, el ambiente biológico interespecífico (como la disponibilidad de alimentos y el riesgo de predación) y el ambiente intraespecífico (como la competencia por los alimentos y el éxito reproductor) (Gluckman y Hanson, 2006).

La plasticidad fenotípica de desarrollo permite a los organismos retrasar o acelerar el desarrollo dependiendo de las condiciones ambientales (Stearns, 1989). En contraste con el desarrollo embrionario, el postembrionario se presenta con mayor capacidad de variación en el *tempo*, siendo susceptible a influencias ambientales las cuales son mediadas por la regulación de secreción, metabolismo y actividad de las hormonas. Esta capacidad para modular el desarrollo en respuesta al ambiente, es una adquisición temprana en términos evolutivos (Amiel-Tison et al., 2004a).

La testosterona es considerada el andrógeno esencial para el desarrollo de los rasgos secundarios del varón (Wickings y Dixson, 1992; Woodley, 1994), es asociada a la masa muscular (Bhasin et al., 1996), se encuentra involucrada en la

fisiología sexual masculina y la conducta (Terasawa y Fernández, 2001) y es a menudo relacionada con la agresión y el status social (Monaghan and Glickman 1993). La evidencia experimental muestra que la elevación artificial de la testosterona, utilizando implantes, incrementa la respuesta de intrusión territorial y los apremios agresivos en ratas (Albert et al., 1986). Las observaciones realizadas sobre la conducta destacan la importancia de los niveles medidos de testosterona en el pronóstico de los resultados en la interacción entre machos de babuinos. La información combinada respecto del nivel de testosterona de ambos machos constituye el mejor predictor de eventos de agresión, resaltando la utilidad de análisis diádicos al relacionar la testosterona a la conducta (Bergman et al., 2006).

La relación entre adaptación ósea muscular y función hormonal informada por Schoenau (2006), en donde se destacan la influencia del estrógeno en la adaptación del hueso a la fuerza muscular en las mujeres y el efecto de potenciación del desarrollo muscular en los hombres por parte de la testosterona, es otro ejemplo que permite contemplar en rango amplio los alcances de las funciones hormonales en términos fenotípicos.

En el presente estudio, las ratas machos y hembras respondieron de forma diferente ante una misma injuria, el RPC. Esta respuesta diferencial estuvo mediada por un gran número de factores vinculados de forma compleja. Las hormonas sexuales resultan ser tanto efectoras como mediadoras en un sistema

compuesto por factores ambientales y respuestas fenotípicas. La GH se establece como un mediador-modulador entre las respuestas externas (sistema nervioso-ambiente) y los factores insulínicos de crecimiento, principalmente los IGF1.

La GH y las hormonas sexuales se encuentran estrechamente relacionadas y dicha relación pareciera estar ligada a una respuesta sexualmente distinta ante los factores ambientales inductores de estrés. De esta forma los sexos exhiben una plasticidad fenotípica diferente entre si.

El RPC, como injuria temprana, afecta el destino somatotrópico de los animales estudiados, evidenciando una respuesta morfológica con restricción en el peso y en las dimensiones óseas. La GH actúa diferencialmente en ambos sexos y esto puede ser explicado en parte por efecto de las hormonas sexuales.

De esta forma en nuestro estudio la verificación de la hipótesis que propone una programación temprana por exposición a las hormonas sexuales, principalmente a la testosterona, con efecto sobre el eje somatotrópico (Jansson et al., 1985; Cooper et al., 1997; Gale et al., 2001), se desprende de los siguientes resultados:

- 1- El análisis discriminante entre Sham, RPC y RPC tratados con GH genera una tercera función que discrimina entre sexos para los RPC tratados con GH.
- 2- En la comparación entre Sham, RPC y RPC+Ca no se verifica ninguna función capaz de diferenciar entre sexos.
- 3- La comparación entre Sham, RPC y RPC+Ca+GH crea una tercera función

que discrimina entre sexos.

Se colige que la GH actúa diferencialmente para cada sexo y que esta diferencia puede verificarse aún en los animales castrados, los cuales sufrieron una exposición endógena normal a su hormona sexual homóloga hasta los 21 días de edad.

Por otra parte, la influencia de las hormonas sexuales en la plasticidad fenotípica se pone en evidencia cuando se correlacionan los ejes del ACP con los índices de maduración ósea mostrando que:

- El tratamiento con estradiol provoca un efecto simétrico de disminución del tamaño final debido a la aceleración en la maduración ósea.
- La testosterona afecta la alometría del crecimiento por cuanto estimula el crecimiento en longitud de los huesos largos.
- La castración, tanto para machos como hembras, conlleva a una posición morfométrica similar con efecto alométrico, pérdida de dimorfismo y retardo madurativo óseo solamente en machos.

El alcance real de los efectos del RPC es en la actualidad desconocido. Se ha postulado desde un efecto temprano producto del aumento en la secreción de corticosteroides que da como resultado aceleración del tiempo de desarrollo fetal y del nacimiento (Amiel-Tison et al, 2004b), hasta un efecto tardío con implicancias fisiológicas y metabólicas que afectan a los individuos adultos (Barker, 1995)

La hipótesis del “origen fetal” propone que las alteraciones en la nutrición y el estado endocrino fetal resultan en adaptaciones de desarrollo que provocan cambios permanentes en la fisiología y el metabolismo. Como consecuencia de estas alteraciones, los individuos afectados constituyen una población con alto riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas, endocrinas y cardiovasculares (Barker, 1995; Godfrey y Barker, 2000). Sin embargo el efecto a largo plazo resulta diferencial entre los sexos, de tal manera que las mujeres presentan una menor incidencia de enfermedad coronaria y esta diferencia resultaría de una menor tasa de crecimiento intruterino por parte de las hembras (Forsén et al., 1999). Eriksson et al., (1999; 2001) encontraron además que los niños con bajo peso resultan aún mas perjudicados si aceleran su ganancia de peso postnatal como resultado de una buena nutrición.

Especialmente en mamíferos, en donde la descendencia está en íntimo contacto fisiológico con la madre, se ha sugerido que las condiciones de la relación materno ambiental, las respuestas del medio interno y las modificaciones hormonales maternas pueden afectar a la descendencia (McEwen, 1997), proponiéndose que alguno de estos efectos maternos pueden prolongarse por varias generaciones (Wang y vom Saal, 2000).

El significado ecológico y evolutivo de la problemática no es despreciable. El éxito con que se han relacionado modelos de secreción hormonal a problemas ecológicos ha llevado a varios autores a proponer la

modificación de niveles hormonales como un medio formal de inducir la variación en el rasgo de un carácter, en lo que se denomina “ingeniería de fenotipos”, asumiendo que la aptitud de los fenotipos puede ser testeada y sus alcances evaluados en términos adaptativos y evolutivos (Sinervo y Huey, 1990; Ketterson et al., 1996; Ketterson y Nolan, 1999; Sinervo y Svensson, 1998).

Los mecanismos epigenéticos que regulan el desarrollo de un organismo a partir de la relación entre su información genética y el ambiente distan de comprenderse. El desarrollo de disciplinas como la genómica, transcriptómica, proteómica, citómica y metabolómica, son el reflejo de la complejidad de los procesos epigenéticos. Si bien estos procesos han sido postulados desde hace décadas (Nanney, 1958), las propuestas contemporáneas representan estrategias de integración para la interacción entre el genotipo del individuo y la exposición a factores externos e internos, las modificaciones sobre los factores de transcripción, la interacción entre proteínas y su función en el contexto del organismo, el grupo completo de los actores moleculares que participan en un proceso biológico dado junto a los procesos de transducción involucrados, las vías de regulación hormonal y la integración metabólica y neuroendócrina en el contexto cambiante del desarrollo ontogenético, así como las respuestas morfológicas y fisiológicas globales en términos adaptativos y evolutivos (Risch, 2000; Robosky et al., 2002; Dufty, 2002; Kim et al., 2003; De Ruijter et al., 2003; Giometti, 2003; German et al., 2004; Encarnación-Guevara, 2006).

La integración implica, en parte, una convergencia inductiva que permita comprender la relación entre los mecanismos epigenéticos que regulan el desarrollo de un organismo y los factores o “demandas” ambientales.

Las diferencias sexuales encontradas en el presente estudio concuerda con lo informado por diversos autores (Stinson, 1985; Oyhenart, 1998; Bolzán y Guimarey, 2004) y tales hallazgos podrían encuadrarse dentro de una explicación adaptativa. La velocidad máxima de crecimiento en los machos durante el período peripuberal sugeridas por Froesch et al (1990) y Rol de Lama et al. (2000) que la aplicación de GH no logra modificar, estaría dentro de este marco explicativo.

El actual paradigma en fisiología esquelética propone que debe haber una relación íntima entre la fuerza del hueso y la fuerza y tamaño del músculo, pero esta relación presentaría diferencias entre machos y hembras por efecto de las hormonas sexuales (Frost, 2000<sup>2</sup>).

Diversos estudios (Zanchetta et al., 1995; Kersting et al., 1988; Schoenau y Frost, 2000; Schoenau, 2005) apoyan la hipótesis de Frost, la cual presupone que el estrógeno en las hembras en crecimiento podría agregar mayor masa ósea que la necesaria para las actividades físicas. Esto permitiría guardar el calcio extra para la futura gestación y lactación. Tal hipótesis sostiene que las hembras presentan una fuerte asociación entre las estructuras musculares y óseas mediadas por el estadiol. En los machos en cambio, la testosterona se asocia

directamente a la mayor masa muscular y a la estimulación del crecimiento en longitud ósea.

Esto permite realizar deducciones con implicancias profundas de carácter adaptativo que podría explicar la mejor canalización femenina del crecimiento manifestada como de “mayor resistencia al estrés nutricional” y/o “mayor plasticidad fenotípica de los machos en tiempos de prosperidad”.

Secundariamente, esto podría ser explicado en términos evolutivos como la capacidad de los mamíferos de adecuarse a la competencia interespecífica en momentos de crisis e intraespecífica en momentos de prosperidad. De esta forma, los machos compiten entre sí cuando el nicho ecológico lo posibilita y las hembras resisten y se reproducen a pesar del estrés impuesto.

Por fin, la hipótesis del origen fetal o “hipótesis de Barker” con efecto tardío diferencial en los sexos, el “paradigma de Utah”, la mejor canalización femenina, la estimulación del cartílago de crecimiento por aromatización periférica a estradiol, no son consecuencias independientes o postulados aislados sino jirones de un tapiz que diversas disciplinas prometen componer.

## **Conclusiones**

La disminución del flujo sanguíneo materno-fetal en el último tercio de la gestación modifica, al nacimiento, el crecimiento ponderal, craneofacial, axial y apendicular. Los cambios producidos conducen a retardo prenatal de crecimiento como consecuencia en la reducción diferencial de las dimensiones óseas –modificación en el crecimiento alométrico-, presentando además variabilidad de acuerdo al sexo –modificación en el dimorfismo sexual-.

La adaptación al ambiente intrauterino desfavorable genera respuestas, tales como alteraciones del crecimiento, que permite la supervivencia de los individuos a pesar del alto precio a pagar por este efecto beneficioso inmediato: disminución en el peso corporal, modificaciones en la estructura de los dos componentes craneanos mayores: neuro y esplacnocraneo, así como en la longitud y ancho de los huesos largos.

La importancia de las adaptaciones fetales es crítica no sólo en las respuestas inmediatas sino también, en aquellas que perduran o se manifiestan a largo plazo. En este sentido, el retardo del crecimiento ponderal persiste en los machos hasta la edad adulta, mientras que las hembras presentan crecimiento compensatorio incompleto. A nivel craneofacial, las modificaciones en el

crecimiento también se manifiestan sexualmente diferentes puesto que el retardo continúa en hembras hasta la adultez y en los machos hay recuperación parcial a nivel del esplacnocráneo a partir de los 42 días de edad.

Los cambios observados en el crecimiento alométrico, sin asociación con modificaciones madurativas óseas, evidencian que la rehabilitación nutricional durante la lactancia y postlactancia es insuficiente para revertir los efectos de la reducción del flujo sanguíneo uteroplacentario sobre el crecimiento fetal.

La acción específica que ejerce la hormona de crecimiento en la modulación del crecimiento posnatal luego del efecto del RPC indica que existe: a- respuesta dimórfica a la terapia con GH en animales con RPC respecto a la ganancia de peso corporal siendo escasa o nula en machos y efectiva en hembras, b- recuperación del tamaño y la forma corporal con crecimiento compensatorio armónico y completo en hembras (como consecuencia de la aceleración en la maduración ósea) e incompleto en machos, c- crecimiento diferencial en ambos componentes mayores: recuperación en el neurocráneo y respuesta en mosaico en el esplacnocráneo y d- crecimiento postcraneano compensatorio, completo en hembras e incompleto en machos.

Las hormonas sexuales presentan acción modular sobre el crecimiento la cual es dependiente a la naturaleza androgénica o estrogénica y a su vez diferente a la producida por GH.

La testosterona en machos con RPC provoca modificación alométrica por

efecto de la estimulación diferencial del crecimiento sobre los huesos largos. El estradiol en hembras RPC induce inhibición armónica del crecimiento, afectando el tamaño final y no la forma. Ambas hormonas y en ambos sexos, inducen aceleración madurativa, siendo en hembras mayor que en machos.

La ausencia de testosterona afecta severamente el crecimiento en los machos con impacto inhibitorio diferencial sobre variables craneanas y postcraneanas. La ausencia de estrógenos en hembras, por el contrario, estimula el crecimiento de la mayoría de las variables craneanas y algunas dimensiones de los huesos largos como el ancho femoral y las longitudes humeral y tibial.

Se observa programación temprana por exposición a las hormonas sexuales, principalmente a la testosterona, con efecto sobre el eje somatotrópico por cuanto su ausencia inhibe la ganancia de peso corporal de modo tal que la administración de GH no permite lograr crecimiento compensatorio. Contrariamente, la ausencia de estrógenos en hembras, promueve el catch-up en peso corporal. Este crecimiento compensatorio comienza tempranamente en presencia de GH pero su efecto se anula una vez que el tratamiento ha finalizado.

Los animales castrados con o sin terapia con GH consumen relativamente más alimento, sugiriendo la ausencia de un efecto anabólico de las hormonas esteroides en este modelo.

## **Comentarios finales**

En la actualidad, cuando las disciplinas científicas han alcanzado un enorme grado de madurez y efectividad, se hacen necesarios metodologías y programas que integren conocimientos de diversas áreas de la investigación. El método experimental permite realizar generalizaciones que den luz en esta trama compleja. En este sentido, los resultados obtenidos dan cuenta de la importancia del enfoque experimental en antropología como aporte a la investigación particularizada de los efectos del medio ambiente sobre el crecimiento y desarrollo e integran además diversos factores asociados en múltiples niveles de resolución biológica. Responden de este modo, a la necesidad generalizada de profundizar el conocimiento sobre factores epigenéticos, difíciles de aislar en los estudios descriptivos-comparativos realizados en poblaciones humanas por encontrarse enlazados en complejos sistemas y por lo cual, la simple acumulación inductiva, no logra dar respuestas integradas.

# Anexos

# Tablas

# Tabla 1

## Composición de la muestra

Grupo experimental	n	
	<i>Machos</i>	<i>Hembras</i>
Control	16	15
SH	15	15
RPC	14	14
RPC+GH	23	17
RPC+Ca	22	14
RPC+Ca+GH	22	14
RPC+Te	23	–
RPC+Es	–	16

SH: Sham-operado

RPC: Retardo prenatal de crecimiento

RPC+GH: Retardo prenatal de crecimiento + Inyección de hormona de crecimiento

RPC-Ca: Retardo prenatal de crecimiento + Castración

RPC-Ca+ GH: Retardo prenatal de crecimiento + Castración + Inyección de hormona de crecimiento

RPC + Te: Retardo prenatal de crecimiento + Inyección de Testosterona

RPC + Es: Retardo prenatal de crecimiento + Inyección de Estradiol

## Tabla 2

### Comparaciones a realizar y factores de estudio

COMPARACION	FACTOR A DESPEJAR	SUBSTRATO
C - Sh	Diluyente + Técnica quirúrgica	Machos
C - Sh	Diluyente + Técnica quirúrgica	Hembras
Sh - RPC	Retardo prenatal del crecimiento	Machos
Sh - RPC	Retardo prenatal del crecimiento	Hembras
Sh - RPC +Ca orquidectomía	Retardo del crecimiento+orquidectomía	Machos
Sh - RPC + Ca ooforectomía	Retardo del crecimiento+ooforectomía	Hembras
Sh - RPC +GH	Retardo del crecimiento+GH	Machos
Sh - RPC + GH	Retardo del crecimiento + GH	Hembras
Sh - RPC + Testosterona	Retardo del crecimiento + testosterona	Machos
Sh - RPC + Estrógenos	Retardo del crecimiento + estrógenos	Hembras
Sh - RPC + Ca orquidectomía+GH	Retardo del crecimiento+orquidectomía+GH	Machos
Sh - RPC + Ca ooforectomía+GH	Retardo del crecimiento+ooforectomía+GH	Hembras
RPC-RPC + Ca orquidectomía	Orquidectomía	RPC-Machos
RPC-RPC + Ca ooforectomía	Ooforectomía	RPC-Hembras
RPC-RPC +GH	Hormona de crecimiento	RPC-Machos
RPC-RPC +GH	Hormona de crecimiento	RPC-Hembras
RPC-RPC +Testosterona	Testosterona	RPC-Machos
RPC-RPC +Estrógenos	Estrógenos	RPC-Hembras

SH: Sham-operado

RPC: Retardo prenatal de crecimiento

RPC+GH: Retardo prenatal de crecimiento + Inyección de hormona de crecimiento

RPC+Ca: Retardo prenatal de crecimiento + Castración

RPC+Ca+GH: Retardo prenatal de crecimiento + Castración + Inyección de hormona de crecimiento

RPC+Te: Retardo prenatal de crecimiento + Inyección de testosterona

RPC+Es: Retardo prenatal de crecimiento + Inyección de estradiol

Tabla 3

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para peso corporal,  
índice de masa corporal y consumo alimentario

Edad (días)	Peso Corporal													Índice de masa corporal				
	1	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	1	21	42	63	84
<b>n</b>	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240
<b>Media</b>	5,9	10,2	18,8	28,2	47,9	77,6	110,0	137,4	163,7	184,8	203,6	219,8	234,8	21,18	31,40	50,70	59,90	66,30
<b>Z k-s</b>	0,98	1,52	1,79	1,11	1,13	0,74	0,75	0,69	0,67	0,75	1,12	1,13	1,18	0,66	0,49	0,50	0,88	0,70
<b>Sig</b>	<b>0,289</b>	<b>0,020</b>	<b>0,003</b>	<b>0,171</b>	<b>0,159</b>	<b>0,641</b>	<b>0,635</b>	<b>0,736</b>	<b>0,756</b>	<b>0,632</b>	<b>0,164</b>	<b>0,159</b>	<b>0,121</b>	<b>0,779</b>	<b>0,968</b>	<b>0,965</b>	<b>0,419</b>	<b>0,709</b>

Edad (días)	Consumo Alimentario																	
	<i>Absoluto</i>					<i>Relativo</i>												
	28	35	42	49	56	63	70	77	84	28	35	42	49	56	63	70	77	84
<b>n</b>	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240
<b>Media</b>	6,70	10,86	14,19	15,78	17,06	17,57	17,86	18,14	18,38	142,3	143,3	131,3	116,3	105,5	96,5	88,6	83,8	79,8
<b>Z k-s</b>	1,21	1,36	1,13	1,39	0,89	1,05	0,96	1,38	1,40	1,49	1,17	0,58	0,86	1,11	1,51	1,02	1,26	1,37
<b>Sig</b>	<b>0,106</b>	<b>0,049</b>	<b>0,157</b>	<b>0,041</b>	<b>0,405</b>	<b>0,221</b>	<b>0,318</b>	<b>0,045</b>	<b>0,040</b>	<b>0,023</b>	<b>0,127</b>	<b>0,892</b>	<b>0,451</b>	<b>0,173</b>	<b>0,022</b>	<b>0,248</b>	<b>0,085</b>	<b>0,047</b>

n: tamaño muestral

Z k-s: desvíos Z de Kolmogorov- Smirnov

Sig.: nivel de significación

Tabla 4 A

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para variables craneanas

Neurocraneo															
	<i>Longitud</i>					<i>Ancho</i>					<i>Altura</i>				
<b>Edad (días)</b>	<b>1</b>	<b>21</b>	<b>42</b>	<b>63</b>	<b>84</b>	<b>1</b>	<b>21</b>	<b>42</b>	<b>63</b>	<b>84</b>	<b>1</b>	<b>21</b>	<b>42</b>	<b>63</b>	<b>84</b>
<b>n</b>	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240
<b>Media</b>	13,33	22,31	26,73	28,95	30,16	9,91	14,61	15,25	15,55	15,73	7,24	10,63	11,39	11,82	12,02
<b>Z k-s</b>	1,35	0,70	0,71	0,72	0,62	1,01	0,73	1,30	1,05	1,02	1,67	0,68	0,92	1,21	0,78
<b>Sig</b>	<b>0,053</b>	<b>0,708</b>	<b>0,700</b>	<b>0,673</b>	<b>0,839</b>	<b>0,256</b>	<b>0,658</b>	<b>0,069</b>	<b>0,222</b>	<b>0,252</b>	<b>0,008</b>	<b>0,749</b>	<b>0,368</b>	<b>0,109</b>	<b>0,578</b>

Esplacnocraneo															
	<i>Longitud</i>					<i>Ancho</i>					<i>Altura</i>				
<b>Edad (días)</b>	<b>1</b>	<b>21</b>	<b>42</b>	<b>63</b>	<b>84</b>	<b>1</b>	<b>21</b>	<b>42</b>	<b>63</b>	<b>84</b>	<b>1</b>	<b>21</b>	<b>42</b>	<b>63</b>	<b>84</b>
<b>n</b>	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240
<b>Media</b>	4,72	9,01	12,64	14,72	15,75	6,94	10,17	12,24	13,44	14,08	4,14	7,16	9,25	10,50	11,09
<b>Z k-s</b>	1,19	0,74	1,12	0,87	0,64	2,08	0,58	0,89	0,95	0,72	1,18	1,08	0,83	1,01	1,36
<b>Sig</b>	<b>0,118</b>	<b>0,636</b>	<b>0,166</b>	<b>0,438</b>	<b>0,802</b>	<b>0,000</b>	<b>0,884</b>	<b>0,411</b>	<b>0,327</b>	<b>0,676</b>	<b>0,122</b>	<b>0,198</b>	<b>0,503</b>	<b>0,261</b>	<b>0,049</b>

n: tamaño muestral

Z k-s: desvios Z de Kolmogorov- Smirnov

Signif.: nivel de significación

Tabla 4 B  
Prueba de Kolmogorov-Smirnov para variables postcraneanas

Edad (días)	Fémur										Húmero									
	Longitud					Ancho					Longitud					Ancho				
	1	21	42	63	84	1	21	42	63	84	1	21	42	63	84	1	21	42	63	84
<b>n</b>	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240
<b>Media</b>	3,62	10,56	16,88	21,43	22,99	1,39	2,24	2,98	3,35	3,51	4,13	10,36	15,11	18,69	20,36	1,36	1,83	2,16	2,43	2,62
<b>Z k-s</b>	1,53	0,84	0,81	1,32	1,07	1,46	1,04	0,74	0,90	1,03	1,85	1,01	0,95	1,29	0,85	1,93	0,90	1,15	0,96	0,51
<b>Sig</b>	<b>0,018</b>	<b>0,486</b>	<b>0,526</b>	<b>0,060</b>	<b>0,199</b>	<b>0,027</b>	<b>0,227</b>	<b>0,645</b>	<b>0,395</b>	<b>0,243</b>	<b>0,002</b>	<b>0,263</b>	<b>0,332</b>	<b>0,071</b>	<b>0,464</b>	<b>0,001</b>	<b>0,393</b>	<b>0,139</b>	<b>0,318</b>	<b>0,957</b>

Edad (días)	Tibia										Columna				
	Longitud					Ancho					Longitud				
	1	21	42	63	84	1	21	42	63	84	1	21	42	63	84
<b>n</b>	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240
<b>Media</b>	4,14	16,95	27,78	33,50	35,91	1,27	2,17	3,01	3,58	3,99	34,93	63,05	107,67	131,27	141,10
<b>Z k-s</b>	2,42	0,92	0,97	1,30	1,13	1,48	2,19	0,75	1,66	1,86	1,01	0,63	1,05	1,09	1,07
<b>Sig</b>	<b>0,000</b>	<b>0,363</b>	<b>0,302</b>	<b>0,068</b>	<b>0,152</b>	<b>0,025</b>	<b>0,000</b>	<b>0,621</b>	<b>0,008</b>	<b>0,002</b>	<b>0,255</b>	<b>0,820</b>	<b>0,216</b>	<b>0,187</b>	<b>0,205</b>

Edad (días)	Pelvis																			
	Longitud					Ancho pélvico inferior					Ancho pélvico medio					Ancho pélvico superior				
	1	21	42	63	84	1	21	42	63	84	1	21	42	63	84	1	21	42	63	84
<b>n</b>	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240	240
<b>Media</b>	5,92	15,30	27,24	34,99	38,88	3,77	7,10	12,30	15,77	17,31	3,34	6,23	11,10	14,30	15,54	4,26	9,04	15,06	19,10	21,22
<b>Z k-s</b>	0,96	1,04	0,94	1,09	0,94	0,84	0,97	1,44	1,06	0,82	1,00	0,58	0,76	0,61	0,74	0,85	0,88	0,66	0,86	0,69
<b>Sig</b>	<b>0,313</b>	<b>0,227</b>	<b>0,344</b>	<b>0,182</b>	<b>0,338</b>	<b>0,477</b>	<b>0,299</b>	<b>0,031</b>	<b>0,209</b>	<b>0,518</b>	<b>0,274</b>	<b>0,887</b>	<b>0,617</b>	<b>0,853</b>	<b>0,648</b>	<b>0,466</b>	<b>0,424</b>	<b>0,775</b>	<b>0,454</b>	<b>0,722</b>

n: tamaño muestral

Z k-s: desvios Z de Kolmogorov- Smirnov

Sig.: nivel de significación

Tabla 5

Análisis de varianza para peso corporal, consumo alimentario relativo (CAR) y variables craneanas y post-craneanas

Factor	Peso		CAR		Neurocraneo						Esplacocraneo					
	<i>Longitud</i>		<i>Longitud</i>		<i>Longitud</i>		<i>Ancho</i>		<i>Altura</i>		<i>Longitud</i>		<i>Ancho</i>		<i>Altura</i>	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig	F	Sig	F	Sig	F	Sig	F	Sig	F	Sig
EDAD	38693,77	**	30536,09	**	499245,81	**	858626,27	**	606129,98	**	191654,03	**	339439,43	**	308151,14	**
SEXO	323,08	**	25,15	**	15,50	**	35,69	**	32,22	**	34,39	**	41,35	**	25,76	**
TRATAMIENTO	56,59	**	39,74	**	74,04	**	21,61	**	28,75	**	23,82	**	6,89	**	11,90	**
SEXO*TRAT.	16,55	**	1,80	n.s	4,84	**	2,10	n.s	2,75	*	0,72	n.s	5,45	**	1,79	n.s

Factor	Fémur				Húmero				Tibia			
	<i>Longitud</i>		<i>Ancho</i>		<i>Longitud</i>		<i>Ancho</i>		<i>Longitud</i>		<i>Ancho</i>	
	F	Sig	F	Sig	F	Sig	F	Sig	F	Sig	F	Sig
EDAD	324262,15	**	110942,11	**	196299,90	**	81835,51	**	430319,91	**	132268,18	**
SEXO	28,53	**	26,69	**	46,75	**	17,34	**	168,99	**	90,23	**
TRATAMIENTO	30,57	**	42,39	**	36,10	**	85,46	**	57,02	**	56,41	**
SEXO*TRAT.	3,80	**	7,87	**	4,72	**	3,32	**	5,83	**	2,65	*

Factor	Columna		Pelvis		Ancho Pélvico					
	<i>Longitud</i>		<i>Longitud</i>		<i>Inferior</i>		<i>Medio</i>		<i>Superior</i>	
	F	Sig	F	Sig	F	Sig	F	Sig	F	Sig
EDAD	396398,18	**	236703,99	**	189160,96	**	118738,29	**	169073,74	**
SEXO	75,81	**	53,87	**	53,12	**	60,09	**	37,82	**
TRATAMIENTO	90,30	**	91,33	**	65,66	**	56,71	**	93,19	**
SEXO*TRAT.	2,23	*	5,37	**	7,26	**	3,12	**	2,98	**

\*\*p<0.01

Tabla 6

Prueba de Rango Múltiple para peso corporal, consumo alimentario relativo e índice de masa corporal en la comparación Control - Sham

Edad	Peso corporal	CAR	IMC
<i>machos</i>			
1	-0,23	—	-0,97
7	1,36 *	—	—
14	1,08	—	—
21	3,59 *	—	1,64
28	2,56	3,67	—
35	11,87 * *	4,65	—
42	3,89	-4,03	0,86
49	-0,41	-1,11	—
56	2,27	-5,89	—
63	-1,47	1,02	2,34
70	-8,85	1,46	—
77	-14,51 *	2,94	—
84	-15,99 *	-4,06	-1,52
<i>hembras</i>			
1	-0,38	—	-2,46 * *
7	1,61 * *	—	—
14	1,00	—	—
21	3,87 * *	—	2,87 *
28	4,87 *	21,97 *	—
35	5,93	-3,10	—
42	1,60	-4,24	-0,17
49	-3,47	-3,52	—
56	2,20	0,62	—
63	-1,60	8,41	-0,81
70	-1,33	-4,58	—
77	-2,07	0,98	—
84	-2,07	-0,92	-0,60

\* p<0.05

\*\*p<0.01

CAR: Consumo alimentario relativo

IMC: Índice de masa corporal

Tabla 7

Prueba de Rango Múltiple para variables craneanas en la comparación Control - Sham

Edad	NEUROCRANEO			ESPLACNOCRANEO		
	LN	AN	HN	LE	AE	HE
<i>machos</i>						
1	-0,57 **	-0,04	-0,20	0,36	-0,20	-0,16
21	-0,58	-0,05	0,03	0,26	-0,01	0,12
42	-0,27	-0,09	0,02	-0,16	0,26	0,05
63	-0,78 **	-0,17	-0,12	-0,29	0,27	0,02
84	-1,05 **	-0,25 *	-0,20	-0,13	0,51 **	-0,08
<i>hembras</i>						
1	0,00	0,07	-0,56 **	0,21	-0,45 *	0,45 *
21	-0,11	0,11	-0,71 *	0,07	0,00	0,03
42	-0,03	-0,11	0,00	0,05	0,41 *	-0,25
63	-0,06	-0,05	0,09	-0,08	0,48 **	-0,05
84	-0,02	-0,19	0,05	0,00	0,53 **	-0,16

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LN: Longitud del neurocraneo

AN: Ancho del neurocraneo

HN: Altura del neurocraneo

LE: Longitud del esplacnocraneo

AE: Ancho del esplacnocraneo

HE: Altura del esplacnocraneo

Tabla 8

Prueba de Rango Múltiple para variables postcraneanas en la comparación Control - Sham

Edad	FEMUR		HUMERO		TIBIA		PELVIS				COLUMNA
	LF	AF	LH	AH	LT	AT	LP	API	APM	APS	LC
<i>machos</i>											
1	0,25 **	-0,03	-0,04	-0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,10	0,09	0,52
21	0,39	0,01	0,05	-0,02	-0,36	0,17 **	-0,81 *	0,19	0,06	0,01	3,16 **
42	0,00	-0,07	0,24	-0,18 **	0,60	0,20 *	-0,11	-0,09	-0,30	-0,33	1,89
63	0,20	-0,11	0,86 **	-0,04	-0,11	0,00	-1,17 **	0,02	-0,42	-0,80 **	-2,39
84	1,13 **	-0,39 **	-0,36	-0,14	0,30	0,26 **	0,22	-0,52 *	-0,85 **	-1,00 **	-2,09
<i>hembras</i>											
1	0,10	0,01	0,12	0,03	0,03	0,05	0,07	-0,04	0,08	0,02	1,65 **
21	0,51 *	0,09	0,12	0,01	0,56	0,14 *	-0,18	0,06	0,14	0,73 **	2,28 *
42	0,47	0,05	0,60	0,07	0,66	0,56 **	-0,34	-0,01	-0,17	-0,15	1,82
63	0,27	0,05	-0,03	-0,03	0,82 *	0,33 **	-0,74	0,07	-0,52	-0,62 *	0,67
84	0,55	0,03	0,34	0,03	0,52	0,24 **	0,25	-0,12	-0,39	-0,53	0,27

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LF: Longitud del fémur

AF: Ancho del fémur

LH: Longitud del húmero

AH: Ancho del húmero

LT: Longitud de la tibia

AT: Ancho de la tibia

LP: Longitud de la pelvis

API: Ancho pélvico inferior

APM: Ancho pélvico medio

APS: Ancho pélvico superior

LC: Longitud de la columna

Tabla 9

Prueba de Rango Múltiple para peso corporal, consumo alimentario relativo e índice de masa corporal en la comparación Sham - RPC

Edad	Peso Corporal	CAR	IMC
<i>machos</i>			
1	1,37 **	—	2,68 **
7	0,41	—	—
14	4,52 **	—	—
21	5,18 **	—	2,81 *
28	5,64 *	-10,00	—
35	7,78 *	-1,23	—
42	16,01 **	6,89	2,89
49	17,39 **	-2,78	—
56	19,17 **	6,74	—
63	30,39 **	-9,63 *	6,18 **
70	33,02 **	7,48	—
77	33,28 **	-14,15 **	—
84	43,08 **	-3,48	6,42 **
<i>hembras</i>			
1	1,62 **	—	3,36 **
7	0,28	—	—
14	3,30 *	—	—
21	5,56 **	—	-2,69 *
28	3,10	-18,52 *	—
35	4,22	4,25	—
42	7,96	14,71	0,03
49	3,18	1,63	—
56	7,24	5,04	—
63	11,26 *	-7,37	0,53
70	16,81 **	13,77 **	—
77	19,05 **	-9,69 **	—
84	20,60 **	-9,89 **	1,81

\* p<0.05

\*\*p<0.01

CAR: Consumo alimentario relativo

IMC: Índice de masa corporal

Tabla 10

Prueba de Rango Múltiple para variables craneanas  
en la comparación Sham-RPC

Edad	NEUROCRANEO			ESPLACNOCRANEO		
	LN	AN	HN	LE	AE	HE
<i>machos</i>						
1	0,50 *	0,23	0,46 **	0,55 **	0,53 **	0,16
21	1,10 **	0,32 *	0,25 *	1,48 **	0,36 *	0,33 *
42	0,80 **	0,34 **	0,37 **	0,38	0,14	0,23
63	0,64 *	0,34 **	0,51 **	0,32	0,15	0,31 *
84	1,27 **	0,41 **	0,55 **	-0,15	0,08	0,52 **
<i>hembras</i>						
1	1,09 **	0,34 *	0,40 **	0,54 **	1,13 **	-0,06
21	2,11 **	0,29 *	0,30 **	1,76 **	0,35	0,54 **
42	0,87 **	0,30 **	0,40 **	0,92 **	-0,36 *	0,43 **
63	0,99 **	0,36 **	0,49 **	0,57 *	-0,47 **	0,48 **
84	0,82 **	0,56 **	0,43 **	0,65 *	-0,69 **	0,33 *

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LN: Longitud del neurocraneo

AN: Ancho del neurocraneo

HN: Altura del neurocraneo

LE: Longitud del esplacnocraneo

AE: Ancho del esplacnocraneo

HE: Altura del esplacnocraneo

Tabla 11

Prueba de Rango Múltiple para variables postcraneanas en la comparación Sham - RPC

Edad	FEMUR		HUMERO		TIBIA		PELVIS				COLUMNA
	LF	AF	LH	AH	LT	AT	LP	API	APM	APS	LC
<i>machos</i>											
1	0,20 **	0,50 **	0,27 **	0,58 **	0,22 **	0,11 **	0,50 **	0,45 **	0,33 **	0,30 **	1,91 **
21	0,40	0,31 **	0,53 *	0,38 **	1,49 **	0,22 **	1,79 **	0,90 **	0,79 **	0,87 **	2,63 *
42	0,53	0,28 **	-0,10	0,20 **	0,52	0,21 *	0,68	0,29	0,21	0,18	4,34 **
63	0,28	0,33 **	-0,88 **	0,23 **	0,20	0,12	0,88	0,51 *	0,63 *	0,61	2,67
84	-0,86 **	0,58 **	0,30	0,37 **	0,90 **	0,19 **	1,27 **	1,05 **	1,15 **	2,13 **	4,78 **
<i>hembras</i>											
1	0,18 *	0,46 **	0,31 **	0,67 **	0,30 **	0,17 **	0,50 **	0,26 **	0,42 **	0,53 **	1,64 **
21	0,60 **	0,39 **	0,68 **	0,56 **	1,22 **	0,23 **	1,18 **	0,49 **	1,20 **	0,87 **	2,68 *
42	0,86 *	0,22 **	0,05	0,07	1,16 **	0,12	1,54 **	0,30	0,46	0,46	3,49 *
63	0,61 *	0,22 **	0,17	0,18 *	0,62	0,21 **	1,60 **	0,40	0,90 **	1,36 **	3,17 *
84	-0,17	0,30 **	0,26	0,26 **	1,01 **	0,16 *	1,72 **	0,59 *	0,78 **	1,86 **	4,82 **

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LF: Longitud del fémur

AF: Ancho del fémur

LH: Longitud del húmero

AH: Ancho del húmero

LT: Longitud de la tibia

AT: Ancho de la tibia

LP: Longitud de la pelvis

API: Ancho pélvico inferior

APM: Ancho pélvico medio

APS: Ancho pélvico superior

LC: Longitud de la columna

Tabla 12

Prueba de Rango Múltiple para peso corporal, consumo alimentario relativo e índice de masa corporal en la comparación RPC - RPC+GH

Edad	Peso corporal	CAR	IMC
<i>machos</i>			
1	–	–	-2,18 * *
7	–	–	–
14	–	–	–
21	–	–	1,52
28	6,31 * *	11,17	–
35	-0,03	-3,13	–
42	5,57	-11,31	3,24 *
49	-6,05	7,83	–
56	-0,24	-3,00	–
63	-5,90	-2,26	-1,45
70	-7,53	-13,69 * *	–
77	-8,49	4,33	–
84	-11,08	9,15 * *	-1,62
<i>hembras</i>			
1	–	–	-1,93 *
7	–	–	–
14	–	–	–
21	–	–	5,58 * *
28	1,78	2,98	–
35	-1,40	-16,88	–
42	-5,53	2,50	-0,83
49	-6,66	11,87	–
56	-10,94 *	6,77	–
63	-8,22	-1,54	0,51
70	-19,86 * *	-8,26	–
77	-19,18 * *	1,71	–
84	-16,18 *	-17,85 * *	-2,07

\* p<0.05

\*\*p<0.00

CAR: Consumo alimentario relativo

IMC: Índice de masa corporal

Tabla 13

Prueba de Rango Múltiple para variables craneanas en la comparación

RPC - RPC+GH

EDAD	NEUROCRANEO			ESPLACNOCRANEO		
	LN	AN	HN	LE	AE	HE
<i>machos</i>						
42	-0,13	-0,06	-0,10	0,16	-0,07	0,07
63	-0,23	-0,03	-0,35 **	-0,06	-0,10	-0,06
84	-0,86 **	-0,04	-0,36 **	0,63 *	0,34 *	-0,39 **
<i>hembras</i>						
42	-0,58 *	-0,06	-0,16	-0,33	0,37 *	-0,25
63	-0,94 **	-0,13	-0,23 *	-0,49	0,49 **	-0,37 **
84	-1,47 **	-0,15	-0,28 *	-0,28	0,48 **	-0,24

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LN: Longitud del neurocraneo

AN: Ancho del neurocraneo

HN: Altura del neurocraneo

LE: Longitud del esplacnocraneo

AE: Ancho del esplacnocraneo

HE: Altura del esplacnocraneo

Tabla 14

Prueba de Rango Múltiple para variables postcraneanas en la comparación RPC - RPC+GH

Edad	FEMUR		HUMERO		TIBIA		PELVIS				COLUMNA	
	LF	AF	LH	AH	LT	AT	LP	API	APM	APS	LC	
<i>machos</i>												
42	0,36	-0,21 **	0,13	-0,14 *	0,07	-0,13	0,19	-0,01	0,26	-0,08	-0,74	
63	-0,17	-0,15 *	0,59 *	-0,07	-0,21	0,01	0,07	-0,11	-0,02	-0,63 *	0,06	
84	0,40	-0,07	0,46	-0,24 **	-0,79 **	-0,10	-1,30 **	-0,55 *	-0,17	-2,10 **	-1,37	
<i>hembras</i>												
42	0,44	-0,11	-0,28	-0,02	-0,62	-0,20 *	-1,12 *	-0,36	-0,35	-1,25 **	-1,61	
63	-0,71 *	-0,13	-0,40	-0,10	-0,71 *	-0,28 **	-1,86 **	-0,91 **	-0,91 **	-1,81 **	-3,63 **	
84	0,01	-0,32 **	-0,61 *	-0,35 **	-0,80 **	-0,17 *	-1,63 **	-1,05 **	-0,85 **	-2,43 **	-2,56	

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LF: Longitud del fémur

AF: Ancho del fémur

LH: Longitud del húmero

AH: Ancho del húmero

LT: Longitud de la tibia

AT: Ancho de la tibia

LP: Longitud de la pelvis

API: Ancho pélvico inferior

APM: Ancho pélvico medio

APS: Ancho pélvico superior

LC: Longitud de la columna

Tabla 15

Prueba de Rango Múltiple para peso corporal, consumo alimentario relativo e índice de masa corporal en la comparación SH - RPC+GH

Edad	Peso corporal	CAR	IMC
<i>machos</i>			
28	11,96 **	1,2	
35	7,74 *	-4,4	
42	21,58 **	-4,4	6,13 **
49	11,34 **	5,0	
56	18,93 **	3,7	
63	24,49 **	-11,9 **	4,73 **
70	25,49 **	-6,2	
77	24,79 **	-9,8 **	
84	32,00 **	5,7	4,80 **
<i>hembras</i>			
28	4,89 *	-15,5	
35	2,82	-12,6	
42	2,42	17,2 *	-0,80
49	-3,47	13,5 *	
56	-3,69	11,8 *	
63	3,04	-8,9	1,04
70	-3,05	5,5	
77	-0,14	-8,0 *	
84	4,42	-27,7 **	-0,26

\* p<0.05

\*\*p<0.00

CAR: Consumo alimentario relativo

IMC: Índice de masa corporal

Tabla 16

Prueba de Rango Múltiple para variables craneanas  
en la comparación SH - RPC+GH

Edad	NEUROCRANEO			ESPLACNOCRANEO		
	LN	AN	HN	LE	AE	HE
<i>machos</i>						
42	0,67 **	0,28 **	0,27 *	0,54 *	0,07	0,30 *
63	0,41	0,31 **	0,16	0,26	0,05	0,25 *
84	0,41	0,37 **	0,18	0,48	0,42 **	0,13
<i>hembras</i>						
42	0,29	0,24 *	0,23 *	0,60 *	0,02	0,18
63	0,05	0,24 *	0,26 *	0,09	0,03	0,12
84	-0,65 *	0,41 **	0,15	0,37	-0,21	0,09

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LN: Longitud del neurocraneo

AN: Ancho del neurocraneo

HN: Altura del neurocraneo

LE: Longitud del esplacnocraneo

AE: Ancho del esplacnocraneo

HE: Altura del esplacnocraneo

Tabla 17

Prueba de Rango Múltiple para variables postcraneanas en la comparación SH- RPC+GH

Edad	FEMUR		HUMERO		TIBIA		PELVIS				COLUMNA						
	LF	AF	LH	AH	LT	AT	LP	API	APM	APS	LC						
<i>machos</i>																	
42	0,89	**	0,07	0,03	0,06	0,59	0,08	0,87	0,28	0,48	*	0,11	3,60	**			
63	0,11		0,18	**	-0,28	0,17	*	-0,01	0,13	0,95	*	0,40	0,61	*	-0,02	2,74	*
84	-0,46		0,50	**	0,76	**	0,14	0,12	0,10	-0,03	0,50	*	0,97	**	0,02	3,41	*
<i>hembras</i>																	
42	1,30	**	0,11	-0,23	0,05	0,54	-0,08	0,41	-0,06	0,11	-0,79	**	1,87				
63	-0,10		0,09	-0,24	0,08	-0,09	-0,07	-0,26	-0,51	*	-0,01	-0,45	-0,47				
84	-0,15		-0,02	-0,35	-0,09	0,21	-0,01	0,09	-0,46	-0,07	-0,57	2,26					

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LF: Longitud del fémur

AF: Ancho del fémur

LH: Longitud del húmero

AH: Ancho del húmero

LT: Longitud de la tibia

AT: Ancho de la tibia

LP: Longitud de la pelvis

API: Ancho pélvico inferior

APM: Ancho pélvico medio

APS: Ancho pélvico superior

LC: Longitud de la columna

Tabla 18

Prueba de Rango Múltiple para peso corporal, consumo alimentario relativo e índice de masa corporal en la comparación RPC - RPC+Ca

Edad	Peso corporal	CAR	IMC
<i>machos</i>			
1	—	—	-0,35
7	—	—	—
14	—	—	—
21	—	—	3,02 *
28	12,45 **	-30,80 **	—
35	13,63 **	-42,64 **	—
42	19,24 **	-54,45 **	4,03 **
49	27,21 **	-29,24 **	—
56	42,18 **	-23,49 **	—
63	45,10 **	-11,74 **	6,71 **
70	52,23 **	-18,78 **	—
77	53,18 **	3,72	—
84	54,79 **	-3,76	7,81 **
<i>hembras</i>			
1	—	—	-1,15
7	—	—	—
14	—	—	—
21	—	—	5,46 **
28	5,57 *	-17,44 *	—
35	15,64 **	-39,57 **	—
42	9,36 *	-44,56 **	1,60
49	12,50 *	-23,28 **	—
56	9,07	-16,93 **	—
63	2,21	-16,70 **	-1,10
70	-5,43	-14,30 **	—
77	-10,00	6,96	—
84	-17,36 *	8,14 *	-5,30 **

\* p<0.05

\*\*p<0.00

CAR: Consumo alimentario relativo

IMC: Índice de masa corporal

Tabla 19

Prueba de Rango Múltiple para variables craneanas en la comparación  
RPC - RPC+Ca

Edad	NEUROCRANEO			ESPLACNOCRANEO		
	LN	AN	HN	LE	AE	HE
<i>machos</i>						
42	0,42	-0,44 **	-0,27 *	0,69 **	0,10	0,10
63	0,68 **	-0,52 **	-0,50 **	0,51 *	0,22	0,11
84	0,63 *	-0,49 **	-0,49 **	0,94 **	0,37 *	-0,10
<i>hembras</i>						
42	-0,02	-0,60 **	-0,46 **	0,00	0,24	-0,28
63	-0,46	-0,71 **	-0,65 **	-0,39	0,20	-0,41 **
84	-0,60 *	-0,80 **	-0,74 **	-0,59 *	0,35	-0,42 **

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LN: Longitud del neurocraneo

AN: Ancho del neurocraneo

HN: Altura del neurocraneo

LE: Longitud del esplacnoocraneo

AE: Ancho del esplacnoocraneo

HE: Altura del esplacnoocraneo

Tabla 20

Prueba de Rango Múltiple para variables postcraneanas en la comparación RPC - RPC+Ca

Edad	FEMUR		HUMERO		TIBIA		PELVIS				COLUMNA
	LF	AF	LH	AH	LT	AT	LP	API	APM	APS	LC
<i>machos</i>											
42	1,02 **	0,23 **	-0,44	0,18 **	1,58 **	0,19 *	3,63 *	1,51 **	1,79 **	1,87 **	6,77 **
63	0,91 **	0,02	-0,15	0,24 **	1,51 **	0,22 **	4,20 *	1,81 **	1,85 **	2,66 **	10,68 **
84	-0,06	-0,06	-0,53	-0,06	0,98 **	0,06	3,78 *	1,47 **	1,36 **	1,40 **	8,66 **
<i>hembras</i>											
42	1,25 **	0,24 **	-0,56	0,27 **	0,23	0,11	1,04 *	0,73 **	0,97 **	1,00 **	4,45 **
63	-0,04	0,08	-1,28 **	0,12	-0,50	0,02	1,35 *	0,25	0,46	0,79 *	3,71 *
84	-0,26	-0,25 **	-2,12 **	-0,16	-1,16 **	-0,10	0,84	-0,45	0,08	0,01	1,33

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LF: Longitud del fémur

AF: Ancho del fémur

LH: Longitud del húmero

AH: Ancho del húmero

LT: Longitud de la tibia

AT: Ancho de la tibia

LP: Longitud de la pelvis

API: Ancho pélvico inferior

APM: Ancho pélvico medio

APS: Ancho pélvico superior

LC: Longitud de la columna

Tabla 21

Prueba de Rango Múltiple para peso corporal, consumo alimentario relativo e índice de masa corporal en la comparación RPC - RPC+Ca+GH

Edad	Peso corporal	CAR	IMC
machos			
1	—	—	-0,09
7	—	—	—
14	—	—	—
21	—	—	-2,63 *
28	6,45 **	-8,12	—
35	-0,92	-25,46 **	—
42	-0,26	-20,37 *	-0,33
49	9,21 *	-13,34 *	—
56	19,41 **	-16,88 **	—
63	16,69 **	-6,38	2,77 *
70	22,73 **	-17,71 **	—
77	24,18 **	2,72	—
84	28,33 **	-3,60	5,80 **
hembras			
1	—	—	-0,04
7	—	—	—
14	—	—	—
21	—	—	2,61
28	5,14 *	-40,25 **	—
35	2,29	-47,02 **	—
42	-4,14	-29,61 **	-2,73
49	-3,50	-11,61	—
56	-2,93	-34,41 **	—
63	-9,50	-15,66 **	-3,41 *
70	-9,43	-10,16 *	—
77	-7,71	0,67	—
84	-5,57	12,02 **	-2,10

\* p<0.05

\*\*p<0.01

CAR: Consumo alimentario relativo

IMC: Índice de masa corporal

Tabla 22

Prueba de Rango Múltiple para variables craneanas  
en la comparación RPC - RPC+Ca+GH

Edad	NEUROCRANEO			ESPLACNOCRANEO		
	LN	AN	HN	LE	AE	HE
<i>machos</i>						
42	-0,46	-0,70 **	-0,42 **	0,18	-0,47 **	-0,06
63	0,19	-0,63 **	-0,54 **	0,32	-0,55 **	-0,07
84	0,23	-0,59 **	-0,42 **	0,74 **	-0,44 **	-0,27 *
<i>hembras</i>						
42	0,26	-0,39 **	-0,98 **	0,56 *	0,19	-0,45 **
63	-0,22	-0,61 **	-0,99 **	0,04	0,42 *	-0,48 **
84	-0,18	-0,79 **	-1,07 **	0,16	0,53 **	-0,52 **

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LN: Longitud del neurocraneo

AN: Ancho del neurocraneo

HN: Altura del neurocraneo

LE: Longitud del esplacnocraneo

AE: Ancho del esplacnocraneo

HE: Altura del esplacnocraneo

Tabla 23

Prueba de Rango Múltiple para variables postcraneanas en la comparación RPC - RPC+Ca+GH

Edad	FEMUR		HUMERO		TIBIA		PELVIS				COLUMNA									
	LF	AF	LH	AH	LT	AT	LP	API	APM	APS	LC									
<i>machos</i>																				
42	-0,29	-0,09	-1,72	**	0,13	*	1,12	**	-0,14	1,92	**	0,49	*	0,93	**	0,90	**	0,63		
63	-0,18	-0,22	**	-1,63	**	0,15	*	1,17	**	0,06	2,00	**	0,63	**	1,00	**	1,78	**	3,25	*
84	-0,88	**	-0,34	**	-1,96	**	-0,13	0,80	**	0,03	2,26	**	0,67	**	0,71	**	0,55	1,53		
<i>hembras</i>																				
42	0,32	0,27	**	-0,93	*	0,35	**	0,04	-0,12	0,65	0,48	*	0,64	*	0,35	0,25				
63	-0,17	0,14	-1,64	**	0,14	-0,76	*	-0,20	*	0,82	0,11	0,00	0,26	0,48						
84	-0,67	*	-0,28	**	-1,93	**	-0,10	-1,49	**	-0,23	**	1,61	**	0,10	0,18	0,52	0,66			

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LF: Longitud del fémur

AF: Ancho del fémur

LH: Longitud del húmero

AH: Ancho del húmero

LT: Longitud de la tibia

AT: Ancho de la tibia

LP: Longitud de la pelvis

API: Ancho pélvico inferior

APM: Ancho pélvico medio

APS: Ancho pélvico superior

LC: Longitud de la columna

Tabla 24

Prueba de Rango Múltiple para peso corporal, consumo alimentario relativo e índice de masa corporal en la comparación RPC - RPC+Te/Es

Edad	Peso corporal	CAR	IMC
<i>machos</i>			
1	—	—	-1,79 *
7	—	—	—
14	—	—	—
21	—	—	-2,36
28	6,66 **	-35,83 **	—
35	-3,82	-44,60 **	—
42	-5,82	-36,44 **	-3,28 *
49	2,69	-25,22 **	—
56	15,07 **	-31,68 **	—
63	17,23 **	-12,11 **	-0,43
70	32,08 **	-21,99 **	—
77	44,42 **	-4,13	—
84	49,05 **	-12,79 **	4,47 **
<i>hembras</i>			
1	—	—	-0,85
7	—	—	—
14	—	—	—
21	—	—	0,33
28	6,80 **	-11,56	—
35	10,78 **	-45,89 **	—
42	15,21 **	-50,14 **	0,62
49	30,29 **	-24,07 **	—
56	37,86 **	-33,58 **	—
63	44,57 **	-24,04 **	7,00 **
70	44,16 **	-4,81	—
77	54,04 **	-6,97 *	—
84	59,31 **	5,66	7,62 **

\* p<0.05

\*\*p<0.00

CAR: Consumo alimentario relativo

IMC: Índice de masa corporal

Tabla 25

Prueba de Rango Múltiple para variables craneanas  
en la comparación RPC - RPC+Te/Es

Edad	NEUROCRANEO			ESPLACNOCRANEO		
	LN	AN	HN	LE	AE	HE
<i>machos</i>						
42	-0,38	-0,41 **	-0,50 **	0,49 *	-0,21	-0,10
63	-0,02	-0,21 *	-0,45 **	0,04	-0,06	0,04
84	0,60 *	0,00	-0,17	0,81 **	0,54 **	-0,05
<i>hembras</i>						
42	0,22	-0,23 *	-0,19	0,61 *	0,49 **	0,07
63	-0,16	-0,26 *	-0,28 *	0,58 *	0,68 **	0,25
84	0,81 **	-0,16	-0,14	1,14 **	1,25 **	0,59 **

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LN: Longitud del neurocraneo

AN: Ancho del neurocraneo

HN: Altura del neurocraneo

LE: Longitud del esplacnocraneo

AE: Ancho del esplacnocraneo

HE: Altura del esplacnocraneo

Tabla 26

Prueba de Rango Múltiple para variables postcraneanas en la comparación RPC - RPC+Te/Es

Edad	FEMUR		HUMERO		TIBIA		PELVIS				COLUMNA
	LF	AF	LH	AH	LT	AT	LP	API	APM	APS	LC
machos											
42	0,12	-0,11	-2,22 **	0,19 **	0,30	-0,01	0,74	0,22	0,51 *	1,34 **	0,71
63	0,64 *	-0,27 **	-1,61 **	0,13	1,37 **	0,10	2,32 **	0,31	0,85 **	2,48 **	8,47 **
84	0,16	-0,23 **	-2,18 **	-0,17 *	2,01 **	0,10	2,77 **	0,81 **	1,24 **	2,68 **	11,17 **
hembras											
42	1,45 **	0,08	-0,14	0,23 **	1,27 **	-0,03	1,96 **	1,50 **	1,66 **	1,01 **	9,36 **
63	1,98 **	0,05	0,23	0,25 **	2,86 **	0,19 *	3,91 **	1,86 **	1,77 **	1,68 **	15,00 **
84	2,48 **	-0,22 *	0,27	0,12	3,65 **	0,45 **	5,17 **	2,15 **	2,26 **	2,41 **	17,76 **

\* p<0.05

\*\*p<0.01

LF: Longitud del fémur

AF: Ancho del fémur

LH: Longitud del húmero

AH: Ancho del húmero

LT: Longitud de la tibia

AT: Ancho de la tibia

LP: Longitud de la pelvis

API: Ancho pélvico inferior

APM: Ancho pélvico medio

APS: Ancho pélvico superior

LC: Longitud de la columna

Tabla 27

Matriz de correlación en crecimiento

MACHOS

	LN	AN	HN	LE	AE	HE	LF	AF	LP	LH	AH	LC	APS	APM	API	LT	AT
LN	1,00																
AN	0,94	1,00															
HN	0,97	0,97	1,00														
LE	0,97	0,88	0,91	1,00													
AE	0,97	0,91	0,94	0,97	1,00												
HE	0,98	0,91	0,94	0,98	0,98	1,00											
LF	0,97	0,87	0,91	0,98	0,97	0,98	1,00										
AF	0,95	0,85	0,89	0,95	0,94	0,95	0,95	1,00									
LP	0,96	0,83	0,88	0,98	0,96	0,97	0,98	0,95	1,00								
LH	0,96	0,88	0,92	0,97	0,97	0,97	0,98	0,94	0,97	1,00							
AH	0,87	0,76	0,80	0,88	0,85	0,87	0,87	0,91	0,89	0,86	1,00						
LC	0,96	0,83	0,88	0,98	0,96	0,97	0,99	0,95	0,99	0,97	0,88	1,00					
APS	0,95	0,82	0,87	0,97	0,95	0,97	0,98	0,94	0,99	0,95	0,89	0,99	1,00				
APM	0,94	0,80	0,86	0,97	0,95	0,96	0,98	0,95	0,99	0,96	0,89	0,99	0,99	1,00			
API	0,94	0,81	0,86	0,97	0,95	0,97	0,98	0,95	0,99	0,96	0,89	0,99	0,99	0,99	1,00		
LT	0,98	0,89	0,93	0,98	0,98	0,99	0,99	0,96	0,99	0,98	0,88	0,99	0,98	0,98	0,98	1,00	
AT	0,95	0,84	0,89	0,96	0,96	0,96	0,97	0,95	0,98	0,96	0,89	0,98	0,97	0,97	0,97	0,98	1,00

HEMBRAS

	LN	AN	HN	LE	AE	HE	LF	AF	LP	LH	AH	LC	APS	APM	API	LT	AT
LN	1,00																
AN	0,94	1,00															
HN	0,95	0,98	1,00														
LE	0,96	0,88	0,90	1,00													
AE	0,97	0,91	0,92	0,96	1,00												
HE	0,98	0,91	0,93	0,98	0,97	1,00											
LF	0,97	0,88	0,90	0,98	0,97	0,98	1,00										
AF	0,93	0,84	0,85	0,94	0,91	0,93	0,94	1,00									
LP	0,95	0,84	0,86	0,98	0,96	0,97	0,99	0,94	1,00								
LH	0,97	0,89	0,91	0,97	0,97	0,98	0,98	0,93	0,97	1,00							
AH	0,83	0,72	0,73	0,84	0,82	0,82	0,85	0,89	0,86	0,83	1,00						
LC	0,95	0,84	0,87	0,98	0,96	0,97	0,99	0,94	0,99	0,97	0,85	1,00					
APS	0,95	0,83	0,86	0,97	0,95	0,97	0,98	0,93	0,99	0,97	0,86	0,99	1,00				
APM	0,94	0,81	0,84	0,97	0,95	0,96	0,98	0,93	0,99	0,96	0,85	0,99	0,99	1,00			
API	0,94	0,82	0,85	0,97	0,95	0,97	0,98	0,93	0,99	0,97	0,86	0,99	0,99	0,99	1,00		
LT	0,98	0,91	0,92	0,98	0,98	0,99	0,99	0,94	0,98	0,99	0,85	0,98	0,98	0,97	0,98	1,00	
AT	0,93	0,83	0,86	0,96	0,94	0,96	0,97	0,92	0,97	0,95	0,86	0,97	0,96	0,96	0,96	0,96	1,00

En rojo = Correlación positiva significativa  $\geq 0,90$ .

En verde = Correlación positiva significativa  $< 0,90$

En negro = Correlación no significativa

Tabla 28

Matriz de correlación a edad final

MACHOS

	LN	AN	HN	LE	AE	HE	LF	AF	LP	LH	AH	LC	Aps	APM	API	LT	AT
LN	1,00																
AN	0,13	1,00															
HN	0,28	0,44	1,00														
LE	0,15	-0,01	-0,08	1,00													
AE	0,22	0,40	0,20	0,23	1,00												
HE	0,47	0,29	0,29	0,25	0,19	1,00											
LF	-0,14	0,17	0,18	0,03	0,21	-0,09	1,00										
AF	0,18	0,11	0,17	0,13	0,29	0,22	0,19	1,00									
LP	0,65	-0,13	0,10	0,34	0,17	0,35	-0,20	0,14	1,00								
LH	-0,24	0,20	0,13	-0,13	0,11	-0,05	0,33	0,23	-0,40	1,00							
AH	0,33	0,07	0,17	0,11	0,19	0,34	-0,15	0,33	0,31	0,02	1,00						
LC	0,65	0,18	0,24	0,32	0,37	0,42	0,04	0,26	0,75	-0,33	0,30	1,00					
Aps	0,67	0,12	0,25	0,27	0,26	0,43	-0,17	0,14	0,82	-0,49	0,29	0,77	1,00				
APM	0,61	0,07	0,26	0,37	0,20	0,30	-0,06	0,28	0,72	-0,30	0,27	0,75	0,75	1,00			
API	0,65	-0,05	0,15	0,36	0,17	0,34	-0,15	0,25	0,79	-0,29	0,31	0,71	0,77	0,88	1,00		
LT	0,63	0,10	0,28	0,32	0,25	0,42	-0,11	0,10	0,72	-0,42	0,27	0,75	0,82	0,65	0,63	1,00	
AT	0,40	0,20	0,34	0,08	0,15	0,34	-0,10	0,20	0,41	-0,30	0,26	0,51	0,49	0,46	0,41	0,49	1,00

HEMBRAS

	LN	AN	HN	LE	AE	HE	LF	AF	LP	LH	AH	LC	APS	APM	API	LT	AT
LN	1,00																
AN	0,29	1,00															
HN	0,20	0,70	1,00														
LE	0,40	0,34	0,23	1,00													
AE	0,45	0,25	0,21	0,33	1,00												
HE	0,51	0,50	0,61	0,60	0,40	1,00											
LF	0,40	0,28	0,37	0,47	0,50	0,68	1,00										
AF	0,16	0,14	0,17	0,01	-0,12	0,04	0,16	1,00									
LP	0,61	0,10	0,04	0,61	0,48	0,52	0,63	0,17	1,00								
LH	0,29	0,49	0,57	0,22	0,34	0,44	0,52	0,28	0,23	1,00							
AH	0,37	0,07	0,11	0,25	0,13	0,26	0,34	0,43	0,55	0,24	1,00						
LC	0,58	0,25	0,25	0,62	0,59	0,69	0,72	0,13	0,84	0,31	0,48	1,00					
APS	0,69	0,07	0,03	0,58	0,36	0,47	0,51	0,17	0,88	0,20	0,53	0,77	1,00				
APM	0,64	0,18	0,19	0,60	0,47	0,64	0,65	0,07	0,87	0,28	0,46	0,82	0,83	1,00			
API	0,66	0,22	0,21	0,60	0,48	0,65	0,66	0,11	0,83	0,38	0,46	0,80	0,79	0,89	1,00		
LT	0,62	0,43	0,48	0,64	0,55	0,84	0,76	0,13	0,70	0,54	0,37	0,80	0,65	0,73	0,74	1,00	
AT	0,35	0,20	0,38	0,45	0,31	0,69	0,63	0,13	0,52	0,33	0,41	0,62	0,52	0,53	0,57	0,72	1,00

En rojo= Correlación positiva significativa.

En azul = Correlación negativa significativa

En negro = Correlación no significativa

Tabla 29

Resultados del Análisis de Componentes Principales  
para la comparación Sham - RPC

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Eigenvalores	10,531	1,440	0,932
Porcentaje	61,947	8,472	5,48
Porcentaje acumulad	61,947	70,419	75,899

Cargas de las variables por eje			
Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LN	0,269	-0,001	0,014
AN	0,226	-0,254	0,089
HN	0,259	-0,125	0,029
LE	0,207	0,061	-0,15
AE	0,105	0,364	0,827
HE	0,261	-0,054	0,091
LF	0,119	0,64	-0,182
AF	0,257	-0,21	-0,006
LP	0,277	-0,006	-0,014
LH	0,234	0,244	0,024
AH	0,198	-0,421	0,32
LC	0,278	0,048	0,093
APS	0,267	-0,197	-0,068
APM	0,271	0,011	-0,257
API	0,275	0,063	-0,227
LT	0,287	0,147	-0,019
AT	0,238	0,15	-0,096

Tabla 30

Resultados del Análisis Discriminante para Sham - RPC

Resumen del Análisis Discriminante						
Lambda de Wilks: 0,00990 aprox. F (51,113) = 8,2947 p<0,0000						
Función	Eigenvalor	Canonic.	Wilks'	Chi-Sqr.	Signif.	% acumul
1	11,937	0,961	0,010	214,618	0,000	75,0
2	3,035	0,867	0,128	95,574	0,000	94,1
3	0,936	0,695	0,517	30,711	0,010	100

Variable	Significación			Estructura de factores		
	L de Wilks	F	p-nivel	Función 1	Función 2	Función 3
LN	0,010	0,396	0,757	0,371	-0,090	0,142
AN	0,011	1,761	0,171	0,248	0,139	-0,109
HN	0,011	1,672	0,189	0,364	0,054	0,104
LE	0,012	2,096	0,117	0,190	-0,162	-0,284
AE	0,018	10,054	0,000	0,030	-0,279	0,426
HE	0,011	1,016	0,396	0,277	0,002	0,134
LF	0,011	1,669	0,190	0,081	-0,365	-0,237
AF	0,011	1,324	0,281	0,384	0,087	0,308
LP	0,015	6,042	0,002	0,476	-0,105	-0,137
LH	0,011	1,080	0,369	0,255	-0,273	0,010
AH	0,011	0,941	0,430	0,240	0,184	0,140
LC	0,011	1,233	0,311	0,364	-0,152	-0,004
APS	0,014	5,042	0,005	0,458	0,186	0,085
APM	0,011	1,204	0,322	0,501	-0,207	0,148
API	0,012	2,812	0,052	0,529	-0,250	0,216
LT	0,014	5,284	0,004	0,522	-0,404	-0,035
AT	0,011	0,944	0,429	0,305	-0,128	0,044

Tabla 31

Resultados del Análisis de Componentes Principales  
para los grupos Sham - RPC - RPC+GH

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Eigenvalores	9,217	1,28	0,993
Porcentaje	54,219	7,528	5,842
Porcentaje acum.	54,219	61,747	67,589

Cargas de las variables por eje			
Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LN	0,269	-0,051	-0,067
AN	0,219	-0,085	-0,337
HN	0,255	-0,025	0,119
LE	0,189	0,145	-0,08
AE	0,095	0,366	-0,799
HE	0,26	-0,091	0,061
LF	0,141	0,613	0,295
AF	0,224	-0,134	-0,014
LP	0,289	-0,022	0,084
LH	0,212	0,158	-0,067
AH	0,176	-0,568	-0,199
LC	0,291	0,092	-0,079
APS	0,268	-0,231	0,09
APM	0,285	0,005	0,054
API	0,292	-0,021	0,106
LT	0,298	0,122	0,079
AT	0,248	0,08	0,213

**Tabla 32**  
**Resultados del Análisis Discriminante para los grupos**  
**Sham - RPC - RPC + GH**

Resumen del Análisis Discriminante						
Lambda de Wilks: ,0055825 aprox. F (85,371) = 8,419709 p < 0,0000						
Función	Eigenvalor	Canonic.	Wilks'	Chi-Sqr.	Signif.	% acumul
1	9,2	0,950	0,006	443,584	0,000	0,66
2	2,5	0,847	0,057	245,376	0,000	0,84
3	1,3	0,749	0,201	137,255	0,000	0,93

Variable	Significación			Estructura de factores		
	L de Wilks	F	p-nivel	Función 1	Función 2	Función 3
LN	0,006	1,445	0,218	-0,356	-0,049	-0,156
AN	0,007	3,429	0,008	-0,213	0,020	-0,334
HN	0,006	1,732	0,137	-0,342	0,004	-0,171
LE	0,007	3,206	0,011	-0,160	0,206	-0,206
AE	0,010	10,737	0,000	-0,004	0,259	-0,215
HE	0,006	1,145	0,344	-0,318	0,023	-0,111
LF	0,006	2,195	0,063	-0,127	0,265	0,148
AF	0,008	6,532	0,000	-0,259	-0,079	-0,578
LP	0,007	2,536	0,035	-0,480	0,051	-0,021
LH	0,007	3,671	0,005	-0,226	0,202	-0,248
AH	0,006	2,305	0,053	-0,211	-0,264	-0,209
LC	0,006	0,985	0,433	-0,367	0,199	-0,225
APS	0,008	7,803	0,000	-0,451	-0,304	-0,047
APM	0,007	2,683	0,028	-0,400	0,150	-0,386
API	0,006	1,863	0,111	-0,490	0,092	-0,254
LT	0,011	15,822	0,000	-0,716	0,445	-0,056
AT	0,006	1,374	0,243	-0,347	0,111	-0,165

Tabla 33

Resultados del Análisis de Componentes Principales  
para los grupos Sham - RPC - RPC+Ca

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Eigenvalores	8,13	2,26	1,19
Porcentaje	47,82	13,29	7,02
Porcentaje acum.	47,82	61,11	68,14

Cargas de las variables por eje			
Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LN	0,297	0,04	0,003
AN	0,178	-0,368	-0,066
HN	0,212	-0,405	-0,065
LE	0,208	0,057	0,301
AE	0,133	0,071	0,276
HE	0,266	-0,158	0,134
LF	0,095	-0,356	0,377
AF	0,258	-0,063	-0,395
LP	0,253	0,367	-0,07
LH	0,171	-0,428	-0,025
AH	0,183	-0,021	-0,663
LC	0,292	0,209	0,084
APS	0,279	0,27	-0,082
APM	0,296	0,197	0,13
API	0,294	0,201	0,143
LT	0,318	-0,11	0,097
AT	0,253	-0,096	-0,055

**Tabla 34**  
**Resultados del Análisis Discriminante para los grupos**  
**Sham - RPC - RPC+Ca**

Resumen del Análisis Discriminante						
Lambda de Wilks: 0,0024693 aprox. F (85,352) = 10,21119 p < 0,0000						
Función	Eigenvalor	Canonic.	Wilks'	Chi-Sqr.	Signif.	% acumul
1	11,076	0,958	0,002	489,311	0,000	0,62
2	3,946	0,893	0,030	286,273	0,000	0,83
3	1,862	0,807	0,148	155,985	0,000	0,94

Variable	Significación			Estructura de factores		
	L de Wilks	F	p-nivel	Función 1	Función 2	Función 3
LN	0,006	1,445	0,218	-0,295	-0,353	0,031
AN	0,007	3,429	0,008	0,025	-0,423	0,175
HN	0,006	1,732	0,137	-0,020	-0,577	0,126
LE	0,007	3,206	0,011	-0,146	-0,135	-0,107
AE	0,010	10,737	0,000	-0,083	0,034	-0,241
HE	0,006	1,145	0,344	-0,121	-0,335	0,083
LF	0,006	2,195	0,063	0,023	-0,269	-0,398
AF	0,008	6,532	0,000	-0,211	-0,374	0,206
LP	0,007	2,536	0,035	-0,554	0,013	0,067
LH	0,007	3,671	0,005	0,024	-0,505	-0,222
AH	0,006	2,305	0,053	-0,120	-0,185	0,227
LC	0,006	0,985	0,433	-0,398	-0,185	-0,040
APS	0,008	7,803	0,000	-0,410	-0,160	0,305
APM	0,007	2,683	0,028	-0,458	-0,296	-0,045
API	0,006	1,863	0,111	-0,427	-0,249	-0,036
LT	0,011	15,822	0,000	-0,350	-0,653	-0,311
AT	0,006	1,374	0,243	-0,209	-0,367	-0,062

Tabla 35

Resultados del Análisis de Componentes Principales  
para los grupos Sham - RPC - RPC+Ca+GH

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Eigenvalores	8,30	2,48	1,22
Porcentaje	48,84	14,59	7,15
Porcentaje acum.	48,84	63,43	70,57

Cargas de las variables por eje			
Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LN	0,279	0,068	-0,104
AN	0,191	-0,354	-0,272
HN	0,199	-0,357	-0,3
LE	0,206	0,178	0,249
AE	0,143	-0,205	0,45
HE	0,255	-0,171	-0,24
LF	0,146	-0,337	0,517
AF	0,278	-0,094	-0,129
LP	0,242	0,369	0,111
LH	0,203	-0,412	0,209
AH	0,218	0,022	-0,331
LC	0,304	0,106	0,101
APS	0,271	0,292	-0,106
APM	0,286	0,239	0,068
API	0,288	0,222	0,092
LT	0,311	-0,017	0,078
AT	0,212	-0,083	-0,111

Tabla 36

Resultados del Análisis Discriminante para los grupos Sham - RPC -  
RPC+Ca+GH

Resumen del Análisis Discriminante						
Lambda de Wilks: 0,0023111 aprox. F (85,352) = 10,40921 p < 0,0000						
Función	Eigenvalor	Canonic.	Wilks'	Chi-Sqr.	Signif.	% acumul
1	9,689	0,952	0,002	494,707	0,000	0,57
2	4,208	0,899	0,025	301,619	0,000	0,81
3	1,900	0,809	0,129	167,134	0,000	0,92

Variable	Significación			Estructura de factores		
	L de Wilks	F	p-nivel	Función 1	Función 2	Función 3
LN	0,003	2,645	0,030	-0,216	-0,394	0,140
AN	0,003	2,274	0,056	0,085	-0,442	-0,155
HN	0,003	5,202	0,000	0,074	-0,524	-0,329
LE	0,003	1,263	0,289	-0,155	-0,180	0,199
AE	0,004	9,694	0,000	0,049	-0,183	0,493
HE	0,003	1,297	0,275	-0,043	-0,415	-0,060
LF	0,003	5,662	0,000	0,193	-0,365	0,433
AF	0,003	2,406	0,045	-0,098	-0,565	0,019
LP	0,003	5,609	0,000	-0,466	-0,258	0,278
LH	0,003	6,289	0,000	0,224	-0,666	0,294
AH	0,002	0,780	0,567	-0,132	-0,283	-0,079
LC	0,002	0,420	0,833	-0,258	-0,480	0,330
Aps	0,003	3,579	0,006	-0,425	-0,377	0,072
APM	0,002	0,921	0,473	-0,333	-0,454	0,256
API	0,002	0,821	0,539	-0,319	-0,447	0,237
LT	0,004	7,434	0,000	-0,221	-0,706	0,213
AT	0,003	2,586	0,033	-0,096	-0,353	0,013

Tabla 37

Resultados del Análisis de Componentes Principales  
para los grupos Sham - RPC - RPC+Te/Es

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Eigenvalores	11,07	1,465	1,086
Porcentaje	65,115	8,619	6,386
Porcentaje acum.	65,115	73,735	80,12

Cargas de las variables por eje			
Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LN	0,264	-0,049	-0,149
AN	0,202	-0,25	-0,409
HN	0,223	-0,37	-0,158
LE	0,246	0,073	0,05
AE	0,19	0,285	0,095
HE	0,268	-0,084	-0,003
LF	0,223	0,033	0,551
AF	0,184	-0,456	-0,207
LP	0,275	0,234	0,007
LH	0,167	-0,452	0,527
AH	0,202	-0,241	-0,098
LC	0,277	0,227	-0,047
APS	0,243	0,301	-0,338
APM	0,28	0,138	-0,006
API	0,281	0,094	0,068
LT	0,287	0,083	0,058
AT	0,263	0,029	0,127

**Tabla 38**  
**Resultados del Análisis Discriminante para los grupos**  
**Sham - RPC - RPC+Te/Es**

Resumen del Análisis Discriminante						
Lambda de Wilks: 0,0007027    aprox. F (85,366) = 15,06985 p < 0,0000						
Función	Eigenvalor	Canonic.	Wilks'	Chi-Sqr.	Signif.	% acumul
1	16,140	0,970	0,001	613,524	0,000	56,0
2	8,078	0,943	0,012	373,424	0,000	85,0
3	3,521	0,882	0,109	187,025	0,000	97,0

Variable	Significación			Estructura de factores		
	L de Wilks	F	p-nivel	Función 1	Función 2	Función 3
LN	0,001	0,507	0,770	-0,302	0,178	-0,299
AN	0,001	2,955	0,017	-0,131	0,083	-0,328
HN	0,001	2,146	0,069	-0,155	0,223	-0,408
LE	0,001	1,427	0,224	-0,282	0,177	-0,028
AE	0,001	7,708	0,000	-0,203	0,039	0,143
HE	0,001	2,226	0,060	-0,271	0,239	-0,199
LF	0,001	3,317	0,009	-0,282	0,400	0,237
AF	0,001	4,042	0,003	-0,116	0,216	-0,500
LP	0,001	3,689	0,005	-0,606	0,163	-0,098
LH	0,001	15,592	0,000	-0,076	0,661	-0,118
AH	0,001	1,508	0,198	-0,151	0,157	-0,253
LC	0,001	0,909	0,480	-0,570	0,131	-0,107
Aps	0,001	7,569	0,000	-0,568	-0,136	-0,375
APM	0,001	0,738	0,597	-0,551	0,248	-0,239
API	0,001	1,722	0,140	-0,537	0,324	-0,217
LT	0,001	6,657	0,000	-0,599	0,362	-0,155
AT	0,001	1,028	0,407	-0,351	0,269	-0,135

Tabla 39

Resultados del Análisis de Componentes Principales  
para todos los tratamientos

	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Eigenvalores	8,982	2,032	1,037
Porcentaje	52,837	11,956	6,098
Porcentaje acum.	52,837	64,792	70,89

Cargas de las variables por eje			
Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LN	0,265	0,118	-0,008
AN	0,158	-0,414	-0,293
HN	0,192	-0,389	-0,148
LE	0,221	0,055	-0,175
AE	0,189	-0,114	-0,198
HE	0,268	-0,124	-0,144
LF	0,226	-0,259	0,010
AF	0,166	-0,180	0,640
LP	0,276	0,313	0,030
LH	0,157	-0,473	0,223
AH	0,189	0,056	0,566
LC	0,303	0,125	-0,065
APS	0,256	0,349	-0,057
APM	0,297	0,171	-0,012
API	0,294	0,193	0,018
LT	0,308	-0,011	-0,116
AT	0,262	-0,054	0,003

Tabla 40

Resultados del Análisis de Componentes Principales  
para animales macho sin estandarizar

	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Eigenvalores	54,683	3,737	1,489
Porcentaje	84,968	5,807	2,314
Porcentaje acum.	84,968	90,775	93,089

Cargas de las variables por eje			
Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LN	0,099	0,131	0,15
AN	0,008	-0,068	0,014
HN	0,011	-0,018	0,05
LE	0,036	0,042	0,092
AE	0,028	-0,075	0,082
HE	0,023	0,014	0,043
LF	-0,001	-0,257	0,208
AF	0,01	-0,029	0,079
LP	0,252	0,594	0,393
LH	-0,066	-0,313	0,814
AH	0,01	0,01	0,038
LC	0,907	-0,386	-0,097
APS	0,228	0,459	-0,061
APM	0,117	0,135	0,158
API	0,108	0,198	0,218
LT	0,136	0,19	-0,068
AT	0,012	0,007	-0,016

Tabla 41

Resultados del Análisis de Componentes Principales  
para animales hembra sin estandarizar

	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Eigenvalores	92,267	3,313	2,594
Porcentaje	90,19	3,239	2,535
Porcentaje acum.	90,19	93,428	95,964

Cargas de las variables por eje			
Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LN	0,068	0,208	0,144
AN	0,012	-0,055	0,15
HN	0,012	-0,081	0,184
LE	0,062	0,082	0,087
AE	0,036	-0,035	0,059
HE	0,035	-0,031	0,134
LF	0,099	-0,029	0,334
AF	0,004	0,013	0,022
LP	0,249	0,67	-0,084
LH	0,041	-0,059	0,578
AH	0,014	0,037	-0,001
LC	0,914	-0,343	-0,196
APS	0,156	0,509	-0,071
APM	0,116	0,242	0,061
API	0,111	0,22	0,136
LT	0,171	0,026	0,61
AT	0,021	-0,003	0,059

Tabla 42

Porcentajes de frecuencias de estados de osificación del cartílago tibial

GRUPOS	MACHOS										HEMBRAS									
	42 días			63 días			84 días				42 días			63 días			84 días			
	<i>n</i>	%N1	%N2	%N3	%N1	%N2	%N3	%N1	%N2	%N3	<i>n</i>	%N1	%N2	%N3	%N1	%N2	%N3	%N1	%N2	%N3
Sham	14	100,0	0,0	0,0	28,6	64,3	7,1	0,0	7,1	92,9	16	100,0	0,0	0,0	25,0	50,0	25,0	0,0	6,3	93,8
RPC	16	100,0	0,0	0,0	31,3	62,5	6,3	0,0	0,0	100,0	14	100,0	0,0	0,0	14,3	50,0	35,7	0,0	0,0	100,0
RPC+GH	18	100,0	0,0	0,0	38,9	38,9	22,2	0,0	5,6	94,4	17	100,0	0,0	0,0	5,9	35,3	58,8	0,0	0,0	100,0
RPC+Ca	22	100,0	0,0	0,0	40,9	40,9	18,2	4,5	36,4	59,1	19	100,0	0,0	0,0	47,4	36,8	15,8	0,0	10,5	89,5
RPC+Ca+GH	23	100,0	0,0	0,0	56,5	34,8	8,7	0,0	26,1	73,9	16	100,0	0,0	0,0	37,5	18,8	43,8	0,0	0,0	100,0
RPC+Te/Es	19	100,0	0,0	0,0	0,0	10,5	89,5	0,0	0,0	100,0	14	78,6	21,4	0,0	0,0	7,1	92,9	0,0	0,0	100,0

N1: Espesor máximo del cartílago tibial  
 N2: Reducción al 50% del cartílago tibial  
 N3: Ausencia del cartílago tibial

Tabla 43

Prueba de  $\text{CHI}^2$  para frecuencias de maduración entre grupos experimentales

Comparación	Edad 63		Edad 84	
	Chi <sup>2</sup>	p	Chi <sup>2</sup>	p
<b>Machos</b>				
Sham - RPC	0,33	0,850	1,33	0,513
Sham - RPC+GH	8,42	0,150	1,19	0,550
Sham - RPC+Ca	11,56	<b>0,003</b>	34,66	<b>0,000</b>
Sham - RPC+Ca+GH	18,77	<b>0,000</b>	17,85	<b>0,000</b>
Sham - RPC+Te	179,38	<b>0,000</b>	3,33	0,188
<b>Hembras</b>				
Sham - RPC	1,23	0,540	0,73	0,694
Sham - RPC+GH	10,47	<b>0,005</b>	0,92	0,630
Sham - RPC+Ca	5,89	0,053	0,92	0,630
Sham - RPC+Ca+GH	5,83	0,054	0,73	0,694
Sham - RPC+Es	27,32	<b>0,000</b>	0,73	0,694

Tabla 44

Correlación de Spearman entre índices de maduración y puntajes del Análisis de Componentes Principales

Indice	Machos			Hembras		
	Spearman	t(N-2)	Signif	Spearman	t(N-2)	Signif
Precocidad / eje 1	0,152	1,623	0,107	0,211	1,998	0,049
Precocidad / eje 2	-0,148	-1,575	0,118	-0,143	-1,342	0,183
Precocidad / eje 3	-0,164	-1,747	0,083	0,226	2,155	0,034
TMRM / eje 1	0,119	1,261	0,210	0,255	2,445	0,017
TMRM / eje 2	-0,045	-0,477	0,634	-0,088	-0,817	0,416
TMRM / eje 3	-0,304	-3,356	0,001	-0,049	-0,459	0,647

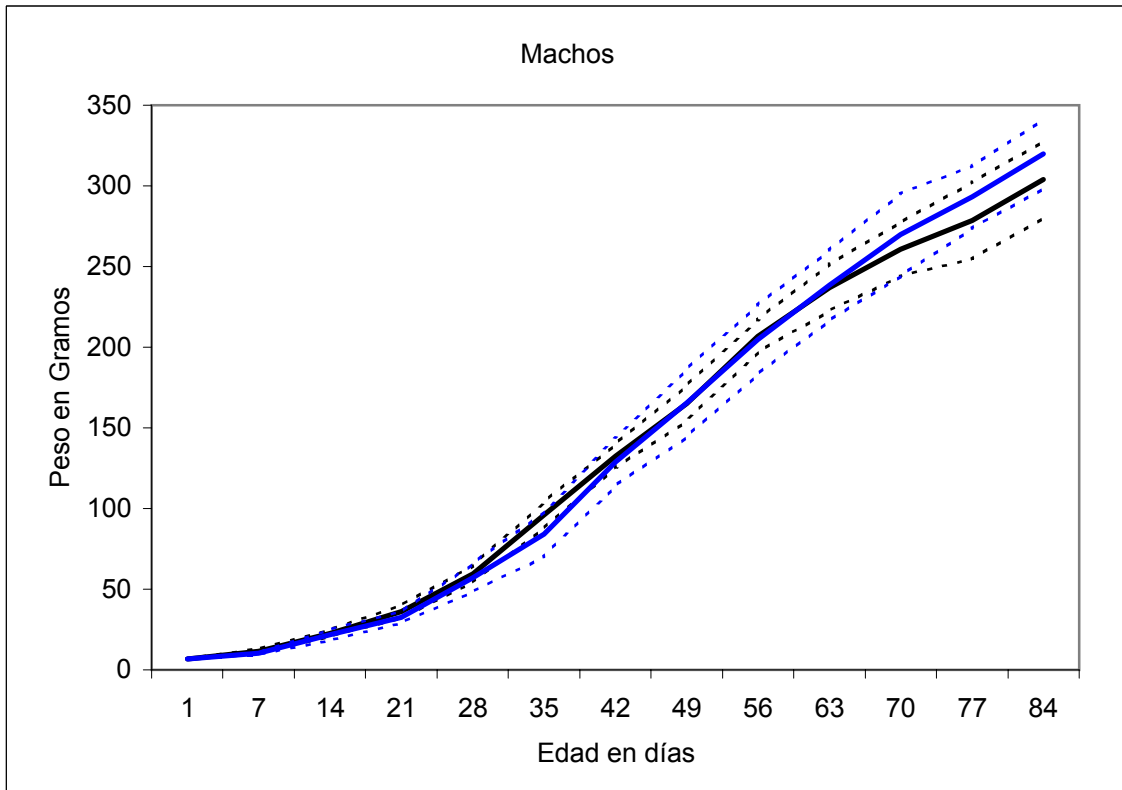
TMRM: Tiempo Medio Relativo de Maduración

# Figuras

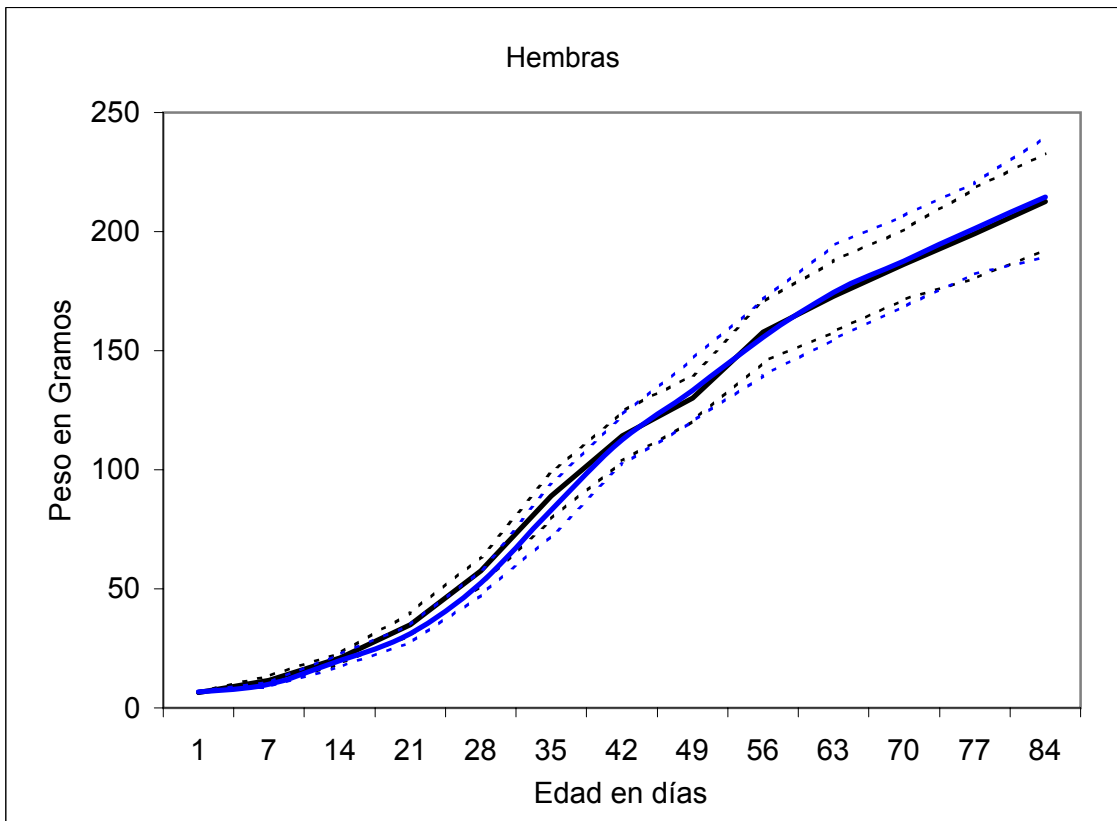
# Figura 1

## Curvas de ganancia de peso (Promedios)

### A



### B

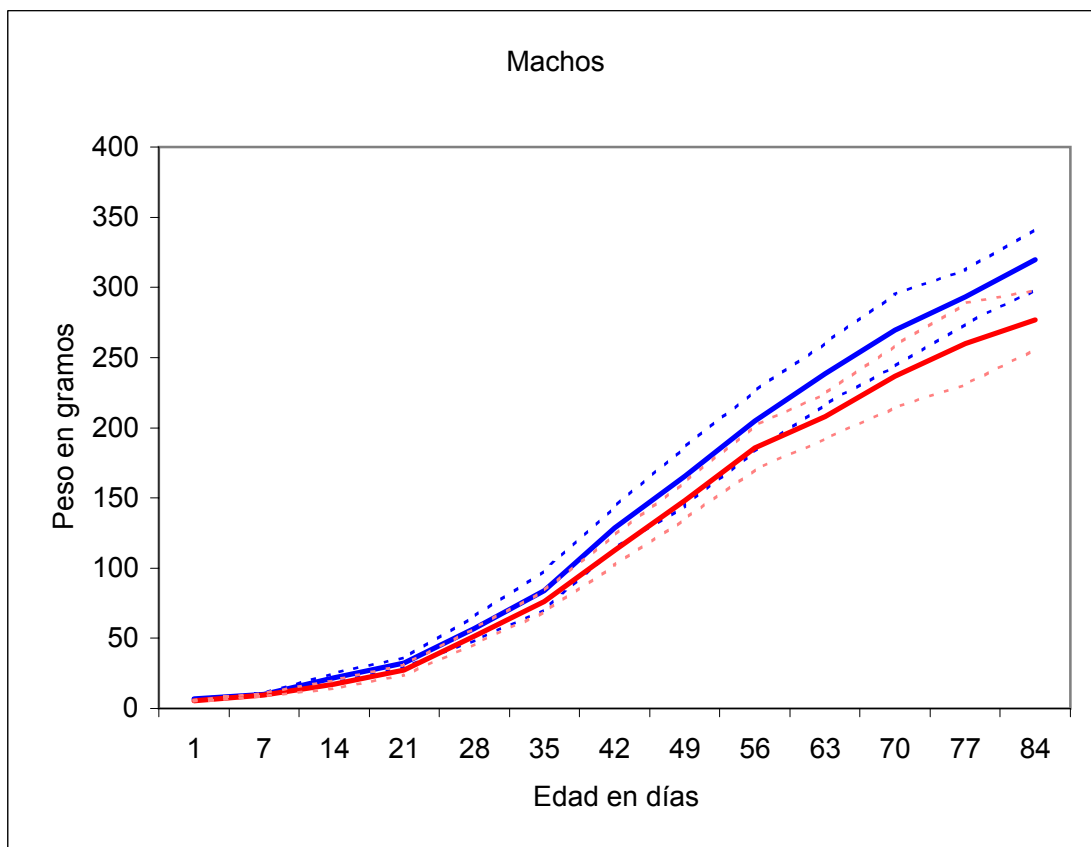


Referencias: — Control — Sham

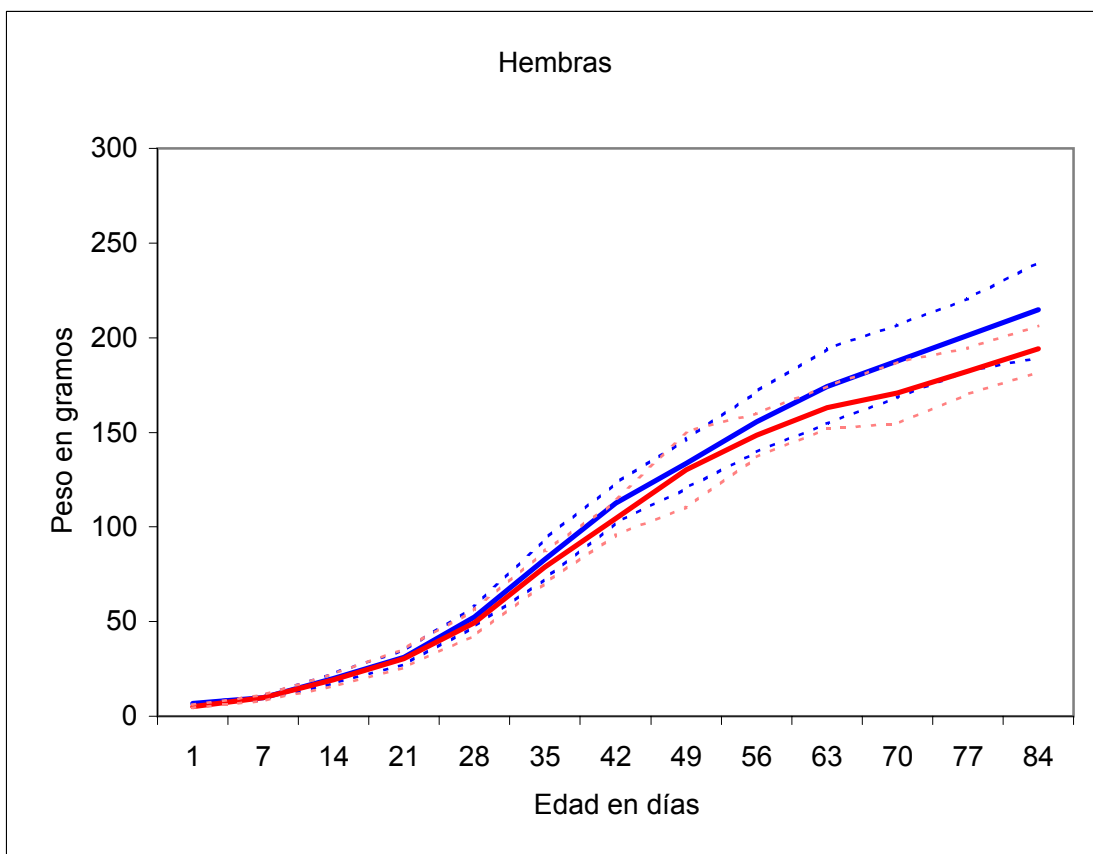
# Figura 2

## Curvas de ganancia de peso (Promedios)

### A



### B

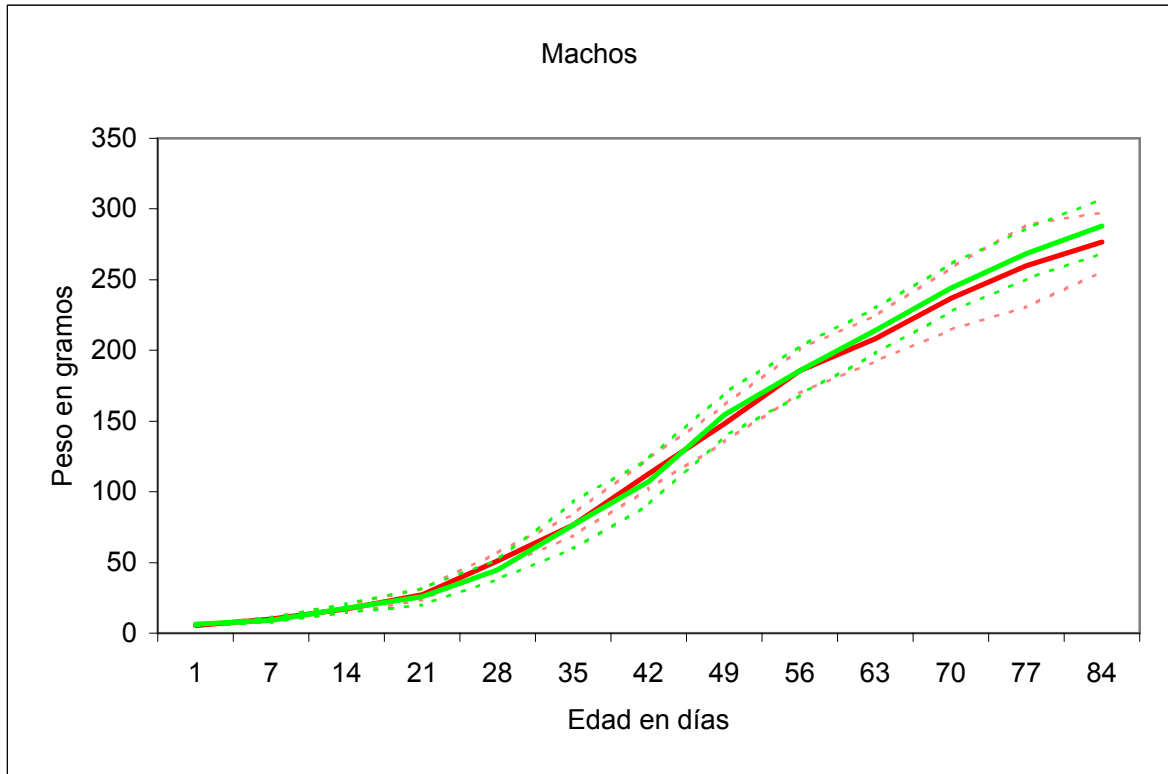


Referencias: — Sham — RPC

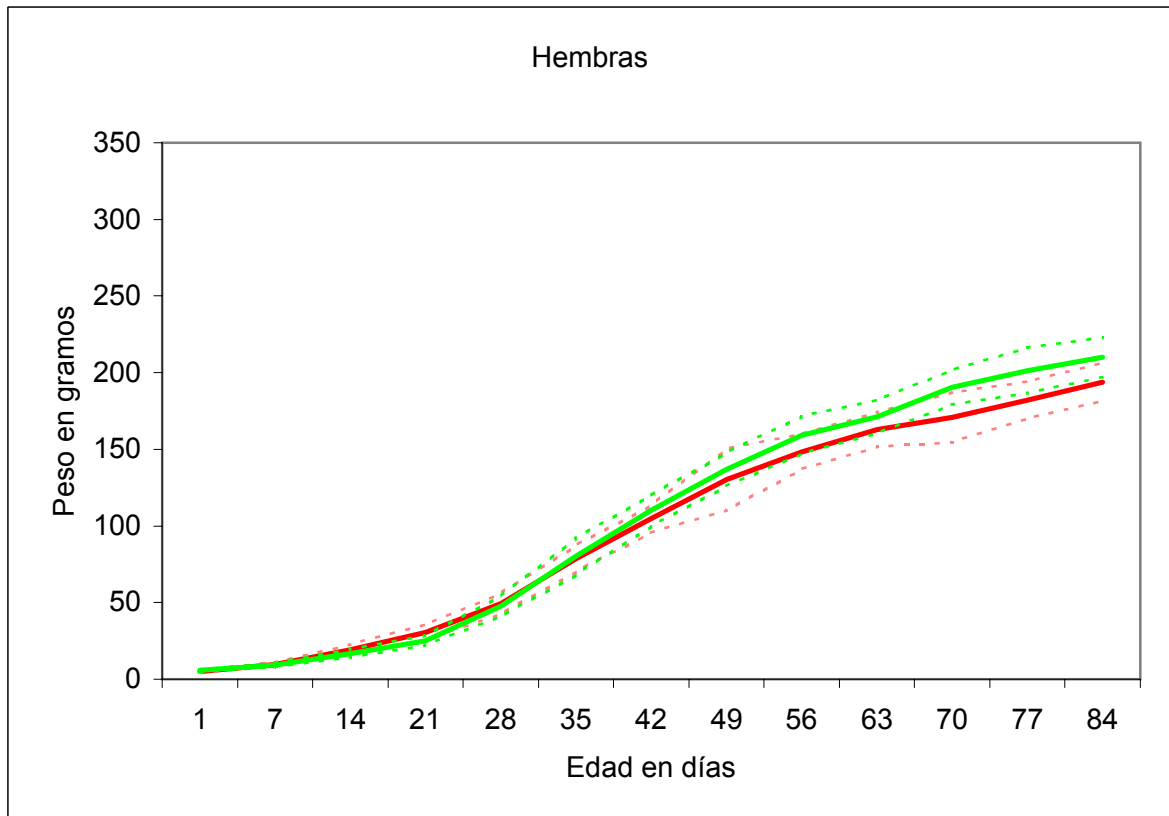
# Figura 3

## Curvas de ganancia de peso (Promedios)

### A



### B

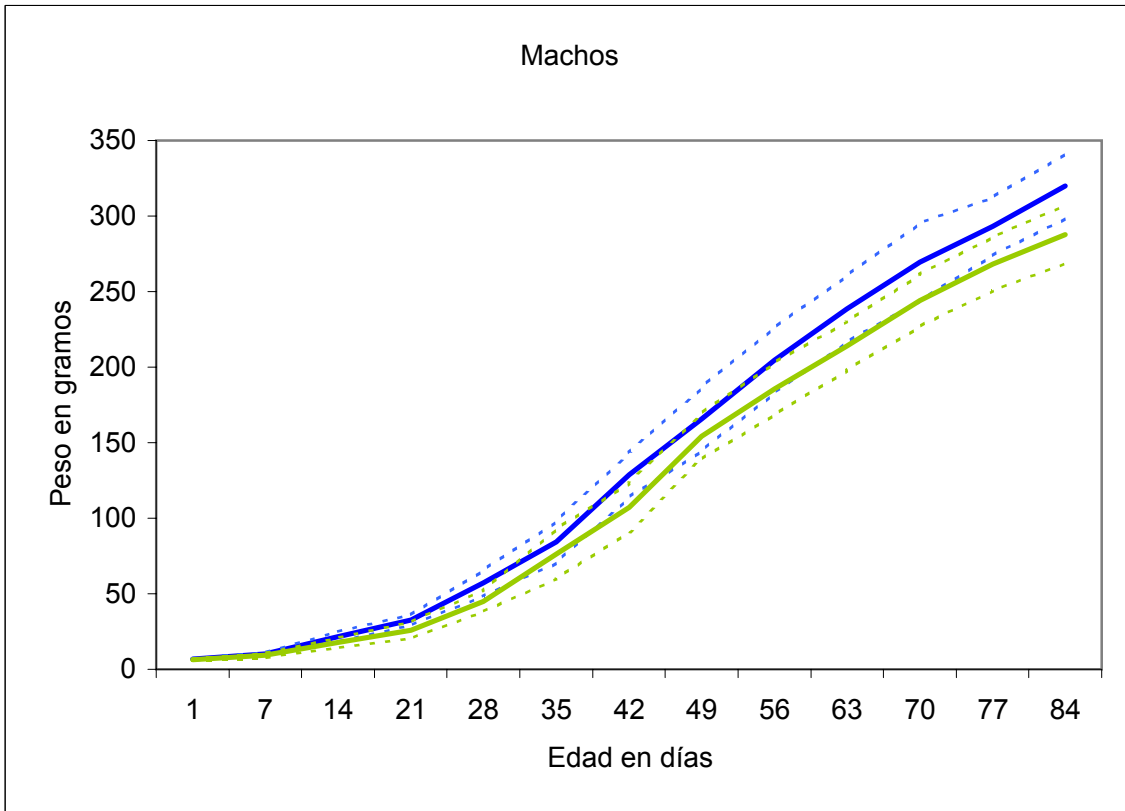


Referencias: — RPC    — RPC + GH

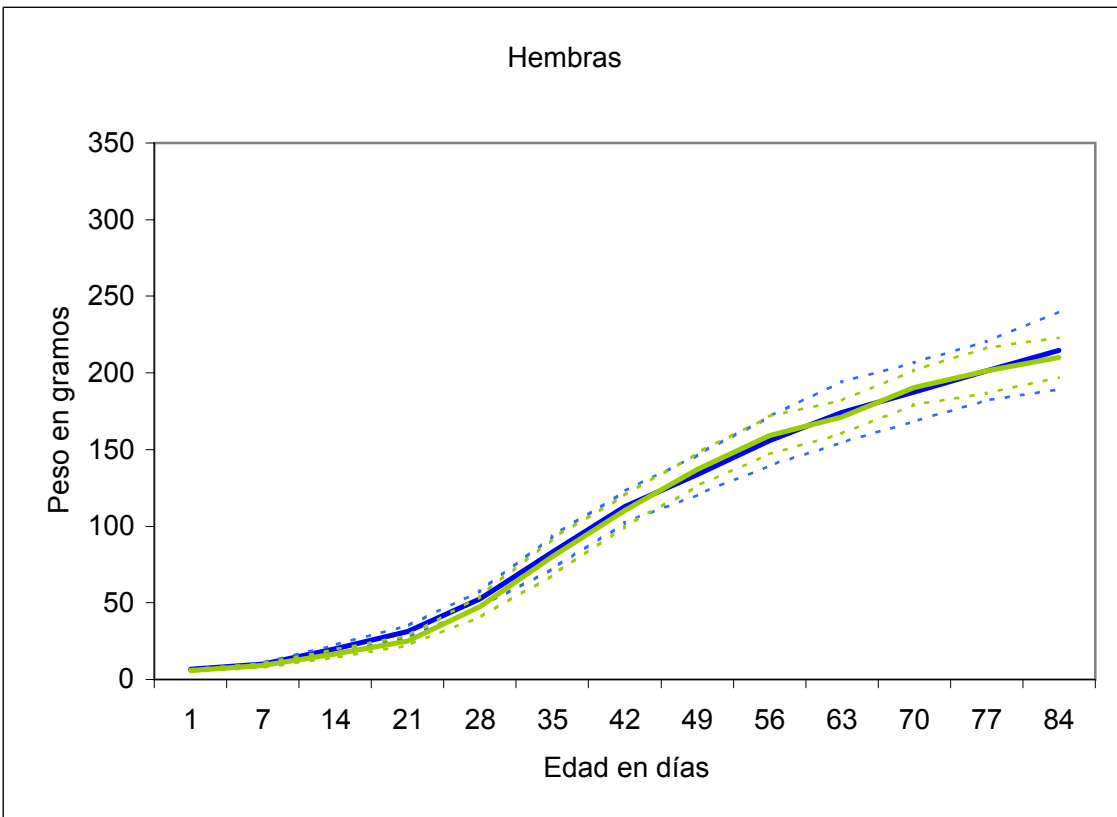
# Figura 4

## Curvas de ganancia de peso (Promedios)

### A



### B

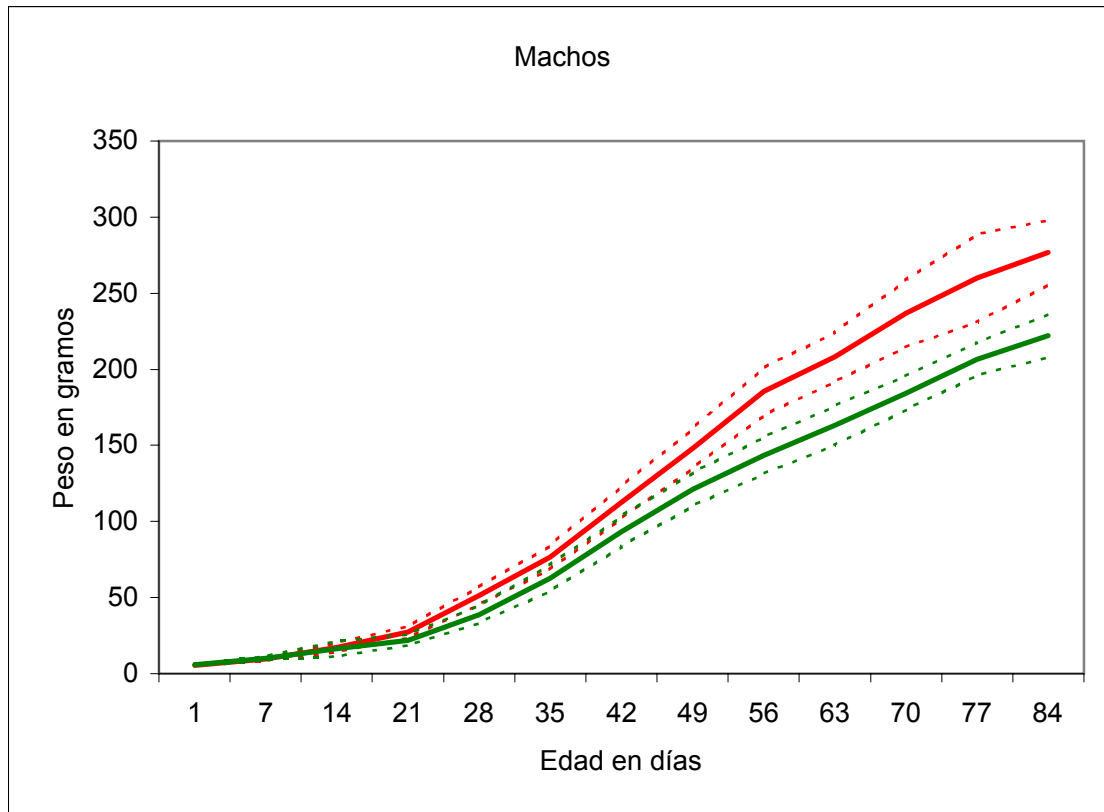


Referencias: — Sham — RPC+GH

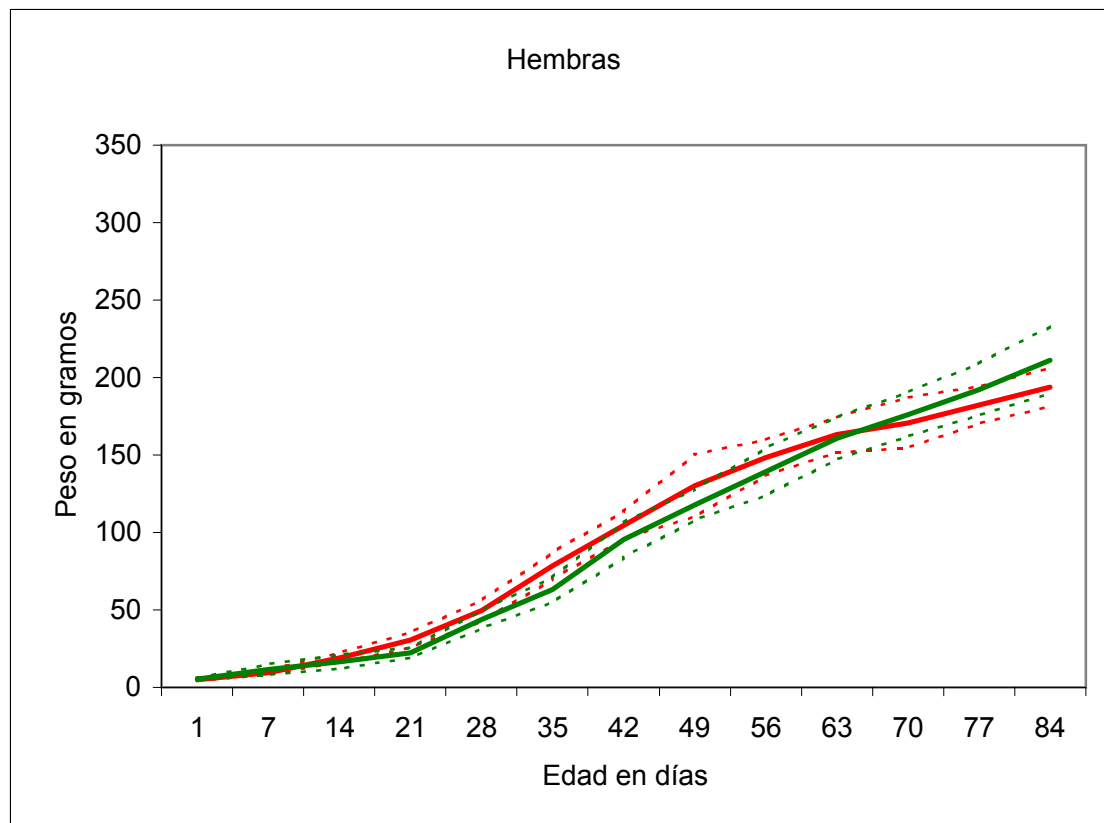
# Figura 5

## Curvas de ganancia de peso (Promedios)

### A



### B

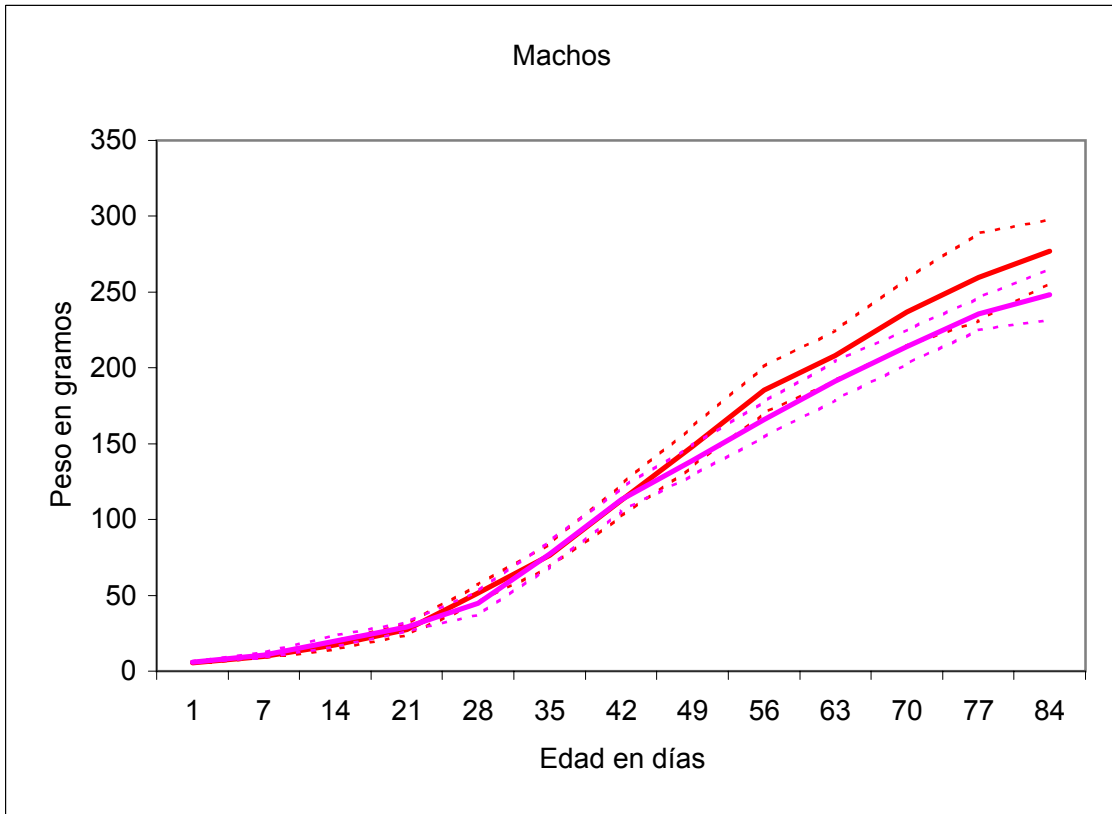


Referencias: — RPC    — RPC+Ca

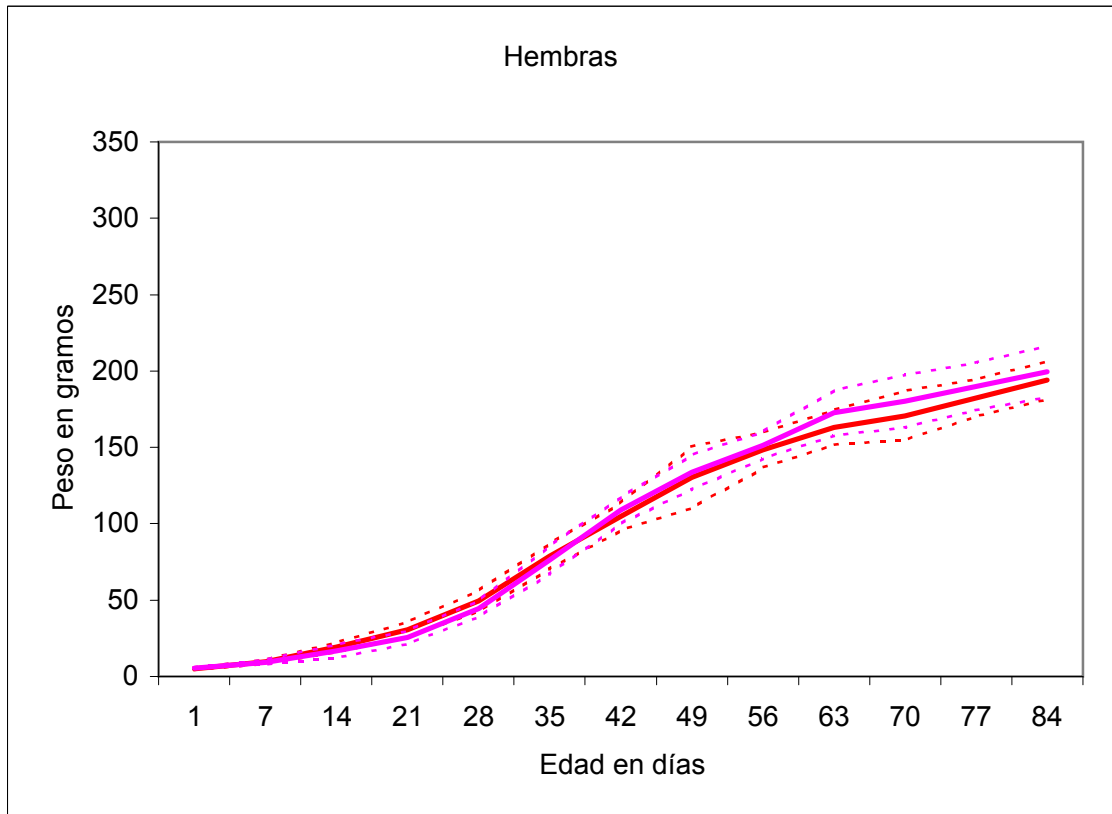
Figura 6

Curvas de ganancia de peso (Promedios)

A



B

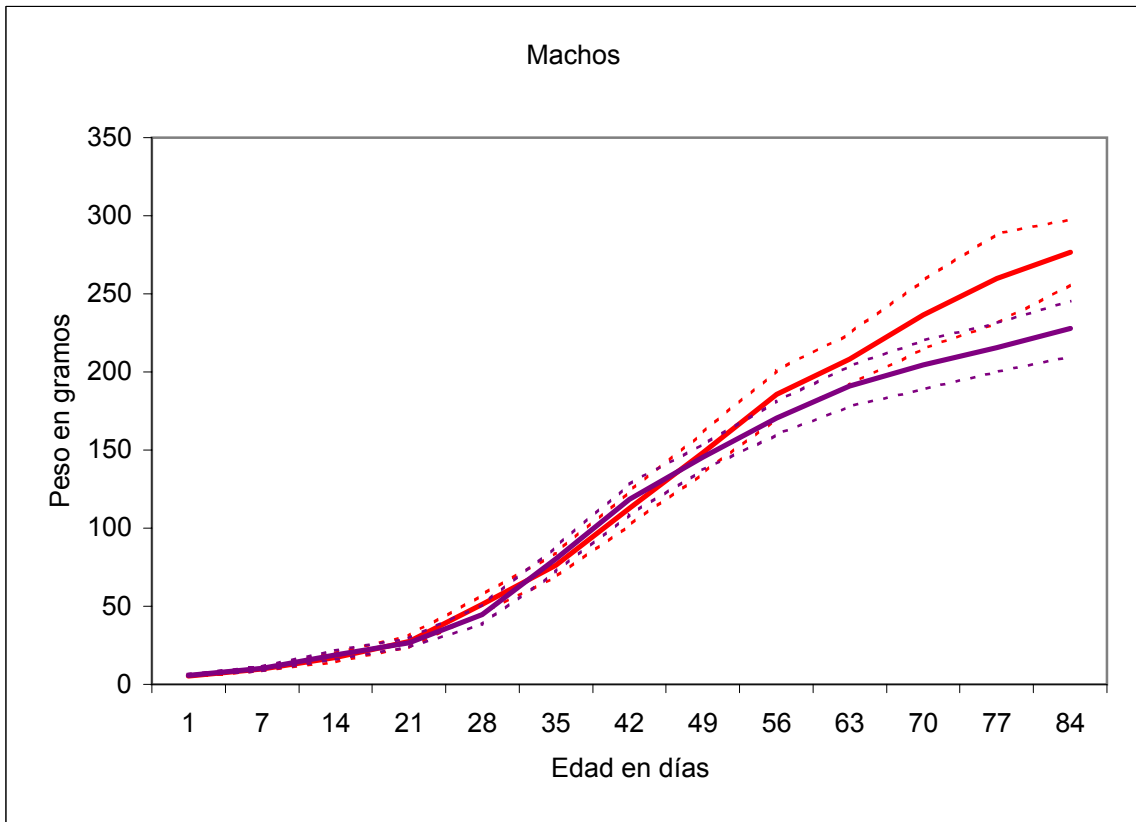


Referencias: — RPC — RPC+Ca+GH

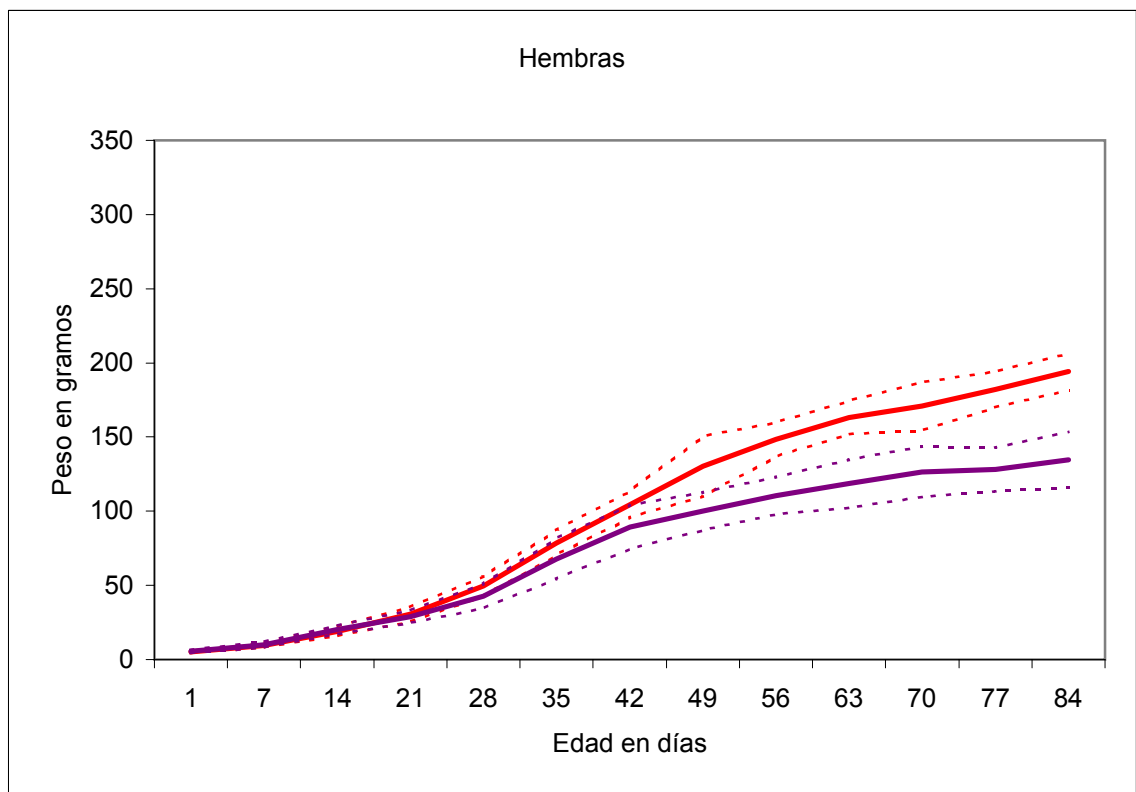
# Figura 7

## Curvas de ganancia de peso (Promedios)

### A



### B



Referencias: — RPC    — RPC+Te (Machos)    — RPC+Es (Hembras)

# Figura 8

## Diagrama en caja para variables óseas

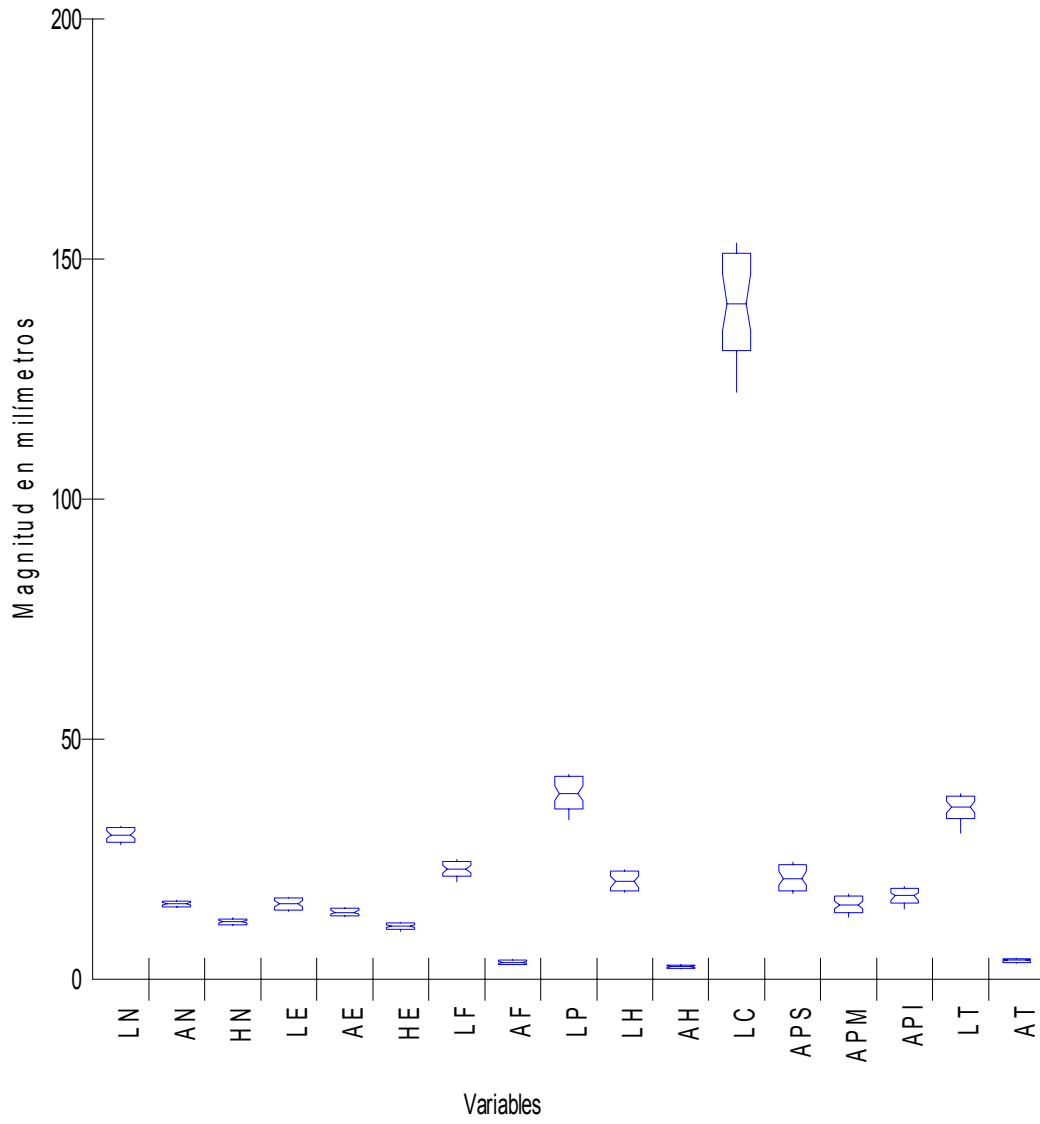
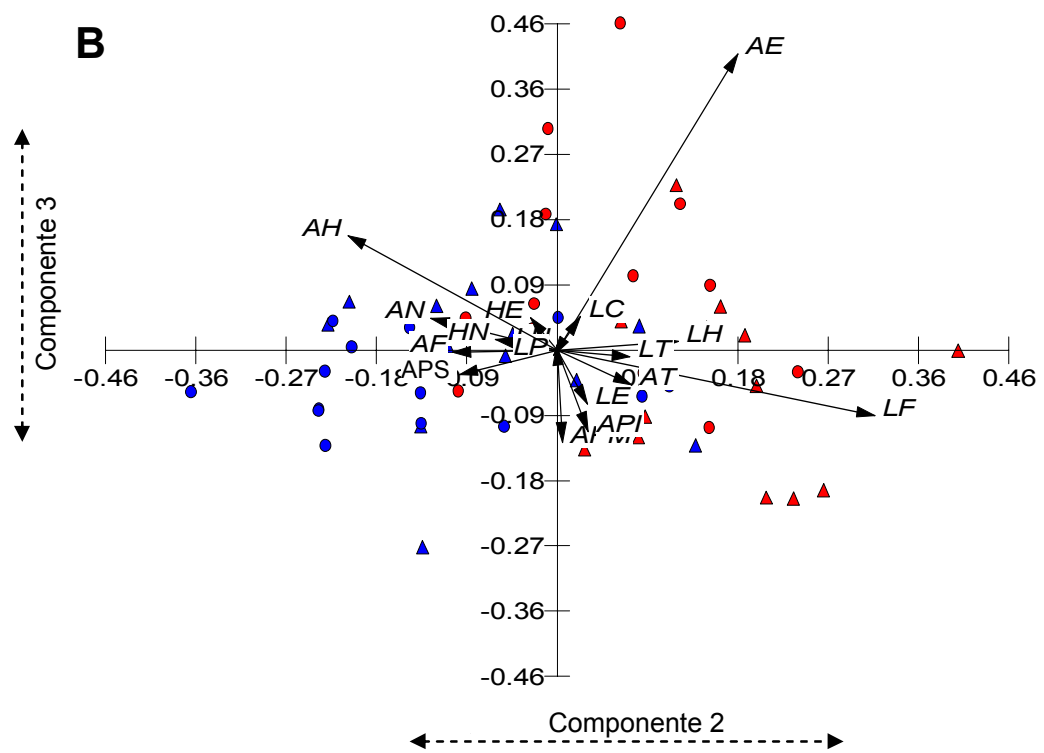
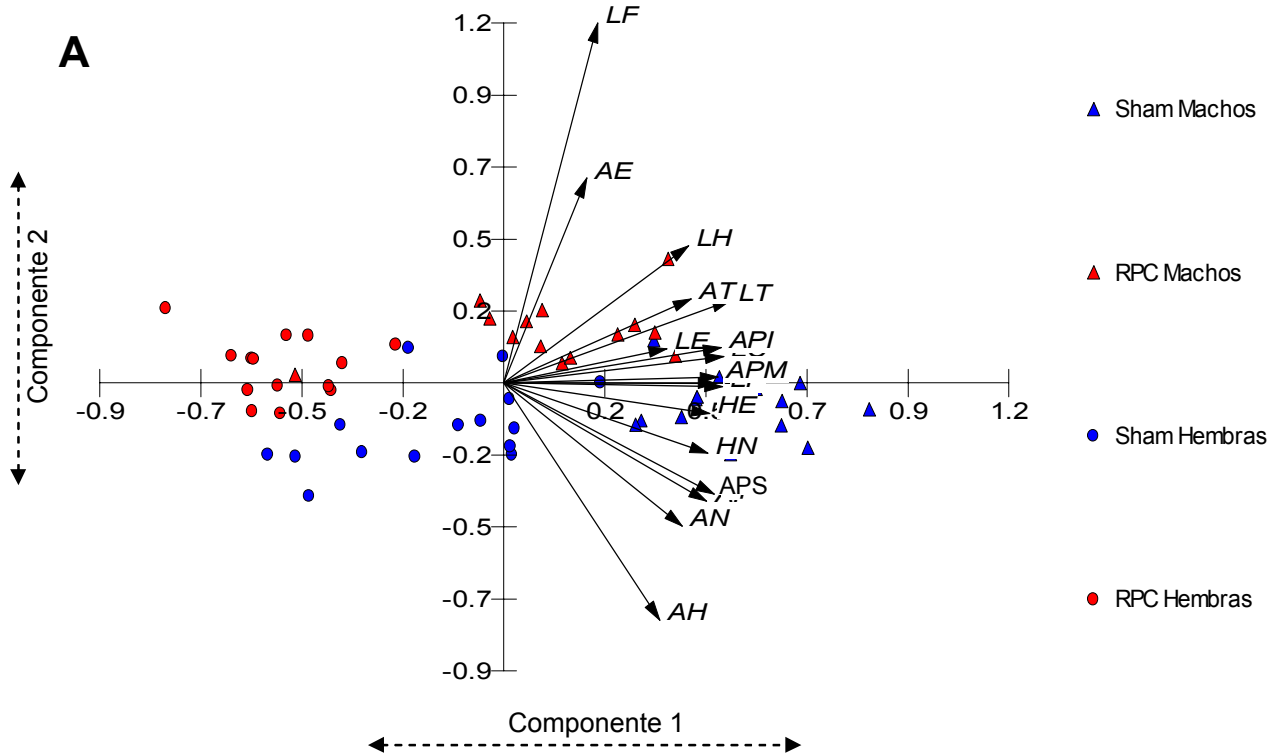


Figura 9

Análisis de Componentes Principales

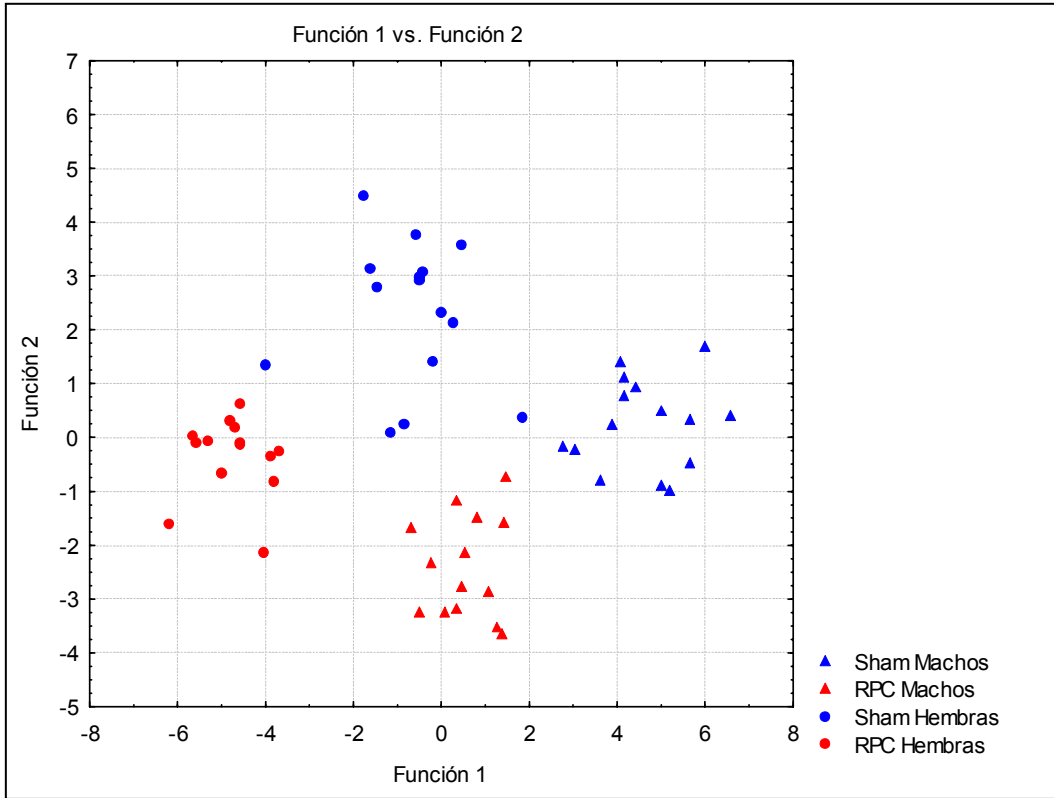
Comparación Sham - RPC



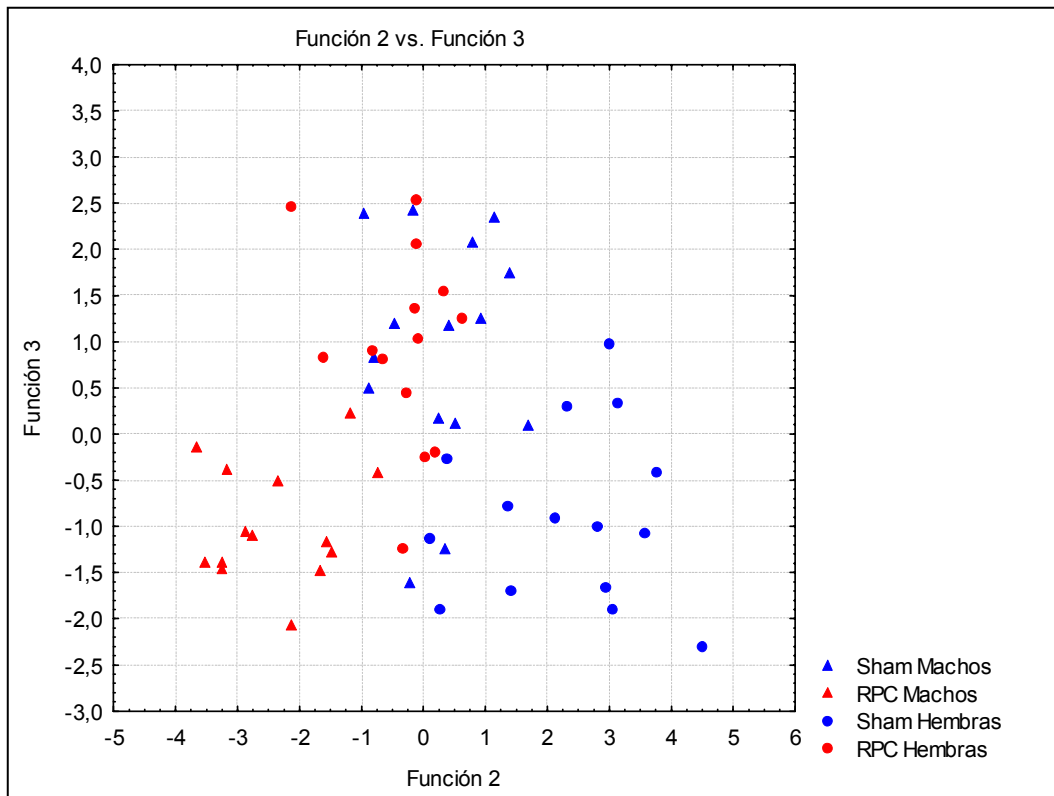
# Figura 10

## Analisis Discriminante Ploteo de Funciones Comparación Sham - RPC

A



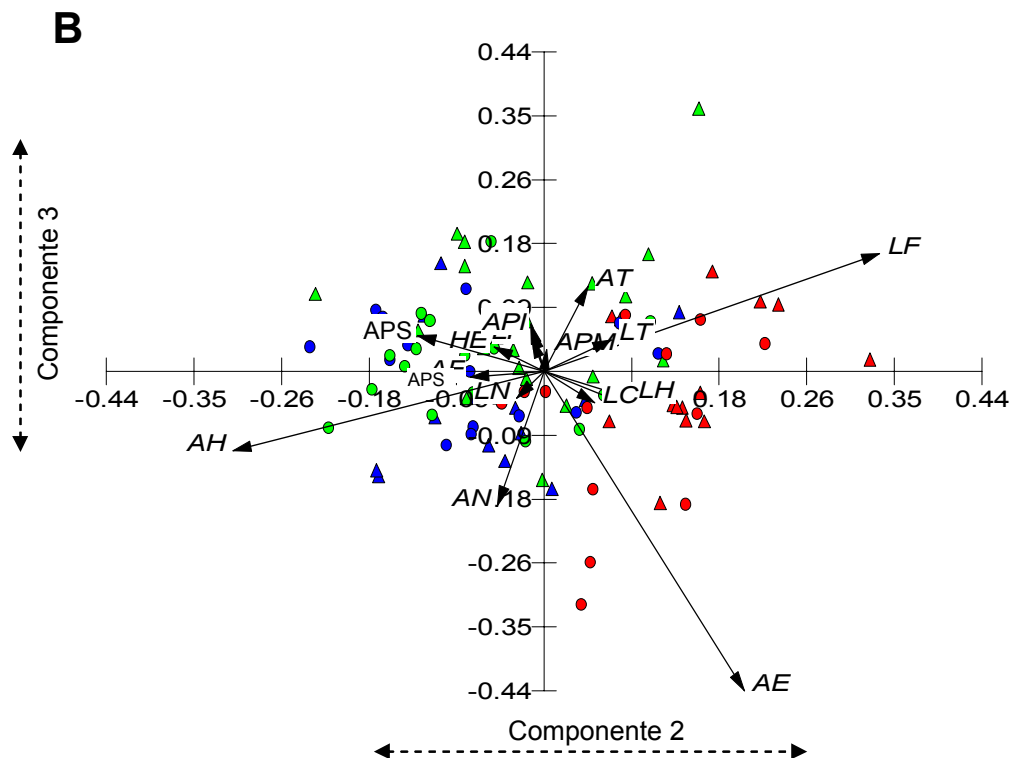
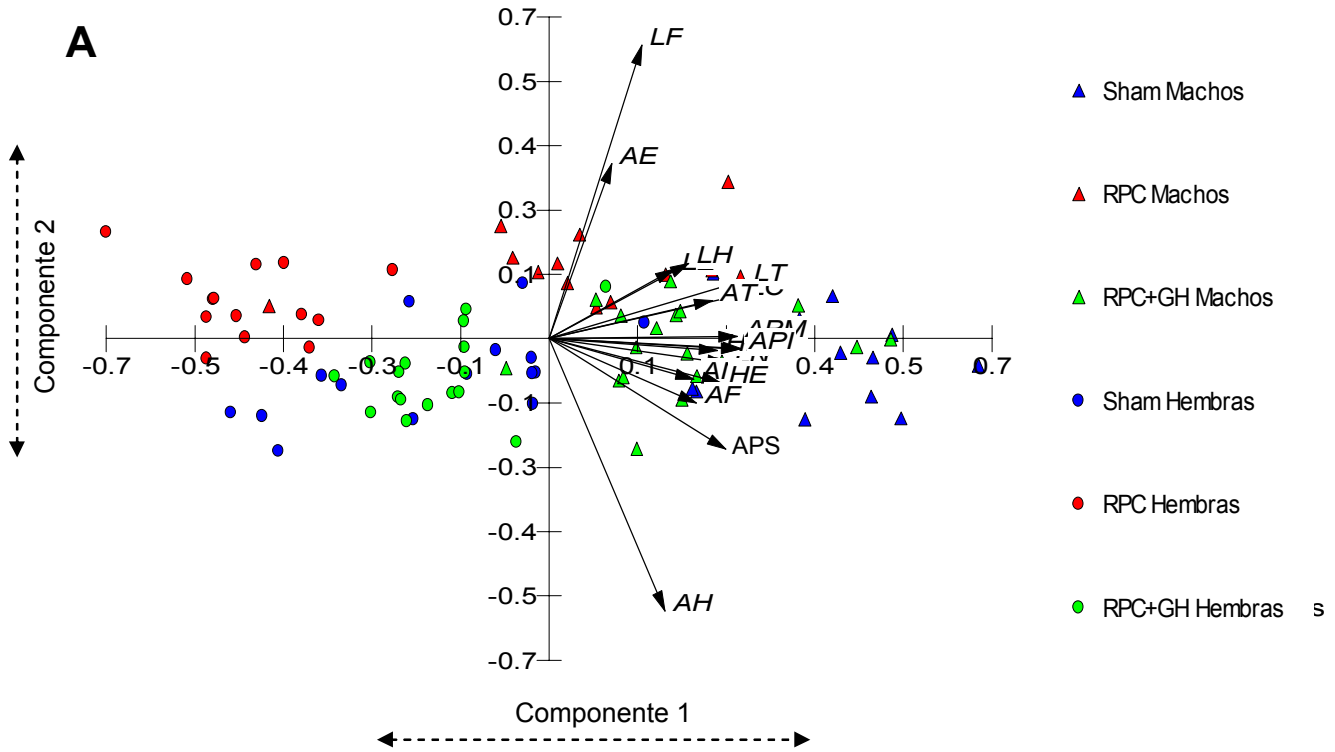
B



# Figura 11

## Análisis de Componentes Principales

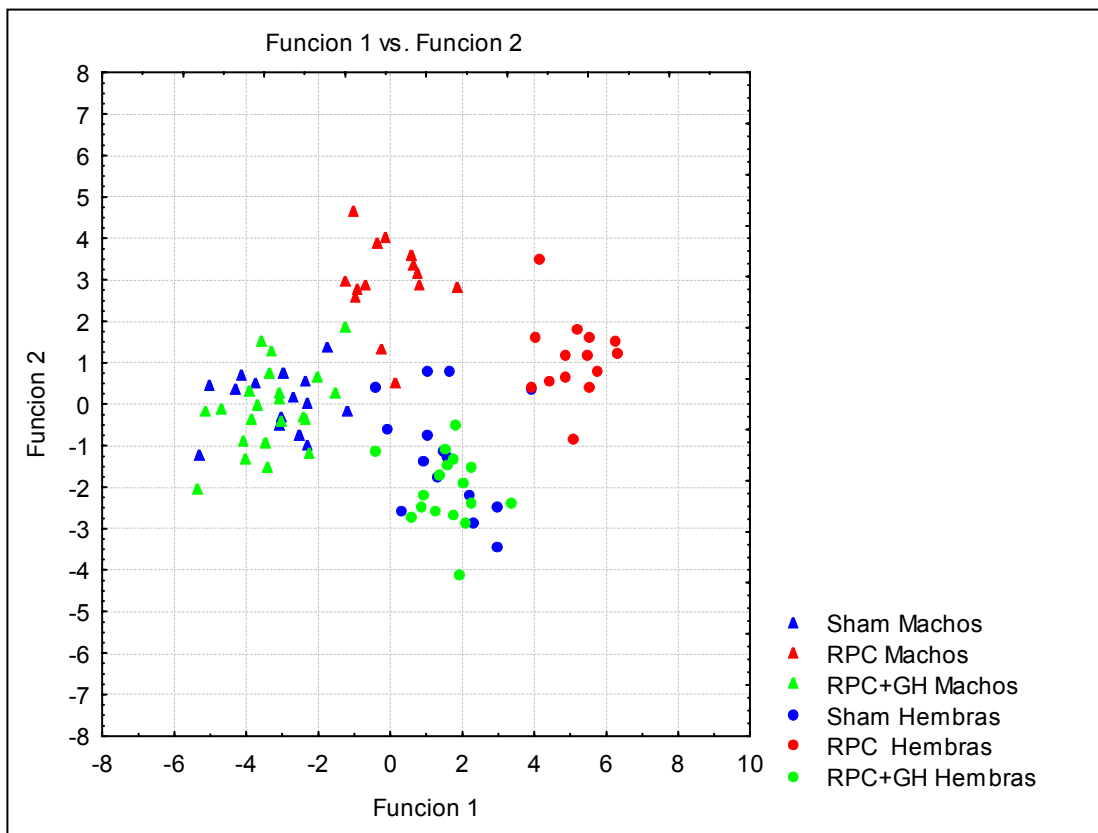
Comparación Sham - RPC - RPC+Gh



# Figura 12

## Analisis Discriminante Ploteo de Funciones Comparación Sham - RPC - RPC+GH

A



B

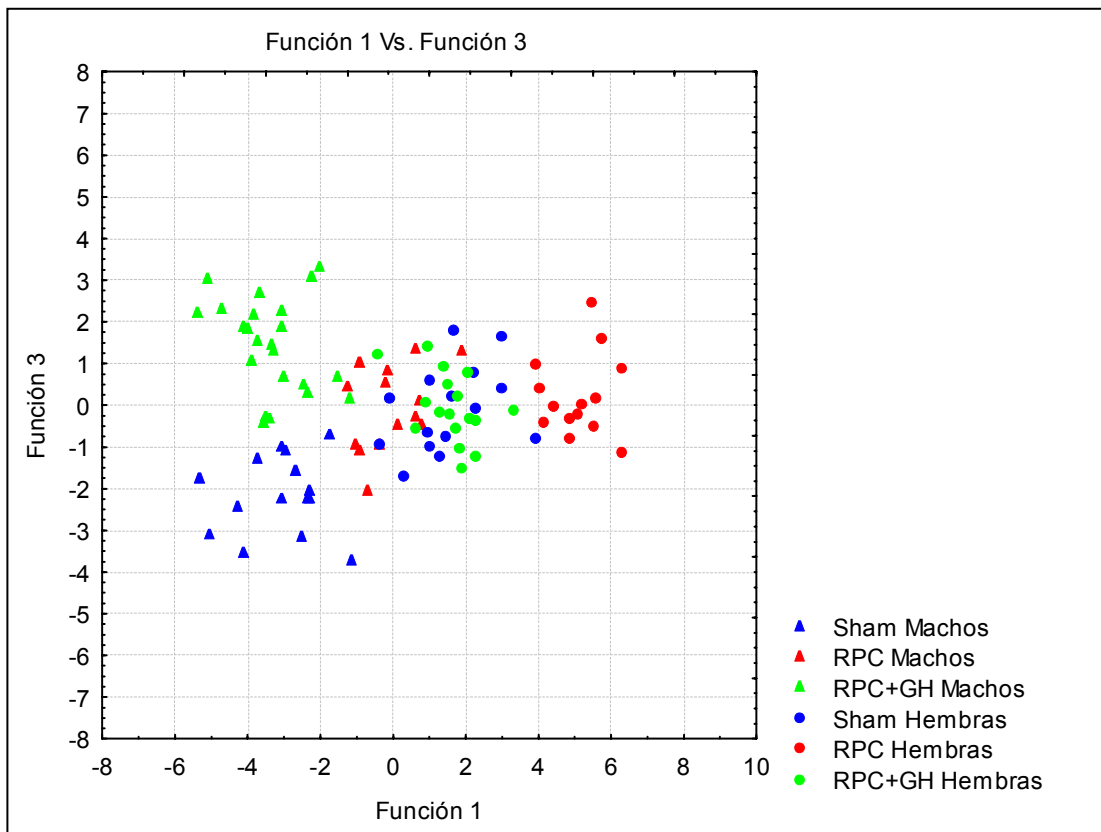
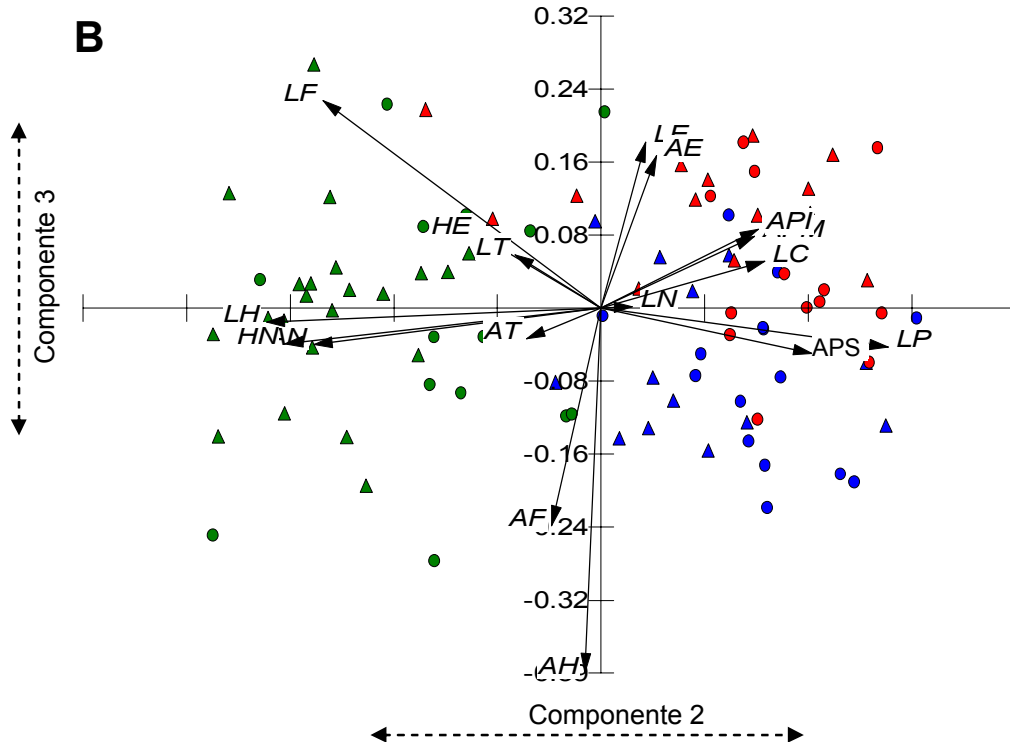
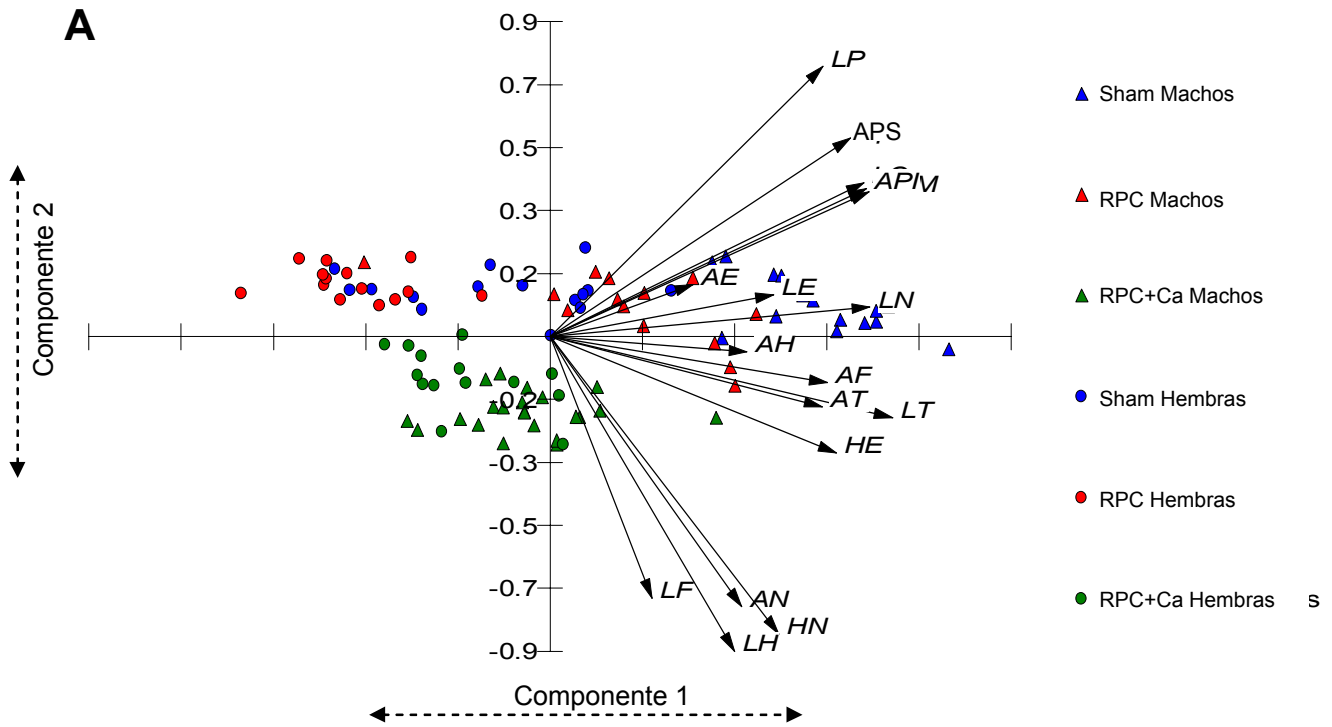


Figura 13

Análisis de Componentes Principales

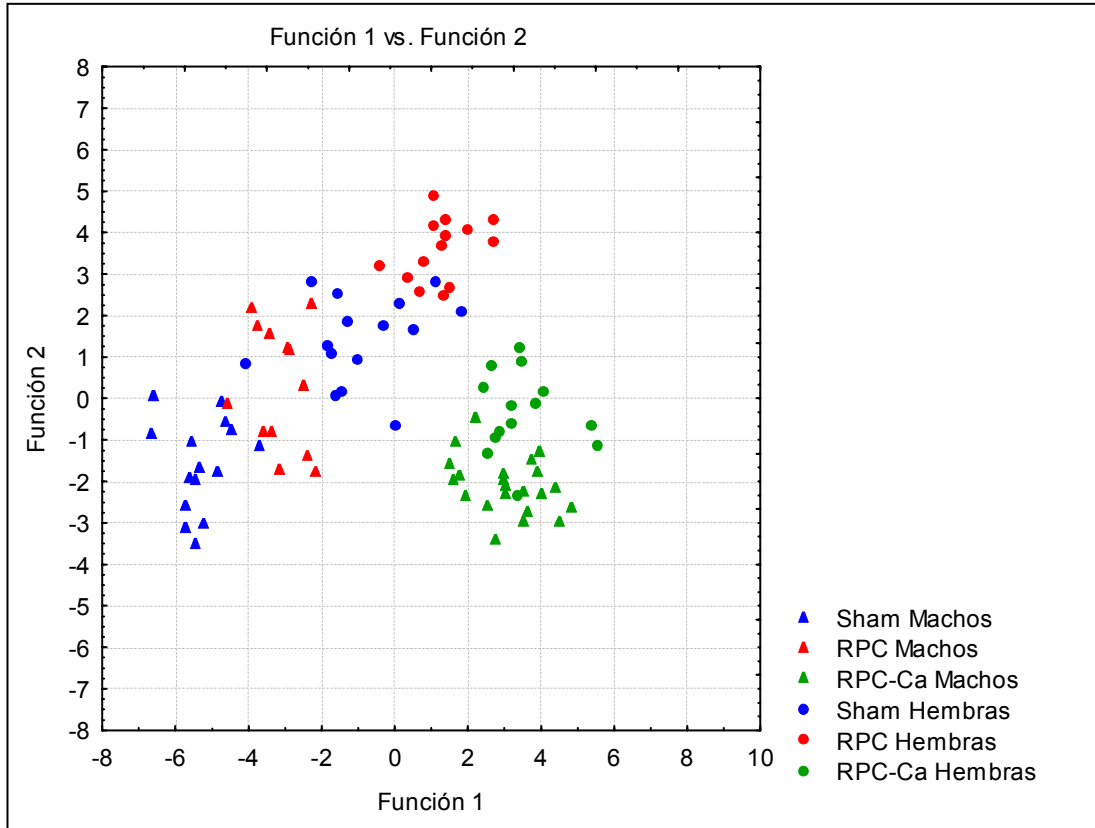
Comparación Sham - RPC - RPC+Ca



# Figura 14

## Analisis Discriminante Ploteo de Funciones Comparación Sham - RPC - RPC+Ca

A



B

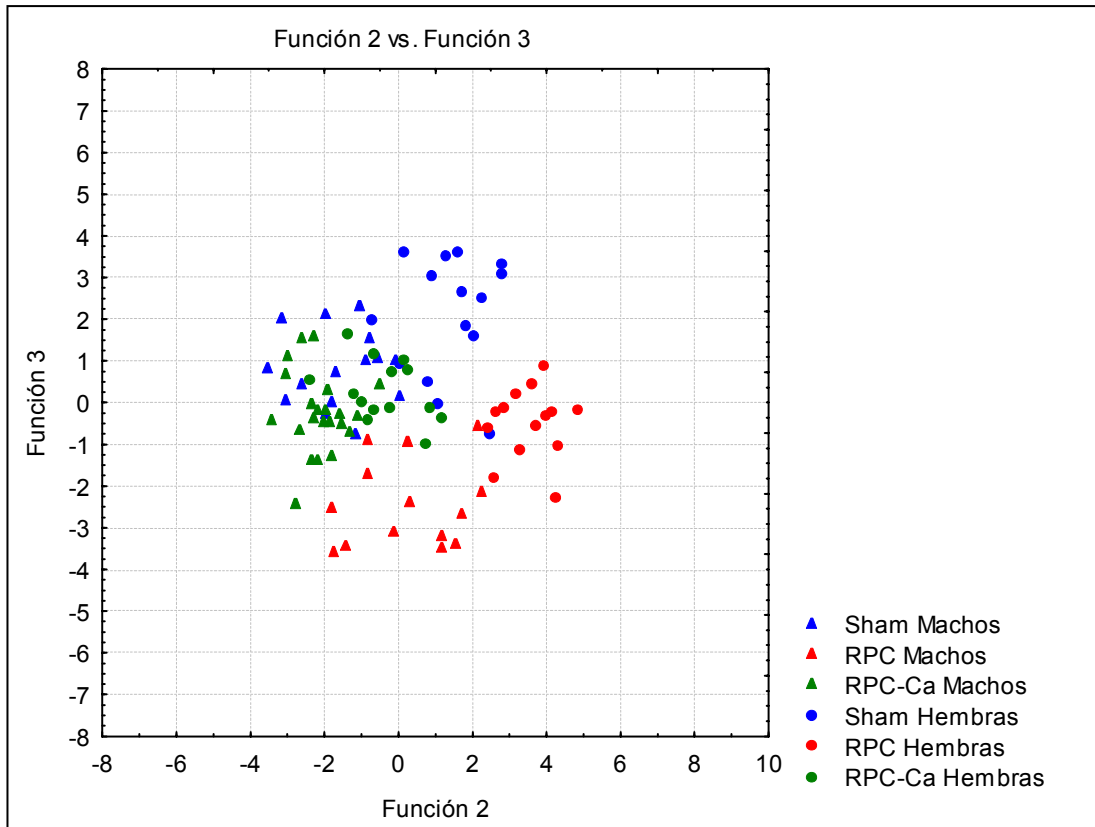


Figura 15

Análisis de Componentes Principales

Comparación Sham - RPC - RPC+Ca+GH

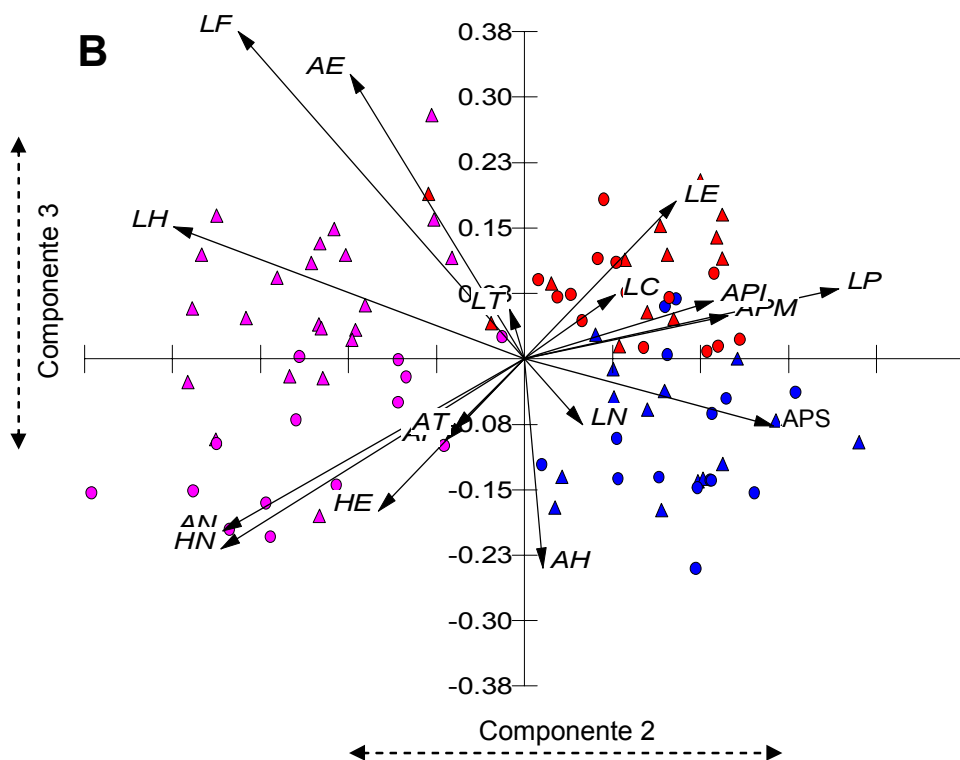
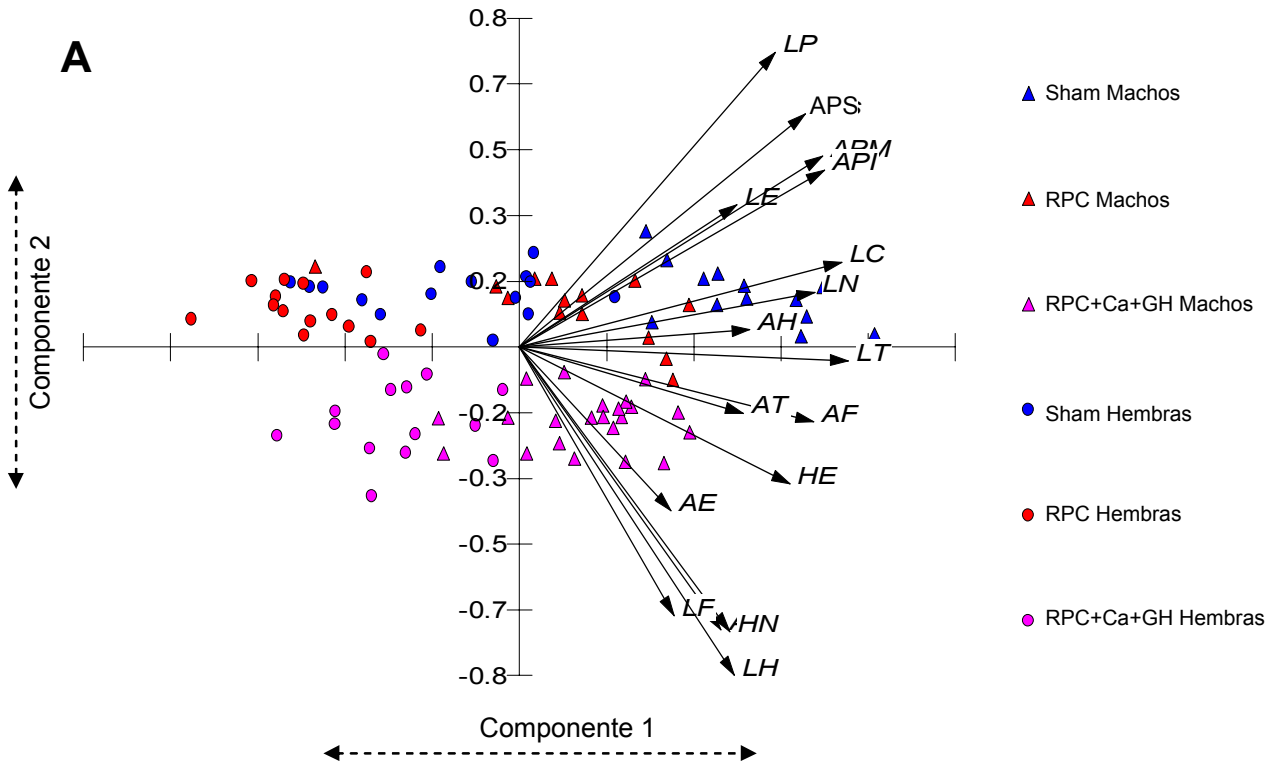
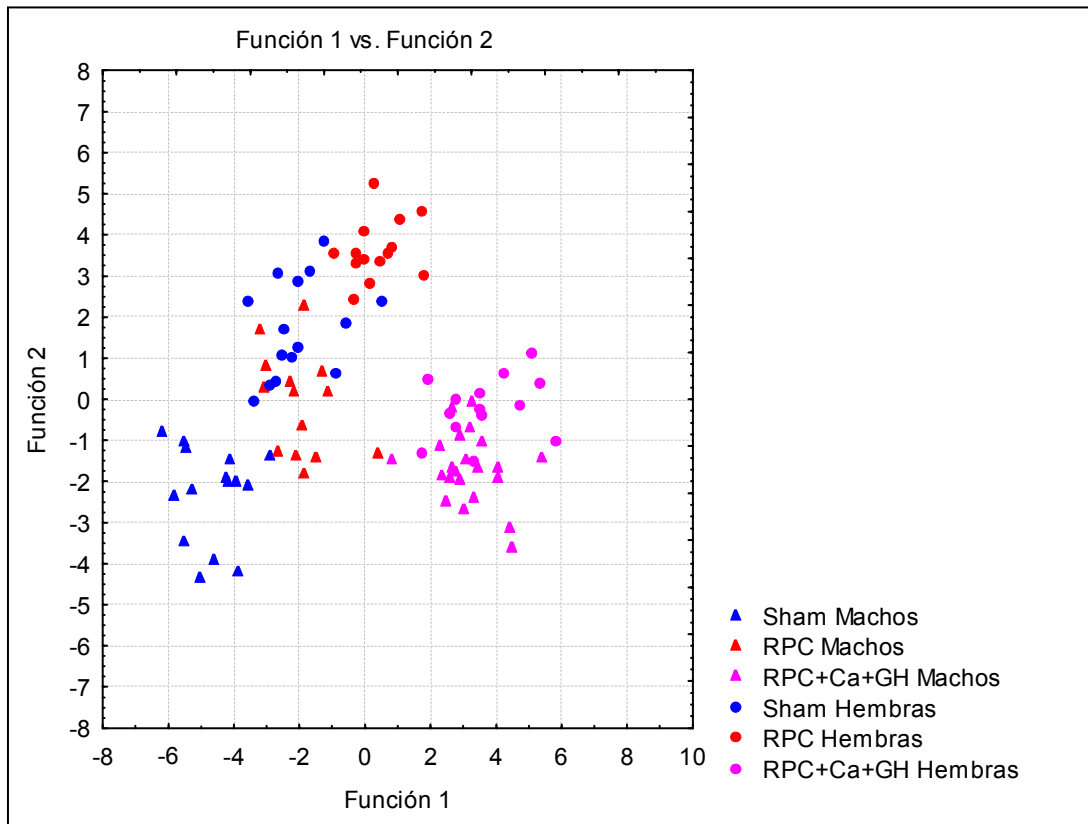


Figura 16

Analisis Discriminante  
Ploteo de Funciones  
Comparación Sham - RPC - RPC+Ca+GH

A



B

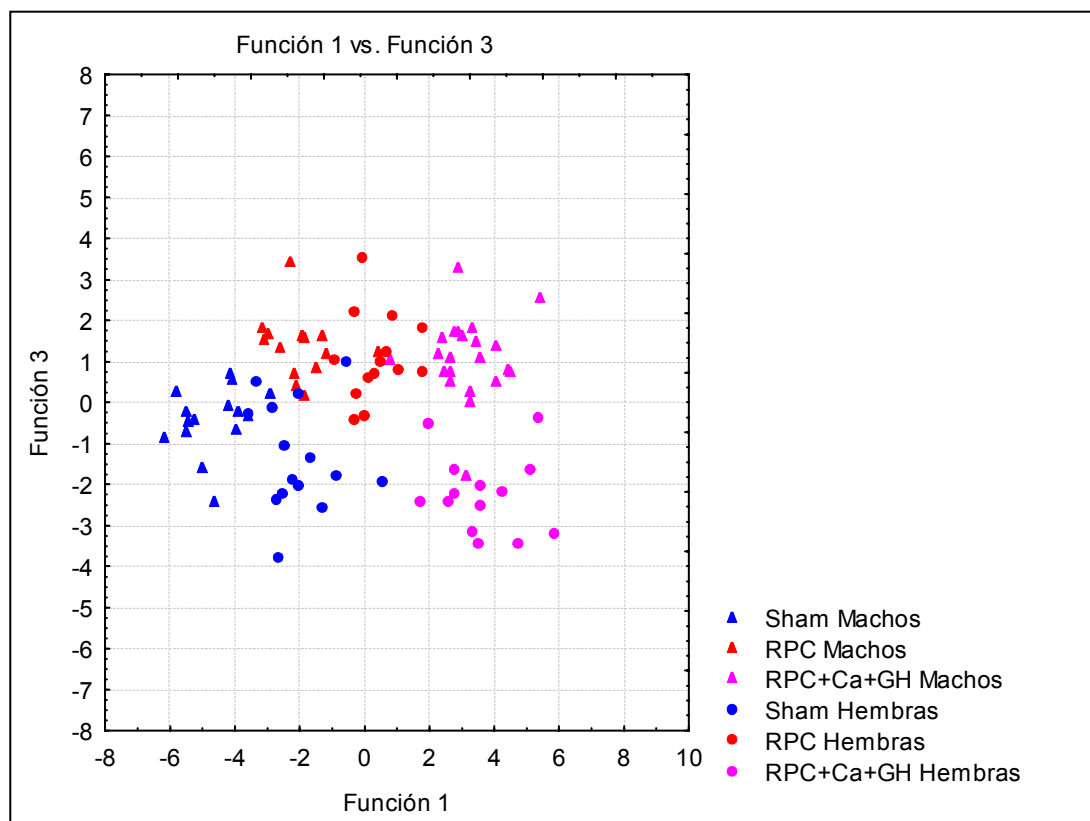
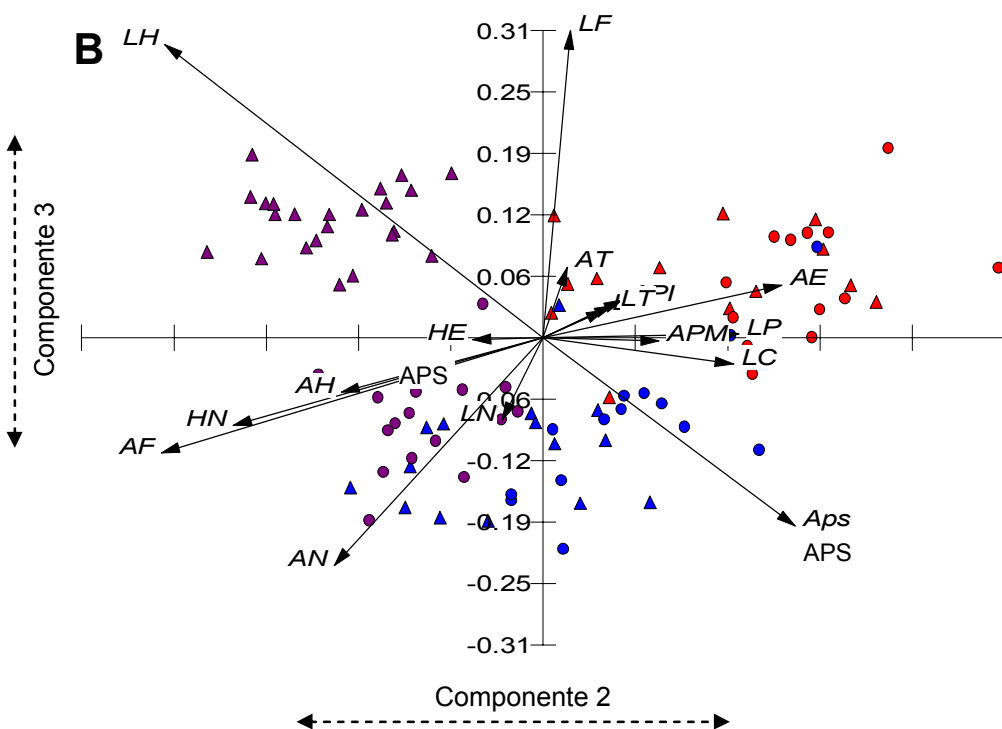
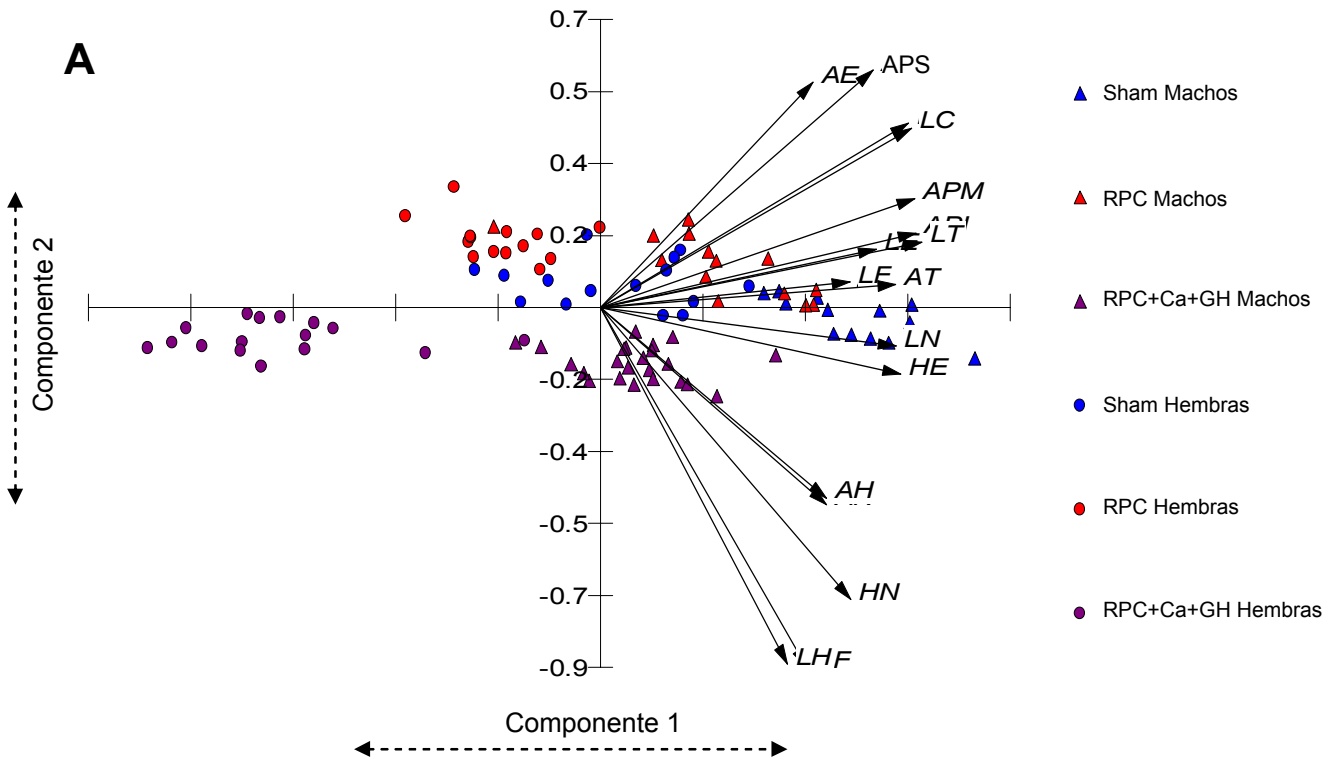


Figura 17

Análisis de Componentes Principales

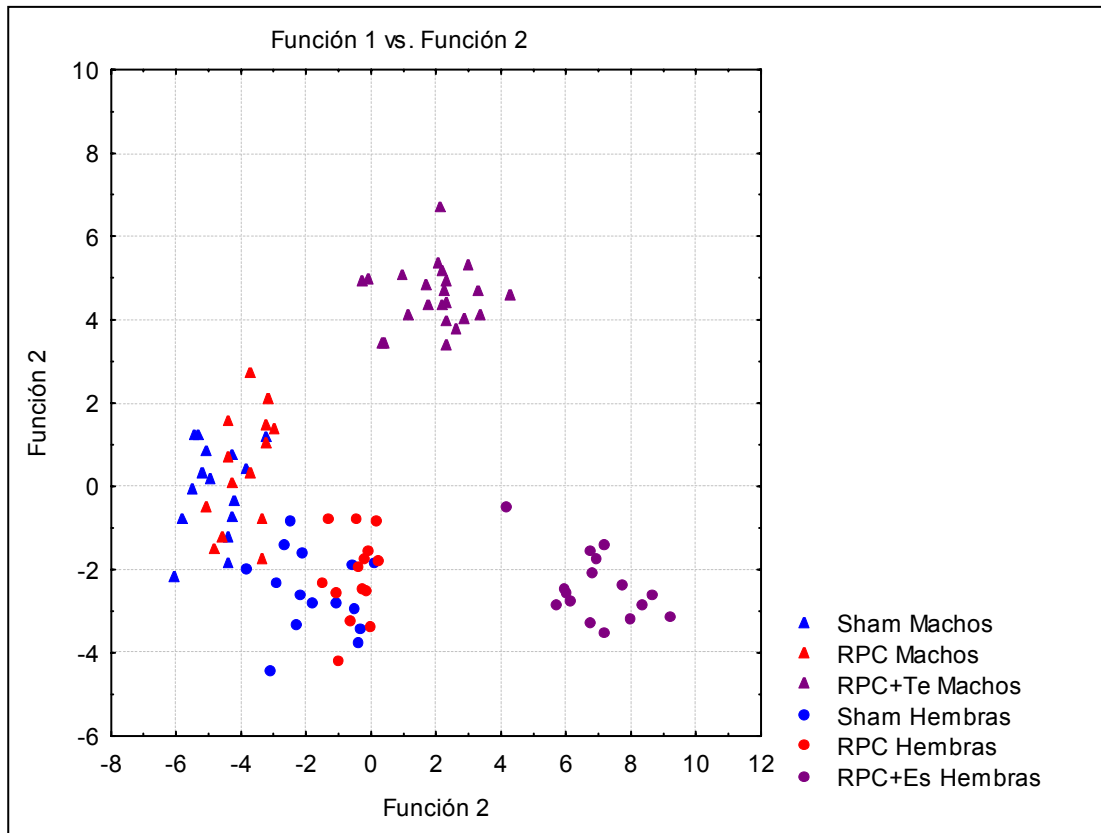
Comparación Sham - RPC - RPC+Te/Es



# Figura 18

## Analisis Discriminante Ploteo de Funciones Comparación Sham - RPC - RPC+Te/Es

A



B

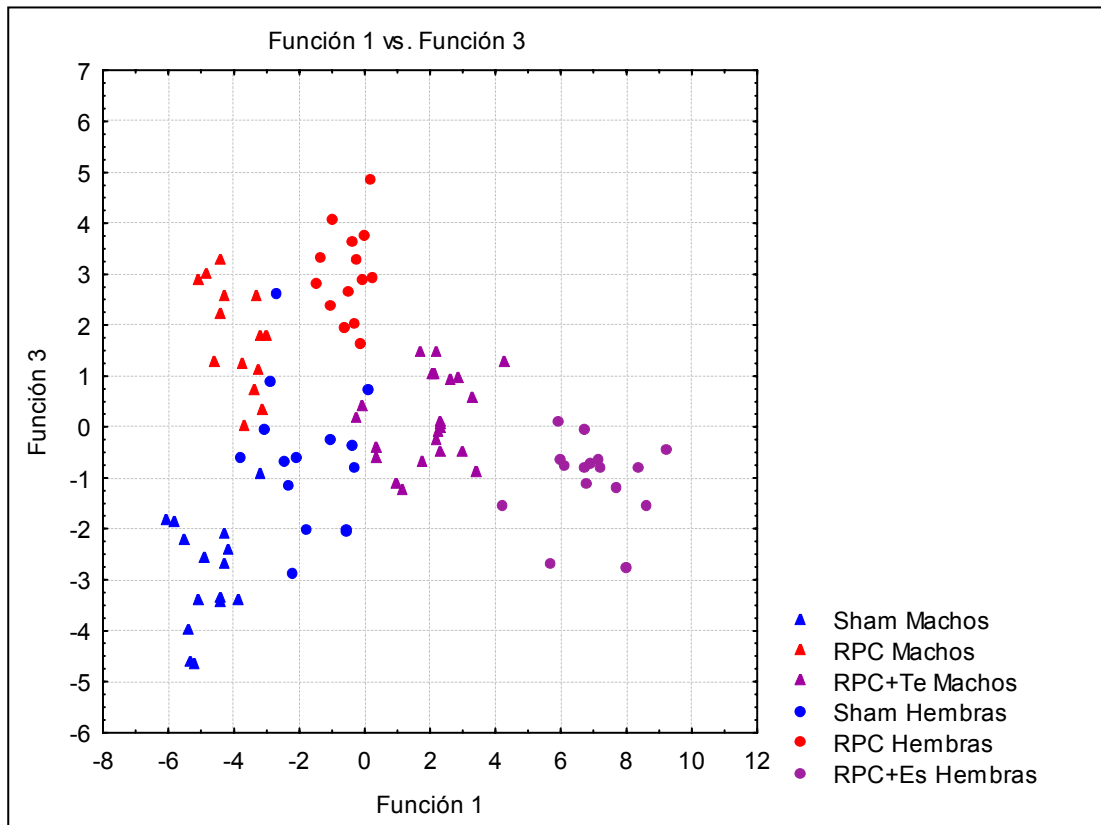
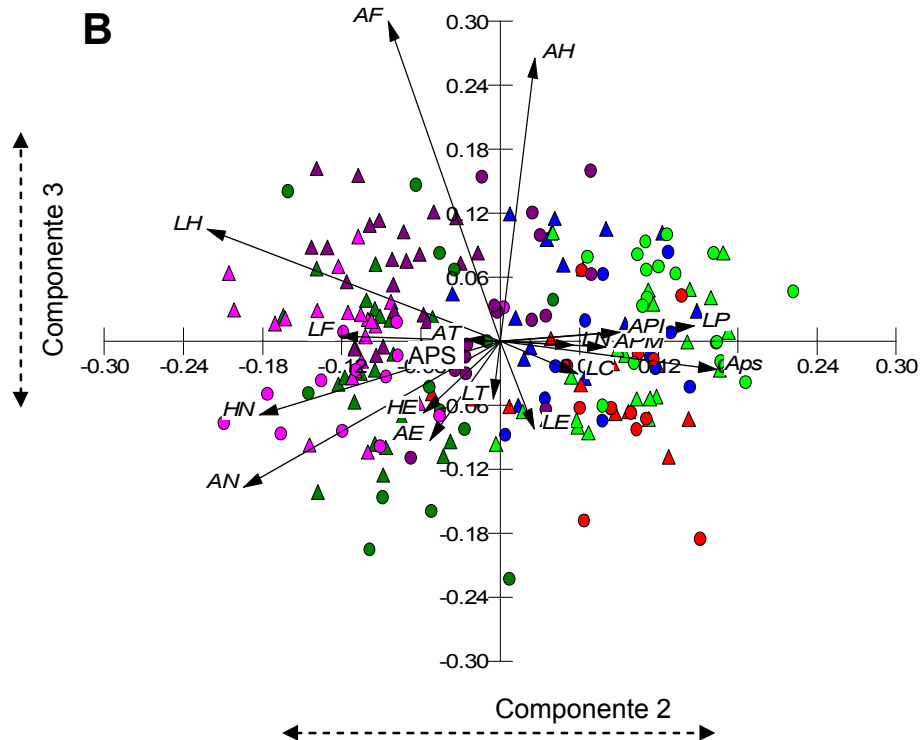
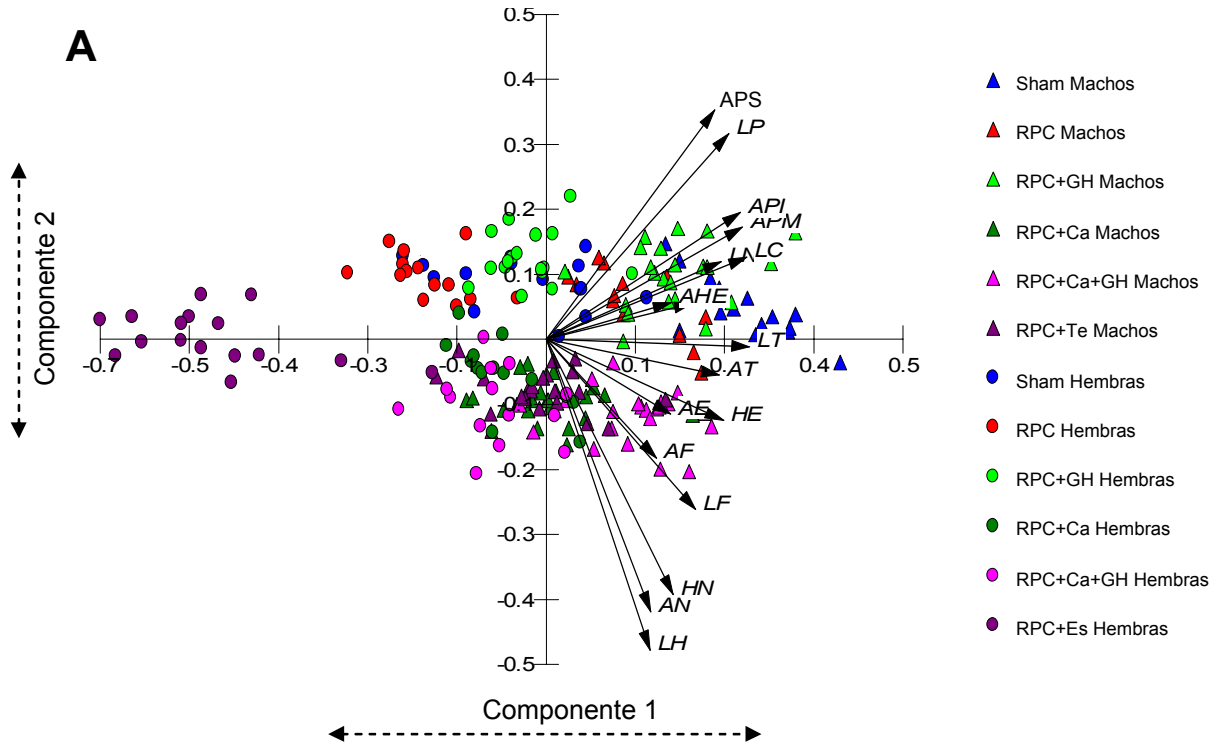


Figura 19

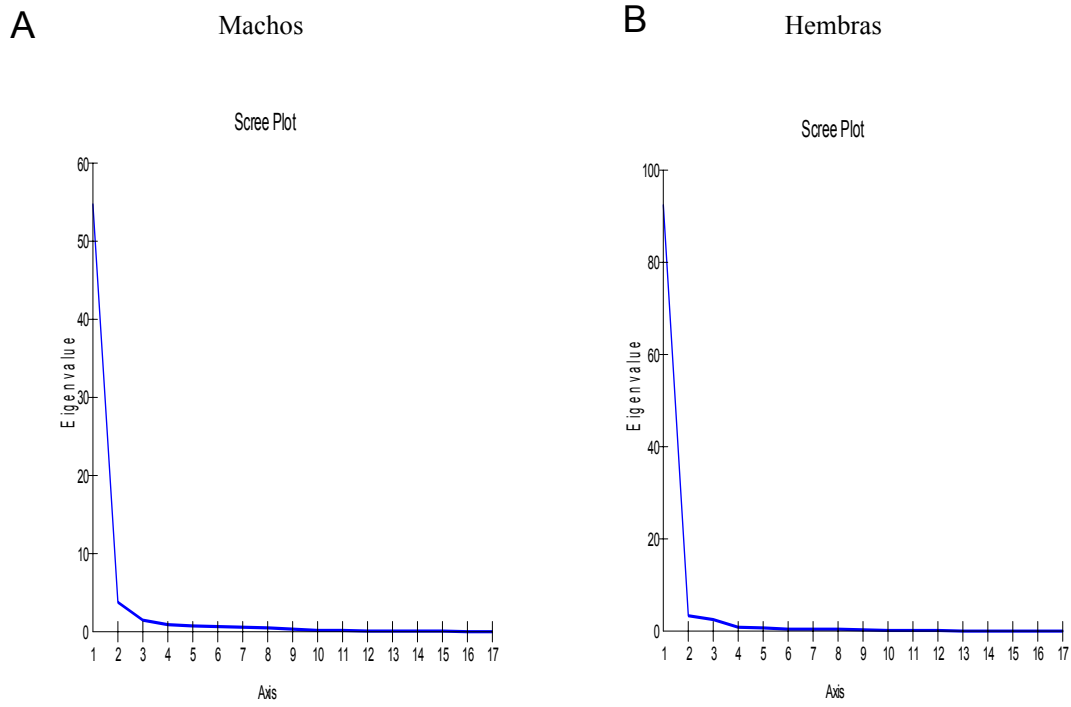
Análisis de Componentes Principales Estandarizado para todos los tratamientos



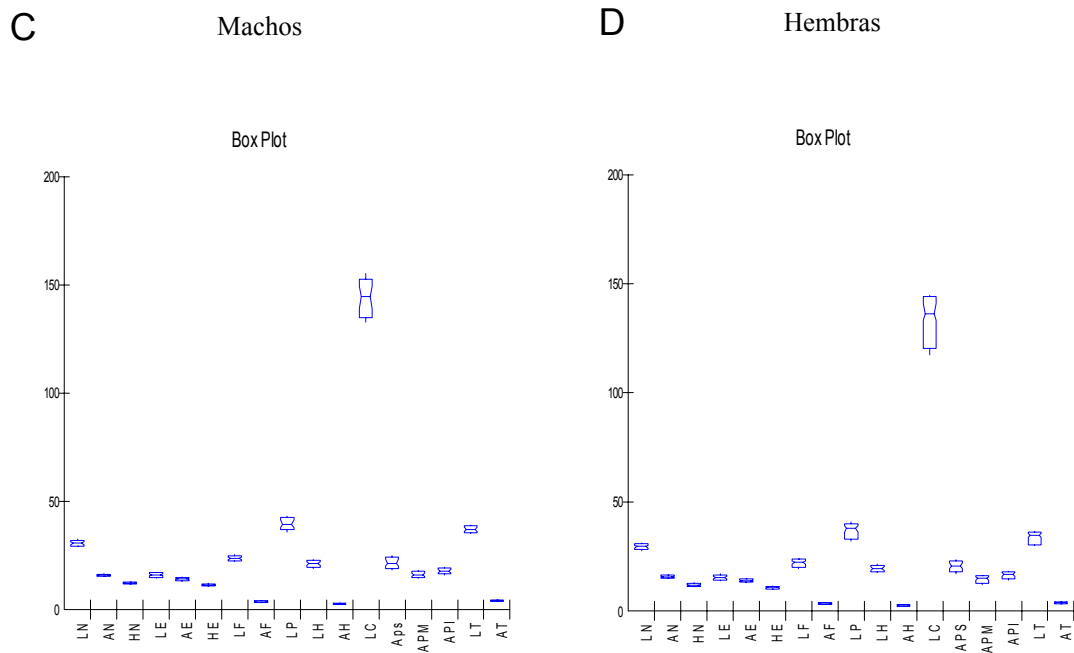
# Figura 20

## Analisis de Componentes Principales sin estandarizar

### Graficas Scree Plot



### Graficos en Caja



# Figura 21

## Análisis de Componentes Principales sin estandarizar

MACHOS

Comparación: Sham - RPC - RPC+GH - RPC+Ca - RPC+Ca+GH - RPC+Te

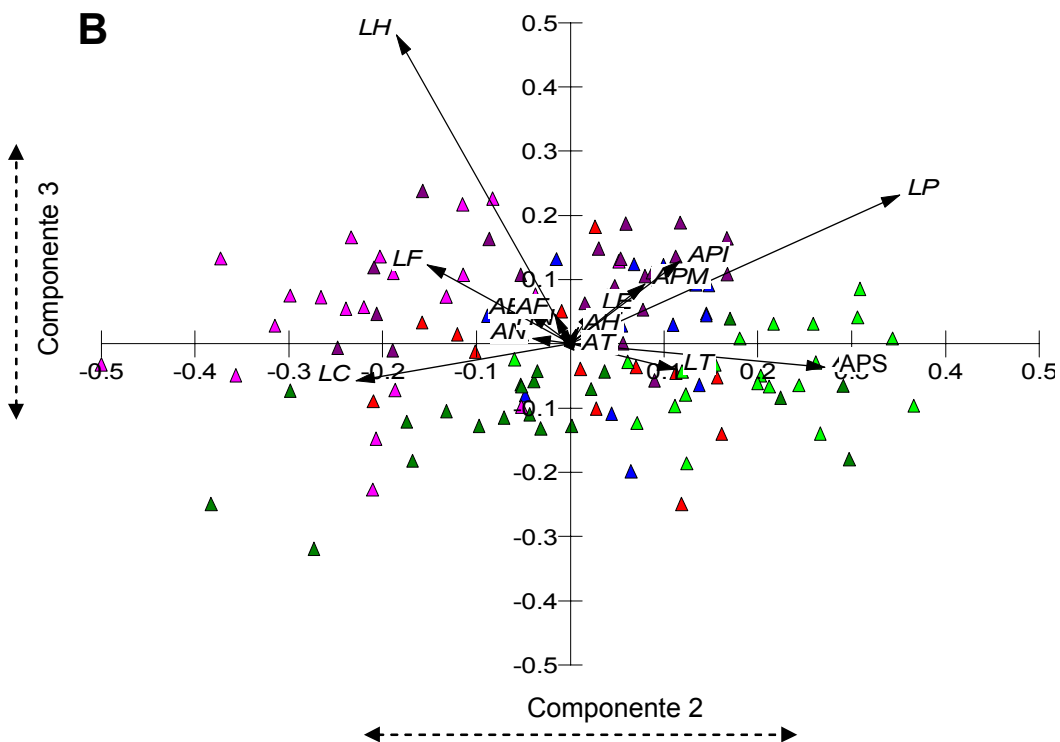
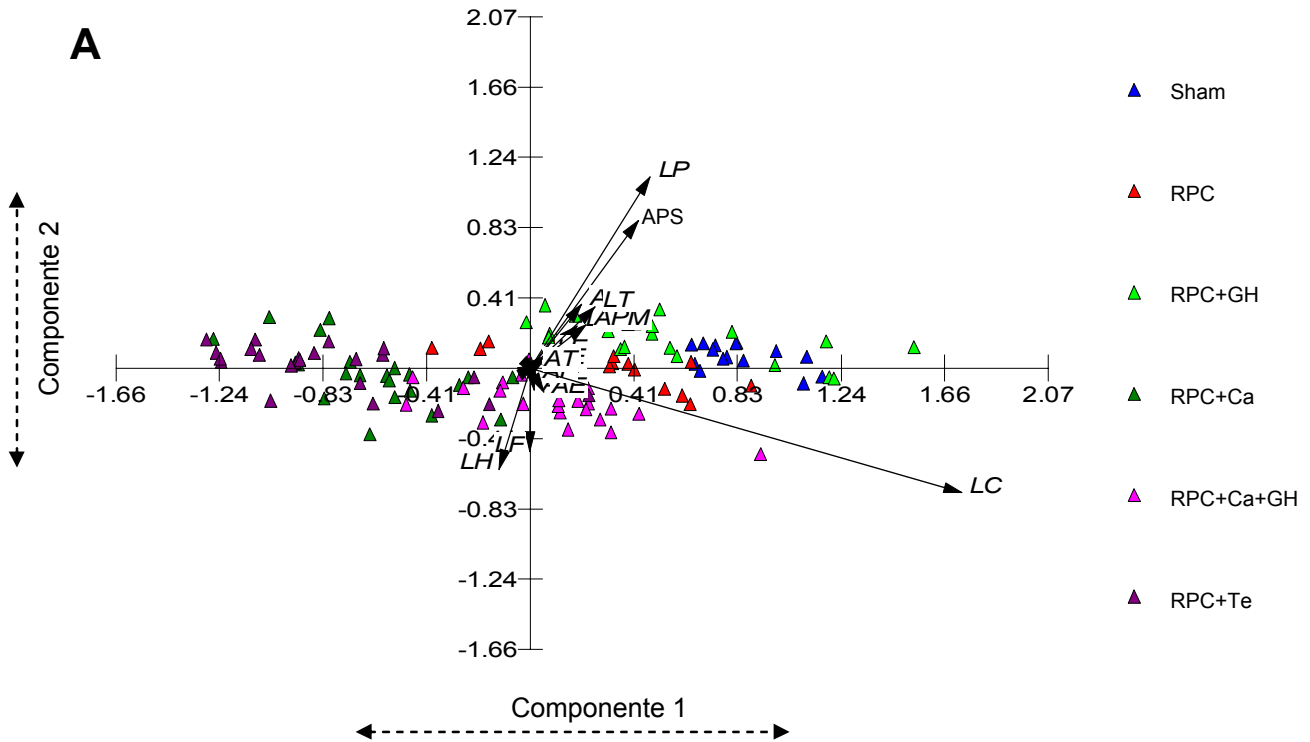
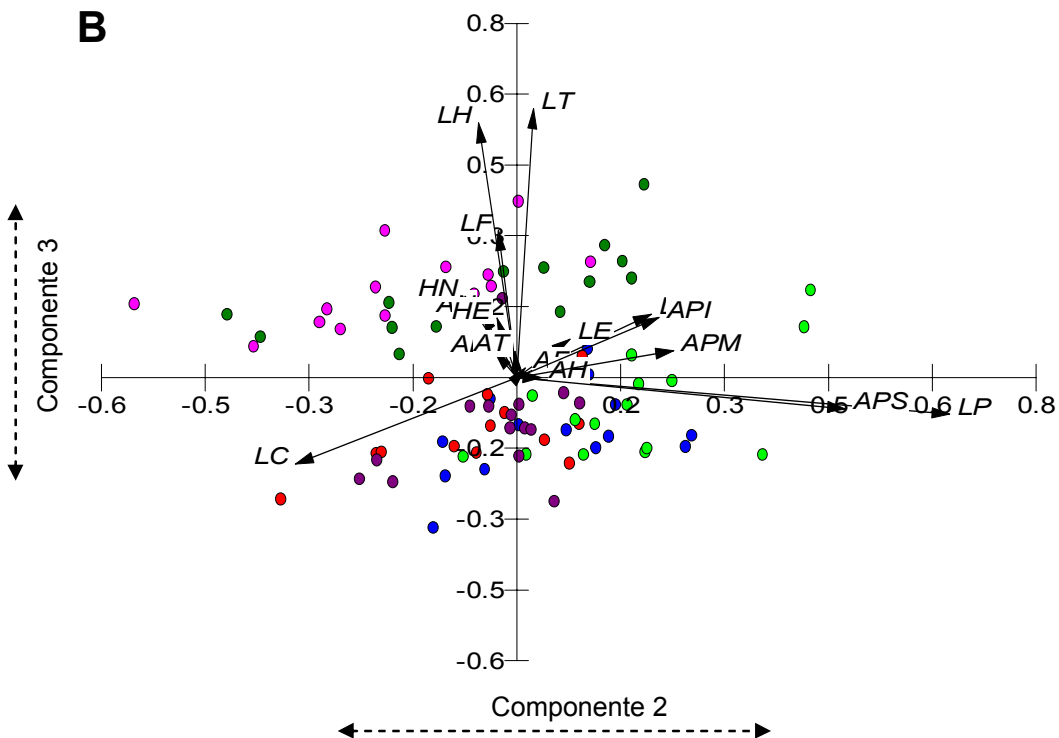
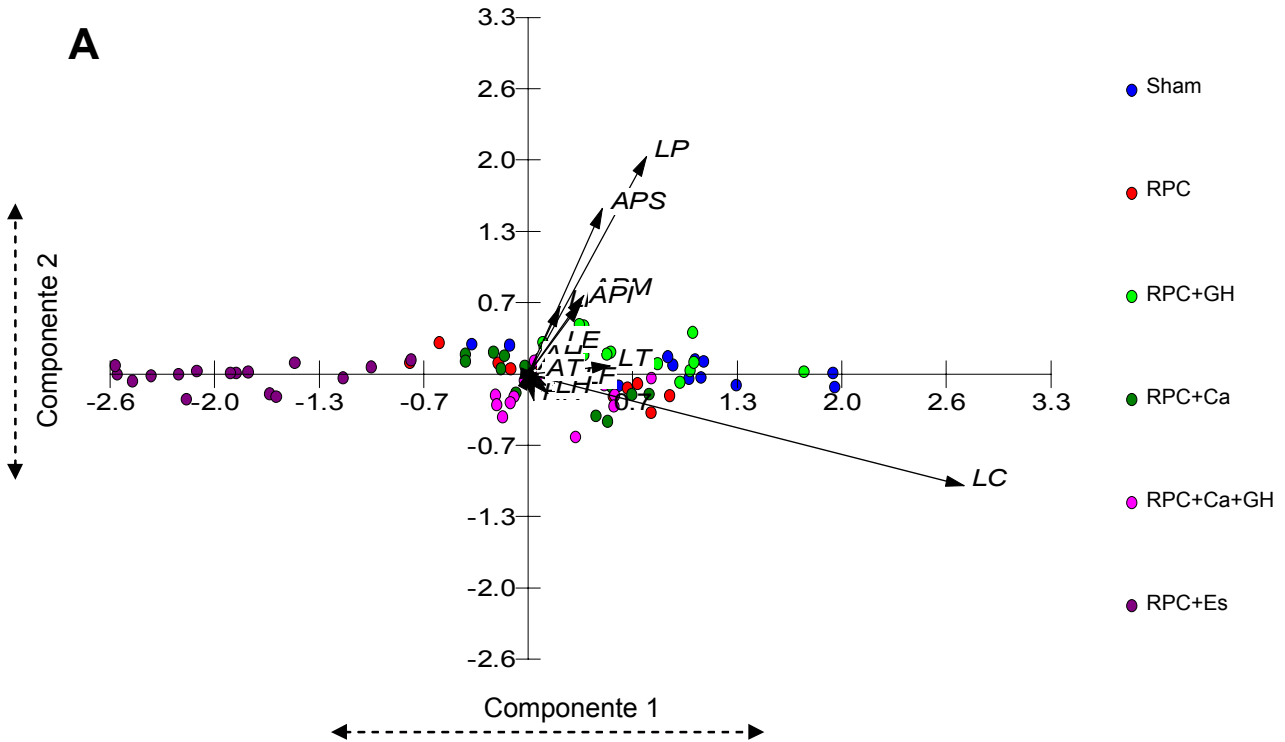


Figura 22

Análisis de Componentes Principales sin estandarizar

HEMBRAS

Comparación Sham - RPC - RPC+GH - RPC+Ca - RPC+Ca+GH - RPC+Es



# **Bibliografia Citada**

## BIBLIOGRAFIA:

- Ackland F, Stanhope R, Eyre C, Jones J, Preece MA. 1988. Physiological growth hormone secretion in children with short stature and intra-uterine growth retardation. *Horm Res* 30: 241-245.
- Adair LS, Pollitt E. 1985. Outcome of maternal nutritional supplementation: a comprehensive review of the Bacon Chow study. *Am J Clin Nutr* 41(5):948-978.
- Adlard BFP, Dobbing J. 1972. Vulnerability of developing brain. *Br J Nutr* 28: 139-143.
- Agresti A. 1996. An introduction to categorical data analysis. John Wiley & Sons. New York.
- Aguilar E.- 1992. Integración neuroendocrina, *Fisiología Humana*. Tresguerres JAF (ed). Madrid; Interamericana: 03-912.
- Albanese A, Stanhope R. 1997. Persistent short stature in children with intrauterine growth retardation: use of growth hormone treatment. *Horm Res* 48: 63-66.
- Albert DJ, Dyson EM, Walsh ML. 1986. Intermale social aggression: reinstatement in castrated rats by implants of testosterone propionate in the medial hypothalamus. *Physiol Behav* 39:555– 560.
- Albertsson-Wikland K. 1989. Growth hormone secretion and growth hormone treatment in children with intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Scand (Suppl.)* 349: 35-41.
- Alippi RM, Barceló AC, Bardi M, Friedman SM, Rio ME, Bozzini CE. 1984. Effect of protein-free diet on growth of the skeletal units of the rat mandible. *Acta Odontol Latinoam* 1: 9-13.
- Amiel-Tison C, Carbol D, Denver R, Jarreau PH, Papiernik E, Piazza PV. 2004a. Fetal adaptation to stress Part II. Evolutionary aspects; Stress-induced hippocampal damage; long-term effects on behavior; consequences on adult health. *Early Hum Dev* 78:81–94.
- Amiel-Tison C, Carbol D, Denver R, Jarreau PH, Papiernik E, Piazza PV. 2004b. Fetal adaptation to stress. Part I: acceleration of fetal maturation and earlier birth triggered by placental insufficiency in humans. *Early Hum Dev* 78:15-27.
- Amiel-Tison C, Pettigrew AG. 1991. Adaptive changes in the developing brain during intrauterine stress. *Brain Dev.* 13: 67-76.
- Antebi E, Lehmann JM, Gingold A, Nobel M. 1991. The effect of impairment of blood supply to the rat uterus. *Int J Fertil* 36: 376-378.
- Argente J, Chowen JA . 1992. Developmental regulation of somatostatin and growth hormone-releasing hormone gene expression. Regulation of growth hormone and somatic growth. De La Cruz L (ed). Amsterdam; Elsevier:81-94.

- Arya AD. 2006. Small for gestation and growth hormone therapy. *Indian J Pediatr* 73:73-78.
- Baer MJ, Harris JE. 1969. A commentary on the growth of the human brain and skull. *Am J Phys Anthropol* 30(1):39-44.
- Barker DJP. 1995. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 311:171-174.
- Barrett RL, Harris EF. 1993. Sexual dimorphism in newborns and adults. *Stud Hum Ecol* 10:23-38.
- Barrington EJ. 1975. *An Introduction to General and Comparative Endocrinology*. Clarendon Press.
- Barrington EJ. 1987. The phylogeny of the endocrine system. *Experientia Suppl* 53:137-48.
- Bassett NS, Gluckman PD. 1986. Pulsatile growth hormone secretion in the ovine fetus and neonatal lamb. *J Endocrinol* 109(3):307-312.
- Bauer MK, Breier BH, Harding JE, Veldhuis JD, Gluckman PD. 1985. The fetal somatotrophic axis during long term maternal undernutrition in sheep: evidence for nutritional regulation in utero. *Endocrinology* 136: 1250-1257.
- Bauer-Dantoin AC, Weiss J, Jameson JL. 1995. Roles of estrogen, progesterone, and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the control of pituitary GnRH receptor gene expression at the time of the preovulatory gonadotropin surges. *Endocrinology* 136(3):1014-1019.
- Baxter RC. 1990. Circulating levels and molecular distribution of the acid-labile (alpha) subunit of the high molecular weight Insuline-like growth factor binding protein complex. *J Clin Endocrinol Metab* 10:1347-1353.
- Beck B, Dollet JM, Max JP, Debry G. 1983. Relations among weight deficit, food intake and early deprivation in long-term protein malnourished rats. *Nutr Res* 3: 743-748.
- Bergman TJ, Beehner JC, Cheney DL, Seyfarth RM, Whitten PL. 2006. Interactions in male baboons: the importance of both males' testosterone. *Behav Ecol Sociobiol* 59: 480-489
- Bhasin S, Storer TW, Berman N, Callegari C, Clevenger B, Phillips J, Bunnell TJ, Tricker R, Shirazi A, Casaburi R. 1996. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N Engl J Med* 335(1):1-7.
- Blizzard RM. 1989. Control of growth: a review of the physiopathology and interrelationships of growth hormone (GH), GH releasing hormone (GHRH), insuline-like growth factor (I IGF-I), estrogen, and androgens. *Auxology* 88. Perspectives in the science of growth and development. Tanner JM (ed). Londres; Smith-Gordon; 283-292.
- Block BS, Schlafer DH, Wentworth RA. 1989. Intrauterine growth retardation and the

- circulatory responses to acute hypoxemia in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol* 161: 1576-1579.
- Bolzán A, Guimarey L, Pucciarelli H. 1993. Crecimiento y dimorfismo sexual de escolares según la ocupación laboral paterna. *Arch Latinoam Nutr* 43: 132-138.
  - Bolzán A, Guimarey LM, Norry M. 1999. Relación entre el estado nutricional de embarazadas adolescentes y el crecimiento prenatal. *Medicina (B Aires)* 59:254-258.
  - Bolzán AG, Guimarey LM. 2004. Modificación del dimorfismo sexual del peso durante la gestación en presencia de retardo de crecimiento intrauterino. Relación con factores maternos adversos preconcepcionales, concepcionales y ambientales. *Rev Chil Pediatr* 75 (2); 122-128.
  - Cabello G, Wrutniak C. 1989. Thyroid Hormone and Growth. Relationships with Growth Hormone Effects and Regulation. *Reprod Nutr Dev* 29:387-402.
  - Caíno S, Adamo P, Kelmansky D, Lejarraga H. 2002. Impacto del entrenamiento sobre el error de mediciones antropométricas. *Arch Argent Pediatr* 100(2): 110-113.
  - Camacho-Hübner C. 2002. Regulación del crecimiento prenatal: factores placentarios fetales y nutricionales. En: *Tratado de endocrinología pediátrica*, Pombo M. MacGraw-Hills. Interamericana: 222-230.
  - Carel JC, Chatelain P, Rochiccioli P, Chaussain JL. 2003. Improvement in adult height after growth hormone treatment in adolescents with short stature born small for gestational age: Results of a randomized controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 88 (4):1587-1593.
  - Carter AM. 1993. Current topic: restriction on placental and fetal growth in the guinea-pigs. *Placenta* 14:125-35.
  - Caulfield LE. 1991. Birth weight as an indicator of fetal nutritional status. En: Himes JH, (ed.): *Anthropometric Assessment of Nutritional Status*. 259-271. New York.
  - Cha CJM, Gelardi NL, Oh W. 1987. Growth and cellular composition in rats with intrauterine growth retardation: Effects of postnatal nutrition. *J Nutr* 117: 1463-1468.
  - Chagin AS, Chrysis D, Takigawa M, Ritzen EM, Sävendhal L. 2006. Locally produced estrogen promotes fetal rat metatarsal bone growth; an effect mediated through increased chondrocyte proliferation and decreased apoptosis. *J Endocrinol* 188(2):193-203.
  - Chanez C, Tordet-Caridroit C, Roux JM. 1971. Studies on experimental hypotrophy in the rat. II. Development of some liver enzymes of gluconeogenesis. *Biol Neonate* 18:58-65.
  - Charlton V, Johengen M. 1987. Fetal intravenous nutritional supplementation ameliorates the development of embolization - induced growth retardation in the sheep. *Pediatr Res* 22:55-61.

- Chatelain P. 2000. Children born with intra-uterine growth retardation (IUGR) or small for gestational age (SGA): long term growth and metabolic consequences. *Endocr Regul* 34(1):33-6.
- Chaussian JL, Colle M, Landier F. 1994. Effects of growth therapy in prepuberal children with short stature to intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Scand Suppl* 399: 74-75.
- Chow JVM, Lean JM, Chambers TJ. 1992. 17 Eestradiol stimulates cancellous bone formation in female rats. *Endocrinology* 130:3025-3032.
- Chowen JA, Fragol LM, Argente J. 2004. The regulation of GH secretion by sex steroids. *Eur J Endocrinol* 151:95-100.
- Chowen JA, Garcia-Segura LM, Gonzalez-Parra S, Argente J. 1996. Sex steroids effects on the development and functioning of the growth hormone axis. *Cell Mol Neurobiol*. 16(3):297-310.
- Christesen HB, Jensen RB, Birkebaek NH, Hertel NT, Main KM, Mortensen HB, Naeraa RW, Juul A. 2006. Growth hormone treatment of short children born small for gestational age. (Article in Danish). *Ugeskr Laeger* 68(9):889-895.
- Clapp JF 3rd , McLaughlin MK, Gellis J, Hemphill C, Catalano PM. 1984. Regional distribution of cerebral blood flow in experimental intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1;150(7):843-6.
- Clark R, Carlsson L, Mortensen D, Cronin M 1994 Additive effects on body growth of insulin-like growth factor-I and growth hormone in hypophysectomized rats. *Endocrinology and Metabolism* 1:64–69
- Clark RG, Robinson IC. 1985. Growth induced by pulsatile infusion of an amidated fragment of human growth hormona releasing factor in normal and GHRF-defiient rats. *Nature* 314: 281–283.
- Clinchy M Krebs CJ, Jarman PJ. 2001. Dispersal sinks and handling effects: interpreting the role of immigration in common brushtail possum populations. *J Anim Ecol* 70: 515-526.
- Conover WJ. 1998. *Practical nonparametric statistics*. John Wiley & Sons. 3rd. ed. New York.
- Cooper C, Fall C, Egger P, Hobbs R, Eastell R, Barker D. 1997. Growth in infancy and bone mass in later life. *Ann Rheum Dis* 56:17–21.
- D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE. 1984. Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:935–939.

- D'Ercole AJ. 1996. Insuline-like growth factor and their receptors in growth. *Endocrinol Metab Clin North Am* ; 25:573-590.
- Dahinten SL, Pucciarelli HM, Moreno FR. 1988. Effect of Gonadal Activity on the cranial dimorphism of the rat. *Acta Anat* 132:324-326.
- Dahinten SL, Pucciarelli HM. 1986. Variations in sexual dimorphism in the skulls of rats subjected to malnutrition, castration, and treatment with gonadal hormones. *Am J Phys Anthropol* 71:63-67.
- Daughaday WH, Hall K, Raben MS, Salmon WD Jr, Van den Brande JL, Van Wyk JJ. 1972. Somatomedin proposed designation for sulphation factor. *Nature* 235 107.
- De Ruijter AJM, Van Gennip AH, Caron HN, Kemp S, Van Kuilenburg ABP. 2003. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J* 370: 737-749.
- de Zegher F, Maes M, Heinrichs C, Thiry G, Du Caju MVL, De Schepper J, Craen M, Chanoine JP, Doms L, Malvaux P. 1994. High dose growth hormone therapy for short children born small for gestational age. *Acta Paediatr Scand Suppl* 399: 77-83.
- de Zegher F, Wikland KA, hartmut A Chatelain P, Chaussain J, Lofstrom A, Jonsson B, Rosenfeld R. 2000. Growth hormone treatment of short children born small for gestational age: growth responses with continuous an discontinuous regimens over 6 years. *J Clin Endocrinol Metab* 85(8): 2816-21; 88:3587-90.
- Delemarre- Van De Wall HA, Van Coeverden SC, Engelbregt MT. 2002. Factors affecting onset of puberty. *Horm Res* 57 (2): 15-18.
- Desai M, Hales CN. 1997. Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life. *Biol Rev Camb Philos Soc* 72 :329-348.
- Diéguez C, Pinilla L, Aguilar E. 2002. Integración neuroendócrina y regulación de la secreción hormonal hipotalámica. En: Pombo M (ed.). *Tratado de endocrinología pediátrica*. MacGraw-Hills. Interamericana: 222-230.
- Dowell RT, Kauer CD. 1997. Maternal hemodynamics and uteroplacental blood flow throughout gestation in consorcious rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 19:613-625.
- Dressino V, Orden B, Oyhenart EE (2002). Sexual responses to intrauterine stress: body and brain growth. *Clin Exp Obstet & Gynecol* 29: 100-102.
- Drop SL, De Wall WJ, De Muinch Keizer-Schrama SM. 1998. Sex steroid treatment of constitutionally tall stature. *Endocr Rev* 19:540-558.
- Dufty AM, Clobert J, Moller AP. 2002. Hormones, developmental plasticity and adaptation. *Trends Ecol Evol* 17(4):190-196.

- Duran P. 2004. Nutrición Temprana y Enfermedades en la Edad Adulta. Arch Argent Pediatr 102 (1):26-33.
- Durst-Zivkovic B. 1977. Dietary restriction and fetal development. Experientia 33:1371.
- Eden S. 1979. Age- and sex-related differences in episodic growth hormone secretion in the rat. Endocrinology 105:555–560.
- Emmanouilides GC, Townsend DE, Bauer RA. 1968. Effect of single umbilical artery ligation in the lamb fetus. Pediatrics 42:919-27.
- Encarnación-Guevara S. 2006. Genómica y genómica funcional en microbiología. Rev Latinoam Microbiol 48(2):131-145.
- Engelbregt MJ, Houdijk ME, Popp-Snijders C, Delemarre-van de Waal HA. 2000. The effects of intra-uterine growth retardation and postnatal undernutrition on onset of puberty in males and females rats. Pediatr Res 48(6):803-807.
- Engelbregt MJ, van Weissenbruch MM, Lips P, van Lingen A, Roos JC, Delemarre-van de Waal HA. 2004. Body composition and bone measurements in intra-uterine growth retardation and early postnatally undernourished male and female rats at the age of 6 months comparison with puberty. Bone 34:180-186.
- Eriksson JG, Forsén T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker DJP. 2001. Early growth and coronary heart disease in later life: longitudinal study. BMJ 322:949-953
- Eriksson JG, Forsén T, Tuomilehto J, Winter PD, Osmond C, Barker DJP. 1999. Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study. BMJ 318:427-431
- Evans HM and Long JH. 1921. The effect of anterior lobe administered intraperitoneally upon growth, maturity and olfactory cycles of rat. Anat Rec 21:62–63.
- Ferry RJ, Cerri RW, Cohen P. 1999. Insuline-like growth factors binding proteins: New proteins, new functions. Horm Res 51:53-67.
- Fisher Sir RA. 1936. The use of multiple measurements. Ann Eugen 7: 179–188.
- Fodor M (*comunicación personal*): Dr. Mariann Fodor, Department of Pediatrics, VU University Medical Center. POBox 7057. 1007 MB Amsterdam.
- Fodor M, Oudejans CB, Delemarre-van de Waal HA. 2001. Absence of androgen receptor in the growth hormone releasing hormone-containing neurones in the rat mediobasal hypothalamus. J Neuroendocrinol 13(8):724-727.
- Forsén T, Eriksson JG, Tuomilehto J, Osmond C, Barker DJP. 1999. Growth in utero and during childhood among women who develop coronary heart disease: longitudinal study BMJ 319:1403-1407.

- Francis DD, Meaney MJ. 1999. Maternal care and the development of stress responses. *Curr Opin Neurobiol* 9:128-134.
- Franz AG, Rabkin MT. 1965. Effects of estrogen and sex difference on secretion of growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 25:1470-1480.
- Froesch ER, Guler HP, Schmid C, Binz K, Zapt J. 1990. Therapeutic potential of insulin like growth factor-I. *Trends Endocrinol Metab* 1:254–260.
- Frost HM (1). 2000. Why the ISMNI and the Utah paradigm? Their role in skeletal and extraskeletal disorders. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 1:5-9.
- Frost HM (2). 2000. Muscle, bone, and the Utah paradigm: a 1999 overview. *Med Sci Sports Exerc* 32(5):911-7.
- Frost HM. 1998. Changing concepts in skeletal physiology: Wolff's law, the mechanostat, and the "Utah paradigm". *Am J Hum Biol* 10:599-605.
- Fryklund LM, Bierich JR, Ranke MB. 1986. Recombinant human growth hormone. En: Savage, M.O.; Randall, R.A. (ed.). *Clin Endocrinol Metab (Growth disorders)*. W.B. Saunders Company, London, 15: 511-535.
- Gale CR, Martyn CN, Kellingray S, Eastell R, Cooper C. 2001. Intrauterine programming of adult body composition. *JCE & M.* 86(1):267-272.
- Garagorri JM. 2002. Retraso del crecimiento intrauterino. En: *Tratado de endocrinología pediátrica*, Pombo M. MacGraw-Hills. Interamericana :312-336
- Geary MPP, Pringle PJ, Rodeck CH, Kingdom JCP, Hindmarsh PC. 2003. Sexual Dimorphism in the Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor Axis at Birth. *J Clin Endocrinol Metab* 88(8):3708–3714
- German JB, Bauman DE, Burrin DG, Failla ML, Freake HC, King JC, Klein S, Milner JA, Peltó GH, Rasmussen KM, Zeisel SH. 2004. Metabolomics in the opening decade of the 21st century: building the roads to individualized health. *J Nutr* 134:729-2732.
- Gevers EF, Wit JM, Robinson ICAF. 1995. Effect of gonadectomy on growth and GH responsiveness in dwarf rats. *J Endocrinol* 145:69-79.
- Giometti CS. 2003. Proteomics and bioinformatics. *Adv Protein Chem* 65:353-369.
- Glockner R, Schroter U, Benecke A, Benecke I. 1992. Delayed fetal development in two models of disturbed pregnancy of rats. *Exp Toxic Pathol* 44(7):371-373.
- Gluckman PD, Hanson MA. 2006. Evolution, development and timing of puberty. *Trends Ecol Evol* 17(1):7-12.
- Gluckman PD. 1995. The endocrine regulation of fetal growth in late gestation: the role of insulin-like growth factors. *J Clin Endocrinol Metab* 80:1047-1050.

- Godfrey KM, Barker DJP. 2000. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr Suppl* 71:1344-1352.
- Gonzalez-Parra S, Argente J, Garcia-Segura LM, Chowen JA. 1998. Cellular composition of the adult rat anterior pituitary is influenced by the neonatal sex steroid environment. *Neuroendocrinology* 68(3):152-162.
- Gonzalez-Parra S, Chowen JA, Garcia-Segura LM, Argente J. 1996. In vivo and in vitro regulation of pituitary transcription factor-1(Pit-1) by changes in the hormone environment. *Neuroendocrinology* 63:3–15.
- Goossens M, Brauner R, Czernichow P, Dureusnoy P, Rappaport R. 1986. Isolated growth hormone deficiency type 1A associated with a double deletion in the human growth hormone gene cluster. *J Clin Endocrinol Metab* 62:712–716.
- Grandi C, Tapia J, Marshall G. 2005. Evaluación de la severidad, proporcionalidad y riesgo de muerte de recién nacidos de muy bajo peso con restricción del crecimiento fetal. Análisis multicéntrico Sudamericano. *J Pediatr (Rio J)* 81(3): 198 – 204.
- Grandi C. 2003. Relación entre la antropometría materna y la ganancia de peso gestacional con el peso de nacimiento, y riesgos de Peso Bajo al Nacer, Pequeño para la Edad Gestacional y Prematurez en una población urbana de Buenos Aires. *Arch Latinoamer*
- Grumbach MM. 2000. Estrogen, bone, growth and sex: a sea change in conventional wisdom. *J Pediatr Endocrinol Metabol* 13(6):1439-1455.
- Grunt JA, Enriquez AR, Daughaday WH. 1972. Acute long-term response to hGH in children with idiopathic small-for-dates dwarfism. *J. Clin. Endocr. Metab.* 35: 157-168.
- Guimarey LM, Oyhenart EE, Fucini MC, Quintero FA. 1999. Growth hormone effects on rats with intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Supl* (428) 88:139.
- Guimarey LM, Oyhenart EE, Quintero FA, Fucini MC. 2003. Body weight recovery in intrauterine growthretarded rats treated with growth hormone. *Clin Exp Obstet & Gynecol.* 30(1): 51-56.
- Guler HP, Zapf J, Scheiwiller E, Froesch ER 1988 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
- Haas JD, Balcazar H, Caulfield L. 1987. Variation in early neonatal mortality for different types of fetal growth retardation. *Am J Phys Anthropol* 73: 467-473.
- Hadlock FP, Harrist RB, Martinez-Poyer J. 1991. In utero analysis of fetal growth: a sonographic weight standard. *Radiology* 129-181
- Hales CN. 1997. Metabolic consequences of intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr.*

Suppl.423:184-187.

- Hamilton W. 1979. What can be expected from growth hormone therapy?. Arch Dis Child 54: 971-972.
- Harkness JE, Wagner JE. 1980. Biología clínica de conejos y roedores. Acribia. Zaragoza.
- Hayashida T, Contopoulos AN. 1967. Immunological studies with rat pituitary growth hormone. I. Basic studies with immunodiffusion and antihormone tests. Gen Comp Endocrinol 9(2):217-26.
- Hayashida T, Farmer SW, Papkoff H. 1975. Pituitary growth hormones: Further evidence for evolutionary conservatism based on immunochemical studies. Proc Nat Acad Sci 72 (11): 4322-4326.
- Hayashida T. 1970. Immunological studies with rat pituitary growth hormone (RGH). II. Comparative immunochemical investigation of GH from representatives of various vertebrate classes with monkey antiserum to RGH. Gen Comp Endocrinol 15:432-452.
- Hermanussen M, Rol De Lama MA, Romero AP, Ruiz CA, Burmeister J, Tresguerres JAF. 1996. Differential catch up in body weight and bone growth after short-term starvation in rats. Growth. Regul Growth Regul 6(4):230-237.
- Hernandez Rodriguez M. 2002. El patron de crecimiento humano y su evaluación. En: Tratado de Endocrinología Pediátrica. Pombo M. MacGraw-Hills. Interamericana :245-274.
- Hill DE. 1984. Experimental alteration of fetal growth in animals. Mead Johnson Symp Perinat Dev Med (23):29-36. Review.
- Hinchliffe SA, Lynch MR, Sargent PH, Howard CV, Vanlzen D. 1992. The effect of intrauterine growth retardation on the development of renal nephrons. Br J Obstet Gynecol 99: 296-301.
- Hindmarsh PC, Geary MP, Rodeck CH, Kingdom JC, Cole TJ. 2002. Intrauterine growth and its relationship to size and shape at birth. Pediatr Res 52(2):263-268.
- Hobbins J. 1997. Morphometry and fetal growth. Paediatr Suppl 423:165-168.
- Hohenhauer L, Oh W. 1969. Body composition in experimental intrauterine growth retardation in the rat. J Nutr 99:23-26.
- Hokken-Koelega AC, Stijnen T, de Muinck Keizer-Schrama SM, Wit JM, Wolff ED, de Jong MC, Donckerwolcke RA, Abbad NC, Bot A, Blum WF, et al.. 1991. Placebo-controlled, double-blind, cross-over trial of growth hormone treatment in prepubertal children with chronic renal failure. Lancet 7;338(8767):585-590.
- Hokken-Koelega AC. 2002. Timing of puberty and fetal growth. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 16(1): 65-71.

- Holder AT, Spencer EM, Preece MA 1981 Effect of bovine growth hormone and a partially pure preparation of somatomedin on various growth parameters in hypopituitary dwarf mice. *J Endocrinol* 89:275–282
- Holder AT; Clark RG; Preece MA. 1983. Prolonged oestrogen treatment inhibits growth-hormone-induced growth in hypopituitary dwarf mice. *J Endocrinol* 96:451-456
- Holt RI, Byrne CD. 2002 Intrauterine growth, the vascular system, and the metabolic syndrome. *Semin Vasc Med* 2(1):33-43
- Hotelling H. 1933. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *J Educ Psychol* 24:417- 498.
- Houdijk EC, Engelbregt MJ, Popp-Snijders C, Delemarre van der Waal HA. 2000. Endocrine regulation and extended follow up of longitudinal growth in intrauterine growth-retarded rats. *J Endocrinol* 166(3):599-608.
- Houdijk ME, Engelbregt MT, Popp-Snijders C, Delemarre van der Waal HA. 2003. Long-term effects of early postnatal food restriction on growth hormone secretion in rats. *J Parenter Enteral Nutr* 27(4):260-267.
- Hughes PCR and Tanner JM 1970. A longitudinal study of the growth of the black-hooded rat: methods of measurement and rates of growth for skull, limbs, pelvis, nose-rump and tail length. *J Anat* 106:349-370.
- Huizinga CT, Engelbregt MJT, Rekers-Mombarg LMT, Vaessen SFC, Delemarre-van der Waal HA, Fodor M. 2004. Ligation of the uterine artery and early postnatal food restriction. Animals models for growth retardation. *Horm Res* 62(5):233-240.
- Hume CW. 1976. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals*. Churchill Livingstone. Edinburgh, London and New York.
- Inaloz HS, Sari I, Inaloz SS, Bayhan G, Unal B, Yayla M, Eralp A, Yuncu M. 2000. Effects of unilateral uterine artery ligation on skin development. *Clin Exp Obstet & Gynecol* 27(3-4):218-220.
- Isaacs N, James R, Niall H, Bryant-Greenwood G, Dodson G, Evans a, North AC. 1978. Relaxin and its structural relationship to insuline. *Nature* 271:278-281.
- Jackson JE. 2003. *A User`s Guide to Principal Components*. John Wiley & Sons INC. New York.
- Jaffe CA, Ocampo-Lim B, Guo W, Krueger K, Sugahara I, DeMott-Friberg R, Bermann M, Barkan AL. 1998. Regulatory Mechanisms of Growth Hormone Secretion Are Sexually Dimorphic. *J Clin Invest* 102(1):153-164.
- Jaffe CA, Turgeon DK , Lown K, Demott-Friberg R, Watkins PB. 2002. Growth hormone

- secretion pattern is an independent regulator of growth hormone actions in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283:1008-1015.
- Jansson JO, Eden S and Isaksson O. 1983. Sites of action of testosterone and estradiol on longitudinal bone growth. *Am J Physiol* 244:135-140.
  - Jansson JO, Eden S, Isaksson O. 1985. Sexual dimorphism in the control of growth hormone secretion. *Endocrine Rev* 6:128-150.
  - Jansson T, Thordstein M, Kjellmer I. 1986. Placental blood flow and fetal weight following uterine artery ligation. Temporal aspects of intrauterine growth retardation in the guinea pig. *Biol Neonate* 49(3):172-80.
  - Job JC. 1992. El retraso de crecimiento de origen intrauterino. *An Esp Pediatr* 36:109-112.
  - Johnson DE. 2001. *Metodos multivariados aplicados al análisis de datos*. International Thompson Editores.
  - Juul A. 2001. The effects of oestrogens on linear growth. *Hum Reprod Update*. 7(3):303-313.
  - Kamp GA, Waelkens JJ, de Muinck Keizer-Schrama SM, Delemarre- Van der Waal HA, Verhoeven- Wind L, Zwinderman AH, Wit JM. 2002. High dose growth hormone treatment induces acceleration of skeletal maturation and an earlier onset of puberty in children with idiopathic short stature. *Arch Dis Child* 87(3):215-20.
  - Karlberg J and Albertsson-Wikland K. 1995. Growth in full-term small-for-gestational-age infants: from birth to final height. *Pediatr Res* 38(5):733-739.
  - Karlberg J, Albertsson-Wikland K, Baber FM, Low LC, Yeung CY. 1996. Born small for gestational age: consequences for growth. *Acta Paediatr Suppl* 417:8-13.
  - Kawaguchi H, Hattori M, Ito K. 1997. Somatic and renal effects of growth hormone in rats with chronic renal failure *Pediatr Nephrol* 11: 280– 284.
  - Keenan BS, Richards GE, Ponder SW, Dallas JS, Nagamani M, Smith ER. 1993. Androgen-stimulated pubertal growth: the effects of testosterone and dihydrotestosterone on growth hormone and insulin-like growth factor-I in the treatment of short stature and delayed puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 996-1001.
  - Keith MG, Barker DJP. 2000. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr Suppl* 71:1344–1352.
  - Kersting M, Sichert Hellert W, Lausen B, Alexy U, Manz F, Schoech G. 1998. Energy intake of 1 to 18-year-old German children and adolescents. *Z Ernährungswiss* 37:47-55.
  - Ketterson ED, Nolan V, Cawthorn MJ, Parker PG, Ziegenfus C. 1996. Phenotypic engineering: using hormones to explore the mechanisms and functional bases of phenotypic

variation in nature. *Ibis* 138:70-86.

- Ketterson ED, Nolan V, Jr. 1999. Adaptation, exaptation, and constraint: a hormonal perspective. *Am Nat* 154:4-25
- Khosla S, Melton LJ 3rd, Riggs BL. 2002 . Clinical review: Estrogen and the male skeleton. *Clin Endocrinol Metab* 87(4):1443-1450.
- Kim YK, Han JW, Woo YN, Chun JK, Yoo JY, Cho EJ, et al. 2003. Expression of p21(WAF1/Cip1) through Sp1 sites by histone deacetylase inhibitor apicidin requires PI 3-ki-nase- PKC epsilon signaling pathway. *Oncogene* 22: 6023–6031.
- Kolleé LAA, Monnens LAH, Trijbels JMF, Veerkamp JH, Janssen AJM. 1979. Experimental intrauterine growth retardation in the rat. Evaluation of the Wigglesworth model. *Early Hum Dev* 3(3): 295-300.
- Koski KG, Hill FW, Hurley LS. 1986. Effect of low carbohydrate diets during pregnancy on embryogenesis and fetal growth and development in rats. *J Nutr* 116: 1922-1937.
- Kosugiyama M, Mori J, Nagasawa H. 1971. Production of monkey antiserum against mouse growth hormone. *Endocrinol Jpn* 18(4):371-4.
- Kupfer SR, Underwood LE, Baxter RC, Clemmons DR. 1993. Enhancement of the anabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor I by use of both agents simultaneously. *J Clin Invest* 91:391–396
- Lagueux M, Lwoff L, Meister M, Goltzene F, Hoffmann JA. 1990. cDNAs from neurosecretory cells of brains of *lacusta migratoria* (Insecta ,Orthoptera) encoding a novel member of the superfamily of insulins. *Eur J Biochem* 187:249-254.
- Laron Z, Anin S, Klipper-Aurbach Y, Klinger B. 1992. Effects of insulin-like growth factor on linear growth, head circumference, and body fat in patients with Laron-type dwarfism. *Lancet* 339:1258–1261.
- Latini G, De Mitri B, Del Vecchio A, Chitano G, De Felice C, Zetterstrom R. 2004. Foetal growth of kidneys, liver and spleen in intrauterine growth restriction: "programming" causing "metabolic syndrome" in adult age. *Acta Paediatr* 93(12):1635-9.
- Le Roid D, Werner H, Beitner-Johnson D, Roberts CTjr. 1995. Molecular and cellular aspects of the insuline-like growth factor I receptor. *Endocr Rev* 16:143-163.
- Le Roith DL. 1997. Insuline-like growth factors. *N Engl J Med* 336:636-640.
- Lechner AJ. 1987. Interaction of prenatal starvation and dexametasone treatment on lung development in newborn guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 135(5):991-6.
- Lejarraga H, Sola HA. 1977. Compensatory growth in children with intrauterine growth retardation of different etiologies. *Bol Med Hosp Infant Mex* 34(6):1155-1169.

- Levitsky, L; Kimber, A. Marchichow JA, Uchara, J. 1977. Metabolic response to fasting in experimental growth retardation induced by surgical and non surgical maternal stress. *Biol. Neonate* 31: 311-315.
- Li CH and Evans HM. 1944 The isolation of pituitary growth hormone; *Science* 99:183–184.
- Lienhardt A, Carel JC, Preux PM, Coutant R, Chausian JL. 2002. Amplitude of puberal growth in short stature children with intrauterine growth retardation. *Horm Res* 57(2): 88-94
- Lison L. 1968. *Statistique appliquée à la biologie expérimentale*. Gauthier-Villars. Paris.
- Liu JL, Shoshana Y, Leroith D. 2000. Mice deficient in liver production of insulin-like growth factor I display sexual dimorphism in growth. *Endocrinology* 141:4436-4441.
- Low LCK, Tam SYM, Kwan EYW, Tsang AMC, Karlberg J. 2001. Onset of significant GH dependence of serum IGF-I and IGF-binding protein 3 concentrations in early life. *Pediatr Res* 50:737–742.
- MacLusky NJ, Naftolin F. 1981. Sexual differentiation of the central nervous system. *Science* 211(Issue 4488):1294-1302.
- Matsushita K, Shinoda K, Akiyoshi T, Watanabe H. Tohoku J. 1995. Multivariate analysis of limb long bone growth during the human prenatal period. *Exp Med* 176(2):109-20.
- Mauras N. 2001. Growth hormone and sex esters. Interactions in puberty. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30(3): 529-544.
- McCuker RH, 1998. Controlling Insuline-Like Growth Factor Activity and the Modulation of Insuline-Like Growth Factor Binding Protein and Receptor Binding. *J Dairy Sci* 81:1790-1800.
- McEwen BS. 1997. Hormones as regulators of brain development: life-long effects related to health and disease. *Acta Paediatr Suppl* 422:41-44.
- McMillen IC, Adams MB, Ross JT, Coulter CL, Simonetta G, Owens JA, Robinson JS, Edwards LJ. 2001. Fetal growth restriction: adaptations and consequences. *Reproduction* 122(2):195-204.
- Mehta G, Roach HI, Langley-Evans S, Taylor P, Reading I, Oreffo ROC, et al. 2002. Intrauterine exposure to a maternal low protein diet reduces adult bone mass and alters growth plate morphology in rats. *Calcif Tissue Int* 71:493-498.
- Mello MAR, Cury L, Valle LBS, Oliveira-Filho RM. 1987. Pregnancy in young rats: Effects of malnutrition. *Nutr Rep Int* 36: 527-535.
- Miller JD, Esparza A, Wright NM, Garimella V, lai J, Lester SE, Mosier HD 1993

- Spontaneous growth hormone release in term infants: changes during the first four days of life. *J Clin Endocrinol Metab* 76:1058–1062.
- Milner RDG, Preece MA, Tanner JM. 1980. Growth in height compared with advancement in skeletal maturity in patients treated with human growth hormone. *Arch Dis Child*. 55:461-466.
  - Monaghan E, Glickman S. 1993. Hormones and aggressive behavior. In: Becker J, Breedlove S, Crews D (eds.) *Behavioral endocrinology*. MIT Press. Cambridge, Massachusetts.
  - Mood AM, Graybill FA. 1978. *Introducción a la teoría de la estadística*. 4ta Ed. Aguilar. Madrid.
  - Mora JO, de Paredes B, Wagner M, de Navarro L, Suescun J, Christiansen N, Herrera MG. 1979. Nutritional supplementation and the outcome of pregnancy. I. Birth weight. *Am J Clin Nutr* 32(2):455-62.
  - Morishima A, Grumach MM, Bilezikian JP. 1997. Estrogen markedly increases bone mass in an estrogen deficient young man with aromatase deficiency. *J Bone Miner Res Suppl* 12(1):S126.
  - Moroney MJ. 1970. *Hechos y estadística*. Eudeba. Buenos Aires.
  - Morreale de Escobar E, Escobar del Rey F. 2002. Hormonas tiroideas durante el desarrollo fetal: comienzo de la función tiroidea y transferencia maternofetal. En: *Tratado de endocrinología pediátrica*, Pombo M. MacGraw-Hills. Interamericana :152-185.
  - Moss ML & Young RW. 1960. A functional approach to craniology. *Amer J Phys Anthropol* 18:281-292.
  - Moss ML. 1954. Growth of the calvaria in the rat; the determination of osseous morphology. *Am J Anat* 94(3):333-61.
  - Münzer T, Harman SM, Hees P, Shapiro E, Christmas C, Bellantoni MF, Stevens TE, O'Connor KG, Pabst KM, Clair CST, Sorkin JD, Blackman MR. 2001. Effects of GH and/or Sex Steroid Administration on Abdominal Subcutaneous and Visceral Fat in Healthy Aged Women and Men. *J Clin Endocrinol Metab* 86(8):3604–3610.
  - Nanney DL. 1958. Epigenetic control system. *Proc Natl Acad Sci USA* 44(7):712-717
  - Nilsson O, Marino R, De Luca F, Phillip M, Baron J. 2005. Endocrine Regulation of the Growth Plate. *Horm Res* 64:157–165.
  - Nitzan M, Groffman H. 1971. Metabolic changes in experimental intrauterine growth retardation: blood glucose and liver glycogen in dysmature and premature newborn rats. *Israel J Med Sci* 6:696-702.

- Nutr 53 : 369-375.
- Ogata ES, Bussey ME, Labarbera A, Finley S. 1985. Altered growth, hypoglycemia, and ketonemia in the young rat: postnatal consequences of intrauterine growth retardation. *Pediatr Res* 19:32-37.
- Ogata ES, Swanson SL, Collins JW, Finley SL. 1990. Intrauterine growth retardation: altered hepatic energy and redox states in the fetal rat. *Pediatr Res* 27: 56-63.
- Ogawa E, Breier BH, Fujiwara I, Inuma K. 2000. Gonadal suppression by a GnRH analogue does not alter somatic growth in rats with complete GH deficiency. *J Endocrinol* 166:355-361.
- Ogilvy-Stuart AL, Hands SJ, Adcock CJ, Holly JM, Matthews DR, Mohammed Ali V, Yudkin JS, Wilkinson AR, Durger DB. 1998. Insulin, insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-binding protein-1, growth hormone, and feeding in the newborn. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3550–3557.
- Ohkawa T, Rohde W, Takeshita S, Dorner G, Arai K, Okinaga S. 1991. Effect of an acute maternal stress on the fetal hypothalamo-pituitary-adrenal system in late gestational life of the rat. *Exp Clin Endocrinol* 98: 123-129.
- Ojeda SR, Bilger M. 1999. Neuroendocrine regulation of puberty. En: *Neuroendocrinology in physiology and medicine*. Conn P, Freeman M (ed). Humana Press. Totowa, NY: 197-224.
- Ojeda SR. 2002. Pubertad normal. En: *Tratado de endocrinología pediátrica*, Pombo M. MacGraw-Hills. Interamericana: 222-230.
- Orden AB, Pucciarelli HM, Muñe MC, Guimarey LM, Villanueva ME, Rodriguez R, Pons ER. 1998. Efecto de las hormonas gonadales sobre el dimorfismo sexual en sustrato de desnutrición. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 48(3):157-163.
- Orden AB, Pucciarelli HM, Muñe MC, Guimarey LM, Villanueva ME, Rodriguez R, Pons, ER. 1999. Influencia de la desnutrición sobre el tamaño y la forma del craneo de la rata wistar. *Revista Argentina de Antropología Biológica* 2(1):151-162.
- Ornoy A, Giron S, Aner R, Goldstein M, Boyan BD, Schwartz Z. 1994. Gender dependent effects of testosterone and 17 beta-estradiol on bone growth and modelling in young mice. *Bone Miner* 24(1):43-58.
- Oyhenart EE, Guimarey LM, Fucini MC, Quintero FA, Orden B. 2002. Effects of bilateral uterine vessel ligation on skeletal growth in rats. *Clin Exp Obstet & Gynecol* 29:121-125.
- Oyhenart EE, Guimarey LM, Quintero FA, Fucini MC, Orden AB. 2003. Efecto de la hormona del crecimiento sobre el retardo prenatal del crecimiento. En: Ma. Pilar Aluja,

- Asunción Malgosa y Ramón M. Nogués (eds.). *Antropología y Biodiversidad*. Editorial Bellatera. España :455-461.
- Oyhenart EE, Muñe MC, Pucciarelli HM. 1996. Influencia de la malnutrición intrauterina tardía sobre el crecimiento corporal y el desarrollo craneofacial al nacimiento. *Revista Argentina de Antropología Biológica* 1(1):113-126.
  - Oyhenart EE, Muñe MC, Pucciarelli HM. 1998. Influence of intrauterine blood supply on cranial growth and sexual dimorphism at birth. *Growth, Develop & Aging*. 62:187-198.
  - Oyhenart EE, Pucciarelli HM. 1991. The influence of gonadic hormones on skull differences in rats malnourished during lactation. *APPTLA* 41:287-293.
  - Oyhenart EE, Pucciarelli HM. 1992. Sexual cranial dimorphism in malnourished rats treated with growth hormone. *Growth Develop & Aging* 56:179-184.
  - Oyhenart EE. Estudio experimental del dimorfismo craneano racial y sexual y su alteración por efecto del mestizaje. Tesis Doctoral Número 0533. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, 1988.
  - Papp Z, Fekete T. 2003. The evolving role of ultrasound in obstetrics/gynecology practice. *Int J Gynaecol Obstet* 82(3):339-346.
  - Pazos F, Sánchez-Franco F, Balsa A, Escalada J, Palacios N, Cacicedo L. 2000. Mechanisms of Reduced Body Growth in the Pubertal Feminized Male Rat: Unbalanced Estrogen and Androgen Action on the Somatotropic Axis. *Ped Res* 48(1):96-103.
  - Pearson K. 1901. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *The London, Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*. Sixth Series 2:559-572.
  - Perez-Escamilla R, Pollitt E. 1992. Causas y consecuencias del retraso del crecimiento intrauterino en América Latina. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*, 112(6):473-493
  - Phillip M, Maor G, Assa S, Silbergeld A, Segev Y. 2001. Testosterone stimulates growth of tibial epiphyseal growth plate and insulin-like growth factor-1 receptor abundance in hypophysectomized and castrated rats. *Endocrine* 16(1):1-6.
  - Polani PE. 1974. Chromosomal and other genetic influences on birth weight variation. *Size at birth*. Elliot K, Knight J (eds.). Elsevier-Excerpta Medica, Amsterdam :127-159.
  - Preece MA. 1997. Puberty in children with intrauterine growth retardation. *Horm Res* 48(1):30-2.
  - Pryce CR, Feldon J. 2003. Long – term neurobehavioral impact of the postnatal environment in rats: manipulation, effects and mediating mechanism. *Neurosci Biobehav*

Rev 27:57-71.

- Pucciarelli HM. 1974. The influence of experimental deformation on neurocranial Wormian bones in rats. *Am J Phys Anthropol* 41(1):29-37.
- Pucciarelli HM. 1981. Growth of the functional components of the rat skull and its alteration by nutritional effects. A multivariate analysis. *Am J Phys Anthropol* 56 (1):33-41.
- Pucciarelli, HM; Neves WA. 1993a. Diferenciación entre tamaño y forma en las comparaciones de craneología multivariada. *Bol Soc Esp Antrop Biol* 14: 122-133.
- Pucciarelli H, Carnese F, Pinotti L, et al. 1993b. Sexual dimorphism in schoolchildren of the Villa IAPI neighborhood (Quilmes, Argentina). *Am J Phys Anthropol* 92: 165-172.
- Quintero FA, Orden AB, Fucini MC, Oyhenart EE, Guimarey LM. 2005. Bone growth in IUGR rats treated with growth hormone: a multivariate approach. *Eur J Anat* 9(3):149-154.
- Quintero FA, Orden BB, Guimarey LM, Fucini M, Oyhenart EE. 2004. Skeletal maturation in intrauterine growth-retarded rats treated with growth hormone. *Clin exp obstet & Gynecol* 31(2):130-132.
- Reichling TD, German R. 2000. Bones, muscles and visceral organs of protein-malnourished rats (*Rattus norvegicus*) grow more slowly but longer durations to reach normal final size. *J Nutr* 130:2326-2332.
- Riesenfeld A. 1974. Endocrine and biomechanical control of craniofacial growth . An experimental study. *Hum Biol* 46(3):531-572
- Riesenfeld A. 1975. Endocrine control of skeletal robusticity. *Acta anat.* 91:481-499
- Rinderknecht E, Humbel RE, 1978. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J Biol Chem* 253:2769-2776.
- Risch NJ. 2000. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature* 405:847-856.
- Robosky LC, Robertson DG, Baker JD, Rane S, Reily MD. 2002. In vivo toxicity screening programs using metabonomics. *Comb Chem High Throughput Screen* 5:651-662.
- Robson H, Siebler T, Shalet SM, Williams GR. 2002. Interactions between GH, IGF-I, Glucocorticoids, and Thyroid Hormones during Skeletal Growth. *Ped Res* 52(2):138-147
- Rochiccioli P, Tauber M, Moisan V, Pienkowski C. 1989. Investigation of growth hormone secretion in patients with intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Scand Suppl* 349:42-46.
- Rodríguez-Garay EA. 2003. Cholestasis: Human disease and experimental animal models. *Ann Hepatol* 2(4):150-158.

- Rol De Lama MA, Perez-Romero A, Hermanussen M, Ariznavarreta C, Tresguerres JAF. 1998. Sexual dimorphism in growth as measured by microknemometry: Different responses to GH deficiency and exogenous GH administration. *Neuroendocrinology* 68:210-219.
- Rol De Lama MA, Perez-Romero A, Tresguerres JAF, Hermanussen M, Ariznavarreta C. 2000. Recombinant human growth hormone enhances tibial growth in peripubertal female rats but not in males. *Eur J Endocrinol* 142:517–523
- Rol De Lama MA, Roest C, Rolf M, Rautenberg M, Tresguerres JAF, Ariznavarreta C. 2001. Daily rat tibial growth in vivo following hypothalamic sex reversal with neonatal and pubertal treatments with gonadal steroids *Ann Hum Biol* 28(1):38-50.
- Russell SM, Spencer EM. 1985. Local injections of human or rat growth hormone or of purified human somatomedin-C stimulate unilateral tibial epiphyseal growth in hypophysectomized rats. *Endocrinology* 116:2563-2567
- Saiz Moreno L. 1983. *Animales de laboratorio*. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid.
- Schoenau E, Frost HM. The "Muscle-Bone-Unit" . En: Schoenau E, Neu C M, Mokov E, assmer G, Manz F. 2000. Influence of puberty on muscle area and cortical bone area of the forearm in boys and girls. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1095-1098.
- Schoenau E. 2005. From mechanostat theory to development of the "Functional Muscle-Bone-Unit". *J Musculoskelet Neuronal Interact* 5(3):232-238
- Schoenau E. 2006. Bone Mass Increase in Puberty: What Makes It Happen?. *Horm Res* 65(2):2-10.
- Schröder HJ. 2003. Models of fetal growth restriction. *Europ Jour Of Obst & Gyn and Reprod Biol* 110:529-539
- Scott KE, Usher R. 1964. Epiphyseal development in fetal malnutrition syndrome. *New Engl J Med* 270: 822
- Scott KE, Usher R. 1966. Fetal malnutrition: its incidence, causes, and effects. *Am J Obstet Gynecol* 94(7):951-63.
- Scow RO, Hagan SN. 1965. Effect of testosterone propionat and growth hormone on growth and chemical composition of muscle and other tissues in hypophysectomized male rats. *Endocrinology* 77:852-858
- Shea BT. 1985. Bivariate and multivariate growth allometry: statistical and biological consideration. *J Zool* 206:367-390.
- Shrader RE, Zeman FJ. 1973. Skeletal development in rats affected by maternal protein deprivation and post-natal food supply. *J Nutr* 103:792-801.

- Simmons RA, Gounis AS, Bangalore SA, Ogata ES. 1992. Intrauterine growth retardation: fetal glucose transport is diminished in lung but spared in brain. *Pediatr Res* 31:59-63.
- Simpson ME, Marx W, Becks H, Evans HM. 1944. Effect of testosterone propionate on the body weight and skeletal system of hypophysectomized rats. Synergism with pituitary growth hormone. *Endocrinology* 35:309-316
- Sinervo B, Huey R. 1990. Allometric engineering: an experimental test of the causes of interpopulational differences in performance. *Science* 248:1106-1109.
- Sinervo B, Svensson E. 1998. Mechanistic and selective causes of life history trade-offs and plasticity. *Oikos* 83:432-442.
- Smart JL, Dobbing J, Adlard BPF, Lynch A, Sands J. 1973. Vulnerability of developing brain: relative effects of growth restriction during the fetal and suckling periods on behavior and brain composition of adult rats. *J Nutr* 103:1327-1338.
- Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, Williams TC, Lubahn DB, Korach KS. 1994. Estrogen Resistance Caused by a Mutation in the Estrogen-Receptor Gene in a Man. *N Engl J Med* 331:1056-1061.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1981. *Biometry*. WH Freeman and Company. San Francisco.
- Srebnik HH, Budd JM. 1981. Postnatal growth of progeny of rats fed protein-free diet during pregnancy. *Nutr Rep Int* 24:855-866.
- Stanhope R, Ackland F, Hamill G, Clayton J, Jones J, Preece MA. 1989. Physiological growth hormone secretion and response to growth hormone treatment in children with short stature and intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Scand Suppl* 349:47-52.
- Stanley OH, Speidel BD. 1985. "Catch-up" following severe intrauterine retardation of head growth. *J Perinat Med* 13(5):253-255.
- Stearns SC, Koella JC. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: predictions of reaction norms for age and size at maturity. *Evolution* 40:893-913.
- Stearns SC. 1989. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience* 39(7):436-445.
- Steel RGD, Torrie JH. 1980. *Principles and procedures of Statistics*. McGRAW-HILL.
- Stephan JK, Chow B, Frohman LA, Chow BF. 1971. Relationship of Growth Hormone to the Growth Retardation Associated with Maternal Dietary Restriction. *J Nutr* 101:1453-1458.
- Stinson S. 1985. Sex differences in environmental sensitivity during growth and development. *Yearbook of Physical Anthropology*. Alan R. Liss (ed), N.Y. 123-147.
- Stracke H, Schulz A, Moeller D, Rossol S, Schatz H. 1984. Effect of growth hormone on

- osteoblasts and demonstration of somatomedin-C/IGF I in bone organ culture. *Acta Endocrinol (Copenh)* 107:16–24
- Styne DM. 2003. The regulation of pubertal growth. *Horm Res* 60 (1):22-26.
  - Subramanian A, Teixeira J, Wang J, Gil G. 1995. A STAT Factor Mediates the Sexually Dimorphic Regulation of Hepatic Cytochrome P450 3A10/Lithocholic Acid 6 $\beta$ -Hydroxylase Gene Expression by Growth Hormone. *Mol Cell Biol* 15(9):4672–4682
  - Tanner JM, Wittehouse RH, Hughes PCR, Vince FP. 1971. Effects of growth hormone treatment for 1 to 7 years on growth of 100 children, with growth hormone deficiency, low birth weight, inherited smallness, Turner's syndrome and other complains. *Arch Dis Child* 45:745-779.
  - Tanner JM. 1962. *Growth and adolescence*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
  - Tanner JM. 1971. Constituição e crescimento humano. En: *Biologia Humana: Introdução a evolução variação e crescimento humanos*. Harrison GA, Weiner JS, Tanner JM, Barnicot NA. Editôra da Universidade de São Paulo. São Paulo.
  - Tanner JM. 1989. *Foetus into Man. Physical growth from conception to maturity*. Cambridge MA, Harvard University Press.
  - Tena-Sempere M, Pinilla L, Aguilar E. 1996. The pattern of testosterone replacement influences the recovery of the stimulatory effect of clonidine on growth hormone (GH) secretion in orchidectomized rats. *J. Steroid Biochem Mol Biol* 58(5-6):533-538.
  - Tenhola S, Martikainen A, Rahiala E, Herrgard E, Halonen P, Voutilainen. 2000. Serum lipid concentrations and growth characteristics in 12-year-old children born small for gestational age. *R Pediatr Res* ;48(5):623-628.
  - Tentler JJ, LaPaglia N, Steiner J, Williams D, Castelli M, Kelley MR, Emanuele NV, Emanuele MA. 1997. Ethanol, growth hormone and testosterone in peripubertal rats. *Endocrinology* 152(3):477-87.
  - Terasawa E, Fernandez DL. 2001. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev* 22:111–151
  - Thornburg KL. 1991. Fetal response to intrauterine stress. En: *The Childhood environment and adult disease*. Ciba Found Symp. 1991;156:17-29; discussion 29-37.
  - Towes JG, Lee M. 1975. Retarded skeletal malnutrition in the progeny of rats malnourished during pregnancy and lactation. *Nutr Rep Int* 11:223.230.
  - Tresguerres JAF, Pérez-Romero A, Rol de Lama MA, Granados B, Hermanussen M & Ariznavarreta C. 1995. Minigrowth spurts: influence of sexual hormones and GH. In *Frontiers in Endocrinology, vol 10. Puberty: Basic and Clinical Aspects*. Eds C Bergada &

JA Moguilevsky. Rome, Italy: Ares Sereno Symposia.

- Turner RT, Evans GL, Wakley GK. 1994. Reduced chondroblast differentiation results in increased cancellous bone volume in estrogen-treated growing rats. *Endocrinology* 134:461-466.
- van der Klaauw C J. 1948. Size and position of the functional components of the skull. *Arch Neerl Zool* 9:1-559.
- van Martens EV, Harel S, Zamenhof S. 1975. Experimental intrauterine growth retardation. *Biol Neonate* 26:221-31.
- Vanderschueren D, Bouillon R. 1995. Androgens and bone. *Calcif Tissue Int* 56:341-346.
- Vicens-Calvet E, Seijo G, Potau N, de los Llanos Moreno M, Carrascosa A. 1999. The effectiveness of recombinant growth hormone in height deficiency due to intrauterine growth retardation. *Med Clin* 112(16):601-5.
- Villar J, Balizan JM. 1982. The timing factor in the pathophysiology of the intrauterine growth retardation syndrome. *Obstet Gynecol Surv* 37(8): 499-506.
- Walen JW, Belanger MP, Wittnich C. 2001. Sex hormones and the selective estrogen receptor modulator temoxifen modulate weekly body weights and food intakes in adolescent and adult rats. *J Nutr* 131(9):2351-2357.
- Wang, MH, vom Saal FS. 2000. Maternal age and traits in offspring. *Nature* 407:469-470.
- Warshaw JB. 1985. Intrauterine growth retardation: adaptation or pathology? *Pediatrics* 76(6):998-9.
- Washburn SL, Detwiler SR. 1943. An Experiment Bearing on the Problems of Physical Anthropology. *Am J Phys Anthropol* 1:171-190
- Washburn SL. 1947. The relation of the temporalis muscle to the form of the skull. *Anal Rec* 99:239-48.
- Wehrenberg WB, Giustina A. 1992. Mechanism and pathway of gonadal steroid modulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 13:299-308.
- Werner H, and LeRoith D. 1995. Insulin-like growth factor I receptor: structure, signal transduction and function. *Diabetes Rev* 3:28-36.
- Wickings EJ, Dixson AF. 1992. Testicular function, secondary sexual development, and social-status in male mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Physiol Behav* 52:909-916.
- Widdowson EM, McCance RA. 1960. Some effects of accelerating growth. I. General somatic development. *Proc R Soc* 152:188-206.
- Wigglesworth JS. 1964. Experimental Growth retardation in the foetal rat. *J Pathol Bacteriol* 88:1-13.

- Wigglesworth JS. 1974. Fetal growth retardation. Animal model: uterine vessel ligation in the pregnant rat. *Am J Pathol* 77 (2):347-50
- Williams JPG, Tanner JM, Hughes PCR. 1974. Catch-up growth in male rats after growth retardation during the suckling period. *Pediatr Res* 8:149-156.
- Williams JPG. 1981. Catch up growth. *J Embryol Exp Morph* 65:89-101.
- Winick M, Rosso P. 1969. The effect of severe early malnutrition on cellular growth of human brain. *Pediatr Res* 3:181-184.
- Wollmann HA. 1998. Intrauterine growth restriction: definition and etiology. *Horm Res* 49:1-6
- Woodall SM, Bassett NS, Gluckman PD, Breier BH. 1998. Consequences of maternal undernutrition for fetal and postnatal hepatic insulin-like growth factor-I, growth hormone receptor and growth hormone binding protein gene regulation in rat. *J Mol Endocrinol* 20: 313-326
- Woodall SM, Breier BH, Johnston BM, Gluckman PD. 1996. A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth. *J Endocrinol* 150(2):231-42.
- Woodley SK. 1994. Plasma androgen levels, spermatogenesis, and secondary sexual characteristics in two species of plethodontid salamanders with dissociated reproductive patterns. *Gen Comp Endocrinol* 96:206–214.
- Wu R, Ma CX, Lou XY, Casella G. 2003. Molecular Dissection of Allometry, Ontogeny, and Plasticity: A Genomic View of Developmental Biology. *BioScience* 53(11):1041-1047.
- Yanagita K, Nonaka K, Nakata M. 1992. Genetic study of the craneofacial growth in male rats by factor scores. *J Craniofac Genet Dev Biol* 12:13-21.
- Young R W. 1959. The influence of cranial contents on postnatal growth of the skull in the rat. *Amer J Anal* 105:383-415.
- Zachmann M. Synergistic Effects between hGH and Sex Hormones. 1987. *Pediatr Adolesc Endocr* 16:72-87.
- Zanchetta JR, Plotkin H, Alvarez-Figueira ML. 1995. Bone mass in children: normative values for the 2–20-year-old population. *Bone* 16:393S-399S.
- Zapf J, Froesch ER. 1986. Insuline like growth factors somatomedins: structure, secretion, biological actions and physiological role. *Horm Res* 24:121-130.
- Zar JH. 1984. *Biostatistical Analysis*. 2nd Ed. Prentice-Hall. Inc. Simon & Schuster Co. Englewood Cliffs. New Jersey.
- Zelditch ML, Bookstein FL, Lundrigan BL. 1992. Ontogeny of Integrated Skull Growth in

the Cotton Rat *Sigmodon fulviventer*. *Evolution* 46(4):1164-1180

- Zeman F. 1970. Effect of protein deficiency during gestation on postnatal cellular development in the young rat. *J Nutr* 100:530-538.
- Zemel BS, Katz SH. 1986. The contribution of adrenal and gonadal androgens to the growth in height of adolescent males. *Am J Phys Anthropol* 71(4):459-466.
- Zung A1, Phillip M, Chalew SA, Palese T4, Kowarski AA, Zadik Z.1999. Testosterone effect on growth and growth mediators of the GH-IGF-I axis in the liver and epiphyseal growth plate of juvenile rats. *Journal of Molecular Endocrinology* 23: 209-221.

## Abreviaturas utilizadas

ACP	Análisis de componentes principales
AD	Análisis discriminante
AE	Ancho del esplacnocraneo
AF	Ancho del fémur
AH	Ancho del húmero
AN	Ancho del neurocraneo
API	Ancho pélvico inferior
APM	Ancho pélvico medio
APS	Ancho pélvico superior
Ca	Castración
CAR	Consumo alimentario relativo
CAR	Consumo alimentario relativo
DS	Desvío estándar
Es	Estradiol
GH	Hormona de crecimiento
GHR	Receptor de hormona de crecimiento
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
HE	Altura del esplacnocraneo
HN	Altura del neurocraneo
IGFBP	Proteína transportadora de factor de crecimiento insulinoide
IGFI	Factor de crecimiento insulinoide de tipo 1
IGFII	Factor de crecimiento insulinoide de tipo 2

IMC	Índice de masa corporal
IMC	Indice de masa corporal
kDa	kilodalton = mil Dalton. Un Dalton equivale a una doceava parte de la masa del núcleo del isótopo de carbono 12 ( $^{12}\text{C}$ ).
LC	Longitud de la columna
LE	Longitud del esplacnocraneo
LF	Longitud del fémur
LH	Longitud del húmero
LN	Longitud del neurocraneo
LP	Longitud de la pélvis
LT	Longitud de la tibia
n	Tamaño de la muestra
PM	Precocidad de maduración
r-hGH	Hormona de crecimiento recombinante humana
RPC	Retardo prenatal de crecimiento
Sig	Nivel de significación de la prueba estadística
Te	Testosterona
TMRM	Tiempo medio relativo de maduración
* $p < 0.05$	Probabilidad menor que 5%
** $p < 0.01$	Probabilidad menor que 1%
Z k-s	Desvíos Z Kolmogorov-Smirnov

*Una antigua chanza paleontológica proclama que la evolución de los mamíferos es una historia contada por dientes que se aparean para producir dientes hijos ligeramente alterados.*

Stephen Jay Gould “La vida maravillosa”

*Dedicado a Elicia, Camila y Sofía.  
Ese es el orden en que se presentaron en mi vida.  
Por ellas esto tiene sentido.*

Marzo de 2008.-