

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

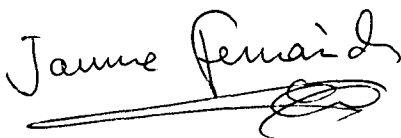
FACULTAD DE BIOLOGIA

**EFFECTO DEL AYUNO EN CARPA, *Cyprinus carpio* L., EN FUNCION DE LA
MADUREZ SEXUAL: MOVILIZACION DE RESERVAS Y CAMBIOS PLASMATICOS**

Memoria presentada para optar al Grado de
Doctor en Biología por la Universidad de
Barcelona por JOSEFINA BLASCO MINGUEZ.

V. B.

El Director de la Tesis

A handwritten signature in black ink, reading "Jaume Fernández Borrás". The signature is written in a cursive style with a long horizontal stroke at the end.

Dr. Jaume Fernández Borrás

Profesor titular de Universidad

Departamento de Bioquímica y Fisiología

Universidad de Barcelona

Barcelona, Octubre de 1990

A FELIX

AGRADECIMIENTOS

De forma particular quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Jaume Fernández Borrás por haber aceptado la dirección de esta tesis, así como la valiosa, paciente y constante ayuda científica que en todo momento me ha dispensado, brindándome además de sus conocimientos su amistad.

También deseo expresar mi gratitud al Dr. Josep Planas Mestres por el interés que en todo momento ha mostrado así como por haberme iniciado en el campo de la investigación.

Especial mención deseo hacer a la inapreciable ayuda prestada por el Dr. Joaquim Gutiérrez Fruitós, estrecho colaborador en algunos apartados de esta tesis, así como por el aliento que constantemente me ha brindado. Asimismo, quiero agradecer la colaboración desinteresada de la Dr. Isabel Navarro y de Purificación Canals en la obtención de muestras, y a Juana Valentín por su ayuda en la valoración de diversos parámetros. También deseo agradecer la colaboración prestada por el Sr. Antonino Clemente en la obtención de las carpas.

Expreso también mi agradecimiento a todos los compañeros de la Unidad de Fisiología, que de alguna manera han contribuido en la realización de esta tesis, tanto en aspectos informáticos como por los buenos ratos pasados que han hecho más llevadero el trabajo.

Finalmente, y de forma muy especial quiero agradecer a Félix el apoyo moral y el aliento que me ha brindado constantemente durante todos estos años, así como su valiosa ayuda y paciencia en cuestiones informáticas. A él especialmente va dedicada esta tesis.

INDICE

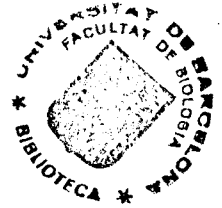
1. Introducción.	1
1.1. El ayuno: generalidades.	1
1.2. El ayuno en peces. Sus causas.	4
1.2.1. Factores que influyen en el ayuno.	5
1.2.2. Movilización de reservas y efecto del ayuno sobre los tejidos en peces.	7
1.2.3. Hormonas pancreáticas en peces. Alteraciones durante el ayuno.	13
1.3. Interés del tema y objetivos de esta tesis.	17
2. Material y Métodos.	21
2.1. Animales y condiciones experimentales.	21
2.1.1. Primer experimento de ayuno y realimentación.	21
Obtención de muestras.	22
2.1.2. Segundo experimento de ayuno.	23
Obtención de muestras.	24
2.2. Técnicas analíticas empleadas.	24
2.2.1. Valoración de parámetros plasmáticos.	24
Desproteínización del plasma.	24
Glucosa plasmática.	24
Lactato plasmático.	25
Proteínas plasmáticas.	25
Insulina plasmática.	25
Glucagón plasmático.	25
Aminoácidos plasmáticos.	26
2.2.2. Valoración de parámetros tisulares.	26
Contenido en agua.	26
Cenizas.	26
Glucógeno.	27
Lípidos totales.	27
Fosfolípidos.	27
Proteínas.	28
P-DNA.	28
2.2.3. Valoración de los aminoácidos del pienso.	28

2.3. Expresión de los resultados.	29
2.4. Tratamiento estadístico.	29
3. Resultados	30
3.1. Efectos del ayuno y la realimentación en carpas sexualmente maduras.	30
3.1.1. Parámetros morfológicos.	30
Peso corporal.	30
Índice de condición.	31
3.1.2. Estado de madurez sexual de las carpas.	34
Índice gonado-somático (IGS).	34
Composición de la gónada.	34
3.1.3. Parámetros en sangre y plasma.	38
Hematocrito.	38
Proteínas plasmáticas.	38
Glucosa en plasma.	40
Lactato en plasma.	40
Insulina plasmática.	43
Glucagón plasmático.	45
Relación molar glucagón/insulina.	45
Aminoácidos en plasma.	48
3.1.4. Efectos del ayuno y la realimentación sobre el hígado.	55
Índice hepato-somático (IHS) e índice hepato-longal (IHL).	55
Reservas hepáticas.	57
Glucógeno.	57
Proteínas.	60
Lípidos.	63
Fracción fosfolipídica.	66
Concentración de agua en hígado.	66
P-DNA en hígado.	68
Contenido en cenizas del hígado.	68
Relación porcentual de las reservas con el peso del hígado.	70
3.1.5. Efectos del ayuno y la realimentación sobre el músculo.	73
Índice músculo-somático (IMS) e índice músculo-longal (IML).	73
Reservas en músculo.	73
Glucógeno.	73
Proteínas.	77

Lípidos.	80
Fracción fosfolipídica.	83
Concentración de agua en músculo.	83
P-DNA en músculo.	83
Contenido en cenizas del músculo.	86
Relación porcentual de las reservas con el peso del músculo.	88
3.1.6. Variación del contenido calórico de las reservas en el total de hígado y músculo en función del ayuno y la realimentación.	88
3.1.7. Efecto del ayuno y la realimentación sobre el glucógeno cerebral.	95
3.2. Efectos del ayuno en carpas inmaduras.	97
3.2.1. Parámetros morfológicos.	97
Peso corporal.	97
Índice de condición (I.C.).	100
3.2.2. Parámetros en sangre y plasma.	100
Hematocrito.	100
Proteínas en sangre.	102
Glucosa en plasma.	102
Lactato en plasma.	102
Insulina plasmática.	105
Glucagón plasmático.	105
Relación molar glucagón/insulina.	105
Aminoácidos en plasma.	108
3.2.3. Efecto del ayuno sobre el hígado.	113
Peso del hígado, índice hepato-somático (IHS) e índice hepato-longal (IHL).	113
Reservas hepáticas.	115
Glucógeno.	115
Proteínas.	118
Lípidos.	121
Fracción fosfolipídica.	124
Contenido de agua en el hígado.	124
P-DNA en hígado.	125
Contenido en cenizas del hígado.	127
Relación porcentual de las reservas con el peso del hígado.	127
3.2.4. Efecto del ayuno sobre el músculo.	131
Peso del músculo, índice musculo-somático (IMS) e índice musculo-longal (IML).	131

Reservas en músculo.	131
Glucógeno.	131
Proteínas.	135
Lípidos.	138
Fracción fosfolipídica.	138
Concentración de agua en músculo.	141
P-DNA en músculo.	141
Contenido de cenizas en músculo.	145
Relación porcentual de las reservas con el peso del músculo.	145
3.2.5. Variación del contenido calórico de reservas en el total de hígado y músculo durante el ayuno.	148
3.2.6. Efecto del ayuno sobre el glucógeno cerebral.	152
4. Discusión.	154
4.1. Composición de los tejidos y movilización de sus reservas durante el ayuno de carpas sexualmente maduras.	154
4.1.1. Glucógeno.	154
4.1.2. Lípidos.	158
4.1.3. Proteínas.	162
4.1.4. Efecto del ayuno sobre los aminoácidos plasmáticos.	166
4.1.5. Hidratación del hígado y el músculo a causa del ayuno.	169
4.2. Respuesta de las hormonas pancreáticas al ayuno en carpas sexualmente maduras.	170
4.3. Efecto de la realimentación tras el ayuno en carpas.	173
4.4. Movilización de reservas durante el ayuno en carpas inmaduras.	177
4.4.1. Glucógeno.	177
4.4.2. Lípidos.	179
4.4.3. Proteínas.	181
4.4.4. Efecto del ayuno sobre los aminoácidos plasmáticos.	182
4.4.5. Respuesta de las hormonas pancreáticas al ayuno en carpas inmaduras.	184
5. Conclusiones.	187
6. Bibliografía.	190

1. INTRODUCCION



1.1 EL AYUNO: GENERALIDADES

El modelo experimental más empleado para estudiar la movilización de las reservas de un animal es el ayuno. Los procesos esenciales se mantienen durante el ayuno a expensas de las reservas energéticas acumuladas, lo cual provoca una progresiva disminución y desgaste de los tejidos corporales.

El ayuno ha sido motivo de estudios más o menos intensos en diversas especies dentro de la escala de los vertebrados, ya que esta situación la pueden padecer numerosos organismos a lo largo de su vida tanto por causas naturales (escasez de alimento en determinadas épocas del año, migraciones, reproducción, etc.) o bien por causas patológicas. Estas últimas causas son las que han estimulado los estudios sobre el efecto que produce el ayuno principalmente en el hombre y, como modelo experimental, en rata. Aunque en la civilización occidental actual el ayuno prolongado se plantea raras veces como problema médico, unos cortos períodos de privación alimenticia pueden desembocar en el desarrollo de una hipoglucemia sintomática, o incluso en una serie de estados de enfermedad. La respuesta fisiológica normal al ayuno proporciona pues una base para la valoración de la patofisiología de la hipoglucemia. Es por eso que el avance de los estudios sobre ayuno se han centrado principalmente en mamíferos (especialmente hombre y rata), habiéndose conseguido caracterizar de forma bastante concreta cuáles son sus fases y sus efectos y sirviendo por tanto como modelo comparativo en los estudios de otras especies. A continuación se exponen algunas generalidades del modelo de ayuno en mamíferos, que servirán como pauta para poder centrar mejor el tema que nos ocupa, sin pretender que sea exhaustivo ni completo.

Las alteraciones metabólicas y hormonales que interaccionan en la situación de ayuno tienen una clara finalidad: es necesario mantener la normoglucemia del individuo, al mismo tiempo que deben minimizarse las pérdidas de proteína corporal (Cahill, 1970).

Los cambios metabólicos que tienen lugar con el ayuno dependen del tiempo de éste, pudiéndose diferenciar tres fases bien definidas: a) Estado post-absortivo (de 6 a 12 horas después de la ingesta); b) Ayuno breve (que dura hasta 48 horas en rata

y 5-7 días en humanos); c) Ayuno prolongado (con duración de 2 semanas o más) (Ruderman et al., 1976; Félig, 1979; Goodman et al., 1980).

La única diferencia cualitativa entre las dos primeras fases es que en estado post-absortivo se utilizan las reservas de glucógeno hepático como fuente de glucosa, mientras que en el ayuno breve esas reservas han sido ya reducidas y se produce una aceleración de los procesos ya iniciados en el estado post-absortivo.

La disminución de la concentración en sangre portal de glucosa, junto con la secreción pancreática de glucagón, actúan como señales para iniciar el catabolismo del glucógeno hepático por activación de la glucógeno fosforilasa (Shikanna et al., 1980); a partir de las 15 horas de ayuno la concentración hepática de glucógeno que ya es muy baja (Newsholme & Leech, 1983) no desciende más por activación de la glucógeno sintetasa (Hers, 1976).

Ya en el estado post-absortivo se desencadena la lipólisis de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo (Félig, 1979), lo cual conduce a la liberación de ácidos grasos y glicerol a la circulación. Estos ácidos grasos son captados fundamentalmente por hígado, músculo esquelético, corazón y riñón (Félig, 1979; Newsholme & Leech, 1983), proporcionándoles el combustible metabólico necesario y por tanto, contribuyendo al ahorro de glucosa. En la fase post-absortiva y en el ayuno breve la velocidad de recambio de glucosa es menor que en la situación absortiva (Heath & Corney, 1973; Shikama et al., 1980). De hecho, a excepción de los tejidos glucolíticos obligados, como eritrocitos, cerebro y médula renal, todos los demás, que en condiciones normales utilizan glucosa como sustrato oxidativo restringen intensamente su consumo (Newsholme & Leech, 1983) y utilizan sustratos alternativos tales como ácidos grasos, aminoácidos, etc.

Se ha estimado que en el período post-absortivo el glucógeno contribuye en un 75% a la producción de glucosa, mientras que el resto es sintetizada por gluconeogénesis (Félig, 1979). El lactato es el sustrato gluconeogénico más importante, seguido por la alanina, y en proporciones mucho menores glicerol y piruvato. La activación de la vía gluconeogénica con el ayuno es secuencial, dependiendo de la naturaleza del sustrato. Así, se ha observado en la rata cómo la conversión de glicerol a glucosa aumenta ya a las 3 horas de ayuno, por aumento en la lipólisis, mientras que

la conversión de lactato y piruvato no se estimula hasta las 9 horas de ayuno, momento en el cual los ácidos grasos libres que han llegado al hígado han conseguido activar la piruvato carboxilasa a través de acetil CoA (Schimmel & Knobil, 1970). A medida que se acelera la β -oxidación de los ácidos grasos con el ayuno, el acetil CoA resultante es canalizado hacia la síntesis de cuerpos cetónicos (Robinson & Williamson, 1980).

En el ayuno breve incrementa la proteólisis en músculo esquelético, aumentando también de forma notoria el flujo de alanina y de otros aminoácidos desde los tejidos extraespláncnicos hasta el hígado (Félig, 1979; Newsholme & Leech, 1983). A esto coopera el hecho de que se estimula la actividad de alanina aminotransferasa (responsable de la síntesis de alanina a partir de piruvato) en los tejidos periféricos (Palou et al., 1980).

La tasa global de gluconeogénesis en el ayuno breve aumenta de dos a tres veces respecto a los niveles post-absortivos, y dos veces la tasa de la cetogénesis ya que a los 3 días de ayuno los ác. grasos son utilizados a un ritmo doble respecto al que se ha observado en el hombre en estado post-absortivo (Félig, 1979).

Ya en el ayuno prolongado, la producción total de glucosa es la mitad o menos de la que se observa en la fase post-absortiva (Félig, 1979). Se produce una disminución de la degradación protéica y consecuentemente de la gluconeogénesis, que se reduce de 3 a 4 veces; en esta situación el riñón contribuye a la mitad de la producción de glucosa. Sin embargo las funciones cerebrales no son alteradas puesto que los cuerpos cetónicos, provenientes de la β -oxidación de los ácidos grasos, pasan a ser el principal sustrato energético para el cerebro (Owen et al., 1967). Las cetonas actúan además como señal para la limitación de la proteólisis muscular, con la consecuente reducción de la disponibilidad de precursores gluconeogénicos para el hígado (Félig, 1979).

Con respecto a las alteraciones hormonales del ayuno en mamíferos, algunas puntualizaciones se recogen en el apartado 1.2.3..

1.2 EL AYUNO EN PECES. SUS CAUSAS.

Se sabe desde hace mucho tiempo de la alternancia de períodos de alimentación y de ayuno durante el ciclo anual de numerosas especies de peces, siendo las variaciones estacionales y/o los procesos de reproducción los causantes de estos ayunos naturales.

Cuando el ayuno en condiciones naturales está ligado a un ciclo sexual se conoce con el nombre de ayuno sincrónico (Mislin, 1941). Para numerosos teleósteos, la maduración de las gónadas y la reproducción se acompañan de un período de ayuno durante el cual ciertas especies, como los salmones y las anguilas, efectúan largas y extenuantes migraciones (Fontaine & Olivereau, 1963; Love, 1970). Otras especies, reducen su alimentación durante las últimas fases de la maduración gonadal a consecuencia del gran tamaño que alcanzan las gónadas en la cavidad corporal, observándose una degeneración del tubo digestivo (Shevchenko, 1972: *Melanogrammus aeglefinus*; Staneck, 1973; Berger & Panasenko, 1974: *Gadus morhua*; Hashimoto, 1974: *Gadus macrocephalus*). Otras especies no migratorias desarrollan sus gónadas en el período invernal, durante el cual no se alimentan; este es el caso de *Pleuronectes platessa* (Wingfield & Grimm, 1977; Dawson & Grimm, 1980).

El ayuno natural se puede manifestar fuera del período de maduración gonadal, estando condicionado por modificaciones estacionales. En el caso especial de los Dipnoos (peces pulmonados), durante el período de sequía que caracteriza el clima tropical, cesan de alimentarse y se entierran en el barro (período de estivación) (Hochachka & Somero, 1984). En los países templados, la falta de alimento durante la estación invernal (T^a muy bajas) provoca en ciertos teleósteos de agua dulce una disminución o cese de la ingesta: es el ayuno estacional invernal (Steffens, 1964: *Cyprinus carpio*).

Hay que considerar que el soporte que les representa el medio acuático les permite subsistir con muy poca energía. Este mismo hecho hace que no sea ningún inconveniente arrastrar una importante masa muscular (músculo blanco), que es utilizada solamente en momentos de emergencia o *stress*, operando principalmente anaeróbicamente. La "no esencialidad" del músculo blanco en el mantenimiento de

rutina permite que pueda ser degradado con finalidad energética en mayor grado que en los animales terrestres (Love, 1980). Por lo tanto, y al contrario de lo que es conocido en mamíferos, es lógico el observar que los peces normalmente están bien adaptados a movilizar sus reservas corporales para sobrevivir durante mucho tiempo. Así, se han descrito ayunos de larga duración en *Gadus morhua* (100 días a 9°C) (Love et al., 1968); en *Clupea harengus* (129 días a 12°C) (Wilkins, 1967); en *Amia calva* (20 meses) (Smallwood, 1916); en *Cyprinus carpio* (12 y 14 meses) (Gas, 1972; Wittenberger & Giurgea, 1973), etc.

1.2.1. Factores que influyen en el ayuno.

El ayuno altera el metabolismo de muchos si no de todos los organismos. Sin embargo la naturaleza precisa de los cambios metabólicos, la longitud del tiempo necesario para que los cambios se desarrollen y su severidad son altamente dependientes de la especie y de la edad (Goodman & Ruderman, 1980; Goodman et al., 1981).

El ayuno en peces es un fenómeno complejo ya que, además de lo expuesto en el párrafo anterior, la mayoría de los peces están sometidos a ciclos biológicos en el curso de los cuales su equilibrio endocrino varía de forma considerable (Love, 1980; Crim, 1982). Por tanto las consecuencias del ayuno dependerán también del período del ciclo en el que intervenga, así como de las condiciones ambientales de ese período (T^a , fotoperíodo, dieta pre-ayuno, etc.) (Love, 1980; Weatherley & Gill, 1987).

La temperatura es uno de los factores que influyen claramente en la intensidad del ayuno. En verano, los efectos del ayuno son mucho más severos que en invierno, a consecuencia de la mayor tasa metabólica y, por tanto, de la mayor demanda energética que presentan los peces en esta época (Phillips et al., 1960; Inui & Oshima, 1966; Love, 1970). Este efecto de la temperatura favorece que las especies de países templados puedan soportar la falta de alimento durante la estación invernal, pues a bajas temperaturas algunas especies pueden sobrevivir durante varios meses e incluso años sin comer. Uno de los casos más extremos se ha observado en *Anguilla anguilla*,

donde la mortalidad se inicia a partir de los tres años de ayuno (Boetius & Boetius, 1967). Smith (1935) observó lo mismo en *Protopterus*. En conexión con estos aspectos de la temperatura y de la tasa metabólica, también las especies más activas acusarán más el efecto del ayuno que las especies poco activas, estando en condiciones ambientales similares.

La historia nutricional del pez, que puede determinar la abundancia energética almacenada en sus tejidos, también influirá en el curso y severidad del ayuno (Weatherley & Gill, 1987; Machado et al., 1988; Hilton, 1982). Aves y mamíferos carnívoros, así como mamíferos omnívoros, alimentados con una dieta rica en proteínas y pobre en carbohidratos son mucho más resistentes al ayuno que si son alimentados con una dieta rica en carbohidratos (Migliorini et al., 1973; Kettelhut et al., 1980).

Otro factor a tener en cuenta es el grado de madurez sexual de los peces, ya que cuando el ayuno natural coincide con el desarrollo gonadal, el desgaste o drenaje de las reservas es mucho más severo (Idler & Bitners, 1960; Dawson & Grimm, 1980). Cuando se impone un ayuno experimental la maduración gonadal puede ser o no inhibida en función de la especie. *Gadus morhua* sometido a ayuno desde el mes de septiembre continua con el desarrollo de sus gónadas e incluso realiza la freza (febrero-marzo) (Love, 1980). *Cyprinus carpio* incrementa el peso del ovario después de dos meses de ayuno, y tras períodos más largos disminuye de forma importante (Créach, 1972). *Salmo gairdneri* inicia su proceso de maduración a pesar de estar 55 días en ayunas (Shimma et al., 1976). Sin embargo Wilkins (1967) no observó desarrollo gonadal en *Clupea harengus* sometida a ayuno. De Vlaming (1971) observó que *Gillichthys mirabilis* en condiciones de ayuno iniciaba la maduración de las gónadas, pero éstas sufrían una involución si el ayuno se iniciaba a la vez que se activaba la gametogénesis.

El drenaje que sufren los tejidos durante la maduración gonadal parece ser que se intensifica cada año, a medida que los peces se envejecen (Love, 1960). Esto hace que los peces más adultos sean capaces de sufrir un grado de ayuno que no soportarían los especímenes más jóvenes, es decir desarrollan mecanismos compensadores a medida que crecen (Love, 1980).

A partir de todo lo expuesto hasta el momento parece difícil definir una estrategia metabólica general para todos los peces, tal como ha sido planteada en el caso de mamíferos (Félig, 1979).

1.2.2 Movilización de reservas y efecto del ayuno sobre los tejidos en peces.

La forma en que el ayuno afecta a los diferentes órganos no es igual en todas las especies. Sin embargo en muchas especies se ha observado que el aparato digestivo (estómago, intestino) es el primer tejido en ser afectado por el ayuno (Créach & Cournède, 1965: en carpa; Theilaker, 1978: en *Trachurus symmetricus*; Weatherley & Gill, 1981: en *Salmo gairdneri*; Fernández, 1985: en *Scyliorhinus canicula*). La atrofia del digestivo provoca la disminución de su motilidad durante el ayuno (Elliot, 1972; Windell, 1978; Jobling, 1980). Claramente, la alteración del digestivo durante el ayuno puede ser considerado como un ejemplo de respuesta de un tejido a la falta de funcionalidad (Goss, 1964; 1978). Además de este tejido, se produce una importante alteración del principal órgano de reserva, dependiendo éste de la especie de la que se trate: en el caso de los peces "blancos" (o no grasos) es el hígado, y en el de los "azules" (o grasos) es el músculo (Shulman, 1974). Aquellos órganos cuya funcionalidad es vital, como son cerebro, corazón y branquia, son poco alterados (Love, 1958: en *Gadus*; Yanni, 1962: en *Clarias lazera*; Créach & Cournède, 1965: en carpa).

Los peces pueden catabolizar tanto glucógeno y lípidos, como proteínas, para la consecución de energía. Ahora bien, la utilización de uno de estos diferentes compuestos con preferencia a los demás, o bien la tasa a la que se consume, es diferente según las especies de peces. Estas diferencias pueden relacionarse con el modo de vida del animal y su alimentación (Shulman, 1974). En general, las especies "azules" suelen ser especies activas (pelágicas y buenas nadadoras), con gran desarrollo de los músculos propulsores; generalmente se trata de especies migradoras y la mayoría carnívoras. Las especies "blancas" son más lentas o poco activas (especies bentónicas o de aguas poco profundas); suelen ser sedentarias y detritívoras, omnívoras o plantófagas. A partir de las revisiones de Love (1970) y Shulman (1974), se puede

señalar a grandes rasgos, que las reservas energéticas que se movilizan durante el ayuno difieren entre los dos grupos de peces mencionados anteriormente:

- En los peces "azules" son los lípidos musculares los primeros en ser movilizados, provocando la hidratación del tejido; es decir se establece una relación dinámica inversa entre el contenido lipídico y el contenido de agua del músculo. En cambio, las proteínas musculares son utilizadas posteriormente. La relación lípidos-agua en músculo ha sido descrita en *Clupea harengus*, *Sebastes marinus*, *Anarhichas* (Brandes & Dietrich, 1958) y en *Sardina pilchardus* (Herrera y Muñoz, 1957), *Trachurus trachurus* (Arévalo, 1948). En esta última especie se observó que posteriormente se daba además una movilización de las proteínas del músculo.

La utilización de proteínas es especialmente acusada durante la migración de freza de los salmónidos, en los que la pérdida de lípidos está entre el 94 y el 98% y la de proteínas en un 42-58% (Idler & Clemens, 1959; Chang & Idler, 1960).

- En los peces "blancos" se produce inicialmente una movilización de los lípidos hepáticos o mesentéricos (grasa visceral) y tras su fuerte reducción se utilizan las proteínas musculares. Esto ha sido observado en *Gadus morhua* (Love, 1970), *Salvelinus fontinalis* (Phillips et al., 1966) y en *Dicentrarchus labrax* (Stirling, 1976). En estas especies la movilización de proteínas del músculo provoca una importante hidratación del tejido, es decir existe una relación inversa entre ambos parámetros (Love, 1970), a semejanza de la relación lípidos-agua del grupo anterior.

Sin embargo la movilización de reservas durante el ayuno no siempre se ajusta a esta clasificación general, existiendo discrepancias importantes. Así por ejemplo en *Anguilla anguilla* se produce una disminución inicial de los lípidos hepáticos y posteriormente son movilizados los del músculo, a pesar de ser este último órgano el principal almacén lipídico en esta especie (Larsson & Lewander, 1973). Por otro lado, Moon (1983a) observó en *Anguilla rostrata* una importante movilización de las proteínas musculares sin observarse cambios en los lípidos hepáticos y musculares, aunque representan un elevado porcentaje en estos tejidos.

Otros autores no han observado movilización de las proteínas del músculo tras la disminución de lípidos en los tejidos de los peces, a pesar de ser sometidos a largos

períodos de ayuno (Inui & Oshima, 1966: *Anguilla japonica*, Ince & Thorpe, 1976a: *Esox lucius*).

Muchas de las discrepancias en la literatura pueden ser debidas, además de a las diversas condiciones, tanto ambientales como de *status* del pez, en el momento de iniciarse el ayuno, al hecho de que las conclusiones de los estudios se realizan en base a cambios que se producen en la concentración de reservas en los tejidos y no en las alteraciones de la reserva total almacenada en el tejido (Love, 1980; Machado et al., 1988; Caulton, & Bursell, 1977).

Todo parece indicar que el mayor o menor acúmulo de lípidos (sobre todo triglicéridos) en los diversos tejidos de cada especie marca la pauta de su movilización durante el ayuno. De hecho los lípidos son la forma más compacta en cuanto a reserva energética, con una elevada relación contenido energético/peso (Weatherley & Gill, 1987), por lo cual suelen ser la principal fuente energética en aquellos animales que requieren grandes reservas energéticas para su actividad, para sobrevivir en las épocas de escasez de alimento y para la reproducción.

Por otro lado, la gran masa muscular del pez es la que marca la importancia estratégica de las proteínas como fuente energética, sobre todo en ayunos a largo plazo. Este hecho, acoplado a su papel como medio de propulsión, pero no de soporte, hacen más factible la utilización de la proteína como fuente energética (Love, 1980; Weatherley & Gill, 1987), no siendo inconveniente para los peces la excreción de los productos finales del catabolismo nitrogenado (principalmente NH_4^+) (Van Waarde, 1983). A pesar de las discrepancias indicadas, la importancia de las proteínas musculares durante el ayuno está bien documentada (Johnston & Goldspink, 1973; Patterson et al., 1974; Cowey & Sargent, 1979; Mommsen et al., 1980; Renaud & Moon, 1980b; etc.). Al igual que en mamíferos, las proteínas contráctiles son movilizadas en mayor proporción que las del tejido conjuntivo (Love, 1970; Renaud & Moon, 1980b; Moon & Johnston, 1980).

Dado que los carbohidratos son un componente menor en la dieta natural de los peces, éstos son considerados como un sustrato energético secundario (Walton & Cowey, 1982), sin embargo desempeñan un papel vital cuando hay una necesidad de rápida producción energética (ejercicio, anoxia, *stress*) (Love, 1970; Shulman, 1974). En

condiciones de ayuno, sin embargo, existen datos contradictorios: mientras algunas especies movilizan el glucógeno hepático, que es el principal acúmulo de carbohidratos en los peces, en las primeras fases del ayuno (Inui & Oshima, 1966: *Anguilla japonica*; Tashima & Cahill, 1965: *Opsanus tau*; Ince & Thorpe, 1976a: *Esox lucius*; Morata et al., 1982: *Salmo gairdneri*), otras lo preservan de forma importante (Moon, 1983a: *Anguilla rostrata*; Nagai & Ikeda, 1971; Gas, 1973: *Cyprinus carpio*), o bien incluso aumenta durante la migración (en ayunas) del salmón (Chang & Idler, 1960). También se ha descrito una disminución del glucógeno en músculo, aunque de menor importancia que la del hígado (Sorvachev, 1957: carpa; Stirling, 1976: *Dicentrarchus labrax*; Ottolenghi et al., 1981: *Ictalurus melas*; Machado et al., 1988: *Rhamdia hilarii*). Todas estas diferencias pueden responder a variaciones tanto fisiológicas como ambientales (Love, 1970; Ottolenghi et al., 1981). A la vista de estas observaciones generalizar una respuesta de los carbohidratos al ayuno no es tarea fácil; aunque Love (1970) indicó que son los más rápidamente utilizados durante el ayuno, también es cierto que no se produce un agotamiento de la reserva como ocurre en mamíferos. Cowey y Sargent (1979) indicaron que la incapacidad de los peces en degradar el glucógeno a glucosa podría ser causada por la insuficiencia de una fosforilasa o por factores (hormonales o metabólicos) que inhiben la actividad de este enzima. Por otro lado Hilton (1982) indicó que las diferencias interespecíficas en la movilización del glucógeno hepático durante el ayuno podrían responder a diferencias en la cantidad de carbohidratos digeribles en la dieta pre-ayuno.

Con respecto a los niveles de glucosa en sangre durante el ayuno también existen variedad de respuestas. La tendencia general es mantener la glucosa estable durante el ayuno bien desde el inicio del mismo (Hochachka & Sinclair, 1962: *Salmo gairdneri*) o tras una disminución inicial (Phillips et al., 1953: en *Salvelinus fontinalis*; Kamra, 1966: en *Gadus morhua*; Shimeno, 1982: en *Seriola quinqueradiata*).

El hecho de que en peces ayunados la oxidación de otros sustratos, diferentes a la glucosa, tenga prioridad sobre la movilización e hidrólisis del glucógeno, y la oxidación de la glucosa resultante, sugiere que la capacidad de los peces en oxidar la glucosa aeróbicamente es bastante limitada. En condiciones como el ayuno en el que se mantiene la glucemia, esto indicará que la demanda de los tejidos que catabolizan

glucosa como principal sustrato energético será paliada a expensas de procesos gluconeogénicos más que por glucogenólisis (Cowey & Sargent, 1979).

La habilidad de los peces para sobrevivir largos períodos de ayuno se ha atribuido por un lado a la disminución de la tasa metabólica (Love, 1980; Weatherley & Gill, 1987) y por otro a la activación del flujo gluconeogénico (Suárez & Mommsen, 1987; Moon, 1988). La activación o el mantenimiento de los enzimas gluconeogénicos hepáticos durante períodos de ayuno ha sido observado en varias especies (Moon & Johnston, 1980; Morata et al., 1982; Zammit & Newsholme, 1979; Moon et al., 1989).

Los sustratos gluconeogénicos en peces coinciden con los observados en otros vertebrados: lactato, aminoácidos y glicerol (Suárez & Mommsen, 1987). La disponibilidad y utilización de estos sustratos gluconeogénicos puede cambiar dependiendo del estado fisiológico del animal y de la regulación o ajustes que alteren la capacidad del flujo gluconeogénico. Así, se ha observado que el lactato puede ser importante como activador de la gluconeogénesis durante el ejercicio (Driedzic & Hochachka, 1978) o durante la recuperación del *stress* hipóxico (Dunn et al., 1983). Con respecto al glicerol, la activación de la gluconeogénesis a partir de este sustrato no ha sido suficientemente estudiada en peces, a pesar de la importancia de la movilización lipídica durante el ayuno. En numerosas especies se ha observado durante el ayuno un aumento en sangre de los ácidos grasos libres y un concomitante aumento del glicerol (Bilinski & Gardner, 1968; Zammit & Newsholme, 1979; French et al., 1983). La capacidad del glicerol como sustrato gluconeogénico ha sido observada en hepatocitos de *Anguilla rostrata* (Renaud & Moon, 1980a).

Mientras que la importancia de la proteólisis muscular en peces durante el ayuno ya ha sido considerada, existe escasa información sobre los efectos que causa en los aminoácidos (aa) plasmáticos. Cowey et al. (1962) no observaron modificaciones en la concentración de aa en plasma durante la migración del salmón. Lo mismo ocurría en carpa después de 8 meses de ayuno, aunque se alteraba la concentración de aa libres de varios tejidos (Créach, 1972). Por otro lado, Change (1962) observó una disminución en *Oncorhynchus tshawytscha* y Moon (1983a) observó un incremento de los aa plasmáticos en anguilas tras 6 meses de ayuno. El *pool* de aminoácidos en plasma es altamente variable y puede reflejar el balance entre la salida de aa,

provenientes de la hidrólisis protéica en los tejidos periféricos y su captación y metabolización, principalmente en hígado (Inui & Yokote, 1975). Por tanto, tan solo una cuantificación continuada de los aa plasmáticos puede reflejar las variaciones que se producen en los diversos tejidos durante el ayuno, como demostraron Timoshina y Shavalina (1972) en truchas en ayunas.

La importancia de los aa provenientes de la hidrólisis protéica como sustratos energéticos durante el ayuno ha sido puesta de relieve en varias especies, observándose una tendencia a conservar o aumentar la actividad de los enzimas implicados en el metabolismo nitrogenado (Moon, 1983a; Mommsen et al., 1980; Larsson & Lewander, 1973; Inui & Yokote, 1974). Por otro lado la activación de la gluconeogénesis hepática a partir de algunos aminoácidos ha sido demostrada *in vitro* en hepatocitos de peces ayunados, destacando la utilización de alanina, en salmón (French et al., 1983), en anguila (Renaud & Moon, 1980a; Hayashi & Ooshiro, 1977) y en trucha (French et al., 1981).

Un hecho que distingue la importancia estratégica de la gluconeogénesis durante el ayuno en vertebrados inferiores, y principalmente los teleósteos, de los vertebrados superiores es la imposibilidad de utilizar sustratos energéticos alternativos como son los cuerpos cetónicos (Moon, 1988). Durante el ayuno de aves y mamíferos acetoacetato y 3-hidroxiacetato incrementan rápidamente en sangre hasta que su potencial energético supera al de la glucosa y pasan a ser la fuente energética dominante en aquellos tejidos dependientes normalmente de glucosa (ej: cerebro) (Cahill, 1986; Le Maho et al., 1981). La producción de cuerpos cetónicos reduce la movilización de la proteína muscular en estos vertebrados, ya que disminuye la dependencia de los tejidos por la glucosa y por tanto la necesidad de una gluconeogénesis activada. Los teleósteos no poseen 3-hidroxiacetato deshidrogenasa, que cataliza el paso de acetoacetato a 3-hidroxiacetato (Zammit & Newsholme, 1979); sin embargo los elasmobranchios sí que utilizan cuerpos cetónicos como fuente energética durante el ayuno y presentan niveles elevados de todos los enzimas hepáticos implicados en su producción (Zammit & Newsholme, 1979; Mommsen & Moon, 1987).

La movilización de las reservas tisulares durante el ayuno produce cambios pronunciados en sus estructuras. En general se considera que los peces utilizan preferencialmente el músculo blanco preservando el músculo rojo durante el ayuno. Esto ha sido puesto de manifiesto a partir de estudios ultraestructurales de ambos músculos en el transcurso de largos períodos de ayuno; así se ha observado que no hay modificación del diámetro de las fibras del músculo rojo, pero las fibras del músculo blanco disminuyen de diámetro, provocándose así un aumento del espacio extracelular a consecuencia de la progresiva alteración de las miofibrillas (Love et al., 1968: *Gadus morhua*; Gas, 1972; Patterson & Goldspink, 1973: *Cyprinus carpio*; Johnston, 1981: *Pleuronectes platessa*; Moon, 1983b: *Anguilla rostrata*). En la mayoría de estos trabajos se ha observado un aumento de volumen del retículo sarcoplasmático y la aparición de numerosos lisosomas que podrían contener diversas proteasas (catepsinas), las cuales serían las causantes de la digestión proteolítica de la miosina (Bird et al., 1980).

Con respecto a las alteraciones en las estructuras hepáticas durante el ayuno hay que destacar la hidratación del retículo endoplasmático, la reducción del diámetro celular y el concomitante aumento del espacio extracelular (Gas & Serfaty, 1972: en carpa; Moon, 1983b: en anguila). Moon (1983b) no observó cambios en el contenido lisosomal hepático tras 6 meses de ayuno en anguilas, e indicó que se mantenía de la integridad funcional hepática.

1.2.3. Hormonas pancreáticas en peces. Alteraciones durante el ayuno.

El papel que desempeñan las hormonas pancreáticas en peces ha sido tema de estudio más o menos intenso en los últimos quince años, ya que como hormonas metabólicas pueden estar implicadas en la regulación de muchos de los cambios metabólicos que sufren los peces a lo largo de su vida. Sin embargo la mayoría de los estudios realizados se han centrado en los efectos de inyecciones a dosis farmacológicas de glucagón e insulina, generalmente de mamífero. Los efectos observados no necesariamente responden a un significado funcional, puesto que no siempre es posible distinguir entre respuestas fisiológicas y farmacológicas directas e indirectas (Suárez &

Mommsen, 1987). A continuación se exponen los resultados más relevantes en cuanto al efecto de estas hormonas en peces.

La insulina está estrechamente ligada al metabolismo nitrogenado. Según Ince & Thorpe (1977a) los aminoácidos son los secretagogos más importantes de la insulina. No obstante, también se ha descrito un efecto sinérgico de aminoácidos y glucosa en la secreción de esta hormona (Patent & Foà, 1971; Ince & Thorpe, 1977a). La inyección de insulina aumenta la incorporación de aminoácidos marcados radioactivamente en las proteínas del músculo esquelético de *Opsanus tau* (Tashima & Cahill, 1968) y de *Esox lucius* (Ince & Thorpe, 1976b), y provoca la disminución de los aminoácidos plasmáticos en *Esox lucius* (Thorpe & Ince, 1974), en *Anguilla anguilla* (Ince & Thorpe, 1974) y en *A. japónica* (Inui et al., 1975). Estudios *in vitro* también han demostrado que la insulina aumenta la entrada de aminoácidos en hígado y músculo opercular, incorporándolos a la fracción protéica (Inui & Ishioka, 1983a,b).

El efecto hipoglucemiante de la insulina ha sido observado en numerosas especies (Falkmer & Matty, 1966; Patent, 1970; De Roos & De Roos, 1979; Thorpe & Ince, 1974; Carneiro & Amaral, 1983; Ottolengui et al., 1982). En cambio, los efectos de la insulina sobre el glucógeno tisular son controvertidos. En general, disminuye la concentración de glucógeno hepático (Matty & Falkmer, 1965; Ince & Thorpe, 1976b; Ottolengui et al., 1982; Carneiro & Amaral, 1983) o no la modifica (Patent, 1970; Inui & Gorbman, 1977), mientras que aumenta la de glucógeno muscular (Matty & Falkmer, 1965; Ottolengui et al., 1982) o no la modifica (Ince & Thorpe, 1976b; Carneiro & Amaral, 1983).

La actividad lipogénica de la insulina se ha relacionado con la disminución de los niveles circulantes de ácidos grasos (Leibson et al., 1968; Ince & Thorpe, 1974).

Con respecto al glucagón, uno de los efectos más claros es su acción hiperglucemiante (Thorpe & Ince, 1974; Murat et al., 1978; Carneiro & Amaral, 1983), relacionándose con un incremento de la actividad gluconeogénica (Murat et al., 1978; Walton & Cowey, 1979; Renaud & Moon, 1980a). Aunque la inyección de glucagón suele tener una acción glucogenolítica (Plisetskaya, 1972; Chan & Woo, 1978) no siempre se ha observado tal efecto (Murat et al., 1978; Carneiro & Amaral, 1983).

Inui y Yokote (1977) observaron que tras dosis repetidas de glucagón disminuía la aminoacidemia de *Anguilla japonica*. Estudios *in vitro* han demostrado que el glucagón aumenta la captación hepática de los aminoácidos circulantes pero no activa su incorporación en la fracción protéica (Inui & Ishioka, 1983a,b).

El desarrollo de técnicas de radioinmunoensayo para la valoración de ambas hormonas en peces ha permitido avanzar en el estudio y conocimiento del papel que pueden desempeñar (principalmente la insulina) en el metabolismo energético, alimentación, crecimiento y reproducción (Ablett et al., 1981; revisiones de Murat et al., 1981; Luquet & Watanabe, 1986; Christiansen & Klungsoyr, 1987; Plisetskaya et al., 1987; Dickhoff et al., 1989). Sin embargo, todavía estamos lejos de poder establecer una función clara de estas hormonas en peces como existe en mamíferos, ya que además parece existir un componente estacional en el efecto de ambas hormonas (Foster & Moon, 1987, 1989). Así, estos autores observaron en hepatocitos de *Anguilla rostrata* que los efectos del glucagón y de la insulina sobre el glucógeno y la producción de glucosa son menores en invierno que en otras estaciones para unas mismas dosis (Foster & Moon, 1989). En *Hemipterus americanus* los efectos de ambas hormonas son más marcados en otoño que en primavera (Foster & Moon, 1987); estos autores lo asociaron a la mayor actividad de los peces en la época reproductora.

El papel que desempeñan las hormonas pancreáticas durante el ayuno en mamíferos está bien establecido. En estado postabsortivo (pocos días) el glucagón plasmático aumenta (Ruderman, 1975; Gelfand and Sherwin, 1983), mientras que la insulina no se altera (ratas: Seitz et al., 1977) o disminuye (humanos: Ruderman, 1975; Gelfand & Sherwin, 1983). Estos cambios incrementan la relación glucagón/insulina provocando rápidamente un incremento de la producción hepática de glucosa al activar la glucogenolisis y posteriormente la gluconeogénesis (Cherrington & Vranic, 1986).

Los trabajos realizados en este sentido en peces son prácticamente inexistentes. La disminución de la insulina con el ayuno se ha observado en trucha (Thorpe & Ince, 1976) y en salmón (Plisetskaya et al., 1986). Hasta la fecha el único trabajo publicado sobre el efecto del ayuno en ambas hormonas (Moon et al., 1989) indica que el ayuno provoca una disminución en los niveles plasmáticos de glucagón e insulina en truchas ayunadas durante 6 semanas, pero la caída de la insulina es mayor. Estos autores

observaron un incremento en la actividad de enzimas gluconeogénicos, concluyendo que los cambios hormonales intervienen en esta activación.

1.3 INTERES DEL TEMA Y OBJETIVOS DE ESTA TESIS

La respuesta al ayuno es una herramienta experimental que se viene utilizando ampliamente para lograr un conocimiento más profundo de las interrelaciones metabólicas, y poder relacionarlo con diferentes situaciones fisiológicas. Sin embargo, hemos indicado las importantes discrepancias que existen en los trabajos sobre el tema referentes a los efectos del ayuno sobre las reservas energéticas y el metabolismo en peces. Por otro lado, hemos podido observar que las respuestas fisiológicas de los peces varían en función de muchos parámetros (T^a , época del año, alimentación previa, edad y estado de madurez, etc.), y que por tanto la interrelación de las diferentes reservas tisulares en el transcurso del ayuno, así como la regulación a la que están sometidas es muy compleja. Todo esto hace difícil el poder establecer una estrategia metabólica común o generalizable a muchas especies de peces. Es evidente que existen todavía enormes huecos a cubrir en cuanto a la fisiología del ayuno en peces, muchos de ellos ya resueltos en mamíferos. Es por todo ello que consideramos que el tema del ayuno en peces tiene un enorme interés en el campo de la fisiología comparada.

Por otro lado existen todavía pocos trabajos de ayuno en una misma especie para diferentes condiciones, así como estudios de ayuno comparados entre diversas especies fijando al máximo las condiciones experimentales.

Con respecto a la especie escogida, *Cyprinus carpio* L. es un teleósteo de agua dulce de la familia Cyprinidae. Vive en aguas tranquilas como lagos, embalses, pantanos y en los tramos de río de menor corriente. El margen de temperatura óptimo para esta especie se sitúa entre 15 y 25°C. Por debajo de los 13°C su crecimiento es reducido. La reproducción de la carpa se produce entre la primavera y el verano, extendiéndose la maduración gonadal o período de prepuesta entre Diciembre y Abril. En los países templados, esta especie, suele padecer un ayuno natural durante los meses de invierno ya que por debajo de los 5°C deja de tomar alimento. Por lo tanto es una especie que en ambiente natural está perfectamente adaptada a situaciones de ayuno y que ofrece un modelo de funcionamiento metabólico muy interesante: la utilización de las proteínas como fuente energética en el ayuno a largo plazo (Créach, 1972). Además es un pez omnívoro, de fácil adaptación y que tolera perfectamente las situaciones de cautividad.

Todo esto, junto al hecho de que teníamos una base en el conocimiento de la carpa por diversos estudios realizados en esta Unidad (estudio del ciclo anual de carpa; respuesta metabólica a cambios térmicos, etc.), hizo que fuera la especie elegida en este estudio.

Hasta ahora, los estudios de ayuno realizados en carpa se han centrado en cambios estructurales de diversos tejidos (Gas, 1972, 1973), en alteraciones del metabolismo nitrogenado y en el equilibrio hidromineral (Créach, 1972; Créach et al., 1971), así como en estudios de los ácidos nucleicos y la proteosíntesis (Bouchè, 1975), tratándose en todos los casos de ayunos a largo plazo (de 2 a 14 meses de ayuno). Sin embargo, no conocemos la existencia de ningún trabajo del metabolismo intermediario en carpa, en el transcurso de un ayuno breve (hasta 2 meses), que trate al mismo tiempo parámetros glucídicos, lipídicos y protéicos. Es posible que la adaptación metabólica al ayuno, se ponga de manifiesto en los primeros días o semanas de falta de alimento. Por otro lado, los estudios realizados a un solo tiempo fijo de ayuno, no permiten determinar la verdadera capacidad adaptativa al ayuno. Consideramos que el estudio secuencial (con estrechos márgenes de tiempo de ayuno) de diversos parámetros plasmáticos puede poner de relieve más claramente los cambios que se producen a nivel de las reservas tisulares, así como la posible existencia de alguna señal metabólica que marque la pauta en la movilización y utilización de las mismas y la importancia energética de cada una de ellas a diferentes períodos de ayuno.

Como ya indicamos en los antecedentes bibliográficos, cuando la maduración gonadal coincide con el ayuno se produce un mayor desgaste de las reservas. Es por ello que creímos interesante estudiar los efectos de un ayuno a corto o medio plazo en carpas con diferente estado de madurez sexual: unas adultas y en proceso de maduración gonadal y otras completamente inmaduras. Ahora bien, haciendo coincidir en lo posible otras variables que pudieran interferir (época del año, temperatura, fotoperíodo, tamaño de los animales, dieta pre-ayuno, y cultivo de los ejemplares).

Debido a la importancia que tienen las hormonas pancreáticas (insulina y glucagón) en el metabolismo y el papel que desempeñan en el ayuno de mamíferos, aparte de que prácticamente no existen trabajos similares en peces y mucho menos

en carpa, es de interés estudiar los cambios que se producen en estas hormonas durante el ayuno en las dos condiciones mencionadas anteriormente.

Otro de los aspectos que se han pretendido estudiar es la respuesta a la realimentación tras un período de ayuno, tanto a nivel de las reservas tisulares, como de diferentes parámetros plasmáticos, incluyendo las hormonas pancreáticas. A este respecto, existen ya algunos trabajos realizados en esta especie. Así se ha observado que la realimentación de carpa, después de un ayuno a largo plazo, a base de pienso completo producía una elevada mortandad (Créach, 1972; Bouché et al., 1971; 1973); sin embargo ésta era eliminada si se utilizaba previamente una dieta especial a base de caseína y vitaminas (Bouché et al., 1971; Bouché et al., 1973). Ahora bien, estos trabajos se han centrado en la influencia de diferentes dietas sobre algunos aspectos del metabolismo glucídico (Murat et al., 1972), del metabolismo nitrogenado (Bouché et al., 1973) y de la proteosíntesis (Bouché et al., 1971; 1973); además, en todos los casos se ha tratado de realimentación después de largos períodos de ayuno (tras un mínimo de 6 meses). Por lo tanto consideramos de interés estudiar este efecto tras un corto período de ayuno. Por la dificultad en la obtención y mantenimiento de un suficiente número de animales este aspecto tan sólo se ha considerado en las carpas sexualmente maduras.

Los principales objetivos de este trabajo son:

1º- Estudiar la importancia de cada una de las reservas corporales a diferentes períodos de ayuno a corto plazo, así como su interrelación en los principales tejidos (hígado y músculo), y tratar de establecer una secuenciación en la movilización de las mismas.

2º- Estudiar la evolución de los parámetros plasmáticos: glucosa, lactato, proteínas y especialmente la de los aminoácidos libres, ya que la utilización de las proteínas como fuente energética es de especial relevancia en carpa.

3º- Estudiar la evolución de las hormonas pancreáticas durante el ayuno y establecer qué relación presentan con los diversos parámetros plasmáticos y con las reservas energéticas.

4º- Establecer si existe una respuesta diferencial al ayuno en función del estado de madurez sexual.

5º- Estudiar la recuperación de las reservas y de los parámetros plasmáticos, incluyendo a las hormonas pancreáticas, con la realimentación tras un ayuno breve.

6º- Analizar si las respuestas de carpa al ayuno y realimentación pueden incluirse dentro de un modelo generalizado para los vertebrados.

2. MATERIAL Y METODOS

2.1 ANIMALES Y CONDICIONES EXPERIMENTALES

2.1.1 Primer experimento de ayuno y realimentación.

Las carpas provenían del pantano de Sau y se mantuvieron en cautividad doce meses en el estabulario de la facultad. El sistema es de circuito cerrado y consta de 4 tanques de uralita (250L), recubiertos con pintura epoxi para el cultivo de los peces, y dos para la filtración, bombeo y aireación del agua. Se utilizó agua del grifo de clorada y aireada. En esas condiciones la temperatura fluctuó según la del ambiente y el fotoperíodo se mantuvo constante (12 hr. luz). Durante este tiempo se les alimentó con pienso de trucha (Bioter-Biona) a días alternos.

Composición del pienso (%p.f)

Humedad	12%
Proteína bruta	40%
Grasa bruta	7%
Fibra bruta	3%
Carbohidratos	23%

Un mes antes del inicio del experimento (Noviembre) se repartieron uniformemente a razón de 16 carpas por tanque, y se les alimentó con una ración diaria del 2% del peso corporal.

Con el fin de realizar el seguimiento del peso y longitud a lo largo del experimento, dos días antes del inicio del mismo todos los peces fueron marcados convenientemente por incisión en las aletas. El peso medio de las carpas al inicio del experimento fue de $128,5 \pm 3,91$ gr y la longitud de $18,5 \pm 0,16$ cm.

A partir del día 0 (Diciembre) se suprimió el alimento en dos de los tanques. Ocho carpas controles y 8 ayunadas fueron muestreadas los días 1, 2, 5, 8, 19 y 50 del experimento, siendo sacrificados los peces de 1, 8 y 19 días. El grupo ayunado durante

50 días fue realimentado durante los 12 días siguientes a razón del 2% de peso corporal/día con el mismo pienso, sacrificándose los peces tras este período junto con un grupo control. Las carpas control se sometieron a ayuno de 24h. antes del muestreo.

La temperatura del agua aumentó de forma regular durante el experimento, desde 12°C en Diciembre a 16°C en Febrero.

Obtención de muestras:

Los peces eran anestesiados con MS-222 (Sandoz) (0,5gr/L), pesados, medidos e identificados por las marcas de las aletas. A continuación se efectuaba la extracción de sangre por punción caudal, utilizando heparina como anticoagulante. Las carpas no sacrificadas (2, 5 y 50 días de experimento), tras recuperarse de la anestesia, se devolvían a sus tanques respectivos.

Una alícuota de sangre se recogía en microcapilares para la valoración del hematocrito y el resto era rápidamente centrifugada a 3000 rpm durante 10 min. Se separaba el plasma y se repartía en diferentes fracciones para la posterior valoración de los siguientes parámetros plasmáticos: glucosa, insulina, glucagón, lactato, proteínas totales y aminoácidos.

Tras la extracción de sangre, las carpas de 1, 8, 19 y 62 días de experimento (estas últimas con 50 días de ayuno y 12 días de realimentación, en el caso del grupo experimental) se sacrificaban por decapitación y se obtenían las diferentes muestras de tejidos:

- Hígado: Una parte se congelaba rápidamente con nitrógeno líquido. El resto se pesaba en su totalidad para el posterior cálculo de los índices hepato-somático (IHS) y hepato-longal (IHL).
- Músculo Blanco: La muestra para congelar se tomaba siempre del mismo lugar: lado superior izquierdo próximo a la aleta dorsal. Se congelaba lo más rápidamente posible. El resto de la carcasa se congelaba para pesar posteriormente la masa muscular total, una vez separadas piel y

espinas, y poder calcular el índice músculo-somático (IMS) y músculo-longal (IML).

- Gónada: Una fracción se congelaba rápidamente. El resto se pesaba en su totalidad para el cálculo del índice gonado-somático (IGS).
- Cerebro: La cabeza era congelada inmediatamente con nitrógeno líquido. El cerebro se extraía en el mismo momento en que se procesaba la muestra para su posterior análisis.

Los parámetros analizados en hígado, músculo blanco y gónada fueron: glucógeno, lípidos, proteínas, fosfolípidos, P-DNA, agua y cenizas. En cerebro se analizó únicamente el contenido en glucógeno.

2.1.2. Segundo experimento de ayuno.

Las carpas provenían del río Ter (Roda de Ter), fueron pescadas a finales de Diciembre (T^a del agua: 7°C) y adaptadas durante un mes a las condiciones del estabulario de la facultad, de la misma forma que en el experimento anterior. Durante este período fueron alimentadas con el mismo pienso que en el experimento anterior a una ración diaria del 2% del peso corporal.

Los peces se repartieron en 4 tanques a razón de 15 carpas por tanque y fueron marcados para su posterior identificación de la misma forma que en el primer experimento.

El peso medio de las carpas al inicio del experimento fue de $173,8 \pm 3,68$ gr y la longitud de $19,0 \pm 0,15$ cm.

A partir del día 0 (finales de Enero) se suprimió el alimento en dos de los tanques. Todos los peces fueron pesados, medidos e identificados a 1, 8, 19, 35, 50 y 67 días de experimento. Ocho carpas ayunadas y 8 controles fueron muestreados los días 1, 19, 50 y 67 del experimento, siendo sacrificados los peces de 1, 50 y 67 días. Al igual que en el experimento anterior las carpas control no comieron 24 horas antes del muestreo.

Obtención de muestras:

El protocolo de muestreo utilizado fue el mismo que para el primer experimento. Los índices y parámetros analizados en plasma y tejidos fueron los mismos que en el anterior estudio. Por tratarse de carpas inmaduras en su totalidad, con gónadas filiformes (IGS < 0,2%), no se obtuvieron muestras de este tejido.

2.2 TECNICAS ANALITICAS EMPLEADAS

2.2.1. Valoración de parámetros plasmáticos.

Desproteinización del plasma:

Para el análisis de glucosa y lactato, se desproteinizaban 100 μ l de plasma con 500 μ l de HClO₄ al 6,6%. Se agitaba bien el tubo y se centrifugaba 10 min. a 3000 rpm a 4°C. El sobrenadante se neutralizaba con 500 μ l de 4,5N KOH/KHCO₃ 1,5N (12/25 v/v), se agitaba y centrifugaba 15 min. a 3000 rpm a 4°C. Los tubos se mantenían durante todo el proceso en hielo picado. El sobrenadante se repartía en 2 tubos eppendorf, que se guardaban a -27°C hasta el momento de la determinación de glucosa y lactato.

Para la valoración de los aminoácidos plasmáticos se desproteinizaban 100 μ l de plasma con 100 μ l de Sulfosalicílico al 6,7% en HCl 0,1N, se agitaba y se centrifugaba a 8000 rpm durante 30 min. a 4°C. El sobrenadante se congelaba a -80°C hasta el momento del análisis.

Glucosa plasmática:

A partir de alícuotas de 100 μ l de los desproteinizados de plasma se valoró la glucosa según el método enzimático de la glucosa-oxidasa descrito por Werner et al.

(1970) (kit God-Périd de Boehringer Mannheim). Los resultados se expresaron en mg/100ml plasma porque así se encuentran corrientemente en la bibliografía de peces.

Lactato plasmático:

Se valoró a partir de alícuotas de 25 μ l de los desproteinizados de plasma con el kit Test Combination Lactat de Boehringer Mannheim, según la modificación de la técnica enzimática de Bergmeyer hecha por Noll (1974). Los resultados se expresaron en μ moles/ml plasma (mM).

Proteínas plasmáticas:

Se utilizó el método colorimétrico de Lowry et al. (1951), a partir de alícuotas de 10 μ l de plasma. Los resultados se expresaron en gr/100ml plasma.

Insulina plasmática:

La insulina fue valorada en alícuotas de plasma de 10 μ l según el método de R.I.A de Heding (1966) adaptado para peces por Gutiérrez (1984). Se utilizó insulina de bonito (Kodama Lid. Tokio). Esta hormona es yodada por el método enzimático de la lactoperoxidasa (Morrison y Bayse, 1970). El anticuerpo (anti-insulina de bonito) se obtuvo a partir de suero de conejo según el procedimiento de Vaitukartis et al. (1971). Los resultados se expresaron en ng/ml plasma. Este análisis fue realizado por J. Gutiérrez.

Glucagón plasmático:

A la muestra de 100 μ l de plasma para la posterior valoración de glucagón se le añadía Trasylol (500-1000U/ml plasma), un inhibidor de proteasas.

Se valoró según el método de Unger et al. (1961). El glucagón marcado con I²⁵ fue proporcionado por el "National Institute for Biological Standards and Control". El

anticuerpo anti-glucagón (porcino-bovino) fue el 30K de Unger. Los resultados se expresaron en pg/ml plasma. Este análisis fue realizado por J. Gutiérrez.

Aminoácidos plasmáticos:

La valoración de los aminoácidos (AA) se realizó en el "Servei d'anàlisi" de la Fac. de Biología, utilizando un Autoanalizador de aminoácidos (Cromaspek-Hilger): cromatografía de intercambio iónico para la separación y posterior cuantificación y detección por fluorescencia.

Para reducir al máximo los posibles errores de cuantificación se utilizaron dos patrones, uno interno (Norleucina) y otro externo (Solución comercial de AA + Norleucina). A partir de los aminogramas se calculaba la concentración de los AA individuales, expresándolos en μ moles/ml.

2.2.2. Valoración de parámetros tisulares.

Contenido en agua:

Muestras de hígado, músculo blanco y gónada, entre 0,5 y 1gr, se desecaron en la estufa a 100°C durante 24 horas. Los resultados se calculaban a partir de la pérdida de peso, y se expresaron en mg/100mg de tejido fresco.

Cenizas:

A partir de las muestras desecadas se valoró el contenido de cenizas de estos tres tejidos por calcinación de las muestras a 500°C en mufla eléctrica durante 20 horas. Los resultados se expresaron en mg/100 mg peso tejido seco (p.s.). A partir de este resultado y del contenido en agua se calculó el contenido de cenizas en peso fresco (mg/100 mg p.f.).

Glucógeno:

La extracción y purificación del glucógeno se realizó según el método de Good et al. (1933). Es decir, hidrólisis alcalina con KOH al 30% en caliente y posterior precipitación del glucógeno con dos partes de etanol absoluto. La determinación de la concentración de glucógeno en hígado, músculo blanco, gónada y cerebro se realizó por el método colorimétrico de la antrona descrito por Fraga (1956) con algunas modificaciones introducidas por Alemany (1973). Los resultados se expresaron en mg/100mg p.f. del tejido.

Lípidos totales:

La extracción de lípidos se realizó según una variante del método de Folch y col. (1957). Se realizaba la extracción por 3 sucesivos lavados de la muestra (de entre 0,1 y 0,5 gr) con 2 ml de Cloroformo-Metanol (2:1; v/v) y se purificaba posteriormente lavándolo tres veces con 1/5 parte de ClNa 0,7%. Una muestra del extracto de Folch se llevó a sequedad bajo atmósfera de N₂ en un vial previamente pesado y los lípidos fueron calculados por pesada. Los resultados se expresaron en mg/100 mg p.f. del tejido.

Fosfolípidos:

Se valoraron por el método colorimétrico de Fiske y Subbarow (1925), a expensas del fosfato inorgánico liberado durante la digestión con HClO₄ de una alícuota de extracto de Folch llevada a sequedad. Los resultados de la concentración de fósforo de las muestras se multiplicaron por 25 para expresarlos como mg de fosfolípidos/100 mg p.f. del tejido.

Proteínas:

El precipitado protéico del extracto de Folch se sometió a digestión con 10 ml de NaOH 1N a 37°C. Las proteínas del digerido se valoraron por el método colorimétrico de Lowry et al. (1951). Los resultados se expresaron en mg/100 mg p.f.del tejido.

P-DNA:

A partir de alícuotas de 3 ml de la digestión alcalina del precipitado del Folch se precipitó el DNA con un volumen igual de HClO₄ al 20% y posterior lavado con HClO₄ al 10%. El precipitado se sometió a digestión de la materia orgánica con HClO₄ al 70% y se valoró el fósforo inorgánico liberado según el método colorimétrico de Fiske y Subbarow (1925). Los resultados se expresaron en µgPi de ADN/100 mg p.f. del tejido.

2.2.3. Valoración de los aminoácidos del pienso.

Una muestra de pienso de trucha (Bioter-Biona) se trituró y se secó a 100°C. Posteriormente se sometió a digestión alcalina con NaOH 1N. Una alícuota del digerido, correspondiente a 0,3-0,5 mg de proteína, se llevó a sequedad y se hidrolizó al vacío con HCl 6N a 105°C durante 12 horas. Posteriormente se secó y congeló la muestra hasta el momento del análisis. La valoración de los aminoácidos se realizó siguiendo el mismo protocolo que el indicado para los del plasma. En la siguiente tabla se muestra el resultado del análisis del contenido en aminoácidos del pienso.

AMINOACIDOS DEL PIENSO (%p.s.)

ASP	4.1	MET	0.4
THR	1.5	ILE	1.3
SER	1.3	LEU	3.6
GLU	5.7	TYR	1.3
PRO	2.1	PHE	2.0
GLY	2.6	HIS	1.6
ALA	2.5	LYS	2.3
VAL	2.1	ARG	1.5

2.3 EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Todos los datos se han representado como la media \pm error estándar.

El contenido total de reservas, en hígado y en músculo, se calculó a partir del porcentaje de las mismas y de los índices IHS y IMS. De esta forma se homogenizaron los datos expresando el contenido total para un pez de 100 gr. Finalmente se corregía por el aumento o disminución de peso sufrido a lo largo del experimento. Esta forma de expresión de los resultados permitió hacer más comparables los resultados de los dos experimentos de ayuno, anulando las diferencias existentes en el peso inicial de los animales.

El contenido energético de hígado y músculo se calculó aplicando los factores de conversión indicados por Brett y Groves (1979) al total de cada reserva: 4,1; 9,45 y 4,8 Kcal por gr de carbohidratos, lípidos y proteínas, respectivamente.

2.4 TRATAMIENTO ESTADISTICO

Para cada variable estudiada, las diferencias estadísticas entre el grupo control y el grupo ayunado fueron analizadas con el test ANOVA de dos vías (condición, control/ayunado, y día del experimento) y, posteriormente, las diferencias entre todos los grupos se analizaron con el test de rango múltiple de Duncan (Duncan, 1955). También se determinaron las correlaciones entre cada par de variables para el grupo control y el grupo ayunado por separado, así como las regresiones lineales entre el porcentaje de reservas y el contenido en agua de cada tejido o entre ese porcentaje y el peso total del órgano.

Todos estos análisis se realizaron con el ordenador 3083 IBM del centro de cálculo de la Universidad de Barcelona, mediante el paquete de programas BMDP.

3. RESULTADOS

3.1 EFECTOS DEL AYUNO Y LA REALIMENTACION EN CARPAS SEXUALMENTE

MADURAS

3.1.1. Parámetros morfológicos

Debido a la existencia de variabilidad individual en el peso de los ejemplares los cambios de peso corporal así como del índice ponderal o de condición (I.C = $\text{Peso} \times 100 / \text{Long}^3$) se han considerado en valores relativos. Por otro lado, la dificultad de separación por sexos hizo que los grupos no fueran equilibrados entre machos y hembras, considerándolos por tanto en conjunto, aunque en algún caso concreto se harán comentarios con respecto a los sexos.

Peso corporal:

El grupo control aumentó un 10% de peso durante todo el período estudiado (62 días) (Fig.1A). En la tabla 1 se muestran los aumentos relativos en los diferentes grupos, y las pequeñas diferencias observadas entre los distintos períodos pueden ser consecuencia de las diferencias de sexo y tamaño de los peces de cada grupo. Sin embargo, en promedio, podemos hablar de un 0,16% de aumento de peso diario para toda la población control.

Como se observa en la Fig.1A, el grupo ayunado perdió un 17% de peso en 50 días. Sin embargo, la mayor pérdida de peso se produjo durante los primeros días, tal y como se observa en la tabla 1 en los 8 primeros días perdieron 1,09 % diarios, mientras que entre 8 y 19 días sólo perdieron 0,13 gr diarios y, entre 19 y 50 días 0,27 gr diarios. Por lo tanto, podemos concluir que la pérdida de peso durante el ayuno no es proporcional al período de ayuno, sino que hay una reducción importante de su tasa; en consecuencia, se produce una disminución de peso asintótica según progresa el período de ayuno. La transformación logarítmica del peso presenta una relación lineal con los días de ayuno, y la ecuación de regresión de estos datos es:

$$\log \text{Peso} = 1,99765 - 0,00164D \quad (D=\text{días de ayuno})$$

$$r=0,9570; n=42; p<0,001.$$

A partir de esta ecuación, el tiempo necesario para que una carpa de 100 gr disminuya a la mitad de peso es de 184 días (6 meses, aprox.). Ahora bien, para reducir su peso al 75% sólo se precisarían de 75 días en las mismas condiciones.

Tras 12 días de realimentación el grupo ayunado aumentó un 5% de peso, lo que implicaría un aumento relativo de 0,36 gr diarios y por tanto muy superior al incremento de los grupos control en cualquier momento durante el período estudiado.

Indice de condición (I.C.):

Como se refleja en la fig. 1B, este parámetro siguió exactamente las mismas variaciones que el peso corporal. Dado que este parámetro refleja la relación existente entre el peso corporal y la longitud del pez, y puesto que esta última variable sufrió mínimos cambios durante el período estudiado, las variaciones del I.C. responden primordialmente a los cambios de peso.

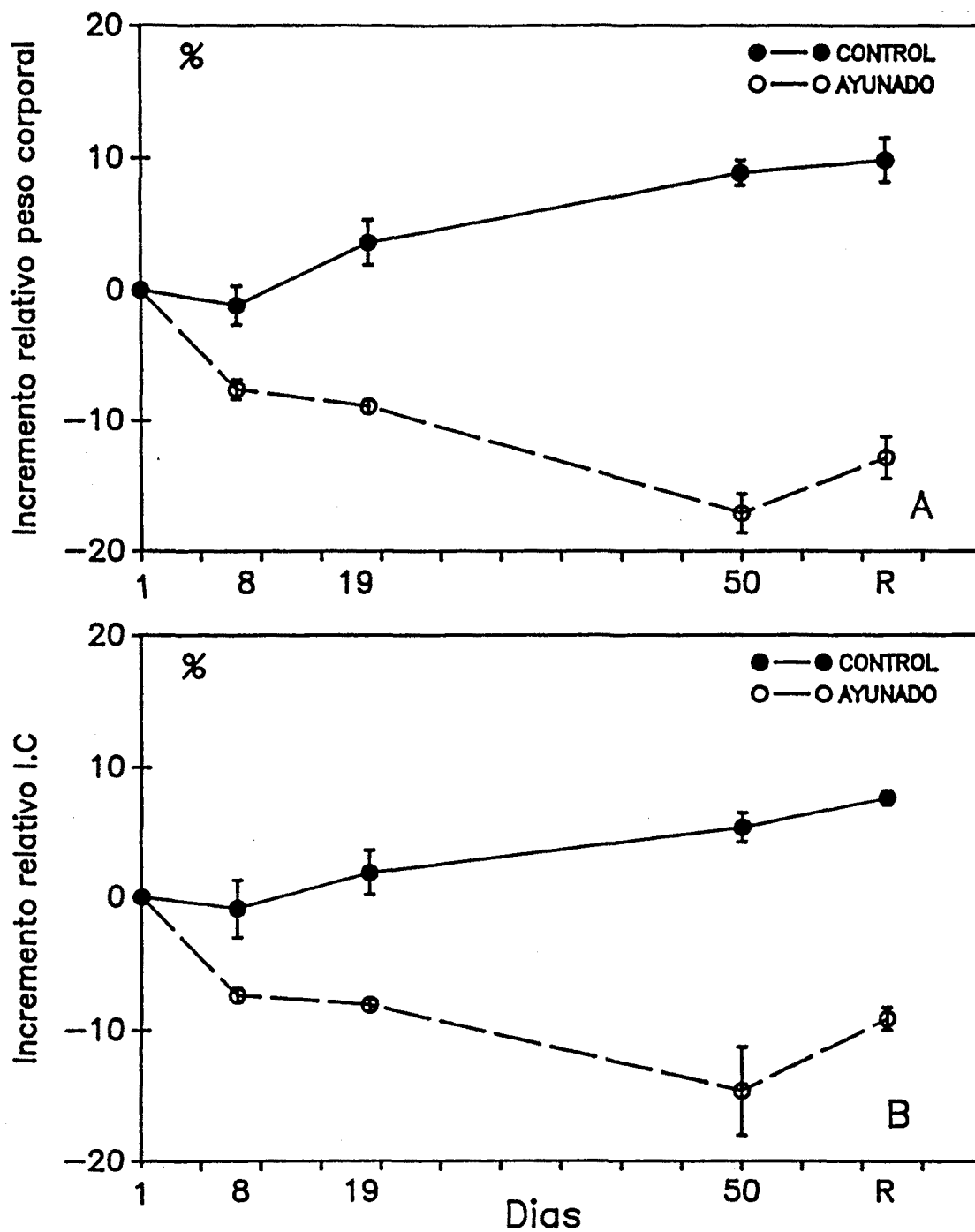


Figura 1.- Variaciones porcentuales del peso corporal total (A) y del Índice de condición (I.C.) (B) a lo largo del ayuno y tras la realimentación. Expresados en Media \pm Error standard de la media. R = realimentados.

Incremento relativo del peso corporal respecto al día 1 (%)

	8	19	50	R
C	-1,15 ± 1,50 (8)	+3,65 ± 1,73 (8)	+8,89 ± 0,94 (6)	+9,87 ± 1,65 (7)
A	-7,60 ± 0,76 (7)	-8,90 ± 0,50 (7)	-17,13 ± 1,50 (7)	-12,84 ± 1,61 (6)

Incremento relativo de peso diario (gr/100gr.pes/día)

	1-8	8-19	19-50	R(12 días)
C	-0,16	+0,23	+0,17	+0,08
A	-1,09	-0,12	-0,27	+0,36

Incremento relativo del I.C. respecto al día 1 (%)

	8	19	50	R
C	-0,86	+1,90	+5,36	+7,63
A	-7,36	-8,09	-14,63	-9,13

Tabla 1. Efecto del ayuno y la realimentación sobre el peso corporal y el Índice de Condición (I.C.), en valores relativos, de carpas sexualmente maduras.

Los valores correspondientes al incremento relativo del peso corporal se han calculado a partir de la siguiente fórmula: $100 \times (\text{peso día } i - \text{peso día } 1) / \text{peso día } 1$. Los resultados corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares se indica entre paréntesis.

3.1.2. Estado de madurez sexual de las carpas.

Indice gonado-somático (IGS):

Dado que *a priori* no se pudieron seleccionar las carpas en función del sexo, la representación de pocos ejemplares de alguno de los sexos en diferentes muestreos hace difícil poder extraer conclusiones sobre el desarrollo gonadal de los individuos y el efecto del ayuno sobre la evolución del mismo. Sin embargo, podemos indicar que se trataba de carpas en pleno proceso de maduración gonadal, con IGS para las hembras superiores a los de machos (♀: 3-5,3%; ♂: 0,4-2,33%) (tabla 2), sin que se observen diferencias significativas entre los controles y los ayunados de cada sexo.

Composición de la gónada:

En la figura 2, se puede observar la composición de la gónada en relación con el desarrollo de la misma (IGS) para cada sexo.

Con respecto a las hembras se observa que la reserva mayoritaria son las proteínas (rango: 10-18%), seguida de los lípidos (0,6-5%) y en menor concentración el glucógeno (0,06-0,6%). Esto hace que tanto proteínas como lípidos presenten una correlación directa con el IGS (Proteínas: $r = 0,859$, $p < 0,001$, $N = 11$; Lípidos: $r = 0,783$; $p < 0,01$, $N = 11$), así como también con la fracción fosfolipídica ($r = 0,793$, $p < 0,01$, $N = 10$).

En la figura 2 también se puede observar como a medida que aumenta el IGS, el porcentaje de agua de la gónada disminuye ($r = -0,888$, $p < 0,001$, $N = 12$); ello responde al intercambio que se produce entre el agua y las tres reservas a medida que aumenta la gónada, ya que tanto glucógeno ($r = -0,786$, $p < 0,01$), como proteínas ($r = -0,939$, $p < 0,001$) y lípidos ($r = -0,686$, $p < 0,05$) se correlacionaron negativamente con el porcentaje de agua de la gónada. También se puede observar que a partir del 5% de IGS no se produce aumento porcentual de las reservas, éstas aumentan como reserva total al crecer la gónada.

Como ya se ha indicado anteriormente, el bajo número de ejemplares dificulta extraer conclusiones sobre los efectos del ayuno en gónada. A partir de los datos obtenidos,

INDICE GONADO-SOMATICO (IGS) (gr gónada/100 gr pez)

	1	8	19	R
CONTROLES				
♂	1,68 ± 0,31 (5)	1,47 ± 0,53 (4)	1,89 ± 0,70 (4)	2,34 ± 0,32 (5)
♀	5,27 (1)	5,15 ± 1,57 (4)	3,01 ± 0,34 (4)	4,71 ± 2,30 (3)
AYUNADOS				
♂	1,68 ± 0,31 (5)	0,40 ± 0,10 (3)	0,97 ± 0,20 (8)	1,47 ± 0,48 (3)
♀	5,27 (1)	3,35 ± 0,49 (4)	- (0)	4,10 ± 2,00 (3)

Tabla 2. Peso relativo de la gónada en los ejemplares de cada muestreo para cada uno de los sexos y condición.

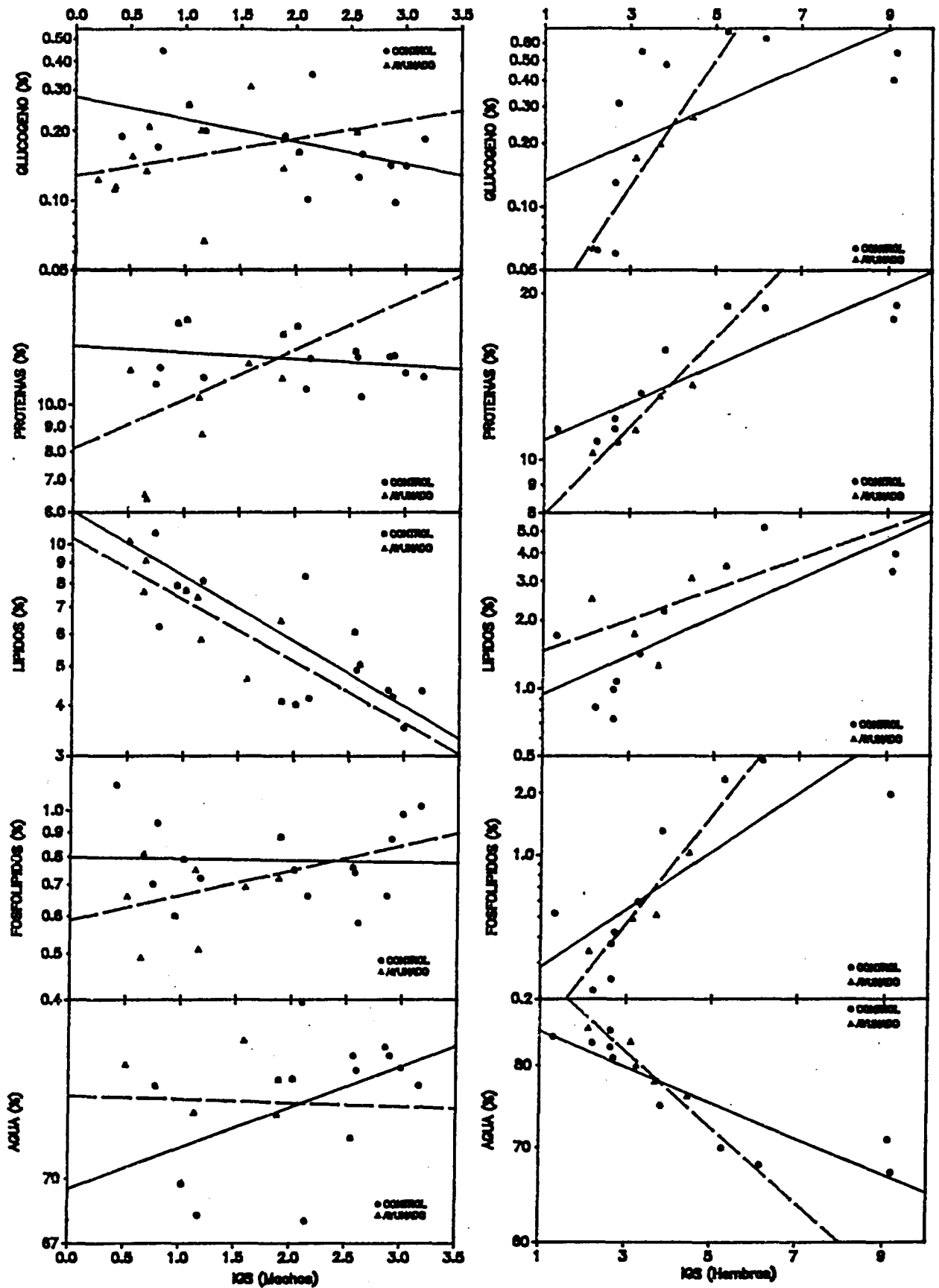


Figura 2.- Relación entre las reservas energéticas de la gónada y el índice gonadosomático para cada sexo y condición. La línea de regresión continua hace referencia al grupo control y la discontinua al grupo ayunado.

se puede observar en la misma figura que la relación de cada uno de los componentes de la gónada femenina con el IGS se mantiene con pequeñas diferencias respecto al grupo control. Así, destaca la correlación directa entre proteínas e IGS ($r = 0,952$, $p < 0,01$, $N = 5$), así como con la fracción fosfolipídica ($r = 0,951$, $p < 0,01$, $N = 5$) y con el glucógeno ($r = 0,977$, $p < 0,01$, $N = 5$). También se puede observar la disminución en el contenido de agua a medida que aumenta el IGS ($r = -0,970$, $p < 0,01$, $N = 5$).

Con respecto a la gónada de los machos se observa (figura 2) que las proteínas representan entre un 8 y un 15%, aunque no tienen relación con el IGS. También en machos se observa que el glucógeno es la reserva minoritaria al igual que en las hembras, con niveles porcentuales más bajos a medida que aumenta el peso de la gónada ($r = -0,508$, $p < 0,05$, $N = 16$). Con respecto a los lípidos se observa que la mayor concentración la presentan los machos con menor desarrollo gonadal; esta reserva disminuye a medida que aumenta el peso de la gónada ($r = -0,754$, $p < 0,001$, $N = 16$); sin embargo la fracción fosfolipídica no presenta relación con el IGS. También se observa que a medida que aumenta el IGS se produce una mayor hidratación de la gónada, aunque el cambio no llega a ser significativo. La correlación negativa entre el porcentaje de agua y los lípidos ($r = -0,637$, $p < 0,05$) indicará que se produce un intercambio entre los dos parámetros. En el grupo ayunado también se observó la relación inversa entre lípidos e IGS ($r = -0,749$, $p < 0,01$, $N = 12$), sin que existan diferencias destacables en el resto de reservas con las del grupo control.

Por lo tanto, la diferencia más destacable entre las gónadas de ambos sexos es que mientras que el IGS en hembras se correlaciona positivamente con el porcentaje de las tres reservas, en machos no es así. Posiblemente ello responda a que en los machos de esta especie el proceso de espermatogénesis se mantiene activo a lo largo de todo el ciclo anual, no así la gametogénesis de las hembras.

Por otro lado podemos afirmar que la gónada no es afectada de forma destacable por el ayuno, al menos en el período considerado, y que por tanto no se produce involución gonadal. Es decir, que a pesar del ayuno, las carpas siguen el desarrollo gonadal, lo cual implicará una mayor demanda energética durante este experimento de ayuno.

3.1.3. Parámetros en sangre y plasma.

Hematocrito:

El rango de valores observado (26,6-32,3%) en el grupo control (Fig. 3A) concuerda con los observados en esta especie en experiencias anteriores en la misma época (Diciembre).

El grupo ayunado presentó un ligero aumento del hematocrito a los 5 días de ayuno y a partir de ese momento fue disminuyendo paulatinamente, siendo los valores a 19 y 50 días de ayuno inferiores a los del grupo control, pero sin diferencias significativas.

La disminución del hematocrito a consecuencia del ayuno podría estar relacionada con la disminución de actividad de estos peces y, por tanto, del consumo de oxígeno.

Puesto que las diferencias observadas en los grupos estudiados no son significativas podemos considerar que éstas no alteran en ningún modo los valores de los parámetros plasmáticos.

Proteínas plasmáticas:

Los niveles de proteínas plasmáticas en el grupo control fluctuaron a lo largo del experimento entre 3,20 y 4,9 gr/100 ml. de plasma (Fig. 3B), observándose una disminución significativa entre 5 y 8 días ($p < 0,01$), e incrementos sucesivos a 19 ($p < 0,01$) y 50 días de experimento ($p < 0,01$). Los valores máximos se observaron a los 50 días de experimento.

El grupo ayunado presentó niveles inferiores a los del grupo control en todo el período de ayuno (2,8-3,4 gr/100 ml.) pero sin cambios significativos entre los períodos de ayuno. A consecuencia del aumento observado en el grupo control, los valores observados en el grupo ayunado a 5, 19, 50, y en el grupo realimentado fueron significativamente inferiores ($p < 0,01$) a sus respectivos controles.

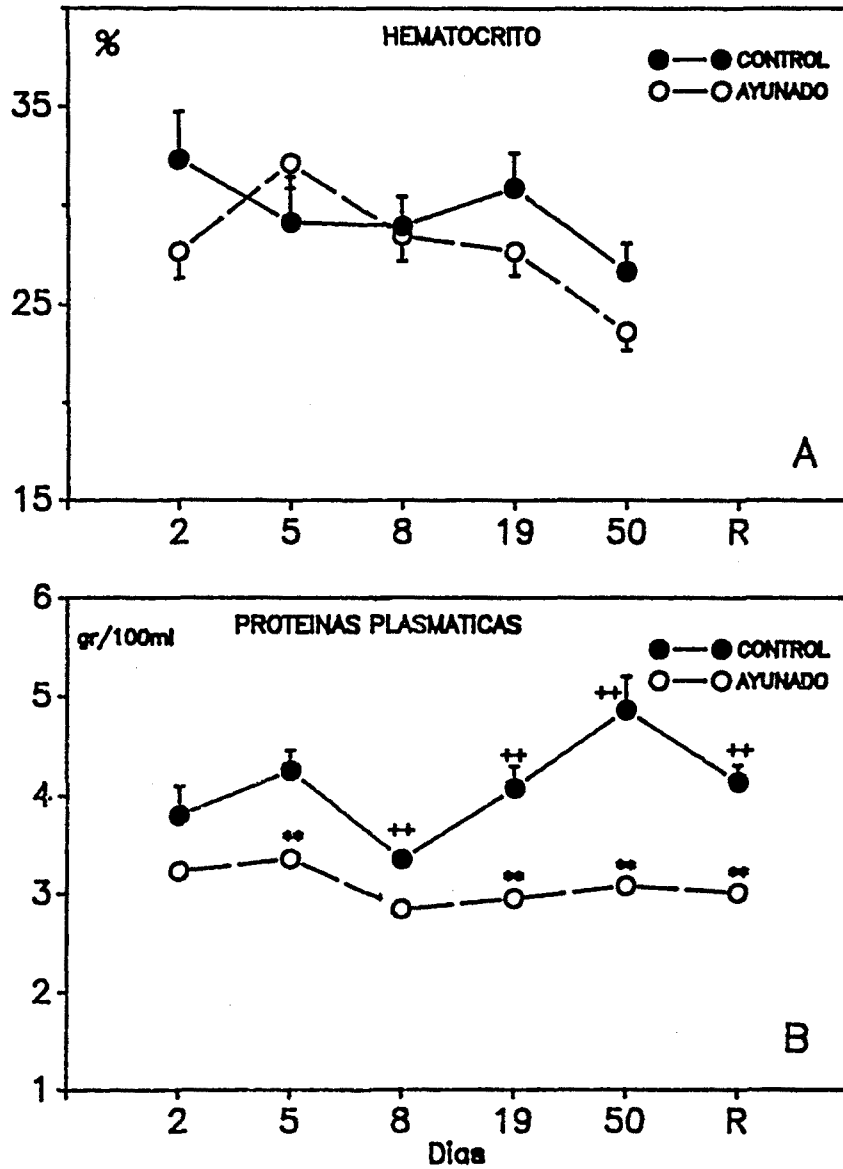


Figura 3.- Variaciones del hematocrito (A) y de las proteínas plasmáticas (B) a lo largo del ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = realimentados. Niveles de significación: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Glucosa en plasma:

Como se observa en la Fig. 4, el grupo control presentó niveles constantes hasta los 8 días de experimentación (30-32 mg/100 ml.), observándose a continuación un ligero aumento de estos valores (37-43 mg/100 ml.). No se observaron diferencias significativas entre estos grupos.

En los peces ayunados este parámetro sufrió cambios importantes. Tras 2 días de ayuno los niveles aumentaron un 40% respecto al grupo control, siendo este incremento máximo a los 5 días de ayuno (un 78% mayor; $p < 0,01$). Posteriormente los niveles de glucosa plasmática disminuyeron significativamente ($p < 0,01$), observándose niveles similares a los del grupo control (29,5 mg/100 ml.) a los 8 días de ayuno. Tras 19 y 50 días de ayuno los niveles de glucosa no se modificaron significativamente respecto a los observados a 8 días. Sin embargo, a consecuencia del aumento de la glucemia del grupo control al final del período de experimentación, los niveles de este parámetro en el grupo ayunado (50 días) fueron un 40% más bajos que los del grupo control, siendo esta diferencia significativa ($p < 0,01$).

Tras 12 días de realimentación los niveles de glucosa plasmática se recuperaron significativamente ($p < 0,05$) alcanzando los niveles del grupo control en ese momento.

Lactato en plasma:

Los niveles de lactato en plasma en el grupo control (fig. 5) no presentaron modificaciones destacables en todo el período de experimentación. En general podemos hablar de niveles bajos (1,6-2,1 mM) o similares en comparación a otros teleósteos.

El grupo ayunado presentó niveles ligeramente superiores al grupo control a 2 y 5 días de ayuno, sin diferencias significativas, y un descenso significativo ($p < 0,01$) a los 8 días. A partir de este momento los niveles permanecieron estables pero siempre por debajo de los niveles control. Los cambios observados en este grupo recuerdan lo indicado para la glucosa, observándose una importante correlación directa ($r = 0.5731$, $p < 0,01$, $N = 40$) entre estos dos parámetros.

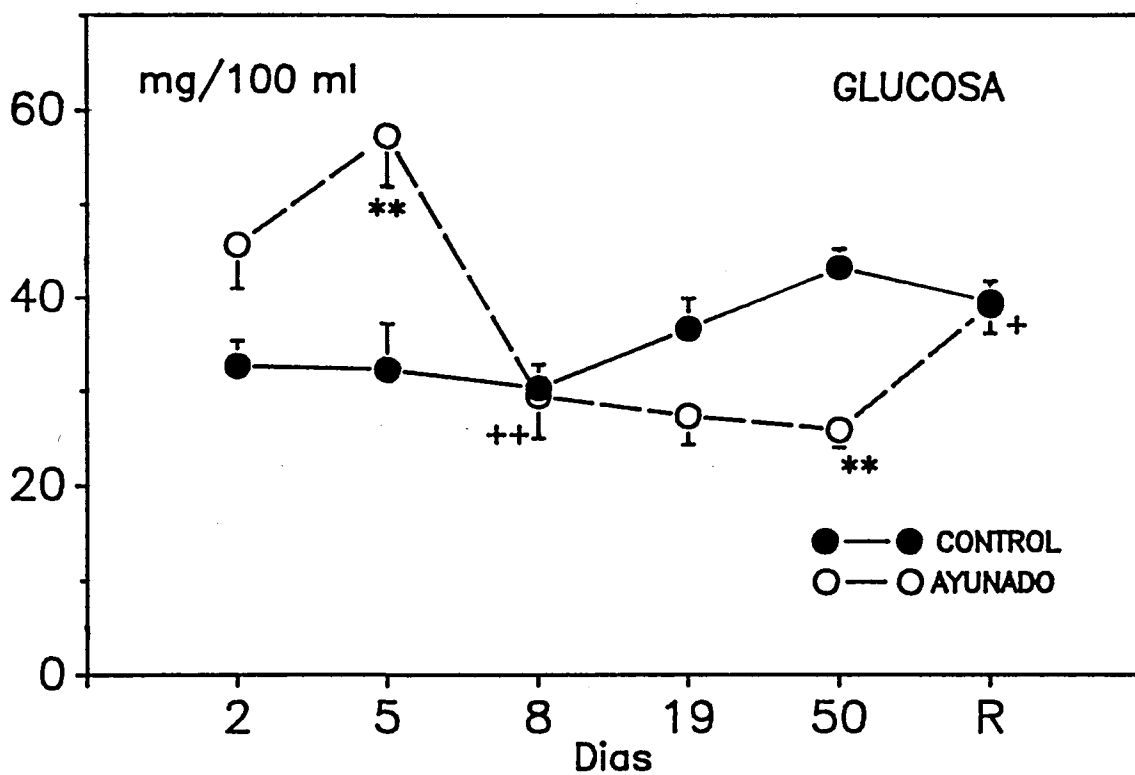


Figura 4.- Cambios en la concentración de glucosa plasmática durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

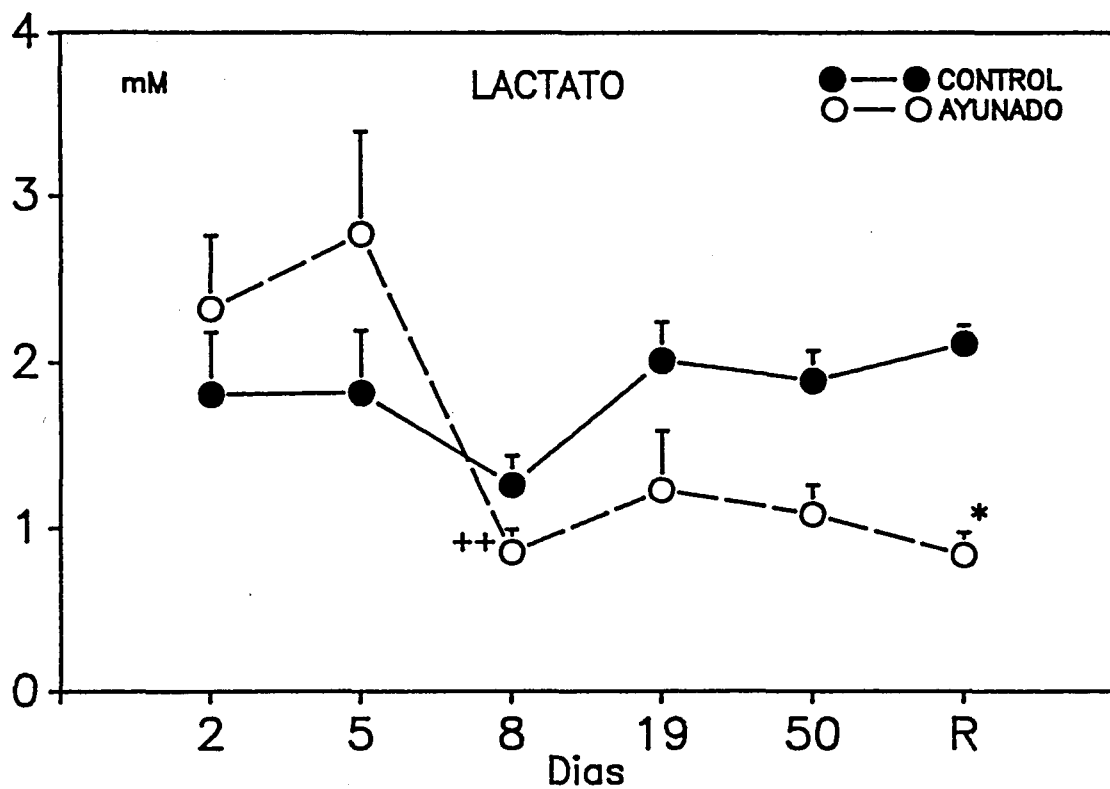


Figura 5.- Cambios en la concentración de lactato en plasma durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). Realimentados = R. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Tras el período de realimentación estos niveles no se recuperaron y se observaron niveles significativamente inferiores ($p < 0,05$) a los del grupo control, siendo diferente a lo que ocurría con la glucosa plasmática.

Insulina plasmática:

Los niveles de insulina en plasma (fig. 6) del grupo control aumentaron durante el período de experimentación (4,05-6,4 ng/ml), aunque tan solo se observó un aumento significativo entre 5 y 8 días de experimento. Estos niveles son similares a los observados en esta época en el estudio del ciclo anual de esta especie (diciembre-enero: 5,5 ng/ml).

La disminución de este parámetro en el grupo ayunado fue muy acusada (a 2 días: 3,1 y a 50 días: 2,2 ng/ml). Así, a tan solo 2 días ya se observó una disminución de los niveles de insulina (-28%) respecto al grupo control y tras 5 días de ayuno la diferencia fue del 44%. A los 8 días de ayuno los niveles de este parámetro fueron significativamente inferiores a los del grupo control ($p < 0,01$). Tras 50 días de ayuno los niveles de insulina representaron un tercio ($p < 0,01$) de los del grupo control.

La respuesta de la insulina a la realimentación fue, asimismo, importante. El aumento de los niveles de insulina tras 12 días de realimentación fue significativo ($p < 0,05$) y prácticamente alcanzaron los niveles del grupo control.

El aumento progresivo de esta hormona en el grupo control estaría en relación con el crecimiento de los peces y con los procesos anabólicos implicados, y también en relación con la preparación de estos peces a la reproducción. Por otro lado, la disminución de esta hormona a lo largo del ayuno favorecería la liberación de sustratos energéticos indicando también la disminución de los procesos anabólicos (proteosíntesis, lipogénesis). Esta hormona responde rápidamente a la entrada de alimento y, por tanto, su recuperación tras la realimentación estaría totalmente ligada a la recuperación de reservas y a la reparación de tejidos (proteosíntesis).

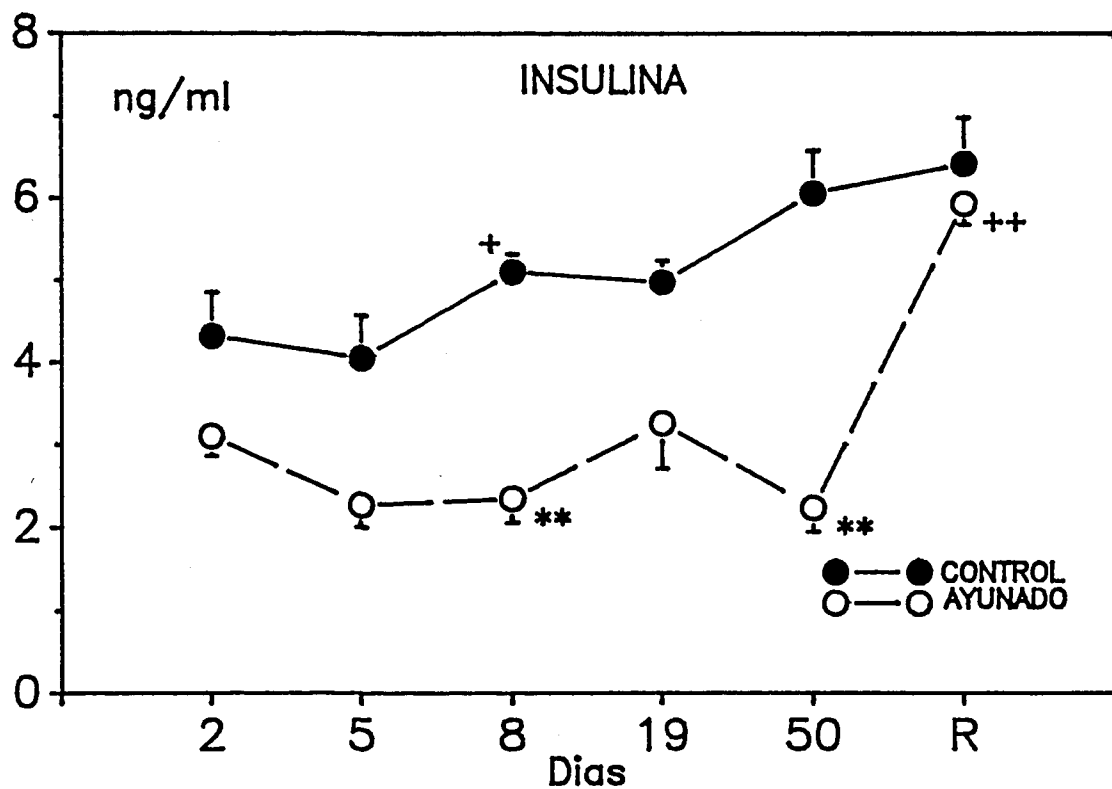


Figura 6.- Cambios en la concentración de insulina plasmática durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Glucagón plasmático:

Los niveles de glucagón plasmático en el grupo control se mantuvieron estables a lo largo del experimento (fig. 7) y se encuentran dentro del rango descrito para esa especie (800 pg/ml).

Con tan solo 2 días de ayuno, esta hormona disminuyó un 50%, siendo significativa esta diferencia respecto a su grupo control ($p < 0.05$). A 5, 8 y 19 días los niveles de glucagón siguieron disminuyendo, siendo significativamente inferiores a sus respectivos grupos control ($p < 0,01$). Los valores observados tras 50 días de ayuno son extraordinaria y significativamente inferiores (145 pg/ml; $p < 0,05$) a los controles.

Los peces realimentados incrementaron significativamente los niveles de glucagón en plasma ($p < 0,01$), pero fueron un 37% inferiores a los del grupo control.

Relación molar glucagón/insulina:

Al inicio del experimento la relación molar entre ambas hormonas (fig. 8) fue similar a la observada por nosotros en estudios anteriores en la misma época (0,3).

Como refleja la figura, la relación Glucagón/Insulina en el grupo control tras 50 días de experimento fue significativamente inferior ($p < 0,05$) a la observada a 19 días, a consecuencia del aumento de insulina observado al final del estudio.

En el grupo ayunado esta relación fue significativamente inferior a los grupos control a 8, 19 ($p < 0,001$) y 50 días ($p < 0,01$) de ayuno.

Tras la realimentación la relación molar de estas dos hormonas, aunque inferior, no fue significativamente diferente de su grupo control.

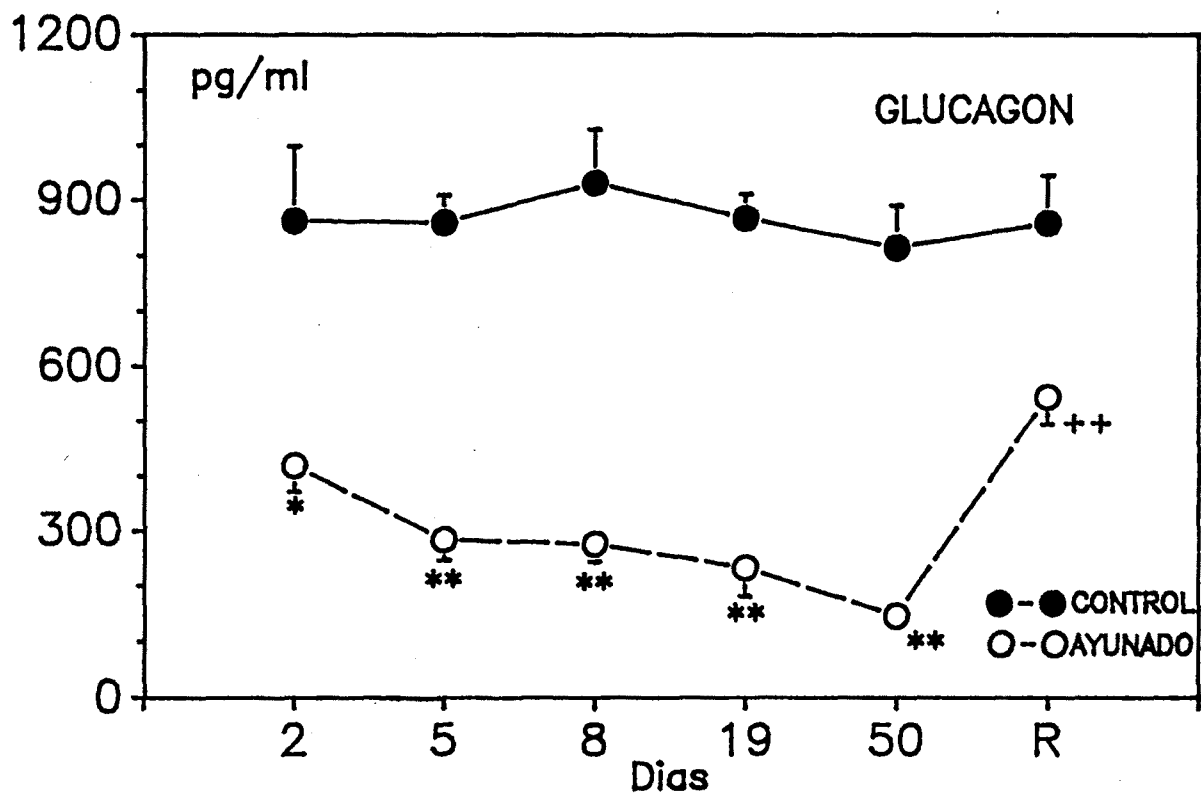


Figura 7.- Cambios en la concentración de glucagón plasmático durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

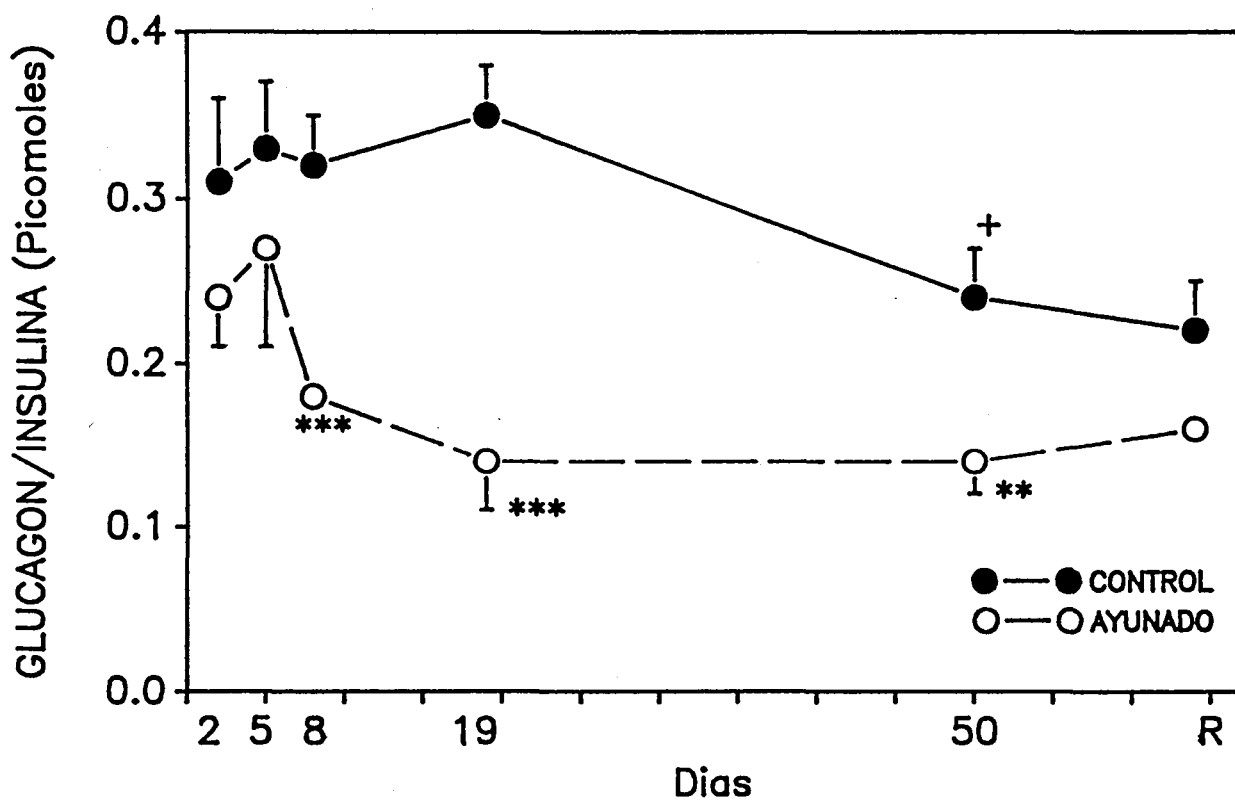


Figura 8.- Cambios en la relación molar glucagón/insulina durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Aminoácidos en plasma:

Los niveles de los aminoácidos plasmáticos (aa) en el transcurso del ayuno se muestran en las tablas 3A y 3B. Los niveles de aminoácidos esenciales (EAA), no esenciales (NEAA) y totales (EAA+NEAA) se calcularon a partir de los valores individuales y se incluyen en las mismas tablas.

Los aa plasmáticos del grupo control no presentaron variaciones importantes en el transcurso del período experimental. Por lo cual, consideramos que estos niveles reflejan el perfil característico de los aa en plasma de carpa en nuestras condiciones experimentales (24hr. de ayuno, momento del año, temperatura, tipo de dieta, etc.)

Los EAA en plasma representan entre el 65 y el 71% del total de aa, y de ellos los más abundantes son los de cadena ramificada (Leu, Ile, Val) (55-65% de los EAA). El aa mayoritario entre los NEAA es la Pro (31-32%).

Los niveles de EAA en plasma a 24 horas de ayuno de todos los grupos control presentan una correlación positiva ($r=0,826$; $p<0,01$) con la concentración de esos aa en la dieta (fig. 9), mientras que no existe correlación entre los NEAA ($r=0,384$; N.S.).

En la fig. 10 se pueden observar los cambios en los niveles de EAA y NEAA durante el ayuno. A tan sólo 2 días se produjo una disminución del 28% en el nivel de aa totales, principalmente como consecuencia de una fuerte y significativa ($p<0,05$) disminución de los EAA (-37% respecto al grupo control). Estos niveles se mantuvieron a 5 y 8 días de ayuno, y fueron significativamente inferiores ($p<0,01$) respecto a sus grupos control. La disminución de los aa de cadena ramificada (fig. 11) en un 44% respecto al grupo control fue la más destacable a 5 días de ayuno ($p<0,01$).

El grupo de NEAA no presentó cambios significativos durante los días iniciales de ayuno, pero es interesante resaltar que el único aa de este grupo que incrementó significativamente ($p<0,05$) fue la Ala a 5 días de ayuno (+110% respecto a los 2 días) y que los niveles de este aa fueron significativamente superiores ($p<0,05$) a los del grupo control (fig. 12).

Tras 19 días de ayuno se observó un gran incremento ($p<0,01$) de los niveles de aa totales (+87% respecto a 8 días de ayuno). Aunque el aumento se produjo tanto en los niveles de EAA ($p<0,01$) como en el de los NEAA ($p<0,05$), el incremento de

TABLA 3A: NIVELES DE AMINO ACIDOS ESENCIALES EN PLASMA (μ M) DURANTE EL AYUNO Y TRAS LA REALIMENTACION

AA	Días 2			5			8			19			50			R
	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	
THR	191.42 38.65	126.07 27.56	251.25 40.03	98.49* 26.01	200.50 43.72	134.61 21.94	234.55 18.83	349.10 45.20	277.80 28.17	215.44 25.52	502.30+ 60.23	282.40* 32.22				
VAL	277.33 21.54	159.15* 13.96	350.87 33.02	187.29** 7.98	381.12 25.32	200.14** 30.05	329.83 15.02	387.86** 18.54	306.24 26.58	187.07** 12.09	364.34 13.02	390.42** 36.90				
MET	35.27 4.87	24.48 2.75	35.54 2.83	26.87 2.67	29.44 2.51	43.64** 4.27*	29.50 1.83	68.70** 5.85**	20.34 1.90	15.94** 1.47	29.99 2.95	27.28 4.86				
ILE	173.19 20.38	85.10 8.82	244.41+ 36.30	105.13** 6.71	265.44 26.53	126.16** 19.07	230.20 15.26	270.64** 15.99	228.17 28.11	280.10 14.38	273.40 24.98	247.30 24.23				
LEU	315.09 21.23	196.06 22.01	393.92 41.82	236.09** 14.29	423.63 21.58	255.49** 38.75	380.66 14.53	548.12** 27.16	379.18 13.20	556.04** 34.89	432.10 32.80	318.98** 32.35				
PHE	62.32 10.33	21.09** 4.52	65.32 6.14	44.67 4.17	53.16 6.98	54.09 5.74	53.32 3.89	70.66 3.54	36.78 4.84	63.81** 2.19	59.40 5.21	65.98 7.14				
HIS	92.36 10.91	72.93 3.78	100.88 5.81	91.53 4.08	80.12 5.90	90.14 6.83	97.23 5.60	133.09** 11.70	151.60 9.87	151.87 17.25	149.73 9.46	102.13 5.27				
LYS	190.71 25.29	156.63 19.55	177.03 10.84	185.44 16.99	168.02 14.72	140.07 23.54	184.24 7.52	311.79** 29.03	198.95 11.74	171.78** 16.75	233.38 17.52	178.60 14.41				
ARG	64.55 18.61	38.05 7.46	70.48 11.81	48.26 9.22	61.93 4.47	61.45 6.86	72.18 6.30	113.65** 8.50	85.92 13.87	76.56 6.24	93.68 12.37	119.28 31.22				
Σ AA	1394.40 113.50	877.90* 92.43	1663.60 138.70	1031.70* 53.14*	1638.70 119.50	1113.90* 120.20*	1621.90 68.53	2226.40+ 90.86+	1659.30 86.41	1710.18 71.60	2239.40 129.60	1742.30 118.80				

R = realimentados; C = grupo control; A = grupo ayunado. Σ EAA = aminoácidos esenciales
 Datos expresados en Media y debajo E.M.S. Número de animales = 8 para cada grupo. Niveles de significación para el
 Test de rango múltiple de Duncan:

Respecto al grupo control: * p<0.05, ** p<0.01.
 Respecto al momento anterior: + p<0.05, ++ p<0.01.

TABLA 3B: NIVELES DE AMINO ACIDOS NO ESENCIALES EN PLASMA (μM) DURANTE EL AYUNO Y TRAS LA REALIMENTACION

AA	Días 2			5			8			19			50			R
	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A		
ASP	10.67 2.17	11.78 1.30	12.69 2.63	12.49 1.50	11.81 3.10	6.96 0.59	16.80 2.06	11.08 0.34	23.87 3.39	39.89++ 5.96	26.27 1.73	34.80 6.84				
SER	79.95 14.50	69.25 10.03	127.21 16.88	64.41** 12.22	85.58 6.18	72.99 12.12	105.12 7.30	121.10 5.77	115.29 11.11	102.02 10.35	163.64 25.67	131.65 21.34				
ASN	32.18 4.11	21.50 15.75	37.35 14.83	11.95 5.99	29.67 4.51	32.27 9.72	24.19 3.77	65.18* 6.14	15.58 2.01	37.08 6.60	21.52 2.48	16.85 7.08				
GLU/GLN	111.50 9.74	133.09 37.55	100.58 16.58	128.06 15.19	49.14 4.13	176.62** 28.74	82.26 6.84	370.66** 28.20++	77.52 9.68	164.39++ 17.29*	121.06 37.75	50.12++ 13.79				
PRO	331.74 115.78	37.43* 9.07	265.29 49.29	65.39* 10.14	274.05 58.29	86.41* 21.43	247.66 32.29	104.51 17.65	131.55 27.03	106.30 25.55	355.25++ 101.59	123.50** 40.72				
GLY	128.49 16.40	160.89 20.06	108.92 12.84	44.29+ 4.68	84.19 16.17	69.49 9.64	130.50 10.13	99.53 24.46	166.82 17.55	122.91 25.26	276.19+ 16.82	186.35* 33.74				
ALA	151.22 38.77	112.38 12.38	133.29 24.56	236.57*+ 32.80	116.65 22.81	204.12* 17.98	146.14 12.75	223.97* 13.53	165.56 21.06	154.78 20.95	296.18 39.30	143.66** 18.62				
CIT	21.97 6.53	28.90 7.06	25.44 8.68	10.54 0.93	17.04 10.66	21.65 3.95	27.79 3.14	69.55++ 11.18	35.01 3.09	22.76++ 2.97	39.89 4.26	38.56 1.20				
TYR	32.45 7.27	15.48 5.59	25.12 3.91	25.12 2.98	19.64 3.57	27.89 2.91	24.55 2.02	39.54 1.82	23.39 2.67	54.60** 4.74	26.95 3.99	16.45++ 2.55				
ORN	44.80 6.54	43.76 8.35	57.88 8.13	35.33 5.17	48.91 7.59	41.88 6.02	43.04 3.97	72.92++ 7.32	24.30 3.02	54.52** 6.08	44.49 7.89	46.19 6.29				
Σ NEAA	632.30 86.99	590.60 133.40	647.30 74.30	446.40 63.70	543.50 58.90	667.20 61.56	796.10 50.21	1062.30+ 95.93	771.50 86.40	787.60+ 71.30	1214.80+ 116.70+	776.50* 124.60*				
$\Sigma\alpha$ -AA	2060.50 199.80	1491.97 212.71	2337.70 182.10	1486.30 96.56	2193.80 164.50	1828.90 147.60	2496.20 110.28	3423.40+ 188.40+	2529.80 131.70	2603.70 110.20	3662.50+ 148.30	2700.10* 219.30				
TAU	254.55 29.97	320.65 34.10	208.37 32.78	210.59 23.68	240.37 42.85	223.72 42.53	235.34 25.43	237.82 49.58	239.59 47.32	1329.54+ 281.95+	382.71 91.38	578.75++ 145.99				

R = realimentados. C = grupo control; A = grupo ayunado; Σ NEAA = aminoácidos no esenciales;
 $\Sigma\alpha$ -AA = Total α -aminoácidos. Datos expresados en Media y debajo E.M.S. Símbolos como en la tabla 3A.

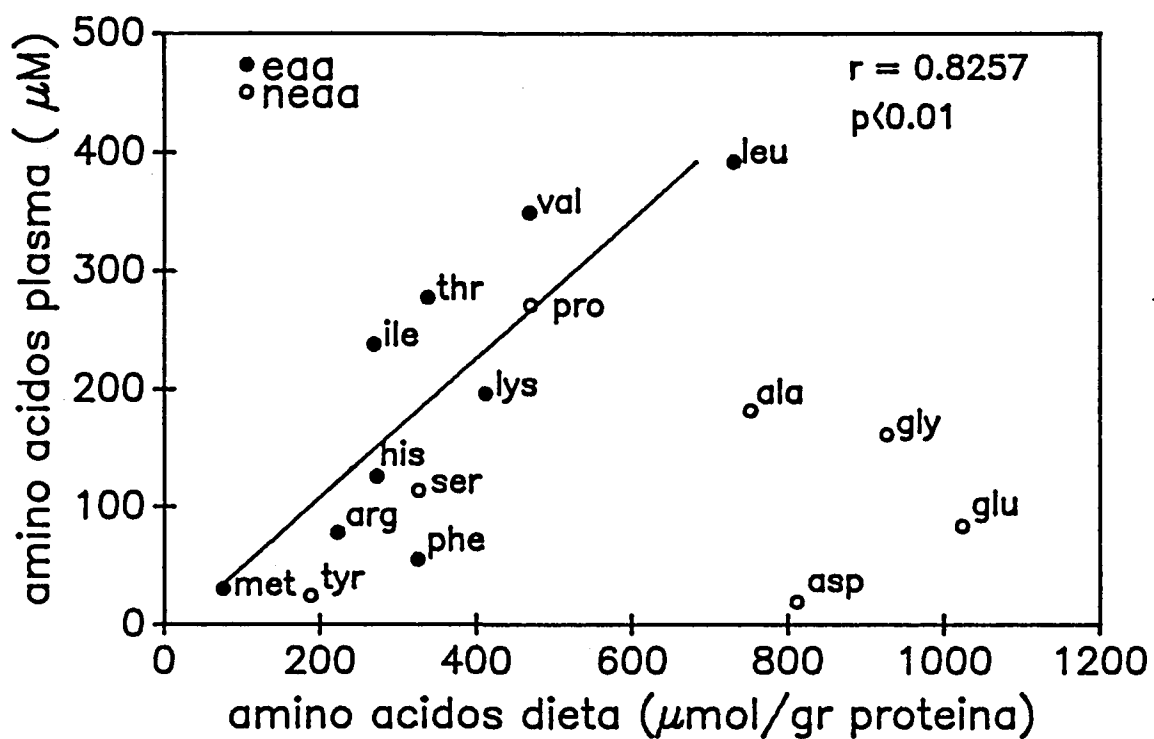


Figura 9.- Relación entre la concentración de aminoácidos libres en plasma a las 24 horas de ayuno y el contenido de aminoácidos de la dieta. La recta de regresión está referida a los aminoácidos esenciales. eaa = aminoácidos esenciales; neaa = aminoácidos no esenciales.

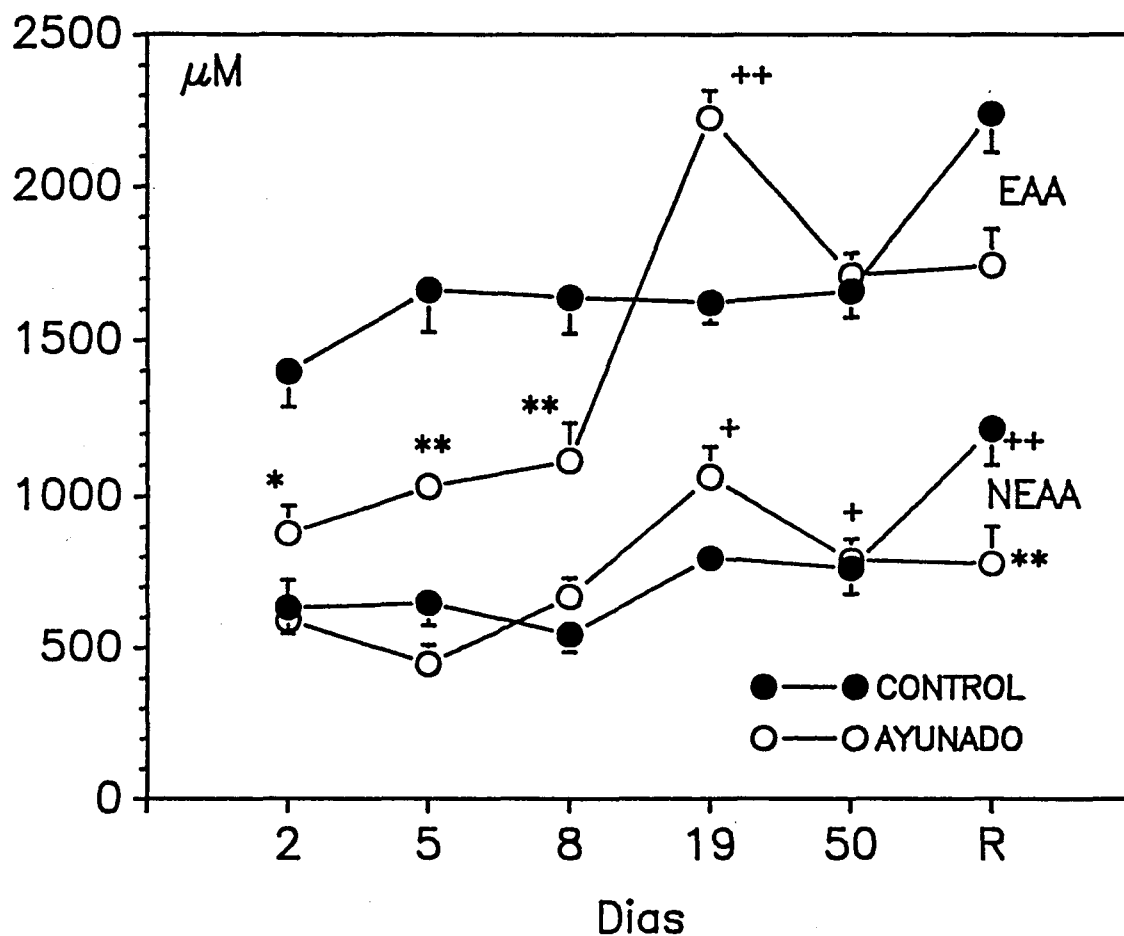


Figura 10.- Variaciones en la concentración de aminoácidos esenciales (EAA) y no esenciales (NEAA) en plasma durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

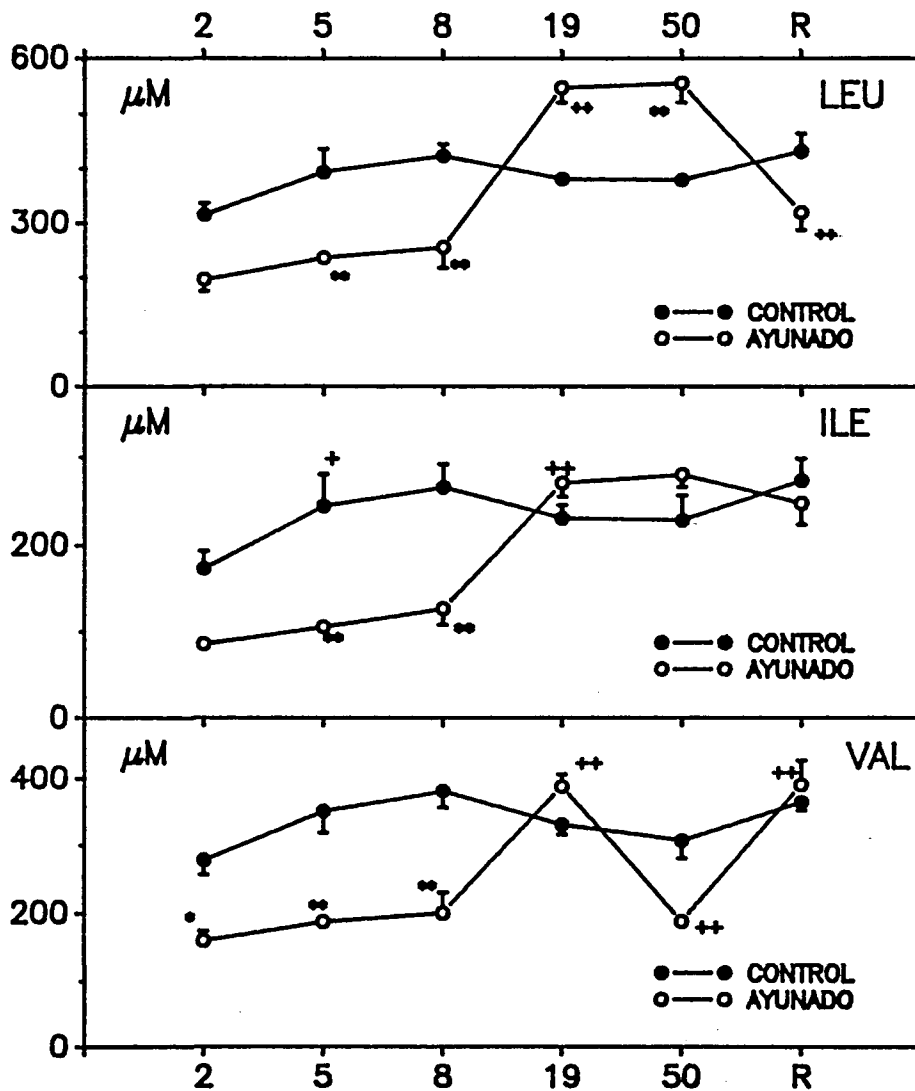


Figura 11.- Variaciones en las concentraciones de los aminoácidos de cadena ramificada durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

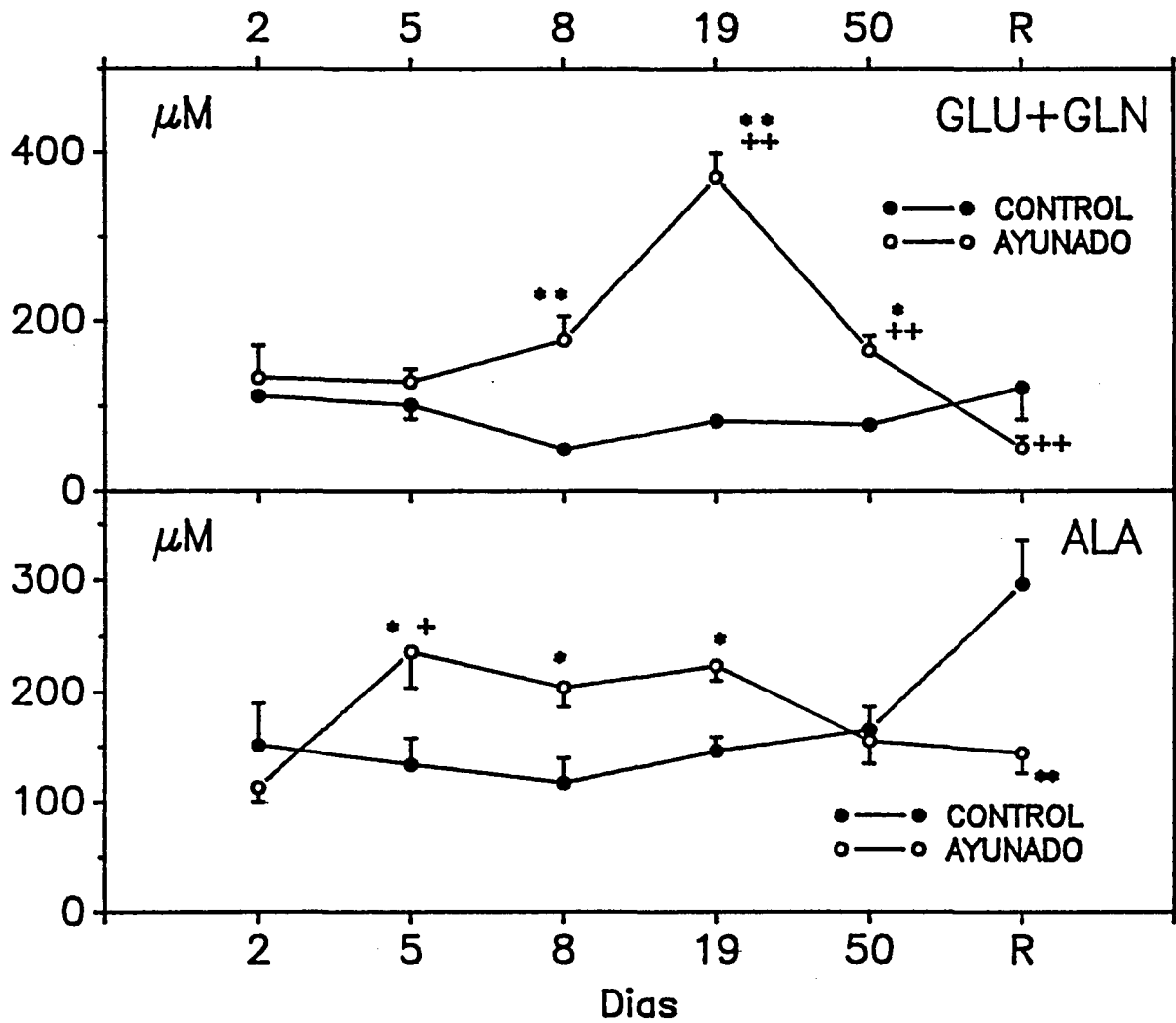


Figura 12.- Variaciones en la concentración de Glu/Gln y Ala durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

los primeros fue más importante (+100%) debido al significativo aumento de los aa de cadena ramificada (+107%), de la Thr (+159%), la Lys(+123%) y la Arg (+85%).

Dentro del grupo de los NEAA, destacó el aumento de Glu-Gln ($p < 0,01$) a 8 días de ayuno (+38% respecto el 5º día) y que fue máximo a los 19 días (+110% respecto a 8 días) (fig. 12). Por tanto los niveles de Glu-Gln a los 19 días representaban dos veces y media más de los del grupo control. Como ya se ha indicado la Ala fue el único aa que presentó niveles superiores a los 5 días de ayuno y se observó que los mantuvo a 8 y 19 días de ayuno, con lo cual fue el único aa que no mostró un fuerte incremento a los 19 días de ayuno.

A los 50 días de ayuno se observó una disminución proporcional de los EAA y NEAA (-25% respecto a 19 días), alcanzando en este momento niveles similares al grupo control. Entre los EAA, los únicos que no disminuyeron fueron Leu e Ileu. Glu-Gln disminuyó significativamente ($p < 0,01$), pero se mantuvo por encima del grupo control ($p < 0,05$).

La realimentación no modificó los niveles de EAA y NEAA observados a 50 días de ayuno. Sin embargo, los niveles de aa totales fueron inferiores a los de su grupo control, ya que este último presentó niveles significativamente ($p < 0,05$) superiores respecto al grupo control anterior.

3.1.4. Efectos del ayuno y la realimentación sobre el hígado.

Indice hepato-somático (IHS) e Indice hepato-longal (IHL).

La relación entre el peso del hígado y el peso corporal sufrió importantes modificaciones a lo largo del período estudiado, tanto en el grupo ayunado como en el grupo control.

Como se observa en la tabla 4, el grupo control presentó un aumento importante de este índice en el transcurso del experimento. Entre 8 y 19 días se produjo un aumento significativo ($p < 0,01$), del orden del 35%. Por tanto, aunque el peso corporal aumentó en este período el incremento del peso del hígado fue proporcionalmente más importante.

INDICE HEPATO-SOMATICO (IHS) (gr hígado/100gr pez)

	1	8	19	R
C	1,59 ± 0,14 (8)	1,81 ± 0,09 (8)	2,45 ± 0,20++ (8)	2,38 ± 0,20 (8)
A		1,20 ± 0,11** (8)	1,09 ± 0,08** (8)	1,93 ± 0,15* (8) ++

INDICE HEPATO-LONGAL (IHL) (gr hígado/cm pez)

	1	8	19	R
C	0,11 ± 0,01 (8)	0,14 ± 0,01 (8)	0,18 ± 0,02+ (8)	0,18 ± 0,02 (8)
A		0,07 ± 0,01** (8) +	0,06 ± 0,01** (8)	0,14 ± 0,01* (8) ++

Tabla 4. Efecto del ayuno y la realimentación sobre el peso relativo del hígado de carpas sexualmente maduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

Evidentemente este aumento deberá responder a un importante acúmulo de reservas, indicando su importancia como órgano de reserva.

A los 8 días de ayuno se observó una disminución en el IHS del 25% con respecto al momento inicial y significativa respecto a su grupo control ($p < 0,01$). Sin embargo, tras 19 días de ayuno disminuyó tan sólo un 9% respecto al momento anterior, siendo significativamente inferior ($p < 0,01$) a su grupo control. Estos resultados nos indican *a priori* la existencia de una importante movilización de reservas en los 8 primeros días de ayuno y una estabilización posterior.

Los peces realimentados presentaron un significativo incremento ($p < 0,01$) del IHS respecto a los peces ayunados observándose índices superiores a los del momento inicial del experimento. Es interesante resaltar que la tasa de incremento del IHS con la realimentación fue mayor que en los controles en cualquier momento del experimento, sin embargo el valor de IHS era todavía más bajo ($p < 0,05$) que el de su grupo control.

Los resultados comentados para el IHS también quedan reflejados cuando se expresa el peso del órgano en función de la longitud del pez (tabla 4) e incluso son más drásticos ya que la longitud sufre cambios mínimos como consecuencia del ayuno.

Reservas hepáticas

Glucógeno:

La concentración de glucógeno hepático en las carpas control fue muy elevada (12,8-15,9%) y coincide con los valores observados por otros autores en esta misma época; en los 8 primeros días de experimento se observó un aumento significativo ($p < 0,05$) de los niveles de glucógeno expresados como porcentaje del peso fresco de hígado (fig. 13) y también en peso seco (Tabla 5). Estos niveles se mantuvieron constantes hasta el final del período estudiado. Sin embargo, cuando expresamos el contenido de glucógeno en el total del órgano (Tabla 5), se observa un aumento significativo ($p < 0,01$) entre 8 y 19 días, coincidiendo con el aumento del IHS. Por tanto, mientras el porcentaje de reserva en este período se mantiene constante, se observa un aumento importante del tamaño del órgano. Esto se pone de manifiesto al observar el contenido de glucógeno celular,

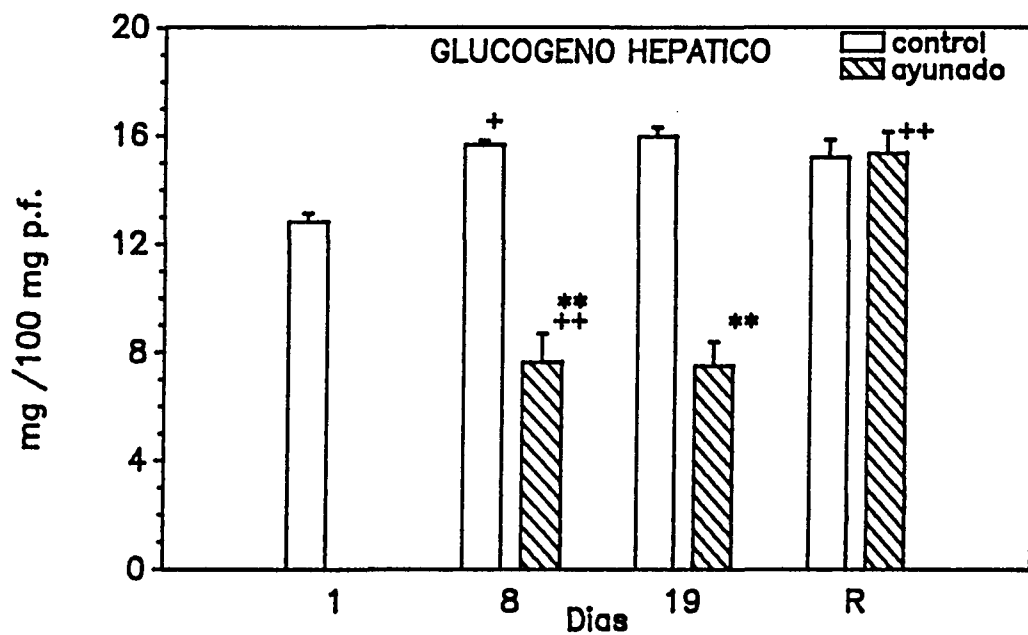


Figura 13.- Variaciones en la concentración de glucógeno hepático durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg glucógeno/100 mg p.s

	1	8	19	R
C	48,66 ± 1,59 (8)	59,37 ± 0,99++ (6)	59,59 ± 1,19 (6)	56,21 ± 2,09 (8)
A		35,91 ± 3,12** (6) +	34,38 ± 2,85** (7)	60,87 ± 2,69++ (7)

Contenido celular (mg glucógeno/μg P-DNA)

	1	8	19	R
C	1,01 ± 0,11 (7)	2,20 ± 0,34++ (4)	1,61 ± 0,08++ (7)	1,44 ± 0,06 (8)
A		0,60 ± 0,11** (8) +	0,42 ± 0,11** (6)	1,04 ± 0,05++ (8)

Contenido total del hígado (mg glucógeno/100 gr pez)

	1	8	19	R
C	205,10 ± 18,72 (8)	279,37 ± 7,42 (6)	415,12 ± 27,17++ (8)	422,72 ± 43,94 (8)
A		90,81 ± 18,22** (8) ++	74,37 ± 11,62** (7)	251,87 ± 25,33++ (8)

Tabla 5. Efecto del ayuno y la realimentación sobre el glucógeno hepático de carpas sexualmente maduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

indicado en la misma tabla: aumenta significativamente entre 1 y 8 días ($p < 0,01$) y disminuye entre 8 y 19 días ($p < 0,01$); lo cual implica un aumento del tamaño de las células por acúmulo de reserva en el primer período y una posterior proliferación celular (que se da al aumentar el tamaño del órgano) con disminución del diámetro celular.

El ayuno modificó de forma importante el contenido de glucógeno hepático (fig. 13). Esta reserva disminuyó significativamente a los 8 días ($p < 0,01$), siendo un 50% inferior ($p < 0,01$) a la que presentaba su grupo control; entre 8 y 19 días no se observaron cambios. Estos mismos resultados se observaron al expresarlos en peso seco (tabla 5).

La realimentación tras 50 días de ayuno produjo un aumento significativo del glucógeno hepático ($p < 0,01$), tanto en peso fresco como en peso seco, alcanzando los valores del grupo control en ese momento. Sin embargo el contenido total del órgano fue todavía inferior al del grupo control y concuerda con los menores IHS observados en el grupo de peces realimentados. El contenido celular (tabla 5) también refleja los cambios observados porcentualmente y los del órgano total.

Proteínas:

La concentración de proteínas hepáticas fue ligeramente superior (7,5-8,9%) a la observada en esta época durante el estudio del ciclo anual (6,1%).

Los niveles de proteína hepática en el grupo control fueron muy similares entre los diferentes grupos muestreados si se expresan en peso fresco (fig. 14) y en peso seco (tabla 6); sin embargo, se observaron niveles significativamente inferiores ($p < 0,01$) en el grupo de 19 días respecto al de 8 días. Estas diferencias pueden responder a diferencias celulares entre estos dos grupos, como ya se ha indicado para el glucógeno hepático. El contenido celular nos confirma lo indicado: mayor contenido protéico por célula en el grupo de 8 días respecto al grupo de 19 días ($p < 0,01$). Sin embargo como reserva total observamos un aumento paulatino (tabla 6) de esta reserva sin cambios significativos.

A los 8 días de ayuno se observó un aumento significativo de las proteínas hepáticas tanto en porcentaje del peso fresco ($p < 0,01$), como en peso seco ($p < 0,01$). Estas diferencias se mantuvieron tras 19 días de ayuno. El grupo realimentado presentó niveles similares

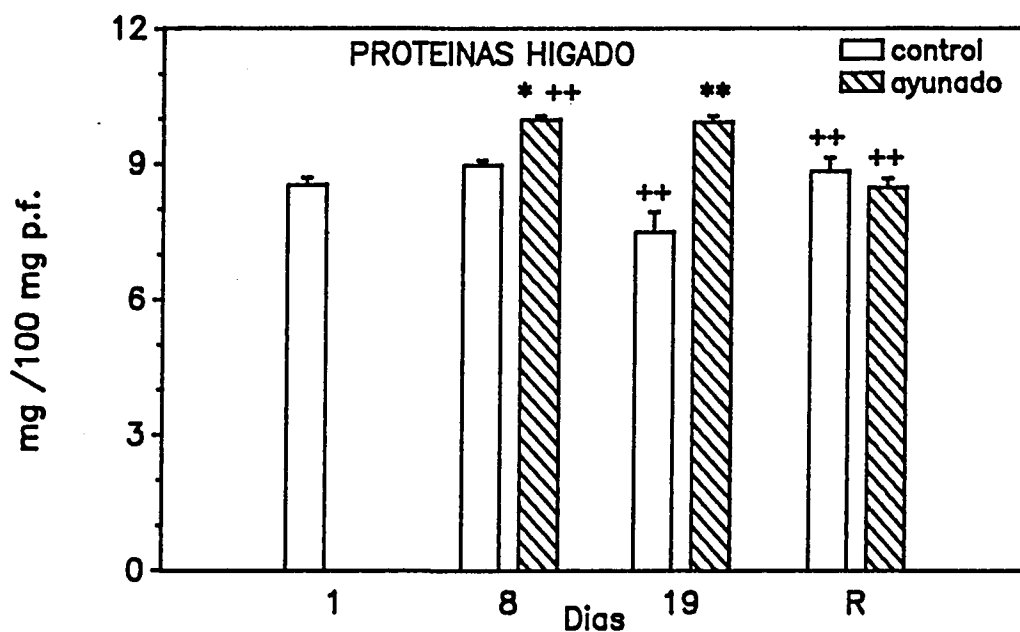


Figura 14.- Variaciones en la concentración de proteínas hepáticas durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg proteína/100 mg p.s.

	1	8	19	R
C	32,65 ± 0,98 (7)	34,20 ± 0,77 (8)	27,95 ± 1,72++ (6)	32,82 ± 1,34+ (8)
A		41,74 ± 2,28** (6) ++	46,58 ± 1,65** (7) +	32,12 ± 0,76+ (7)

Contenido celular (mg proteína/μg P-DNA)

	1	8	19	R
C	0,69 ± 0,09 (7)	1,29 ± 0,14++ (6)	0,71 ± 0,05++ (8)	0,84 ± 0,03 (8)
A		0,74 ± 0,06** (8)	0,50 ± 0,08+ (6)	0,58 ± 0,04* (8)

Contenido total del hígado (mg proteína/100 gr pez)

	1	8	19	R
C	135,60 ± 10,28 (7)	161,85 ± 6,84 (8)	184,38 ± 20,50 (8)	240,42 ± 18,92 (8)
A		114,14 ± 10,31* (7)	95,12 ± 6,00** (7)	136,25 ± 8,45* (8) ++

Tabla 6. Efecto del ayuno y la realimentación sobre las proteínas hepáticas de carpas sexualmente maduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

a los de su grupo control y significativamente menores a los ayunados 19 días, expresados en peso fresco ($p < 0,01$) y en peso seco ($p < 0,05$).

Cuando se expresan en función del total del órgano (tabla 6) observamos una disminución no significativa de esta reserva entre 1, 8 y 19 días y un aumento significativo ($p < 0,05$) de la misma con la realimentación, aunque todavía inferior ($p < 0,05$) a los valores de su grupo control. El contenido celular de los ayunados a 8 días fue similar al del momento inicial pero significativamente inferior a su grupo control ($p < 0,01$). Entre 8 y 19 días se observó un descenso ($p < 0,05$), y un ligero aumento tras la realimentación.

Por tanto, el aumento observado en los peces ayunados de esta reserva, expresada porcentualmente, no significa un aumento de la reserva *per se*, sino que responde a cambios en el diámetro celular a consecuencia de la importante disminución del glucógeno hepático; determinándose así, una concentración de las proteínas (en % p.f.), lo cual refuerza aún más el papel estructural que esta reserva tiene en el hígado.

Lípidos:

La concentración de lípidos hepáticos es inferior (2,1-2,6%) a la observada en esta época en el estudio del ciclo anual de esta especie (3,4%). Las diferencias observadas tanto en el contenido protéico como en el lipídico responderán posiblemente a diferencias en la composición de la dieta. Sin embargo, esta reserva es muy baja comparada con la de otros teleósteos. No se observaron diferencias entre los diferentes grupos control (fig. 15A).

El grupo ayunado de 8 días mostró niveles superiores al momento inicial en peso fresco y en peso seco (tabla 7), aunque no fueron significativos. Tras 19 días de ayuno se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) respecto a 8 días, que en cambio era significativamente superior a los valores de su grupo control expresados en peso seco.

Los peces realimentados presentaron niveles significativamente inferiores a los observados a 19 días de ayuno tanto en peso fresco ($p < 0,05$), como en peso seco ($p < 0,01$).

El contenido celular fue constante en el grupo control a excepción del grupo de 8 días que presentó niveles significativamente superiores al resto ($p < 0,01$). Con respecto

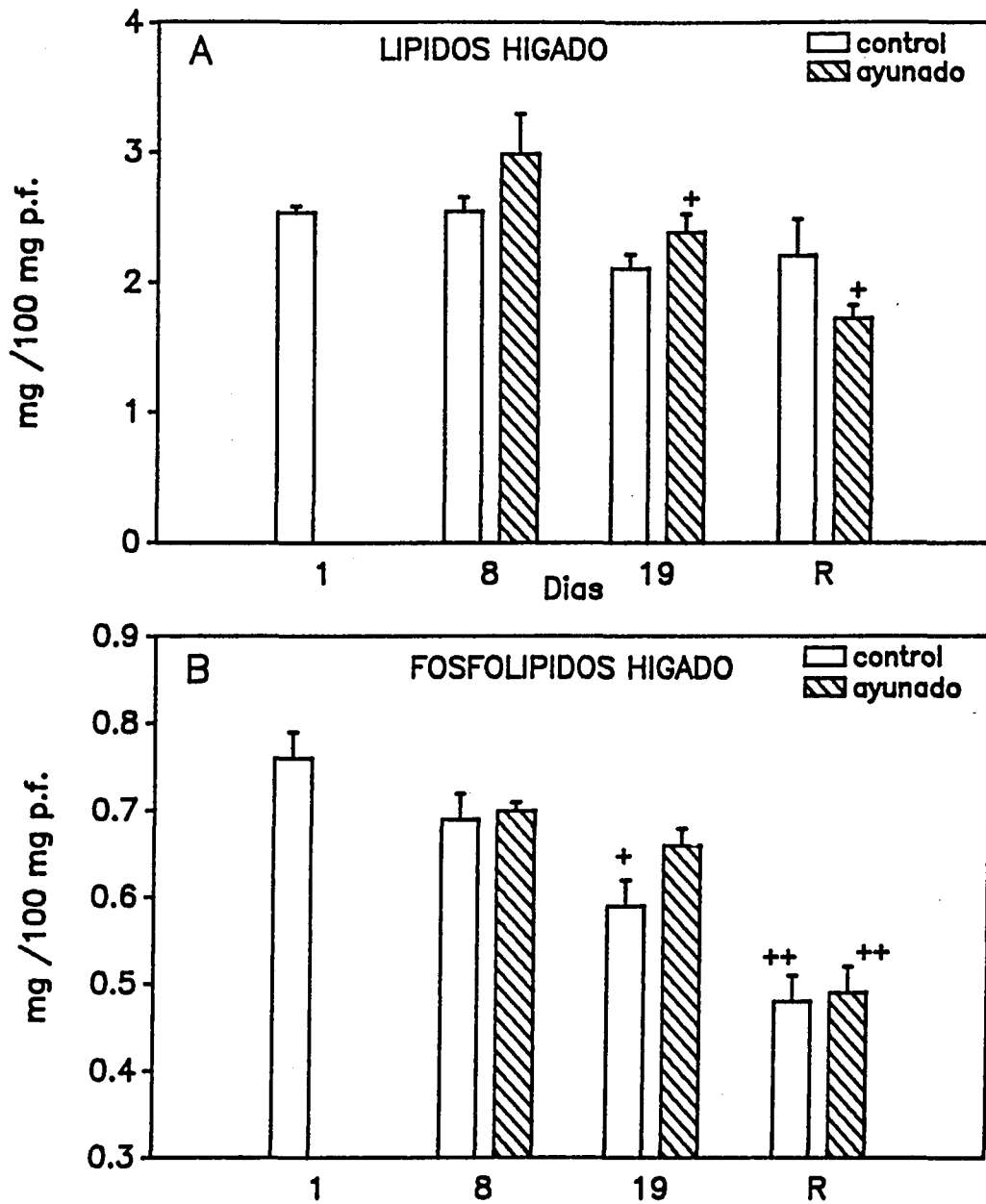


Figura 15.- Variaciones en la concentración de lípidos totales (A) y en la fracción fosfolipídica (B) en hígado durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg lípidos/100 mg p.s.

	1	8	19	R
C	9,73 ± 0,12 (6)	9,62 ± 0,46 (8)	7,49 ± 0,55 (6)	8,16 ± 0,98 (8)
A		11,97 ± 1,24* (6)	11,55 ± 0,77** (7)	6,32 ± 0,29++ (7)

Contenido celular (mg lípidos/μg P-DNA)

	1	8	19	R
C	0,21 ± 0,04 (6)	0,36 ± 0,03++ (6)	0,20 ± 0,01++ (8)	0,21 ± 0,03 (8)
A		0,22 ± 0,03** (7)	0,12 ± 0,01* (7) ++	0,12 ± 0,01 (8)

Contenido total del hígado (mg lípidos/100 gr pez)

	1	8	19	R
C	38,25 ± 3,32 (6)	45,45 ± 2,42 (8)	50,18 ± 3,91 (8)	61,55 ± 9,74 (8)
A		33,45 ± 3,67* (7)	23,50 ± 1,44** (8)	27,94 ± 2,77** (8)

mg Fosfolípidos/100 mg lípidos

	1	8	19	R
C	29,61 ± 1,65 (6)	26,44 ± 1,66 (6)	28,80 ± 2,46 (6)	23,69 ± 2,57 (8)
A		23,88 ± 2,45 (5)	28,42 ± 2,13 (7)	28,28 ± 0,80 (8)

Tabla 7. Efecto del ayuno y la realimentación sobre los lípidos hepáticos de carpas sexualmente maduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

al grupo ayunado, se observó una disminución significativa ($p < 0,01$) del contenido celular a los 19 días de ayuno, que no se vio modificada tras el período de realimentación.

El contenido total del órgano fue aumentando paulatinamente en el grupo control sin cambios destacables, mientras que el ayuno produjo una cierta movilización de esta reserva al final del período estudiado, que quedaría reflejada en el grupo realimentado con niveles significativamente inferiores a los del grupo control ($p < 0,01$).

En resumen, la mayor concentración a nivel porcentual en el grupo ayunado responde a un cambio celular por disminución del glucógeno hepático, y por tanto a una concentración lipídica. La no recuperación de esta reserva con la realimentación indicaría una utilización de los lípidos en el período final del ayuno (entre 19 y 50 días).

Fracción Fosfolipídica:

El menor porcentaje de lípidos observado en el grupo control de 19 días también se refleja en la concentración de fosfolípidos significativamente inferior ($p < 0,05$) a la del grupo de 8 días (fig. 15B). Por lo tanto la relación de fosfolípidos respecto al total de lípidos es muy similar en todos los grupos control (Tabla 7).

Con respecto al grupo de ayunados, hay que destacar la disminución significativa ($p < 0,01$) que presentaron los peces realimentados respecto al grupo de 19 días. En cambio, la relación fosfolípidos/lípidos se mantuvo constante.

Como se observa en la tabla 7, el nivel de lípidos en hígado es muy bajo y de éstos el 28% son fosfolípidos, con función principalmente estructural.

Concentración de agua en hígado:

El porcentaje de agua en hígado fue constante en las carpas control (73%) (fig. 16A). Sin embargo, las carpas ayunadas 8 días presentaron niveles significativamente superiores al momento inicial ($p < 0,05$) y, obviamente, respecto a su grupo control ($p < 0,05$). Tras 19 días de ayuno se produjo un aumento significativo ($p < 0,01$) respecto a 8 días.

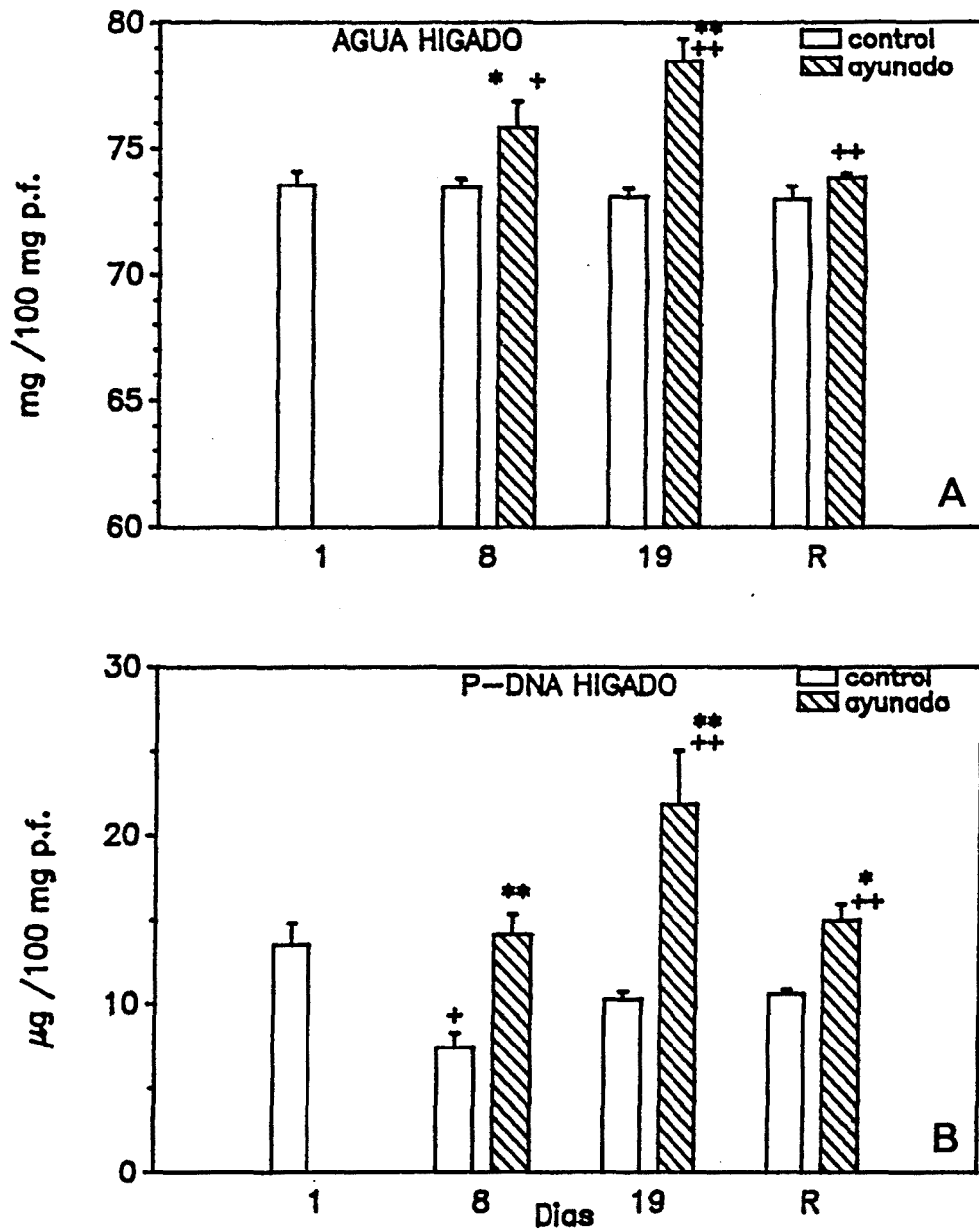


Figura 16.- Variaciones en la concentración de agua (A) y P-DNA (B) en hígado durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

La realimentación indujo una significativa disminución del agua en hígado ($p < 0,01$ respecto a los niveles de 19 días de ayuno), alcanzando los valores observados en su grupo control.

P-DNA en hígado:

El grupo control de 8 días presentó niveles significativamente inferiores ($p < 0,05$) respecto al momento inicial (fig. 16B). Esto nos indica un aumento del volumen celular por aumento de reservas. Sin embargo, cuando expresamos los resultados en función del total del órgano (tabla 12, pág. 85) esta diferencia no es significativa. Por tanto, podemos indicar que éste grupo presentaba un hígado con menor nº de células que el resto de grupos control, pero de mayor tamaño como se deduce del contenido de reservas indicado anteriormente.

El ayuno causó un aumento significativo del P-DNA entre 8 y 19 días de ayuno ($p < 0,01$) y una disminución ($p < 0,05$) a consecuencia de la realimentación. Sin embargo, tras el período de realimentación todavía los niveles fueron significativamente superiores ($p < 0,05$) a los de su grupo control. Aunque se observaron ligeras diferencias en el contenido total de P-DNA (tabla 12, pág. 85), podemos considerar que la expresión porcentual de este parámetro refleja claramente los cambios producidos a nivel celular: un aumento progresivo (células más pequeñas) a consecuencia de la disminución de reservas y un descenso con la realimentación (células mayores).

Contenido en cenizas del hígado:

El porcentaje de cenizas en hígado reflejaría lo ya indicado en los dos últimos parámetros (agua y P-DNA) (fig. 17), y por tanto éste parámetro está correlacionado positivamente con el agua ($r = 0,7879$; $p < 0,001$; $N = 20$) y con el P-DNA ($r = 0,6206$; $p < 0,01$; $N = 20$) y negativamente con el glucógeno hepático ($r = -0,7520$; $p < 0,001$; $N = 23$).

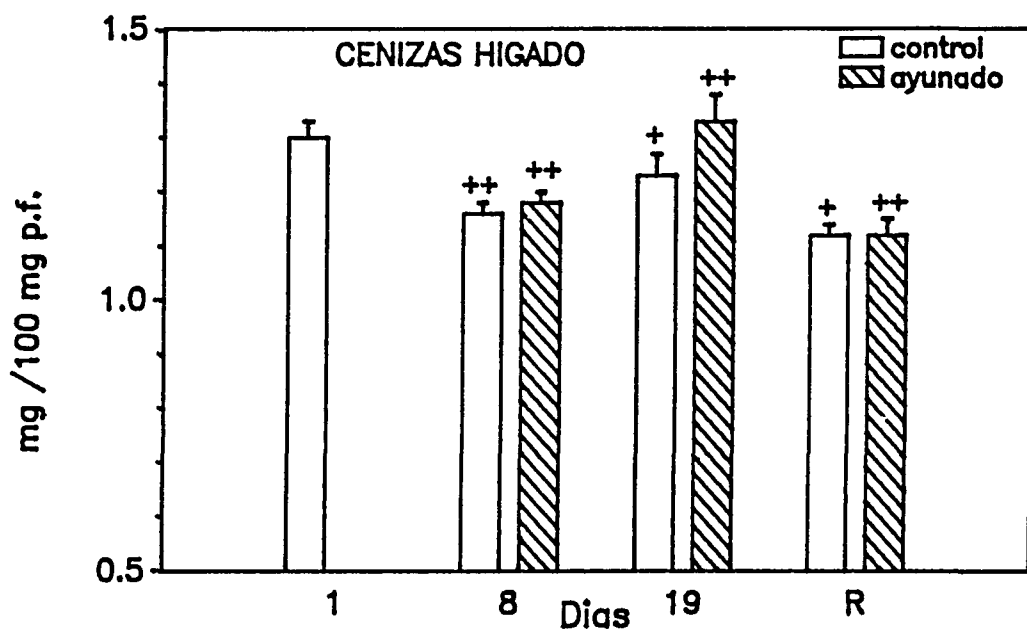


Figura 17.- Variaciones en la concentración de cenizas en hígado durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Relación porcentual de las reservas con el peso del hígado.

Como se observa en la fig. 18 la reserva mayoritaria en hígado es el glucógeno. Esta reserva es la que condiciona claramente el peso del órgano ($r=0,801$; $p<0,001$; $N=23$).

Por otro lado la correlación negativa ($r=-0,804$; $p<0,001$; $N=22$) del porcentaje protéico con el peso del órgano, es consecuencia directa de la correlación negativa ($r=-0,6857$; $p<0,001$; $N=22$) entre la reserva de glucógeno y la de proteínas. Por tanto, como se había establecido anteriormente, el aumento porcentual de proteínas en el ayuno es debido a la fuerte disminución del glucógeno, y por tanto, a la disminución del volumen celular (correlación negativa entre glucógeno y P-DNA: $r=-0,5499$; $p<0,01$; $N=22$).

Los lípidos son minoritarios en el total del órgano y además no existía correlación entre éstos y el peso del hígado.

Como consecuencia del ayuno, se produce un intercambio de la reserva mayoritaria (glucógeno) por agua (fig. 19). En consecuencia, el porcentaje de agua en el tejido también estará correlacionado negativamente con el peso del órgano ($r=-0,5876$; $p<0,01$; $N=20$) y positivamente con el porcentaje de proteínas ($r=0,517$; $p<0,05$; $N=20$).

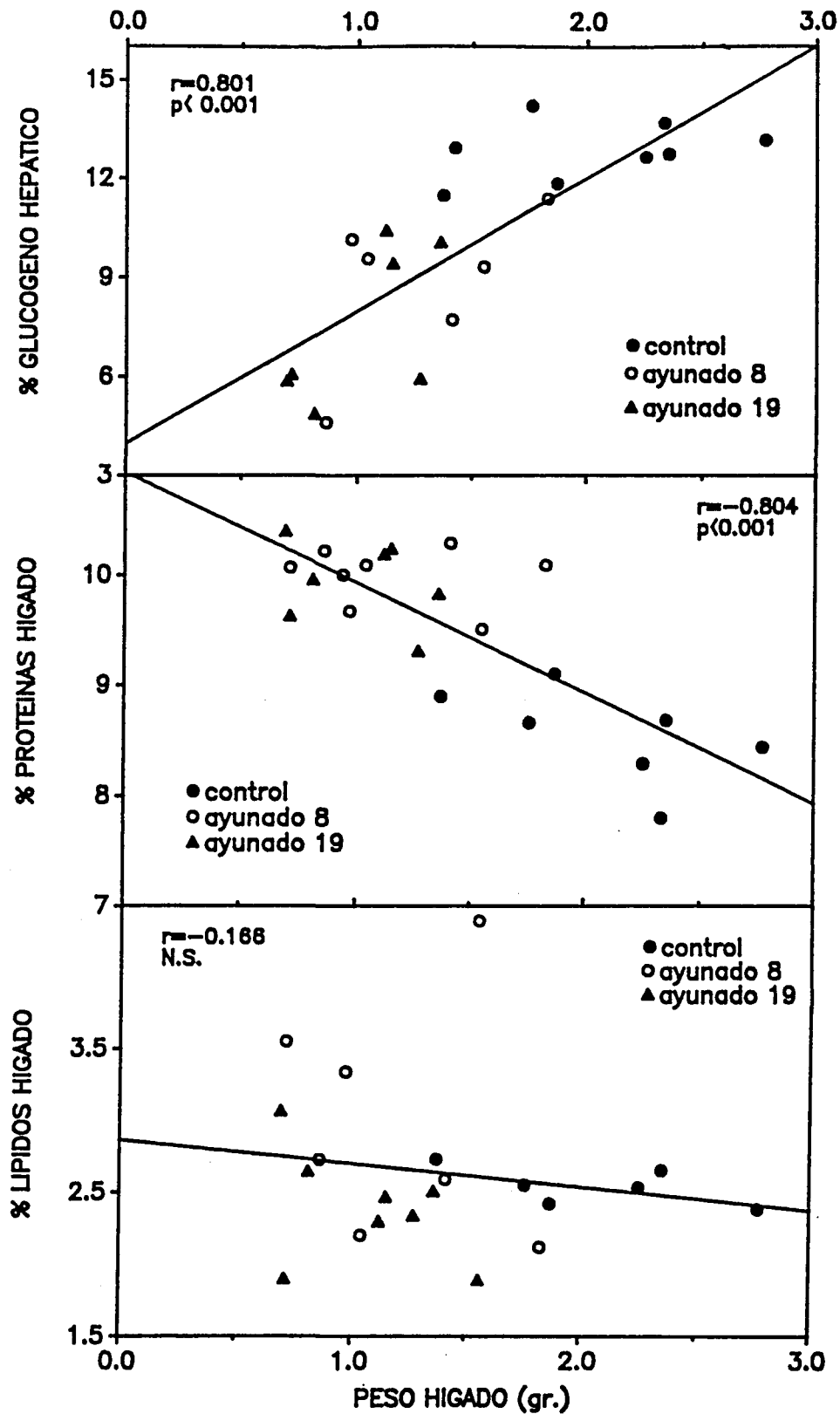


Figura 18.- Relación entre las reservas energéticas del hígado y el peso del hígado durante el ayuno.

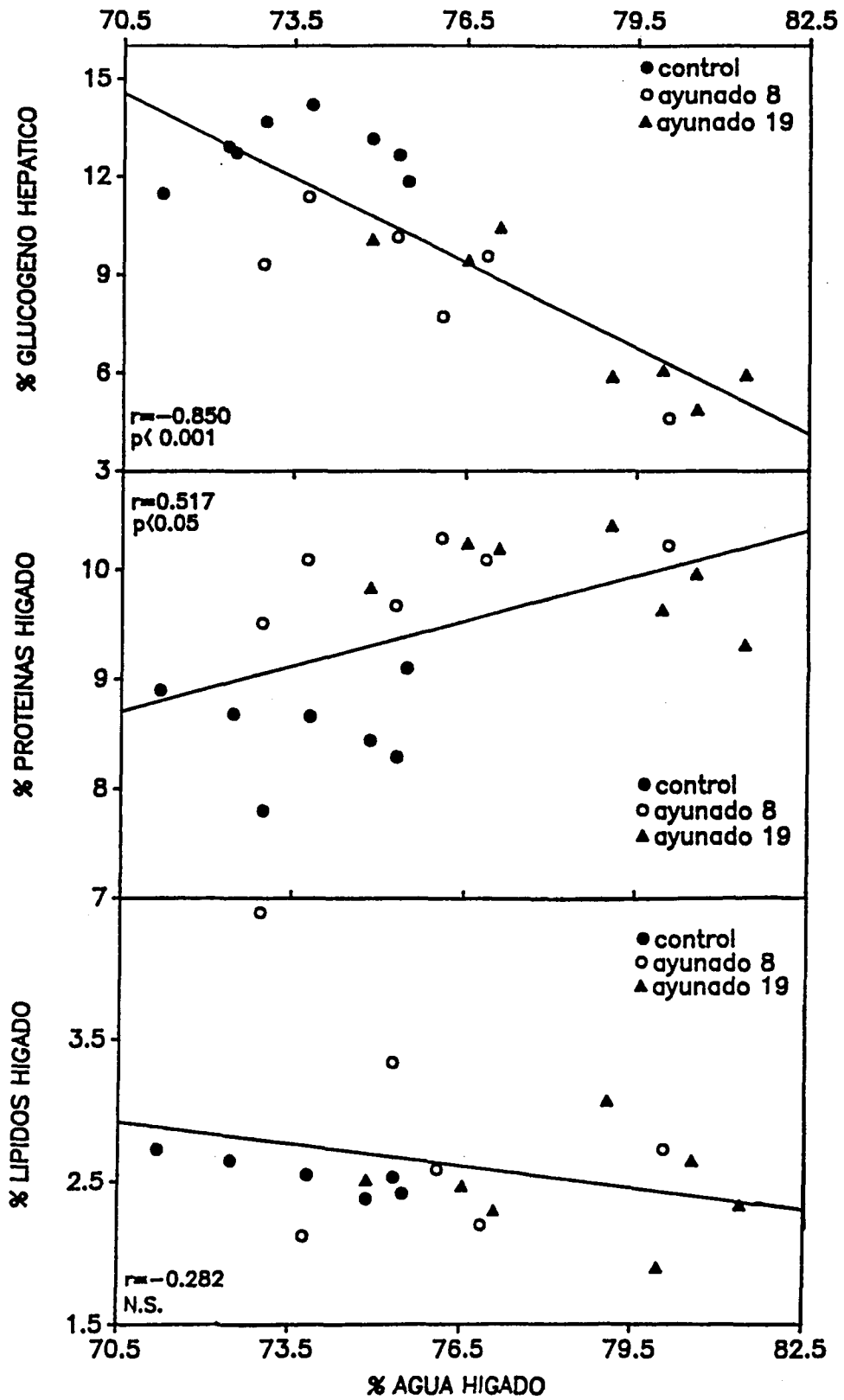


Figura 19.- Relación entre las reservas energéticas del hígado y el contenido de agua del órgano durante el ayuno.

3.1.5. Efectos del ayuno y la realimentación sobre el músculo.

Índice músculo-somático (IMS) e Índice músculo-longal (IML).

En comparación a otros teleósteos el peso de la masa muscular total en relación al peso corporal es bajo. Como reflejan los datos de la tabla 8, el rango de valores para el grupo control era del 25% en el momento inicial y alcanzaba un 27% al final del período de experimentación, sin cambios significativos.

En el grupo ayunado se observó una disminución paulatina de este parámetro. Así, aunque los cambios no fueron significativamente inferiores respecto al momento inicial, tanto a 8 como a 19 días las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) con respecto a sus grupos control. Tras la realimentación este parámetro no aumentó, siendo significativamente inferior ($p < 0,01$) a su grupo control; incluso el valor medio fue inferior al obtenido a 19 días, aunque sin cambios significativos. Es lógico pensar a la vista de estos resultados que este índice también disminuyó entre 19 y 50 días de ayuno, y que su recuperación con la realimentación es lenta.

El índice músculo-longal (IML) (tabla 8) quizás refleja más claramente lo expuesto con anterioridad, puesto que la longitud del pez es más constante durante el experimento. Así, a 8 y 19 días se observan diferencias importantes respecto a sus controles ($p < 0,01$) y una recuperación tras la realimentación, aunque siga siendo significativamente inferior al control ($p < 0,05$).

Reservas en músculo.

Glucógeno:

La concentración de glucógeno en músculo al inicio del experimento fue baja comparada a la observada en esta época en el estudio del ciclo anual. Sin embargo, como se observa en la figura 20, el porcentaje de glucógeno en músculo aumentó progresivamente en el grupo control, de manera que entre los 19 y 67 días del estudio

INDICE MUSCULO-SOMATICO (IMS) (gr músculo/100gr.pesz)

	1	8	19	R
C	24,80 ± 1,07 (6)	26,36 ± 0,49 (7)	27,52 ± 0,73 (6)	26,97 ± 1,38 (8)
A		22,76 ± 1,44* (7)	21,91 ± 1,86* (6)	20,59 ± 1,69** (8)

INDICE MUSCULO-LONGAL (IMS) (gr músculo/cm pez)

	1	8	19	R
C	1,70 ± 0,13 (6)	2,01 ± 0,10 (7)	2,18 ± 0,08 (6)	2,05 ± 0,16 (8)
A		1,28 ± 0,14** (7)	1,19 ± 0,16** (6)	1,52 ± 0,18* (8)

Tabla 8. Efecto del ayuno y la realimentación sobre el peso relativo del músculo de carpas sexualmente maduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

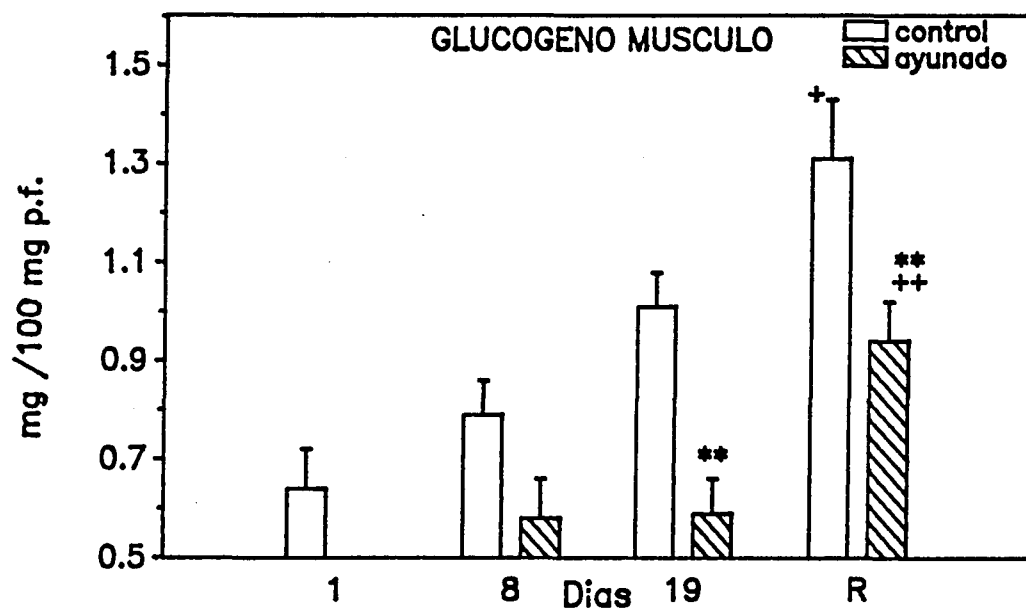


Figura 20.- Variaciones en la concentración de glucógeno en músculo durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mq glucógeno/100 mq p.s.

	1	8	19	R
C	3,31 ± 0,42 (8)	4,01 ± 0,37 (8)	4,98 ± 0,38 (6)	6,59 ± 0,56+ (8)
A		3,42 ± 0,46 (7)	3,38 ± 0,45* (8)	5,13 ± 0,54**+ (7)

Contenido celular (mq glucógeno/μq P-DNA)

	1	8	19	R
C	0,20 ± 0,03 (8)	0,31 ± 0,04+ (8)	0,36 ± 0,03 (6)	0,50 ± 0,04++ (6)
A		0,23 ± 0,06 (5)	0,16 ± 0,02** (7)	0,27 ± 0,02++ (7)

Contenido total del músculo (mq glucógeno/100 gr pez)

	1	8	19	R
C	133,99 ± 15,24 (6)	210,68 ± 17,46 (7)	301,12 ± 20,71 (5)	407,83 ± 47,23 (8)
A		136,03 ± 23,42 (7)	127,10 ± 16,40** (8)	158,93 ± 12,85** (8)

Tabla 9. Efecto del ayuno y la realimentación sobre el glucógeno muscular de carpas sexualmente maduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

se produjo un aumento significativo ($p < 0,05$). Estos mismos resultados se obtienen expresándolos en peso seco, como contenido celular y en el total del tejido (tabla 9).

La concentración de glucógeno en los peces ayunados se mantuvo constante entre el momento inicial y los 19 días de ayuno (fig. 20). Sin embargo a los 19 días de ayuno los valores eran significativamente inferiores a los de su grupo control, tanto expresados en peso fresco ($p < 0,01$) o en peso seco ($p < 0,05$), como en el total de la masa muscular ($p < 0,01$) o en contenido celular ($p < 0,01$). Ahora bien, estas diferencias son consecuencia del aumento de glucógeno en el grupo control y no de la disminución en los ayunados.

Las carpas realimentadas presentaron niveles significativamente superiores a las ayunadas 19 días ($p < 0,01$) pero inferiores a su grupo control ($p < 0,01$) (fig. 20). Como se observa en la tabla 9, la expresión de los resultados como porcentaje del peso fresco concuerda con los datos obtenidos en peso seco, contenido celular y en el total del músculo.

Proteínas:

La concentración de proteínas en el grupo control fue elevada al inicio del experimento (14 mg/100mg p.f.) y disminuyó a lo largo del mismo (fig. 21). Los niveles de proteínas a los 19 días fueron significativamente inferiores a los de 8 días, tanto expresados en peso fresco ($p < 0,05$) como en peso seco ($p < 0,01$); sin embargo, el contenido total de la masa muscular fue ligeramente superior, aunque las diferencias no son significativas. Por tanto, los cambios porcentuales podrían reflejar el aumento en el contenido de otras reservas y con ello un aumento del diámetro de las fibras musculares.

Tras 8 días de ayuno no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de proteínas respecto al momento inicial, aunque fueron ligeramente inferiores; pero ya a los 19 días de ayuno la concentración de proteínas musculares fue significativamente inferior a la de 8 días ($p < 0,01$) e inferior a su grupo control ($p < 0,05$).

Con la realimentación no se observó ningún cambio respecto a los 19 días de ayuno. Estos mismos resultados se manifestaron al expresarlos como porcentaje en peso seco (tabla 10).

También se observó una significativa disminución del contenido celular ($p < 0,05$) a los 19 días. Las proteínas en el total de la masa muscular tras 8 días de ayuno fueron

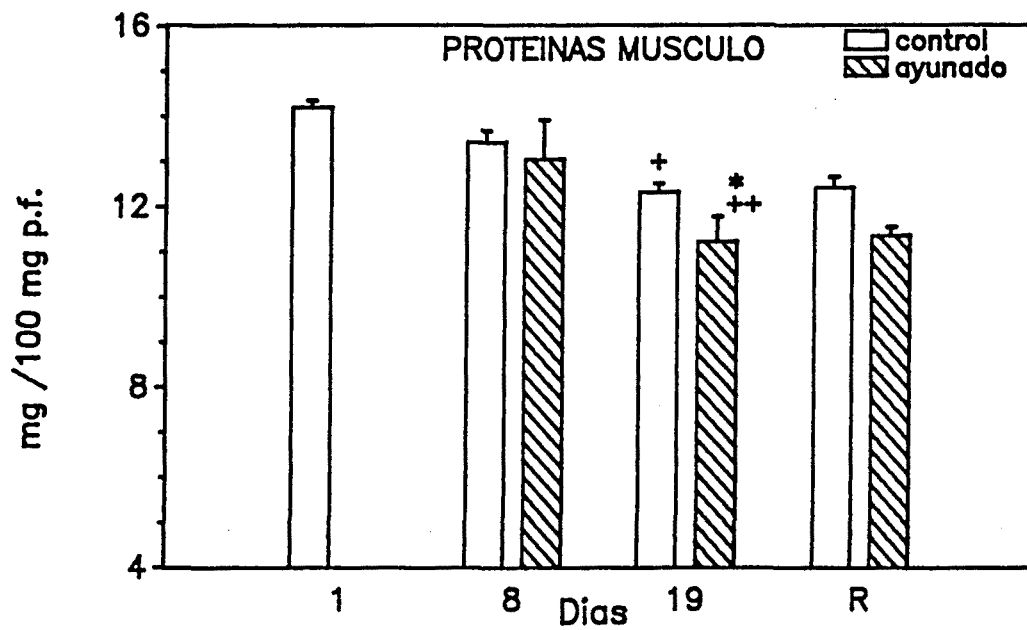


Figura 21.- Variaciones en la concentración de proteínas en músculo durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg proteína/100 mg p.s.

	1	8	19	R
C	72,47 ± 0,83 (7)	68,26 ± 1,32 (8)	60,58 ± 0,73++ (7)	63,30 ± 3,04 (7)
A		69,53 ± 2,22 (5)	62,59 ± 2,39+ (8)	60,96 ± 0,70 (7)

Contenido celular (mg proteína/μg P-DNA)

	1	8	19	R
C	4,40 ± 0,33 (7)	5,30 ± 0,51 (8)	4,34 ± 0,15 (7)	4,49 ± 0,17 (6)
A		4,66 ± 0,55 (5)	3,33 ± 0,37+ (7)	3,30 ± 0,15 (6)

Contenido total del músculo (gr proteína/100 gr pez)

	1	8	19	R
C	3,50 ± 0,15 (6)	3,50 ± 0,13 (7)	3,58 ± 0,06 (8)	3,81 ± 0,22 (7)
A		2,81 ± 0,25 (5)	2,18 ± 0,29** (6)	2,08 ± 0,15** (7)

Tabla 10. Efecto del ayuno y la realimentación sobre las proteínas del músculo de carpas sexualmente maduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

inferiores a las del momento inicial, pero esta diferencia no fue significativa (principalmente a consecuencia de la variabilidad individual). A los 19 días los valores eran significativamente inferiores a los del grupo control ($p < 0,01$).

Con la realimentación la concentración de proteínas en el músculo fue significativamente inferior ($p < 0,01$) respecto a su grupo control y sin cambios respecto al momento anterior. Sin embargo no podemos olvidar que entre 19 y 50 días ha de continuar la hidrólisis protéica y que por tanto los valores observados en las carpas realimentadas serían superiores a los que corresponderían a 50 días de ayuno.

En conclusión, expresadas porcentualmente los cambios debidos al ayuno no se manifiestan de forma clara. Cuando los datos se expresan como reserva total, y debido al hecho de que este tejido representa un porcentaje elevado del peso corporal, la disminución del total de proteínas musculares se manifiesta a tan sólo 8 días de ayuno y se acentúa posteriormente.

Lípidos:

La concentración de lípidos en músculo (fig. 22A) es muy baja (0,6-0,9 mg/100 mg p.f.) y presenta una importante variabilidad individual. Esta reserva aumentó progresivamente a lo largo del período de experimentación en el grupo control, a excepción del último momento en que se observaron niveles inferiores ($p < 0,05$). Sin embargo, esta diferencia no fue significativa al expresarla en peso seco ni como contenido total del músculo (tabla 11).

Las carpas ayunadas 8 días mostraron niveles significativamente superiores ($p < 0,01$) a los del momento inicial, tanto expresados en peso fresco (fig. 22A) o en peso seco, como en contenido celular o en total muscular (tabla 11). A los 19 días de ayuno no se observaron diferencias significativas a nivel porcentual, pero la concentración total de lípidos fue significativamente inferior ($p < 0,05$) a la de sus controles y el contenido celular fue significativamente inferior ($p < 0,05$) al de 8 días.

Los niveles de lípidos en las carpas realimentadas fueron inferiores a los de 19 días, tanto expresados en porcentaje como en el total del tejido, aunque esta diferencia no fue significativa en ninguna de las formas de expresión consideradas.

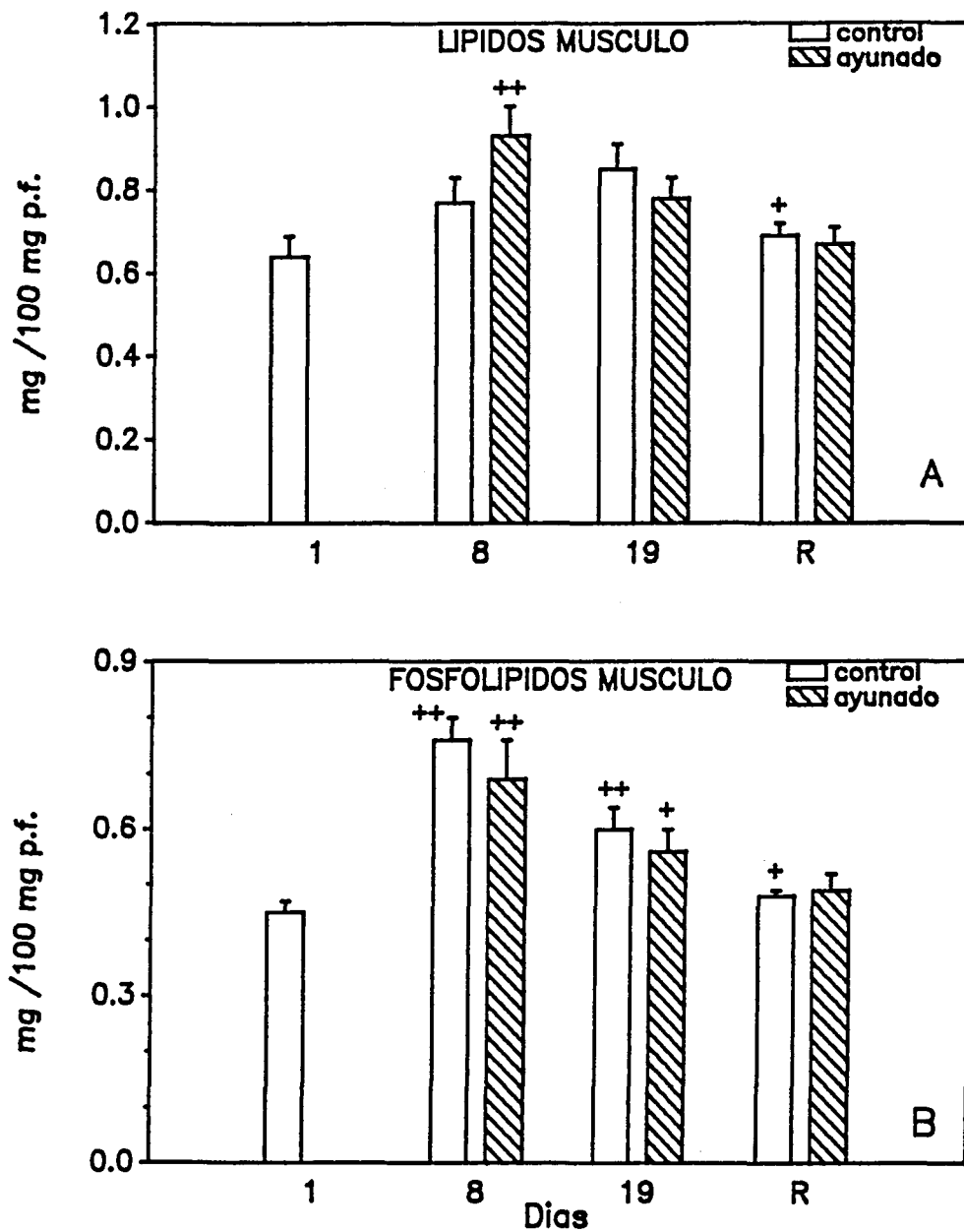


Figura 22.- Variaciones en la concentración de lípidos totales (A) y en la fracción fosfolipídica (B) en músculo durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg lípidos/100 mg p.s.

	1	8	19	R
C	3,37 ± 0,28 (6)	3,91 ± 0,28 (7)	4,44 ± 0,35 (7)	3,40 ± 0,15 (7)
A		4,84 ± 0,36++ (5) *	4,39 ± 0,31 (8)	3,71 ± 0,18 (7)

Contenido celular (mg lípidos/μg P-DNA)

	1	8	19	R
C	0,19 ± 0,02 (6)	0,30 ± 0,04+ (7)	0,29 ± 0,03 (7)	0,25 ± 0,02 (5)
A		0,33 ± 0,05++ (5)	0,22 ± 0,02+ (7)	0,19 ± 0,02 (7)

Contenido total del músculo (mg lípidos/100 gr pez)

	1	8	19	R
C	159,59 ± 12,97 (4)	211,45 ± 11,91 (6)	241,70 ± 23,97 (6)	216,20 ± 9,56 (7)
A		196,93 ± 24,83 (5)	163,12 ± 23,01* (6)	118,48 ± 14,65* (8)

mg Fosfolípidos/100 mg lípidos

	1	8	19	R
C	69,61 ± 4,68 (6)	91,36 ± 4,62++ (7)	71,67 ± 1,71++ (7)	70,29 ± 2,25 (7)
A		82,47 ± 5,08+ (5)	77,13 ± 1,93 (7)	73,54 ± 1,13 (8)

Tabla 11. Efecto del ayuno y la realimentación sobre los lípidos del músculo de carpas sexualmente maduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

Fracción fosfolipídica:

Como se observa en la tabla 11, los fosfolípidos constituyen un elevado porcentaje del total de lípidos (70%), indicándonos que el papel de los lípidos en el músculo es prácticamente estructural y no podemos, por tanto, hablar con total propiedad de una reserva lipídica en músculo.

En la figura 22B observamos que los cambios de esta fracción son prácticamente paralelos a los que presentan los lípidos totales. Confirma este hecho la fuerte correlación que mostraron estos dos parámetros tanto en controles ($r=0,6849$, $p<0,001$, $N=20$), como en ayunados ($r=0,7757$, $p<0,001$, $N=19$).

Las ligeras diferencias observadas en la relación fosfolípidos/lípidos (tabla 11) responderían más a una variabilidad individual que a cambios por efecto del ayuno.

Concentración de agua en músculo:

Como puede observarse en la figura 23A el porcentaje de agua en músculo en los animales controles fue constante (79,5-80,5%), mientras que los animales ayunados mostraron un incremento ya a los 8 días de ayuno, que fue mayor a los 19 días (siendo significativo respecto a sus controles, $p<0,01$).

Tras el período de realimentación el porcentaje de agua del músculo no disminuyó a niveles control, indicándonos que el músculo no recuperó totalmente sus reservas.

P-DNA en músculo:

El porcentaje de P-DNA en músculo del grupo control presentó los mayores niveles en el momento inicial y se produjo un descenso significativo a los 8 días ($p<0,05$) (fig. 23B), a partir del cual se mantuvo sin cambios importantes. Esto nos indicaría un aumento del volumen celular por aumento de las reservas, como ya hemos indicado en los apartados anteriores.

Con el ayuno se observó un aumento significativo de este parámetro entre 8 y 19 días ($p<0,05$) y superior a la concentración de su grupo control ($p<0,05$). Tras la

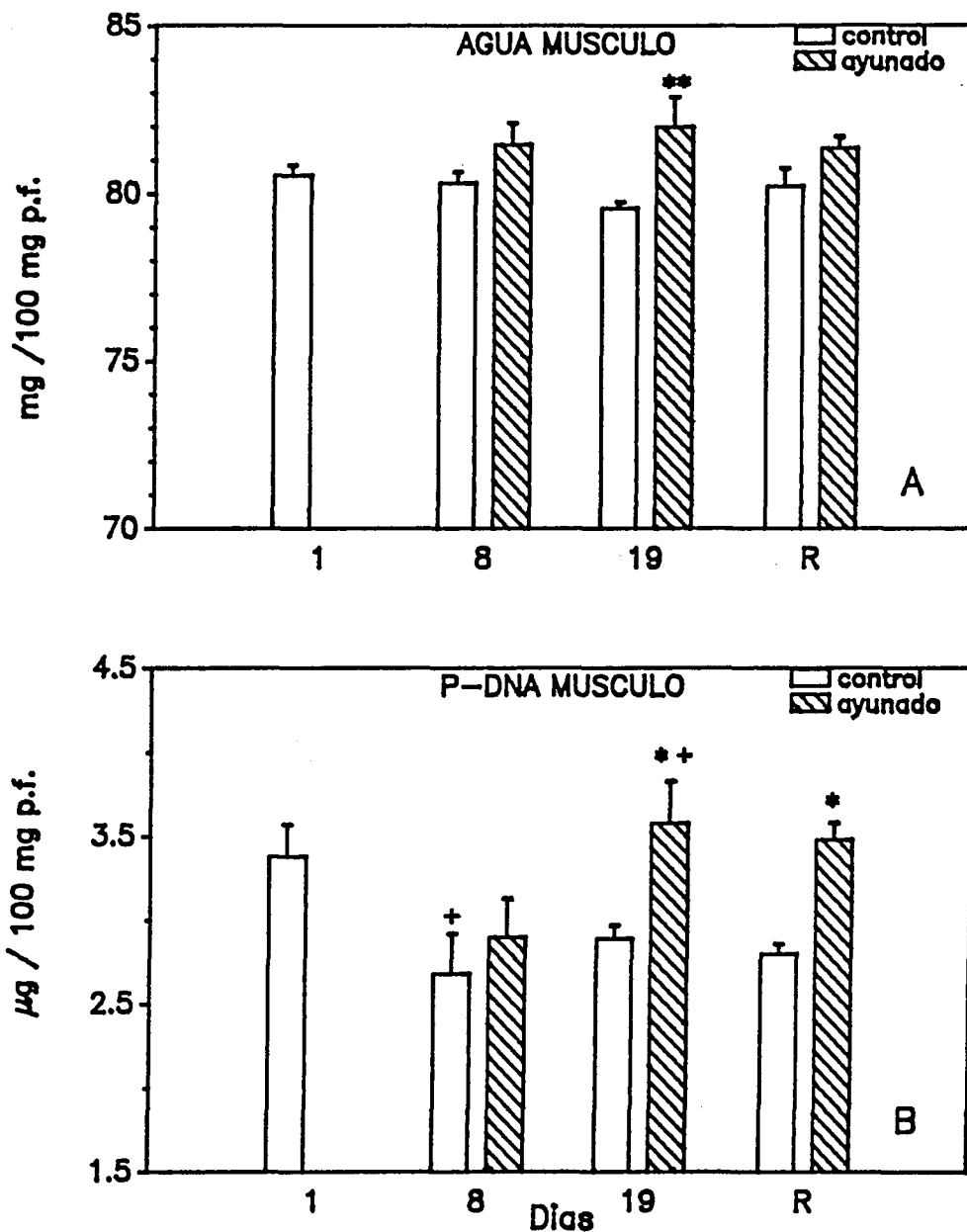


Figura 23.- Variaciones en la concentración de agua (A) y P-DNA (B) en músculo durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

P-DNA TOTAL EN HIGADO (mq P-DNA/100 gr pez)

	1	8	19	R
C	0,22 ± 0,03 (7)	0,14 ± 0,02 (6)	0,26 ± 0,02 (8)	0,28 ± 0,03 (8)
A		0,15 ± 0,01 (8)	0,20 ± 0,02 (7)	0,25 ± 0,03 (8)

P-DNA TOTAL EN MUSCULO (mq P-DNA/100 gr pez)

	1	8	19	R
C	0,85 ± 0,04 (6)	0,65 ± 0,04 (7)	0,81 ± 0,03 (6)	0,83 ± 0,05 (6)
A		0,61 ± 0,04 (5)	0,79 ± 0,02 (5)	0,60 ± 0,05 (7)

Tabla 12. Contenido total de P-DNA en hígado y músculo.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):
respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.
respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

realimentación la concentración de P-DNA fue similar a la observada a los 19 días y por tanto significativamente superior a la de su grupo control ($p < 0,05$).

Contenido en cenizas del músculo:

El contenido de cenizas expresado en peso fresco (fig. 24) disminuye significativamente entre los días 19 y 67 de experimentación ($p < 0,05$). Como que el porcentaje de agua en los animales controles fue constante, ese descenso indicaría un aumento de alguna de las reservas en este período. El glucógeno fue la reserva que más incrementó en el grupo control, además el glucógeno es, de las tres reservas, la única correlacionada negativamente con las cenizas ($r = -0,4672$; $p < 0,05$; $N = 23$).

El porcentaje de cenizas en músculo no presentó cambios significativos a lo largo del ayuno. Puesto que se produce una cierta hidratación del tejido, cuando se expresan en peso seco observamos un aumento del porcentaje de las mismas con respecto al momento inicial aunque no significativo, pero sí a 19 días de ayuno y tras la realimentación respecto a sus controles ($p < 0,01$). Este parámetro está correlacionado positivamente ($r = 0,5820$, $p < 0,01$, $N = 23$) con el P-DNA.

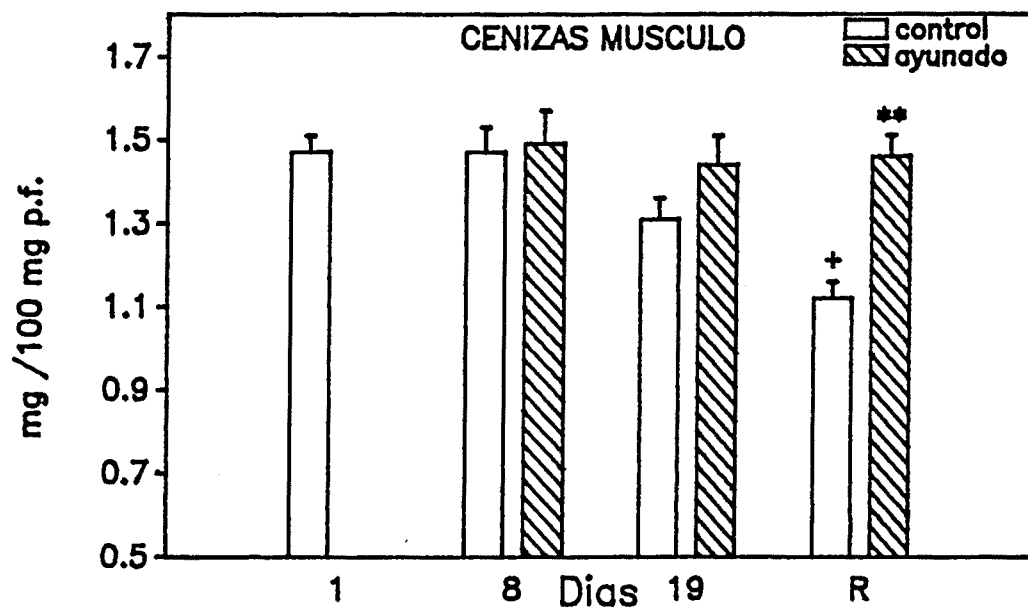


Figura 24.- Variaciones en la concentración de cenizas en músculo durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Relación porcentual de las reservas con el peso del músculo.

Tal como se observa en la fig. 25, y al contrario de lo observado en el hígado, ninguna de las reservas expresadas en porcentaje refleja los cambios de peso muscular, aunque existe una tendencia positiva con respecto a las proteínas. Es decir, los pequeños cambios porcentuales observados no reflejan los cambios importantes de peso que se producen en el ayuno. Sin embargo, cuando se consideran estos cambios en el total del órgano ya hemos indicado que son las proteínas las más afectadas cuantitativamente. Por tanto, podemos decir que en el período de ayuno estudiado el músculo mantiene más o menos constante su composición porcentual, aunque se produzca una reducción de la masa muscular total, no afectando por tanto a su funcionalidad.

Como se refleja en la figura 26, las proteínas musculares son intercambiadas por agua a medida que progresa el ayuno ($r=-0,751$, $p<0,001$, $N=20$). Esto nos confirma lo indicado para el hígado: es la reserva mayoritaria de un tejido la que se intercambia por agua en el ayuno; en este caso, las proteínas. Además, las disminuciones porcentuales de proteínas y lípidos (sobre todo entre 19 y 50 días de ayuno, ya que tras la realimentación los niveles de lípidos son inferiores a los de 19 días) provocan un aumento del P-DNA, pues se correlacionan negativamente con este parámetro ($r=-0,5143$, $p<0,05$, $N=20$ y $r=-0,4745$, $p<0,05$, $N=20$ respectivamente).

3.1.6. Variación del contenido calórico de las reservas en el total de hígado y músculo en función del ayuno y la realimentación.

A partir de los valores de reservas totales por órgano se ha calculado el contenido energético del hígado (Tabla 13) y músculo (Tabla 14), así como el incremento relativo del contenido energético entre los períodos de ayuno para cada tejido (en las mismas tablas respectivamente).

Con respecto al hígado podemos indicar que los carbohidratos son la reserva mayoritaria en este tejido y representan el "pool" energético más importante del órgano aunque el valor energético de los carbohidratos es muy inferior al de los lípidos. Además, conviene destacar que se moviliza rápidamente, disminuyendo un 57% en tan sólo 8

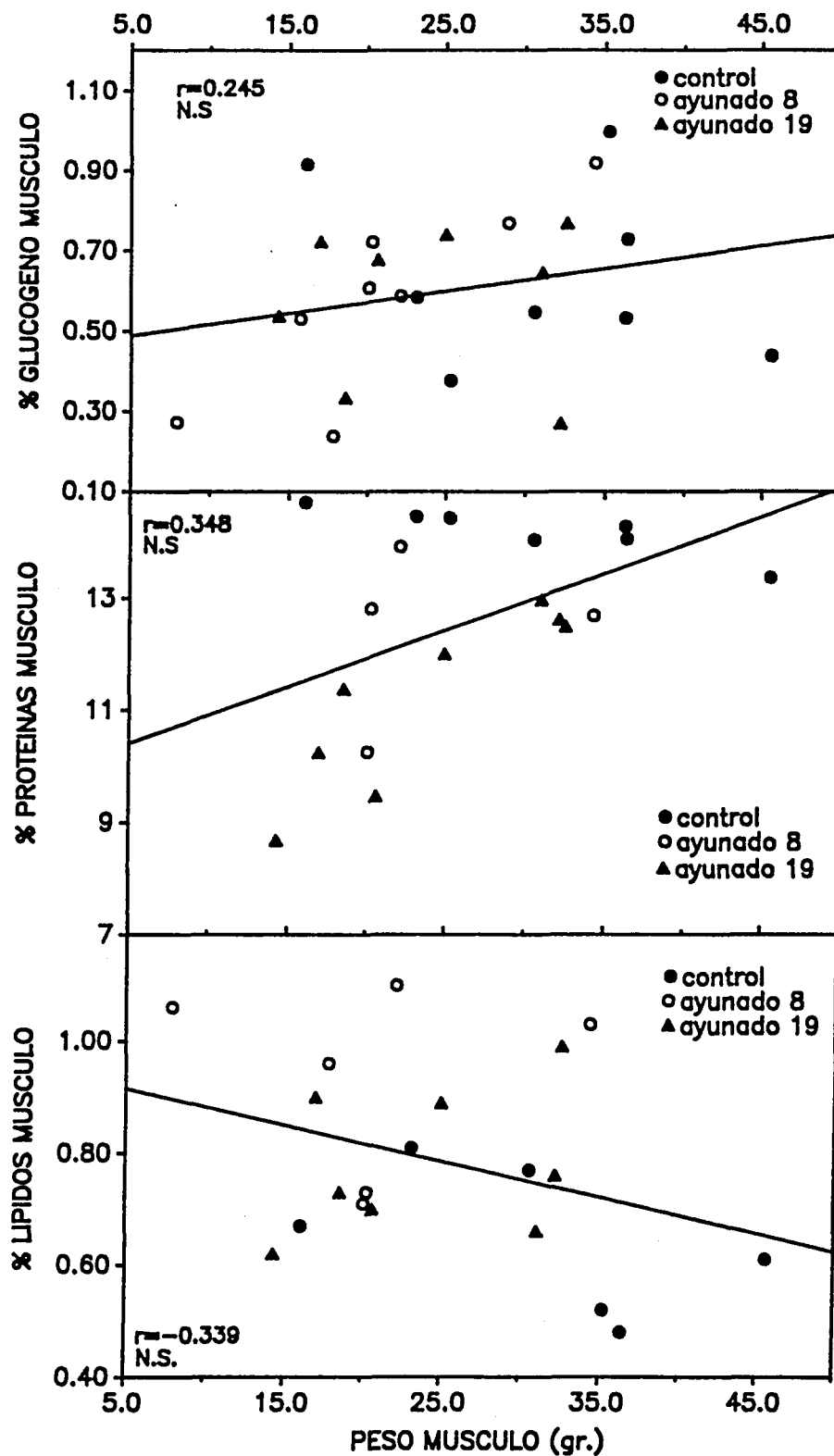


Figura 25.- Relación entre las reservas energéticas del músculo y el peso del músculo durante el ayuno.

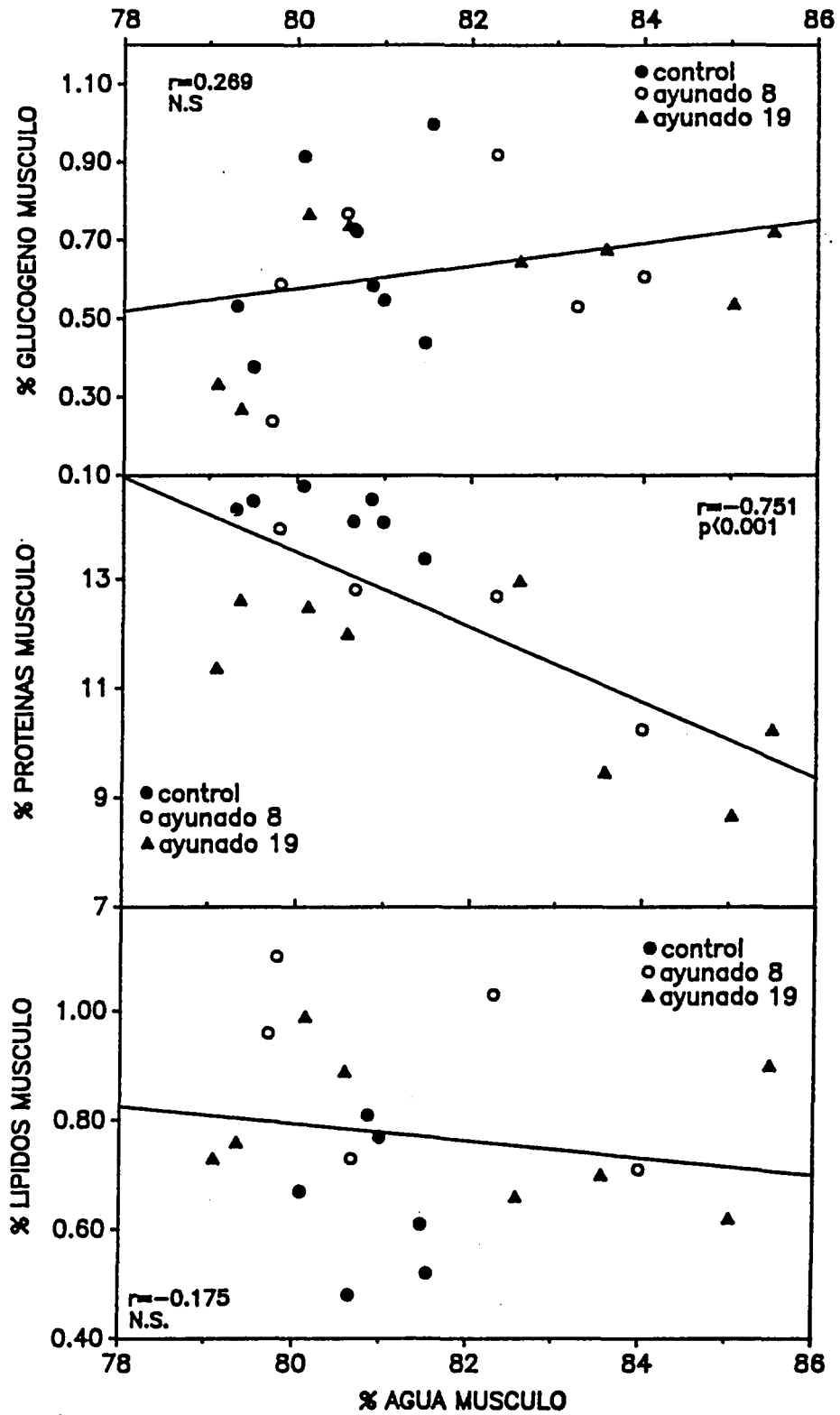


Figura 26.- Relación entre las reservas energéticas del músculo y el contenido de agua del tejido durante el ayuno.

CONTENIDO ENERGETICO DEL HIGADO (Kcal/100 gr pez)

Glucógeno

	1	8	19	R
C	0,87 ± 0,08 (7)	1,15 ± 0,03 (6)	1,70 ± 0,11 (8)	1,73 ± 0,18 (8)
A		0,37 ± 0,07 (8)	0,30 ± 0,05 (7)	1,03 ± 0,10 (8)

Proteínas

	1	8	19	R
C	0,66 ± 0,06 (6)	0,78 ± 0,03 (8)	0,89 ± 0,10 (8)	1,15 ± 0,09 (8)
A		0,55 ± 0,05 (7)	0,46 ± 0,03 (7)	0,65 ± 0,04 (8)

Lípidos

	1	8	19	R
C	0,36 ± 0,04 (5)	0,43 ± 0,03 (8)	0,47 ± 0,04 (8)	0,58 ± 0,09 (8)
A		0,32 ± 0,03 (7)	0,22 ± 0,01 (8)	0,26 ± 0,03 (8)

TOTAL

C	1,89	2,35	3,06	3,47
A		1,24	0,98	1,95

INCREMENTO RELATIVO DEL CONTENIDO ENERGETICO (%)

		1-8	8-19	19-R
Glucógeno	C	+32,24	+48,59	+1,83
	A	-57,01	-18,11	+238,70
Proteínas	C	+17,92	+13,92	+30,39
	A	-16,83	-16,66	+43,23
Lípidos	C	+19,03	+10,40	+22,67
	A	-12,40	-29,75	+18,92
TOTAL	C	+24,71	+30,16	+13,32
	A	-34,00	-20,45	+98,34

Tabla 13. Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Valores calculados a partir de la reserva total y multiplicado por su equivalente calórico: 4,2=Glucógeno; 4,8=Proteínas; 9,5=Lípidos.

CONTENIDO ENERGETICO DEL MUSCULO (Kcal/100 gr pez)

Glucógeno

	1	8	19	R
C	0,55 ± 0,06 (6)	0,86 ± 0,07 (7)	1,23 ± 0,08 (5)	1,67 ± 0,19 (8)
A		0,56 ± 0,10 (7)	0,52 ± 0,07 (8)	0,65 ± 0,05 (8)

Proteínas

	1	8	19	R
C	16,80 ± 0,81 (6)	16,81 ± 0,61 (7)	17,19 ± 0,31 (6)	18,29 ± 1,07 (7)
A		13,47 ± 1,19 (5)	10,45 ± 1,41 (6)	10,00 ± 0,72 (7)

Lípidos

	1	8	19	R
C	1,51 ± 0,12 (4)	2,00 ± 0,11 (6)	2,28 ± 0,23 (6)	2,04 ± 0,09 (7)
A		1,86 ± 0,23 (5)	1,54 ± 0,22 (6)	1,12 ± 0,14 (8)

TOTAL

C	18,87	19,67	20,71	22,00
A		15,89	12,52	11,77

INCREMENTO RELATIVO DEL CONTENIDO ENERGETICO (%)

		1-8	8-19	19-R
Glucógeno	C	+57,23	+42,93	+35,44
	A	+1,53	-6,57	+25,05
Proteínas	C	+0,03	+2,28	+6,36
	A	-19,84	-22,40	-4,32
Lípidos	C	+32,49	+14,30	-10,55
	A	+23,39	-17,17	-27,37
TOTAL	C	+4,29	+5,29	+6,23
	A	-15,76	-21,23	-5,93

Tabla 14. Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Valores calculados a partir de la reserva total y multiplicado por su equivalente calórico: 4,2=Glucógeno; 4,8=Proteínas; 9,5=Lípidos.

días. La utilización de esta reserva condiciona la disminución del peso del hígado. Posteriormente, entre 8 y 19 días, se produce una disminución del contenido energético muy inferior, siendo el de los lípidos el más afectado (-30%).

Con la realimentación se produce una recuperación del contenido energético del hígado; en porcentaje, así como en valor absoluto, el glucógeno es el que presenta la recuperación más importante (238,7%), seguido de las proteínas (43%) y finalmente de los lípidos (19%). El valor total de reservas es incluso superior al inicial, explicándose por tanto los mayores IHS observados en estos peces. Por tanto este órgano se recupera totalmente tras la realimentación y de forma más acusada que lo hace el peso total del animal.

Con respecto al músculo la reserva mayoritaria y más importante en contenido calórico es la de las proteínas. Aunque glucógeno y lípidos representan el mismo porcentaje, como que el contenido energético de lípidos es el doble del de los carbohidratos, éstos constituyen la reserva energética minoritaria.

En los 8 primeros días se produce una disminución del 20% del contenido calórico protéico, mientras que las otras dos reservas no son afectadas. Entre 8 y 19 días observamos que también son las proteínas las más afectadas (22%); sin embargo esta pérdida protéica, en este segundo período, representa una pérdida diaria menor que en el momento anterior. Tras la realimentación, y teniendo en cuenta que se produce tras 50 días de ayuno, ni las proteínas ni los lípidos se han recuperado totalmente. Hemos de concluir que se produce una movilización de lípidos entre los 19 y los 50 días de ayuno, puesto que el contenido calórico de los lípidos en músculo tras la realimentación es incluso inferior al observado a los 19 días (-27%).

Al considerar el contenido calórico total de cada uno de los tejidos, destaca que:

- 1) En los 8 primeros días el órgano más afectado porcentualmente es el hígado (-34%), mientras que el cambio en músculo representa menos de la mitad (-15%). Sin embargo, en cuanto a contenido energético total el músculo es el más importante (tablas 13 y 14).
- 2) Entre 8 y 19 días la disminución del contenido calórico en hígado es del 20%, menor que en el período anterior; en músculo es del 21%, mayor que en el período inicial.

BALANCE ENERGETICO DEL HIGADO (cal/Kg/hr)

		1-8	8-19
Glucógeno	C	+16,62	+21,08
	A	-29,39	-2,56
Proteínas	C	+7,03	+4,10
	A	+6,60	-3,46
Lípidos	C	+4,09	+1,69
	A	-2,66	-3,56
TOTAL	C	+27,74	+26,87
	A	-38,65	-9,58

BALANCE ENERGETICO DEL MUSCULO (cal/Kg/hr)

		1-8	8-19
Glucógeno	C	+18,72	+22,07
	A	+0,50	-1,39
Proteínas	C	+0,33	+14,53
	A	-198,44	-114,28
Lípidos	C	+29,17	+10,82
	A	+21,00	-12,10
TOTAL	C	+48,21	+39,40
	A	-176,94	-127,78

Tabla 15. Balance energético del hígado y músculo entre los períodos de ayuno de carpas sexualmente maduras.

Los valores han sido calculados por diferencia del contenido energético entre los períodos de ayuno y expresados como cal/Kg/hr.

Sin embargo, cuando se expresan los incrementos o decrementos del contenido energético como cal/Kg/hr (tabla 15), dado que el período de ayuno es mayor representan una disminución de la pérdida calórica del 75% para el hígado y del 28% para el músculo en este segundo período.

3) Tras el período de realimentación el hígado recupera y supera su contenido energético inicial, mientras que el músculo presenta un 38% menos en cuanto a contenido calórico respecto al momento inicial.

El balance energético de cada reserva en cada uno de los órganos, así como del total de cada órgano, están reflejados en la tabla 15. La pérdida calórica total en los 8 primeros días de ayuno es de 215 cal/Kg/hr, mientras que entre 8 y 19 días se produce una disminución importante de la misma (137 cal/Kg/hr).

3.1.7. Efecto del ayuno y la realimentación sobre el glucógeno cerebral.

El rango de valores observado para el glucógeno cerebral a lo largo del experimento fue del 0,37 al 0,48% (fig. 27), sin observarse diferencias entre el grupo control y el grupo ayunado. Sin embargo, se observaron fluctuaciones de este parámetro a lo largo del experimento, pero eran paralelas en ambos grupos. Así, se observó tras 19 días de experimento un aumento en los niveles de glucógeno en ambos grupos, siendo sólo significativo en el grupo ayunado ($p < 0,01$ respecto a 8 días), y una posterior y significativa disminución en los dos grupos al final del experimento ($p < 0,01$; $p < 0,001$ respectivamente). Este parámetro presentó correlación negativa con el glucógeno hepático ($r = -0,427$; $p < 0,05$; $N = 23$).

En consecuencia el glucógeno cerebral no se vio afectado por estas condiciones de ayuno, pero presentó una ritmicidad que debe responder a cambios ambientales o a un ritmo interno de los animales, pues afectó de igual forma a los dos grupos.

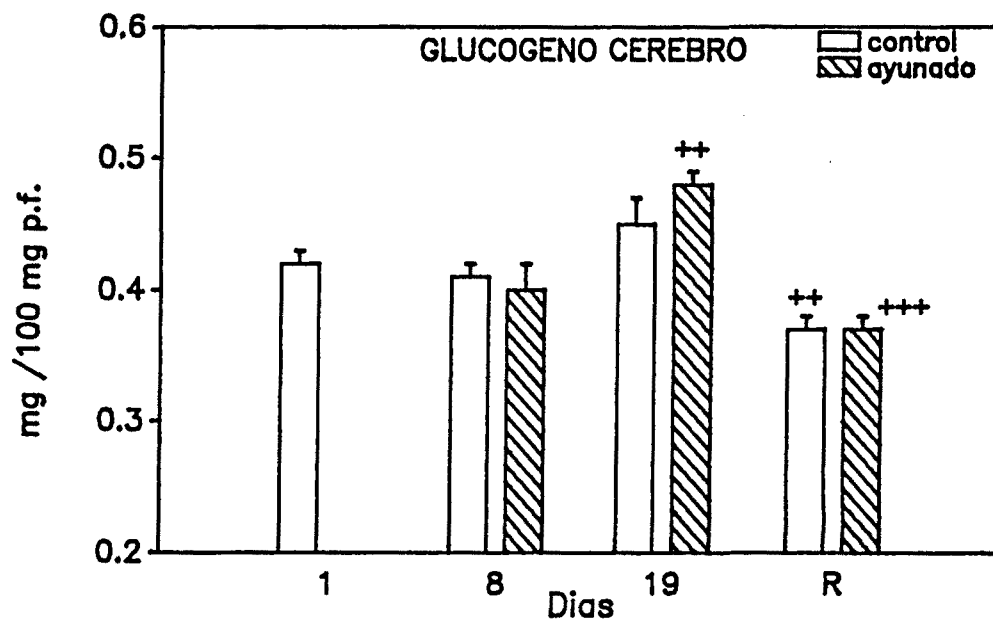


Figura 27.- Variación en la concentración de glucógeno cerebral durante el ayuno y tras la realimentación. (Media \pm E.S.M.). R = Realimentados. Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

3.2. EFECTOS DEL AYUNO EN CARPAS INMADURAS

3.2.1. Parámetros morfológicos.

Con la finalidad de hacer más comparables los resultados de este experimento con el anterior, los cambios de peso, así como los del Índice de Condición (I.C.), se han expresado en la tabla 16 en valores relativos. Sin embargo por tratarse de un grupo de peces muy homogéneo tanto en peso ($173,98 \pm 3,68$ gr) como en talla ($19,02 \pm 0,15$ cm), la representación gráfica de estos parámetros se ha realizado en valores absolutos (fig. 28A). Por tratarse de carpas inmaduras en su totalidad no se han realizado consideraciones con respecto a los sexos.

Peso corporal:

El peso de las carpas control incrementó un 11% en los 67 días de experimento (tabla 16). Aunque los incrementos relativos de peso entre los diferentes períodos fueron variando, el incremento medio de peso diario fue del 0,17%, semejante al observado en el primer experimento.

Como se observa en la figura 28A, en valores absolutos, y en la tabla 16 en valores relativos, el grupo ayunado perdió un 21,5% de peso corporal en 67 días de ayuno. Tras 50 días de ayuno la pérdida de peso fue del 14,7%, por tanto inferior a la observada en el primer ayuno (17%). Como se indica en la tabla 16, mientras que en los 8 primeros días perdieron 0,73 gr diarios, en los siguientes períodos estudiados hasta los 50 días, la disminución se mantuvo constante (-0,24 gr diarios); por tanto se produjo una reducción del 67% en la pérdida de peso. Entre 50 y 67 días se produjo una disminución de 0,39 gr diarios, es decir, un 63% superior a los períodos entre 8 y 50 días.

Al igual que en el primer experimento podemos establecer una relación lineal entre el logaritmo del peso y los días de ayuno. Transformando los datos para un pez de 100 gr la ecuación resultante es:

Incremento relativo del peso corporal respecto al día 1 (%)

	8	19	35	50	67
C	+0,5 ± 0,4 (24)	+5,4 ± 1,1 (24)	+9,5 ± 1,2 (24)	+9,0 ± 2,2 (24)	+10,9 ± 2,0 (10)
A	-5,1 ± 0,3 (24)	-7,8 ± 0,3 (24)	-11,4 ± 0,6 (21)	-14,7 ± 0,7 (16)	-21,4 ± 1,6 (5)

Incremento relativo de peso diario (gr/100gr.pes/día)

	1-8	8-19	19-35	35-50	50-67
C	+0,06	+0,45	+0,26	-0,03	+0,12
A	-0,73	-0,25	-0,23	-0,22	-0,39

Incremento relativo del I.C. respecto al día 1 (%)

	8	19	35	50	67
C	-0,70	+5,01	+8,82	+3,71	+2,50
A	-9,01	-12,64	-11,62	-17,69	-23,70

Tabla 16. Efecto del ayuno sobre el peso corporal y el Índice de Condición (I.C.), de valores relativos, de carpas inmaduras.

Los valores correspondientes al incremento relativo del peso corporal se han calculado a partir de la siguiente fórmula: $100 \times (\text{peso día } i - \text{peso día } 1) / \text{peso día } 1$. Los resultados corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares se indica entre paréntesis.

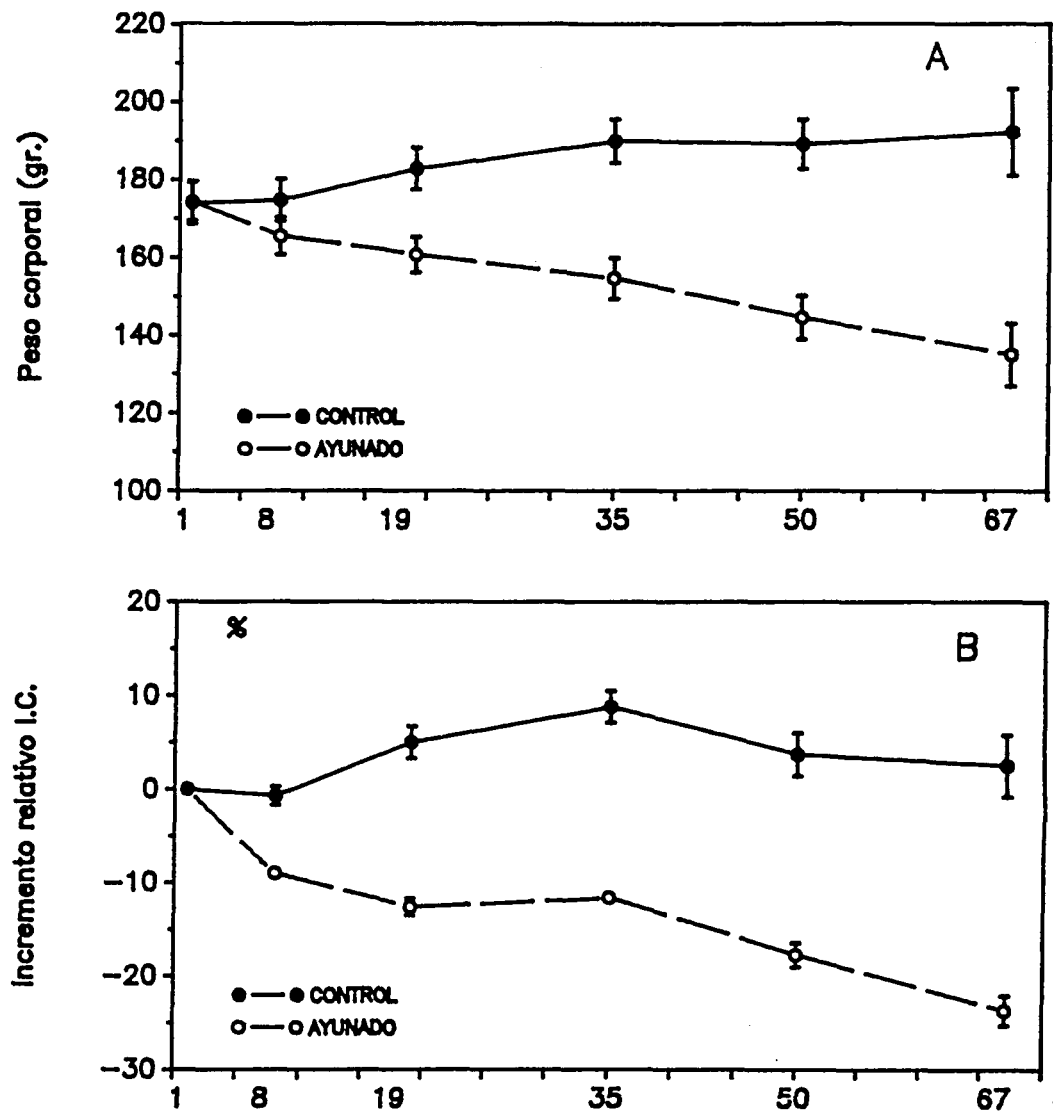


Figura 28.- Variaciones absolutas del peso corporal total (A) y relativas del Índice de condición (I.C.) (B) a lo largo del ayuno en carpas inmaduras. Expresados en Media \pm Error standard de la media.

$$\log \text{Peso} = 1,994244 - 0,00136D \quad (D=\text{días de ayuno})$$
$$r=0,9135, \quad n=117, \quad p<0,001.$$

Comparando esta ecuación de pérdida de peso en función del tiempo de ayuno con la obtenida en el primer experimento, se observa que, mientras en el primer ayuno se necesitaban 184 días para reducir el peso corporal a la mitad, en éste se necesitan 221 días, es decir un mes más.

Índice de condición (I.C.):

Este parámetro (fig. 28B y tabla 16) reflejó aproximadamente los mismos cambios observados en el peso, con pequeñas variaciones. Así, en el grupo control se observó una ligera disminución del I.C. entre 35 y 67 días de experimento que respondería a un aumento en la longitud del pez. En el grupo ayunado no se observaron cambios de este parámetro entre 19 y 35 días, a pesar de la disminución de peso, por lo que debemos suponer que se produce una cierta merma de la longitud del pez en este período. Sin embargo estas pequeñas diferencia no fueron significativas.

3.2.2. Parámetros en sangre y plasma.

Hematocrito:

El rango de valores observado en los hematocritos (fig. 29) del grupo control (30-32%) concuerda con el observado en el primer experimento (27-32%). Con respecto al grupo ayunado, tan sólo es destacable el incremento observado entre 50 y 67 días de ayuno ($p<0,01$), observándose niveles significativamente superiores ($p<0,01$) a los de su grupo control.

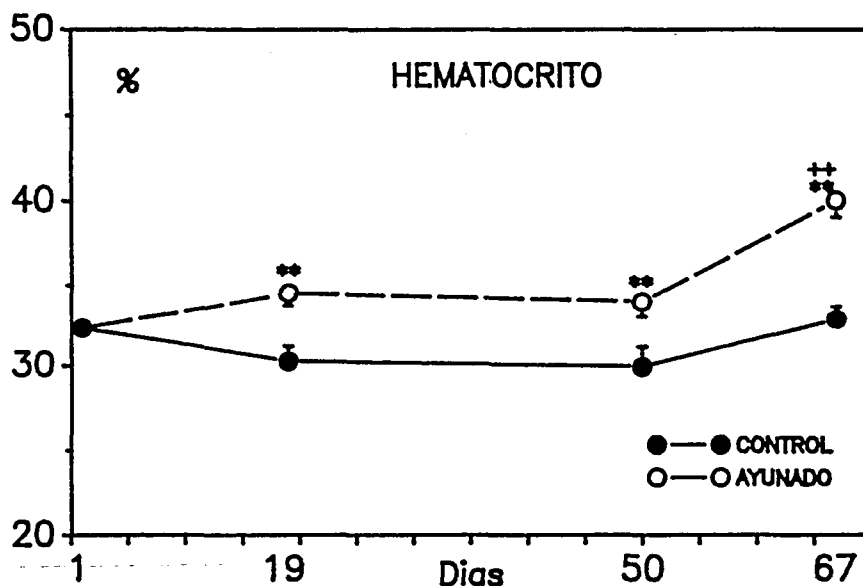


Figura 29.- Variación del hematocrito a lo largo del ayuno en carpas inmaduras. Media \pm E.S.M. Niveles de significación para el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$

PROTEINAS EN SANGRE (gr./100 ml sangre)

	1	50	67
C	2,80 \pm 0,14 (5)	2,80 \pm 0,08 (6)	2,50 \pm 0,11 (6)
A		2,43 \pm 0,17 (4)	2,44 \pm 0,16 (5)

Tabla 17.- Efecto del ayuno sobre los niveles de proteínas en sangre en carpas inmaduras. Media \pm E.S.M. Entre paréntesis se indica el número de animales.

Proteínas en sangre:

Se calcularon a partir de los valores de proteínas plasmáticas, las cuales no mostraron cambios ni en el grupo control (4,08-3,75 gr/100 ml.) ni en el grupo ayunado (3,62-4,01 gr/100 ml.), y del valor del hematocrito. No se observaron cambios significativos de las proteínas en sangre (tabla 17) en el período estudiado en ninguno de los dos grupos.

Glucosa en plasma:

En el grupo control se observó un incremento del 34% en los niveles de glucosa plasmática (fig. 30) entre 19 y 50 días de experimento, siendo este aumento significativo ($p < 0,05$).

Los niveles de glucosa plasmática en el grupo ayunado fueron similares a los del grupo control hasta los 50 días de ayuno, pudiendo reflejar que varían según un ritmo estacional y no afectados por el ayuno hasta ese momento. Sin embargo tras 67 días de ayuno se observó un descenso significativo ($p < 0,05$) de los niveles de este parámetro (-28,4%).

Los niveles de glucosa (45-67 mg/100 ml) fueron superiores a los observados en el primer experimento (30-43 mg/100 ml).

Lactato en plasma:

No se observaron cambios destacables en los niveles de lactato en plasma (fig. 31) ni en el grupo control ni en el grupo ayunado. Sin embargo al final del período estudiado se observaron niveles inferiores en el grupo ayunado, pero sin diferencias significativas. El rango de valores observado (1,8-3,3 mM) fue similar a los del primer experimento (1,6-2,1 mM).

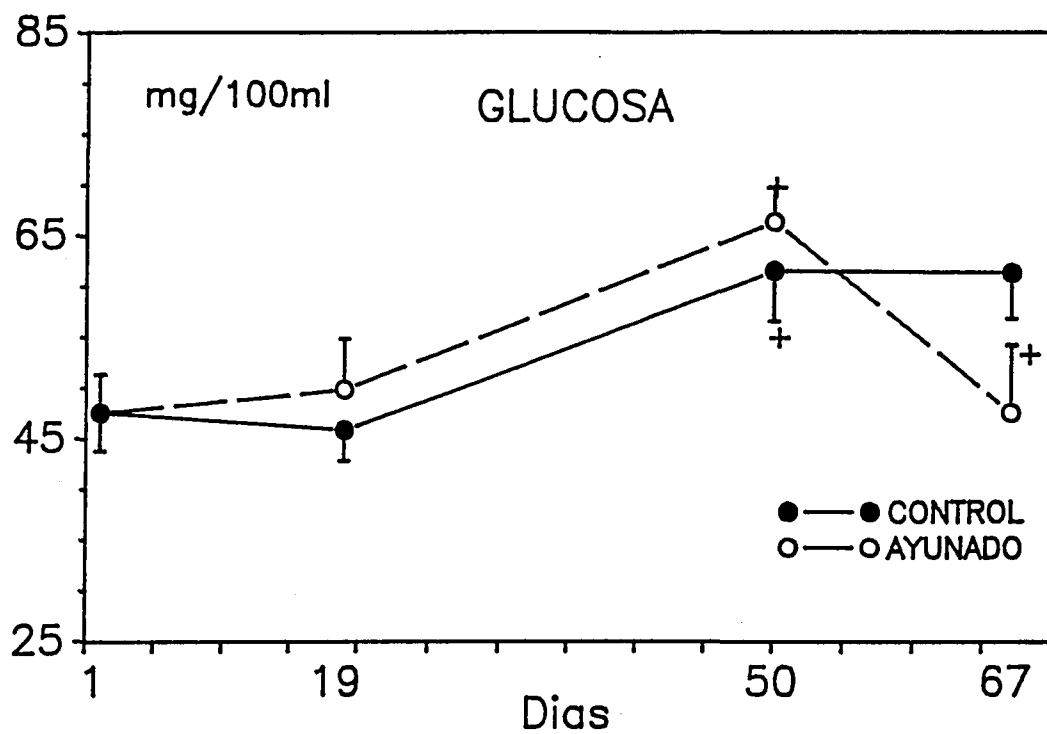


Figura 30.- Cambios en la concentración de glucosa plasmática durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

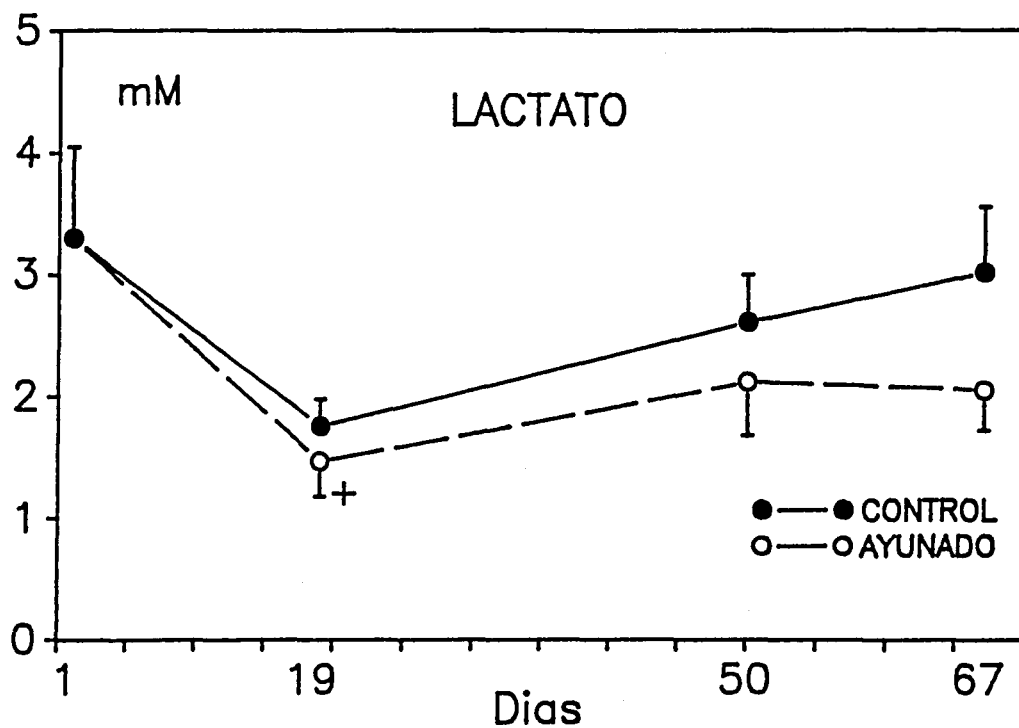


Figura 31.- Cambios en la concentración de lactato en plasma durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Insulina plasmática:

Los niveles de insulina en el grupo control (7,2-10,25 ng/ml) (fig. 32A) fueron superiores a los del primer ayuno (4,05-6,4 ng/ml). En este grupo, a los 19 días se produjo una disminución significativa ($p < 0,05$) (-29%) y un posterior incremento (+33%) a los 50 días ($p < 0,05$).

En el grupo ayunado no se observaron cambios en los niveles de insulina con respecto al grupo control a 19 y 50 días de ayuno. Tras 67 días de ayuno los niveles de insulina disminuyeron un 31% respecto al momento anterior, siendo la diferencia significativa ($p < 0,05$).

Glucagón plasmático:

Los niveles de glucagón plasmático en el grupo control no presentaron cambios a lo largo del experimento (fig. 32B). El rango de valores observado (250-375 pg/ml) fue inferior al del primer experimento (800-900 pg/ml).

En el grupo ayunado este parámetro fue aumentando según progresaba el ayuno. Así entre 19 y 50 días se produjo un aumento del 99% ($p < 0,01$) y entre 50 y 67 días fue del 16%, siendo significativo con respecto a su grupo control ($p < 0,01$). Por tanto, al final del ayuno los niveles de glucagón eran un 122% superiores a los del grupo control.

Relación molar Glucagón/Insulina:

Esta relación se mantuvo constante en el grupo control a lo largo del experimento (fig. 33), existiendo una correlación directa ($r = 0,5168$, $p < 0,01$, $N = 32$) entre ambas hormonas.

El grupo ayunado presentó un aumento progresivo de la relación Glucagón/Insulina, siendo a 67 días de ayuno significativamente superior a la del grupo control ($p < 0,001$) y a la del momento anterior ($p < 0,05$). A 67 días de ayuno esta relación era dos veces y media superior a la del grupo control.

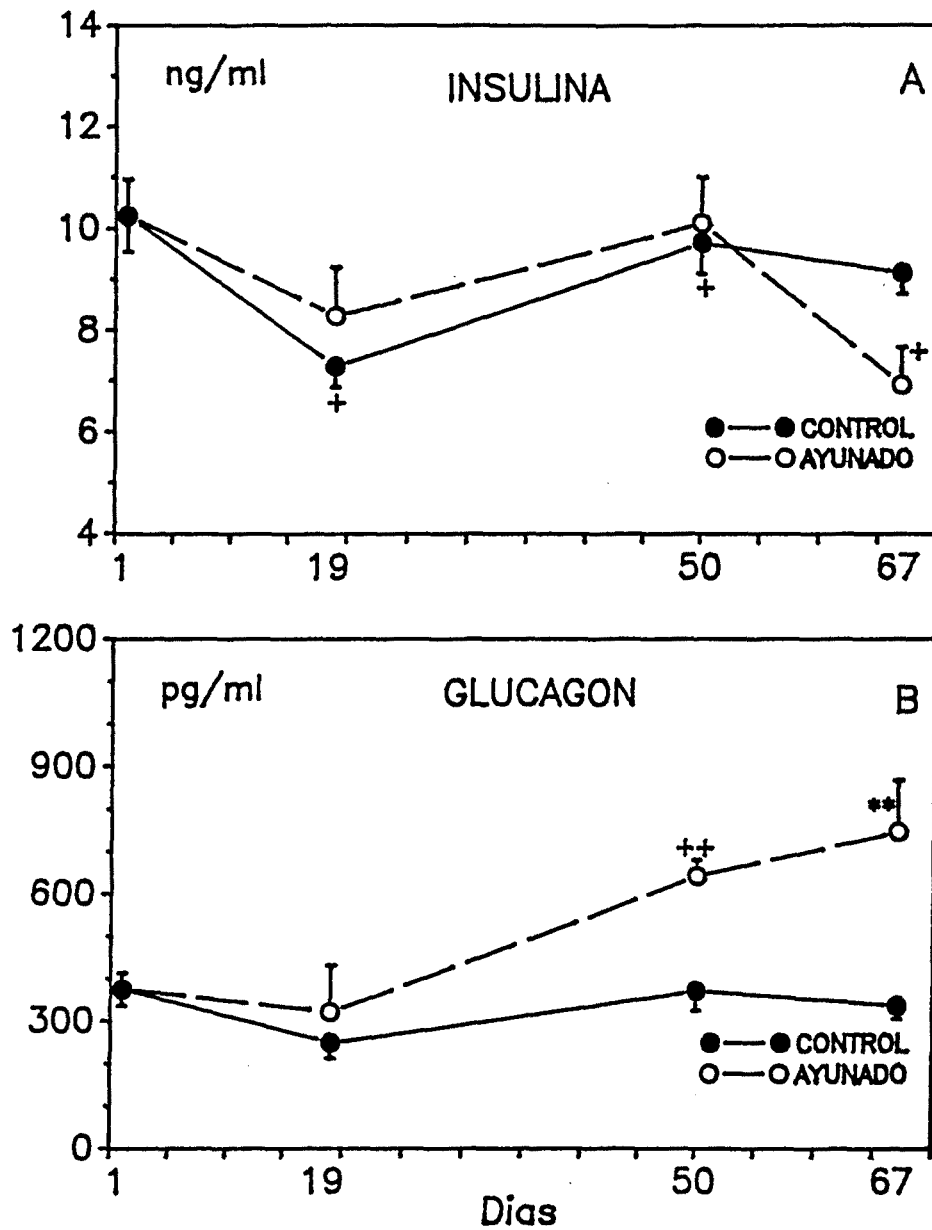


Figura 32.- Cambios en la concentración de insulina plasmática (A) y de glucagón plasmático (B) durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

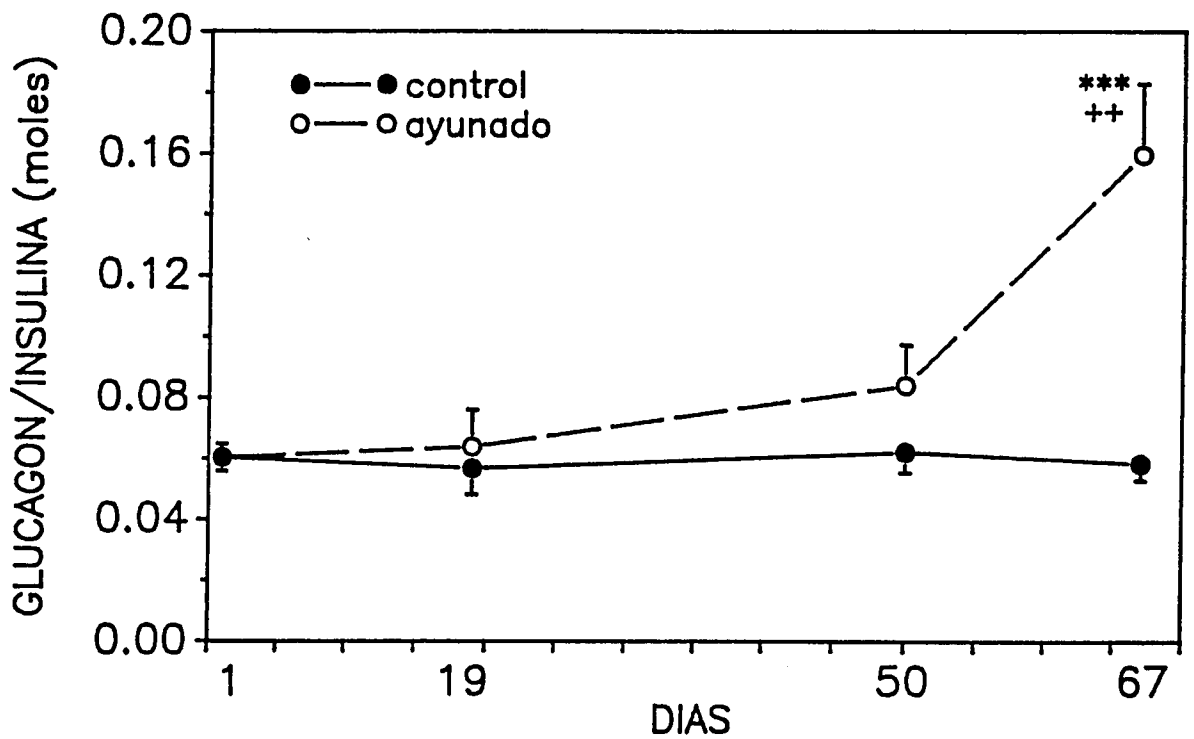


Figura 33.- Cambios en la relación molar glucagón/insulina durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

La relación molar de ambas hormonas fue un 82% inferior a la observada en el primer ayuno, consecuencia de los menores niveles de glucagón y de los mayores niveles de insulina.

Aminoácidos en plasma:

La concentración de aminoácidos en plasma de las carpas control fue similar a la observada en el primer experimento, presentando el mínimo al inicio del experimento (1869 μM) y el máximo a los 50 días (3130 μM). Considerando la concentración media de cada uno de los aminoácidos del conjunto de las carpas control se observó que los aminoácidos esenciales presentaban una buena correlación con sus niveles en la dieta (fig. 34), confirmando los resultados obtenidos en el primer experimento.

El porcentaje de aminoácidos esenciales respecto del total fue algo inferior al del primer experimento (51-60%), mientras que los aminoácidos ramificados representaban el mismo porcentaje respecto del conjunto de esenciales que el observado en el experimento anterior (45-67%). Asimismo, la prolina se destacó entre los aminoácidos no esenciales (30-60%).

El ayuno modificó ostensiblemente la concentración de aa totales en plasma. Así, a los 19 días de ayuno se observó un aumento significativo ($p < 0,01$) tanto en la concentración de aa esenciales (+135%) como en la de los no esenciales (+218%) (fig. 35A), siendo las diferencias significativas con respecto a sus correspondientes grupos control ($p < 0,01$); la concentración de estos aa esenciales tras 19 días de ayuno fue similar a la obtenida en el primer experimento (2614 μM), sin embargo la de los aminoácidos no esenciales fue prácticamente el doble (2334 μM) (fig. 35A). Este aumento afectó a todos los aminoácidos de forma significativa (tabla 18A, 18B). Entre los esenciales destacaron la Lys (+371%) y los aa de cadena ramificada (+140%) (fig. 35B), y entre los no esenciales la Pro (+488%), Tyr (+393%), Glu+Gln (+302%) (fig. 36B) y la Ala (+217%) (fig. 36A).

A los 50 días de ayuno la concentración de los aminoácidos esenciales y la de no esenciales duplicaron los valores observados a 19 días, siendo el aumento significativo

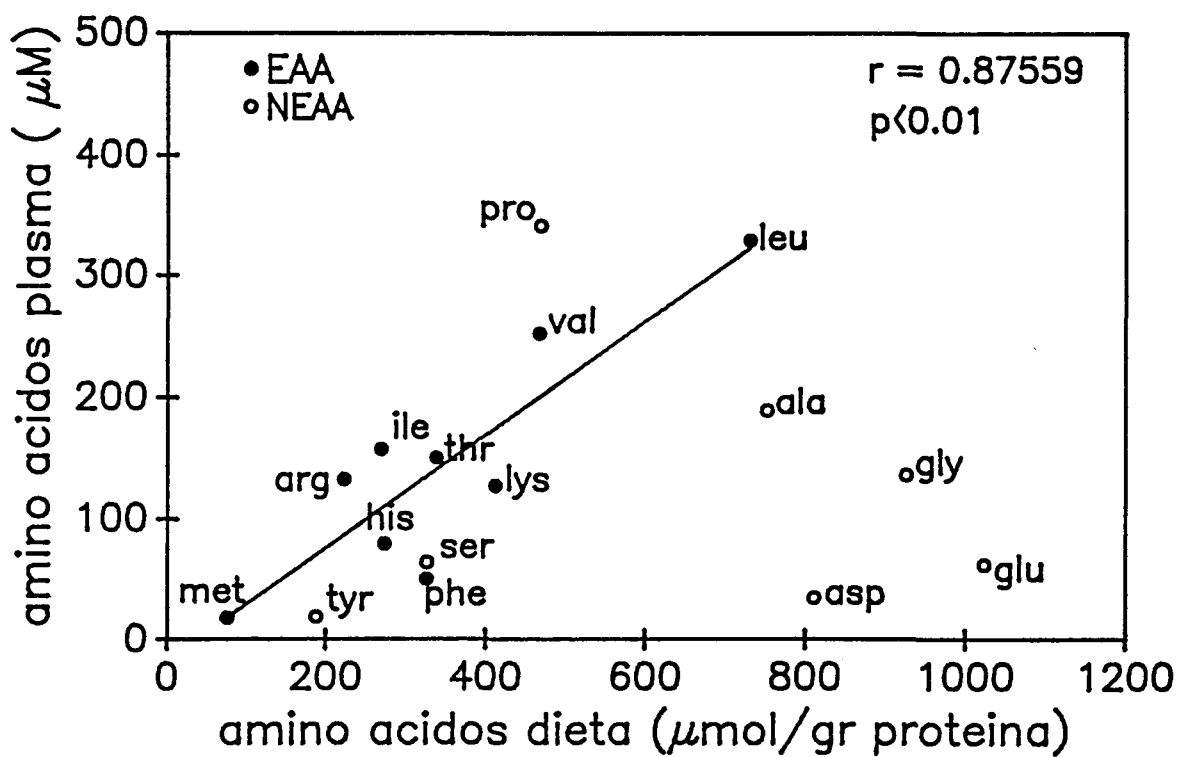


Figura 34.- Relación entre la concentración de aminoácidos libres en plasma a las 24 horas de ayuno y el contenido de aminoácidos de la dieta en carpas inmaduras. La recta de regresión está referida a los aminoácidos esenciales. eaa = aminoácidos esenciales; neaa = aminoácidos no esenciales.

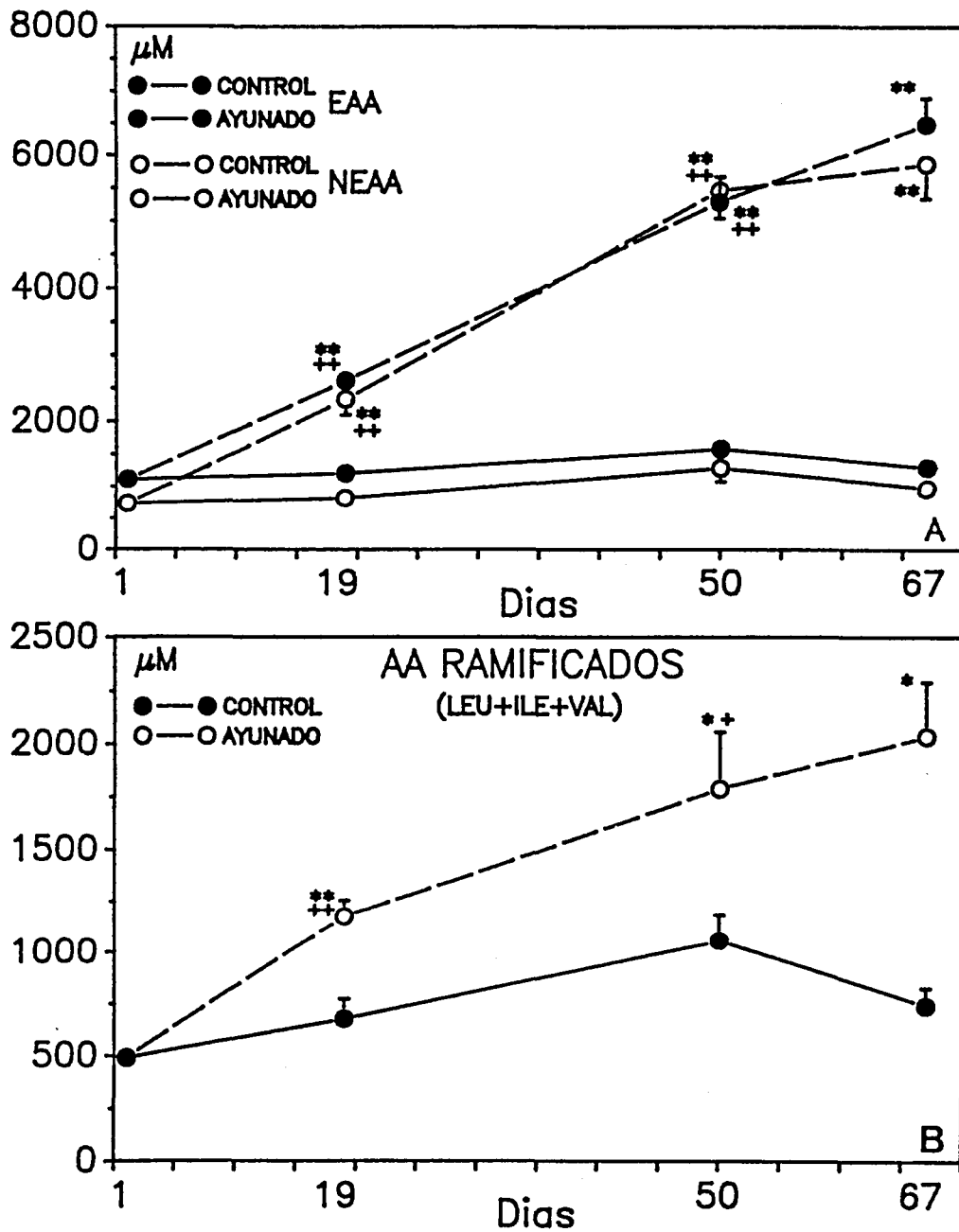


Figura 35.- Variaciones en la concentración de aminoácidos esenciales (EAA) y no esenciales (NEAA) (A), y en la concentración de aminoácidos ramificados (B) en plasma durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

TABLA 18A: NIVEL DE AMINOACIDOS ESENCIALES (μM) EN PLASMA DURANTE EL AYUNO EN CARPAS INMADURAS.

	19		50		67	
	C	A	C	A	C	A
THR	177.46 16.15	543.38 46.67	141.79 21.16	1747.23** 208.68++	149.89 15.84	1472.06** 251.20
VAL	184.98 23.05	350.44* 20.99++	370.99+ 47.04	622.35** 30.08++	252.36 28.58	630.04** 77.08
MET	36.17 6.11	58.99** 7.87+	15.12 1.18	97.52** 5.71++	18.29 3.17	5.84** 5.84
ILE	110.58 14.49	265.04** 22.36++	247.38 40.93	467.28** 26.75++	157.15 21.34	506.67** 64.89
LEU	234.10 16.58	562.57* 37.26++	438.30 42.34	953.25** 53.05++	328.82 32.60	899.41** 116.16
PHE	56.66 13.39	108.48 8.67	43.72 4.69	156.92** 13.27+	50.73 5.37	184.72** 28.11
HIS	87.81 6.79	183.98** 16.80+	86.71 5.58	235.88** 17.59++	79.62 3.79	202.12** 25.95
LYS	104.63 7.90	492.67++ 51.78	142.17 12.15	848.00** 93.13++	127.03 9.02	1552.34** 143.09
ARG	163.51 8.90	324.92** 48.74	124.33 15.27	695.40** 152.30++	132.40 10.03	908.79** 68.85
$\Sigma\text{EAA (mM)}$	1.11 0.02	2.61** 0.17++	1.59 0.13	5.29** 0.39++	1.30 0.13	6.48** 0.42

C = grupo control; A = grupo ayunado; ΣEAA = aminoácidos esenciales. Datos expresados como Media y debajo E.S.M. Número de animales = 8 para cada grupo. Niveles de significación para el test de Duncan:

respecto al grupo control: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.
respecto al momento anterior: + $p < 0.05$; ++ $p < 0.01$.

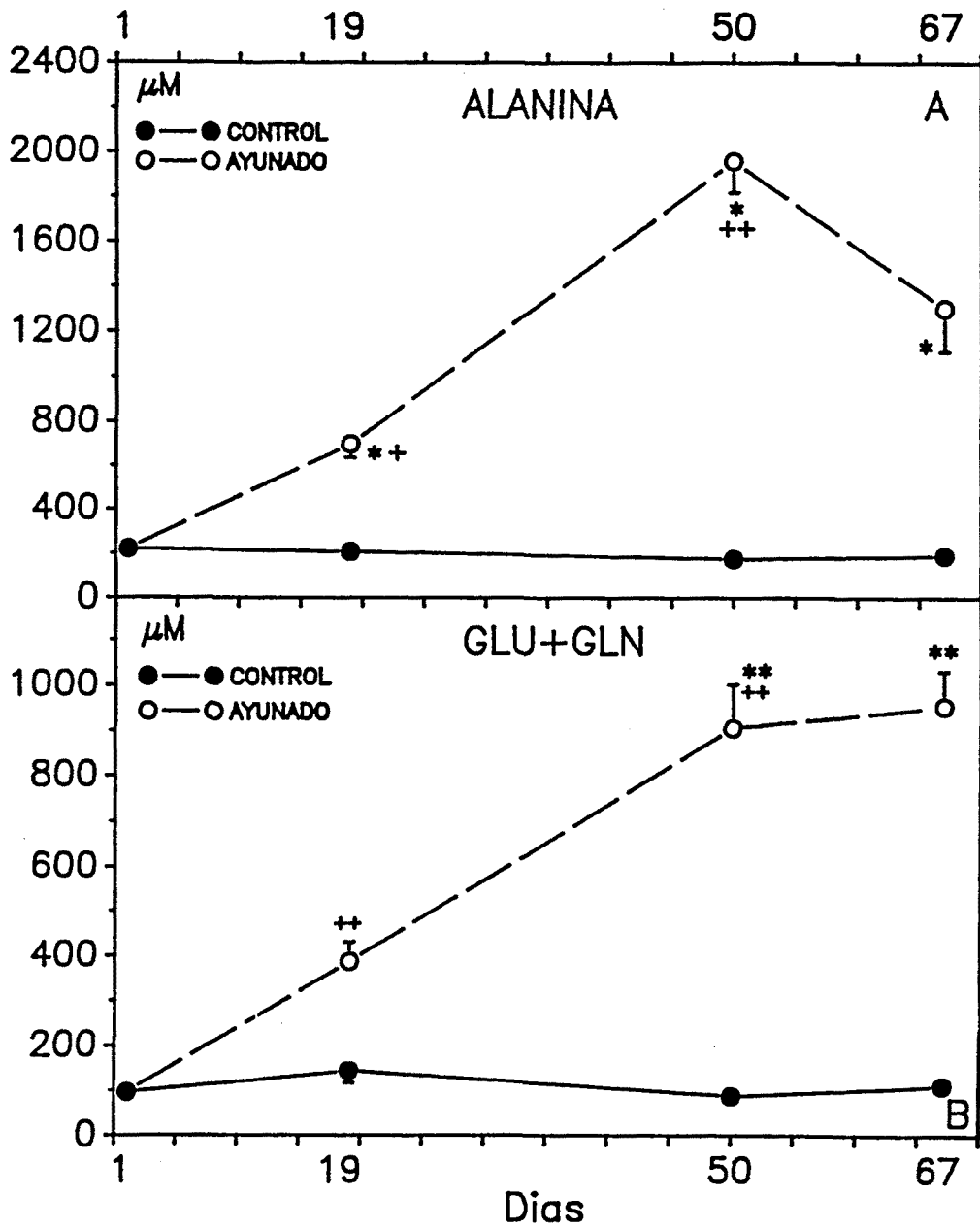


Figura 36.- Variaciones en la concentración de Ala (A) y Glu/Gln (B) durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

en ambos casos ($p < 0,01$) (fig. 35A). También este incremento afectó a todos los aminoácidos, destacando el aumento de Ala, que triplicó su concentración en plasma (fig. 36A), y el de Glu+Gln (+134%) (fig. 36B).

A los 67 días de ayuno, los niveles de aminoácidos esenciales y los de no esenciales no presentaron diferencias significativas con respecto a los de 50 días de ayuno (fig. 35A), aunque fueron ligeramente superiores. La concentración de cada aminoácido individual no presentó diferencias significativas con respecto al momento anterior, pero es destacable que la Ala fue el único aa que mostró niveles inferiores a los observados a 50 días (-34%) (fig. 36A).

Por todo lo dicho, la evolución de los aa en plasma en este experimento fue similar a la del primer ayuno hasta los 19 días y, posteriormente, siguió una evolución opuesta a 50 días.

3.2.3. Efectos del ayuno sobre el hígado.

Peso del hígado, índice hepato-somático (IHS) e índice hepato-longal (IHL).

En la tabla 19 se indican las variaciones en el peso absoluto del hígado, así como los cambios relativos respecto al peso corporal (índice hepatosomático: IHS) y respecto a la longitud (índice hepatolongal: IHL).

En el grupo control el peso del hígado aumentó entre 1 y 50 días de manera proporcional al aumento del peso corporal, aunque no significativamente. Sin embargo, el peso del hígado en el grupo control a 67 días fue significativamente inferior ($p < 0,05$) al de 50 días, así como también el IHS y el IHL (ambos $p < 0,05$). Por tanto, entre 50 y 67 días se produjo en el grupo control una disminución de reservas hepáticas, quizás en relación con la preparación a la reproducción (aunque no son peces adultos aún) o por simple aumento de la actividad del pez (mayor demanda energética) como consecuencia de una variación estacional.

Tras 50 días de ayuno el peso del hígado había disminuido un 46% respecto al momento inicial ($p < 0,01$); era, por tanto, inferior también al valor de su grupo control

PESO ABSOLUTO DEL HIGADO (gr)

	1	50	67
C	4,73 ± 0,32 (6)	5,24 ± 0,26 (8)	4,31 ± 0,36+ (8)
A		2,54 ± 0,24** (7) ++	2,80 ± 0,24** (8)

INDICE HEPATO-SOMATICO (IHS) (gr hígado/100gr.pesz)

	1	50	67
C	2,81 ± 0,09 (6)	2,77 ± 0,12 (8)	2,28 ± 0,10+ (8)
A		1,68 ± 0,12** (7) ++	2,07 ± 0,09+ (5)

INDICE HEPATO-LONGAL (IHL) (gr hígado/cm pez)

	1	50	67
C	0,25 ± 0,02 (6)	0,26 ± 0,01 (8)	0,22 ± 0,02+ (8)
A		0,13 ± 0,01** (7) ++	0,15 ± 0,01** (5)

Tabla 19. Efecto del ayuno sobre el peso absoluto y relativo del hígado de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

($p < 0,01$). En cambio, no se observaron diferencias en el peso del hígado entre 50 y 67 días de ayuno, pero fue significativamente inferior a su grupo control ($p < 0,01$).

Estos resultados también se reflejan a nivel del IHL (tabla 19). Sin embargo, el IHS de los peces ayunados 67 días fue significativamente superior que el de los ayunados 50 días y no se observó diferencia con sus controles. Por tanto mientras que el peso del hígado a 67 días de ayuno se mantiene o aumenta ligeramente respecto a 50, la relación con el peso corporal aumenta significativamente. Esto indicaría que más que un aumento de reservas hepáticas, se produce una importante pérdida de peso corporal sin afectar al hígado. La tasa de pérdida de peso corporal entre 50 y 67 días era mayor que en todo el período anterior.

Es interesante destacar que el peso del hígado del grupo control está correlacionado positivamente con el peso corporal ($r = 0,6377$, $p < 0,01$, $N = 22$) y con la longitud ($r = 0,5484$, $p < 0,01$, $N = 22$). En el grupo ayunado se mantiene la correlación con el peso corporal ($r = 0,6867$, $p < 0,001$, $N = 18$) pero no con la longitud. Esto es consecuencia, como ya se apuntó anteriormente, de que la longitud total del pez en este grupo sufre mínimos cambios.

Reservas hepáticas

Glucógeno:

La concentración de glucógeno hepático (fig. 37) que presentaron las carpas al inicio del experimento fue la misma que en el primer experimento de ayuno (13%).

Se observó un ligero aumento de esta reserva en el grupo control entre 1 y 50 días de experimento, y una posterior y significativa ($p < 0,01$) disminución (-47%) a los 67 días. Estos resultados también se reflejan cuando se expresa el contenido celular y la reserva en el total del órgano, tanto en valores absolutos como en valores relativos (tabla 20). La disminución del IHS del grupo control a los 67 días podría ser consecuencia de la disminución de glucógeno.

Tras 50 días de ayuno el glucógeno hepático disminuyó un 16% respecto al momento inicial, y a los 67 días un 25% respecto al momento anterior, siendo significativa esta

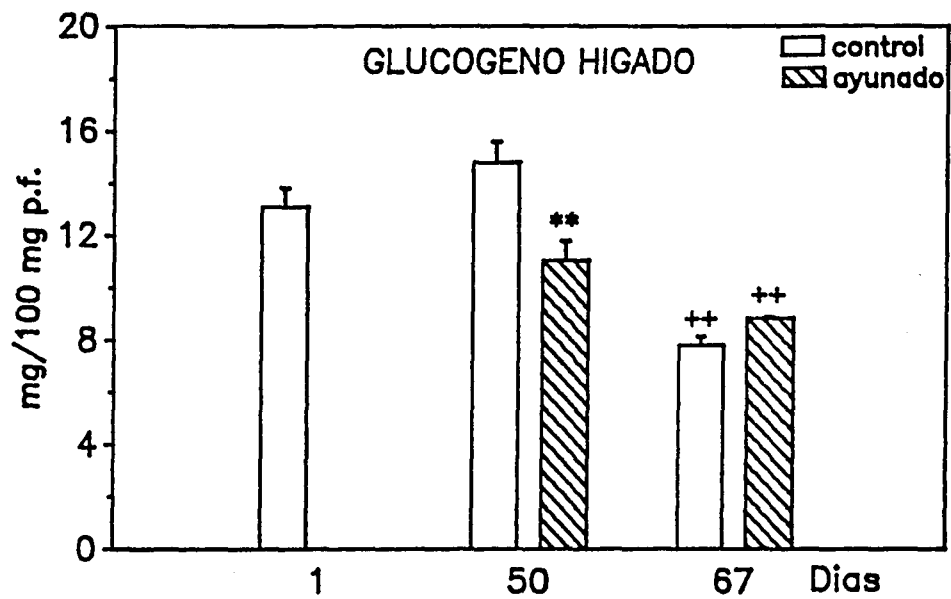


Figura 37.- Variaciones en la concentración de glucógeno hepático durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg glucógeno/100 mg p.s

	1	50	67
C	52,15 ± 2,44 (6)	55,59 ± 2,92 (8)	32,04 ± 1,33++ (7)
A		44,24 ± 2,75** (5) +	40,71 ± 1,31* (4)

Contenido celular (mg glucógeno/μg P-DNA)

	1	50	67
C	0,71 ± 0,08 (6)	0,95 ± 0,08+ (7)	0,43 ± 0,04++ (7)
A		0,44 ± 0,04** (6) ++	0,32 ± 0,01 (4)

Contenido total del hígado (mg glucógeno/100 gr pez)

	1	50	67
C	370,82 ± 26,48 (6)	450,97 ± 36,71 (8)	200,25 ± 13,14++ (7)
A		166,97 ± 23,54** (6) ++	141,60 ± 6,41 (4)

Tabla 20. Efecto del ayuno sobre el glucógeno hepático de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

disminución ($p < 0,01$). Cuando se expresa la concentración de glucógeno por μg de P-DNA o como reserva total se puede observar que la disminución entre 1 y 50 días es del orden del 38% y del 50% respectivamente y significativas ($p < 0,01$) respecto al momento inicial. A diferencia de lo que se ha indicado con la concentración porcentual, entre 50 y 67 días los cambios de glucógeno según las otras formas de expresión no fueron significativos.

El contenido celular inicial, tal y como se observa en la tabla 20, fue inferior al del primer experimento, sin embargo en porcentaje fue similar y como total del órgano fue superior. Por tanto, estas carpas tenían un hígado más grande y con mayor número de células por gramo de peso fresco, pero estas células eran más pequeñas.

Proteínas:

La concentración de proteínas hepáticas en el grupo control fue inicialmente de 9 mg/100 mg p.f., la misma que en el primer experimento, y aumentó significativamente a 50 días expresadas en peso fresco ($p < 0,05$) (fig. 38) y como contenido celular ($p < 0,01$) (tabla 21). También se observó un aumento al expresarlas en peso seco o como reserva total, pero no fue significativo. Entre 50 y 67 días se produjo un aumento significativo del porcentaje de proteínas tanto en peso fresco ($p < 0,05$) como en peso seco ($p < 0,01$). El contenido celular también aumentó aunque no significativamente; sin embargo, la reserva total del órgano no sufrió cambios con respecto a 50 días (tabla 21). Por tanto el aumento observado del porcentaje de proteínas entre 50 y 67 días posiblemente es consecuencia de la importante disminución del glucógeno en este momento. Puesto que las proteínas hepáticas se pueden considerar como estructurales, es lógico que se observe un aumento del contenido celular al producirse la disminución de una reserva importante; la célula disminuye su volumen y por tanto las proteínas se concentran.

Como se observa en la figura 38 y en la tabla 21, las concentraciones de proteínas hepáticas tras 50 días de ayuno fueron significativamente superiores, tanto en peso fresco ($p < 0,01$) como en peso seco ($p < 0,01$), al momento inicial. El contenido celular no presentó diferencias significativas con respecto al momento inicial, sin embargo la reserva en el total del órgano (tabla 21) disminuyó un 54%, siendo significativamente inferior tanto

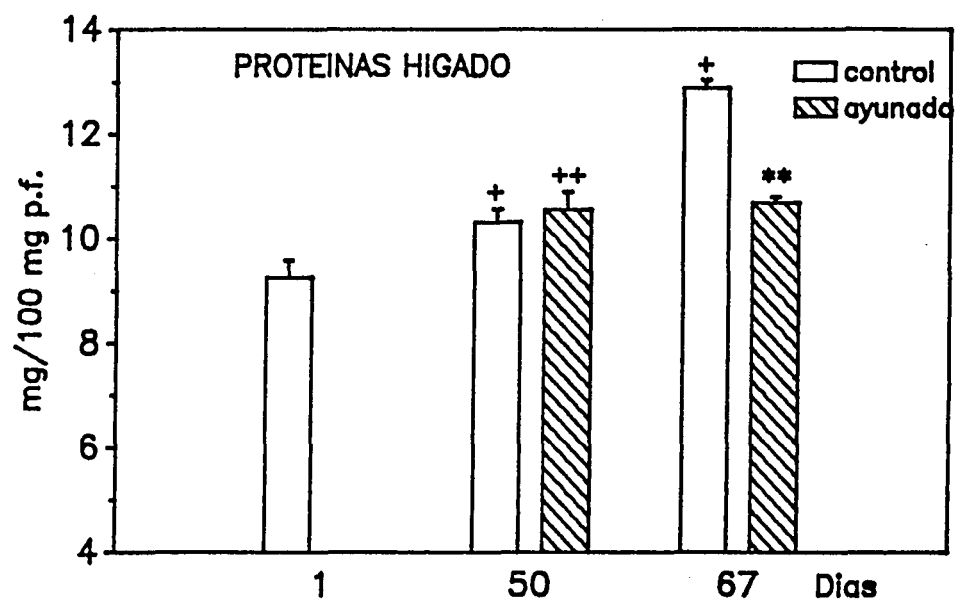


Figura 38.- Variaciones en la concentración de proteínas hepáticas durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg proteína/100 mg p.s.

	1	50	67
C	37,01 ± 1,32 (6)	38,91 ± 1,39 (8)	52,93 ± 0,72++ (7)
A		42,97 ± 1,82++ (7) *	49,21 ± 1,31++ (4)

Contenido celular (mg proteína/μg P-DNA)

	1	50	67
C	0,50 ± 0,03 (6)	0,64 ± 0,02++ (7)	0,69 ± 0,06 (7)
A		0,43 ± 0,02** (8)	0,38 ± 0,02** (4)

Contenido total del hígado (mg proteína/100 gr pez)

	1	50	67
C	260,33 ± 7,89 (6)	310,76 ± 12,90 (8)	313,28 ± 8,33 (7)
A		153,46 ± 11,23** (7) ++	171,25 ± 7,62** (4)

Tabla 21. Efecto del ayuno sobre las proteínas hepáticas de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):
respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.
respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

con respecto al grupo inicial ($p < 0,01$) como a su grupo control ($p < 0,01$). Por tanto el aumento porcentual es consecuencia de la fuerte disminución de glucógeno hepático, sin embargo no se traduce en un aumento importante del contenido celular por lo que hemos de pensar en una cierta pérdida de proteínas hepáticas, y principalmente en una fuerte destrucción celular, como lo indica la disminución de reserva total. Recordemos que el IHS se reduce un 40% tras 50 días de ayuno.

Tras 67 días de ayuno el porcentaje de proteínas hepáticas expresadas en peso fresco fue similar al de 50 días, siendo significativamente inferiores a su grupo control ($p < 0,01$). Sin embargo expresadas en peso seco se observó un incremento significativo ($p < 0,01$), posiblemente por un aumento del agua tisular como consecuencia de la disminución de otra reserva. Tanto el contenido celular, como la reserva en el total del órgano no presentó diferencias significativas con respecto a los de 50 días de ayuno, pero fueron significativamente inferiores al grupo control ($p < 0,01$).

Lípidos:

La concentración de lípidos en hígado de los grupos control (2,9-4%) (fig. 39A) fue ligeramente superior a la observada en el primer ayuno (2,1-2,6%), coincidiendo con los valores observados en esta época en el estudio del ciclo anual de carpa.

La concentración de lípidos aumentó un 32% en el grupo control a los 50 días de experimento (fig. 39A), sin embargo este aumento no fue significativo expresado en peso fresco ni en peso seco (tabla 22). En esta misma tabla se puede observar un aumento significativo del contenido celular ($p < 0,05$) y de la reserva total ($p < 0,05$). A los 67 días no se observaron diferencias significativas con respecto al momento anterior.

Esta reserva no sufrió alteraciones importantes en los animales ayunados 50 días. Así, no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de la reserva (fig. 39A), aunque fueron inferiores a su grupo control. El contenido celular fue significativamente inferior a su grupo control (tabla 22), pero expresado como reserva total se observaron niveles inferiores a los iniciales (-24%) y significativamente más bajos que los de su grupo control ($p < 0,01$), indicando de nuevo una disminución importante del peso del órgano a consecuencia de la destrucción celular, pero sin afectar a la reserva por célula.

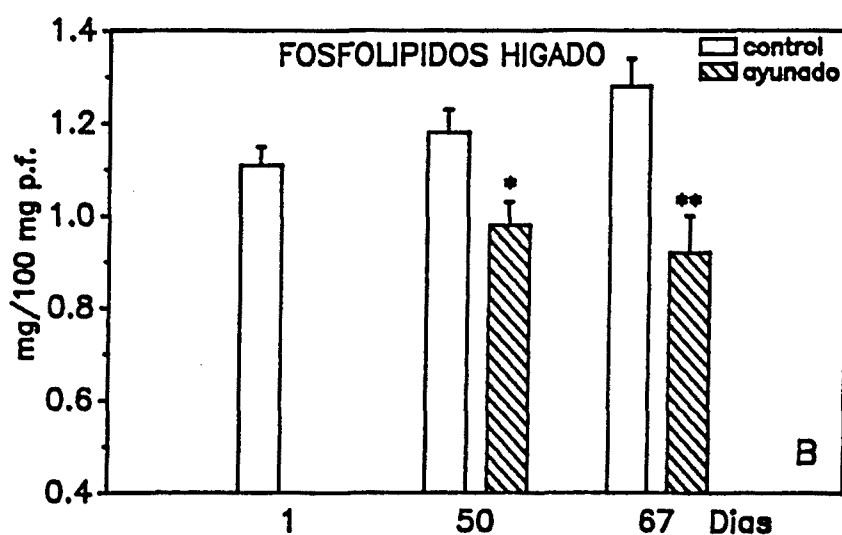
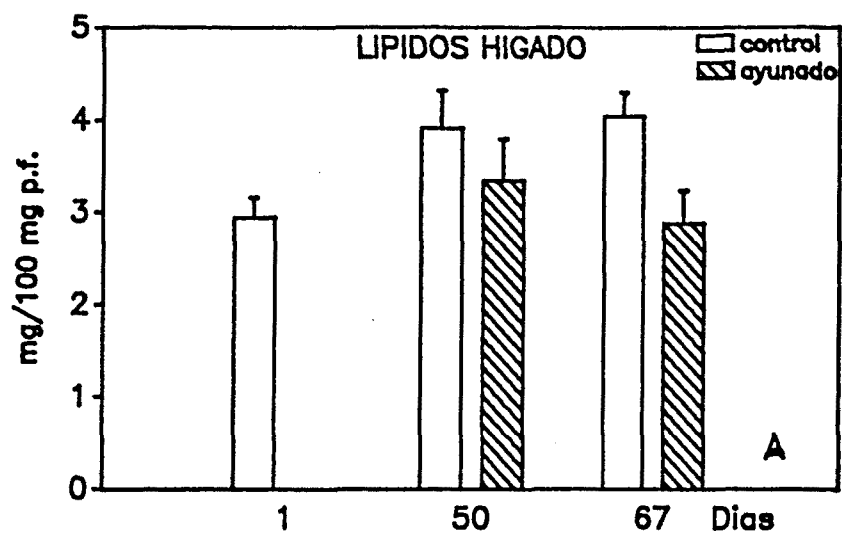


Figura 39.- Variaciones en la concentración de lípidos totales (A) y en la fracción fosfolipídica (B) en hígado durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg lípidos/100 mg p.s.

	1	50	67
C	11,66 ± 0,74 (6)	14,65 ± 1,52 (8)	16,53 ± 0,98 (7)
A		14,79 ± 1,79 (7)	13,24 ± 1,66 (4)

Contenido celular (mg lípidos/μg P-DNA)

	1	50	67
C	0,16 ± 0,02 (6)	0,25 ± 0,03+ (7)	0,23 ± 0,03 (7)
A		0,14 ± 0,02** (6)	0,10 ± 0,01** (4)

Contenido total del hígado (mg lípidos/100 gr pez)

	1	50	67
C	82,72 ± 6,39 (6)	118,65 ± 13,54+ (8)	104,87 ± 10,84 (7)
A		60,99 ± 9,73** (7)	46,33 ± 6,09* (4)

mg Fosfolípidos/100 mg lípidos

	1	50	67
C	39,04 ± 3,57 (6)	32,66 ± 3,68 (8)	31,28 ± 1,55 (7)
A		32,56 ± 3,81 (6)	35,83 ± 5,17 (4)

Tabla 22. Efecto del ayuno sobre los lípidos hepáticos de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):
respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.
respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

A los 67 días de ayuno se observó una disminución importante de los lípidos hepáticos (-27%) (fig. 39A). Aunque las diferencias no fueron significativas, debido sobre todo a la gran variabilidad individual, esta disminución también era evidente en porcentaje del peso seco, en el contenido celular y en el total de reserva (tabla 22). Por tanto podemos suponer que en el período entre 50 y 67 días de ayuno se movilizan principalmente los lípidos hepáticos, provocando el incremento en peso seco de las proteínas hepáticas (ya indicado en el punto anterior).

Fracción fosfolipídica:

El porcentaje de fosfolípidos en el grupo control no presentó diferencias significativas en todo el período de estudio (1,1-1,3 mg/100 mg p.f.) (fig. 39B). Como se observa en la tabla 22, la fracción fosfolipídica con respecto al total de lípidos fue disminuyendo, por lo que podemos suponer un aumento relativamente superior en la reserva de lípidos no estructurales a lo largo del experimento.

No se observaron diferencias significativas del porcentaje de fosfolípidos a 50 días de ayuno con respecto al inicial, pero fueron significativamente inferiores ($p < 0,05$) al de su grupo control. La relación de fosfolípidos con respecto al total de lípidos también fue inferior, pero no significativa (tabla 22).

A los 67 días no se observaron diferencias con respecto al momento anterior, aunque se produjo un ligero aumento de los fosfolípidos dentro de los lípidos totales, indicando una mayor movilización de los lípidos de reserva, aunque moderada.

Contenido de agua en el hígado:

El grupo control presentó fluctuaciones importantes en el contenido en agua del hígado (fig. 40A). Tras 50 días de experimento se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) de este parámetro, como consecuencia del aumento de reservas, y a los 67 días de experimento se produjo un aumento significativo del mismo ($P < 0,01$), coincidiendo con la disminución del glucógeno hepático.

A los 50 días de ayuno se observaron niveles ligeramente superiores a los iniciales pero sólo fueron significativos respecto a su grupo control ($p < 0,01$). Entre 50 y 67 días se produjo un incremento significativo del agua del hígado ($p < 0,01$), siendo también superior a la de su grupo control ($p < 0,01$).

P-DNA en hígado:

Como se observa en la figura 40B, este parámetro presentó cambios que recuerdan a los observados en el contenido de agua del hígado, tanto en el grupo control como en el grupo ayunado. Por tanto la disminución del porcentaje de P-DNA en hígado en el grupo control a los 50 días de experimento concuerda con el aumento de reservas, expuesto en apartados anteriores. Además, como se observa en la tabla 27 (pág. 143), la cantidad total de P-DNA en el hígado del grupo control fue muy constante, y por tanto se nos confirma que la disminución porcentual observada a los 50 días en el grupo control es consecuencia del aumento de volumen celular, y que el aumento del porcentaje de P-DNA a los 67 días, aunque no significativo, reflejaría la disminución de reservas celulares a consecuencia principalmente de la disminución de glucógeno.

En el grupo ayunado se observó un aumento progresivo del P-DNA en hígado, que fue significativamente superior al grupo control tanto a 50 días ($p < 0,01$) como a 67 ($p < 0,01$). En el grupo ayunado este parámetro presentó una fuerte correlación negativa ($r = -0,8042$, $p < 0,01$, $N = 16$) con el glucógeno hepático, que como ya hemos indicado fue la principal reserva movilizada en este órgano, y una correlación positiva ($r = 0,6571$, $p < 0,01$, $N = 18$) con las proteínas del hígado, que como ya se ha indicado aumentaban porcentualmente a consecuencia de la disminución del glucógeno y de los lípidos. En la tabla 27 (pág. 143), se puede observar que el contenido total de P-DNA tras 50 días de ayuno fue significativamente inferior ($p < 0,05$) al que presentaba el grupo inicial, confirmando lo dicho en apartados anteriores, se produce una cierta destrucción celular.

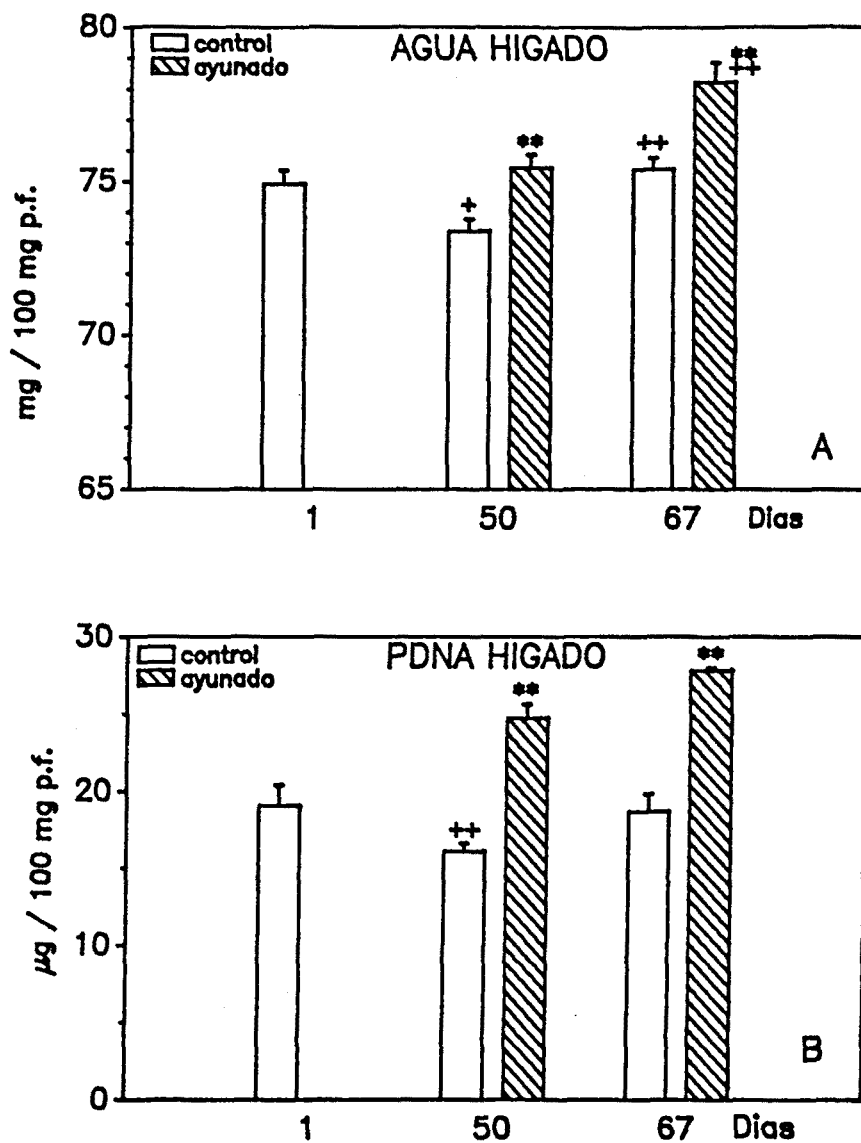


Figura 40.- Variaciones en la concentración de agua (A) y P-DNA (B) en hígado durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Contenido en cenizas del hígado:

No se observaron diferencias en este parámetro en el grupo control (fig. 41). En el grupo ayunado se observó una disminución significativa del contenido en cenizas a los 50 días de ayuno ($p < 0,05$), siendo la diferencia significativa respecto a su grupo control ($p < 0,05$).

Relación porcentual de las reservas con el peso del hígado.

En la figura 42 se establecen las relaciones entre cada una de las reservas y el peso del hígado. Los resultados son muy parecidos a los del primer ayuno, es decir, la reserva mayoritaria del hígado es el glucógeno y por tanto la que contribuye claramente al aumento de peso del órgano ($r = 0,624$, $p < 0,01$, $N = 16$). En esta gráfica queda confirmado que el aumento porcentual de las proteínas hepáticas es consecuencia de la disminución de glucógeno, estando ambos parámetros correlacionados negativamente ($r = -0,4961$, $p < 0,05$, $N = 16$), y en consecuencia las proteínas están correlacionadas negativamente con el peso del hígado ($r = -0,721$, $p < 0,001$, $N = 18$). Como ya se había observado en el primer ayuno los lípidos del hígado no presentan correlación con el peso del mismo.

El aumento de la hidratación del tejido es consecuencia principalmente de la movilización del glucógeno (fig. 43) ($r = -0,820$, $p < 0,01$, $N = 16$), aunque los lípidos hepáticos también contribuyen a este intercambio ($r = -0,481$, $p < 0,05$, $N = 17$), mientras que las proteínas no muestran correlación con el agua tisular. El aumento progresivo del agua y del P-DNA a lo largo del ayuno ($r = 0,7061$, $p < 0,01$, $N = 17$) son buenos indicadores de que la disminución de reservas, aunque se dé una mayor hidratación, comporta también una disminución del volumen celular. La importante correlación del P-DNA con las proteínas hepáticas ($r = 0,6571$, $p < 0,01$, $N = 18$) pone de manifiesto que éstas son proteínas de membrana, y por tanto, al disminuir el volumen celular se produce una concentración en porcentaje del peso fresco de las mismas.

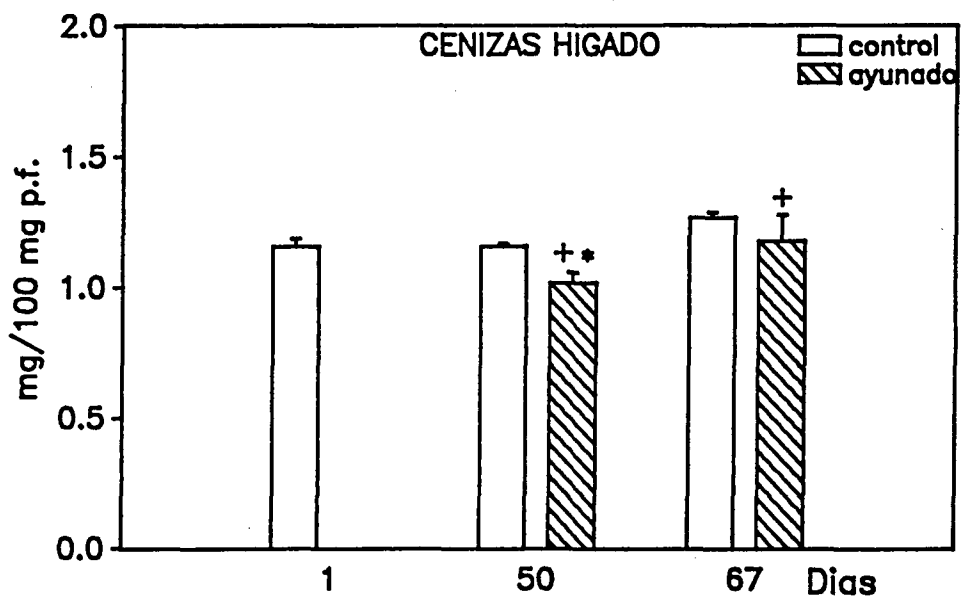


Figura 41.- Variaciones en la concentración de cenizas en hígado durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

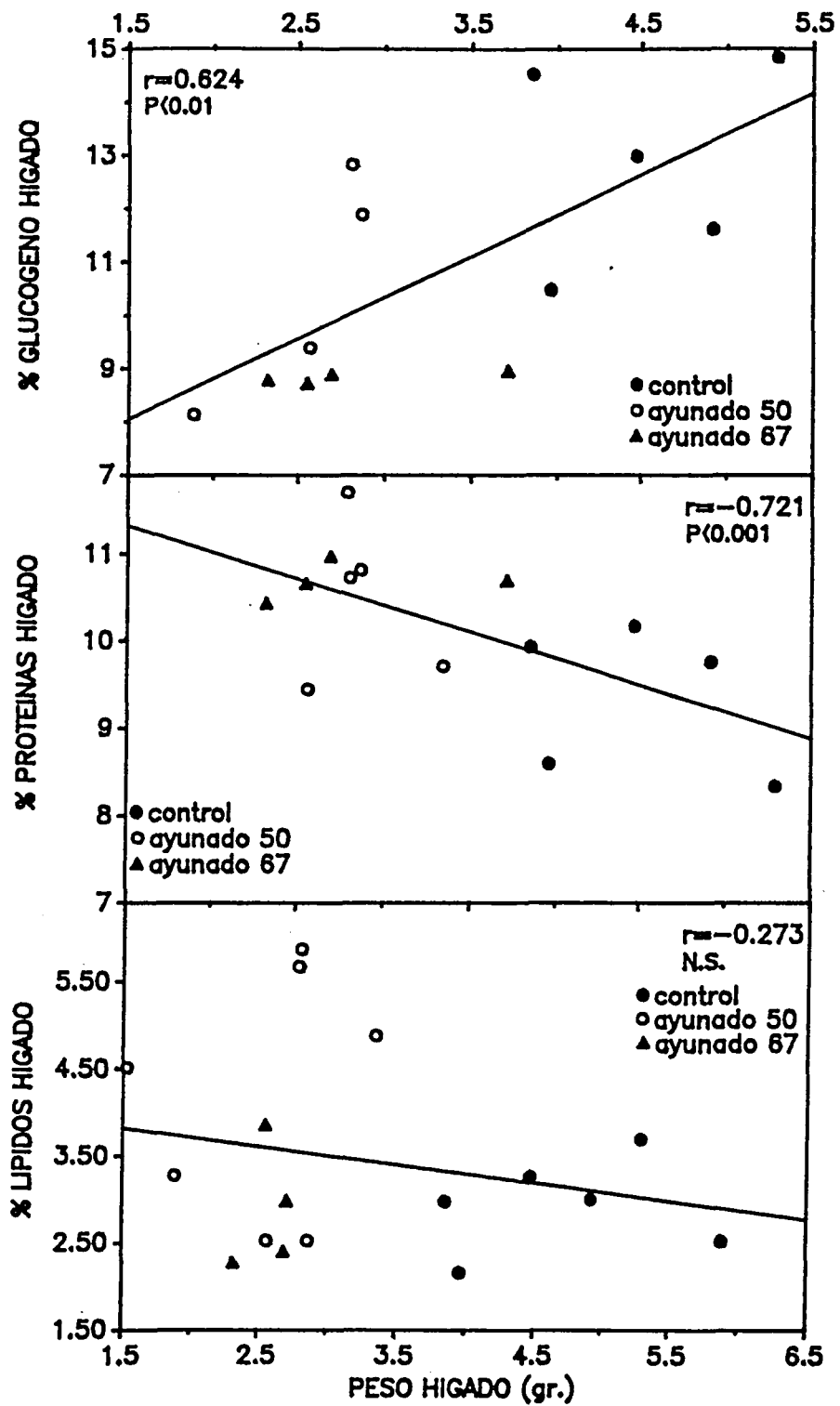


Figura 42.- Relación entre las reservas energéticas del hígado y el peso del hígado durante el ayuno en carpas inmaduras.

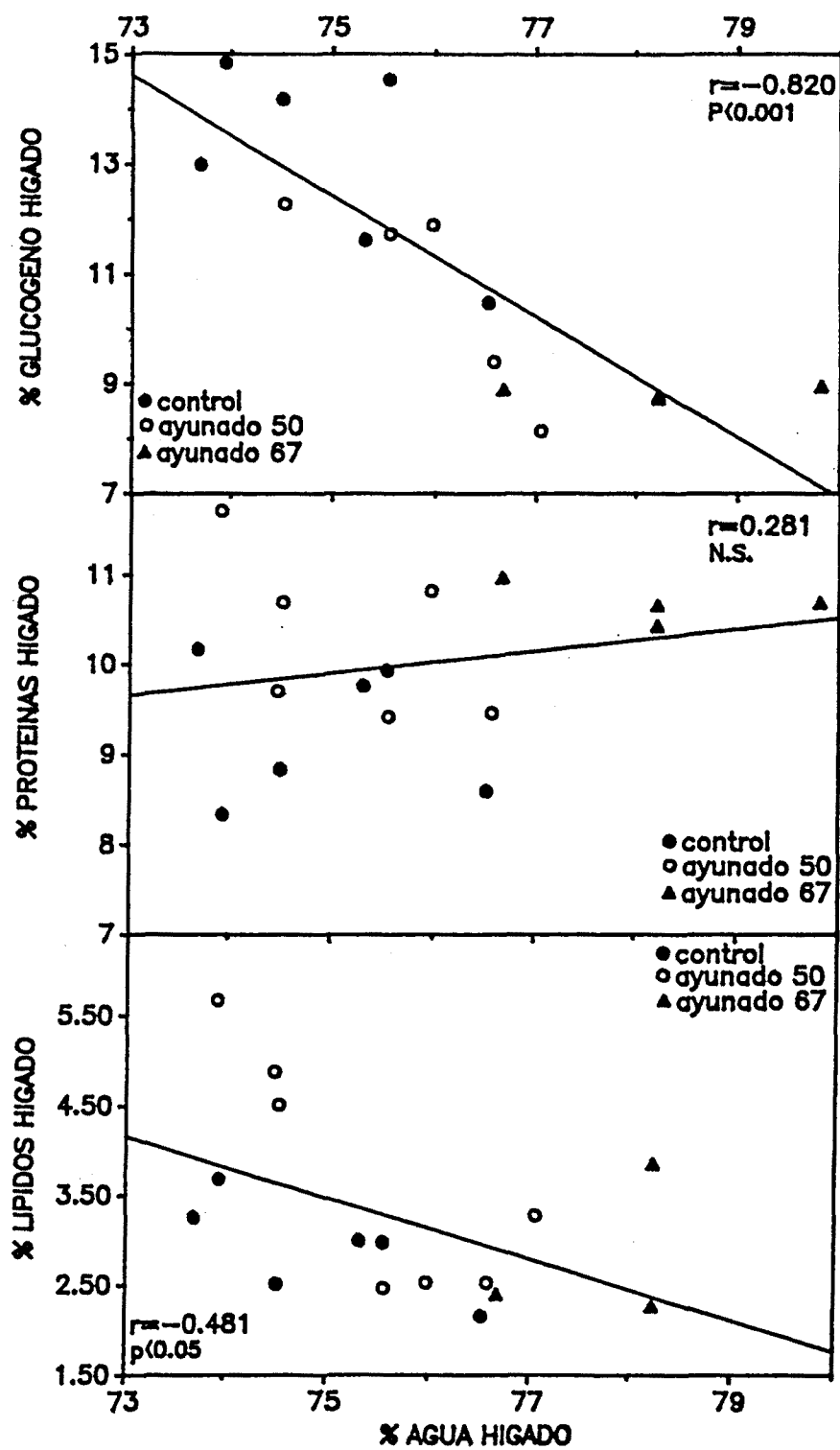


Figura 43.- Relación entre las reservas energéticas del hígado y el contenido de agua del órgano durante el ayuno en carpas inmaduras.

3.2.4. Efecto del ayuno sobre el músculo.

Peso del músculo, índice musculo-somático (IMS) e índice musculo-longal (IML):

Como se refleja en la tabla 23 la relación entre el peso del músculo y el peso corporal (IMS) se mantuvo constante en el grupo control durante todo el experimento (33,2-33,8%), estando ambos parámetros correlacionados positivamente ($r=0,8013$, $p<0,001$, $N=21$). El valor promedio de este índice (33%) en el grupo control fue superior (+21%) al observado en el primer experimento.

Tras 50 días de ayuno no se observaron cambios en el IMS con respecto al momento inicial, sin embargo a los 67 días de ayuno se produjo una disminución significativa ($p<0,05$) del IMS, siendo también significativamente inferior ($p<0,05$) a su grupo control. En la tabla 23, también se puede observar que la disminución del peso absoluto del músculo fue significativa respecto al de 50 días de ayuno ($p<0,05$). Asimismo, se aprecia que el peso del músculo en el grupo ayunado 50 días fue significativamente inferior ($p<0,01$) a su grupo control; sin embargo, no hay diferencias entre los respectivos IMS. Por tanto podemos suponer que hasta 50 días se produce una disminución del peso muscular en igual proporción a la pérdida de peso corporal total, pero que a los 67 días la pérdida del músculo aumenta de forma importante (con relación a otros órganos).

Al expresar el peso del músculo en función de la longitud del pez (IML) los cambios son muy similares a los observados en el peso absoluto del músculo (tabla 23), indicándonos de nuevo que la longitud prácticamente no varió a lo largo del experimento.

Reservas en músculo

Glucógeno:

La concentración de glucógeno en músculo fue muy similar a la observada en el primer ayuno. Como se observa en la figura 44, la concentración de este parámetro aumentó progresivamente en el grupo control, pero sin cambios significativos. El mismo resultado

PESO ABSOLUTO DEL MUSCULO (gr)

	1	50	67
C	56,58 ± 2,37 (5)	64,25 ± 3,37 (8)	62,22 ± 3,81 (8)
A		50,23 ± 2,88** (8)	38,33 ± 3,97** (5) +

INDICE MUSCULO-SOMATICO (IMS) (gr músculo/100gr.pesz)

	1	50	67
C	33,22 ± 0,85 (5)	33,83 ± 0,99 (8)	33,27 ± 1,19 (8)
A		33,05 ± 0,96 (8)	28,18 ± 1,61** (5)

INDICE MUSCULO-LONGAL (IMS) (gr músculo/cm pez)

	1	50	67
C	2,97 ± 0,09 (5)	3,24 ± 0,14 (8)	3,14 ± 0,15 (8)
A		2,51 ± 0,18** (8)	2,01 ± 0,18** (5) +

Tabla 23. Efecto del ayuno sobre el peso relativo del músculo de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

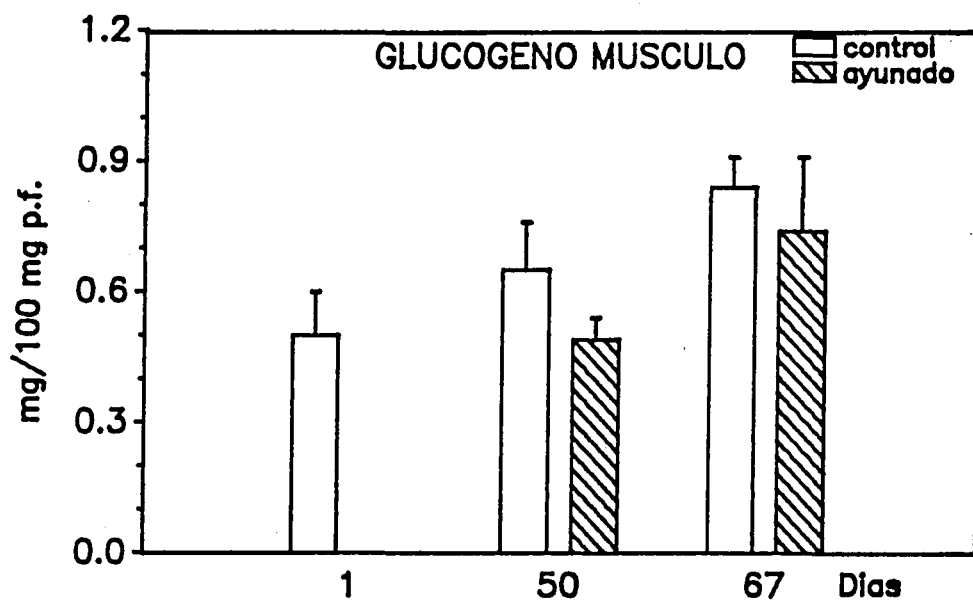


Figura 44.- Variaciones en la concentración de glucógeno en músculo durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg glucógeno/100 mg p.s.

	1	50	67
C	2,50 ± 0,53 (6)	3,09 ± 0,52 (7)	3,97 ± 0,35 (8)
A		2,43 ± 0,26	3,91 ± 0,84

Contenido celular (mg glucógeno/μg P-DNA)

	1	50	67
C	0,23 ± 0,06 (5)	0,32 ± 0,06 (7)	0,41 ± 0,05 (8)
A		0,21 ± 0,03 (7)	0,22 ± 0,06* (5)

Contenido total del músculo (mg glucógeno/100 gr pez)

	1	50	67
C	186,79 ± 32,88 (5)	246,85 ± 41,32 (7)	309,67 ± 26,52 (8)
A		139,61 ± 14,70 (7)	168,14 ± 40,33** (5)

Tabla 24. Efecto del ayuno sobre el glucógeno muscular de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):
respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.
respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

se observa al expresarlo en peso seco, así como en el volumen celular y en el total de la masa muscular (tabla 24).

El grupo ayunado 50 días presentó niveles de glucógeno similares a los iniciales y tras 67 días de ayuno se observó un aumento no significativo de este parámetro (fig. 44). Estos resultados coinciden con la expresión en peso seco (tabla 24). Sin embargo el contenido celular no cambió en todo el período de ayuno observándose, tras 67 días, un volumen celular significativamente inferior ($p < 0,05$) al de su grupo control. La reserva en el total del órgano presentó los mismos resultados, un aumento no significativo entre 50 y 67 días de ayuno pero significativamente inferior ($p < 0,01$) al grupo control al final del experimento.

Proteínas:

La concentración de proteínas en músculo en el grupo control se mantuvo constante durante todo el período estudiado (fig. 45), sin observarse tampoco diferencias significativas en el volumen celular ni en el total de la reserva (tabla 25). Expresada en peso seco se observó únicamente una disminución significativa a los 50 días de experimento ($p < 0,05$), que podría ser consecuencia del aumento ya señalado en los niveles de glucógeno.

El porcentaje de proteínas en músculo a los 50 días de ayuno no presentó diferencias con respecto al momento inicial ni en peso fresco (fig. 45), ni en peso seco (tabla 25); el contenido celular tampoco sufrió alteraciones. La reserva total de proteínas (tabla 25), aunque fue inferior al momento inicial, no fue significativa; en cambio fue significativamente más baja ($p < 0,05$) que la de su grupo control. Tras 67 días de ayuno se produjo una disminución significativa ($p < 0,01$) de las proteínas musculares (fig. 45) y también se observó una importante reducción de la concentración por célula ($p < 0,01$). La disminución de la reserva protéica muscular total ($p < 0,01$) fue del 29% con respecto a la de 50 días.

Tanto el porcentaje de proteínas como el contenido celular y la reserva total fueron significativamente inferiores a los valores de su grupo control ($p < 0,01$). Esta importante disminución de la proteína muscular coincide con la disminución observada en el peso del músculo y en el IMS (ya señalado anteriormente), indicándonos el papel de reserva

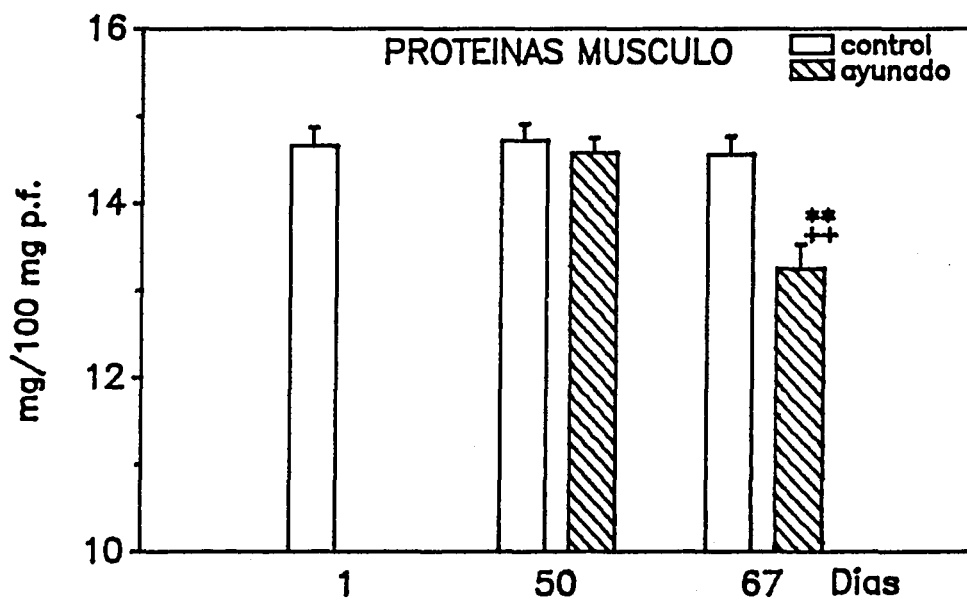


Figura 45.- Variaciones en la concentración de proteínas en músculo durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

<u>mg proteína/100 mg p.s.</u>			
	1	50	67
C	74,19 ± 0,88 (6)	70,65 ± 0,99+ (8)	69,01 ± 1,03 (8)
A		72,84 ± 0,83* (8)	71,40 ± 2,29 (4)

<u>Contenido celular (mg proteína/μg P-DNA)</u>			
	1	50	67
C	6,44 ± 0,32 (5)	7,09 ± 0,23 (8)	7,04 ± 0,20 (8)
A		6,31 ± 0,29 (8)	3,72 ± 0,25** (4) ++

<u>Contenido total del músculo (mg proteína/100 gr pez)</u>			
	1	50	67
C	4879,69 ± 103,80 (5)	5433,56 ± 181,05 (8)	5368,65 ± 151,17 (8)
A		4116,78 ± 143,73* (8)	2910,07 ± 170,05** (4) ++

Tabla 25. Efecto del ayuno sobre las proteínas del músculo de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

energética de las proteínas, además de su importancia estructural.

Lípidos:

La concentración de lípidos en músculo del grupo control no varió en todo el período de estudio ni en porcentaje del peso fresco (fig. 46A), ni en peso seco (tabla 26); tampoco se observaron diferencias en el contenido celular ni en la reserva total (tabla 26), aunque aumentaron ligeramente entre 1 y 50 días de experimento.

Como se observa en la figura 46A, los lípidos del grupo ayunado no presentaron cambios significativos a lo largo del ayuno expresados como porcentaje. Sin embargo, el contenido celular disminuyó significativamente ($p < 0,01$) a los 67 días de ayuno (tabla 26), así como también la reserva total de la masa muscular ($p < 0,05$).

Fracción fosfolipídica:

El contenido en fosfolípidos en el grupo control no varió a lo largo del experimento (fig. 46B), y puesto que ya hemos indicado que los lípidos totales no sufrieron ningún cambio, la proporción de fosfolípidos respecto al total de lípidos se mantuvo constante (tabla 26): el 52% de los lípidos son estructurales.

Se produjo una disminución significativa de los fosfolípidos entre 50 y 67 días de ayuno ($p < 0,01$) (fig. 46B), y como se observa en la tabla 26 la relación fosfolípidos/lípidos totales fue significativamente inferior ($p < 0,01$) a su grupo control, tanto a 50 como a 67 días. Por tanto podemos indicar que se produce una disminución de los lípidos de membrana (fosfolípidos) con el ayuno y por tanto, la disminución del contenido celular observado podría ser consecuencia de la alteración de la membrana celular. Aunque porcentualmente la disminución de lípidos no es importante, ya que hay una movilización muy importante de proteínas y un cierto aumento del glucógeno muscular, podemos afirmar con estos resultados que se produce movilización de lípidos a los 67 días de ayuno (principalmente fosfolípidos) y queda claro en el total de reserva.

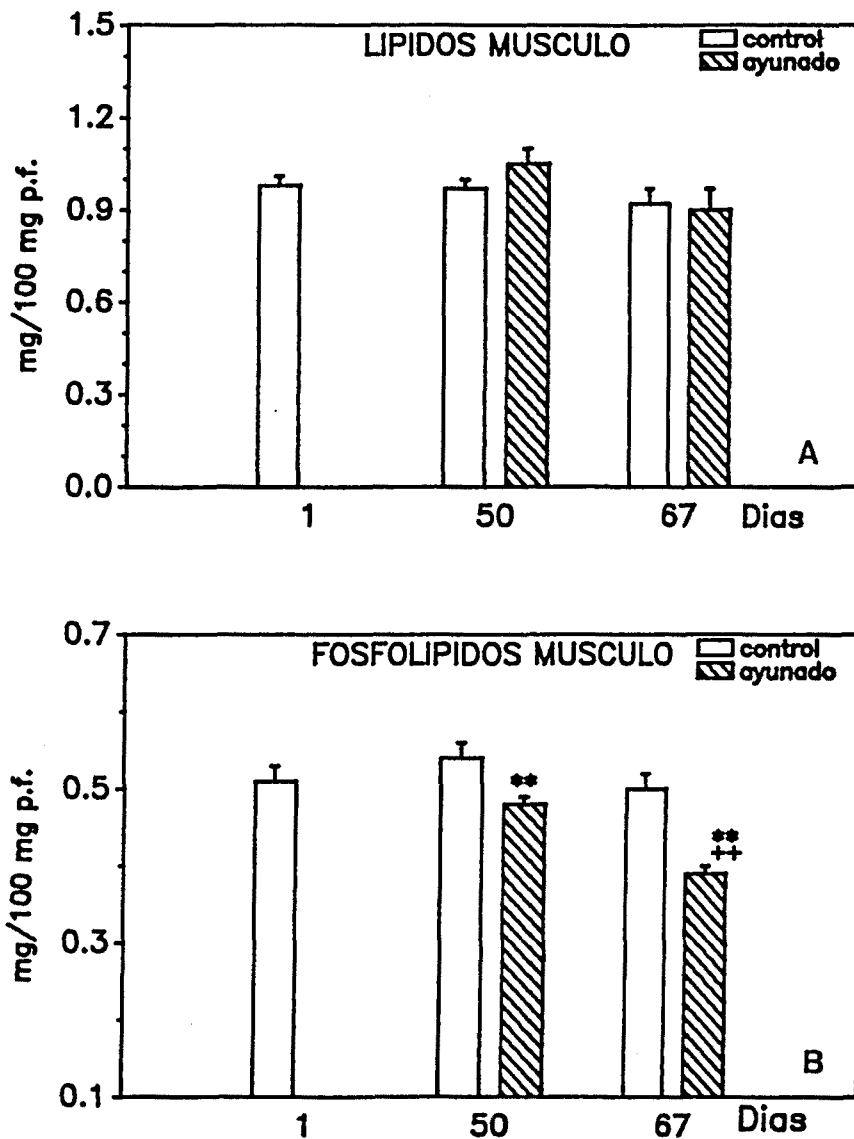


Figura 46.- Variaciones en la concentración de lípidos totales (A) y en la fracción fosfolipídica (B) en músculo durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

mg lípidos/100 mg p.s.

	1	50	67
C	5,00 ± 0,11 (5)	4,67 ± 0,09 (6)	4,39 ± 0,22 (7)
A		5,24 ± 0,24 (6)	4,84 ± 0,36 (5)

Contenido celular (mg lípidos/μg P-DNA)

	1	50	67
C	0,47 ± 0,04 (5)	0,51 ± 0,06 (7)	0,45 ± 0,04 (7)
A		0,44 ± 0,02 (6)	0,27 ± 0,03** (5) ++

Contenido total del músculo (mg lípidos/100 gr pez)

	1	50	67
C	334,95 ± 15,84 (4)	349,86 ± 15,62 (6)	340,02 ± 20,20 (7)
A		289,57 ± 14,64 (6)	202,30 ± 25,52** (5) +

mg Fosfolípidos/100 mg lípidos

	1	50	67
C	52,07 ± 1,34 (5)	52,67 ± 3,56 (7)	54,42 ± 1,27 (7)
A		45,36 ± 1,84** (6) +	43,96 ± 2,46** (5)

Tabla 26. Efecto del ayuno sobre los lípidos del músculo de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):

respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.

respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

Concentración de agua en músculo:

En la figura 47A se puede observar que, en el grupo control, la concentración de agua en músculo, disminuyó significativamente ($p < 0,01$) tras 50 días de experimento. El contenido en agua presentó una correlación negativa con el glucógeno ($r = -0,5280$, $p < 0,05$, $N = 21$) en este grupo.

La concentración de agua muscular en el grupo ayunado 50 días no presentó cambios con respecto al momento inicial. Como ya se ha indicado, tampoco se produjo movilización de reservas tras 50 días de ayuno. Se observó sin embargo un aumento significativo en este parámetro a los 67 días de ayuno, tanto con respecto a 50 días ($p < 0,01$) como con respecto al grupo control ($p < 0,01$), este aumento se correlacionó negativamente con el contenido de proteínas ($r = -0,6795$, $p < 0,01$, $N = 18$) y de lípidos ($r = -0,5611$, $p < 0,05$, $N = 17$).

P-DNA en músculo:

No se observaron cambios significativos de este parámetro en el grupo control (fig. 47B). Sin embargo, el grupo ayunado a 67 días presentó un nivel de P-DNA significativamente superior al observado a 50 días de ayuno ($p < 0,01$) y al de su grupo control ($p < 0,01$). Este aumento fue de un 48%, y es simultáneo a la importante reducción de reservas que se produce en este momento del ayuno; lo cual implica una gran disminución del volumen celular. Al igual que el agua, el P-DNA presentó una elevada correlación negativa con las proteínas ($r = -0,7290$, $p < 0,001$, $N = 18$).

Como se observa en la tabla 27 el contenido de P-DNA total en el músculo es un parámetro constante, indicando que no se produce destrucción de fibras musculares, sino cambios en esas mismas fibras. Por tanto, las variaciones en el contenido celular son un buen reflejo de los cambios producidos en las reservas del músculo.

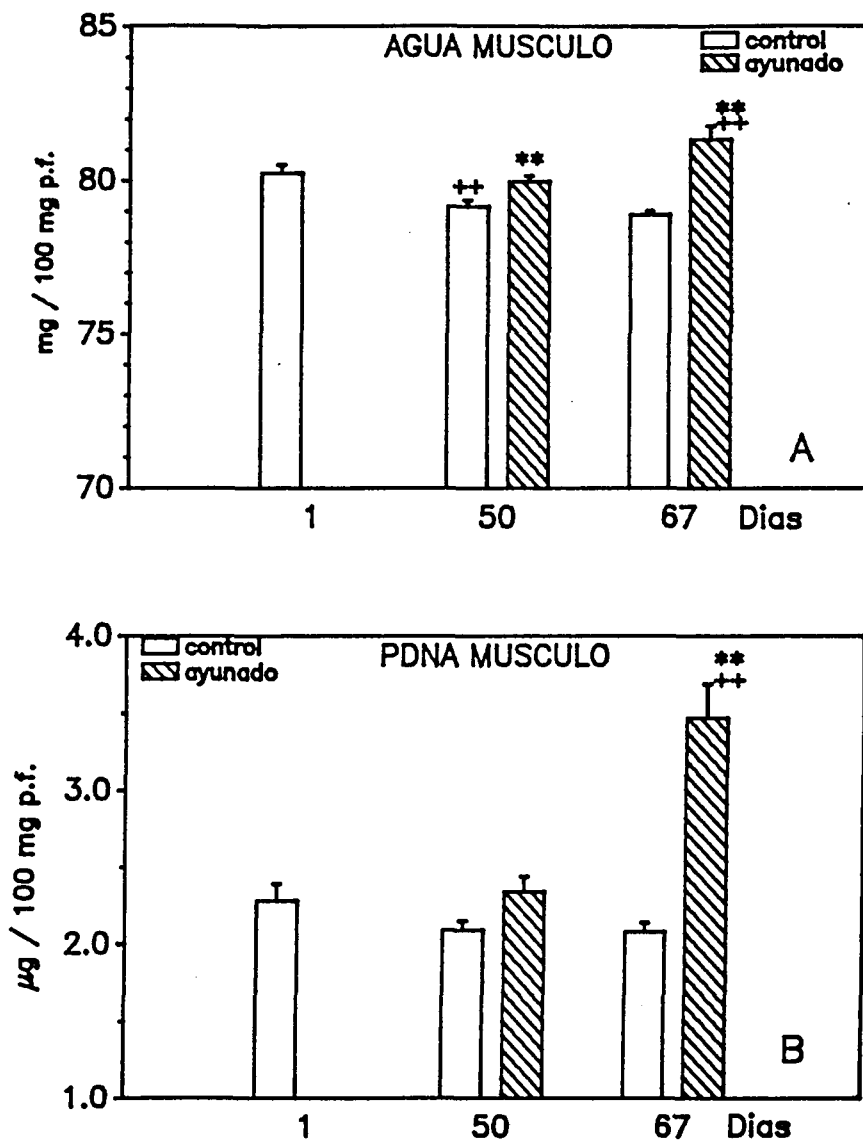


Figura 47.- Variaciones en la concentración de agua (A) y P-DNA (B) en músculo durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

P-DNA TOTAL EN HIGADO (mq P-DNA/100 gr pez)

	1	50	67
C	0,53 ± 0,03 (6)	0,50 ± 0,03 (7)	0,47 ± 0,03 (8)
A		0,36 ± 0,04** (7) ++	0,45 ± 0,03 (4)

P-DNA TOTAL EN MUSCULO (mq P-DNA/100 gr pez)

	1	50	67
C	0,74 ± 0,02 (4)	0,77 ± 0,02 (8)	0,77 ± 0,04 (8)
A		0,66 ± 0,02 (8)	0,76 ± 0,04 (5)

Tabla 27. Contenido total de P-DNA en hígado y músculo de carpas inmaduras.

Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Niveles de significación (Test de rango múltiple de Duncan):
respecto al grupo control: * p<0,05; ** p<0,01.
respecto al momento anterior: + p<0,05; ++ p<0,01.

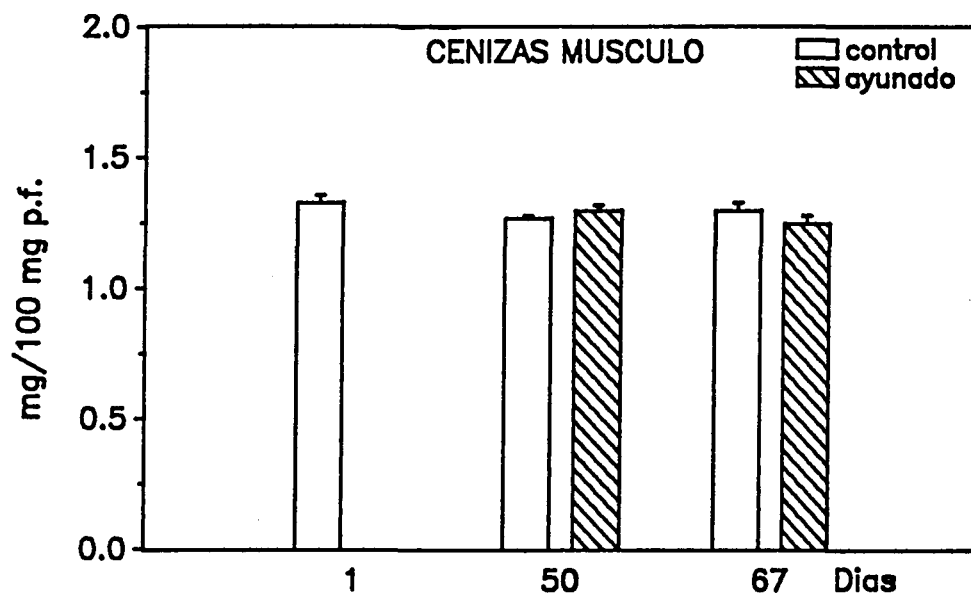


Figura 48.- Variaciones en la concentración de cenizas en músculo durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Contenido de cenizas en músculo:

No se observaron cambios del contenido en cenizas ni en el grupo control, ni en el grupo ayunado (fig. 48).

Relación porcentual de las reservas con el peso del músculo.

En la figura 49 se puede apreciar la relación entre el porcentaje de reservas y el peso del músculo. Se confirma lo observado en el primer experimento; es decir, los cambios porcentuales de las reservas no reflejan los cambios producidos en el peso del músculo durante el ayuno. Como ya se ha indicado al comentar el primer experimento, durante un ayuno no excesivamente prolongado el músculo se caracteriza por mantener su composición porcentual sin cambios drásticos en sus reservas, fenómeno que sí se produce en el hígado. Sin embargo, debido a que el músculo representa una fracción importante del peso corporal, pequeños cambios porcentuales de las reservas producen importantes modificaciones de las mismas cuando se considera el total de la masa muscular. Como ya se ha señalado anteriormente, se produce una disminución significativa de las proteínas tras 67 días de ayuno, pero mientras que expresado en peso fresco es del 9%, cuando se considera el total de la reserva se observa que disminuye el 40% respecto al momento inicial.

En la figura 50 se puede apreciar que la disminución porcentual de proteínas provoca una importante hidratación del músculo ($r=-0,693$, $p<0,01$, $N=19$); aunque en menor grado, también los lípidos son intercambiados por agua ($r=-0,572$, $p<0,05$, $N=17$). En cambio, el glucógeno no se modifica.

La concentración de agua y la del P-DNA presentaron una correlación negativa con el peso del músculo ($r=-0,6255$, $p<0,01$, $N=18$; $r=-0,6893$, $p<0,01$, $N=18$ respectivamente), siendo por tanto los dos parámetros buenos indicadores de la disminución de reservas. La disminución del volumen celular, como ya se ha indicado anteriormente, es consecuencia principalmente de la disminución de proteínas, como lo expresa la fuerte correlación negativa entre esta reserva y el P-DNA ($r=-0,7290$, $p<0,001$, $N=18$).

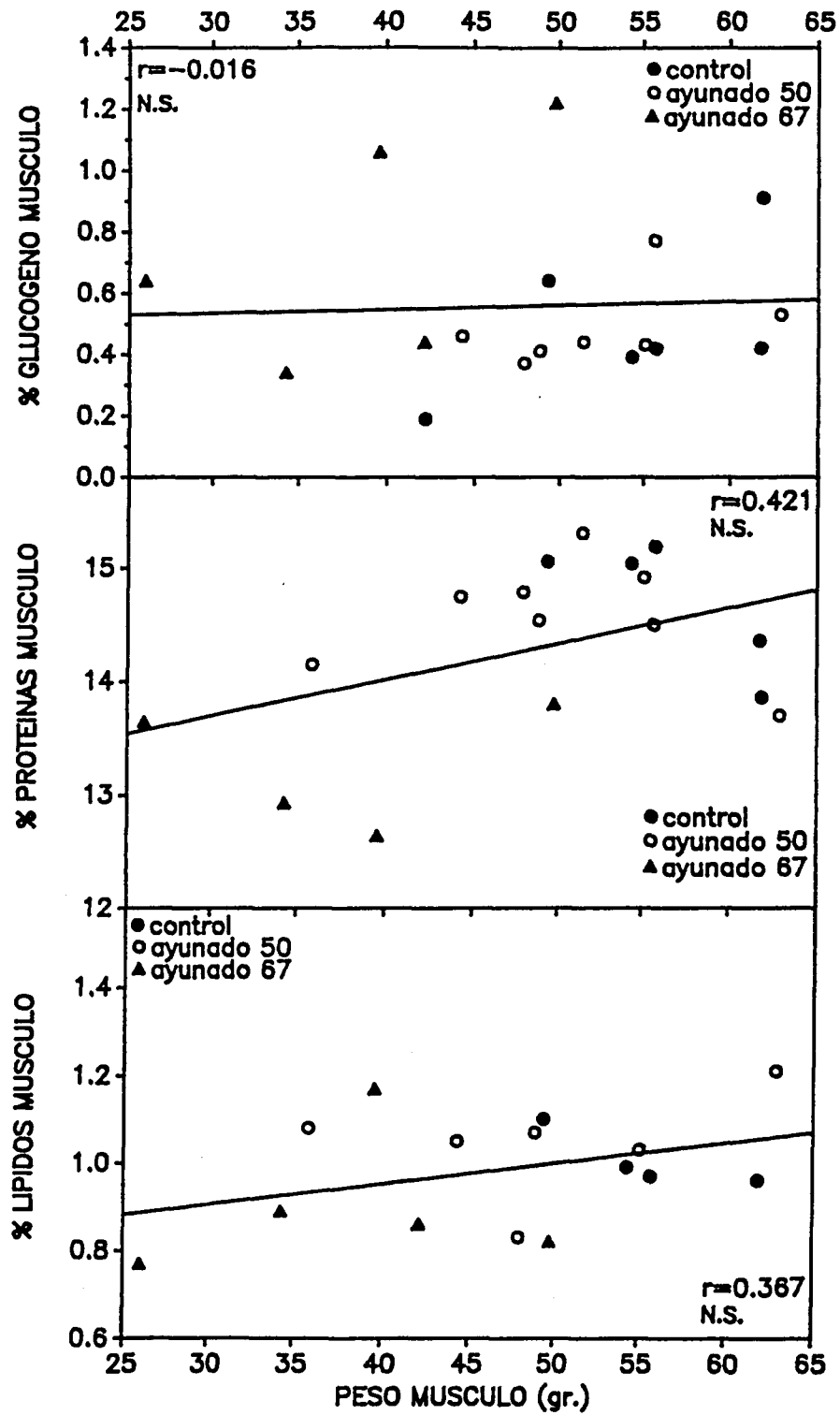


Figura 49.- Relación entre las reservas energéticas del músculo y el peso del músculo durante el ayuno en carpas inmaduras.

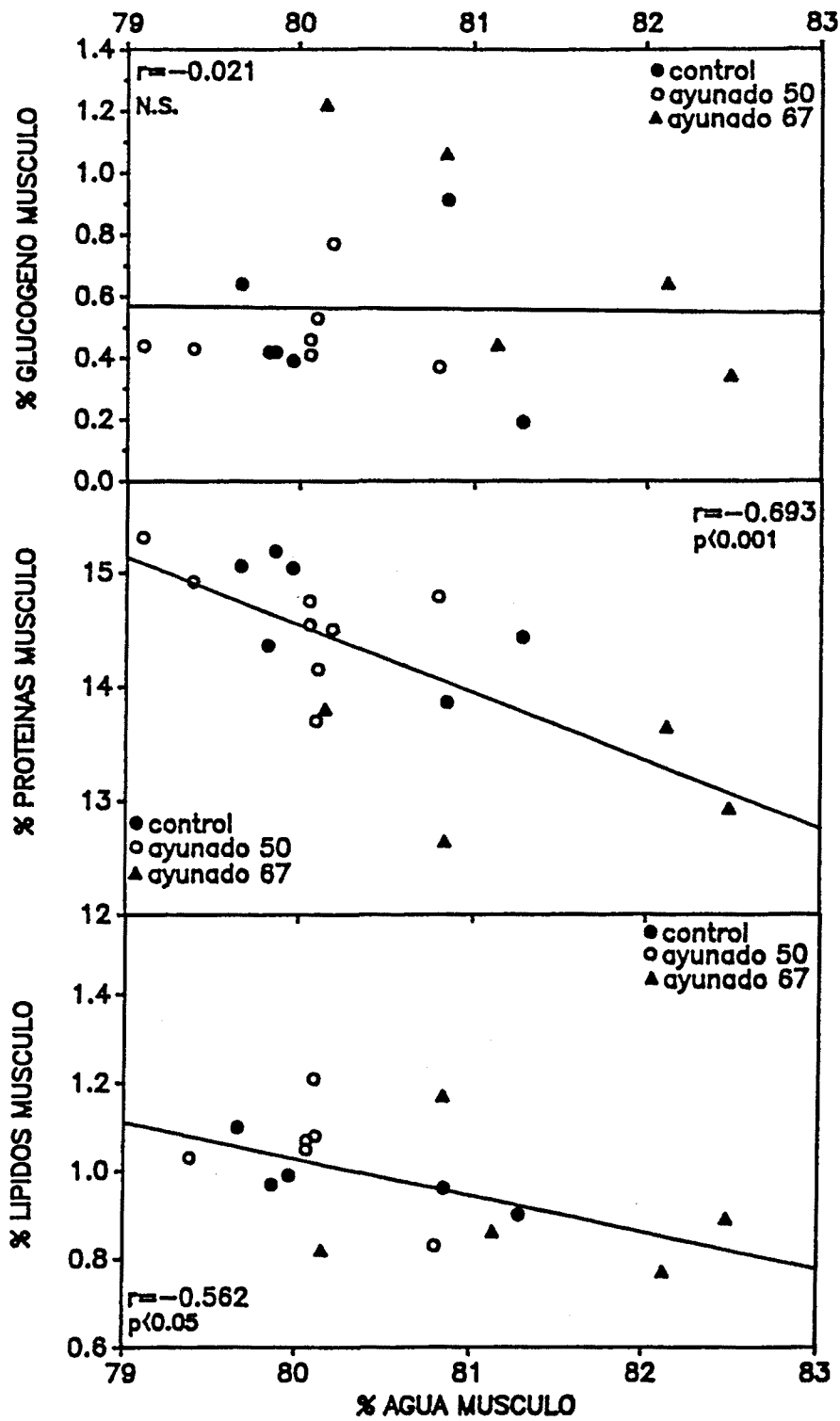


Figura 50.- Relación entre las reservas energéticas del músculo y el contenido de agua del tejido durante el ayuno en carpas inmaduras.

3.2.5. Variación del contenido calórico de reservas en el total de hígado y músculo durante el ayuno.

En las tablas 28 y 29 se indica el contenido energético del hígado y del músculo, desglosado para las diferentes reservas: tanto en valores absolutos para cada momento estudiado, como la disminución relativa de las mismas entre 1 y 50 días y entre 50 y 67 días. Estos valores se han calculado a partir de las reservas totales, expresadas para un pez de 100 gr y teniendo en cuenta los cambios de peso corporal, para hacerlos comparables con los resultados del primer experimento.

En general, podemos indicar que estas carpas presentaban un contenido en reservas totales muy superior al observado en el primer experimento tanto en hígado como en músculo. Esto quedaba ya reflejado en el IHS, así como en el IMS. Sin embargo, el porcentaje de reservas inicial fue muy similar.

Al igual que ya se había observado en el primer ayuno, el glucógeno es la principal reserva del hígado, tanto en mg como en calorías, y contribuye de forma importante a cubrir la demanda energética durante el ayuno. Tras 50 días de ayuno se produce una reducción del 60% del contenido energético de esta reserva, que no progresa posteriormente. La importante disminución del contenido energético de las proteínas (41%) a los 50 días evidenciaría una cierta destrucción celular. Entre 50 y 67 días son los lípidos hepáticos los más utilizados, disminuyendo su contenido calórico un 24%.

Como se observa en la tabla 29 el contenido energético más importante del músculo es, con gran diferencia, el de proteínas. Entre 1 y 50 días se observó una disminución relativa del 25% del glucógeno muscular, pero como se puede observar esto representa una pérdida de 193,4 calorías, que frente a la pérdida de 3662 calorías de las proteínas (-15,6%) tiene poca importancia. Es entre 50 y 67 días cuando se produce la mayor pérdida energética, siendo afectados los lípidos (-41%) y las proteínas (-29%). Aunque en valores relativos la pérdida de lípidos fue importante, en valores absolutos son las proteínas las más afectadas, con una pérdida de 5792,2 cal. Como se puede observar en la tabla 29 la mayor pérdida energética del músculo se produce en los últimos 17 días de ayuno.

Los balances energéticos de hígado y músculo expresados como calorías/Kg/hr se recogen en la tabla 30. Mientras la pérdida energética de los dos órganos (hígado y músculo)

CONTENIDO ENERGETICO DEL HIGADO (Kcal/100 gr pez)

<u>Glucógeno</u>			
	1	50	67
C	1,52 ± 0,11 (6)	1,85 ± 0,15 (8)	0,82 ± 0,05 (7)
A		0,61 ± 0,07 (5)	0,58 ± 0,03 (4)
<u>Proteínas</u>			
	1	50	67
C	1,25 ± 0,04 (6)	1,49 ± 0,06 (8)	1,50 ± 0,04 (7)
A		0,74 ± 0,05 (7)	0,82 ± 0,04 (4)
<u>Lípidos</u>			
	1	50	67
C	0,78 ± 0,06 (6)	1,12 ± 0,13 (8)	0,99 ± 0,10 (7)
A		0,58 ± 0,09 (7)	0,44 ± 0,06 (4)
TOTAL			
C	5,97	7,75	5,66
A		3,36	3,22

INCREMENTO RELATIVO DEL CONTENIDO ENERGETICO (%)

		1-50	50-67
Glucógeno	C	+21,62	-55,60
	A	-59,60	-5,48
Proteínas	C	+19,37	+0,81
	A	-41,05	+11,59
Lípidos	C	+43,44	-11,62
	A	-26,27	-24,04
TOTAL	C	+29,71	-26,88
	A	-43,73	-4,32

Tabla 28. Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Valores calculados a partir de la reserva total y multiplicado por su equivalente calórico: 4,2=Glucógeno; 4,8=Proteínas; 9,5=Lípidos.

CONTENIDO ENERGETICO DEL MUSCULO (Kcal/100 gr pez)

Glucógeno

	1	50	67
C	0,77 ± 0,13 (5)	1,01 ± 0,17 (7)	1,27 ± 0,11 (8)
A		0,57 ± 0,06 (7)	0,69 ± 0,17 (5)

Proteínas

	1	50	67
C	23,42 ± 0,50 (5)	26,08 ± 0,87 (8)	25,77 ± 0,73 (8)
A		19,76 ± 0,69 (8)	13,97 ± 0,82 (4)

Lípidos

	1	50	67
C	3,17 ± 0,15 (4)	3,31 ± 0,15 (6)	3,21 ± 0,19 (7)
A		3,25 ± 0,25 (7)	1,93 ± 0,27 (4)

TOTAL

C	46,37	52,82	51,13
A		42,05	28,32

INCREMENTO RELATIVO DEL CONTENIDO ENERGETICO (%)

		1-50	50-67
Glucógeno	C	+32,15	+25,45
	A	-25,26	+20,44
Proteínas	C	+11,35	-1,19
	A	-15,63	-29,31
Lípidos	C	+4,45	-2,81
	A	+2,58	-40,62
TOTAL	C	+13,93	-3,21
	A	-9,30	-32,23

Tabla 29. Los valores corresponden a la Media ± E.S.M. El número de ejemplares está indicado entre paréntesis. Valores calculados a partir de la reserva total y multiplicado por su equivalente calórico: 4,2=Glucógeno; 4,8=Proteínas; 9,5=Lípidos.

BALANCE ENERGETICO DEL HIGADO (cal/Kg/hr)

		1-50	50-67
Glucógeno	C	+2,79	-25,20
	A	-7,71	-0,83
Proteínas	C	+2,06	+0,30
	A	-4,36	+2,09
Lípidos	C	+2,89	-3,19
	A	-1,75	-3,40
TOTAL	C	+7,74	-28,09
	A	-13,81	-2,13

BALANCE ENERGETICO DEL MUSCULO (cal/Kg/hr)

		1-50	50-67
Glucógeno	C	+2,09	+6,31
	A	-1,64	+2,87
Proteínas	C	+22,61	-7,64
	A	-31,14	-141,97
Lípidos	C	+1,20	-2,28
	A	+0,69	-32,32
TOTAL	C	+25,90	-3,60
	A	-32,09	-171,42

Tabla 30. Balance energético del hígado y músculo entre los períodos de ayuno de carpas inmaduras.

Los valores han sido calculados por diferencia del contenido energético entre los períodos de ayuno y expresados como cal/Kg/hr.

tras 50 días de ayuno es de 46 cal/Kg/hr (1/3 del hígado y 2/3 del músculo), entre 50 y 67 la pérdida es 4 veces superior al período anterior (173,4 cal./Kg/hr) y principalmente por el músculo (más del 98%).

Al comparar estos resultados con los del primer experimento observamos que esta pérdida energética en los últimos 17 días de ayuno es similar a la observada en el primer experimento tras 19 días de ayuno. Por tanto entre los dos experimentos se produce un desfase importante, en cuanto a la movilización de reservas, de un mes aproximadamente. Estos resultados coinciden con las diferencias en cuanto a pérdida de peso ya indicadas para los dos experimentos.

3.2.6. Efecto del ayuno sobre el glucógeno cerebral.

La concentración de glucógeno cerebral (0,30-0,40%) (fig. 51) fue ligeramente inferior a la observada en el primer experimento (0,37-0,48%). El ayuno no afectó a los niveles de glucógeno en cerebro. Sin embargo, también se observaron fluctuaciones de este parámetro a lo largo del experimento: un aumento significativo tras 50 días de experimento para ambos grupos ($p < 0,05$) y una posterior disminución a los 67 días tanto en el grupo control ($p < 0,01$) como en el grupo ayunado ($p < 0,05$). Este parámetro presentó correlación positiva con la glucosa plasmática ($r = 0,4702$, $p < 0,05$, $N = 16$) en el grupo ayunado.

Por tanto, estos resultados corroboran lo dicho en el experimento anterior para este parámetro.

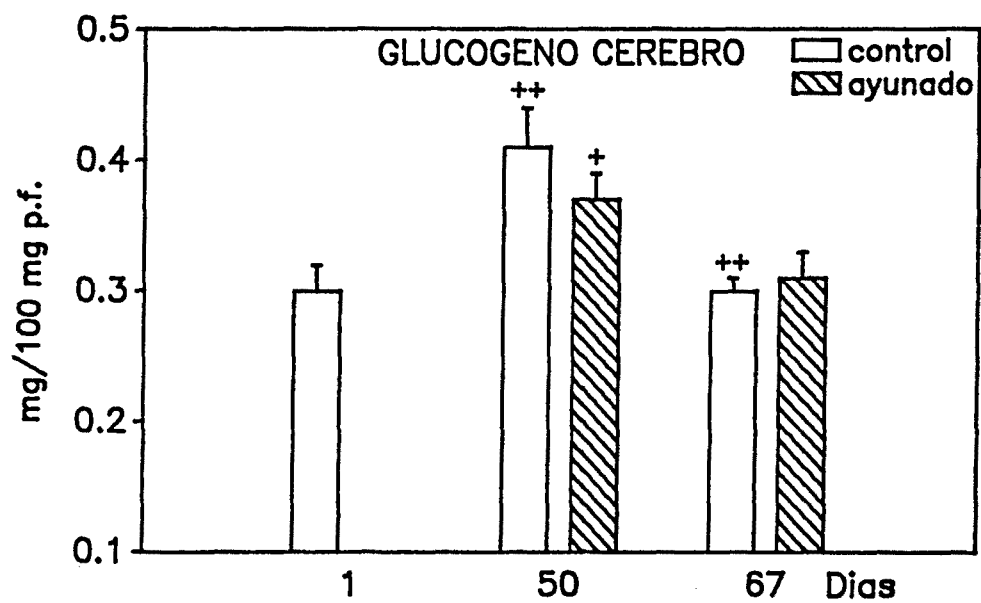


Figura 51.- Variación en la concentración de glucógeno cerebral durante el ayuno en carpas inmaduras. (Media \pm E.S.M.). Niveles de significación según el test multirango de Duncan: respecto al grupo control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; respecto al momento anterior: + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

4. DISCUSSION

4.1 COMPOSICION DE LOS TEJIDOS Y MOVILIZACION DE SUS RESERVAS DURANTE EL AYUNO DE CARPAS SEXUALMENTE MADURAS.

4.1.1. Glucógeno

Al igual que en otros vertebrados, esta reserva energética se acumula principalmente en hígado y en músculo. Ahora bien, en el hígado de carpa es la reserva mayoritaria representando un 53% del total de glucógeno corporal almacenado en un órgano de 2,5 gr para un pez de 100 gr. Los altos niveles encontrados en las carpas control (13-15%) coinciden con los observados en esta especie durante la misma época por varios autores (Wittenberger & Giurgea, 1973; Plisetskaya, 1975; Murat, 1976a; Gluth & Hanke, 1982) y por nosotros (Blasco et al., 1988). Los estudios ultraestructurales en hepatocitos de carpas en invierno (Gas & Serfaty, 1972; Sáez et al., 1984) han revelado que las partículas de glucógeno ocupan la mayor parte del citoplasma. Aunque el valor energético de los carbohidratos es inferior al de lípidos y proteínas (Weatherley & Gill, 1987), el glucógeno representa el mayor *pool* energético de este órgano en valores absolutos. La correlación positiva entre la concentración de glucógeno y el IHS ($r=0,587$, $p<0,01$) y negativa entre este índice y las otras dos reservas (proteínas: $r=-0,503$, $p<0,05$; lípidos: $r=-0,574$, $p<0,01$), $N=$) reafirma la importancia del glucógeno como reserva, mientras que proteínas y lípidos tienen un papel básicamente estructural, como ya señaló Gas (1973) para esta especie.

Los niveles de glucógeno en músculo blanco en las carpas control son similares a los que observamos en esta época en otros estudios (Blasco, 1984; Gutiérrez, 1985). Aunque en contenido energético esta reserva es la minoritaria en este tejido tiene una importancia vital, ya que es la principal reserva energética movilizada durante la locomoción (Shulman, 1974) y, concretamente en el músculo blanco, sería movilizada durante la natación brusca (Bone, 1966). El total de glucógeno en el músculo blanco representa un 41,3% del total corporal, siendo muy importante para la utilización directa por este tejido. El aumento progresivo de esta reserva en las carpas control respondería a un aumento general de entrada de reservas.

Los niveles de glucógeno cerebral encontrados en las carpas control son similares a los observados en ejemplares de esta misma especie por Plisetskaya (1968) y por nosotros en estudios anteriores (Blasco et al., 1988). Los altos niveles de glucógeno en cerebro de peces, comparados con los de vertebrados superiores se han relacionado con un menor control homeostático de la glucosa y con que, por ello, en momentos de acusadas hipoglucemias el glucógeno jugaría un importante papel como suministrador energético *in situ* (Leibson & Plisetskaya, 1968; Plisetskaya, 1968; Rovainen et al., 1969; Rovainen, 1979). Plisetskaya (1968) en un trabajo de fisiología comparada, con diversas especies de vertebrados, concluyó que las más activas (con mayor tasa metabólica) presentaban menores concentraciones de glucógeno en cerebro. Por tanto, los niveles de glucógeno en carpa, así como su baja glucemia, caracterizarían a esta especie como un pez poco activo, situado entre especies con tasas metabólicas muy bajas como *Scyliorhinus canicula*, elasmobranquio, y los teleósteos más activos como *Dicentrarchus labrax* (Blasco, 1984). La disminución del glucógeno cerebral hacia el final del período de estudio podría ser una señal de un aumento de la actividad intrínseca de las carpas o de una mayor demanda energética a consecuencia del aumento estacional de la temperatura. Breer & Rahmann (1974) observaron una variación estacional del glucógeno cerebral de *Scardinius erythrophthalmus*, con los valores más altos registrados en invierno y los más bajos en verano.

Además del razonamiento anterior, se ha de indicar que parece existir una relación entre el acúmulo de glucógeno en un órgano y su capacidad anaeróbica o de resistencia a la hipoxia (Hochachka & Somero, 1984). Las elevadas concentraciones de glucógeno en el cerebro de la carpa podrían tener relación con su conocida resistencia a la hipoxia e incluso a anoxias de horas (si son bajas temperaturas). Las mayores concentraciones en invierno podrían ser indicadoras de que en este período es cuando más fácilmente se podría producir una situación de este tipo.

De todas las reservas, los carbohidratos son los más fácilmente utilizados y los primeros en ser afectados por el ayuno (Love, 1970), y puesto que el hígado es el depósito de glucógeno más lábil, esta reserva es la que disminuye marcadamente ante la falta de alimento (Shulman, 1974). La fuerte disminución del glucógeno hepático durante los 8 primeros días de ayuno indujo una hiperglucemia inicial y una posterior

caída de la misma, indicando una primera fase de aumento de la demanda energética, y por tanto de incremento de la producción y utilización de la glucosa. El aumento de la glucemia durante los primeros días de ayuno ya había sido observado en carpa (Nagai & Ikeda, 1971; Mazeaud, 1973) y en *Notopterus* (Narasimhan & Sundaraj, 1971). El glucógeno muscular no se modificó en este período, sin embargo el aumento inicial del lactato y su posterior disminución indicarían una movilización del glucógeno muscular que sería rápidamente restablecido a partir de la movilización del glucógeno hepático (Janssens, 1960; Black et al., 1961; Hochachka & Sinclair, 1962; Stimpson, 1965; Black & Love, 1986). La correlación positiva observada entre el lactato y la glucosa plasmática (pág. 40) podría indicar que parte de la glucosa circulante se sintetiza a partir del lactato vía gluconeogénesis. El aumento de la actividad de la lactato deshidrogenasa hepática observado durante el ayuno en algunas especies de peces (Morata et al., 1982; Moon et al., 1989) indicaría una activación de la gluconeogénesis a partir del lactato. Los resultados en esta primera fase del ayuno parecen indicar que el paso de alimentación constante y diaria, durante un largo período de tiempo, al ayuno puede producir durante los primeros días un aumento de la actividad de estos peces relacionada con la búsqueda del alimento. Beamish (1964) indicó que en trucha el reciclaje de glucosa a partir del lactato muscular podía ser importante en el inicio del ayuno.

La estabilización del glucógeno hepático se produce a partir de los 8 primeros días de ayuno, cuando un 50% de la reserva ha sido movilizada. Estos resultados junto con la estabilización de la glucemia a partir de ese momento indicarán la utilización de otro sustrato energético para el mantenimiento de la glucemia, junto con una disminución de la demanda energética. Estos mismos resultados fueron observados por Machado et al. (1988) en *Rhamdia hilari* en el transcurso del ayuno, indicando un aumento de la gluconeogénesis a expensas de las proteínas musculares. Se atribuye la reducción de la demanda energética durante el ayuno a una disminución del consumo de O₂ (Beamish, 1964; Johnston, 1981). La disminución inicial del glucógeno hepático acompañada de un aumento transitorio de la glucemia ha sido observada también en *Salmo gairdneri* (Morata et al., 1982), así como su posterior estabilización, que se ha relacionado con un incremento de los procesos gluconeogénicos. Wittenberger y Giurgea (1973)

observaron que carpas con niveles iniciales de glucógeno hepático del 16 %, todavía mantenían un 6 % de esta reserva tras 12 meses de ayuno, y no habían diferencias en el nivel de glucógeno del músculo blanco. Nagai e Ikeda (1971) destacaron la gran resistencia de la carpa a utilizar el glucógeno hepático, no observando disminución de la reserva después de 22 días de ayuno; aunque observaban que a los 3 meses de ayuno se producía una drástica disminución de esa reserva acompañada de una fuerte hipoglucemia. Los trabajos histológicos realizados por Gas (1973) en el hígado de carpas ayunadas destacaron que la disminución del glucógeno en este órgano era progresiva pero muy lenta, por lo que tras 6 meses todavía quedaba una gran cantidad de la reserva. Las discrepancias en estos resultados pueden ser debidas a importantes diferencias en los ejemplares utilizados, ya que Nagai e Ikeda (1971) utilizaron carpas de 25 gr. y con niveles de glucosa en plasma muy superiores a las del presente estudio.

Aunque ya hemos señalado que el glucógeno hepático en carpa es el principal *pool* energético de este órgano, su movilización contribuirá de forma limitada a cubrir las necesidades energéticas del animal en largos períodos de ayuno. Por lo tanto, el glucógeno hepático se movilizará cuando se produzca una fuerte demanda energética, como ocurre en las fases iniciales del ayuno (Love, 1970; Shulman, 1974), pero esta reserva se recuperará o se mantendrá a expensas de procesos gluconeogénicos (Nagai & Ikeda, 1971; Larsson & Lewander, 1973; Morata et al., 1982; Machado et al., 1988). Según Blazka (1958) y Hochachka et al. (1973), la preservación de los carbohidratos en carpa estaría relacionada con la gran supervivencia de esta especie en ambientes anóxicos donde los carbohidratos serían indispensables. Lim & Ip (1989) observaron durante el ayuno de *Boleophthalmus boddarti* que el glucógeno hepático se mantenía gracias a un constante reciclaje del mismo, que era causado, después de un período inicial de ayuno, por un incremento simultáneo de los niveles relativos de las formas activas de glucógeno fosforilasa y sintetasa, es decir que la síntesis se producía a la vez que la degradación. Estos autores indicaron que la reserva de glucógeno es de inmensa importancia para los peces, siendo grandemente conservado en el hígado. Sin embargo, el enzima responsable de la glucogenolisis hepática en carpa sería un enzima de origen lisosomal, la α -amilasa (Murat, 1976b; Picukans & Umminger, 1979) y no se conoce de momento qué mecanismos regulan su actividad. Posiblemente la disminución del

glucógeno hepático causaría una parcial activación de la glucógeno sintetasa (Hers, 1976). La disminución del IHS durante los primeros días es consecuencia de la disminución del glucógeno hepático, quedando reflejado en la correlación entre ambos parámetros ($r = 0,7532$, $p < 0,001$).

El ayuno no afectó al glucógeno del cerebro. La preservación de esta reserva durante el ayuno ha sido observada en *Scyliorhinus canicula* (Fernández, 1985), así como la de otras reservas cerebrales en *Gadus morhua* (Love, 1958) y en *Clarias lazera* (Yanni, 1962). El cerebro, así como el corazón, son los órganos que más conservan sus reservas, ya que requieren condiciones estables por su especial función (Love, 1970); el papel del glucógeno es esencial en estos órganos cuando se produce un brusco aumento de la demanda energética como respuesta a situaciones de emergencia, como la anoxia (Cordier, 1959; Diangelo & Heath, 1987), un cambio brusco de temperatura (Breer & Rahmann, 1974; Blasco et al., 1988) o una fuerte hipoglucemia inducida por insulina exógena (Leibson & Plisetskaya, 1968). El mantenimiento del glucógeno en el cerebro de carpas durante el ayuno respondería a una disminución general del metabolismo en estas condiciones, ya indicada anteriormente, y por tanto, a pesar de la baja glucemia observada a partir de 8 días de ayuno, ésta es suficiente para mantener las necesidades energéticas del cerebro.

4.1.2. Lípidos

La reserva minoritaria en el hígado de carpa es la de lípidos. Aún teniendo en cuenta que esta reserva rinde aproximadamente el doble en cuanto a valor energético que las proteínas y los carbohidratos, el contenido energético de los lípidos en el total del hígado es muy inferior al de las otras dos reservas (pág. 91). La concentración de lípidos en el hígado representó un 30 % de la observada en esta especie en la misma época en un estudio anterior (Gutiérrez, 1985) y la mitad de la que presentaban carpas aclimatadas a la temperatura de 20°C (Bouche et al., 1971). Las diferencias observadas podrían responder a la variedad de dietas utilizadas, así como a factores ambientales (N.R.C., 1977) y del estado del pez.

Teniendo en cuenta que el 30% de los lípidos corresponden a la fracción fosfolipídica, básicamente estructural, el nivel de lípidos de reserva o triglicéridos es, por tanto, muy bajo. La disminución porcentual de los lípidos, sólo significativa en la fracción fosfolipídica, es causada por el fuerte aumento de los carbohidratos, como queda reflejado en la correlación negativa de ambos parámetros ($r=-0,5557$, $p<0,01$). Puesto que la cantidad total de lípidos en hígado va aumentando a lo largo del experimento, pero su concentración en porcentaje disminuye a medida que aumenta el IHS ($r=-0,5740$, $p<0,01$) y, el aumento del IHS es principalmente causado por el aumento de glucógeno, podemos concluir que la deposición de los lípidos es muy inferior a la de los carbohidratos.

La concentración de lípidos en músculo blanco coincide con la observada en esta especie por Moroz (1971) en esta época. Al igual que lo indicado para el hígado, la concentración de lípidos en músculo también es ligeramente inferior a la observada en esta especie por Gutiérrez (1985) (2%) y Takeuchi et al. (1987) (0,9-2%), indicando que la deposición de lípidos en general es baja en los órganos de estas carpas. Posiblemente esta baja concentración de lípidos esté relacionada con la preparación a la puesta, ya que se ha descrito en teleósteos la utilización preferencial de los triglicéridos en esta época de mayor gasto energético (Love, 1970; 1980), no sólo como reserva transferida a la gónada sino como sustrato energético consumido. El elevado contenido de esta reserva en las gónadas, tanto de machos como de hembras (fig. 2), apoyaría esta idea. El elevado porcentaje de fosfolípidos musculares con respecto al total de lípidos caracteriza a las especies no grasas (igual que se ha observado en *Gadus morhua*, Ross & Love, 1979; *Pleuronectes platessa*, Johnston & Goldspink, 1973, y *Esox lucius*, Ince & Thorpe, 1976a). En todos ellos las principales reservas energéticas se acumulan en el hígado (Shulman, 1974). Por lo tanto, en carpa, al igual que en otros peces "blancos", el papel que desempeñan los lípidos en el músculo es principalmente estructural, y las pequeñas variaciones que se producen en esta reserva afectan a todas las fracciones lipídicas, como lo indica la importante correlación de los fosfolípidos y los lípidos totales del músculo ($r=0,6849$, $p<0,001$). En consecuencia, los lípidos en el músculo de carpa no representan una reserva de fácil utilización, ya que su movilización implicará una destrucción fibrilar.

Una característica importante de los ejemplares de estos experimentos es la ausencia de tejido adiposo perivisceral, coincidiendo con lo observado por Mazeaud (1973) en carpas de peso similar y contrastando con otros teleósteos como *Salmo gairdneri* (Weatherley & Gill, 1981; Jezierska et al., 1982), *Esox lucius* (Ince & Thorpe, 1976a) o *Dicentrarchus labrax* (Stirling, 1976), en los que este tejido está muy desarrollado y es movilizado de forma importante durante el ayuno. En consecuencia, la importancia relativa de los lípidos dependerá en gran parte de las características de las especies (Van Waarde, 1983).

El ayuno en su fase inicial (8 días) no modificó los lípidos hepáticos. El aumento porcentual de esta reserva responde principalmente a la importante pérdida de glucógeno producida en este período, quedando reflejado en la correlación opuesta de ambos parámetros expresados en porcentaje del peso seco ($r=-0,5966$, $p<0,01$). Con posterioridad (19 días) se observó una disminución en la reserva total de este órgano, aunque responde a una movilización general de las tres reservas, como lo reflejan las significativas disminuciones del contenido celular para cada una de ellas (pág. 59, 62, 65), así como la disminución en el contenido energético de cada una en este período (entre 8 y 19 días): -68 calorías (glucógeno), -94 calorías (lípidos) y -91 calorías (proteínas). La menor movilización de los lípidos hepáticos frente a la del glucógeno contrasta con las observaciones de Nagai e Ikeda (1971) en carpas ayunadas: disminución prioritaria de los lípidos hepáticos y posterior movilización del glucógeno. Como se indicó anteriormente, en el experimento de Nagai & Ikeda (1971) se trataba de carpas juveniles con niveles de glucógeno iniciales muy inferiores (8%) a los observados en este estudio (15%) y con una mayor reserva lipídica. Estos mismos autores observaron que cuanto mayor era la concentración de glucógeno hepático, inducida por una dieta rica en carbohidratos, menor era la concentración de lípidos, indicando una utilización de estos últimos durante la aclimatación a la dieta. Por tanto, los bajos niveles de lípidos en el hígado de las carpas de este estudio, como ya se ha comentado, podrían indicar una utilización previa al inicio del ayuno en relación con la maduración gonadal. En este sentido Shulman (1974) indicó que los lípidos suministran energía para la síntesis de los productos genitales de los peces, un proceso estrechamente limitado en el tiempo y de un intenso gasto energético. Este mismo

autor propuso una clasificación de los peces en función del tipo de dinámica que sufren sus reservas lipídicas. Según este criterio la carpa estaría representada en el grupo de peces con un contenido lipídico entre el 3 y el 7% del peso seco durante el ciclo anual, con mínimos durante el invierno y la maduración gonadal y máximos en el período de mayor ingesta con posterioridad a la puesta. De igual forma observó Craig (1977), al estudiar el ciclo anual de *Perca fluviatilis*, un drenaje de las reservas lipídicas durante la maduración gonadal, siendo el ciclo reproductor de esta especie similar al de carpa.

El aumento porcentual de los lípidos musculares, así como del contenido celular observado durante los 8 primeros días de ayuno no responde a cambios en la concentración de las otras dos reservas. Por lo tanto, aunque el mayor contenido de lípidos en el total del órgano no fue significativo respecto al momento inicial, representaba un aumento del contenido energético de esta reserva del 24 %. Otros trabajos sobre ayuno en peces han descrito resultados similares (Aster & Moon, 1981; Moon, 1983a; Crawford, 1979), pero ninguno de estos autores presentaron una explicación adecuada a esta paradoja. Por otro lado, Johnston y Goldspink (1973) no observaron cambios en la concentración de los lípidos del músculo blanco durante el ayuno de *Pleuronectes platessa*, especie que presenta niveles en este tejido extremadamente bajos (0,05%). Takeuchi et al. (1987) tampoco observaron cambios en el porcentaje de lípidos del músculo de carpas sometidas a ayuno invernal, pero resaltaron una elevada movilización de grasa visceral, ya que se trataba de carpas de 1,5 Kg.

La significativa disminución de las proteínas a los 19 días de ayuno afectó también a los fosfolípidos del músculo, fracción mayoritaria del total de lípidos (70-80%). Sin embargo, mientras que el contenido energético protéico disminuyó en este período 3017 calorías, el de los lípidos tan sólo representó 319 calorías (pág. 92). La disminución de los fosfolípidos del músculo blanco ha sido observada en el transcurso del ayuno en *Gadus morhua* (Love et al., 1975; Ross, 1978; Ross & Love, 1979) y también en carpas durante la puesta (Damberg, 1964) acompañada de una proteólisis muscular. Como estos autores concluyeron, la movilización de los fosfolípidos musculares, componentes esenciales de las estructuras celulares, indicará una destrucción celular más o menos intensa. Por lo tanto, nuestros resultados confirman que en aquellas especies en las que

la concentración de triglicéridos con respecto al total de lípidos es mínima y que utilizan como principal fuente energética durante el ayuno las proteínas, la disminución de los fosfolípidos del músculo durante el ayuno va acompañada de proteólisis muscular (Love, 1988).

Podemos concluir que la utilización de la reserva lipídica, tanto en hígado como en músculo, durante el ayuno es mínima debido al porcentaje observado en esta reserva al inicio del ayuno, que posiblemente responda a una utilización previa de la misma.

4.1.3. Proteínas

La concentración de proteínas en hígado coincide con la observada por Créach (1972) y es ligeramente superior a la observada por Gutiérrez (1985) en carpas en la misma época, posiblemente por su menor concentración en lípidos como ya se destacó anteriormente. La mayoría de las proteínas hepáticas desempeñarán un papel estructural como componentes de las membranas de células y orgánulos, y una mínima fracción de las mismas constituirá la maquinaria enzimática de este órgano; así, en *Anguilla rostrata*, un 4,6% de las proteínas hepáticas corresponden a la fracción soluble y el resto a proteínas de membrana (Moon, 1983a).

El ayuno provocó pocos cambios en el nivel de proteínas hepáticas, lo cual coincide con los resultados obtenidos en esta misma especie por Créach (1972) y en *Anguilla rostrata* por Moon (1983a) y en *Salmo gairdneri* por Moon et al. (1989). El aumento porcentual observado en el transcurso del ayuno (pág. 61) responderá a cambios del volumen celular causados por la fuerte disminución del glucógeno hepático. Esto queda reflejado en la importante correlación negativa entre ambos parámetros (pág. 70), es decir se produce una concentración de las proteínas. De la misma forma, a medida que disminuye el peso del hígado, causado por la disminución de glucógeno, se produce un aumento porcentual de las proteínas hepáticas (pág. 71). Los ligeros cambios observados en el total de la reserva responderán a la disminución de tamaño del órgano que afectó a las tres reservas.

La concentración de proteínas en el músculo de las carpas alimentadas fue superior a la observada por Gutiérrez (1985) en el estudio del ciclo anual de carpa (10%), indicando de nuevo su menor reserva lipídica en este tejido. La disminución porcentual de las proteínas musculares en las carpas control (19 días) (pág. 78) responde al aumento de glucógeno en este tejido, como manifiesta la correlación negativa entre ambos parámetros ($r=-0,4516$, $p<0,05$) sin que se observen cambios destacables en el total de la reserva.

El músculo representa el porcentaje más elevado del peso corporal y las proteínas su mayor reserva, por ello este tejido resulta ser el almacén energético más importante de todo el cuerpo y es utilizado durante el ayuno o la maduración gonadal (Weatherley & Gill, 1987). Muchos autores han destacado la movilización de las proteínas musculares durante el ayuno en peces (Love, 1970; Johnston & Goldspink, 1973; Moon & Johnston, 1980; Mommsen et al., 1980; Moon, 1983a; Black & Love, 1986; Machado et al., 1988) y concretamente en carpa (Créach, 1972; Gas, 1972); sin embargo, esta movilización se ha observado, generalmente, en ayunos avanzados. Así Créach (1972) señaló una disminución de las proteínas del músculo de carpa a los dos meses de ayuno, y que se acentuaba con el tiempo, como destacan los trabajos histológicos de Gas (1972) en carpas sometidas a ayunos de 15 meses.

La disminución de proteínas en músculo en el presente estudio se aprecia ya a tan sólo 8 días de ayuno, aunque en porcentaje se manifestó a los 19 días (pág. 78). Sin embargo, la pérdida energética fue similar en ambos períodos (de 1-8 días: 3334 calorías; de 8-19 días: 3017 calorías). Por tanto, la expresión de los resultados del contenido de proteínas en función del peso fresco no es tan informativa como en función de todo el tejido, ya que el tejido muscular se caracteriza por mantener su composición porcentual sin cambios muy aparentes (Love, 1970; Shulman, 1974). En este sentido Weatherley et al. (1980) observaron una disminución del diámetro de las fibras musculares en *Salmo gairdnerii* durante el invierno con disminución de la ingesta: se modificaba la cantidad total de proteínas, pero sin variaciones sustanciales en el contenido porcentual del músculo. Es por ello que, aunque se produzcan pequeños cambios en la composición porcentual del músculo, éstos no reflejan la importancia

cuantitativa del total de la masa muscular. Machado et al.(1988) también destacaron esta característica del músculo en un ayuno del pez gato, *Rhamdia hilari*.

La movilización de las proteínas del músculo se produce después de la movilización del glucógeno hepático y cuando la glucemia y el lactato han disminuído. La estabilización de estos parámetros a partir de este momento del ayuno, así como la reducción en la tasa de disminución de peso (pág. 33), indicarán un cambio metabólico importante, siendo las proteínas musculares el principal sustrato energético a partir de ese momento. Estos resultados apuntan hacia una disminución importante de la actividad del pez y por tanto de la demanda energética, que es la principal estrategia de los peces para soportar los largos períodos de ayuno (Love, 1980). En este sentido, Cornish y Moon (1985) señalaron que el *turnover* de la glucosa disminuía con el ayuno en anguila; puesto que la tasa de renovación de la glucosa es directamente proporcional a la concentración de la glucosa en sangre (Weber et al., 1986), el mantenimiento de la glucemia asegurará que la tasa de renovación continúe a pesar de semanas o meses de ayuno (Suárez & Mommsen, 1987). La movilización de las proteínas del músculo blanco coincidiendo con una disminución del consumo de oxígeno durante el ayuno de *Pleuronectes platessa* (Johnston, 1981) apoyaría esta idea. Los aminoácidos (aa) resultantes de la hidrólisis protéica, además de ser catabolizados aportando energía directamente, serán un buen sustrato para la activación de la gluconeogénesis, manteniendo la glucemia (Mommsen et al., 1980; Johnston, 1981; Walton & Cowey, 1982; Moon, 1983a).

Aunque la tendencia general en peces es conservar la proteína corporal a expensas de una más rápida utilización de los lípidos y carbohidratos (Weatherley & Gill, 1987), en este experimento esta secuencia de movilización no ha sido así. Primero, posiblemente la utilización tan temprana de las proteínas esté relacionada con la preparación a la puesta y, por tanto, con una mayor demanda energética. Segundo, el bajo contenido en lípidos de estas carpas desde el inicio hace que las proteínas sean prácticamente la única fuente energética importante a medio y largo plazo. Takeuchi et al. (1987) indicaron que un ayuno de noviembre a marzo en carpas adultas no modificaba el IGS, observando una significativa disminución de las proteínas del músculo. Créach (1972) también indicó la estabilidad de este parámetro durante el

ayuno de esta especie e incluso, en los primeros meses, un aumento del tamaño del ovario. En este experimento, aunque ya se ha indicado la dificultad de extraer conclusiones en base a la composición de la gónada, no se observan diferencias significativas entre las carpas control y las ayunadas, por lo que hemos de suponer que la maduración gonadal continuó a pesar del ayuno, y por tanto los aa procedentes del músculo también podrán ser captados por la gónada. Por otro lado, la fuerte disminución de la insulina al inicio del ayuno favorecerá la movilización de las proteínas del músculo. Ince y Thorpe (1977b) indicaron que la inhibición temporal de insulina durante períodos de elevado requerimiento energético, como en la preparación a la puesta o la migración, podría tener un valor adaptativo permitiendo la movilización de reservas.

Aunque no se ha estudiado en este trabajo el músculo rojo, varios autores han destacado la preservación de este tejido frente al músculo blanco en peces ayunados (Johnston & Goldspink, 1973; Patterson et al., 1974; Johnston, 1981), y concretamente en carpa (Patterson & Goldspink, 1973). La utilización preferencial de las proteínas del músculo blanco refleja la relativa abundancia de este tejido y el tipo de actividad locomotora que desempeña (Johnston, 1981), no necesaria para la natación normal o de crucero. La disminución de la actividad del pez durante el ayuno ha sido relacionada con la reducción del volumen fibrilar del músculo blanco causada por la pérdida de proteínas de las miofibrillas, y también de la población mitocondrial (Beardall & Johnston, 1985; Johnston, 1981). En este estudio también se observó una disminución significativa del volumen celular a los 19 días de ayuno, indicado por el significativo aumento del porcentaje de P-DNA, que sería consecuencia de la movilización de proteínas del músculo como lo señala la correlación negativa entre ambos parámetros. Aunque no se ha comprobado en este experimento qué tipo de proteínas se movilizan en el músculo, muchos autores han destacado la movilización preferencial de las proteínas contráctiles en varias especies (Love, 1970; Johnston & Goldspink, 1973; Beardall & Johnston, 1985; Moon, 1983b), y concretamente en carpa (Gas, 1972; Créach, 1972).

4.1.4. Efecto del ayuno sobre los aminoácidos plasmáticos

La concentración de aminoácidos (aa) plasmáticos observada en las carpas control coincide con los resultados obtenidos en esta misma especie por otros autores (Zébian & Créach, 1979; Plakas et al., 1980), con pequeñas diferencias que responderán a la variedad de dietas utilizadas en cada estudio.

La significativa y positiva correlación obtenida entre los aminoácidos esenciales (EAA) del plasma y su correspondiente concentración en dieta (pág. 51), así como la no relación con los no esenciales, coincide con los resultados obtenidos en esta especie (Zébian & Créach, 1979; Plakas et al., 1980; Dabrowsky, 1982) y en trucha (Nose, 1972; Walton & Wilson, 1986). El perfil de aa en plasma es el resultado neto de la digestión, absorción y de su posterior utilización; de tal forma que una vez el pez ha cubierto sus necesidades para cada uno de los EAA en base a un óptimo crecimiento, se produce un incremento de esos aa en el plasma (Harding et al., 1977; Wilson et al., 1977). Por lo tanto, esta relación es un buen indicador del estado nutricional del pez; aparentemente los NEAA son metabolizados y alterados a mayor velocidad que los esenciales. Este hecho se pone de manifiesto en los primeros días de ayuno; así, la disminución de los EAA del plasma durante la primera semana de ayuno responderá a su captación por los tejidos sin nuevo aporte de la dieta, mientras que los no esenciales no son afectados, pues están implicados en muchas vías metabólicas y sufren importantes interconversiones. Estos resultados coinciden con los observados en trucha a 24 y 48 horas de la última ingesta (Walton y Wilson, 1986).

Entre los EAA, los ramificados (Leu, Ile, Val) fueron los más afectados en los primeros días de ayuno. La disminución de esos aa también ha sido observada en ratas (Adibi, 1971; 1973) y en carpa (Zébian & Créach, 1979; 1982) como respuesta al ayuno o a una alimentación hipoprotéica. El músculo es el tejido más importante en la oxidación de los aa de cadena ramificada en mamíferos (Félig, 1979) y en carpa (Créach, 1967). Este último autor observó que la formación de ácido glutámico a partir de leucina en homogenados de músculo de carpa era muy superior a la del hígado. Por lo tanto, la caída observada de los aa de cadena ramificada podría responder a un

aumento en la oxidación de esos aa en esta fase del ayuno, como sugirieron Zébian y Créach (1982) en esta misma especie.

El aumento de alanina, el único aminoácido que incrementó a los cinco días de ayuno, podría estar relacionado con el aumento en la oxidación de los aa, especialmente los de cadena ramificada, ya que éstos aa son los principales donantes de grupos amino para la síntesis de la alanina en mamíferos (Félig, 1979). También en *Squalus acanthias* Leech et al. (1979) demostraron por diferencia arterio-venosa una significativa salida de alanina del músculo en los primeros días de ayuno frente al resto de aa. El mantenimiento de elevados niveles de alanina desde los cinco días hasta los 19 días de ayuno sugiere un equilibrio entre su salida del músculo y su captación por el hígado, posiblemente para ser utilizado como sustrato gluconeogénico. Mommsen et al. (1980) observaron que durante la migración del salmón la actividad de la alanina aminotransferasa (ALAT o GPT) en el músculo blanco e hígado se mantenía constante, indicando que muchos aa libres del músculo blanco (provenientes de la hidrólisis protéica) podían ser convertidos a alanina y que éste aminoácido era transportado por la sangre hasta el hígado donde sería metabolizado. French et al. (1983) destacaron que la alanina era el mayor sustrato gluconeogénico durante la migración del salmón. El incremento de actividad de ALAT, tanto en hígado (Créach & Serfaty, 1974) como en músculo (Wittenberger y Giurgea, 1973), en carpas ayunadas coincidiría con la hipótesis de Mommsen et al. (1980) y con lo establecido en mamíferos (Palou et al., 1980). Por lo tanto, la estabilización de la glucemia y del glucógeno hepático a partir del octavo día de ayuno son un buen reflejo de la activación de la gluconeogénesis a partir de los aa provenientes del músculo.

El significativo aumento de los aa plasmáticos a los 19 días de ayuno, especialmente de los EAA, coincidió con la acusada disminución de las proteínas del músculo en ese momento. Estos resultados son similares a los observados por Timoshina y Shabalina (1972) en el transcurso del ayuno de trucha. La hidrólisis de la proteína endógena es la única fuente de EAA libres para los tejidos. Además, Créach (1972) observó una importante disminución del *pool* de aa libres en el músculo de carpas ayunadas indicando que éstos no serían catabolizados totalmente *in situ* sino enviados a otros tejidos, principalmente al hígado. El incremento simultáneo de los

NEAA plasmáticos fue, sin embargo, inferior al de los esenciales, indicando de nuevo una mayor utilización de los no esenciales (Inui & Yokote, 1975; Walton & Cowey, 1982; Zébian & Créach, 1982). Estos resultados indican una cierta conservación de los aa que el animal no puede sintetizar.

Como ya se señaló anteriormente, los bajos niveles de insulina observados a lo largo del ayuno favorecerán la movilización de los aa de la proteína muscular al plasma. En este sentido, Inui y Yokote (1975) observaron una importante movilización de los aa al plasma en anguilas tratadas con aloxan, que destruye las células β . El incremento de glutámico-glutamina a los 19 días de ayuno fue el más destacado entre los aa no esenciales, indicando la importancia de este aa en los procesos de transaminación.

Aunque no se pudo valorar la proteína en el músculo de las carpas después de 50 días de ayuno, es lógico pensar que continuó la proteólisis muscular. La disminución de los aa totales en este período del ayuno son un buen indicador de que las necesidades energéticas de las carpas son paliadas principalmente por los aa. Asimismo, la activación de la gluconeogénesis a expensas de las proteínas musculares en peces ayunados ya ha sido sugerida por muchos autores (Leech et al., 1979; Mommsen et al., 1980; Moon & Johnston, 1980; Machado et al., 1988). Sin embargo, el mantenimiento de los aa de cadena ramificada a los 50 días de ayuno indicará una menor oxidación de los mismos en el hígado. Créach y Serfaty (1974) también observaron un mayor incremento de estos aa tras 8 meses de ayuno en carpa. En conexión con estos resultados, French et al. (1981) observaron que la mayoría de los aa podían ser oxidados en hepatocitos de truchas alimentadas y ayunadas, en menor grado los de cadena ramificada; lo cual coincide con lo establecido en mamíferos (Félig, 1979; Christensen et al., 1985).

La destacada disminución del glutámico a los 50 días confirma la fuerte contribución de este aminoácido a la producción energética en carpa, además de la alanina (Nagai & Ikeda, 1972; 1973; Zébian & Créach, 1979).

4.1.5. Hidratación del hígado y el músculo a causa del ayuno

La relación inversa existente en la mayoría de teleósteos entre la reserva mayoritaria de los tejidos y la hidratación de los mismos a consecuencia del ayuno (Love, 1970) también se ha puesto de manifiesto en este estudio. Así, en hígado, la movilización del glucógeno es responsable del aumento en el porcentaje de agua de este tejido (pág. 72). El porcentaje de agua alcanzado tras 19 días de ayuno fue similar al observado por Créach (1972) en carpas de 600 gr tras 8 meses de ayuno. Esto indica un efecto del ayuno mucho más intenso en nuestro estudio, posiblemente las diferencias responderán a la gran diferencia de peso de las carpas utilizadas en cada caso y a la temperatura.

También se observó en músculo una relación inversa entre la reserva mayoritaria, las proteínas, y el contenido en agua en el transcurso del ayuno, confirmando lo establecido para peces no grasos (Love, 1970; Johnston & Goldspink, 1973).

4.2. RESPUESTA DE LAS HORMONAS PANCREATICAS AL AYUNO EN CARPAS SEXUALMENTE MADURAS

Las concentraciones de insulina y glucagón en plasma de las carpas control al inicio del estudio (diciembre) coinciden con las observadas en estudios anteriores en esta especie en la misma época (Gutiérrez et al., 1986; Blasco et al., 1988), tratándose en todos los casos de carpas adultas y con gónadas en desarrollo.

El glucagón se mantuvo estable a lo largo del experimento en las carpas control, mientras que la insulina aumentó paulatinamente. El incremento progresivo de esta hormona durante la época de preparación a la puesta ya había sido descrito en carpa (Gutiérrez, 1985), escorpena (Plisetskaya et al., 1976), lubina (Gutiérrez et al., 1987) y en salmónidos (Dickhoff et al., 1989). En las especies no migratorias (caso de carpa) este aumento se ha relacionado con un incremento de la ingesta (Plisetskaya et al., 1976), favoreciendo el crecimiento, el acúmulo de reservas y la preparación de la gónada. En los salmónidos, que durante la migración sufren ayuno, el incremento de la insulina se ha relacionado con la preservación de las reservas energéticas durante la migración hasta alcanzar el lugar de la puesta. De cualquier modo, esta hormona parece estar implicada en la reproducción de los peces sufriendo variaciones estacionales (Plisetskaya et al., 1976; Murat et al., 1981; Gutiérrez et al., 1987). Por lo tanto, la significativa disminución de la relación molar glucagón/insulina observada en las carpas control (a causa del aumento de insulina) al final del período estudiado favorecerá los procesos anabólicos encaminados a la maduración gonadal. Además, el aumento significativo de los aa plasmáticos en las carpas control al final de este período, también observado en esta época en estudios anteriores (Gessé et al., 1985), podrían ser consecuencia de una mayor ingesta en esta época.

El ayuno produjo una importante disminución en los niveles de hormonas pancreáticas, de tal forma que a los 8 días, la concentración de insulina se redujo a la mitad y la del glucagón a una tercera parte. La disminución de los niveles de insulina en plasma como respuesta al ayuno ha sido observada por diversos autores. En *Carassius auratus* un ayuno de cinco días redujo a la mitad los niveles de insulina plasmática (Pátent & Foà, 1971). Hertz et al. (1989) también indicaron una disminución

del 50 % en los niveles de insulina plasmática en carpas tras un ayuno de 10 días. En trucha (Thorpe & Ince, 1976) y en salmón (Plisetskaya et al., 1986) los niveles de insulina disminuían de 2 a 4 veces tras un ayuno de 1 y 2 semanas respectivamente. Por tanto la respuesta de esta hormona al ayuno en peces es similar a la establecida en mamíferos (Félig, 1979). La disminución de esta hormona favorecerá la aparición de aa en plasma provenientes de la proteína endógena, que servirán como sustratos gluconeogénicos y también como sustratos energéticos para diferentes tejidos (como se indicó anteriormente). Estos resultados coinciden con los observados en anguila por Inui y Yokote (1974) donde el ayuno producía una disminución de la insulina plasmática y un aumento de los aa plasmáticos. Aunque se especula que la activación de la gluconeogénesis podría estar bajo el control directo de los corticoesteroides y del glucagón, la reducción de la insulina circulante puede favorecer indirectamente esta vía (Inui & Yokote, 1974; Murat et al., 1981; Christiansen & Klungsoyr, 1987).

La disminución del glucagón plasmático como respuesta al ayuno coincide con los recientes resultados obtenidos en salmónidos: Sheridan y Plisetskaya (1988) observaron una significativa disminución del glucagón a 1 y 3 semanas de ayuno en el salmón. Moon et al. (1989) indicaron una reducción de 3 a 4 veces en los niveles de esta hormona en truchas tras 6 semanas de ayuno, paralela a la de la insulina. Estos autores observaron que la relación molar glucagón/insulina aumentaba en las truchas ayunadas y, basándose en los estudios de mamíferos donde se ha comprobado la respuesta antagónica entre ambas hormonas (Cherrington & Vranic, 1986), concluyeron que este aumento podría ser la señal para reorientar el flujo energético hacia gluconeogénesis. Sin embargo, en este estudio se observó una mayor disminución del glucagón que de la insulina, por lo que la relación equimolar entre ambas hormonas a partir de los ocho días de ayuno disminuyó (pág. 47). De cualquier modo, esta relación en las carpas ayunadas fue similar (0,18) a la indicada en las truchas ayunadas (0,16). Posiblemente, la menor disminución de la insulina tenga un efecto tamponador sobre el músculo preservándolo de una proteólisis muscular mayor que la observada, al igual que lo indicado durante la migración del salmón (Plisetskaya et al., 1987), y regulando el suministro energético durante la maduración gonadal. Además, la estabilización de la glucemia, así como del glucógeno hepático, son buenos indicadores de la activación de

la vía gluconeogénica, que en este caso no parece ser mediada directamente por el glucagón. Se ha demostrado en anguila que la entrada de aa al hígado puede ser estimulada tanto por la insulina como por el glucagón (Inui & Ishioka, 1983b), y la insulina estimula la gluconeogénesis en hepatocitos de *Hemipterus americanus* teniendo un efecto aditivo al del glucagón (Foster & Moon, 1987). Sin embargo, el efecto antagónico entre ambas hormonas en peces sigue siendo tema de debate, ya que parece existir una clara sensibilidad estacional a los efectos de ambas hormonas (Foster & Moon, 1987; 1989).