

# **Efecto de la alimentación materna sobre la maduración enzimática durante la vida fetal y la lactancia en la rata**

MIRIAM F. DE CHANG<sup>1</sup> y OSCAR PINEDA<sup>2</sup>

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala, C. A.

El desarrollo de los mamíferos, desde el óvulo fecundado hasta el recién nacido, y más tarde el ser adulto, puede considerarse como un proceso continuo de cambio en la estructura y química de la célula.

A medida que cada órgano se diferencia, aparecen nuevos sistemas enzimáticos y otros, ya existentes, aumentan o disminuyen hasta alcanzar los niveles constantes del órgano funcionalmente maduro (1).

En el embrión, muchas enzimas se encuentran ausentes o en bajas concentraciones, por ejemplo: triptofano pirro-lasa (E.C.1.13.1.12), fenilalanina hidroxilasa (E.C.1.14.3.1), y fructuosa difosfatasa (E.C.3.13.1.1), las cuales aparecen hasta el nacimiento (2-4). El embrión posee un gran número de actividades enzimáticas, principalmente las relacionadas con la síntesis de proteínas y lipoproteínas, las que constituyen una porción considerable del tejido embrionario (5).

En general, las enzimas asociadas con el crecimiento y la multiplicación celular aparecen tempranamente en el desarrollo embrionario, mientras que otras menos vitales aparecen más tarde (6). Las enzimas relacionadas con funciones

- 
1. Instructora en el Curso de Bioquímica de la Escuela de Nutrición del Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos (CESNA), INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala.
  2. Jefe Asociado de la División de Química Fisiológica y Director del Curso de Posgrado de Bioquímica y Nutrición Humana.

Publicación INCAP E-763.

Recibido: 6-11-73.

específicas de un órgano empiezan a acumularse antes de que su función sea fisiológicamente requerida, y aumentan paralelamente a la maduración del órgano en que se desarrollan. Por ejemplo, la anhidrasa carbónica (E.C.4.2.1.1) muestra un notorio incremento durante la maduración del sistema nervioso (7, 8). La colinesterasa (E.C.3.1.1.8) que se localiza principalmente en las células gliales, está asociada con el metabolismo de la mielina. Incrementa con la edad, observándose mayor actividad en los períodos de rápido desarrollo del sistema nervioso (8). La ATPasa (E.C.3.6.1.3) está relacionada con el aumento de la miosina en el músculo (9).

En el hígado, la diferenciación celular resulta, entre otras cosas, en un aumento de varias enzimas oxidativas: NADPH citocromo c reductasa (E.C.1.6.99.3), glutathion reductasa (E.C.1.6.4.2) y NADH oxidasa (10).

Algunas enzimas oxidativas que se consideran representativas de la función mitocondrial, acusan baja actividad en el feto y en el recién nacido, en comparación con el nivel adulto. Jakovcic *et al.* (11) observaron que la actividad de citocromo oxidasa (E.C.1.9.3.1) en el hígado de la rata aumenta marcadamente después del nacimiento, alcanzando niveles adultos dos o cuatro semanas más tarde, como consecuencia del incremento postnatal que ocurre en el número de mitocondria y en la actividad funcional de las mismas.

Conforme el desarrollo progresa la tasa de crecimiento declina y las enzimas relacionadas con el catabolismo cobran más actividad. Ciertas enzimas del catabolismo de aminoácidos, tales como la histidasa (E.C.4.3.1.3) y la serina dehidratasa (E.C.4.2.1.13), se desarrollan después del nacimiento (12, 13). Las enzimas de la hidrólisis de uracilo y timidina aumentan con la edad, al igual que la actividad de timidina fosforilasa (E.C.2.4.2.4), hecho que se relaciona con el descenso en la síntesis de DNA a medida que el animal se desarrolla (14).

Durante el período fetal, se observa en el hígado una síntesis activa de DNA, la que decrece hacia el nacimiento y en el período postnatal (15). La timidina quinasa (E.C.2.7.1.21) que cataliza la primera etapa de una ruta metabólica conducente a la formación de TTP, se encuentra muy elevada en los tejidos de rápido crecimiento, tales como hígado en regenera-

ción, tumores e hígado fetal. Por este motivo, ha sido asociada con la síntesis de DNA.

La actividad de esta enzima en el citosol de hígado de rata decrece con la edad, a tal grado, que la actividad en el adulto es 1% de la observada en fetos de 17 días (15).

En estudios con ratas, Machovich y Greengard (16), determinaron que la concentración de timidina quinasa en el bazo aumenta ostensiblemente después del nacimiento, declinando a niveles adultos tres semanas más tarde, mientras que en el hígado fetal alcanza un punto máximo entre el 17º y 19º día de gestación, para luego descender rápidamente. Los autores mencionados señalan que estos cambios en actividad están asociados con la función eritropoyética del hígado durante la vida fetal, y del bazo durante los primeros días de vida postnatal, ya que es entonces cuando ambos muestran la mayor concentración de timidina quinasa.

Se ha comprobado, además, que enzimas clave en el metabolismo de carbohidratos, sufren cambios notorios durante el desarrollo de varias especies de animales sometidas a estudio (4, 17, 18).

En el adulto, la fosforilación de hexosas se lleva a cabo a través de cuatro enzimas: glucoquinasa (E.C.2.7.1.12), hexoquinasa (E.C.2.7.1.1), fructoquinasa (E.C.2.7.1.4) y galactoquinasa (E.C.2.7.1.6) (19).

En la rata, dos son las enzimas capaces de fosforilar gluco-sa. Durante la vida fetal y los primeros días del desarrollo postnatal, sólo una se encuentra presente, la hexoquinasa, cuya actividad desciende gradualmente desde el 17º día de vida fetal hasta el destete (1).

La otra enzima fosforilativa de glucosa es la glucoquinasa, la cual está ausente en el hígado fetal de la rata y aparece 16 días después de su nacimiento, alcanzando niveles adultos 10 ó 12 días más tarde (20). Aún se desconoce el estímulo fisiológico que determina su aparición, el cual parece ser muy complejo. Se ha sugerido que está relacionado con la secreción adrenocortical, la cual se inicia alrededor del 10º día postnatal, así como con el cambio de dieta al destete (21).

Ballard y Oliver (22) demostraron la presencia de dos isoenzimas en el hígado de la rata: una con pH óptimo de 9 y Km de  $5-8 \times 10^{-5}$  M para glucosa, y la otra con pH óptimo de

7 y Km  $1-3 \times 10^{-2}$  M. La primera constituye 100% de la actividad fetal. La segunda forma 85% de la actividad del hígado adulto, el cual posee todavía alrededor de 15% de actividad "fetal".

La fructoquinasa, específica para fructosa, está ausente en el hígado fetal de muchas especies, tales como la rata, el conejo y el cobayo, y aparece después de su nacimiento, alcanzando niveles adultos 7 a 10 días después (23). Aunque los factores que determinan su aparición todavía siguen siendo desconocidos, es probable que también sean de naturaleza hormonal. La posibilidad de una inducción por substrato queda descartada, porque a pesar de que la placenta es relativamente impermeable a la fructosa, en el feto de muchas especies se encuentran cantidades variables de la misma (24). Sin embargo, hay que hacer notar, que en ausencia de fructoquinasa, la hexoquinasa también es capaz de fosforilar fructosa en varios tejidos (25).

La primera etapa en el metabolismo de galactosa es catalizada por galactoquinasa. Cuatrecasas y Segal (26) encontraron que la actividad de esta enzima en el hígado aumenta rápidamente después del nacimiento, alcanzando un máximo al 5º día, para luego declinar a niveles adultos al 35º día.

Tanto en ratas recién nacidas como en ratas adultas, Walker y Khan (27) observaron que la galactoquinasa en el hígado no se adapta a cambios en la dieta.

Por otra parte, Burch (28) sugiere que el descenso en la actividad de hexoquinasa y fosfofructoquinasa (E.C.2.7.1.11) se relaciona con la disminución en glicólisis anaeróbica que se observa con la maduración.

La fosfofructoquinasa es una enzima clave en el proceso de glicólisis; cataliza la conversión de fructosa-6-fosfato a fructosa-1, 6-difosfato.

Novak *et al.* (29) midieron la actividad de esta enzima y la de hidroxiacil CoA deshidrogenasa (E.C.1.1.1.35)-indispensable para la  $\beta$ -oxidación - en tejido adiposo subcutáneo de niños recién nacidos, desde dos horas hasta dos semanas de edad, así como en adultos. Observaron que la relación fosfofructoquinasa/hidroxiacil CoA deshidrogenasa, desciende con

la edad, lo que indica una substitución en este tejido, del catabolismo de glucosa por el de ácidos grasos después de los primeros días de vida.

En ratas, durante la vida fetal, se observa una gran actividad glicolítica. La fosfoglucoisomerasa es una de las enzimas más activas en el hígado fetal (28). Otras enzimas glicolíticas también son más activas en el feto que en el adulto. Por ejemplo, la actividad de fructosa difosfato aldolasa (E. C. 4.1.2.13) en ratas al destete es 20% de la observada en fetos de 17 días (1). En cambio, la actividad de fructosa-1-fosfato aldolasa (E.C.4.1.2.7) y glicerofosfato deshidrogenasa (E.C. 1.1.99.5) aumenta desde el estado fetal hasta la edad adulta (4).

El fenómeno de adaptación postnatal es de primordial importancia para la supervivencia del animal recién nacido. Durante su desarrollo *in utero* el feto deriva la energía necesaria para su metabolismo casi exclusivamente de la glucosa que obtiene a través de la placenta (30). Con el nacimiento este suplemento se interrumpe violentamente, y el recién nacido se ve obligado a reaccionar a la hipoglicemia resultante, liberando glucosa, tanto del glucógeno como a través de gluconeogénesis, para ser metabolizada en el hígado (31).

Es un hecho bien conocido que durante el desarrollo fetal se acumulan grandes cantidades de glucógeno en el hígado de muchas especies (32). Inmediatamente después del nacimiento los niveles hepáticos descienden y permanecen bajos durante varios días, evidentemente para mantener los requerimientos de glucosa sanguínea del recién nacido (31).

A medida que el glucógeno hepático se acumula, aumenta la actividad de las enzimas responsables de su síntesis: fosfoglucomutasa (E.C.2.7.5.1), UDP glucosa pirofosforilasa (E. C. 2.7.7.9) y glucógeno sintetasa (E.C.2.4.1.11) (33-36). Pero los cambios en la actividad de estas enzimas no explican satisfactoriamente la acumulación prenatal de glucógeno, ya que la fosforilasa, una enzima de degradación, también está presente y asciende substancialmente con el nacimiento (35, 37).

Se ha sugerido que la baja actividad de glucosa-6-fosfatasa (E.C.3.1.3.9) en el hígado fetal es el factor responsable de esta acumulación en la rata (38) y en el cobayo (39). Sin em-

bargo, la presencia de esta enzima en otras especies, antes del nacimiento, descarta esta posibilidad.

La existencia de un control hormonal ha sido demostrada por Jacquot y Kretchmer (36) en sus experimentos con fetos de rata, decapitados al 18º día de gestación, en los que no se observa la acumulación normal de glucógeno hepático entre el 19º y 20º día de gestación, ni el incremento en la actividad de fosfoglucomutasa (E.C.2.4.1.11). En cambio, sí se observa una gran actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (E.C.1.1.1.49), la cual interviene en una reacción competitiva a la glicogénesis.

En el período neonatal, cuando las reservas de glucógeno han sido depletadas y la ingesta de carbohidratos es pobre, debido al bajo contenido de éstos en la leche, el animal recién nacido desarrolla una gran capacidad para gluconeogénesis. Este hecho se comprueba por el incremento postnatal de varias enzimas implicadas en el proceso. La piruvato carboxilasa (E.C.6.4.1) es detectable en fetos de rata desde el 18º día, y desarrolla rápidamente hasta alcanzar, a término, niveles adultos (40). La fructosa difosfatasa también aparece antes del nacimiento, pero no alcanza su actividad máxima sino hasta el 10º día postnatal (41, 42). Por el contrario, la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (E.C.4.1.1.32) está ausente en el feto y asciende marcadamente después del nacimiento (43). Ballard y Hanson (44) sugieren que, en estas condiciones, fosfoenolpiruvato carboxiquinasa es la enzima limitante en gluconeogénesis, y que su aparición al nacimiento es la que da inicio al proceso.

La utilización de aminoácidos para la formación de carbohidratos procede vía oxalacetato, por lo que el desarrollo de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa es un sitio importante de control para la iniciación del proceso (45).

Según Yeung y Oliver (46) los sistemas enzimáticos responsables de la utilización de aminoácidos en gluconeogénesis se desarrollan en el período postnatal, alcanzando un máximo de actividad al 5º día.

Las enzimas involucradas en la degradación de aminoácidos están ausentes en el feto y no se desarrollan hasta el nacimiento. Por ejemplo, la actividad de L-serina deshidratasa (E.C.4.2.1.13) y L-treonina deshidratasa (E.C.4.2.1.16) aumen-

ta rápidamente después del nacimiento, alcanzando un punto máximo 20 días después (46).

Ciertas transaminasas como tirosina transaminasa (E.C. 2.6.1.5) (12), fenilalanina transaminasa (47), alanina transaminasa (E.C.2.6.1.2) y aspartato transaminasa (E.C.2.6.1.1) (46) también aumentan después del nacimiento. Ello confirma el hecho de que la utilización de aminoácidos para cualquier proceso ajeno a la síntesis de proteínas es pobre en el hígado fetal.

La energía necesaria para gluconeogénesis es suplida principalmente por la oxidación de ácidos grasos, la cual produce ATP y disminuye la concentración de ADP, permitiendo así la conversión de piruvato en oxalacetato (48).

Se ha demostrado que el incremento de ácidos grasos libres estimula gluconeogénesis a partir de varios metabolitos. Por ejemplo, los ácidos oleico y butírico incrementan la gluconeogénesis a partir de lactato en el hígado de rata perfundido (49), y en la corteza renal (50). Williamson *et al* (51) han presentado evidencia de la interrelación existente entre la oxidación de ácidos grasos y la gluconeogénesis, inhibiendo la carnitina palmitil transferasa (E.C.2.3.1.a), y observándose que la adición de ácido oleico no estimula gluconeogénesis.

Durante la lactancia en ratas, y como respuesta al alto contenido en grasas de la dieta, se constata un incremento en la síntesis de cuerpos cetónicos, asociado con gluconeogénesis (52).

El producto de la oxidación de ácidos grasos es acetato, por lo que un aumento en dicha oxidación, unido a una baja utilización de acetato en el ciclo de ácidos tricarbóxicos — que se observa durante la lactancia— podría provocar un incremento en la formación de acetoacetato (53, 54).

La vía principal para la formación de acetato implica la conversión de acetyl CoA y acetoacetyl CoA en hidroximetilglutaril CoA, la que a su vez forma acetato y acetyl CoA. La primera etapa es catalizada por la hidroximetilglutaril CoA sintasa (E.C.4.1.3.5), la cual muestra un rápido incremento en la actividad mitocondrial inmediatamente después del nacimiento, hasta alcanzar un punto máximo a los 15 días de edad (52).

En ratas adultas alimentadas con una dieta rica en grasas, situación muy parecida a la de la lactancia, Williamson, Bates y Krebs (55) encontraron un incremento en la actividad de hidroximetilglutaril CoA tiolasa. Esta última enzima cataliza la ruptura de hidroximetilglutaril CoA.

Al igual que la gluconeogénesis, la síntesis de lípidos se ve afectada por los cambios en la dieta durante el desarrollo.

El contenido de lípidos en el hígado fetal permanece bajo durante toda la gestación, y asciende rápidamente después del nacimiento (56).

El transporte de ácidos grasos a través de la placenta es muy limitado, por lo que éstos deben ser sintetizados por el feto (57).

En ratas se ha podido determinar que durante el período fetal ocurre una lipogénesis muy activa (58), la que es suprimida casi totalmente después del nacimiento, permanece baja a través de la lactancia, y aumenta de nuevo al destete (42). Estos cambios coinciden con las variaciones que se observan en el tipo de alimentación prenatal, durante la lactancia, y al destete (59). Varias enzimas relacionadas con la lipogénesis han sido estudiadas en fetos de rata. Dos de ellas, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (E.C.1.1.1.49) y fosfogluconato deshidrogenasa (E.C.1.1.1.43) implicadas en la producción de NADPH, son activas 5 ó 6 días antes del nacimiento (4). La enzima ATP citrato liasa (E.C.4.3.1.8) que está relacionada con la formación de acetil CoA, es activa 4 días antes del nacimiento. Durante el desarrollo sigue cuantitativamente el patrón de lipogénesis en el hígado (60), y alcanza una actividad máxima entre los 30 y 40 días de edad (42).

La deshidrogenasa málica, NADP específica (E.C.1.1.1.40), está ausente en el hígado fetal y se desarrolla al principio del destete (16, 42). La actividad de piruvato quinasa es baja en el período neonatal y aumenta después del destete cuando la utilización de carbohidratos para lipogénesis es muy activa (16, 61), alcanzando niveles adultos a los 40-50 días de edad (42). Esta enzima es de mucha importancia en el control de la glicólisis hepática (61).

La oxidación de aminoácidos como fuente de energía es generalmente menos significativa que la de lípidos y carbohi-

dratos. Sin embargo, a veces es hasta de mayor utilidad, pero ello depende del contenido de proteínas en la dieta.

La velocidad de formación de urea a partir del amonio resultante de este proceso, guarda relación con la concentración de todas las enzimas del ciclo de la urea (62).

Se ha demostrado que las variaciones en la ingesta de proteínas producen cambios en los niveles de dichas enzimas y, por lo tanto, afectan la producción de urea (62).

Según Freedland y Sodikoff (63), todos los tratamientos que incrementan el catabolismo de proteínas producen un aumento en argininosuccinato sintetasa (E.C.6.3.4.5), mientras que la arginasa (E.C.3.5.1.3) sólo se eleva cuando éstos van acompañados de aumento o mantenimiento del peso corporal.

Durante la vida embrionaria la actividad de todas las enzimas del ciclo de la urea: carbamil fosfato sintetasa (E.C.2.7.2.5), ornitina carbamiltransferasa (E.C.2.1.3.3), argininosuccinato sintetasa, argininosuccinasa (E.C.4.3.2.1) y arginasa, permanece baja e incrementa con la edad, después del nacimiento (64-66).

Paralelamente, la formación de urea permanece baja durante todo el período prenatal y aumenta con el nacimiento, alcanzando niveles adultos 24 horas después (67-69).

Según Rähkä y Suihkonen, la enzima limitante en la biosíntesis de urea en la rata (66) y en el hombre (69), es la argininosuccinato sintetasa. Esta acusa la más baja actividad al nacimiento, y el más rápido aumento postnatal.

Una reacción catalizada por fumarasa (E.C.4.2.1.2) puede convertir en malato el fumarato formado por la ruptura del argininosuccinato. Es de hacer notar que la actividad de esta enzima es baja en el citosol de hígado fetal de la rata, y se eleva durante el período neonatal (16); es afectada por el contenido de proteína en la dieta (70).

El carbamil fosfato puede ser utilizado en dos vías metabólicas: para la síntesis de urea catalizada por carbamil fosfato sintetasa, y para la síntesis de pirimidinas catalizadas por aspartato transcarbamilasa (E.C.2.1.3.2).

La prioridad depende de la disponibilidad de aminoácidos para procesos anabólicos o catabólicos.

En el período embrionario el metabolismo es predominantemente anabólico y la síntesis de ácidos nucleicos es muy ac-

tiva. Por el contrario, en este mismo período la formación de urea es muy baja. Durante todo ese lapso la aspartato transcarbamilasa es muy activa.

Con el nacimiento esta relación se altera; aparece la carbamilfosfato sintetasa, y la vía metabólica de la urea adquiere mayor relevancia (64).

La ornitina quetoácido aminotransferasa (E.C.2.6.1.13) cataliza la transaminación de L-ornitina con ácido  $\alpha$ -quetoglutarico para formar semialdehído glutámico. Ello constituye la primera de las dos reacciones del catabolismo de la L-ornitina a ácido glutámico.

En la rata, la actividad de ornitina quetoácido aminotransferasa en el hígado aumenta alrededor del nacimiento, y continúa aumentando hasta alcanzar niveles adultos en la 3ª semana postnatal (71).

Fisiológicamente, los diferentes sistemas enzimáticos hacen su aparición durante el desarrollo antes de que su acción sea requerida. Por consiguiente, es factible postular que situaciones de "stress" durante el período de la gestación podrían afectar irreversiblemente el patrón de maduración de tales enzimas, dando origen a deficiencias que se manifestarían hasta después del nacimiento como una persistencia del estado fetal, similares a las que se observan en el caso de enfermedades genéticas congénitas. Estas situaciones de "stress" pueden ser alteraciones nutricionales cualitativas o cuantitativas durante la preñez, las cuales se traduzcan en defectos morfológicos o funcionales, de diversos grados de severidad en las crías.

Creemos de importancia señalar, que los estudios orientados a investigar el efecto de la alimentación materna sobre el crecimiento y maduración metabólica de su progenie, sólo pueden rendir datos de utilidad si se emplean diseños adecuados en animales de experimentación.

El conocimiento básico adquirido en esta forma, puede eventualmente proyectarse a condiciones similares en humanos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Burch, H. B. Substrates of carbohydrate metabolism and their relation to enzyme levels in liver from rats of various ages. En: **Advances in Enzyme Regulation** (G. Weber, ed.). Vol. 3. New York, Pergamon Press, 1964, p. 185-187.
2. Nemeth, A. M. Mechanisms controlling changes in tryptophan peroxidase activity in developing mammalian liver. **J. Biol. Chem.**, 234: 2921-2924, 1959.
3. Friedman, P. A. & Kaufman, S. A study of the development of phenylalanine hydroxylase in fetuses of several mammalian species. **Arch. Biochem. Biophys.**, 146: 321-326, 1971.
4. Burch, H. B., O. H. Lowry, A. M. Kuhlman, J. Skerjance, E. J. Diamant, S. R. Lowry & P. von Dippe. Changes in pattern of enzymes of carbohydrate metabolism in the developing rat liver. **J. Biol. Chem.**, 238: 2267-2273, 1963.
5. Richter, D. Enzymic activity during early development. **Brit. Med. Bull.** 17: 118-121, 1961.
6. Brown, A. K. Billirubin metabolism in the developing liver. En: **Biology of Gestation** (N. S. Assali, ed.). Vol. 2. New York, N. Y., Academic Press, 1968, p. 355-371.
7. Herrman, H. & M. L. Tootle. Specific and general aspects of the development of enzymes and metabolic pathways. **Physiol. Rev.**, 44: 298-371, 1964.
8. Timiras, P., A. Vernadakis & N. M. Sherwood. Development and plasticity of the nervous system. En: **Biology of Gestation** (N. S. Assali, ed.). Vol. 2. New York, N. Y., Academic Press, 1968, p. 261-315.
9. Herrman, H., J. S. Nicholas & M. E. Voegian. Liberation of inorganic phosphate from adenosinetriphosphate by fractions derived from developing rat muscle. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 72: 454-457, 1949.
10. Burch, A. B., J. Skerjance & L. Thomson. Flavoproteins oxidizing DPNH and TPNH in fetal and young rat liver and kidney. **Fed. Proc.**, 23: 458, 1964.
11. Jakovcic, S., J. Haddock, G. S. Getzs, M. Rabinowitz & H. Swift. Mitochondrial development in liver of foetal and newborn rats. **Biochem. J.**, 121: 341-347, 1971.
12. Auerbach, V. H. & H. A. Waisman. Tryptophan peroxidase, histidase and transaminase activity in liver of the developing rat. **J. Biol. Chem.**, 234: 304-306, 1959.
13. Greengard, O. & H. K. Dewey. Initiation by glucagon of the premature development of tyrosine aminotransferase, serine dehydratase and glucose-6-phosphatase in fetal rat liver. **J. Biol. Chem.**, 242: 2986-2991, 1967.
14. Stevens, L. & L. A. Stocken. Studies on enzymes involved in nucleic acid metabolism in foetal, young and regenerating rat liver. **Biochem. J.**, 87: 12-15, 1963.
15. Klemperer, H. G. & G. R. Haynes. Thymidine kinase in rat liver during development. **Biochem. J.**, 108: 541-546, 1968.

16. Machovich, R. & O. Greengard. Thymidine kinase in rat tissues during growth and differentiation. *Biochem. biophys. Acta*, 286: 375-381, 1972.
17. Vernon, R. G. & D. G. Walker. Changes in activity of some enzymes involved in glucose utilization and formation in developing rat liver. *Biochem. J.*, 106: 321-329, 1968.
18. Wallace, J. C. & E. A. Newsholme. A comparison of the properties of fructose 1,6 diphosphatase, and the activities of other key enzymes of the carbohydrate metabolism in the liver of embryonic and adult rat, sheep and domestic fowl. *Biochem. J.*, 104: 378-384, 1967.
19. Walker, D. G. The nature and function of hexokinases in animal tissues. En: *Essays in Biochemistry* (P. N. Campbell, ed.). Vol. 2 London, Academic Press, 1966, p. 33.
20. Walker, D. G. & G. Holland. The development of hepatic glucokinase in neonatal rat. *Biochem. J.*, 97: 845-854, 1965.
21. Jamdar, S. C. & O. Greengard. Premature formation of glucokinase in developing rat liver. *J. Biol. Chem.*, 245: 2779-2783, 1970.
22. Ballard, F. J. & I. T. Oliver. Ketohexokinase, isoenzymes of glucokinase and glycogen synthesis from hexoses in neonatal rat liver. *Biochem. J.*, 90: 261-270, 1964.
23. Walker, D. G. The postnatal development of hepatic fructokinase. *Biochem. J.*, 87: 576-581, 1963.
24. Huggett, A. St. G. Carbohydrate metabolism in the placenta and foetus. *Brit. Med. Bull.*, 17: 122-126, 1961.
25. Di Pietro, D. L. Some aspects of D-fructose metabolism in rat liver. *J. Biol. Chem.*, 239: 4041-4055, 1964.
26. Cuatrecasas, P. & S. Segal. Mammalian galactokinase development and adaptative characteristics in the rat liver. *J. Biol. Chem.*, 240: 2382-2388, 1965.
27. Walker, D. G. & H. H. Khan. Some properties of galactokinase in developing rat liver. *Biochem. J.*, 108: 169-175, 1968.
28. Burch, H. Biochemical changes in the perinatal rat liver. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 111: 176-182, 1963.
29. Novak, M., E. Monkus, H. Wolf & V. Stave. The metabolism of subcutaneous adipose tissue in the immediate postnatal period of human newborns. 2. Developmental changes in the metabolism of <sup>14</sup>C-(U)-D-glucose and in enzyme activities of phosphofructokinase (PFK, E.C.2.7.1.11) and  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (HAD, E.C. 1.1.1.35). *Pediat. Res.*, 6: 211-218, 1972.
30. Walker, D. G. Developmental aspects of carbohydrate metabolism. En: *Carbohydrate Metabolism and Its Disorders*. (F. Dickens, P. J. Randle & W. J. Whelan, eds.). Vol. 1. London, Academic Press, 1968, p. 465-496.
31. Adam, P. A. J. En: *Advances in Metabolic Disorders* (R. Levine & R. Luft, eds.). Vol. 5. New York, N. Y., Academic Press, 1971, p. 184-268.
32. Shelley, H. Glycogen reserves and their changes at birth and in anoxia. *Brit. Med. Bull.*, 17: 137-143, 1961.

33. Lea, M. A. & D. G. Walker. The metabolism of glucose-6-phosphate in developing mammalian tissues. *Biochem. J.*, 91: 417-424, 1964.
34. Isselbacher, K. J. Evidence for and accessory pathway of galactose metabolism in mammalian liver. *Science*, 126: 652-653, 1957.
35. Kornfeld, R. & D. H. Brown. The activity of some enzymes of glycogen metabolism. *J. Biol. Chem.*, 238: 1604-1607, 1962.
36. Jacquot, R. & N. Kretchmer. Effect of fetal decapitation on enzymes of glycogen metabolism. *J. Biol. Chem.*, 239: 1301-1304, 1964.
37. Novak, E., G. I. Drummond, J. Skala & P. Hahn. Developmental changes in cyclic AMP, protein kinase, phosphorilase in liver, heart and skeletal muscle of the rat. *Arch. Biochem. Biophys.*, 150: 511-518, 1972.
38. Dawkins, M. J. R. Changes in glucose-6-phosphatase activity in liver and kidney at birth. *Nature*, 191: 72-73, 1961.
39. Nemeth, A. M. Glucose-6-phosphatase activity in liver and kidney at birth. *J. Biol. Chem.*, 208: 773-776, 1954.
40. Yeung, D., R. S. Stanley & I. T. Oliver. Development of gluconeogenesis in neonatal rat liver. Effect of triamcinolone. *Biochem. J.*, 105: 1219-1227, 1967.
41. Ballard, F. J. & I. T. Oliver. Appearance of fructose 1,6 diphosphatase in postnatal rat liver. *Nature*, 195: 498-499, 1962.
42. Bailey, E., C. B. Taylor & W. Bartley. Liver enzyme changes in the developing rat. *Biochem. J.* 103: 78, 1967.
43. Philipidis, H. & F. J. Ballard. The development of gluconeogenesis in rat liver. *Biochem. J.*, 120: 385, 1970.
44. Ballard, F. J. & R. W. Hanson. Phosphoenolpyruvate carboxykinase and pyruvate carboxylase in developing rat liver. *Biochem. J.*, 104: 866-871, 1967.
45. Vernon, R. G., W. Eaton & D. G. Walker. Carbohydrate formation from various precursors in neonatal rat liver. *Biochem. J.*, 110: 725-731, 1968.
46. Yeung, D. & I. T. Oliver. Gluconeogenesis from amino acids in neonatal rat liver. *Biochem. J.*, 103: 744-748, 1967.
47. Keney, F. T. & N. Kretchmer. Hepatic metabolism of phenylalanine during development. *J. Clin. Invest.*, 38: 2189-2196, 1959.
48. Pontremoli, S. & E. Grazi. Gluconeogenesis. En: *Carbohydrate Metabolism and Its Disorders* (F. Dickens, P. J. Randle & W. J. Whelan, eds.). Vol. 1. New York, Academic Press, 1968, p. 259-295.
49. Ross, B. D., R. Hems, R. A. Freedland & H. A. Krebs. Carbohydrate metabolism of the perfused rat liver. *Biochem. J.*, 105: 869-875, 1967.
50. Krebs, H. A., R. N. Speake & R. Hems. Acceleration of renal gluconeogenesis by ketone bodies and fatty acids. *Biochem. J.*, 94: 712-720, 1965.
51. Williamson, J. R., E. T. Browning, R. A. Scholtz, R. A. Kreisberg & I. B. Fritz. Inhibition of fatty acid stimulation of gluconeogenesis by (+)-decanoylcarnitine in perfused rat liver. *Diabetes*, 17: 194-208, 1968.
52. Lockwood, E. & E. Bailey. The course of ketosis and the activity of key enzymes of ketogenesis and ketone body utilization during development of the postnatal rat. *Biochem. J.*, 124: 249-254, 1971.

53. Drahota, Z., P. Hahn, A. Kleinzeller & A. Kostolánská. Acetoacetate formation by liver slices from adult and infants rats. *Biochem. J.*, **93**: 61-65, 1964.
54. Drahota, Z., P. Hahn & E. Honová. Acetoacetate formation by livers of young and adults. *Biol. Neonat.*, **9**: 124-131, 1965-1966.
55. Williamson, D. H., M. W. Bates & H. A. Krebs. Activity and intracellular distribution of enzymes of ketone body metabolism in rat liver. *Biochem. J.*, **108**: 353-361, 1968.
56. Villet, C. A. & D. D. Hagerman. Effect of oxygen deprivation on the metabolism of fetal and adult tissues. *Am. J. Physiol.*, **194**: 457-468, 1958.
57. Koren, Z. & E. Shafir. Placental transfer of free fatty acids in the pregnant rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **116**: 411-414, 1964.
58. Fain, J. N. & R. O. Scow. Fatty acid synthesis in vivo in maternal and fetal tissues in the rat. *Am. J. Physiol.*, **210**: 19-25, 1966.
59. Taylor, C. B., E. Bailey & W. Bartley. Changes in hepatic lipogenesis during development of the rat. *Biochem. J.*, **105**: 717-722, 1967.
60. Ballard, F. J. & R. W. Hanson. Changes in lipid synthesis in rat liver during development. *J. Biol. Chem.*, **102**: 952-958, 1967.
61. Lockwood, E. A., E. Bailey & C. B. Taylor. Factors involved in changes in hepatic lipogenesis during development of the rat. *Biochem. J.*, **118**: 155-162, 1970.
62. Schimke, R. T. Adaptative characteristics of urea cycle enzymes in the rat. *J. Biol. Chem.*, **237**: 459-468, 1962.
63. Freedland, R. A. & C. H. Sodikoff. Effects of diets and hormones on two urea cycle enzymes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **109**: 394-396, 1962.
64. Charbonneau, R., A. Roberge & L. Berhiget. Variation with age of the enzymes of the urea cycle and aspartate transcarbamylase. *Canad. J. Biochem.*, **45**: 1427, 1967.
65. Rähä, N. C. & J. Suihkonen. Development of enzymes of urea in rat and human liver. *J. Pediat.*, **69**: 934-935, 1966.
66. Rähä, N. C. Factors influencing the development of urea-synthesizing enzymes in the rat liver. *Biochem. J.*, **69**: 934-935, 1968.
67. Kretchmer, N., R. Hurwitz & N. C. Rähä. Some aspects of urea and pyrimidine metabolism during development. *Biol. Neonat.*, **9**: 187-196, 1965-1966.
68. Rähä, N. C. & N. Kretchmer. Urea biosynthesis during development of the mammals. *J. Pediat.*, **67**: 950-951, 1965.
69. Suihkonen, J. & N. C. Rähä. Development of urea-synthesizing enzymes in human liver. *Scand. J. Lab. Clin. Invest.*, **19** (Suppl. 95): 45, 1967.
70. Vernon, R. G. & D. G. Walker. Adaptative behavior of some enzymes involved in glucose utilization and formation in rat liver during weaning period. *Biochem. J.* **106**: 331-338, 1968.
71. Rähä, N. C. & M. P. Kekomäki. Studies on the development of ornithine-keto acid aminotransferase activity in rat liver. *Biochem. J.*, **108**: 521-525, 1968.