



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“EFECTO DE LA RESTRICCIÓN PROTEICO-CALÓRICA SOBRE LA
PLASTICIDAD DE LA PAPILA CALICIFORME DE RATAS”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA:

P.Q.F.B. LAURA GABRIELA FLORES AVIÑA

ASESOR:

D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO

MORELIA, MICHOACÁN

AGOSTO DE 2013

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Neurobiología
de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad
Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Tesis parcialmente apoyada por CIC-UMSNH-26.2 (2013),
BECANET-Superior-20100001184

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS	II
CONTENIDO.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	X
RESUMEN	XII
ABSTRACT	XIV
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1. Sistema gustativo	1
I.1.1. Generalidades del sistema gustativo	1
I.1.2. Anatomía del sistema gustativo	2
I.1.3. Papilas gustativas	2
I.1.4. Corpúsculos gustativos	3
I.1.5. Células gustativas	3
I.1.5.1. Función de las células gustativas de tipo I en los corpúsculos.....	3
I.1.5.2. Función de las células gustativas de tipo II y tipo III en los corpúsculos ..	3
I.1.5.3. Función de las células gustativas de tipo IV	4
I.1.6. Inervación en el sistema gustativo	4
I.1.7. Percepción gustativa	5
I.1.8. Células gustativas y el proceso de transducción.....	8
I.1.9. Transducción de estímulos químicos	9
I.1.9.1. Mecanismos moleculares para la transducción de las modalidades de sabores ácido y salado.....	10
I.1.9.2. Mecanismos moleculares para la transducción de las modalidades de sabores dulce y amargo	12
I.1.9.3. Mecanismos moleculares para la transducción de la modalidad de sabor umami.....	15
I.1.10. Comunicación y recambio celular en los corpúsculos gustativos.....	16

I.1.11. Desarrollo del sistema gustativo	17
I.2. Serotonina	17
I.2.1. Sistema serotoninérgico cerebral.....	18
I.2.2. Funciones.....	18
I.2.2.1. Regulación del apetito	18
I.2.3. Receptores serotoninérgicos.....	19
I.2.4. Metabolismo.....	20
I.2.5. Serotonina y sistema gustativo	21
I.3. Restricción proteico-calórica.....	22
I.3.1. Estadísticas.....	23
I.3.2. Desnutrición asociada a enfermedades metabólicas	23
I.4. Programación epigenética	25
II. JUSTIFICACIÓN	27
III. HIPÓTESIS	29
IV. OBJETIVOS.....	30
IV.1. Objetivo general	30
IV.2. Objetivos específicos	30
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
V.1. Esquema de restricción proteico-calórica.....	31
V.2. Obtención de las papilas caliciformes	33
V.3. Cortes histológicos	34
V.4. Análisis morfológico de la papila caliciforme	34
V.5. Conteo de corpúsculos gustativos.....	35
V.6. Análisis estadístico.....	35
VI. RESULTADOS.....	36
VI.1. Consumo de alimento y peso corporal de las madres de la primera a la tercera generación.....	36
VI.2. Consumo de alimento de las crías de primera generación	39
VI.3. Peso y longitud céfalo-sacra de las crías en un esquema de RPC desde el nacimiento hasta la etapa P60- Primera generación	40

VI.4. Análisis morfológico de la papila caliciforme durante el desarrollo, primera generación.....	42
VI.5. Consumo de alimento de las crías correspondientes a la segunda generación	46
VI.6. Peso y longitud céfalo-sacra de las crías en un esquema de RPC, etapa P60-Segunda generación.....	46
VI.7. Análisis morfológico durante la etapa P60 de la papila caliciforme, segunda generación.....	48
VI.8. Peso y longitud céfalo-sacra de las crías en un esquema de RPC,etapa P60-Tercera generación.....	50
VI.9 Análisis morfológico durante la etapa P60de la papila caliciforme, tercera generación.....	52
VI.10. Número de corpúsculos en la papila caliciforme, etapa P60-Primera generación.....	55
VI.11. Número de corpúsculos en la papila caliciforme, etapa P60-Segunda generación.....	56
VI.12. Número de corpúsculos en la papila caliciforme, etapa P60-Tercera generación.....	57
VI.13.Comparación transgeneracional.....	57
VI.13.1 Consumo de alimento de las crías etapa P60	57
VI.13.2. Peso corporal de las crías etapa P60	58
VI.13.3. Longitud céfalo-sacra de las crías etapa P60	59
VI.13.4.Análisis morfológico durante la etapa P60 de la papila caliciforme, comparación transgeneracional	60
VI.13.4.1. Largo de la papila caliciforme en crías etapa P60.....	60
VI.13.4.2. Ancho de la papila caliciforme en crías etapa P60.....	60
VI.13.4.3. Largo parte media de la papila caliciforme en crías etapa P60	61
VI.13.5. Número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme en una comparación transgeneracional	63
VI.14. Fotomicrografías de la papila caliciforme en ratas bajo el esquema de restricción proteico-calórica	64
VII. DISCUSIÓN	67

VIII. CONCLUSIÓN	72
IX. REFERENCIAS	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución anatómica de las papilas gustativas.....	2
Figura 2. Organización anatómica del sistema gustativo periférico.	5
Figura 3. Representación esquemática del proceso de transducción en las células gustativas.....	9
Figura 4. Mecanismos transduccionales para las modalidades de sabores salado y ácido.....	11
Figura 5. Mecanismos transduccionales para la modalidad de sabor amargo.....	13
Figura 6. Mecanismos transduccionales para la modalidad de sabor dulce.	14
Figura 7. Mecanismos transduccionales para la modalidad del sabor umami.	15
Figura 8. Metabolismo de la 5-HT.	21
Figura 9. Implicación de los nutrientes de la dieta en el flujo de información genética del ADN a la expresión de proteínas.	27
Figura 10. Modelo del esquema de restricción proteico-calórica, empleado en el presente estudio.....	33
Figura 11. Morfología de la papila caliciforme.....	34
Figura 12. Consumo de alimento de las ratas madres, primera generación.	36
Figura 13. Peso corporal de las ratas madres, primera generación.....	37
Figura 14. Consumo de alimento de las ratas madres, segunda generación.....	37
Figura 15. Peso corporal de las ratas madres, segunda generación.	38
Figura 16. Consumo de alimento de las ratas madres, tercera generación.	38
Figura 17. Peso corporal de las ratas madres, tercera generación.....	39
Figura 18. Consumo de alimento de las crías, primera generación.	40
Figura 19. Peso corporal de las crías, primera generación.....	41

Figura 20. Longitud céfalo-sacra de las crías, primera generación.....	42
Figura 21. Largo de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC.....	43
Figura 22. Ancho de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC.	43
Figura 23. Longitud de la parte media de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC.	44
Figura 24. Ancho del tejido epitelial inferior izquierdo de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC.	44
Figura 25. Ancho del tejido epitelial inferior derecho de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC	45
Figura 26. Ancho del tejido epitelial superior de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC.	45
Figura 27. Consumo de alimento de las crías, etapa P60 en la segunda generación. .	46
Figura 28. Peso corporal de las crías, etapa P60 de la segunda generación.	47
Figura 29. Longitud céfalo-sacra de las crías, etapa P60 de la segunda generación ...	47
Figura 30. Largo de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	48
Figura 31. Ancho de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	48
Figura 32. Largo parte media de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	49
Figura 33. Ancho del tejido epitelial inferior izquierdo de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60..	49
Figura 34. Ancho del tejido epitelial inferior derecho de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.	50
Figura 35. Ancho del tejido epitelial superior de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.	50
Figura 36. Consumo de alimento de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	51

Figura 37. Peso corporal de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.	51
Figura 38. Longitud céfalo-sacra de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	52
Figura 39. Largo de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	53
Figura 40. Ancho de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	53
Figura 41. Largo de la parte media de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	53
Figura 42. Ancho del tejido epitelial superior de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.....	54
Figura 43. Ancho del tejido epitelial inferior izquierdo de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.. ..	54
Figura 44. Ancho del tejido epitelial inferior derecho de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60.. ..	55
Figura 45. Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, primera generación.	56
Figura 46. Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, segunda generación.....	56
Figura 47. Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, tercera generación.	57
Figura 48. Comparación transgeneracional del consumo de alimento en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60.....	58
Figura 49. Comparación transgeneracional del peso corporal en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60.	58
Figura 50. Comparación transgeneracional de la longitud céfalo-sacra en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60.....	59
Figura 51. Rata CTRL vs rata RPC.....	59
Figura 52. Comparación transgeneracional del largo de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60.	60

Figura 53. Comparación transgeneracional del ancho de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60..	61
Figura 54. Comparación transgeneracional del largo de la parte media de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60..	61
Figura 55. Comparación transgeneracional del ancho del tejido epitelial superior de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60.....	62
Figura 56. Comparación transgeneracional del ancho del tejido epitelial inferior izquierdo de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60..	62
Figura 57. Comparación transgeneracional del ancho del tejido epitelial inferior derecho de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60.	63
Figura 58. Comparación transgeneracional del ancho del número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60.....	64
Figura 59. Papilas caliciformes de ratas correspondientes a la tercera generación.....	64
Figura 60. Papilas caliciformes de ratas correspondientes a la tercera generación.....	65
Figura 61. Papilas caliciformes de ratas correspondientes a la tercera generación.....	65
Figura 62. Papilas caliciformes de ratas bajo el esquema de restricción proteico-calórica.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Receptores serotoninérgicos y sus funciones.	20
Tabla 3. Análisis bromatológico del alimento comercial Purina Chow.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	-	Grados Celsius
5-HT	-	5-Hidroxitriptamina o serotonina
5-HT _(n)	-	Receptores serotoninérgicos
8-OH-DPAT	-	8-hidroxi-2-(di- <i>n</i> -propil) aminotetralina
As	-	Arsénico
ATP	-	Adenosin trifosfato
BDNF	-	Factor neurotrófico derivado del cerebro
BHE	-	Barrera Hematoencefálica
BMP	-	Proteínas morfogénicas óseas
C ₆ H ₁₂ O ₆	-	Glucosa
C ₆ H ₈ O ₇	-	Ácido cítrico
Ca ⁺⁺	-	Ion calcio
CaCl ₂	-	Cloruro de calcio
cAMP	-	Adenosin monofosfato cíclico
CRGs	-	Células Receptoras Gustativas
CTRL	-	Control
ENaC	-	Canales Epiteliales Amilorida sensibles a Na ⁺
Fe	-	Hierro
FL	-	Fracción libre
g	-	gramos
G1	-	Semana 1 de gestación en el esquema de RPC
G2	-	Semana 2 de gestación en el esquema de RPC
G3	-	Semana 3 de gestación en el esquema de RPC
GH	-	Hormona del crecimiento
GTP	-	Guanosin trifosfato
h	-	horas
HCl	-	Ácido clorhídrico
IGF	-	Factor de crecimiento insulínico

IP ₃	-	Inositol trifosfato
K ⁺	-	Ion potasio
KCl	-	Cloruro de potasio
L1	-	Semana 1 de lactancia en el esquema de RPC
L2	-	Semana 2 de lactancia en el esquema de RPC
L3	-	Semana 3 de lactancia en el esquema de RPC
LCS	-	Longitud céfalo-sacra
Li ⁺	-	Litio
L-Trp	-	L-Triptófano
MgCl ₂	-	Cloruro de magnesio
mGluR1	-	Receptor metabotrópico de glutamato tipo 1
mGluR4	-	Receptor metabotrópico de glutamato tipo 4
Na ⁺	-	Ion sodio
NaCl	-	Cloruro de sodio
Ni	-	Níquel
P14	-	Día postnatal 14
P21	-	Día postnatal 21
P3	-	Día postnatal 3
P30	-	Día postnatal 30
P60	-	Día postnatal 60
P-C R	-	Protein-caloric restriction, restricción proteico-calórica
PCPA	-	DL-Para-Clorofenilalanina
Pi	-	Fosfato inorgánico
PIP ₂	-	Fosfatidil inositol 4,5-difosfato
PLC	-	Fosfolipasa C
PLCb2	-	Fosfolipasa C β-2
REC DEST	-	Recuperado al destete
REC NAC	-	Recuperado al nacimiento
RPC DEST	-	Restricción proteico-calórica al destete
RPC NAC	-	Restricción proteico-calórica al nacimiento
RPC	-	Restricción proteico-calórica
S1	-	Semana 1 de adaptación al esquema de RPC
S2	-	Semana 2 de adaptación al esquema de RPC
Se	-	Selenio
Shh	-	Proteínas de tipo Sonic hedgehog
SNC	-	Sistema Nervioso Central

Sox-2	-	Región determinante del sexo
T1R1	-	Receptor del gusto tipo 1
T1R3	-	Receptor del gusto tipo 3
Tph	-	Triptófano hidroxilasa
TrpM5	-	Canal de potencial de receptor transitorio Melastatina 5
Zn	-	Zinc

RESUMEN

El sentido del gusto se encarga de percibir moléculas sápidas solubles en la saliva que despiertan la percepción gustativa. El primer elemento en el procesamiento de la señal gustativa es un tipo de células especializadas, denominadas células gustativas las cuales, se agrupan para formar los corpúsculos gustativos, los que a su vez forman las papilas gustativas. De acuerdo a su morfología estas últimas se clasifican en papilas caliciformes, foliadas y fungiformes; entre ellas las papilas caliciformes son las de mayor tamaño, se localizan en la parte posterior de la lengua y contienen aproximadamente de un 40%-50% del total de los corpúsculos gustativos. Recientemente se ha puesto de manifiesto la presencia de diversas moléculas relacionadas con el desarrollo y funcionalidad del sistema gustativo como la adrenalina, acetilcolina y la serotonina (5-HT o 5-Hidroxitriptamina). Por otro lado, se ha reportado que la restricción proteico-calórica durante el desarrollo embrionario de la rata conduce a un aumento permanente de la biosíntesis de la 5-HT. Resultados previos de nuestro laboratorio muestran cambios en la plasticidad de los corpúsculos gustativos en etapas postnatales tempranas en ratas sometidas a un 50% de RPC maternal. Sin embargo, no se conoce si estas alteraciones están presentes también en la etapa adulta, tampoco si estas se conservan en generaciones posteriores a esta que recibió el estímulo. Además, la desnutrición fetal se ha asociado fuertemente con el desarrollo de enfermedades relacionadas con el Síndrome Metabólico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la plasticidad morfológica de la papila caliciforme determinando el número de corpúsculos gustativos y evaluando la morfología de la papila caliciforme en ratas sometidas a diferentes paradigmas de desnutrición: RPC (restricción proteico-calórica), REC NAC (recuperado al nacimiento), RPC NAC (RPC al nacimiento), RPC DEST (RPC al destete) y REC DEST (Recuperado al destete). Los análisis fueron

realizados en muestras de los diferentes grupos obtenidas a diferentes etapas del desarrollo, correspondiendo a ratas de varios días postnatales: P3, P4, P21, P30 y adultos jóvenes, P60. El mismo análisis fue realizado en animales de generaciones posteriores (Segunda y tercera generación). Se midió la amplitud y longitud de varias secciones de la papila. Los resultados muestran cambios en el peso y talla de los animales con RPC; sin embargo, en los grupos REC DEST se observó un aumento significativo comparado con el grupo control. Con respecto a la morfología de la papila caliciforme, se presentó hipertrofia de la papila caliciforme en los grupos REC NAC y REC DEST. Además, los animales de la segunda y tercera generación presentan alteraciones (similares o las mismas o que van en el mismo sentido) a la ascendencia, lo que muestra una transgeneracionalidad de los efectos de la desnutrición. Las alteraciones observadas en este estudio podrían conducir a una disminución de la percepción gustativa. Dado el rol clave desempeñado por la 5-HT como factor trófico en el desarrollo de diversos tejidos, asociado al aumento de su síntesis en animales con desnutrición precoz, por lo tanto se propone que las modificaciones observadas en este estudio están ligadas a un aumento de su concentración y de sus acciones tróficas. Así mismo, los resultados obtenidos sugieren que el estrés nutricional presente durante la etapa gestacional y durante el desarrollo de la rata induce cambios en la plasticidad morfológica de la papila caliciforme y el efecto se mantiene en generaciones continuas.

Palabras clave: Sistema gustativo, serotonina, restricción proteico-calórica, programación epigenética.

ABSTRACT

Taste system ensures to perceive some salivasoluble substances which start taste sensations. During gustatory signal processes, a specific group of cells are grouped and they form taste buds; at the same time, this elements forms gustatory papillae. According to morphological characteristics, papillae have been classified in circumvallated, foliate and fungiform papillae. Circumvallated papillae are the largest and have the biggest amount of taste buds. Recently it has been proposed that serotonin (5-Hidroxitriptamine, 5-HT) has a critical role during taste system development. On the other hand, during embrionary development in rats, a protein-caloric restriction (P-C R) activates 5-HT synthesis. Previous results at laboratory showed plasticity changes in rats under a P-C R on the first generation. However, it is unknown if that changes are transgenerationally permanent. Added to this, fetal programming is a determinant factor related with Metabolic Syndrome illnesses. Through this work it was evaluated plasticity aspects of the circumvallated papilla in rats under P-C R, like taste buds number and morphology in some specific after born stages. It was used nulliparous female adult rats and it was performed a P-C R at 50% scheme. It was studied the following stages: at birth, two weeks after birth, at the weaning (three weeks after birth), one month old and the adult stage (two months old). Histology and staining were made to count taste buds, according to Bradley *et al*, reviewing sequentially each papilla. In addition, morphology was analyzed making some measurements. In regard to the transgenerational analysis, the aforementioned methodology was repeated in the second and the third generations of rats. Results showed changes related with weight and height in "P-C R groups"; nevertheless the "Weaning recovered groups" showed a significant increase, comparing with the "Control group". Taste buds number was significantly lower than control groups (it showed a 50% reduction in taste buds number in P-C R groups). Our results suggest that 5-HT

could be involved in regulatory systems during peripheral taste system development; also, previously inferential facts are permanent through 3 generations.

Key words: Gustatory system, serotonin, Protein-caloric restriction, epigenetic programming.

I. INTRODUCCIÓN

En los mamíferos, se encuentran cinco sentidos sensoriales: vista, tacto, oído, olfato y gusto, los cuales proveen la detección de cambios químicos en el entorno, lo anterior se da a través de los órganos sensoriales correspondientes a cada sentido. Los sentidos sensoriales físicos (vista y oído) difieren de los sentidos químicos (gusto y olfato) y del tacto en cuanto a la forma de transducción de señales hacia el sistema nervioso. La ubicación anatómica de los órganos de los sentidos es totalmente independiente pero desempeñan papeles complementarios en muchos aspectos (Gray H., 1998).

I.1. Sistema gustativo

I.1.1. Generalidades del sistema gustativo

La detección de sustancias químicas del medio depende en los individuos, de tres modalidades perceptivas: Quimio selección a la distancia (olfato y oído), sistema quimio sensitivo trigeminal (vista) y quimio selección por contacto directo (gusto y tacto). Los estímulos gustativos son causados por moléculas solubles en la saliva, las cuales se les conoce como moléculas sápidas(Razumiejczyk et al, 2006).

El sistema gustativo juega un papel crítico en la vida y en el estado nutricional del individuo; es el responsable de la detección de varios componentes tóxicos o nocivos, asociados con los diversos sabores. El sentido del gusto también evoca respuestas que van desde ciertos tipos de comportamiento innato, tales como la aversión y atracción hacia ciertos tipos de alimentos o el placer proporcionado por el consumo de los mismos (Sugita M., 2006).

I.1.2. Anatomía del sistema gustativo

La cavidad oral está compuesta por diversos órganos, tales como glándulas parótidas, glándulas salivales y la lengua, además de otras regiones anatómicas como la epiglotis, el paladar, las amígdalas, etcétera(Gray H., 1998). El sistema gustativo es regulado por diversos factores tróficos, pero se compone de un tipo celular especializado, denominado células gustativas las cuales se encuentran localizadas en grupos de entre 50 a 100 células, formando estructuras denominadas papilas gustativas (Chaudhari et al, 2010).

I.1.3. Papilas gustativas

En la lengua de los mamíferos existen órganos especializados ubicados en las papilas gustativas; estas estructuras se encuentran estereotípicamente localizadas en la superficie de la lengua: Las papilas fungiformes se encuentran localizadas en la parte anterior de la lengua, las papilas foliadas se encuentran en la parte lateral superior de la lengua y las papilas caliciformes se localizan en la zona posterior de la lengua, entre la cavidad oral y la zona concerniente a la faringe (Mistretta et al, 2006).

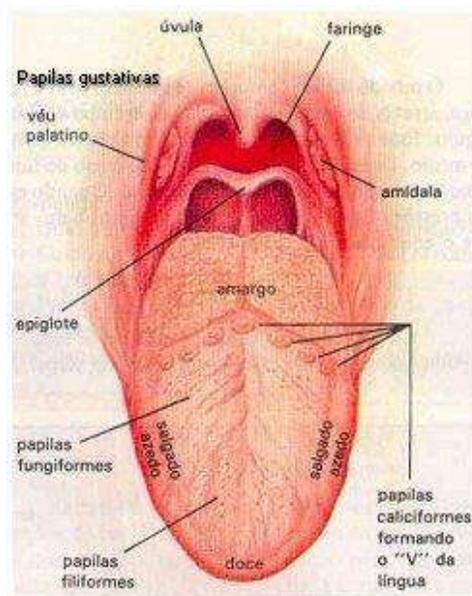


Figura 1. Distribución anatómica de las papilas gustativas.

Las papilas fungiformes, localizadas en los dos tercios anteriores de la lengua, en humanos presentan de 3 a 5 corpúsculos gustativos, mientras que en roedores solo se ha localizado uno. En humanos, existen cerca de 12 papilas caliciformes, mientras que en roedores solo se presenta una. Además de las papilas localizadas en la lengua, los corpúsculos gustativos se encuentran distribuidos en el epitelio del paladar blando, la laringe y la parte superior del esófago (Smith J. et al, 2007).

I.1.4. Corpúsculos gustativos

Los corpúsculos gustativos son la unidad funcional del sistema gustativo periférico; estos están formados por células especializadas denominadas células gustativas. Cada corpúsculo está compuesto por un promedio de 50-80 células elongadas en los corpúsculos, las cuales morfológicamente se clasifican en cuatro tipos: tipo I, tipo II, tipo III y tipo IV, estas últimas también denominadas células basales. (Wakisaka, 2005).

I.1.5 Células gustativas

I.1.5.1. Función de las células gustativas de tipo I en los corpúsculos

Conocidas también como células oscuras por su densidad observada en el microscopio óptico, las células gustativas de tipo I representan el 30 % del total de las células presentes en los corpúsculos, poseen numerosas microvellosidades en el extremo apical y muestran invaginaciones en su membrana. Entre sus principales funciones se encuentran el regular las concentraciones iónicas extracelulares y dan soporte al resto de las células.

I.1.5.2. Función de las células gustativas de tipo II y tipo III en los corpúsculos

Ambos tipos de células también son conocidas como células claras; las células de tipo II representan el primer elemento involucrado en la transducción de la señal gustativa,

estas detectan los estímulos gustativos, los cuales son transducidos mediante receptores acoplados a proteínas G; aunque el nervio aferente y las células de tipo II están en constante contacto con las células de tipo III, no existen descripciones que indiquen la presencia de sinapsis entre las células de tipo II y los nervios aferentes gustativos. Se ha reportado que las células de tipo III si establecen contacto sináptico con terminaciones nerviosas, lo que convierte a las células de tipo III en la terminal de salida de los órganos gustativos.

I.1.5.3. Función de las células gustativas de tipo IV

La actividad de las células gustativas de tipo IV (o también conocidas como células de tipo Merkel) no está del todo elucidada; una porción de las células basales son indiferenciadas, por otro lado, otra fracción de células basales presenta inmunoreactividad para la serotonina (5-Hidroxitriptamina, 5-HT), además, estas células exhiben características similares a las encontradas en las células cutáneas Merkel. Así mismo, las células de tipo IV establecen contacto sináptico con las células adyacentes y las fibras que inervan al corpúsculo, lo que ha llevado a considerarlas como interneuronas serotoninérgicas (Suzuki, 2007).

I.1.6. Inervación en el sistema gustativo

En el sistema gustativo central, las fibras nerviosas que vienen de los dos tercios anteriores de lengua viajan por la cuerda del tímpano, el cual es rama del VII par craneal, también llamado nervio facial, otra rama de éste es el nervio petroso superficial mayor, que inerva los corpúsculos gustativos ubicados en el paladar. La rama lingual del IX par craneal o nervio glossofaríngeo lleva la información proveniente del tercio posterior de la lengua. El X par craneal o nervio vago también se relaciona con el gusto, transportando las señales gustativas desde el tercio superior del esófago y la epiglotis (Guyton 2006).

Todas las fibras gustativas se agrupan en el bulbo raquídeo para terminar en la parte frontal del núcleo del tracto solitario, zona a la que se le conoce como “núcleo gustativo”. Los axones de las neuronas de éste núcleo ascienden exclusivamente en forma ipsilateral y hacen sinapsis en la división del núcleo ventro-postero-medial del tálamo, luego de este relevo talámico, las fibras se proyectan a la corteza gustativa primaria, ubicada en el extremo inferior de la circunvolución postcentral de la corteza parietal y en la ínsula anterior en el lóbulo frontal. Otros autores también incluyen a la zona rostral del opérculo frontal. Las células desde éstas estructuras se proyectan anteriormente en la parte caudal-lateral de la corteza orbitofrontal, conocida como corteza gustativa secundaria. También se han encontrado neuronas gustativas que alcanzan la corteza orbitofrontal desde la amígdala y el hipotálamo (Fuentes et al, 2010).

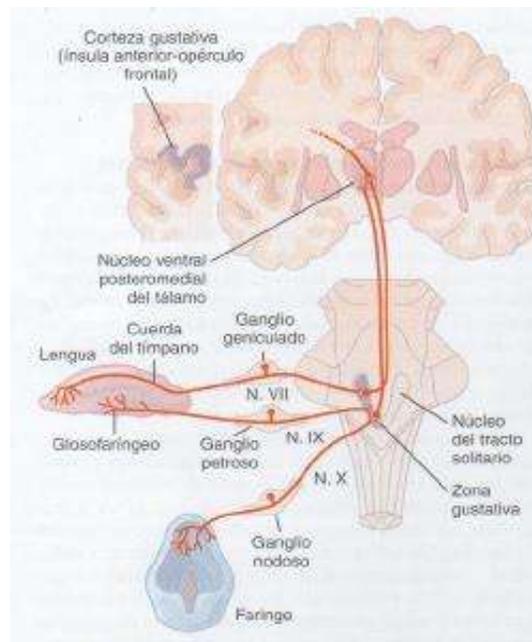


Figura 2. Organización anatómica del sistema gustativo periférico (Tomado de Guyton, 2006).

I.1.7. Percepción gustativa

Los mamíferos evalúan el valor nutricional, la toxicidad, el contenido de sodio y la acidez de los alimentos ingeridos mediante el sistema gustativo. Las moléculas sápidas contenidas en la comida, son las primeras en interactuar con receptores y canales,

los cuales se encuentran localizados en las células receptoras gustativas (CRGs) o células de tipo II, contenidas en los corpúsculos gustativos (Ishimaru Y., 2009).

El sistema gustativo actúa en conjunto con el sentido del olfato y donde también tienen una importante participación algunas características somatosensoriales como la textura y la temperatura al momento de ingerir un alimento. Existen 5 modalidades gustativas que en la actualidad están claramente descritas y permiten la percepción de los estímulos dulce, salado, amargo, ácido y umami sin embargo, la atracción innata hacia los alimentos ricos en lípidos sugiere la posibilidad de una modalidad orosensorial relacionada con la percepción de lípidos. Ratas y ratones en un experimento de elección de alimento *ad libitum* muestran una preferencia hacia el alimento enriquecido con lípidos, dejando por un lado el alimento balanceado.

Existen referencias que muestran que la inhibición farmacológica de la lipasa lingual, que es responsable de la asimilación primaria de ácidos grasos de cadena larga, disminuye significativamente la preferencia hacia los lípidos en ratones. Datos recientes sugieren que la interacción de los lípidos con canales iónicos de potasio y con la proteína integral de membrana CD36 es capaz de afectar la funcionalidad de las CRGs (Laugerette et al, 2007).

De forma paralela, se ha demostrado la co-expresión del receptor GPR43 y de la proteína gustuctina en células gustativas de tipo II en papilas caliciformes de rata; el receptor GPR43 se une con sus ligando específicos: butirato, propionato y acetato y es expresado en adipocitos de rata, lo que permite apoyar la idea de que existen células gustativas especializadas así como la presencia de maquinaria sub-celular para la detección de los lípidos en los alimentos (Ortiz R. et al, 2011).

Así mismo, se han propuesto otras proteínas y receptores relacionadas con la detección de lípidos entre los que destacan GPR120 y GPR40 pero los mecanismos transduccionales aún no han sido del todo elucidados (Chaudhari et al, 2010).

En la lengua se localizan zonas preferenciales de detección de sabores; el proceso de discriminación entre sustancias comestibles y aquellas otras perjudiciales, o potencialmente letales, se inicia a partir de las características sensoriales gustativas. Así, el valor hedónico de las modalidades gustativas determina la existencia de preferencias hacia alimentos ricos en proteínas y carbohidratos (sabores dulce y umami), y rechazos así como también responde ante la ingesta de alimentos tóxicos, en mal estado o fermentados evocando los sabores amargo, ácido y salado (Molero Chamizo A., 2007). La sensibilidad ante la presencia de sodio ayuda a regular el consumo del mismo para evitar una ingesta excesiva de sal. La atracción hacia el sabor dulce y umami y la aversión hacia los sabores amargo, ácido y salado es una respuesta innata e invariable a lo largo de la vida (Chen et al, 2011).

Un gran número de moléculas han sido propuestas para explicar los mecanismos que dirigen la transducción gustativa; la noradrenalina y la acetilcolina son secretadas por las fibras nerviosas y modulan la respuesta de las células gustativas. El glutamato modula las secreciones aferentes provenientes de las células sinápticas del sistema gustativo y la 5-HT presenta un efecto paracrino entre las células gustativas, es secretada en una célula y actúa modulando la respuesta en una célula vecina, de esta manera se regula el proceso local de señalización en los corpúsculos gustativos (Lindemann, 2001).

De forma complementaria, existen ciertas patologías que producen alteraciones en la percepción de los sabores y que están asociadas también con cambios fisiológicos en los mecanismos de transducción gustativa, tales como los trastornos alimenticios donde se puede citar anorexia y bulimia, tanto idiopática como postoperatoria y post traumal (Fark et al, 2012).

La pérdida de la sensibilidad gustativa, (ageusia) alteraciones en la percepción gustativa (disgeusia) y/o olfativa (anosmia), se asocian con disminución de peso, desnutrición, desórdenes inmunitarios así como a la degradación del estado de salud general de personas mayores. Por otro lado, las personas que sufren de hipertensión

arterial muestran un umbral elevado para las sustancias saladas pudiendo explicar, de esta manera, el sobreconsumo de sal en estos individuos. También, ciertas formas de obesidad, debido a un consumo anárquico de alimentos con alto contenido energético, al parecer se asocian a una disfunción de la percepción gustativa. Existe una asociación entre los desórdenes del gusto y la depresión, por una parte, los pacientes depresivos señalan frecuentemente sensaciones gustativas desagradables y, por otra, un estado depresivo es frecuente en los pacientes disgeúsicos (Wockel et al, 2008). De la misma manera, dentro de las manifestaciones clínicas de la diabetes, se ha reportado que existe pérdida de sensibilidad a los estímulos gustativos. Concretamente, los niveles umbrales de percepción gustativa por las soluciones dulces se encuentran elevados en los pacientes diabéticos. El hecho de que el aumento en los niveles de los umbrales de detección del gusto azucarado en los pacientes diabéticos esté correlacionado con la severidad de la neuropatía periférica, sugiere que la ageusia en la diabetes podría ser el resultado de la degeneración de las fibras gustativas y/o de la atrofia de las papilas gustativas (Prado et al, 2010).

I.1.8. Células gustativas y el proceso de transducción

Una vez que la señal producida por las moléculas sápidas interactúa con las CRGs, éstas, atendiendo a su función, comienzan la transducción de la señal; los receptores, están estrechamente ligados a los estímulos de los sabores dulce, amargo y umami. Las señales provenientes de las células receptoras convergen en las células presinápticas (células de tipo III), lo que resulta en la comunicación celular. Las células receptoras secretan ATP, lo cual, estimula a las células presinápticas. Consecuentemente, las células presinápticas presentan una mayor respuesta a los estímulos dulce, amargo y umami. Además, las células presinápticas responden ante el estímulo salado y ácido, aumentando aún más su umbral de detección. Posteriormente, fibras sensoriales aferentes reciben la señal de las células receptoras, lo cual convierte a las CRGs en los elementos primarios de la transducción gustativa (Tomchik et al, 2007).

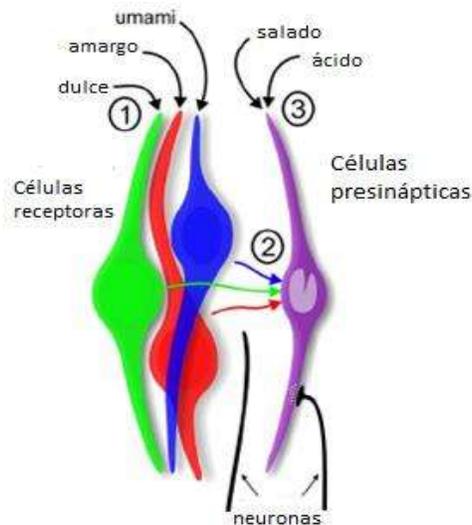


Figura 3. Representación esquemática del proceso de transducción en las células gustativas
(Modificado de Tomchik et al, 2007).

I.1.9. Transducción de estímulos químicos

Los receptores específicos para la transducción de señales se encuentran distribuidos en las porciones apical y basolateral de la membrana celular; los estímulos gustativos interactúan con la porción apical de la membrana y los receptores gustativos o canales apicales producen una despolarización de las células receptoras, la cual puede ser directa o indirecta. El cambio de potencial conduce a la activación de canales iónicos dentro de la célula o libera algún neurotransmisor hacia las fibras nerviosas aferentes gustativas. Los canales de Na^+ y K^+ dependientes de voltaje subyacen la generación de potenciales de acción; alrededor del 75% de las células receptoras presentes en las papilas fungiformes y caliciformes, son capaces de generar potenciales de acción, los cuales codifican a estímulos de intensidad o producen la despolarización necesaria para activar los canales de Ca^{+2} dependientes de voltaje en la membrana basolateral (Chen et al, 1996).

Los mecanismos moleculares para la quimio detección de los sabores están dados por diversos elementos de transducción gustativa; las modalidades dulce, amargo y umami son transducidas mediante receptores acoplados a proteínas G. Por otro lado, el procesamiento del sabor salado se lleva a cabo mediante canales epiteliales de Na^+ ,

similares a los encontrados en tejidos renales. El proceso de señalización del sabor ácido inicia mediante la acidificación intracelular a través de proteínas membranales. Una vez que la señal es generada en la célula gustativa, los pasos subsecuentes involucran la liberación de neurotransmisores, incluyendo al ATP y la 5-HT (Roper, 2007).

I.1.9.1. Mecanismos moleculares para la transducción de las modalidades de sabores ácido y salado

Algunas sales inorgánicas, inducen a la percepción del sabor salado. El NaCl es el compuesto de referencia para esta modalidad gustativa. Cuando los corpúsculos gustativos son estimulados con una solución de alguna sal, los iones Na^+ fluyen dentro de las células gustativas a través de canales iónicos, localizados en la porción apical de la membrana celular; el flujo de esos iones depende de las concentraciones extracelulares de los mismos y por ende la magnitud de la señal. Los iones cargados positivamente (Na^+), cuando se acumulan en el interior de la célula, desarrollan un potencial que despolariza a las células, lo cual permite la activación de canales de Ca^{+2} dependientes de voltaje, lo que conlleva a un incremento intracelular de Ca^{+2} , con una consecuente liberación de neurotransmisores hacia las fibras nerviosas aferentes (Yamamoto, 1998).

Otro mecanismo propuesto para explicar la transducción de la modalidad salada menciona que la permeabilidad de los iones Na^+ es bloqueada por amilorida, un diurético que bloquea la entrada del Na^+ que fluye a través de los canales epiteliales del mismo ion. Los canales iónicos específicos para la transducción del sabor salado son los canales epiteliales amilorida sensibles al sodio (ENaC) (Chaudhari et al, 2010). La participación de este canal en la transducción del sabor salado, fue evidenciada mediante la medición del epitelio lingual y subsecuentemente una técnica de fijación de membranas (patch-clamp). El ENaC también permite el flujo de iones de Li^+ al espacio intracelular, pero es impermeable a los iones K^+ . En algunas especies, aunque los ENaC juegan un papel de suma importancia para la percepción gustativa del sabor

salado, existen canales epiteliales amilorida insensibles presentes en un cierto número de corpúsculos gustativos. En ratas, se ha estudiado a profundidad el mecanismo de transducción para el sabor salado, y se ha encontrado la deficiencia de receptores gustativos del tipo ENaC en la papila caliciforme (Lindemann 2001).

Debido al tamaño de los iones Na^+ , estos son permeables no sólo en la porción apical de la membrana celular, sino también en las uniones estrechas entre los receptores de las células gustativas. El flujo iónico a través de este mecanismo conduce a un incremento en las concentraciones intracelulares de Na^+ , lo que afecta a los canales iónicos ubicados en la porción baso lateral de la membrana de las células gustativas.

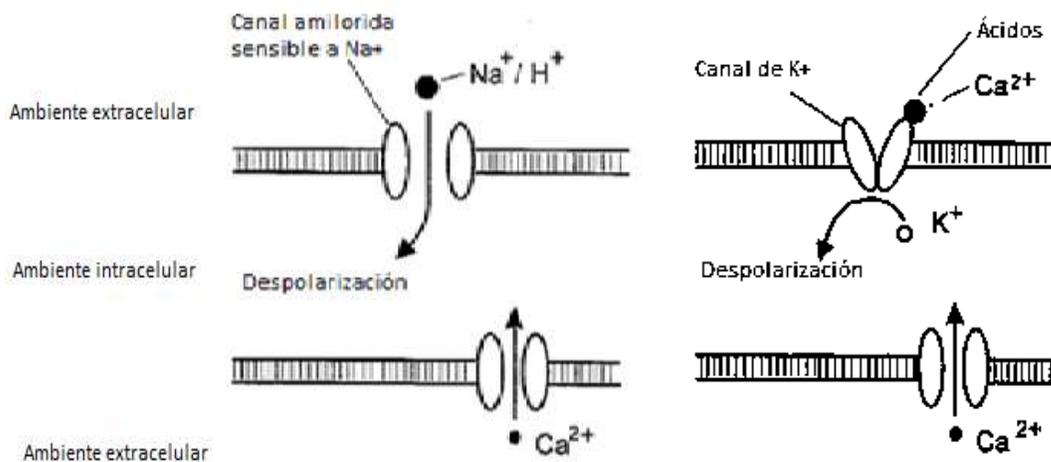


Figura 4. Mecanismos transduccionales para las modalidades de sabores salado y ácido (Modificado de Yamamoto et al, 1998).

Los iones Na^+ y/o H^+ penetran en las células gustativas a través de ENaC. Los iones cargados positivamente inducen una despolarización de la célula. Canales de Ca^{+2} dependientes de voltaje se encuentran presentes en la membrana baso lateral de las células. En la despolarización, los canales de Ca^{+2} permiten la afluencia de iones Ca^{+2} , lo que conduce a la liberación del transmisor (Sugita 2006).

La percepción de acidez muchas veces genera repulsión, aunque esté combinada con otros sabores, como el sabor dulce. Es comúnmente aceptado que el sabor ácido es

elicitado por moléculas como el HCl, el cual se utiliza como prototipo para el estímulo de la respuesta gustativa del sabor ácido. La percepción del anterior tiene un papel de protección ante una ingesta excesiva de ácidos en la dieta, lo que conlleva a una regulación del balance ácido-base, vital para los organismos (Roper, 2007).

Los receptores propuestos para la detección de este sabor se clasifican en dos grupos; el primero comprende canales iónicos que conducen una corriente interna de protones los cuales se encuentran en el espacio extracelular. El segundo grupo comprende canales cerrados de H^+ , incluido el canal apical de K^+ . Los ENaC también son permeables a protones (H^+), los cuales son disociados de ácidos, como el HCl y el $C_6H_8O_7$, por lo que participan en la transducción del sabor ácido (Yamamoto, 1998).

I.1.9.2. Mecanismos moleculares para la transducción de las modalidades de sabores dulce y amargo

La percepción de la modalidad del sabor dulce es inducida, en primera instancia, por varios sacáridos o edulcorantes sintéticos como la sacarina de sodio, los cuales son moléculas grandes. En cuanto a la percepción del sabor amargo, se ven involucradas moléculas como quinina o benzoato de denatonio, las cuales también son de gran tamaño; sin embargo, ciertas moléculas pequeñas como el KCl, $MgCl_2$ y $CaCl_2$, son parcialmente potenciadoras de la percepción del sabor amargo en humanos.

Las sustancias de naturaleza dulce y amarga se unen a receptores específicos acoplados a proteínas unidas a nucleótidos de guanina (GTP o proteínas G); una vez que se lleva a cabo la unión a proteínas G en el interior de la célula, estas proteínas activan una cascada de segundos mensajeros en el citoplasma celular. Algunas proteínas G (G_q , G_i , G_s) se expresan en el epitelio de los corpúsculos gustativos, y entre ellos, la molécula gustuctina la cual, es específica para las células gustativas (Yamamoto, 1998).

Para la transferencia de la información sensorial al SNC, las fibras gustativas aferentes son excitadas por neurotransmisores liberados de las células gustativas, un incremento en la concentración intracelular de Ca^{+2} es crucial para la liberación de los neurotransmisores, los cuales se ven ligados a una despolarización de las membranas celulares. En el caso del benzoato de denatonio, este causa un aumento en la concentración intracelular de Ca^{+2} en ausencia de Ca^{+2} extracelular, lo que sugiere que el Ca^{+2} es liberado del interior celular mediante mecanismos independientes de despolarización de membrana.

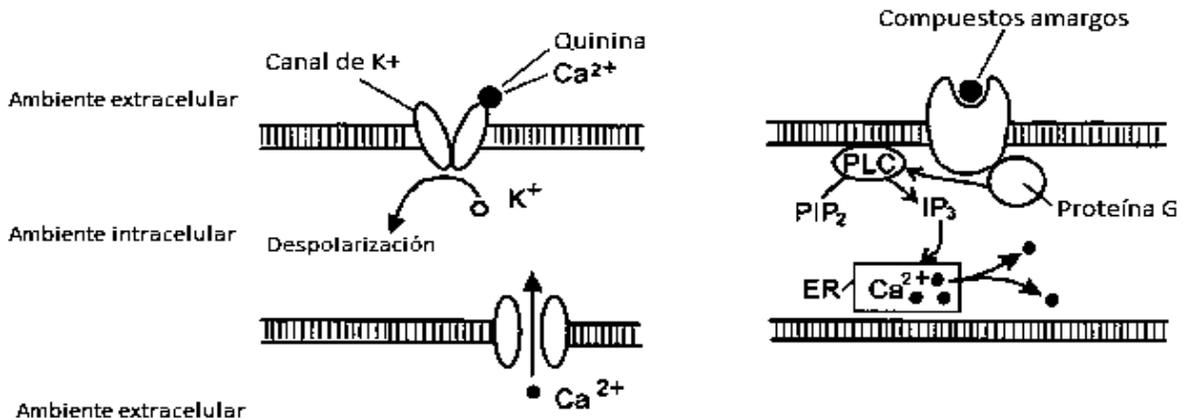


Figura 5. Mecanismos transduccionales para la modalidad de sabor amargo. Los componentes del sabor amargo, se ligan a proteínas acopladas a proteínas G para activar la fosfolipasa C (PLC), lo que conduce a la liberación del Ca^{++} intracelular. Fosfatidil inositol 4,5-difosfato (PIP_2) (Modificado de Yamamoto et al, 1998).

Se han realizado diversos experimentos para explicar los mecanismos de transducción de señales; donde se ha bloqueado el flujo del Ca^{+2} intracelular en las células gustativas, mediante inhibición de la PLC, con lo que las sustancias amargas parecen unirse a receptores de proteínas G, produciendo una cascada de segundos mensajeros mediante la acción del inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3), por razón de la activación de proteínas G y PLC. El incremento del IP_3 intracelular conduce a la liberación de Ca^{+2} del retículo endoplásmico liso (Yamamoto, 1998).

En el caso de la modalidad de sabor dulce, el mecanismo transduccional se da a través de receptores acoplados a proteínas G, como es el caso de la modalidad de sabor

amarga; sin embargo, se ve asociada la actividad de la adenilato ciclasa, la cual, depende de la presencia de nucleótidos de guanina, confirmando la participación de receptores de proteínas G. La sacarosa incrementa la resistencia membranal, este incremento es imitado por los cAMP que se encuentran embebidos en las células. El incremento de la resistencia membranal es inducido por la inactivación de canales de K^+ causada por cAMP dependiente de cinasas. Estos datos sugieren un mecanismo transduccional para la sacarosa que incluye receptores específicos (para proteínas G y cAMP) para comenzar la despolarización de las células.

Por otro lado, los edulcorantes sintéticos como la sacarina, incrementan el contenido celular de IP_3 , pero no aumentan los niveles de cAMP, lo que sugiere que los edulcorante utilizan diferentes proteínas G de las que utiliza la sacarosa para iniciar la cascada de señalización intracelular. Sin embargo, los edulcorante bloquean los canales de K^+ de igual forma que lo hace la sacarosa (Lindemann 2001).

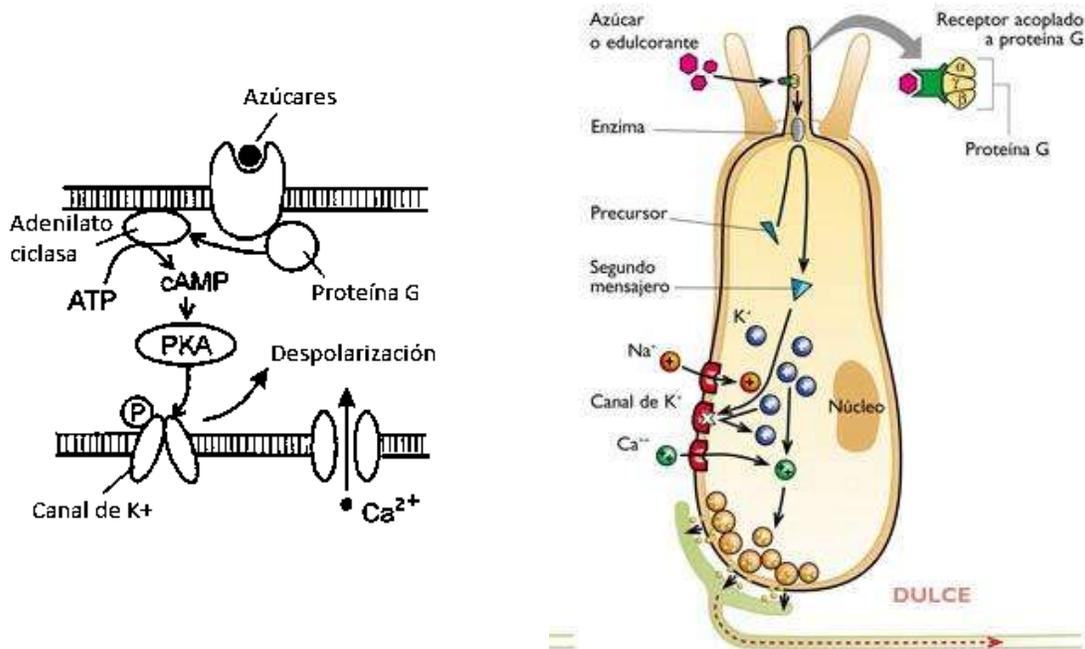


Figura 6. Mecanismos transduccionales para la modalidad de sabor dulce. Las moléculas de sabor dulce se unen a receptores de proteínas G que activan la adenilato ciclasa. El incremento de cAMP cierra los canales de K^+ en la membrana baso lateral, lo que conlleva a la despolarización celular. Fosfato inorgánico (Pi) (Modificado de Yamamoto et al, 1998).

I.1.9.3. Mecanismos moleculares para la transducción de la modalidad de sabor umami

El sabor umami se encuentra en una amplia variedad de alimentos, su nombre proviene del idioma japonés y significa "sabor agradable, sabroso". Todas las papilas gustativas de la lengua y otras regiones de la boca pueden detectar el sabor umami independientemente de su ubicación, lo cual se debe a la sal monosódica del glutamato, compuesto que evoca las respuestas gustativas a la modalidad de sabor umami. Se han postulado a los receptores del gusto responsables de la percepción de umami [una forma modificada de mGluR4, mGluR1 y un receptor del gusto tipo 1 (T1R1 + T1R3)] los cuales se han encontrado en las papilas gustativas de cualquier región de la lengua. Por otro lado, se han identificado candidatos importantes para receptores del sabor umami, incluyendo el heterodímero T1R1/T1R3, la forma trunca del receptor metabotrópico de glutamato tipo 1 (mGluR1) y el receptor metabotrópico de glutamato tipo 4 (mGluR4) (ambos careciendo de la mayor parte de su dominio N-terminal extracelular) y el mGluR4 cerebral (Sugita 2006).

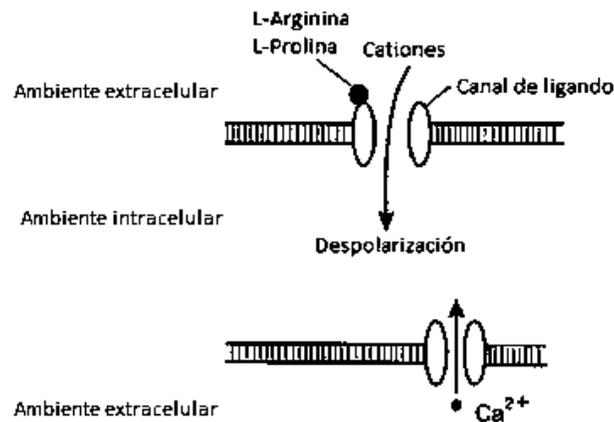


Figura 7. Mecanismos transduccionales para la modalidad del sabor umami. Algunos aminoácidos activan los canales de ligandos, lo que conduce al flujo de cationes. (Modificado de Yamamoto et al, 1998).

Los receptores mGluR1 y mGluR4 son específicos del glutamato mientras que T1R1 + T1R3 son los responsables de procesos sinérgicos de detección gustativa. Son receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) con moléculas de señalización que

incluyen proteínas G beta-gama, PLC β 2 y con consecuente liberación del calcio(Ca²⁺) intracelular mediado por PI₃. El Ca⁺² activa el canal de potencial de receptor transitorio, melastatina 5 (TrpM5) que conduce a la despolarización de la membrana y la consecuente liberación de ATP y secreción de neurotransmisores que incluyen a la 5-HT. En las células que responden al estímulo del sabor umami, el ATP lleva las señales del gusto a los nervios gustativos aferentes (Chaudhari N. et al, 2009).

I.1.10. Comunicación y recambio celular en los corpúsculos gustativos

En los mamíferos, los corpúsculos gustativos se encuentran localizados en el epitelio lingual y son mantenidos por una serie de renovaciones celulares continuas. El promedio de vida de un corpúsculo gustativo se estima que es de entre 10 y 14 días; lo anterior sugiere que los corpúsculos gustativos proliferan continuamente a partir de células basales (Células de Tipo IV) durante el transcurso de la vida, generando poblaciones heterogéneas de células en el corpúsculo gustativo (Miura et al, 2006).

En cuanto a la expresión de genes que regulan los mecanismos de mantenimiento y recambio celular, cabe mencionar las proteínas de tipo Sonic hedgehog (Shh) las cuales, se expresan exclusivamente en las células basales; las células de Tipo II son inmunoreactivas para el receptor T1R3 y la proteína NCAM ha sido encontrada en las células de Tipo III. Del mismo modo, se ha esclarecido el hecho de que el desarrollo de los corpúsculos gustativos es un proceso inherente al desarrollo del epitelio lingual, aunado a lo anterior, durante el desarrollo del sistema gustativo se ha identificado la expresión de genes que regulan la diferenciación celular, destacando factores de crecimiento, factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), neurotrofinas 3, proteínas morfogénicas óseas Bmp2 y Bmp4 (Ortiz et al, 2006). Así mismo, un gran número de neurotransmisores han sido propuestos para explicar la sinapsis que ocurre en las células gustativas, entre los que destacan glutamato, acetilcolina, ATP y la 5-HT (Huang et al, 2005).

I.1.11. Desarrollo del sistema gustativo

El desarrollo morfológico del sistema gustativo periférico comienza en etapas tempranas del desarrollo embrionario; en ratas, el inicio del desarrollo del sistema gustativo comienza entre el día embrionario 9.5 y 10 (E9.5-10), con la inducción de la placa epibranchial. Alrededor de E11 inicia la migración celular y el crecimiento axonal; a su vez, ocurre la delimitación de las estructuras que serán la boca, tráquea, lengua y paladar. En E13.5 aparece la lengua, simultáneamente los nervios provenientes del ganglio petroso y genicular envían proyecciones neuronales hacia la lengua. Las estructuras primarias de las papilas fungiformes y caliciformes aparecen en E14.5. En E16.5 aparece el total de papilas fungiformes, el desarrollo de la lengua continúa durante el resto de la gestación, posteriormente los poros gustativos aparecen en los primeros días de vida. (Krimm R. F. 2007).

La ontogenia del sistema gustativo dura toda la vida y éste sistema se considera maduro cuando se alcanza la totalidad de corpúsculos gustativos y se establecen las redes neuronales; tras analizar la expresión de los receptores 5-HT_{2B} y 5-HT₃, se puede aseverar que la expresión del RNA para los anteriores receptores se expresa desde etapas tempranas postnatales y ésta expresión se presenta hasta la etapa adulta (P60) (Acosta Chávez et al, 2010).

I.2. Serotonina

A nivel de sistema nervioso central (SNC), la sinapsis generada entre los receptores de las células gustativas y las fibras aferentes primarias es mediada por múltiples sustancias, entre las que destacan ATP, Acetilcolina, Glutamato, algunos péptidos y neurotransmisores como la serotonina (5-HT), la cual fue aislada y caracterizada por Rapport en 1948; la 5-HT es una molécula con funciones de neurotransmisión y neuromodulación, se encuentra en mayor proporción fuera del SNC, debido a que la mayor parte es sintetizada en las células enterocromafines del intestino delgado.

I.2.1. Sistema serotoninérgico cerebral

Durante la ontogenia del SNC, la 5-HT aparece antes de la maduración de las células serotoninérgicas del núcleo del Rafe, lo que sugiere que está implicada en procesos morfogenéticos de proliferación, migración, diferenciación y conectividad de las células nerviosas, incluyendo la autorregulación del sistema serotoninérgico (Gutknecht et al, 2012). La serotonina participa activamente en los procesos de desarrollo y diferenciación del cerebro, corazón e intestino (Mercado et al, 1992).

I.2.2. Funciones

La 5-HT juega un papel modulador en casi todas las funciones fisiológicas y está involucrada en varios procesos biológicos; regula el comportamiento fisiológico en cuanto a ingesta alimenticia y conducta sexual, modula la actividad de la ATPasa, modera la temperatura corporal, los ciclos de respiración, la función cardiovascular general, los movimientos peristálticos, coordina además la locomoción, los ciclos circadianos, procesos cognitivos y mecanismos de percepción sensorial (Berumen et al, 2012).

I.2.2.1. Regulación del apetito

La 5-HT es el principal mediador inhibitorio del núcleo hipotalámico ventro-medial que regula los procesos de ingesta de alimentos y saciedad. Este efecto es altamente específico para los hidratos de carbono, necesitando de cofactores centrales y periféricos para actuar sobre los otros nutrientes (proteínas y lípidos). La hiperserotoninergia produce anorexia y la hiposerotoninergia produce ganancia de peso. A pesar de ello, los agonistas con acción directa sobre el receptor 5-HT_{1A} (8-OH-DPAT) producen hiperorexia por estímulo de los autoreceptores disminuyendo la liberación de 5-HT. Esta puede ser la causa de la anorexia de la depresión (Boullosa et al, 2010).

I.2.3. Receptores serotoninérgicos

La 5-HT se localiza en la terminación nerviosa presináptica dentro de vesículas, la estimulación de una neurona serotoninérgica produce su liberación al espacio sináptico y requiere la participación de proteínas estereoespecíficas localizadas en la membrana postsináptica, llamadas receptores serotoninérgicos los cuales, se encuentran tanto a nivel periférico como a nivel cerebral (Béjar Ojeda et al, 1980). La clasificación de los receptores de la 5-HT incluye su categorización fisiológica y ontogénica; cada receptor de 5-HT puede ser activado por la misma 5-HT, pero las diferencias estructurales proteínicas y su consecuente afinidad química para múltiples moléculas provee la base para la identificación de ligandos selectivos, que incluye agonistas y antagonistas específicos para cada tipo de receptor. Cada grupo de receptores no es solamente estructuralmente distinto, si no también posee distintos mecanismos transduccionales (Hoyer et al, 1994).

Tabla 1. Receptores serotoninérgicos y sus funciones.

Receptor	Agonistas	Antagonistas	S. transduccional	Función
5-HT1A	8-OH-DPAT, indorrenato	WAY-100 635	(-) AC	Cambios conductuales, hipotensión central
5-HT1B	5-CT ≥ 5-HT > sumatriptán	SB-224 289	(-) AC	Vasoconstricción, inhibición trigeminal
r5-HT1B	CP-93 129	GR-127 935, Cianopindolol	(-) AC	Vasoconstricción, auto/heterorreceptor
5-HT1D	PNU-142 633, sumatriptán	GR-127 935, BRL-15 572	(-) AC	Heterorreceptor en la aurícula humana
5-ht1E	5-HT	Metiopina	(-) AC	****
5-ht1F	Sumatriptán, LY-344 864	Metisergida	(-) AC	Inhibición trigeminal
5-HT2A	á-Metil-5-HT, DOI	Ketanserina	(+) PLC	Vasoconstricción, agregación de plaquetas
5-HT2B	á-Metil-5-HT, DOI	Rauwolscina	(+) PLC	Constricción en el fondo del estómago de la rata; relajación
5-HT2C	Ro-60-0175	RO-60-0491, Mesulergina	(+) PLC	Regulación del LCF; erección
5-HT3	2-metil-5-HT, 5-MeOT inactiva	MDL-72 222, Tropisetón, ICS-205-930	Canales Na ⁺ /K ⁺	Despolarización
5-HT4	5-MeOT, renzaprida	GR-113 808, Tropisetón	(+) AC	Taquicardia humana y porcina
5-ht5A/5B	5-HT, ergotamina	LSD, 5-CT, SB-699 551-A	5-ht5A (+) AC	¿Simpatoinhibición cardíaca?
5-HT6	5-MeOT ≥ 5-HT > 5-CT	Ro 04-6790, SB-357 134, SB-399 885	(+) AC	Consolidación de la memoria
5-HT7	5-CT > 5-HT ≥ 5-MeOT, LY-215 840 Sumatriptán inactivo	Mesulergina, Clozapina, SB-258 719	(+) AC	Vasorelajación, taquicardia felina

Nota: r5-HT1B corresponde al homólogo del receptor 5-HT1B en mamíferos. 5-MeOT: 5-metoxitriptamina, AC: ciclasa de ciclasa de adenilato y PLC: fosfolipasa C.

(Tomado de Sánchez López et al, 2008)

I.2.4. Metabolismo

En la literatura es posible encontrar evidencia experimental que sustenta que el precursor metabólico de la síntesis de 5-HT es el L-Triptófano plasmático (L-Trp). El L-Trp es un aminoácido esencial en el organismo, por lo que se debe ingerir en las proteínas de la dieta y se encuentra en el plasma en 2 fracciones: el 90% unido a la albumina y el 10% restante en forma libre (FL). La relación que guardan estas dos fracciones es la que determina que la FL ingrese al cerebro a través de la barrera hematoencefálica (BHE) para estimular o disminuir la síntesis de 5-HT. Una vez que el L-Trp se encuentra en las neuronas serotoninérgicas, es hidroxilado en la posición 5 por la enzima limitante de la vía, la triptófano-5-hidroxilasa (Tph), el 5-hidroxitriptofano es descarboxilado por la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos para producir la 5-HT. El metabolito resultante del catabolismo de la 5-HT, el ácido 5-

Hidroxiindolacético, es convertido enzimáticamente mediante la acción de la flavoproteína monoamino oxidasa (Manjarrez Gutiérrez et al, 2000).

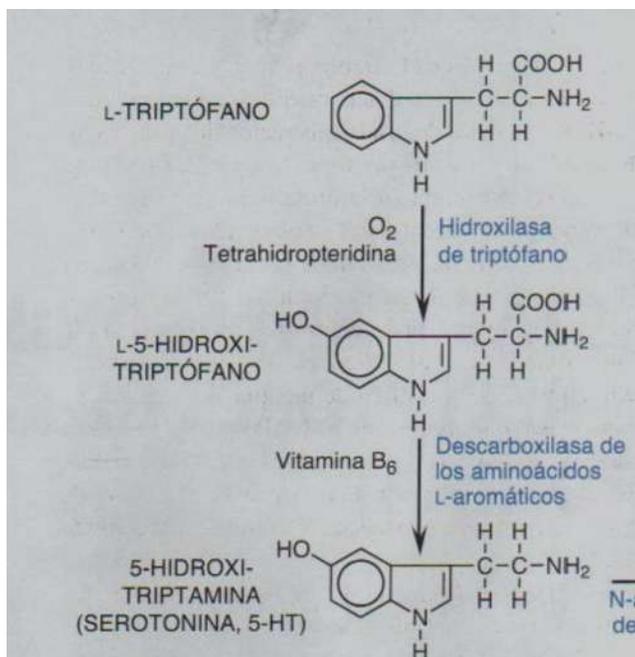


Figura 8. Metabolismo de la 5-HT (Modificado de Berumen et al, 2012).

I.2.5. Serotonina y sistema gustativo

Como anteriormente se ha citado, la serotonina es un neurotransmisor el cual tiene un importante papel como modulador de diversos procesos fisiológicos como la señalización gustativa periférica, diferenciación celular, migración axonal y morfogénesis craneofacial. Se ha puesto en evidencia la expresión de las dos isoformas de la Tph durante etapas del desarrollo de la papila caliciforme en ratones; al realizar ensayos de inmunohistoquímica para Tph se observó que ésta se localiza en células gustativas, así como en fibras nerviosas y en tejido epitelial contiguo a la papila caliciforme (Ortiz et al, 2006).

Existe evidencia de la expresión de receptores serotoninérgicos en la papila caliciforme; la expresión del receptor 5HT_{2B} es regulada por 5-HT, cuando se inhibe la síntesis de serotonina por acción de PCPA la expresión del receptor se incrementa

desde etapas embrionarias hasta etapas postnatales de 60 días (Acosta Chávez J. 2010). Resultados de ensayos de PCR-RT revelan la expresión de 5-HT_{1A} y 5-HT₁₃ en tejidos gustativos; el receptor 5-HT_{1A} se encontró en células gustativas, mientras que el 5-HT₁₃ en fibras sensoriales aferentes primarias del sistema gustativo. (Kaya N. et al, 2004). Por otro lado, se ha demostrado que la 5-HT estimula las fibras aferentes gustativas cuando ésta es administrada en la lengua, cerca de las papilas gustativas; en mamíferos, varios tipos de células gustativas que realizan sinapsis con las fibras nerviosas utilizan el L-Trp y son inmunopositivas para 5-HT (HuangYi-Jen et al, 2005).

Se han realizado ensayos en varias especies (ratones, ratas, conejos y salamandras) donde técnicas de inmunohistoquímica indican que las células gustativas normalmente contienen 5-HT, ya que utilizan el L-Trp para la síntesis de 5-HT. Basándose en la ubicación de células serotoninérgicas en las papilas gustativas, se ha propuesto a la 5-HT como neuromodulador y neurotransmisor en el sistema gustativo (Kim D.J. et al, 1995). Reportes recientes muestran que algunos inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT causan alteraciones en los umbrales de detección para las modalidades gustativas dulce y amargo en humanos, lo anterior sugiere que la 5-HT podría modular los umbrales sensoriales de las células receptoras en los corpúsculos gustativos o alterar ciertas propiedades esenciales de la membrana de las células gustativas (Roper 2007).

I.3. Restricción proteico-calórica

La restricción proteico-calórica (RPC) o restricción alimentaria ocurre cuando los requerimientos corporales de proteínas, sustratos de energía o ambos no pueden satisfacerse por medio de la dieta. Este tipo de restricción incluye un gran espectro de manifestaciones clínicas cuya presentación depende de la intensidad relativa de la deficiencia de proteínas y/o calorías, de la gravedad, de las etapas donde esta ocurre, la duración de la deficiencia y su relación con otras afecciones nutricionales o infecciones. Su gravedad varía desde la pérdida de peso o el retraso del crecimiento hasta síndromes clínicos específicos que con frecuencia se relacionan con deficiencias

de minerales y vitaminas. Los efectos adversos de la restricción proteico-calórica materna durante el embarazo en las madres y sus descendientes constituyen un gran problema de la salud pública, especialmente entre los países en desarrollo, con variado resultado en el crecimiento fetal, morbilidad, mortalidad y en el desarrollo inmediato y a largo plazo de los niños. Estudiando la restricción inducida en ratas durante el periodo prenatal se reportan disminuciones en el peso corporal y en la talla de las crías al nacer (Albarrán Bravo et al, 2008).

I.3.1. Estadísticas

La desnutrición es la forma más común de trastorno alimenticio entre los niños en países en desarrollo; en la actualidad se estima que existen alrededor de 101 millones que han tenido bajo peso al nacer, con una predicción estimada para el 2015 de la prevalencia de este trastorno (OMS 2012).

La desnutrición en los menores de 5 años tiene efectos adversos en el crecimiento, el desarrollo y la salud de los menores y tiene efectos en el mediano y largo plazo en el desarrollo social del individuo. La desnutrición en nuestro país ha mantenido una disminución sostenida a lo largo casi de un cuarto de siglo. La disminución en desnutrición aguda (bajo peso para talla) alcanzó ya valores compatibles con la eliminación como problema de salud pública, aunque persisten focos de desnutrición aguda en ciertas regiones y grupos de edad. A pesar de la tendencia sostenida de disminución en la prevalencia de la desnutrición crónica, actualmente casi 14 de cada 100 preescolares tienen baja talla para la edad, indicador de desnutrición crónica, lo que representa casi 1.5 millones de menores de cinco años (ENSANUT 2012).

I.3.2. Desnutrición asociada a enfermedades metabólicas

La desnutrición *per se* tiene importantes repercusiones negativas, si no conduce a la muerte en primera instancia; entre las principales consecuencias de la desnutrición se numeran la coexistencia de obesidad y sobrepeso, lo anterior como consecuencia

directa de la eliminación de la desnutrición, proporcionando al organismo una ingesta alta de nutrientes, destacando el aumento en las porciones de ingesta de carbohidratos y lípidos; retraso en el crecimiento (en parte, se atribuye a un aumento en los niveles de cortisol en sangre en pacientes con desnutrición), el gasto energético es menor en pacientes desnutridos, lo que conlleva a un desequilibrio en las rutas metabólicas de oxidación de lípidos, adquiriendo de este modo, un mayor almacenaje de los mismos lo cual, altera la composición normal del cuerpo en cuanto a la disposición de biomoléculas, (reflejado en un aumento de talla) así como desarrollo de hipotiroidismo por reducción de la concentración de hormonas T3 y T4, entre otras muchas repercusiones metabólicas en el organismo. Por otro lado, se ha encontrado alta prevalencia de hipertensión arterial en niños, adolescentes y adultos con antecedentes de desnutrición; investigaciones en humanos y animales de experimentación muestran que la desnutrición intrauterina afecta el desarrollo de los riñones, donde se ha observado una disminución en el número de nefronas y glomérulos (Miñana et al, 2007).

La prevalencia de presentar resistencia a la insulina se asocia con cambios en el metabolismo de la glucosa en niños con desnutrición, lo que se traduce en el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2; aparentemente la deficiencia en el funcionamiento pancreático se debe a una reducción del número de células β pancreáticas. Además, se han encontrado múltiples alteraciones en otros parámetros bioquímicos, tales como: Niveles altos de hemoglobina glucosilada, colesterol total y lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Hernández et al, 2011).

En cuanto a sistema nervioso, numerosas investigaciones muestran cambios significativos en relación al funcionamiento del sistema nervioso autónomo; mediante la realización de experimentos donde se indujo una restricción proteico-calórica al 50 % se encontró atrofia en los elementos del eje hipotalámico-hipofisario-suprarrenal, lo cual se asocia con modificaciones en cuanto a procesos como la digestión, conducta sexual y metabolismo energético (Martins et al, 2011).

Se ha propuesto que la RPC activa la ruta biosintética de la 5-HT, lo cual se correlaciona con un aumento en la fracción libre de L-Trp en el plasma, la cual ingresa al cerebro a través de la barrera hematoencefálica y una vez captado por las neuronas serotoninérgicas estimula la síntesis de 5-HT. Animales desnutridos durante la vida fetal y que al nacer son sometidos a un esquema normal de nutrición, tuvieron aumentos somatométricos suficientes que les permitió alcanzar el crecimiento físico similar a los controles. Se sabe que al eliminar la restricción de nutrientes durante la vida intrauterina o postnatal y recuperar las células en proceso de crecimiento estas pueden continuar con su programa genéticamente determinado, siempre y cuando el medio nutricional y endócrino sea el óptimo, lo que les permite a estos animales una recuperación física completa. Se observó que los animales recuperados nutricionalmente consumen una cantidad mayor de alimento comparada con los normales, desde la etapa del destete hasta la etapa adulta. La mayor ingesta de alimento y el desarrollo de obesidad se consideran causa y efecto, secundaria a características determinadas genéticamente y/o factores epigenéticos que interactúan durante el desarrollo y crecimiento del organismo; lo anterior, como secuela del trastorno serotoninérgico cerebral durante el desarrollo (Manjarrez-Gutiérrez et al, 1998).

I.4. Programación epigenética

El concepto actual de epigenética hace alusión al estudio de las alteraciones en la expresión de genes que surgen durante el desarrollo y la proliferación celular, por medio de procesos que no cambian la información (secuencia) contenida en el material genético, pero que modulan la expresión génica a través de modificaciones específicas relacionadas con la remodelación de la cromatina mediada por modificaciones químicas de las histonas y del ADN (Macías Sánchez et al, 2008).

Existe numerosa evidencia acerca de los efectos a largo plazo de la desnutrición intrauterina y los efectos metabólicos en los recién nacidos con bajo peso; lo anterior se relaciona con múltiples enfermedades metabólicas. Recientemente se ha propuesto

que un completo desarrollo de la percepción sensorial y cognitiva está ligado a etapas tempranas del desarrollo embrionario, que se caracteriza por una amplia reprogramación epigenética entre las etapas de cigoto y mórula; lo cual implica pérdidas en la metilación del ADN y modificaciones en la acetilación de histonas (Varvarigou, A, 2010). Esta reprogramación epigenética puede ser transmitida a través de la línea germinal pero también se ve influenciada por señales externas como la presencia o ausencia de nutrientes y hormonas. Los oligoelementos esenciales cuya deficiencia o exceso puede perturbar los procesos epigenéticos son, entre otros: Se, Zn, As, Ni y Fe. También intervienen nutrientes esenciales como la vitamina C y la niacina. Exposiciones prolongadas a dietas que influyen la remodelación de la cromatina y la metilación del ADN, pueden inducir cambios epigenéticos permanentes en el genoma (Desai M. et al, 2008). Los dominios con impronta genética (mecanismo celular que de algún modo “marca” a los genes susceptibles) son regulados por una amplia gama de mecanismos moleculares, los cuales son susceptibles a variaciones en la alimentación. Estudios realizados apoyan la teoría de que los genes con impronta son una de las dianas más importantes para la transmisión de efectos transgeneracionales en respuesta a cambios rápidos en la alimentación y estilo de vida que se asocian con epidemias de distribución mundial como lo son la obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2 (Bloomfield F. et al 2011). De la misma manera, se han registrado alteraciones en cuanto a la conducta alimenticia, tanto en pacientes con desnutrición, como en pacientes con una recuperación posterior a un estado de restricción. Se ha propuesto que las alteraciones epigenéticas pueden tener efectos a largo plazo incluso en las generaciones sucesivas (Kaput J., 2004). Se ha demostrado que la alimentación materna con una dieta rica en metionina puede causar cambios epigenéticos y estos pueden transmitirse a la siguiente generación, lo que indica que la herencia epigenética inducida por la dieta no es imposible (Hochberg et al, 2011). Sin embargo, algunos cambios en la metilación global pueden ser tan sutiles que las consecuencias fenotípicas pueden únicamente ser aparentes cuando se evalúa algún rasgo observable (Entringer et al, 2012).

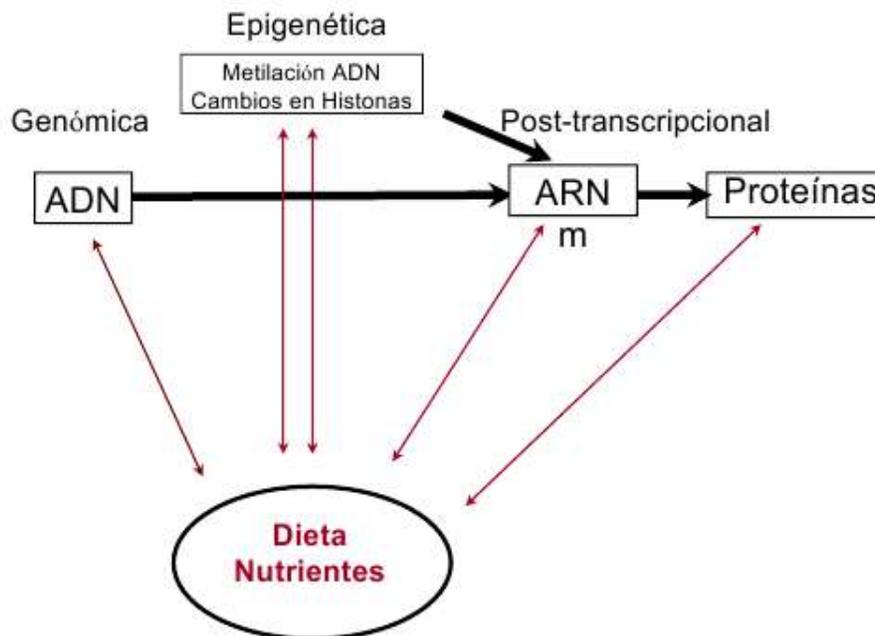


Figura 9. Implicación de los nutrientes de la dieta en el flujo de información genética del ADN a la expresión de proteínas (Tomado de Morales et al 2012).

II. JUSTIFICACIÓN

Se ha reportado que en estados de estrés nutricional como la restricción proteico-calórica *in útero*, y la administración de L-Trp incrementan los niveles de serotonina, lo anterior se correlaciona con un aumento en la fracción libre de L-Trp en el plasma, la cual ingresa al cerebro a través de la barrera hematoencefálica y una vez captado por las neuronas serotoninérgicas estimula la síntesis de 5-HT. Sin embargo, cuando los animales son sometidos a una recuperación alimenticia se observa una recuperación física y un retorno a los niveles normales de L-Trp. A pesar de este hecho, la actividad de la Tph no regresa a su actividad normal y persiste un aumento en la síntesis de 5-HT (Manjarrez-Gutiérrez et al, 1998; Kant et al, 2006; López et al, 2008). Se ha propuesto que las alteraciones epigenéticas pueden tener efectos a largo plazo incluso en las generaciones sucesivas (Entringer et al, 2012). Existe evidencia experimental del papel de la 5-HT como factor trófico en el sistema gustativo, así como la presencia de

un sistema serotoninérgico presente en las papilas gustativas (Acosta Chávez J., 2010; Kim D.J. et al, 1995). Sin embargo se desconocen los posibles efectos de la restricción proteico-calórica en la plasticidad de la papila caliciforme, en cuanto a modificaciones morfológicas y cambios en el número de corpúsculos gustativos en la papila; y si estos cambios se expresan en generaciones posteriores que han continuado su desarrollo bajo un esquema de restricción proteico-calórica, así como si se han sometido a una recuperación nutricional. Dada la importancia que tiene la 5-HT en la regulación de múltiples funciones vitales, y la relación funcional de esta con el sistema gustativo aunado a los efectos epigenéticos de la RPC nos lleva a proponer lo siguiente:

III. HIPÓTESIS

El estrés nutricional afecta la plasticidad de la papila caliciforme en ratas y el efecto permanece en las generaciones sucesivas.

IV. OBJETIVOS

IV.1. Objetivo general

Evaluar la plasticidad morfológica de la papila caliciforme en ratas con restricción proteico calórica y en condiciones de recuperación nutricional y determinar si el efecto permanece en tres generaciones sucesivas.

IV.2. Objetivos específicos

- Determinar si existen cambios morfológicos en la papila caliciforme en ratas con RPC en etapas clave del desarrollo, así como si existe variación en cuanto al número de corpúsculos gustativos.
- Determinar si las alteraciones morfológicas y de plasticidad de la papila caliciforme permanecen o regresan a condiciones normales en 3 generaciones sucesivas.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del presente trabajo se eligieron ratas hembras nulíparas de la cepa Wistar, con un peso de $200\text{g} \pm 20\text{g}$, las cuales fueron mantenidas en condiciones estándar de bioterio, el cual está ubicado en la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, siguiendo los protocolos vigentes para el uso de animales de investigación, de acuerdo con las disposiciones generales del Reglamento de la Ley General de Salud y la norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio); se utilizó alimento comercial Purina Chow y agua potable *ad libitum*.

Tabla 2. Análisis bromatológico del alimento comercial Purina Chow.

Análisis Bromatológico Rodent Laboratory Chow5001	
Humedad (max.)	12.00%
Proteína (min.)	23.00%
Grasa (min.)	4.50%
Calcio (max.)	1.00%
Fibra (max.)	6.00%
Cenizas (max.)	8.00%
Fósforo (min.)	0.61%
E.L.N. (P. DIF.)	46.50%

V.1. Esquema de restricción proteico-calórica

Para poder obtener las crías necesarias para implementar el esquema de restricción proteico-calórica, las ratas se sometieron a un periodo de adaptación en jaulas individuales, mientras se monitoreaban los parámetros de peso, talla y consumo de alimento, lo anterior con una duración de 15 días. Las ratas fueron divididas en dos

grupos, el grupo control con alimentación *ad libitum* (CTRL) y el grupo con esquema de restricción proteico-calórica al 50% (RPC). Al término del periodo de adaptación, las ratas fueron apareadas con ratas macho. Transcurridos 3 días, en los cuales se vigiló la aparición del tapón vaginal, una vez identificado, se consideró a este día como día embrionario 0. (E0). El día de nacimiento de las crías se consideró como día postnatal 0 (P0). Al nacimiento las crías provenientes de madres CTRL y con RPC fueron separadas en cuatro grupos: Un grupo control, el grupo con RPC, un grupo con restricción proteico-calórica al nacimiento (RPC NAC), esto es, una vez que nacieron las crías a la rata madre se le sometió a restricción alimenticia y así continuaron su vida postnatal y un grupo recuperado al nacimiento, donde la rata madre se alimentó *ad libitum* una vez que nacieron sus crías (REC NAC). Trascurrido el tiempo de lactancia, (día postnatal 21, P21) se crearon 2 grupos adicionales, el grupo con RPC al destete (RPC DEST) el cual, se somete a la RPC al 50%, de igual manera que con los demás grupos con RPC, y el grupo recuperado al destete (REC DEST), este último, proveniente de un grupo con RPC, a partir del día P21, se le proporciona alimento *ad libitum*.

Las etapas estudiadas en el presente trabajo fueron al tercer día posterior al nacimiento (P3), al día 14 después del nacimiento (P14), al destete (P21), a los 30 días postnatales (P30) y en la etapa postnatal de 60 días (P60); lo anterior para las crías provenientes de esta generación (Primera Generación); para las otras generaciones analizadas (Segunda y Tercera Generación), se utilizaron crías provenientes de la primera generación, las cuales una vez llegadas a la etapa adulta (P60) se sometieron nuevamente al esquema, esto es, se conservaron los grupos originalmente creados y se sometieron a cruce, siguiendo el mismo procedimiento utilizado para la primera generación. Una vez que las crías nacieron, se conservaron en el esquema de RPC hasta la etapa adulta, donde nuevamente, se seleccionaron las crías necesarias para analizar los grupos de estudio. De igual forma que con las ratas de primera generación, se procedió con las de segunda generación para obtener así, la tercera generación. Se realizó también un seguimiento de generaciones en cuanto al consumo de alimento, peso y talla de las ratas correspondientes a cada grupo.

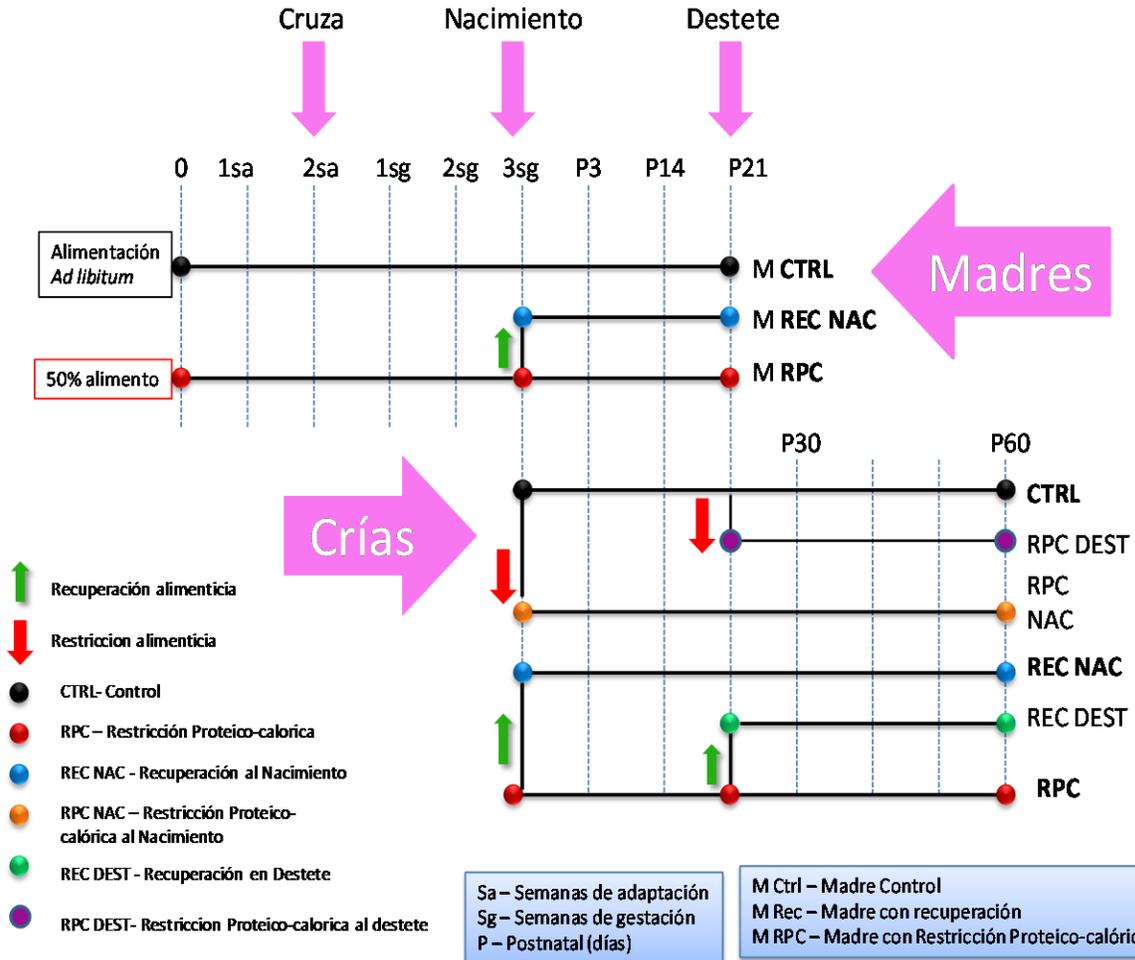


Figura 10. Modelo del esquema de restricción proteico-calórica, empleado en el presente estudio.

V.2. Obtención de las papilas caliciformes

En cada etapa estudiada los animales se sacrificaron mediante lesión cervical, rápidamente se procedió a realizar disección de la lengua, la cual se colocó en una solución de paraformaldehído al 4% en un Buffer Salino de Fosfatos, PAF/PBS a 4°C durante 24 h. Posteriormente se realizó la crio protección durante 72 h con soluciones de Sacarosa/PBS, lo cual consistió en lavados de 24 h a 4°C en concentraciones del 10%, 20% y 30% respectivamente. Al finalizar la crio protección se llevó a cabo la disección de la papila caliciforme y se procedió a incluir la papila en un medio de inclusión sintético (OCT), conservando la papila a -70°C durante 24 h.

V.3. Cortes histológicos

Para poder valorar los efectos de la RPC en la morfología de la papila caliciforme, se realizaron cortes histológicos utilizando un criostato perteneciente al laboratorio de patología del Hospital Civil de Morelia. Los cortes fueron realizados con un espesor de 16 μm , posteriormente los cortes fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina. (Abayomi T. A. et al, 2009). Los cortes elegidos para la evaluación de la morfología, se seleccionaron en función del número total de cortes por papila, tomando la media ($\sum x_1 + x_2 + x_3 + \dots x_n$) y considerando ± 3 cortes secuenciales.

V.4. Análisis morfológico de la papila caliciforme

El estudio de la morfología se realizó utilizando el programa MotiCImages Plus 2.0, mediante un microscopio digital, el cual, fue calibrado antes de su utilización. Se evaluaron los siguientes parámetros: Longitud de la papila, amplitud de la papila, longitud de la parte media de la papila, amplitud del tejido epitelial inferior izquierdo, amplitud del tejido epitelial inferior derecho y amplitud del tejido epitelial superior. Lo anterior se realizó con las muestras provenientes de la primera, segunda y tercera generación.

1. Longitud de la papila
2. Amplitud trinchera superior izquierda
3. Amplitud trinchera inferior izquierda
4. Amplitud trinchera superior derecha
5. Amplitud trinchera inferior derecha
6. Amplitud total de la papila
7. Amplitud tejido epitelial superior
8. Amplitud tejido epitelial inferior izquierdo
9. Amplitud tejido epitelial inferior derecho
10. Longitud parte media de la papila

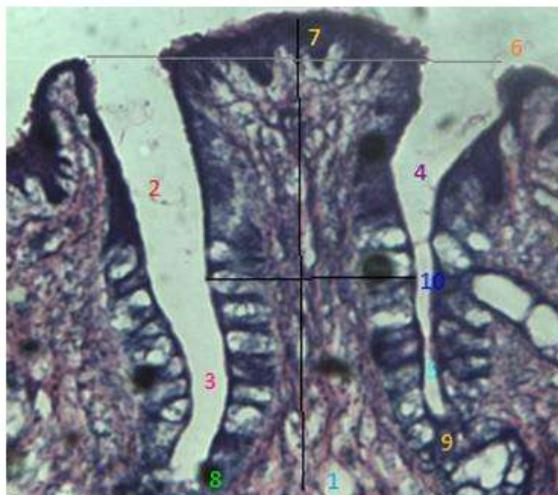


Figura 11. Morfología de la papila caliciforme.

V.5. Conteo de corpúsculos gustativos

Los corpúsculos gustativos fueron contados por triplicado en corte secuencial usando el método modificado de Bradley et al, 1980, revisando cada papila en corte secuencial, en todos los grupos de estudio en las tres generaciones.

V.6. Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se utilizó el programa GraphPad Prisma 4.0 en el cual se calcularon medidas de tendencia central (media, mediana y moda) y desviación estándar de los resultados experimentales, con lo que se determinó la naturaleza de los datos (cuasinormales); lo anterior justifica el uso del análisis de varianza, ANOVA, tanto de una como de dos vías para la comparación de las medias. La prueba de Tukey-Kramer se utilizó para determinar la significancia entre los grupos de estudio. Así mismo, se empleó la prueba “t” de Student para observar la diferencia estadística de los grupos experimentales respecto al grupo control (CTRL). Se aceptó significancia de $p \leq 0.05$.

VI. RESULTADOS

VI.1. Consumo de alimento y peso corporal de las madres de la primera a la tercera generación

Con el fin de evaluar el modelo de restricción proteico-calórica *in útero*, se midió el peso de las madres al inicio del experimento y en el transcurso de cada semana a lo largo del experimento. En la **Figura 12** se muestra la cantidad de alimento ingerido, se puede observar que las ratas del grupo CTRL y del grupo REC NAC aumentan el consumo de alimento durante la gestación y en el periodo de lactancia. El consumo de alimento del grupo REC NAC es menor respecto al grupo control en la sexta y séptima semana, que corresponde al periodo de lactancia. En la **Figura 13** se muestra el peso de las ratas madre. El grupo con RPC no obtuvo la misma ganancia en peso que el control en la quinta, séptima y octava semana, sino hasta la cuarta y sexta semana que corresponde a una semana previa al nacimiento y la primera semana de lactancia, el grupo REC NAC tiende a recuperar el peso y se puede observar que no hay variación entre grupos.

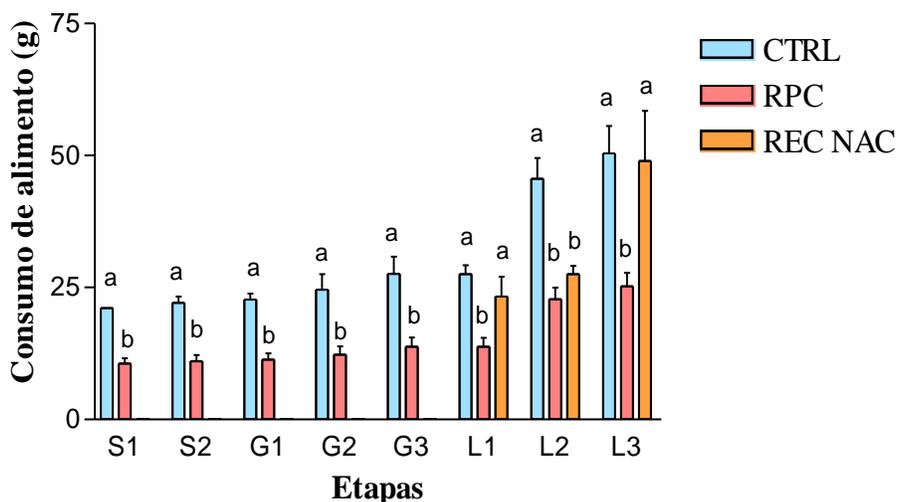


Figura 12. Consumo de alimento de las ratas madres, primera generación. Ingesta de alimento de ratas madres control (CTRL), con restricción proteico calórica (RPC) y recuperadas (REC NAC) desde la adaptación al modelo de restricción, la gestación y la lactancia de las crías. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ t student, Anova y Tukey-Kramer.

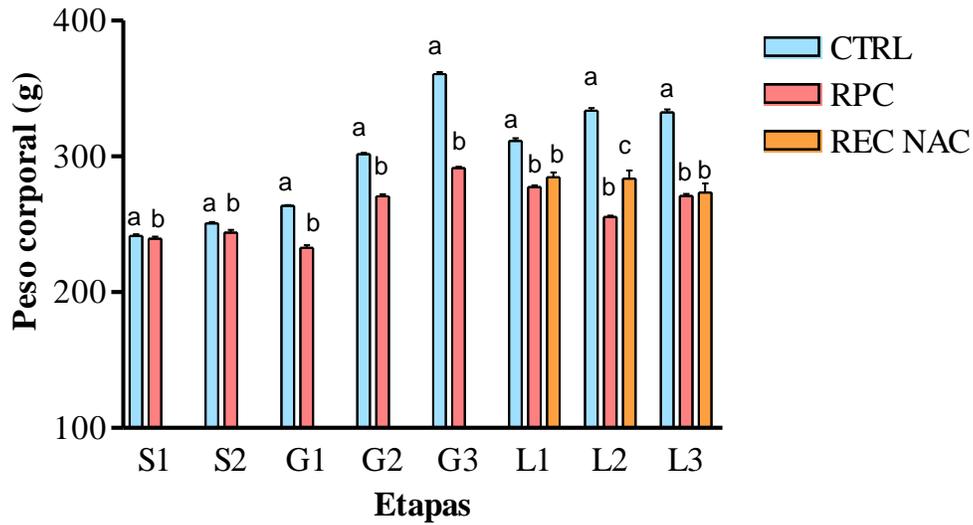


Figura 13. Peso corporal de las ratas madres, primera generación. Evolución del peso corporal de las ratas madre control (CTRL), con restricción proteico calórica (RPC) y recuperadas (REC NAC) desde la adaptación al modelo de restricción, la gestación y la lactancia de las crías. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ t student, Anova y Tukey-Kramer.

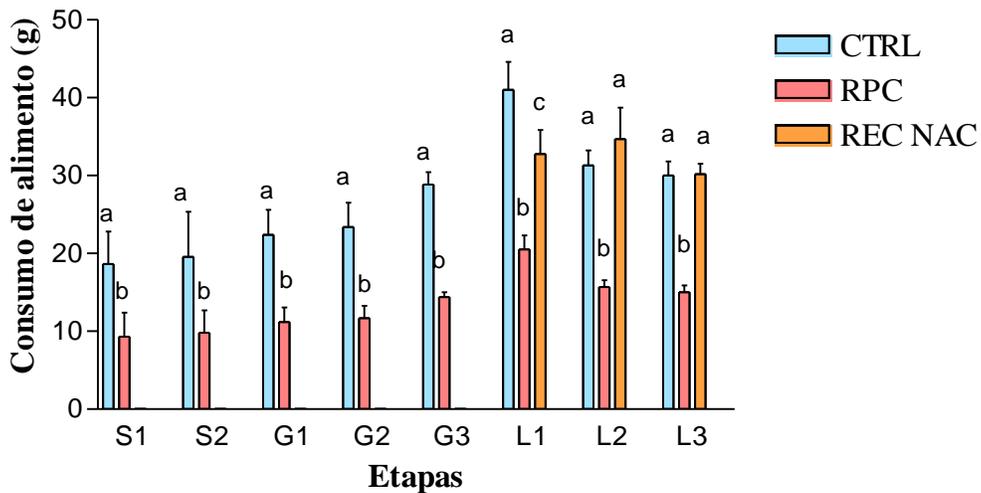


Figura 14. Consumo de alimento de las ratas madres, segunda generación. Ingesta de alimento de ratas madres control (CTRL), con restricción proteico calórica (RPC) y recuperadas (REC NAC) correspondientes a la segunda generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ t student, Anova y Tukey-Kramer.

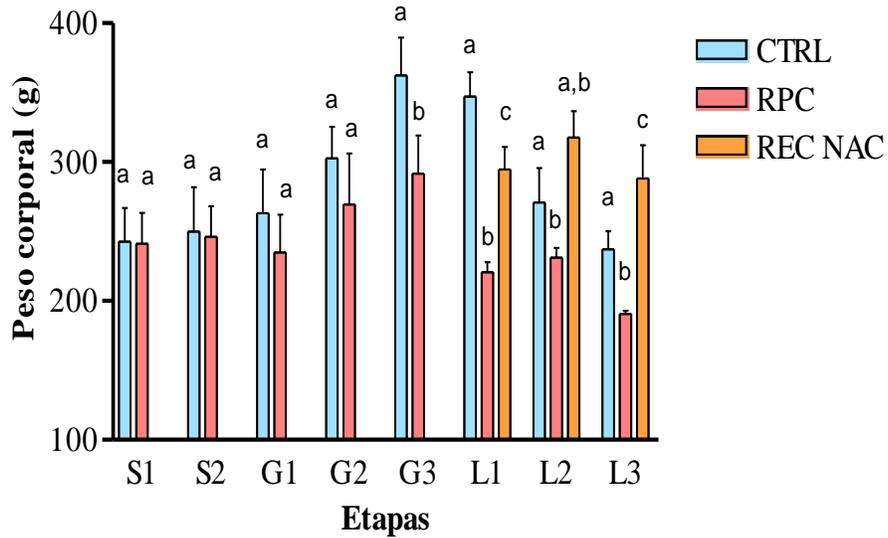


Figura 15. Peso corporal de las ratas madres, segunda generación. Progresión del peso corporal de las ratas madre control (CTRL), con restricción proteico calórica (RPC) y recuperadas (REC NAC) correspondientes a la segunda generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ t student, Anova y Tukey-Kramer.

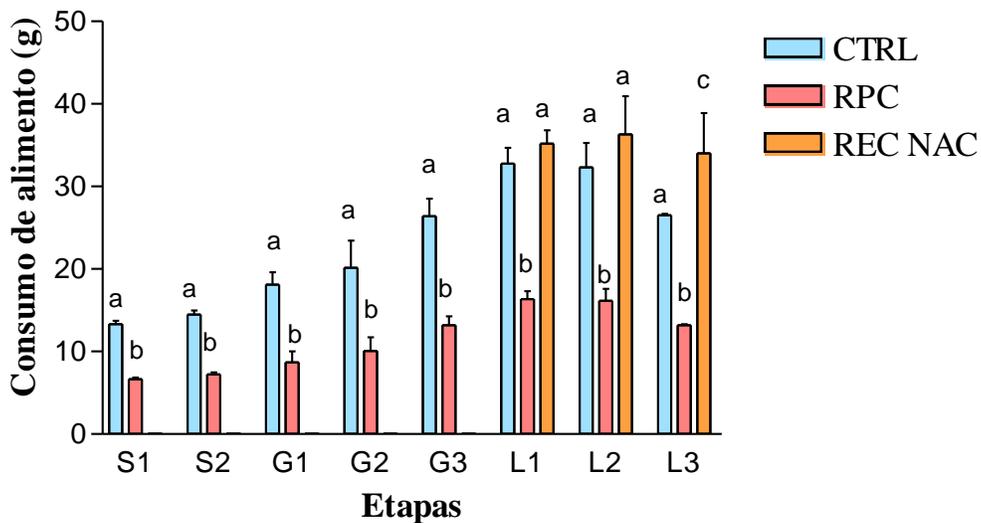


Figura 16. Consumo de alimento de las ratas madres, tercera generación. Cantidad de alimento ingerido de ratas madres control (CTRL), con restricción proteico calórica (RPC) y recuperadas (REC NAC) correspondientes a la segunda generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ t student, Anova y Tukey-Kramer.

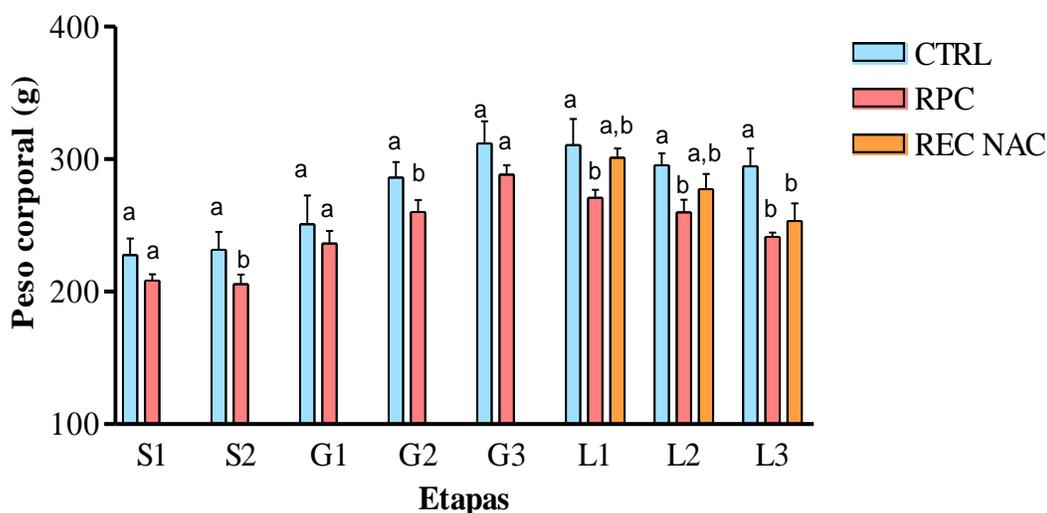


Figura 17. Peso corporal de las ratas madres, tercera generación. Cambios en el peso corporal de las ratas madre control (CTRL), con restricción proteico calórica (RPC) y recuperadas (REC NAC) correspondientes a la tercera generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ t student, Anova y Tukey-Kramer.

VI.2. Consumo de alimento de las crías de primera generación

A partir del día 21 postnatal (P21) se midió el consumo de alimento de las crías hasta el día 60 postnatal (P60), donde se mantuvo el mismo esquema de RPC que las madres, proporcionando el 50% del alimento a los grupos RPC con respecto al grupo CTRL de las crías, mientras que se le suministró alimento *ad libitum* a los grupos REC NAC y REC DEST. (**Figura 18**). Durante el desarrollo de este experimento se demostró que los dos grupos recuperados consumen menor cantidad de alimento con respecto al grupo control, si bien la recuperación ocurre al nacimiento o al destete después del día P21, no es suficiente el proceso de recuperación nutricional para alcanzar valores iguales al grupo CTRL.

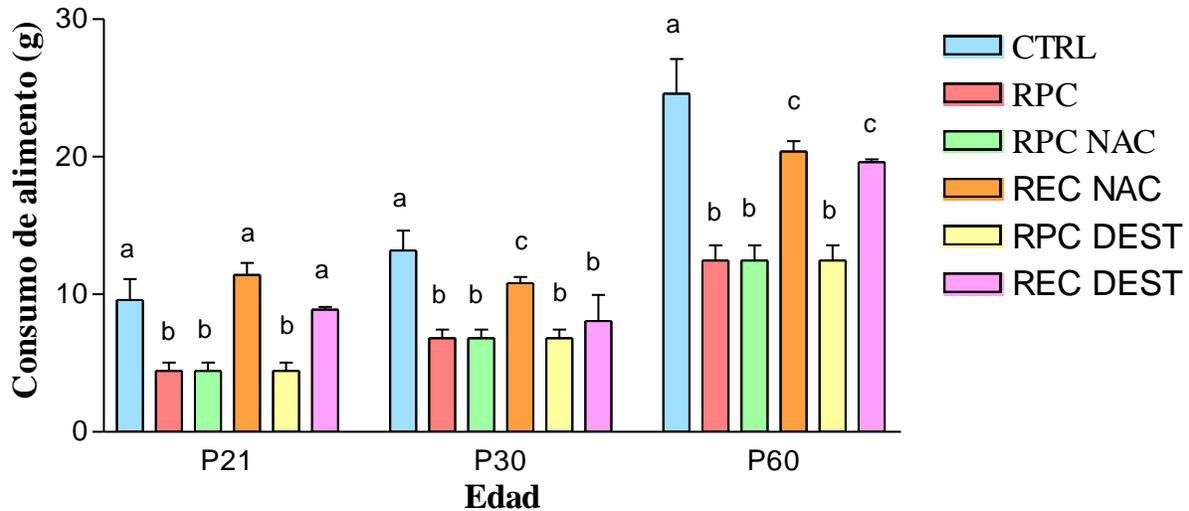


Figura 18. Consumo de alimento de las crías, primera generación. Ingesta de alimento de las crías control (CTRL), con restricción proteico calórica (RPC), recuperadas al nacimiento (REC NAC) y recuperadas al destete (REC DEST), desde el destete hasta la edad considerada como adultos (P60). Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.3. Peso y longitud céfalo-sacra de las crías en un esquema de RPC desde el nacimiento hasta la etapa P60- Primera generación

Con el objeto de valorar la talla y peso con respecto a la ingesta de alimento se midió el peso corporal y longitud céfalo-sacra (LCS) de las crías de cada grupo experimental en los días P3, P14, P21, P30 y P60. Se observó diferencia significativa en el peso y la talla al nacimiento entre las crías de los grupos que presentaron RPC con respecto al grupo CTRL (**Figuras 19 y 20**). Se muestra que el peso del grupo en RPC al 50% y el grupo REC DEST es menor con respecto al grupo CTRL en todas las etapas (excepto el día P3 del RPC), el grupo REC NAC iguala el peso del grupo CTRL en todas las etapas. Estos datos indican que el grupo con RPC tiene un peso por debajo del grupo CTRL y aunque aumentan de peso durante todas las etapas, se presenta una disminución en forma significativa respecto al grupo CTRL excepto en la etapa P3 donde no se muestran cambios significativos entre ambos grupos. En los dos grupos recuperados hay cambios significativos, pero es muy diferente la tendencia del peso del grupo REC NAC y del grupo REC DEST, ya que el grupo REC NAC tiende a igualar el

peso respecto al grupo CTRL y el grupo REC DEST nunca iguala el peso del grupo CTRL. El grupo REC NAC aumenta de peso igual que el grupo CTRL pero con una ingesta menor de alimento y el grupo REC DEST en ninguna etapa alcanza el peso del grupo CTRL (**Figura 19**).

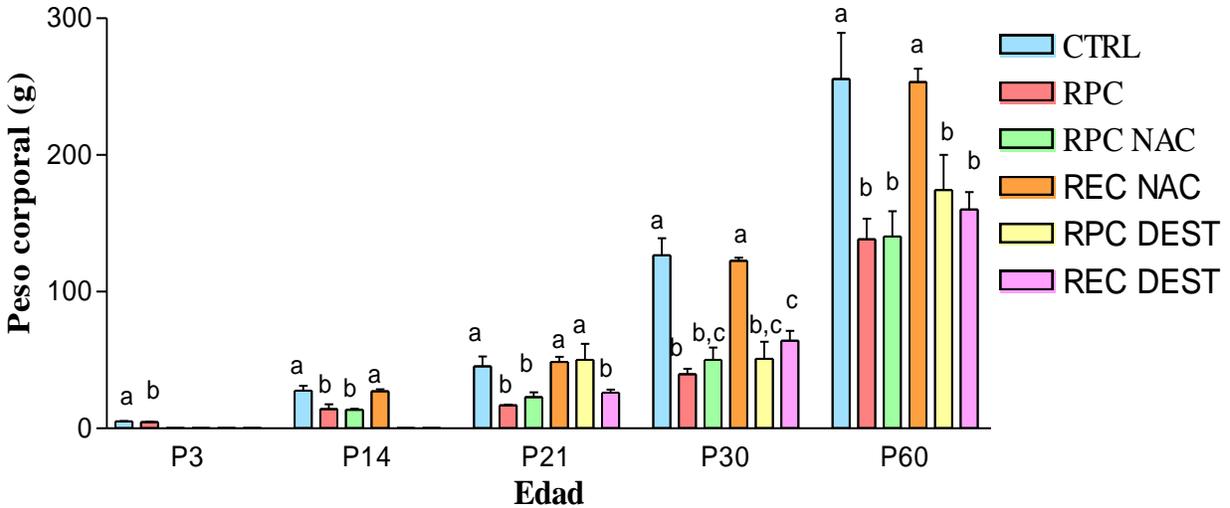


Figura 19. Peso corporal de las crías, primera generación. Evolución del peso corporal de las crías control (CTRL), con restricción proteico calórica (RPC), recuperadas al nacimiento (REC NAC), recuperadas al destete (REC DEST), desde el destete hasta la edad considerada como adultos (P60). Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ t student, Anova y Tukey-Kramer.

En cuanto a la longitud céfalo-sacra del grupo con RPC se observa una talla menor respecto al grupo CTRL al igual que el grupo REC NAC, mientras que el grupo REC DEST alcanza la talla del grupo CTRL, excepto en la etapa P14 donde aumenta de talla. Estos resultados sugieren que durante la RPC *in útero* pueden existir cambios epigenéticos de los individuos ya que con menor cantidad en la ingesta de comida respecto al grupo CTRL aumentan de peso y talla. Se observa que dependiendo de la etapa de recuperación el individuo llega a recuperarse casi como el individuo CTRL (REC NAC o REC DEST) y que al destete nunca alcanza peso y talla normal, pero sí aumentan sus valores que con el grupo con RPC.

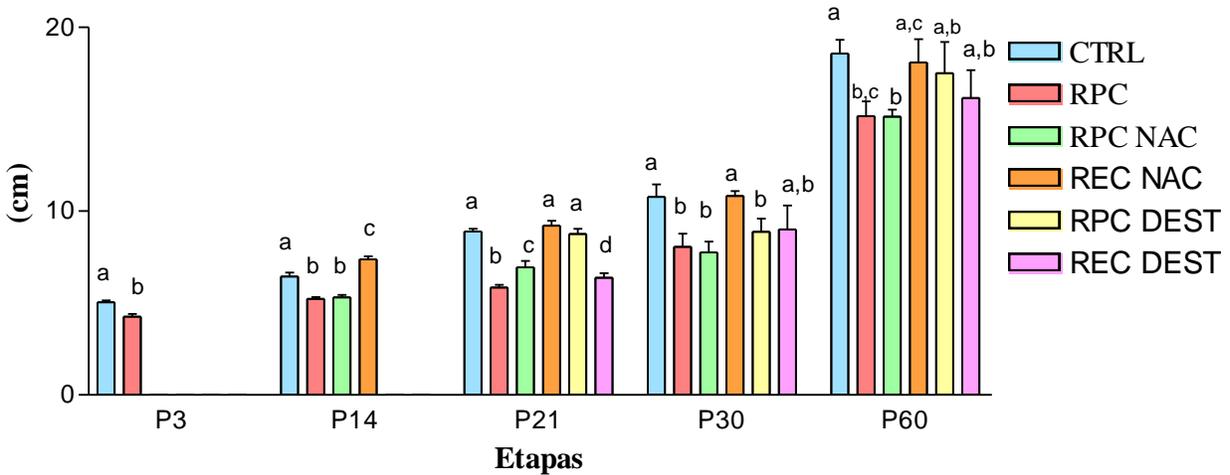


Figura 20. Longitud céfalo-sacra de las crías, primera generación. Evaluación del desarrollo valorado a través del crecimiento de las crías, desde la etapa postnatal P3 hasta la etapa adulta (P60). Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ t student, Anova y Tukey-Kramer.

VI.4. Análisis morfológico de la papila caliciforme durante el desarrollo, primera generación

Durante la realización del presente proyecto, se evaluaron las características morfológicas de mayor relevancia desde etapas postnatales de 3 días (P3) hasta la etapa adulta (P60), con el propósito de valorar el efecto de la restricción proteico-calórica sobre el desarrollo del sistema gustativo periférico. Las variables que se evaluaron fueron: Largo de la papila, ancho de la papila, longitud de la parte media de la papila, ancho del tejido epitelial de la parte inferior izquierda de la papila, ancho del tejido epitelial de la parte inferior derecha de la papila y ancho del tejido epitelial de la parte superior de la papila.

La **Figura 21** muestra las medidas del largo de la papila caliciforme durante el desarrollo de las crías, donde se presenta una disminución significativa en todos los grupos estudiados durante la etapa P3. La **Figura 22** corresponde al ancho de la papila, donde hasta la etapa P21, el grupo RPC presentó una disminución en las medidas de la papila, a partir de la etapa P30, el grupo RPC iguala los valores del grupo CTRL; en los resultados correspondientes a la etapa P60, todos los grupos

superan los valores del grupo CTRL, lo anterior podría atribuirse a ciertos mecanismos de regulación del organismo sin embargo, aunque se presente hipertrofia de la papila, se desconoce la funcionalidad de la misma, esto es, no por el hecho de que se vean aumentadas las dimensiones de la papila, significa que sean más funcionales que las correspondientes al grupo CTRL.

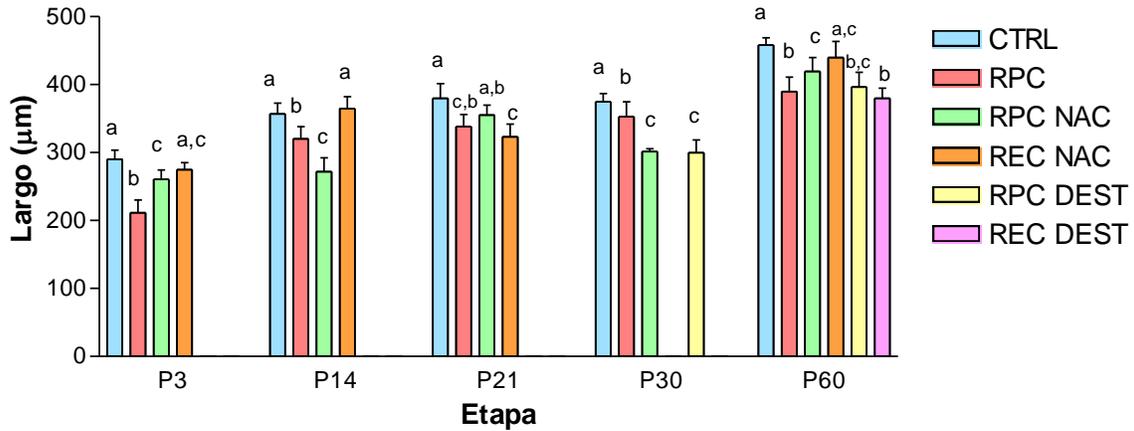


Figura 21. Largo de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC. Los valores de la gráfica corresponden a 6 experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

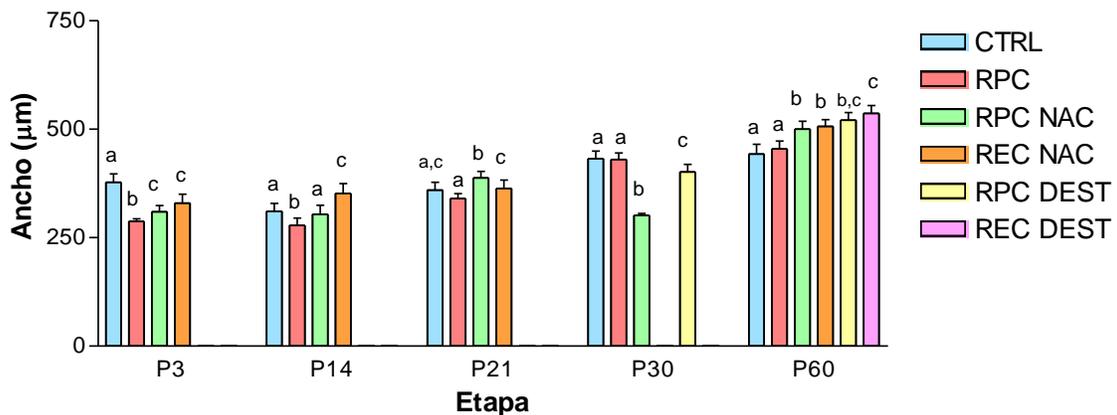


Figura 22. Ancho de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

La **Figura 23**, expone los resultados de las medidas realizadas a la parte media de la papila caliciforme, donde se presentaron cambios similares a las dos medidas

anteriores (no hay un patrón de comportamiento, ni tendencias); por otro lado, los grupos RPC Y REC disminuyeron sus dimensiones en las etapas estudiadas.

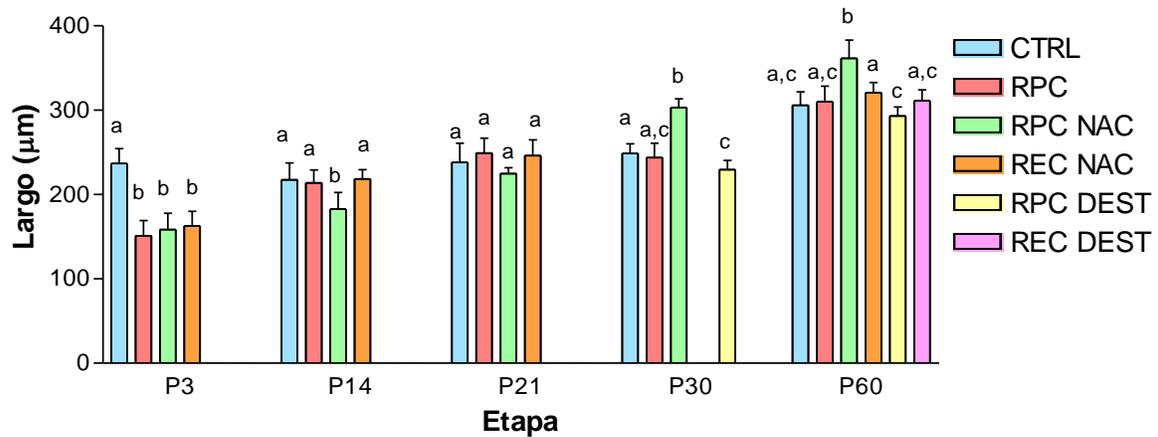


Figura 23. Longitud de la parte media de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

En cuanto al ancho del tejido epitelial de la papila caliciforme, la **Figura 24** expone los resultados de la medición del tejido epitelial inferior izquierdo, sin presentarse variación entre grupos. La **Figura 25**, corresponde a la medición de las dimensiones del tejido epitelial inferior derecho, donde los grupos con mayor afección por el esquema de RPC son los grupos RPC, RPC NAC y RPC DEST. Los grupos REC NAC y REC DEST superan los valores correspondientes al grupo CTRL.

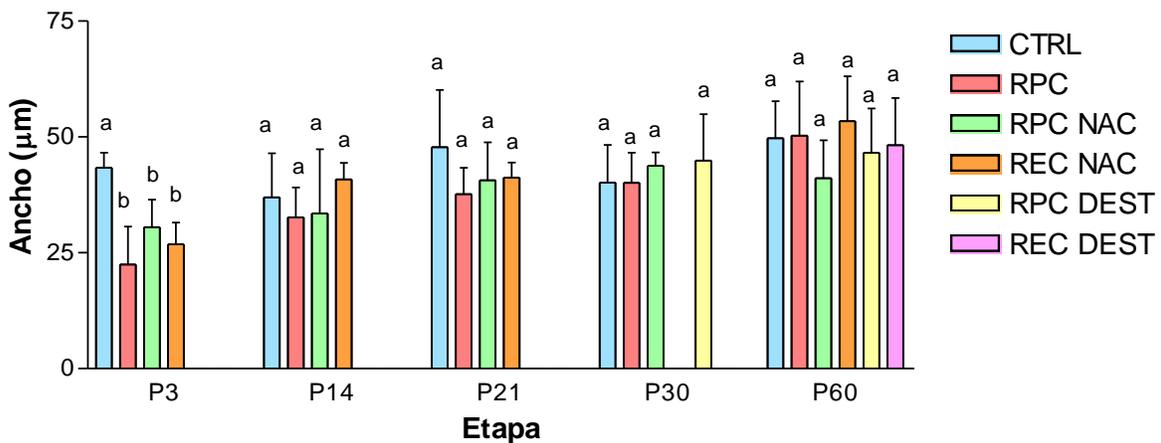


Figura 24. Ancho del tejido epitelial inferior izquierdo de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

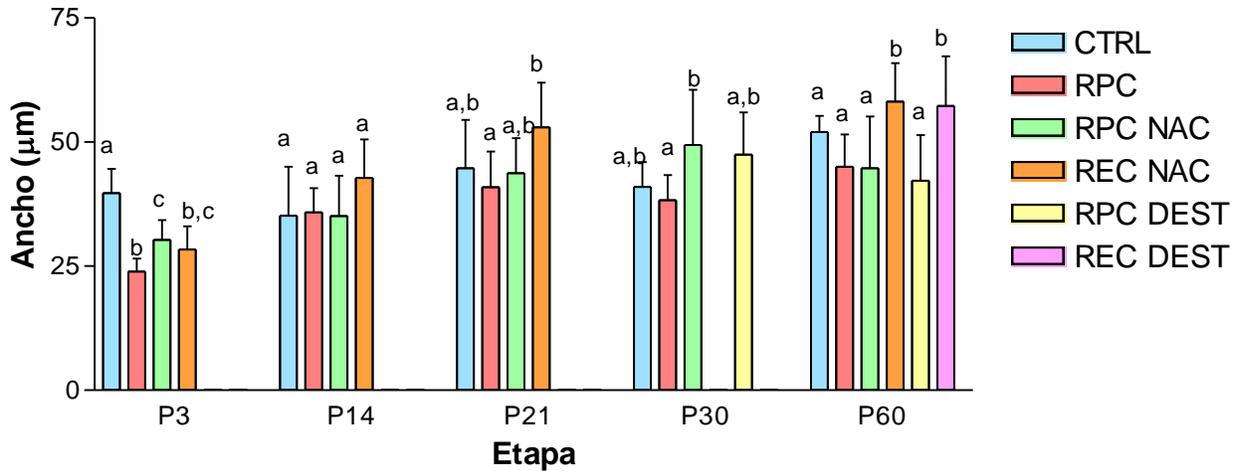


Figura 25.Ancho del tejido epitelial inferior derecho de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

En la **Figura 26** se muestran las medidas del ancho del tejido epitelial superior de la papila, donde se aprecia que los grupos de las primeras etapas postnatales superan los valores del grupo CTRL, pero este comportamiento no continúa presentándose a lo largo del desarrollo de la papila gustativa, incluso los grupos REC nunca alcanzan los valores del grupo CTRL. Así mismo, la variación entre grupos solo se presenta en la etapa P60.

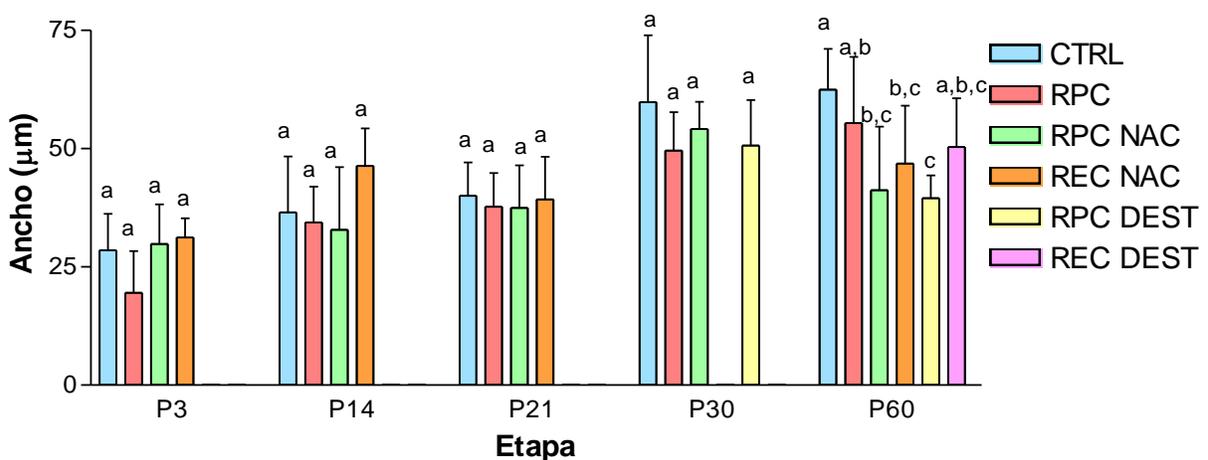


Figura 26.Ancho del tejido epitelial superior de la papila caliciforme en crías de la primera generación sometidas al esquema de RPC. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.5. Consumo de alimento de las crías correspondientes a la segunda generación

La evaluación de las crías de la segunda generación, muestra que en cuanto al consumo de alimento en la etapa adulta (P60), los grupos REC muestran equivalencia con el grupo CTRL. La **Figura 27** ejemplifica la implementación del esquema de restricción proteico-calórica al 50 %.

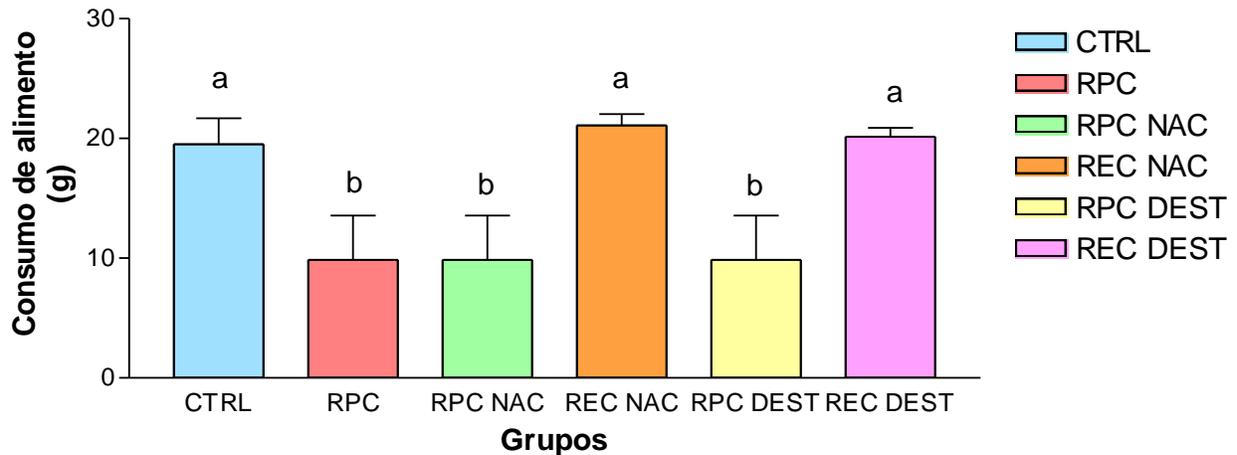


Figura 27. Consumo de alimento de las crías, etapa P60 en la segunda generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.6. Peso y longitud céfalo-sacra de las crías en un esquema de RPC, etapa P60-Segunda generación

Los resultados obtenidos de la evaluación de las crías pertenecientes a la segunda generación, donde se tomaron en cuenta los mismos parámetros que en la primera generación, muestran cambios importantes que sugieren que el efecto de la RPC continua expresándose, ya que la programación epigenética juega un papel crítico en el desarrollo de las crías provenientes de madres sometidas a un esquema de restricción proteico-calórica. La **Figura 28** expone los resultados de la evaluación del peso corporal de las crías, donde el grupo RPC presentó una disminución de más del 50% del peso comparado con el grupo CTRL; los grupos RPC NAC y RPC DEST también mostraron

una disminución significativa. Por otro lado, los grupos REC NAC y REC DEST difieren e incluso superan al grupo CTRL. La **Figura 29** contiene los resultados de la valoración de la longitud céfalo-sacra, donde se presenta una disminución y variación en todos los grupos estudiados.

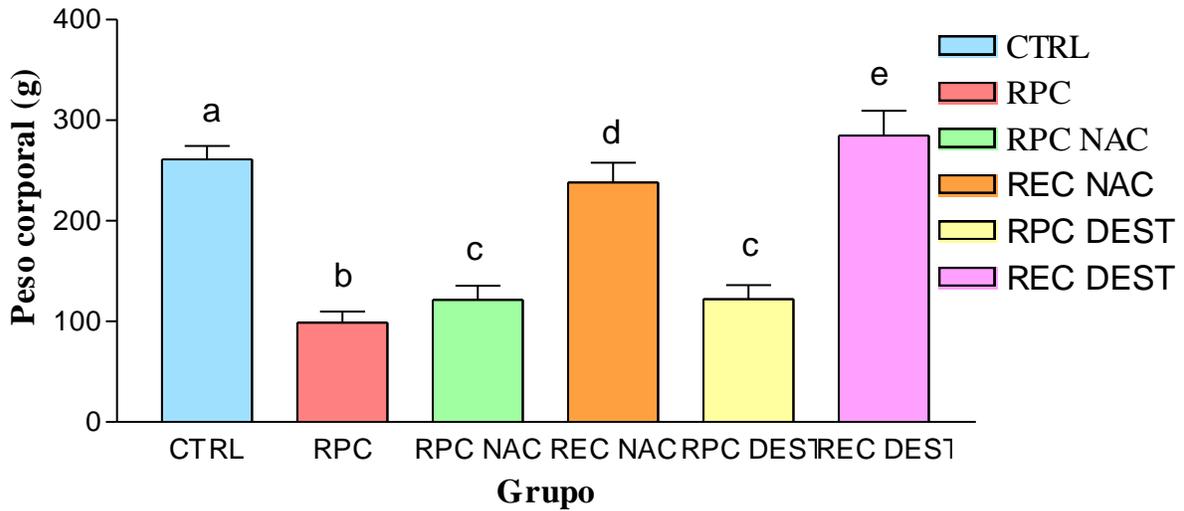


Figura 28. Peso corporal de las crías, etapa P60 de la segunda generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

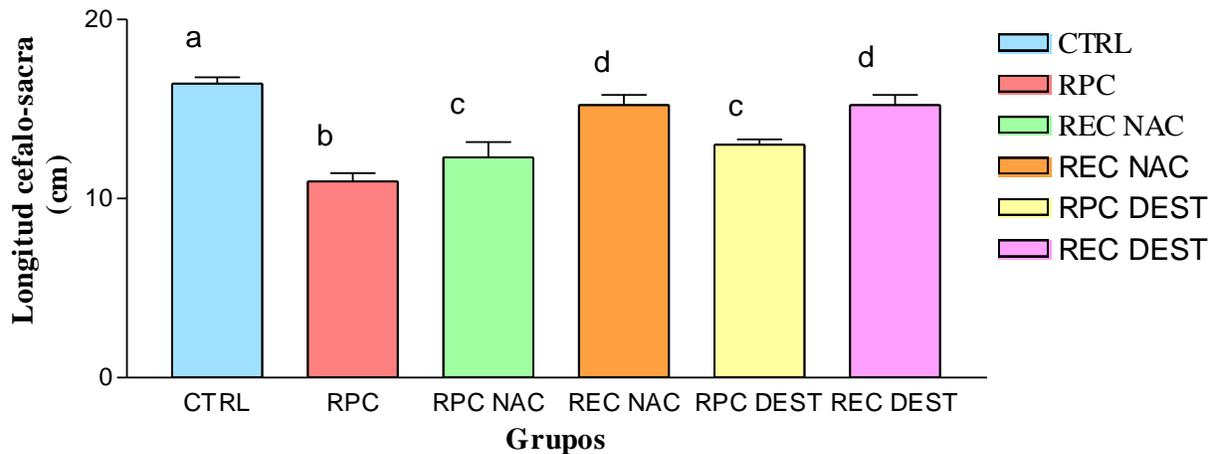


Figura 29. Longitud céfalo-sacra de las crías, etapa P60 de la segunda generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.7. Análisis morfológico durante la etapa P60 de la papila caliciforme, segunda generación

En lo que se refiere a la longitud de la papila caliciforme, la **Figura 30** indica que únicamente el grupo RPC NAC presenta cambios en la comparación entre grupos. Respecto al ancho de la papila caliciforme, la **Figura 31** indica reducción de la longitud en los grupos RPC, RPC NAC y RPC DEST, sin embargo, el grupo REC DEST presentó un aumento que rebasa los valores de todos los grupos estudiados. La parte media de la papila caliciforme, expuesta en la **Figura 32** muestra cambios hipertróficos en el grupo RPC NAC, contrario a lo que había encontrado anteriormente en la etapa adulta de las crías evaluadas anteriormente.

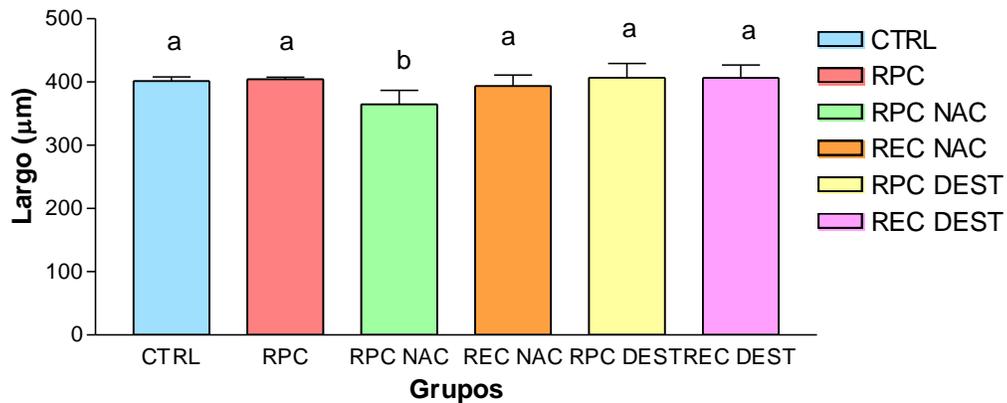


Figura 30. Largo de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

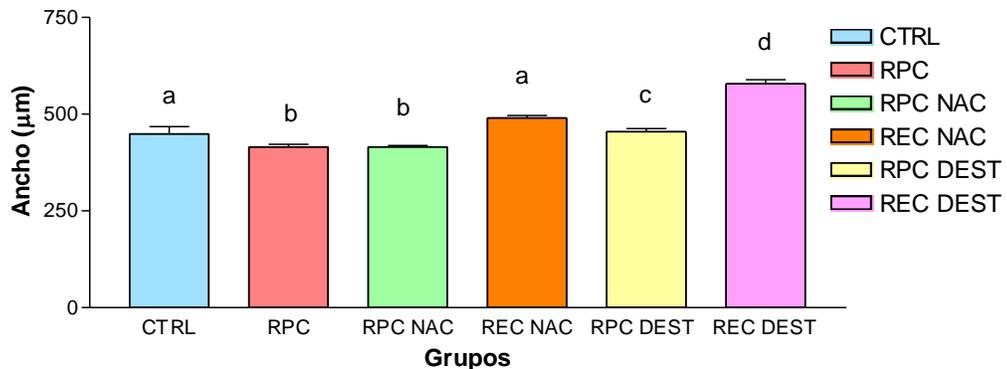


Figura 31. Ancho de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

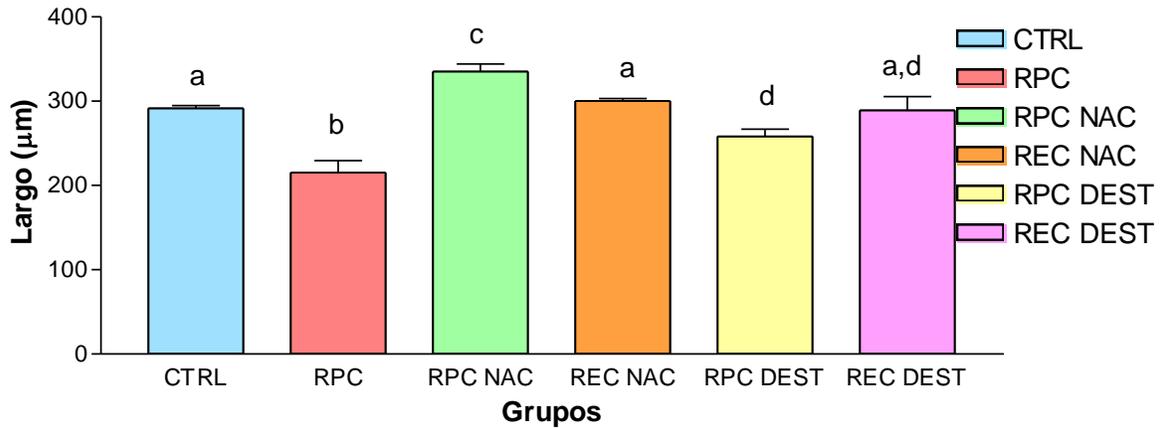


Figura 32. Largo parte media de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

La evaluación del tejido epitelial de la papila caliciforme en la segunda generación, no exhibe variación entre grupos en lo que se refiere al análisis del tejido epitelial inferior izquierdo (**Figura 33**); el tejido epitelial inferior derecho si muestra una variación entregrupos, siendo más evidente la disminución de las dimensiones en el grupo REC NAC (**Figura 34**). La extensión del tejido epitelial superior se ve afectada en los grupos RPC, RPC NAC y REC NAC, presentando una desviación con respecto a los demás grupos pero sin cambio entre los grupos anteriormente mencionados. (**Figura 35**).

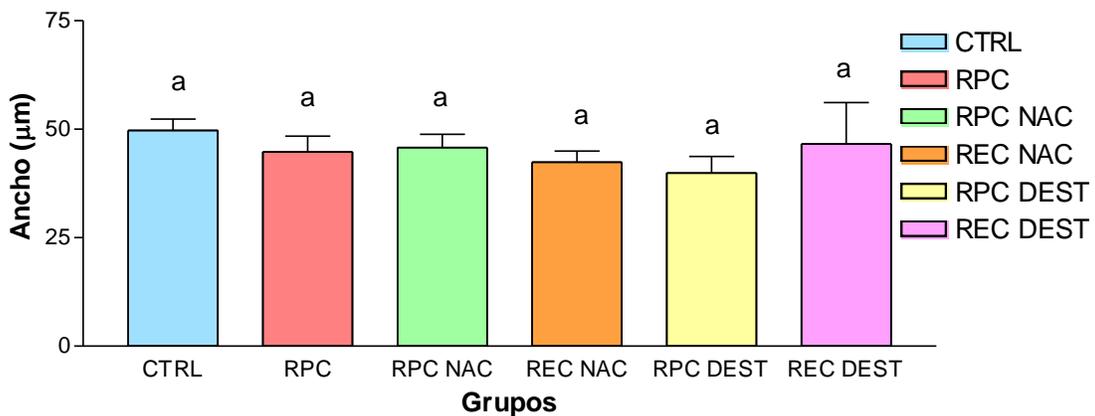


Figura 33. Ancho del tejido epitelial inferior izquierdo de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

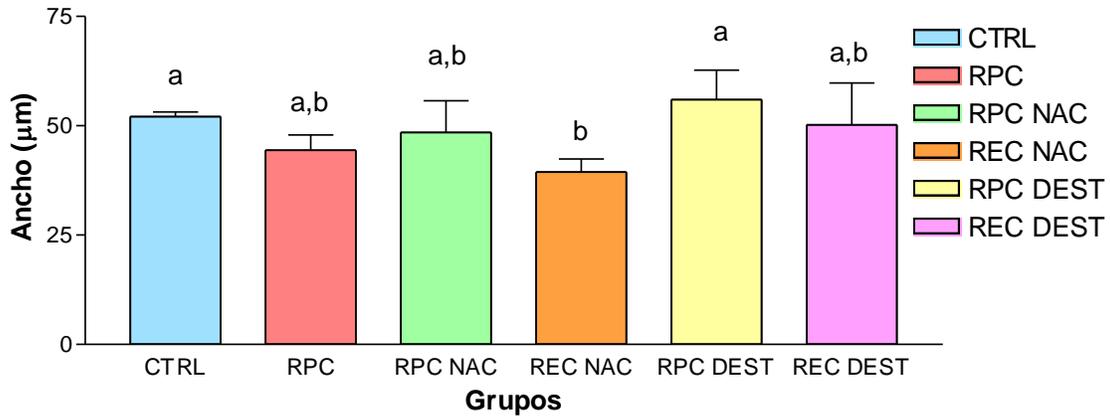


Figura 34.Ancho del tejido epitelial inferior derecho de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

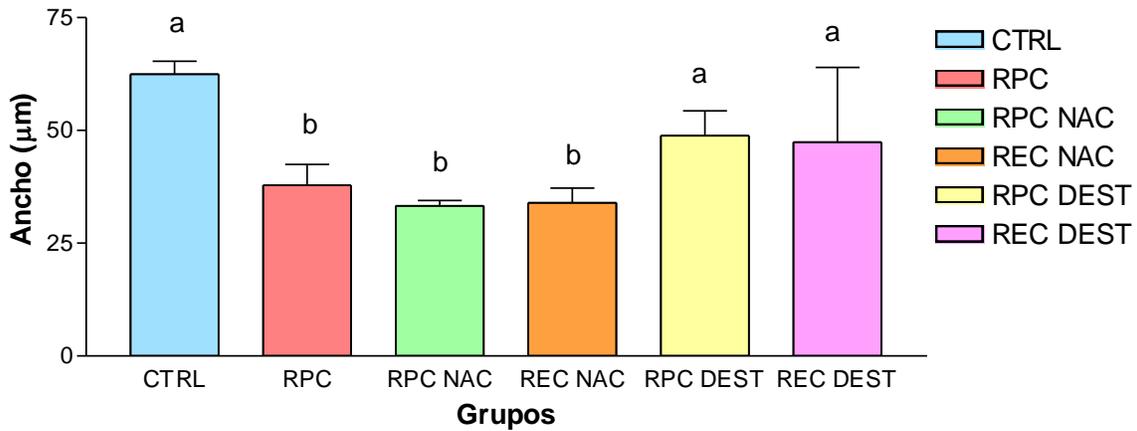


Figura 35.Ancho del tejido epitelial superior de la papila caliciforme en crías de la segunda generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.8. Peso y longitud céfalo-sacra de las crías en un esquema de RPC, etapa P60-Tercera generación

La valoración de las crías concernientes a la tercera generación, nos permiten inferir que las alteraciones causadas por el esquema de RPC, continuarán expresándose debido a que más de un sistema de regulación ha sido alterado; para demostrar lo anterior basta analizar el consumo de alimento de las crías en la **Figura 36**, donde la cantidad de alimento ingerida por parte de los grupos REC NAC y REC DEST se ve

claramente alterada, superando la ingesta del grupo CTRL; recordemos que a partir de la primera generación, estos grupos recibieron una alimentación *ad libitum*, sin embargo los efectos de la restricción *in útero* continúan expresándose hasta la tercera generación.

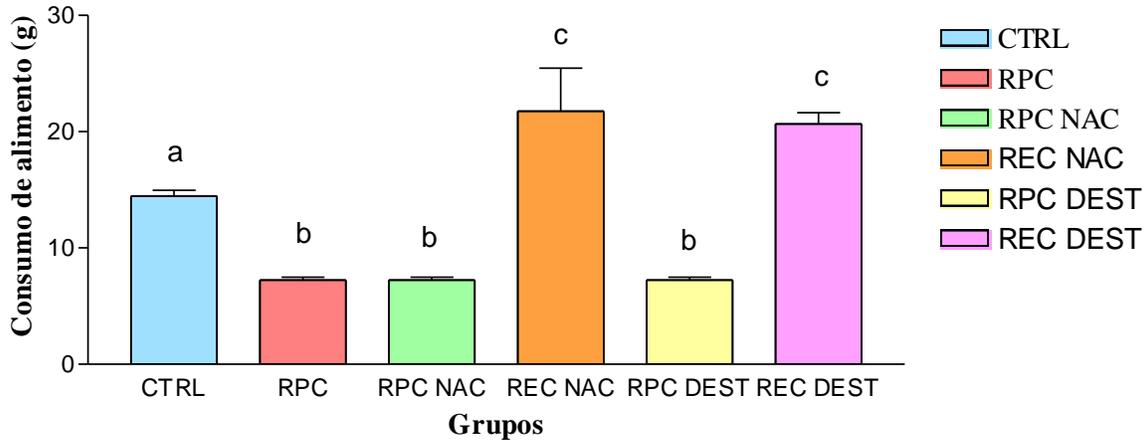


Figura 36. Consumo de alimento de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

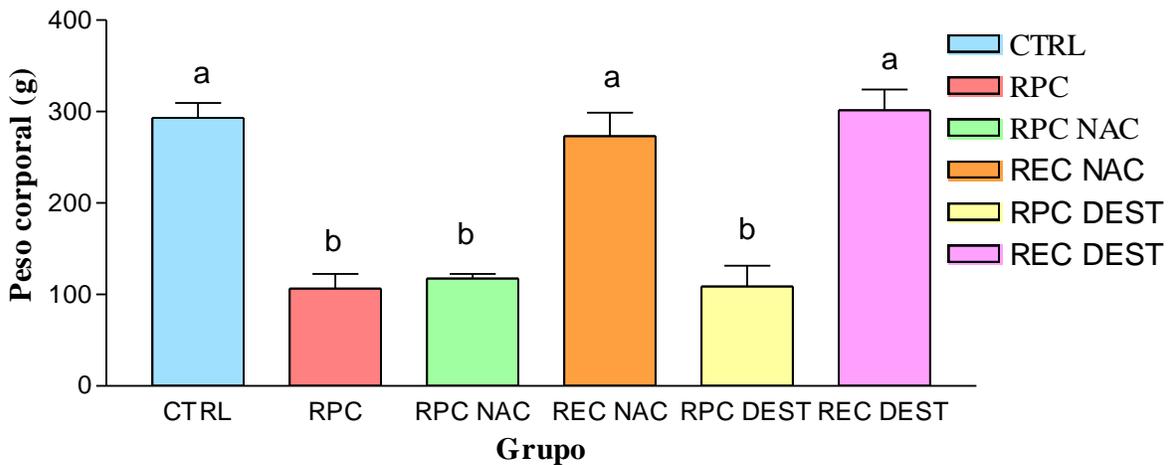


Figura 37. Peso corporal de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

Analizando los valores obtenidos del peso corporal, los efectos que se presentan en los grupos RPC son severos, sin observarse variaciones entre el resto de los grupos de

estudio (**Figura 37**). La longitud céfalo-sacra presentó una tendencia exactamente igual que el peso corporal de las crías (**Figura 38**).

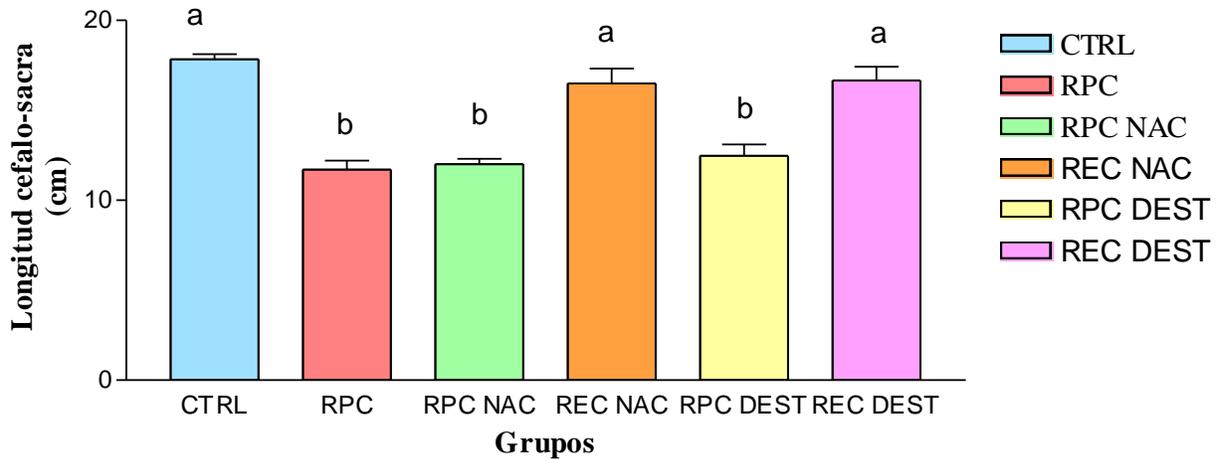


Figura 38. Longitud céfalo-sacra de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.9 Análisis morfológico durante la etapa P60 de la papila caliciforme, tercera generación

De forma general, los resultados del análisis de la morfología de la papila caliciforme de las crías correspondiente a la tercera generación, muestran que el grupo con mayor afección es el grupo REC NAC, ya que presenta modificaciones hipertróficas en comparación con los demás grupos; por otra parte los grupos con RPC disminuyen sus dimensiones en cuanto a la longitud de la papila (**Figura 39**) y la amplitud de la misma (**Figura 40**). La longitud de la parte media presenta hipertrofia en los grupos recuperados (REC NAC y REC DEST), como se muestra en la **Figura 41**.

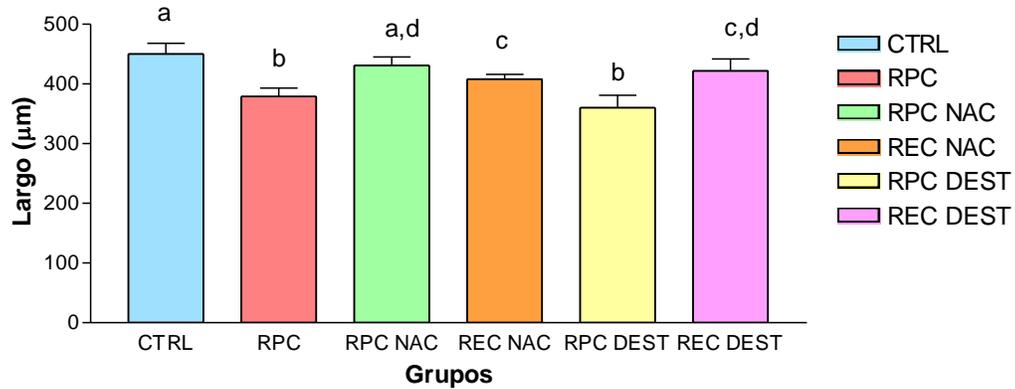


Figura 39. Largo de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

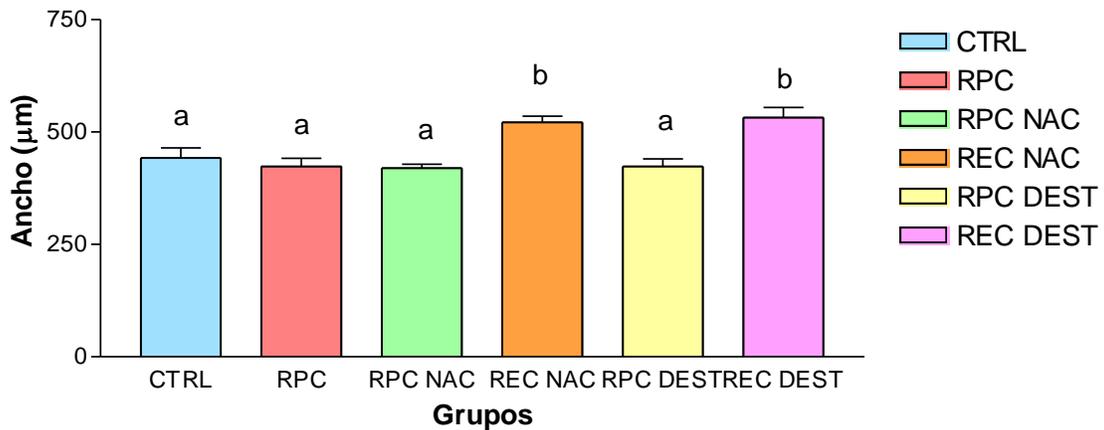


Figura 40. Ancho de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

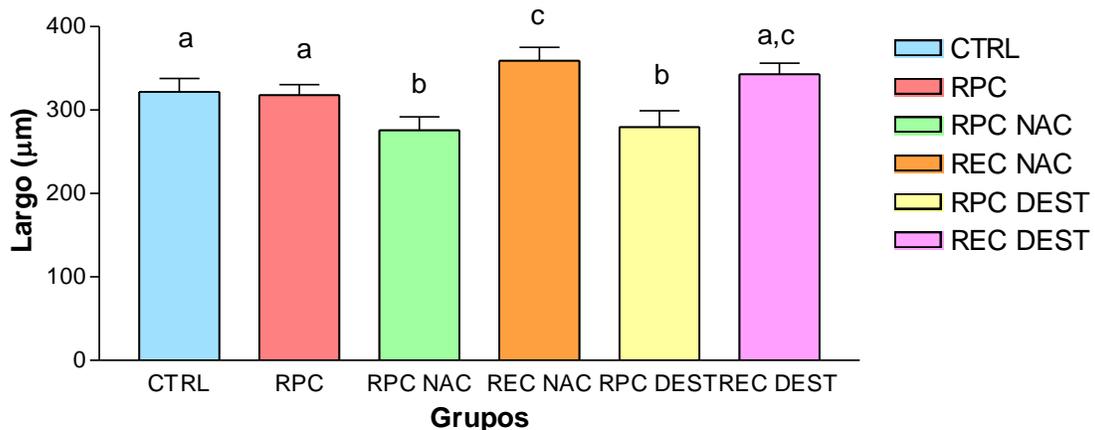


Figura 41. Largo de la parte media de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

La descripción del tejido epitelial de la papila caliciforme, indicó variación entre todos los grupos de estudio en cuanto al análisis del tejido epitelial superior; el examen del tejido epitelial inferior izquierdo y derecho no mostró ninguna variación.

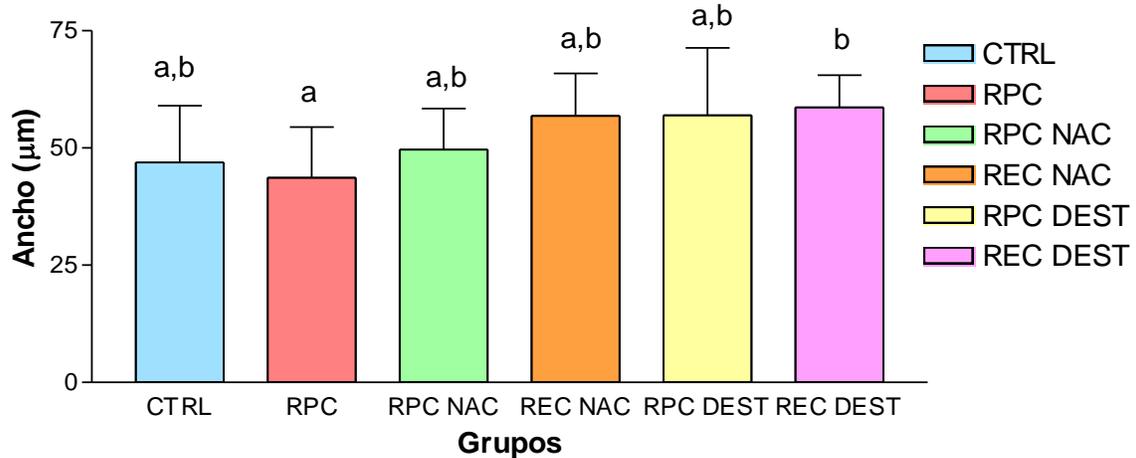


Figura 42.Ancho del tejido epitelial superior de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

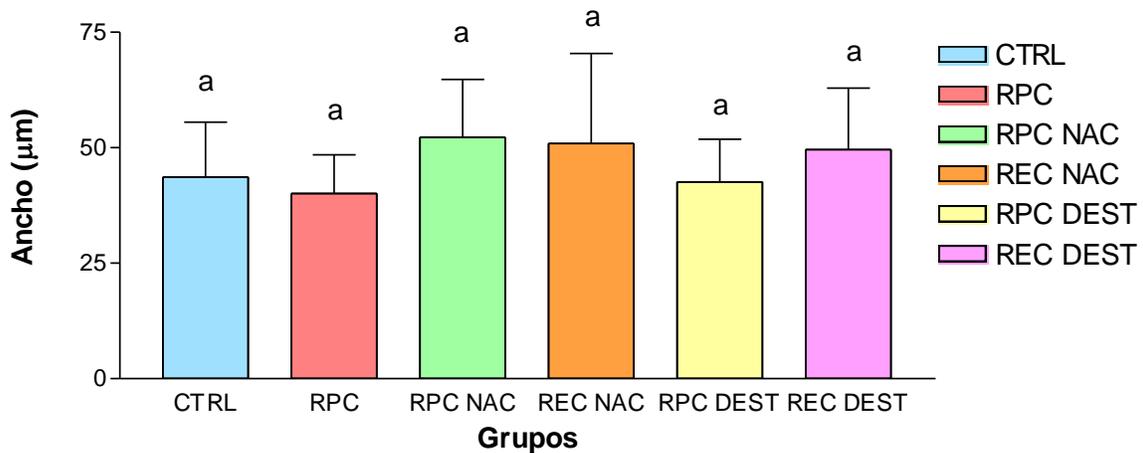


Figura 43.Ancho del tejido epitelial inferior izquierdo de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

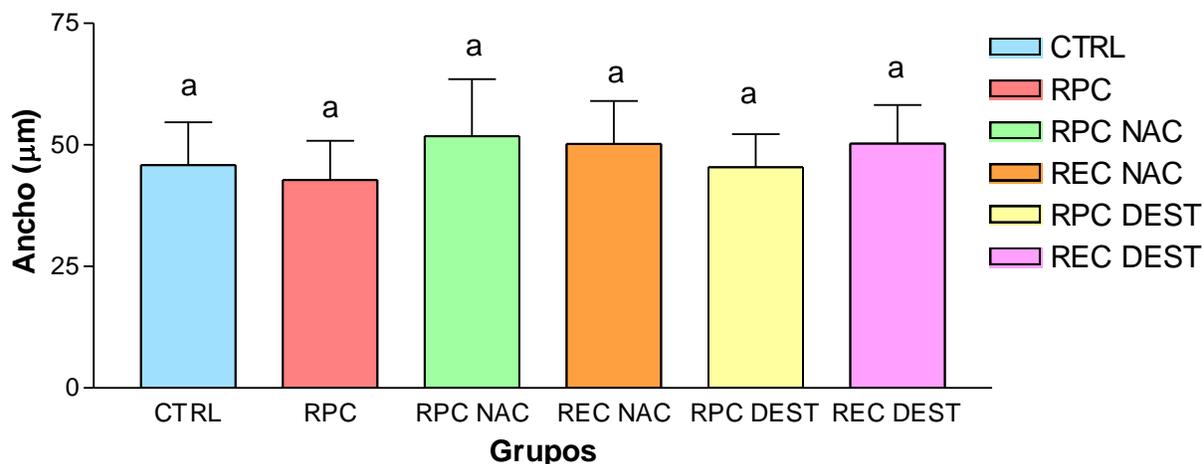


Figura 44. Ancho del tejido epitelial inferior derecho de la papila caliciforme de las crías de la tercera generación sometidas al esquema de RPC, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.10. Número de corpúsculos en la papila caliciforme, etapa P60- Primera generación

A la par del análisis de la morfología de la papila caliciforme, en el presente trabajo se realizó el conteo de corpúsculos gustativos, para evaluar el efecto del esquema de restricción proteico-calórica durante el desarrollo del sistema gustativo periférico. El análisis fue realizado a partir de la etapa P3, debido a que los corpúsculos gustativos aunque aparecen en el día fetal 21, se consideran funcionales hasta que establecen contacto con la leche materna (Krimm R. F. 2007). La **Figura 45** muestra el número de corpúsculos gustativos desde la etapa P3 hasta la etapa adulta P60; donde en todos los grupos de estudio y en todas las etapas evaluadas se presentó una reducción de corpúsculos excepto en la etapa P3, donde no hay variación aparente en relación al grupo CTRL. La disminución de los corpúsculos gustativos es más evidente en la etapa adulta (P60), donde los grupos con una mayor afección son RPC, RPC NAC y RPC DEST, ya que disminuyen en casi un 50% en esos grupos, los grupos REC NAC y REC DEST presentaron el mismo grado de afección del esquema de restricción, siendo menor que el ocurrido en los grupos con RPC pero de igual forma significativo.

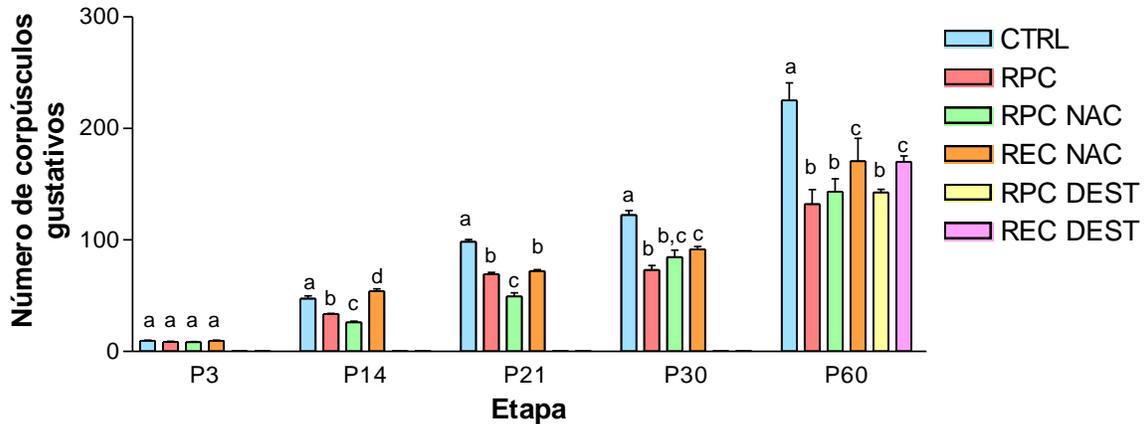


Figura 45. Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, primera generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.11. Número de corpúsculos en la papila caliciforme, etapa P60- Segunda generación

La **Figura 46** corresponde al número de corpúsculos gustativos presentes en la papila caliciforme de crías en la etapa P60, de la segunda generación donde al igual que lo ocurrido en la primera generación, las alteraciones presentadas como consecuencia del sometimiento al esquema de restricción alimenticia se ven reflejadas en todos los grupos de estudio, siendo más relevantes en los grupos con RPC. Los grupos REC nunca alcanzan los valores del grupo CTRL.

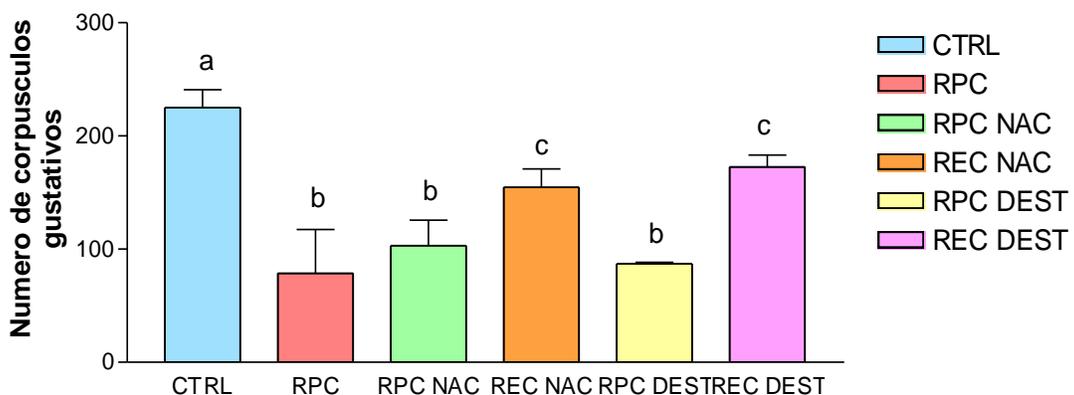


Figura 46. Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, segunda generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.12. Número de corpúsculos en la papila caliciforme, etapa P60- Tercera generación

Los resultados del análisis del número de corpúsculos gustativos en la tercera generación, sugieren una tendencia a la reducción del número de los mismos, como se ha venido observando desde la primera generación. (**Figura 47**).

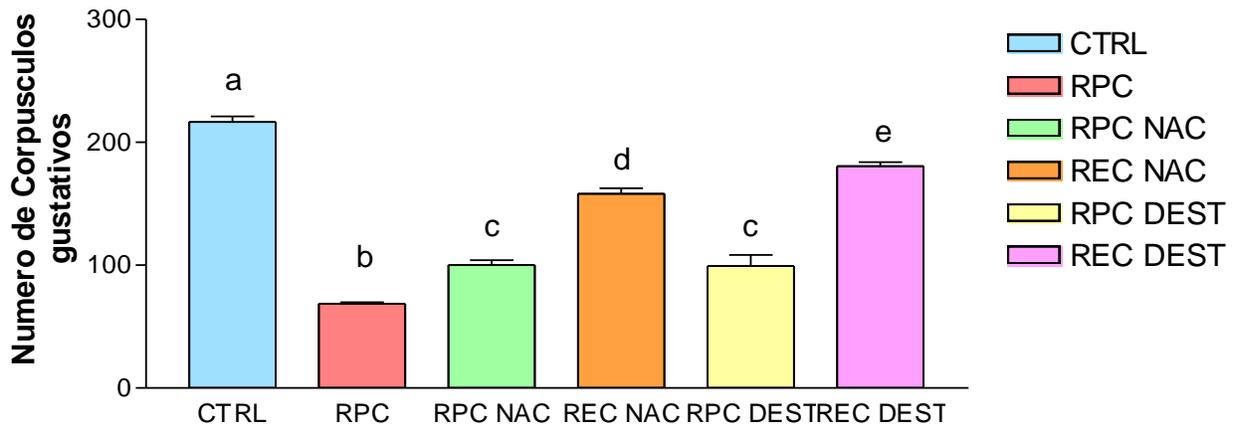


Figura 47. Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, tercera generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.13. Comparación transgeneracional

Con el fin de apreciar los efectos de la restricción proteico-calórica que se expresaron a través de las generaciones estudiadas, se realizó una comparación entre la primera, segunda y tercera generación, donde se contemplaron las variables que anteriormente se analizaron por separado.

VI.13.1 Consumo de alimento de las crías etapa P60

En la **Figura 48**, la segunda generación fue aquella donde se observó la varianza más evidente, en los grupos REC NAC y REC DEST; en la tercera generación, esos grupos

disminuyeron su ingesta comparando con la primera generación, pero aun así, la ingesta es mayor en el transcurso de la segunda generación.

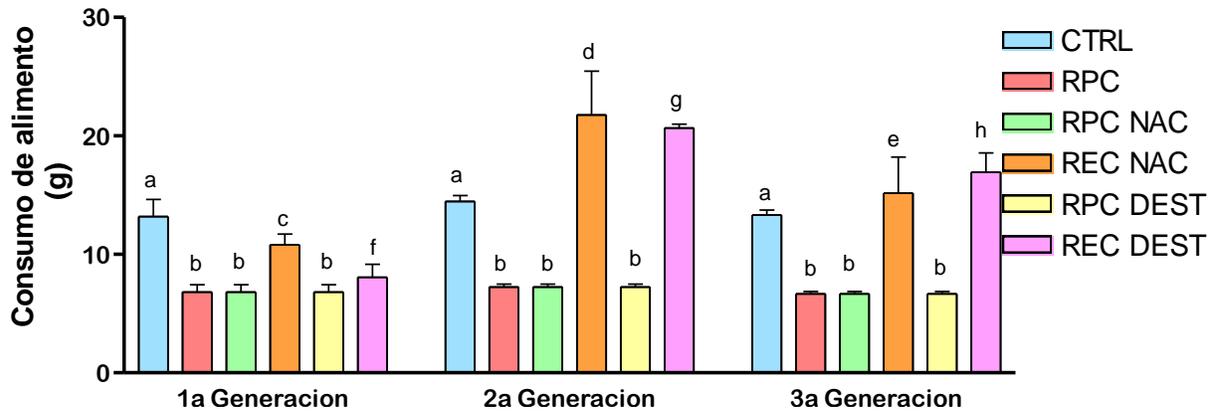


Figura 48. Comparación transgeneracional del consumo de alimento en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.13.2. Peso corporal de las crías etapa P60

En lo relacionado al peso corporal, se presenta una tendencia que es continua en las tres generaciones: una disminución equitativa entre los grupos con restricción de hasta un 50% del peso corporal, comparando con el grupo CTRL, y un aumento en el grupo REC DEST que supera los valores del grupo CTRL.

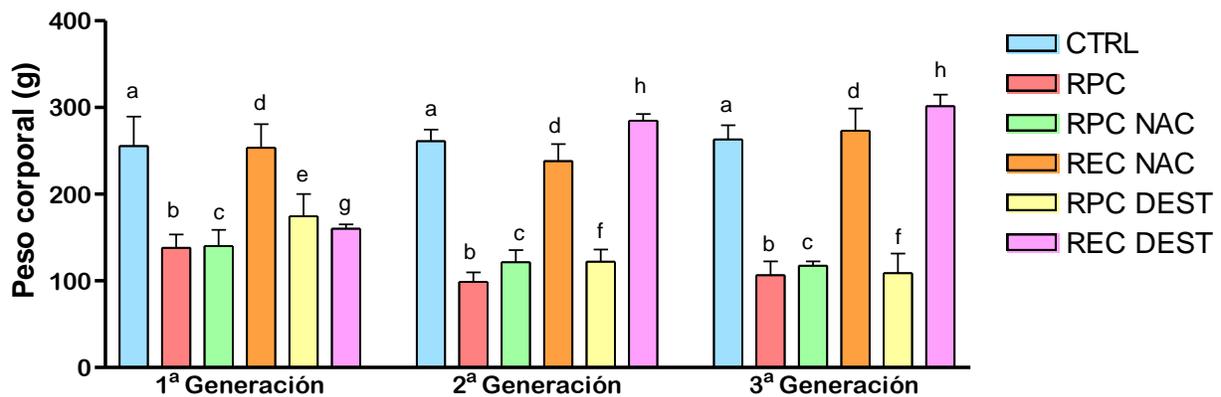


Figura 49. Comparación transgeneracional del peso corporal en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.13.3. Longitud céfalo-sacra de las crías etapa P60

La comparación transgeneracional de la longitud céfalo-sacra indica variación importante entre la primera y la segunda generación, pero esta variación es aún más evidente en la tercera generación; nuevamente la tendencia de presentar una disminución en los grupos con restricción se repite y los grupos recuperados tienden a aumentar sus valores.

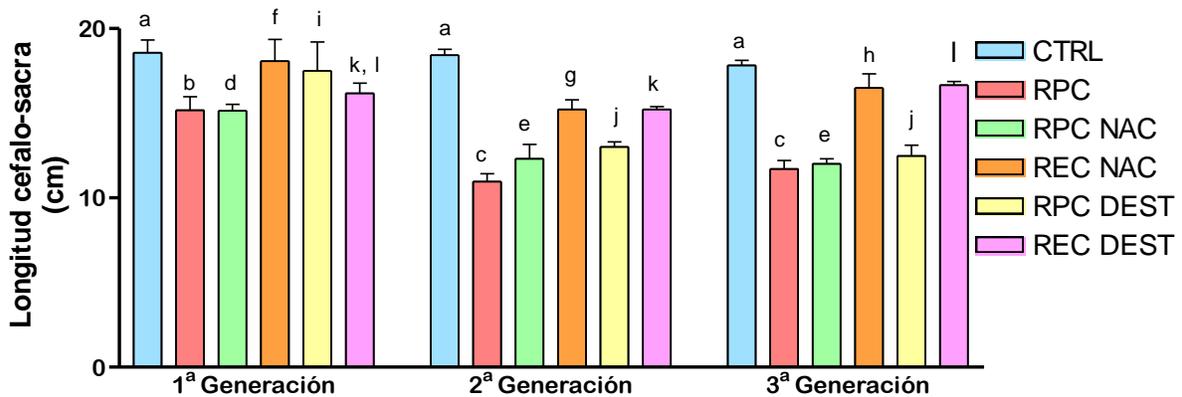


Figura 50. Comparación transgeneracional de la longitud céfalo-sacra en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.



Figura 51. Rata CTRL vs rata RPC. La imagen muestra una reducción importante en talla y peso corporal de una rata sometida a una restricción alimenticia de un 50% comparada con una rata control, correspondientes a la tercera generación del esquema.

VI.13.4. Análisis morfológico durante la etapa P60 de la papila caliciforme, comparación transgeneracional

VI.13.4.1. Largo de la papila caliciforme en crías etapa P60

Debido a que el análisis morfológico de la papila caliciforme presenta un mayor número de variables, resulta difícil inferir acerca de alguna tendencia que pueda aplicarse al resto de los análisis morfológicos. La **Figura 52** muestra una múltiple variación entre grupos y entre generaciones en cuanto a la longitud de la papila caliciforme.

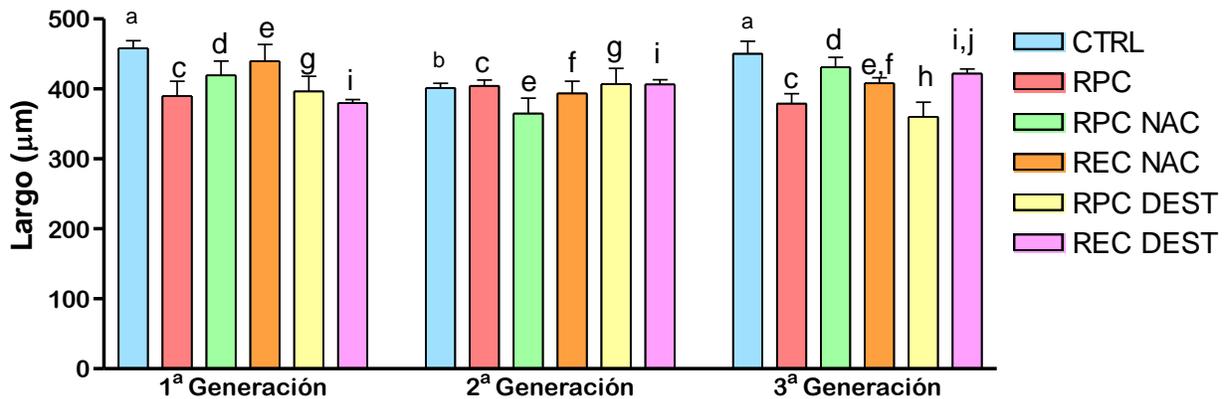


Figura 52. Comparación transgeneracional del largo de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.13.4.2. Ancho de la papila caliciforme en crías etapa P60

La **Figura 53** muestra los resultados de la medición del ancho de la papila caliciforme donde se presentó hipertrofia en los grupos recuperados.

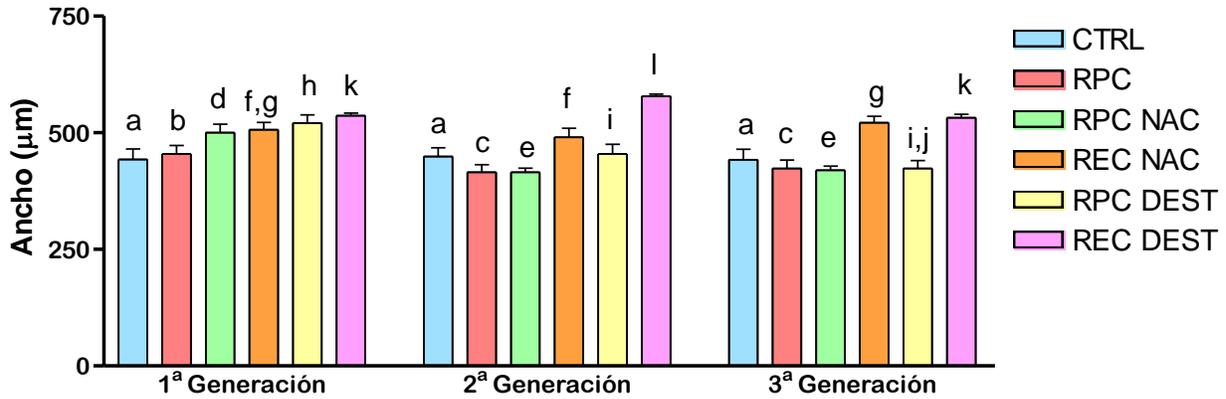


Figura 53. Comparación transgeneracional del ancho de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.13.4.3. Largo parte media de la papila caliciforme en crías etapa P60

En lo que concierne al largo en la parte media de la papila caliciforme, no hay alguna homogeneidad ni tendencia en los grupos a través de las generaciones, en general, los grupos son distintos entre sí, en una misma generación y entre generaciones (**Figura 54**).

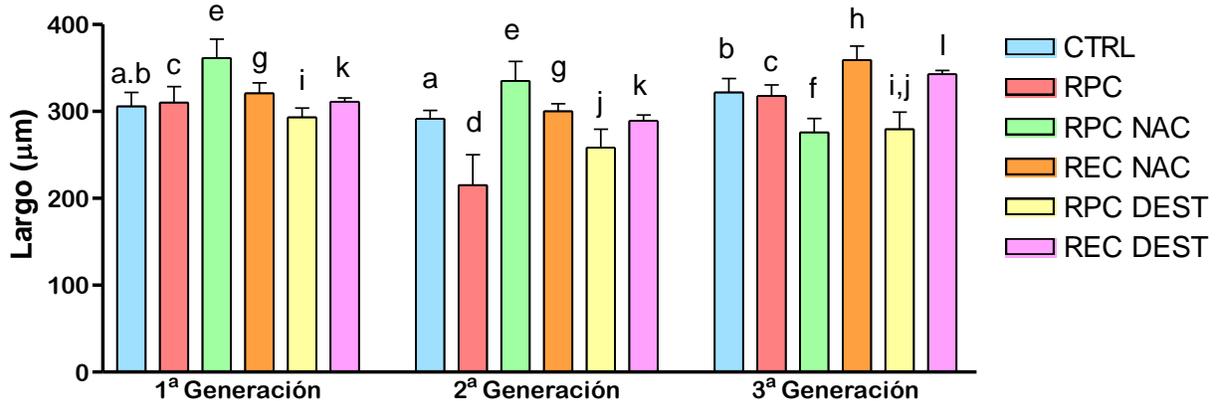


Figura 54. Comparación transgeneracional del largo de la parte media de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

Las mediciones correspondientes a la amplitud del tejido epitelial superior (**Figura 55**), inferior izquierdo (**Figura 56**) e inferior derecho (**Figura 57**), existe una alta variabilidad

entre cada uno de los grupos de cada parámetro evaluado, sin poder hacer inferencias o formular conclusiones a partir de los datos obtenidos.

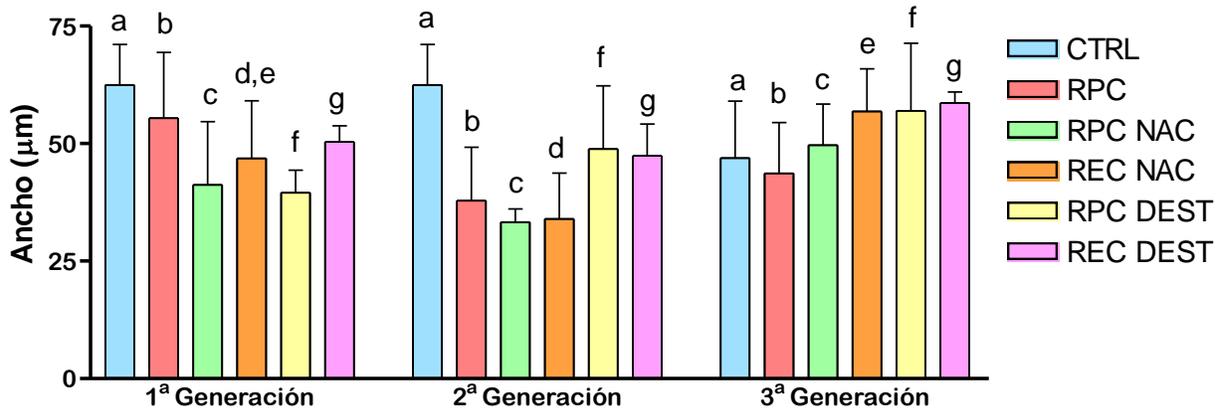


Figura 55. Comparación transgeneracional del ancho del tejido epitelial superior de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

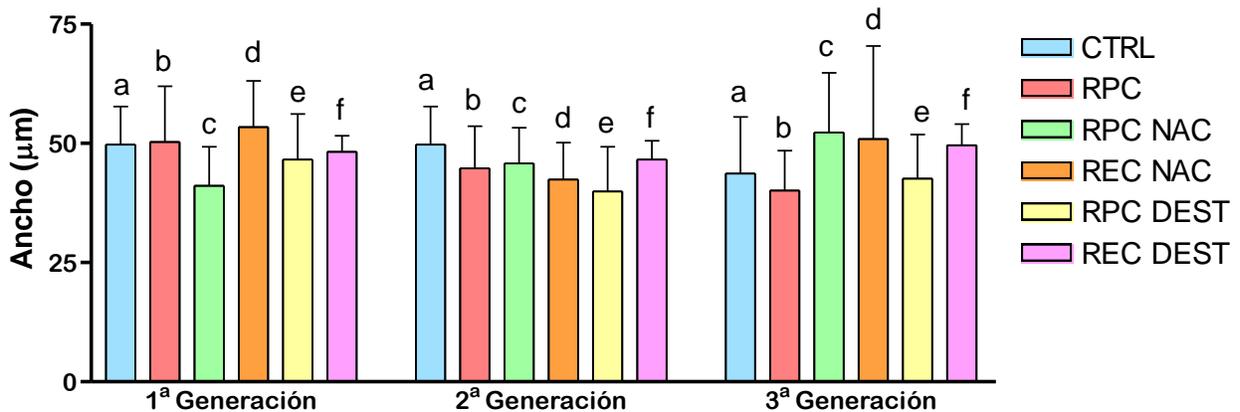


Figura 56. Comparación transgeneracional del ancho del tejido epitelial inferior izquierdo de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

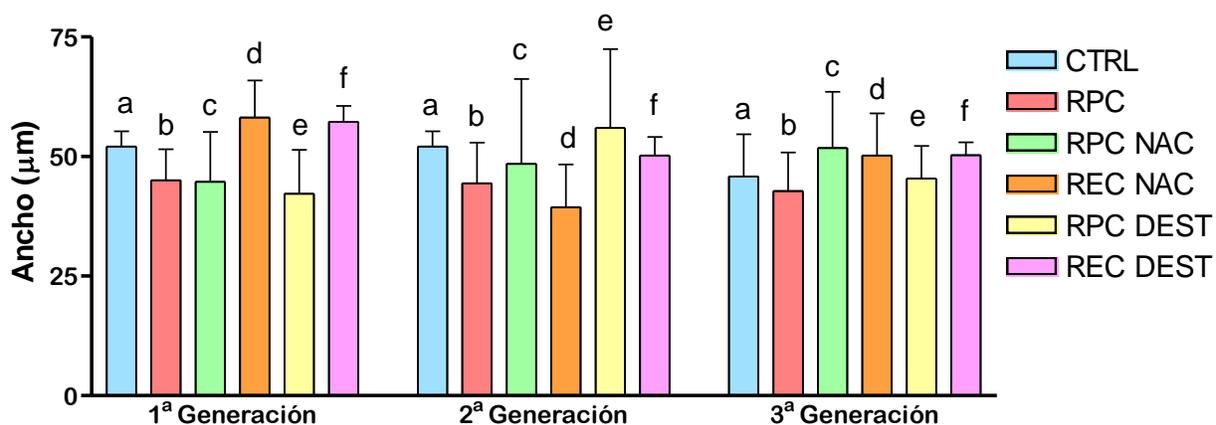


Figura 57. Comparación transgeneracional del ancho del tejido epitelial inferior derecho de la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.13.5. Número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme en una comparación transgeneracional

Una vez analizado el número de corpúsculos gustativos presentes en la papila caliciforme en ratas sometidas al esquema de restricción proteico-calórica, los resultados muestran una reducción de estos de hasta el 50% del total en los grupos RPC, RPC NAC y RPC DEST, lo que podría relacionarse con una disminución en cuanto a la percepción gustativa, teniendo en cuenta que se desconoce si los corpúsculos presentes son igualmente funcionales o si se podría aumentar o disminuir su función como consecuencia de la restricción alimenticia. Los grupos recuperados por su parte, no presentan variación entre generaciones pero nunca alcanzan los valores que presentan los grupos CTRL de cada generación correspondiente.

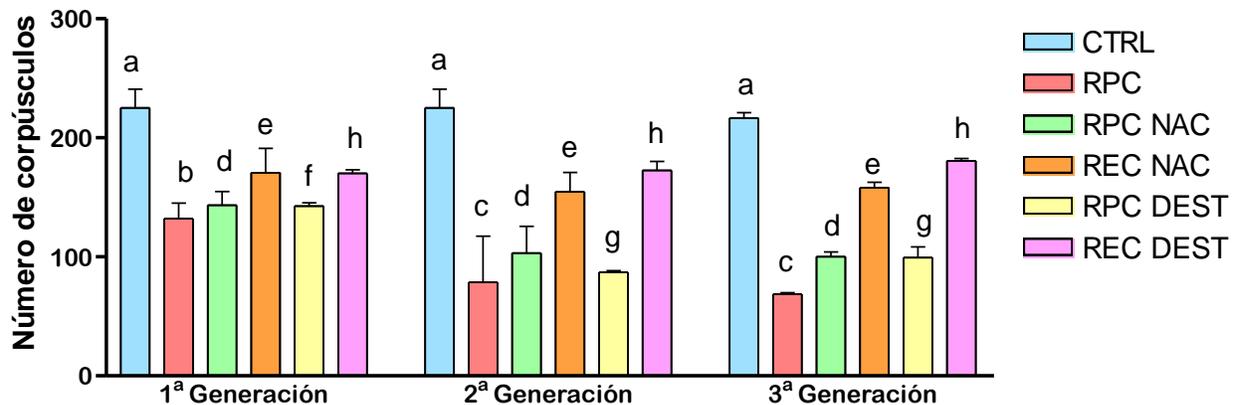


Figura 58. Comparación transgeneracional del ancho del número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme en crías bajo el esquema de RPC al 50%, etapa P60. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. Letras iguales no muestran diferencia significativa, letras diferentes indican una diferencia significativa entre grupos, $p \leq 0.05$ Anova y Tukey-Kramer.

VI.14. Fotomicrografías de la papila caliciforme en ratas bajo el esquema de restricción proteico-calórica

La evaluación morfológica de la papila caliciforme se realizó tomando en cuenta la parte media de la misma (se cuantificó el número total de cortes, esa cifra se dividió por la mitad y se analizaron ± 3 cortes secuenciales), se utilizó el programa Moticlimages Plus 2.0, las fotomicrografías fueron tomadas a una resolución de 40x.

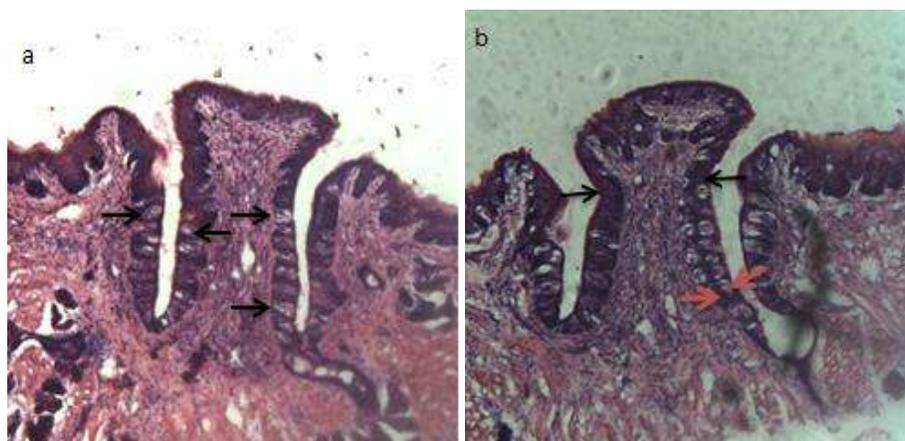


Figura 59. Papilas caliciformes de ratas correspondientes a la tercera generación. a) CTRL, las flechas color negro señalan la ubicación de los corpúsculos gustativos. b) RPC, la papila presenta un estrechamiento en la parte superior (flechas negras) y una reducción de las dimensiones del tejido epitelial inferior (flechas rojas).

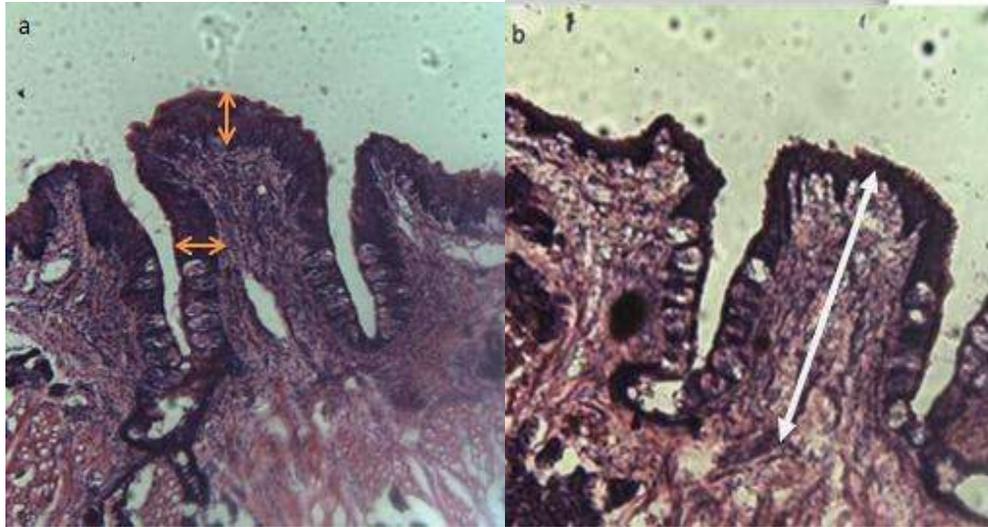


Figura 60. Papilas caliciformes de ratas correspondientes a la tercera generación. a) REC NAC, en la figura se aprecia un engrosamiento del tejido epitelial de la papila caliciforme. (Flechas naranjas). b) RPC DEST, la flecha blanca indica una disminución en la longitud de la papila caliciforme.

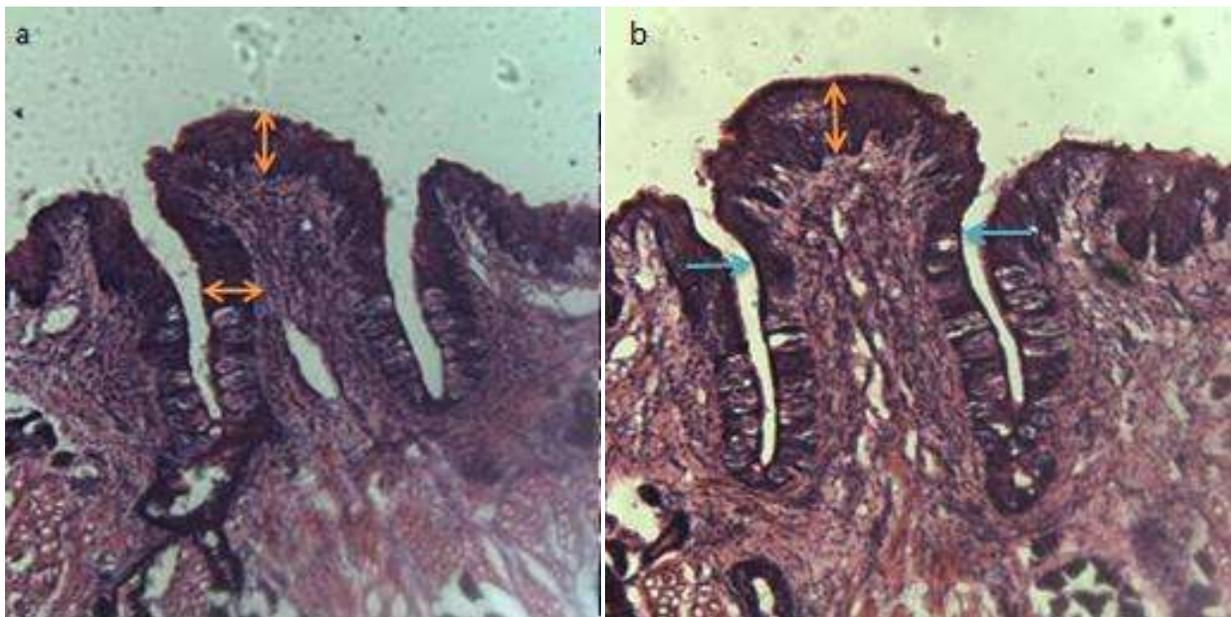


Figura 61. Papilas caliciformes de ratas correspondientes a la tercera generación. a) RPC NAC, en la figura se muestra la hipertrofia producida como consecuencia de la posible acción de mecanismos compensatorios. b) REC DEST, las flechas azules señalan un ligero estrechamiento de la parte superior de la papila caliciforme; las flechas naranjas señalan un cambio hipertrófico en la parte superior del tejido epitelial.

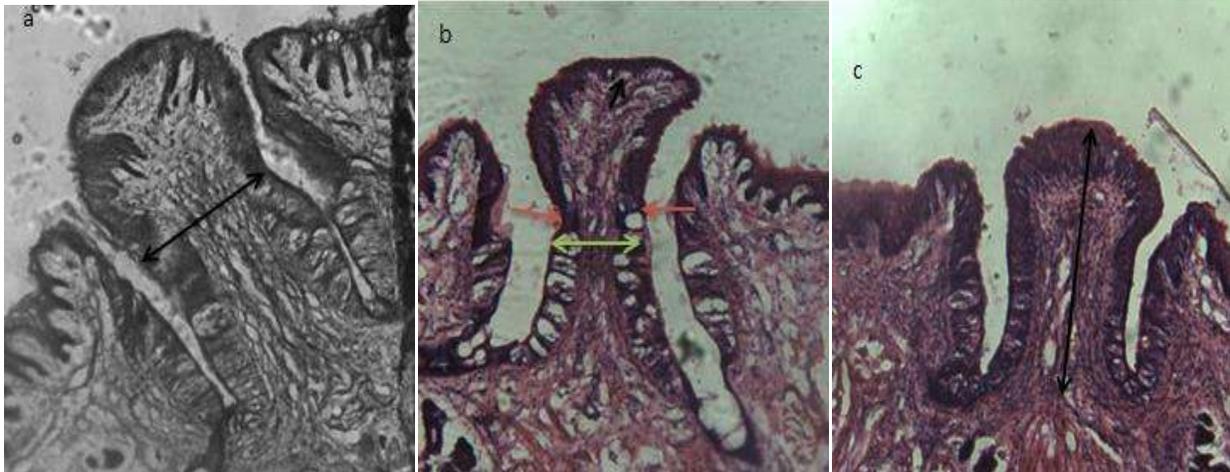


Figura 62. Papilas caliciformes de ratas bajo el esquema de restricción proteico-calórica. a) Primera generación: La imagen muestra un estrechamiento de la parte superior de la papila caliciforme. b) Segunda generación: En la figura se aprecian una disminución drástica de la amplitud de la papila, así como de las dimensiones del tejido epitelial. c) Tercera generación: En la imagen se indica la disminución de la longitud de la papila caliciforme. Todas las imágenes corresponden al grupo RPC de las generaciones estudiadas.

VII. DISCUSIÓN

La restricción proteico-calórica (RPC) ocurre cuando los requerimientos corporales de proteínas y sustratos de energía no pueden satisfacerse por medio de la dieta. Este tipo de restricción incluye un gran espectro de manifestaciones clínicas cuya presentación depende de la intensidad relativa de la deficiencia de proteínas y/o calorías, de la gravedad, de las etapas donde esta ocurre, la duración de la deficiencia y su relación con otras afecciones nutricionales o infecciones (Albarrán Bravo et al, 2008). En el presente trabajo no se cuantificó la concentración de 5-HT debido a que existen antecedentes de nuestro laboratorio y de otros trabajos que muestran que el esquema de RPC incrementa la síntesis de 5-HT (Manjarrez Gutiérrez et al, 1998; Kant et al, 2006; López et al, 2008). Se implementó un esquema de RPC al 50% y en condiciones de recuperación nutricional para evaluar si se presentan alteraciones implicadas con la desnutrición y si estas permanecen en tres generaciones sucesivas; se ha estudiado la presencia de efectos transgeneracionales en respuesta a cambios rápidos en la alimentación y estilo de vida, los cuales se asocian con epidemias de distribución mundial como lo son la obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2. De la misma manera, se han registrado cambios en cuanto a la conducta alimenticia, tanto en pacientes con desnutrición, como en pacientes con una recuperación posterior a un estado de restricción. Se ha propuesto que las alteraciones epigenéticas pueden tener efectos a largo plazo incluso en las generaciones sucesivas (Bloomfield F. et al 2011). Los resultados del presente trabajo muestran que en cuanto a los efectos de la RPC, son claramente notorios los cambios en lo que se refiere al peso corporal; en los grupos RPC, RPC NAC y RPC DEST, se presenta una disminución significativa respecto al control, con una tendencia a disminuir gradualmente a través de las generaciones. Lo anterior se ve sumamente ligado al hecho de que la restricción al 50% es considerablemente grave en un organismo sin embargo, sería de gran utilidad valorar los efectos de una restricción no tan elevada, ya que la situación económica mundial ha permitido erradicar en una cierta magnitud el hambre entre la población más marginada, pero aun así, quedan muchas personas que son o han sido sometidas a una restricción alimenticia, que aunque no tan grave como

la implementada en el esquema de estudio, si podría llegar a ser determinante para el desarrollo normal del individuo (ENSANUT 2012).

Por otro lado, los grupos con recuperación nutricional (REC NAC y REC DEST), muestran un aumento en el peso corporal, que llega a igualarse e incluso a superar los niveles normales (obtenidos del peso de los grupos CTRL); lo anterior puede explicarse debido a que los anteriores son grupos que padecieron una RPC *in útero*, los cambios en la expresión de proteínas se ve afectada por la implicación de los nutrientes de la dieta en el flujo de información genética del ADN.

Se han propuesto varias teorías para tratar de explicar los efectos de la RPC a largo plazo; la Teoría del desarrollo fetal de la enfermedad, más comúnmente conocida como la hipótesis de Barker, establece que una alteración *in útero* sería capaz de producir una programación anormal de diversos sistemas relacionados entre sí que se manifestaría en una etapa adulta y bajo condiciones específicas de crecimiento. Otra aseveración, la Hipótesis del fenotipo “Ahorrador” (“Thrifty”), donde Hales y Barker en 1992 propusieron que la restricción fetal puede inducir adaptaciones fisiológicas y/o metabólicas en el feto para asegurar su adecuada alimentación y obtención de nutrientes para los órganos vitales (ej. cerebro) a expensas de otros órganos menos vitales (ej. páncreas). Se propone que si un feto en crecimiento es malnutrido o restringido, adoptará varias estrategias para maximizar sus oportunidades de supervivencia postnatal: Primero distribuye selectivamente los nutrientes a fin de alterar el crecimiento de los diferentes órganos. Segundo, ocurre la programación metabólica conduciendo a cambios metabólicos en la progenie lo que incrementa sus oportunidades de condiciones de supervivencia durante una situación de pobre nutrición postnatal. Sin embargo, estas adaptaciones generan modificaciones al estado de salud si el organismo sufre de alteraciones nutricionales durante el desarrollo intrauterino, o experimenta una buena nutrición en la etapa postnatal (lactación), incrementándose el riesgo de padecer enfermedades relacionadas con el Síndrome Metabólico (Albarrán Bravo et al, 2008).

En cuanto a las variaciones presentadas en la longitud céfalo-sacra, se aprecian alteraciones similares a lo ocurrido con el peso, sin embargo, es en la tercera generación donde se observan cambios más evidentes; es decir, los grupos con RPC muestran una disminución en su mayoría homogénea entre ellos, y lo mismo sucede con los grupos recuperados (REC NAC y REC DEST) aunque después de 2 generaciones, estos grupos recibieron una alimentación *ad libitum*, no alcanzan los mismos niveles que presenta el grupo CTRL, lo que nos indica que los mecanismos compensatorios a los efectos de la desnutrición, no son eficientes y ese organismo no alcanza la talla normal. Numerosos estudios muestran que el retraso en el crecimiento en desnutridos es debido a una disminución de los niveles de la Hormona del Crecimiento (GH), la cual estimula el crecimiento y la reproducción celular; ocurre que se presenta una concentración elevada de la hormona, pero a la vez, se muestran bajos niveles en el factor de crecimiento insulínico (IGF), lo cual tiene lugar cuando el hígado presenta una resistencia a la GH, con lo que aumentan los niveles de esta hormona en plasma. Con lo anterior, es posible apreciar los efectos de la desnutrición en etapas claves del desarrollo, lo que además conduce a un desequilibrio metabólico (Martins et al, 2011).

Haciendo referencia al sistema gustativo, periférico, la relación funcional de éste con la 5-HT ha sido esclarecida por una parte; resultados anteriores muestran la expresión de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y 5-HT₁₃ en células gustativas (Kaya N. et al, 2004); asimismo la expresión del receptor 5HT_{2B} es regulada por 5-HT (Acosta Chávez et al, 2010), así como la expresión de las dos isoformas de la Tph durante etapas del desarrollo de la papila caliciforme en ratones (Ortiz et al, 2006); de la misma manera se ha propuesto la teoría de la presencia de un sistema serotoninérgico presente en el epitelio lingual (Guzmán Quevedo O. 2007), y más específicamente en las papilas gustativas. Por otro lado, se ha considerado el papel de la 5-HT como factor trófico en el sistema gustativo, debido a la evidencia anteriormente citada y como parte de esta investigación para apoyar la hipótesis anterior, donde los efectos de la RPC en el sistema gustativo (hipertrofia) son evidentemente claros, lo cual se puede atribuir a la

alteración del sistema serotoninérgico presente en dicho sistema; dentro de los parámetros evaluados, las diferencias significativas de los grupos bajo el esquema de RPC se presentan transgeneracionalmente, en cuanto a la morfología de la papila, la longitud y la amplitud de la misma se encuentran en rangos anormales respecto al grupo CTRL, lo anterior podría atribuirse a la modificación en la síntesis de 5-HT *in útero*, además de otros factores involucrados en la diferenciación y crecimiento celular, como pueden ser BDNF, BMP, Sox-2, Sonic hedgehog, los cuales regulan la diferenciación de las células gustativas en etapas tempranas de la gestación, el desarrollo de las papilas gustativas además de la inducción y diferenciación de las fibras nerviosas del sistema gustativo en el SNC. Una de las perspectivas que resulta importante evaluar es la expresión de alguno de los anteriores factores en grupos con RPC.

La relevancia fisiológica de la conexión funcional entre sistema gustativo y RPC, además del papel de la 5-HT, se ve reflejada en el hecho de que el consumo de alimentos se modifica como consecuencia de la RPC, la cual es un promotor directo del desarrollo de enfermedades concernientes al Síndrome Metabólico, del mismo modo se puede considerar la predisposición a desarrollar en alguna etapa de la vida, trastornos alimenticios como anorexia y bulimia; debido a cambios en la preferencia hacia ciertos grupos de alimentos, como lo son aquellos con un alto porcentaje de carbohidratos y lípidos en su composición. Se puede suponer que alguno de los mecanismos que dirigen la conducta alimenticia a nivel de SNC, permanece alterado después de someterse a un régimen de RPC, como se ha visto tanto en roedores como en humanos (Ayres C. et al, 2012).

Hallazgos obtenidos tras la realización del presente trabajo en lo que concierne al número de corpúsculos gustativos, muestran una reducción importante en el número de ellos, siendo los más afectados los grupos RPC (se presentó una disminución de hasta el 50%); por su parte, los grupos recuperados nunca llegan a igualar los valores correspondientes al grupo CTRL. Resulta por lo tanto de suma importancia, la valoración de la percepción gustativa en animales bajo un esquema de restricción

alimenticia para tratar de comprender un poco más acerca de la regulación por parte de la 5-HT en el sistema gustativo, tanto periférico como central.

Estudios experimentales de animales bajo un esquema de restricción proteica muestran que la programación epigenética es la respuesta a estados de desnutrición gestacional para adaptarse a periodos críticos durante el desarrollo fetal y una permanente modificación fisiológica y metabólica para sobrevivir, como el aumento de tejido adiposo para garantizar energía al metabolismo (Miñana y Escobar, 2007).

La programación y epigenética del individuo es producto de alteraciones y cambios en los niveles de neurotransmisores, por ejemplo, el aumento en la concentración de 5-HT induce a una desestabilización en la acción anoréxica por esta misma, cambios en los circuitos hipotalámicos y por lo tanto desordenes en la ingesta de comida (López et al., 2008).

VIII. CONCLUSIÓN

El estrés nutricional presente durante el desarrollo de la rata induce cambios en la plasticidad de la papila caliciforme y el efecto se mantiene en generaciones subsecuentes.

IX. REFERENCIAS

- Abayomi T. A., Ofusori D. A., Ayoka O. A., Odukoya S. A., Omotoso E. A., Amegor F. O., Ajayi S. A., Ojo G. B., Oluwayinka O. P. (2009). A Comparative Histological Study of the Tongue of Rat (*Rattus Norvegicus*), Bat (*Eidolon Helvum*) and Pangolin (*Manis Tricuspis*). *Int. J. Morphol.*, 27(4):1111-1119.
- Acosta Chávez J., (2010) Neurontogenia del receptor 5-HT_{2B} de la papila caliciforme del receptor 5-HT_{2B} de la papila caliciforme de la rata. (Tesis de Maestría). Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México.
- Acosta Chávez J., Mercado Camargo R. (2010) Ontogenia de los receptores 5-HT_{2B} y 5-HT₃ en la papila caliciforme de rata. *Ciencia Nicolaita No. Especial 2010*. 1-8.
- Albarrán-Bravo S. Acosta-Chávez J., Guzmán Quevedo O., Hernández Rebollar M., Mercado-Camargo R. (2008) Implementación de un modelo de restricción proteico-calórico en ratas para el estudio del síndrome metabólico. *BIOLÓGICAS*, No. 10, pp. 79-86.
- Ayres C., Agranonik M., Portella A., Filion F., Johnston C., Silveira P. (2012) Intrauterine Growth Restriction and the Fetal Programming of the Hedonic Response to Sweet Taste in Newborn Infants. *International Journal of Pediatrics*. Volume 2012, Article ID 657379, 5 pages.
- Barajas Sepúlveda C. M., Miranda Orjuela S. M., Barrientos Sánchez S. (2002) Función gustativa con respecto a la edad. *Univ. Odontol.* 22 (48): 34-40.
- Béjar Ojeda A., Moreno Alatorre C. (1980) Neurolépticos y neurotransmisores. Revisión bibliográfica. *REV. MEX. ANEST. Ep. II. Vol. 3 No. 4*.
- Berumen L. C., Rodríguez A., Miledi R., García-Alcocer G. (2012) Serotonin receptors in Hipocampus. *The Scientific World Journal*. Vol. 2012, Article ID 823493, 15 pages.
- Bloomfield, Frank H. (2011) Epigenetic modifications may play a role in the developmental consequences of early life events. *J Neurodevelop Disord*, 3:348-355.
- Boullosa, O.; López-Mato, A.; Cetkovich-Bakmas, M.; Ciprian-Ollivier, J. (2010) Actualización en serotonina. *Asociación Argentina de Psiquiatría Biológica. Revista de Neurobiología*. Pág. 1-13.
- Bradley, R.M., Cheal M. L. and Kim Y. H. (1980) Quantitative analysis of developing epiglottal taste buds in sheep. *J. Anat.*, 130: 25-32.
- Chaudhari N., Pereira E., Roper S.D. (2009) Taste receptors for umami: the case for multiple receptors. *Am J Clin Nutr*; 90 (suppl): 738S-42S.
- Chaudhari N., Roper S.D. (2010). The cell biology of taste. *The journal of cell biology*. Vol. 190, No. 3. 285-296.

- Chen X., Gabitto M., Peng Y., Riba N. J. P., Zucker C. S. (2011) A gustotopic map of taste qualities in the mammalian brain. *Science*, vol. 333: 1262-1266.
- Chen Y., Sun X-D., Herness M. S. (1996) Characteristics of action potentials and their underlying outward currents in rat taste receptor cells. *J. Neurophysiol* 75: 820-831.
- Desai M., Babu J., Ross M. (2007). Programmed metabolic syndrome: prenatal undernutrition and postweaning overnutrition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R2306-R2314.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012. Instituto Nacional de Salud Pública. Secretaría de Salud.
- Entringer, S., Buss C., Swanson J. M., Cooper D. M., Wing D. A., Waffarn F., Wadhwa, P. D. (2012) Fetal programming of body composition, obesity and metabolic function: The role of Intrauterine stress and stress biology. *Journal of Nutrition and Metabolism*. Volume 2012, Article ID 632548, 16 pages.
- Fark T, Hummel C, Hähner A, Nin T, Hummel T. (2012) Characteristics of taste disorders. *Eur Arch Otorhinolaryngol*.
- Fuentes A., Fresno M. A., Santander H., Valenzuela S., Gutiérrez M. P., Miralles R. (2010) Gustatory Sensory Perception: a Review. *Int. J. Odontostomat.*, 4(2):161-168.
- Gray H. (1998) *Gray's anatomy*. Harcourt Brace Publishers International. Madrid, España. 1312-1315, 1686-1725.
- Gutknecht L., Araragi N., Merker N., Waider J., Sommerlandt F., Mlinar B., Baccini G., Mayer U., Proft F., Hamon M., Schmitt A., Corradetti R., Lanfumey L., Lesch K. (2012) Impacts of brain serotonin deficiency following Tph2 inactivation on development and Raphe neuron serotonergic specification. *PLoS ONE* 7(8): e43157.
- Guyton, A. C., Hall J. E. (2006) *Tratado de Fisiología Medica*. Décimo primera edición. Editorial Elsevier.
- Guzmán Quevedo O. (2007) Participación de la serotonina en el desarrollo de las papilas gustativas de ratón. (Tesis de Maestría). Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México.
- Hernández M. I., Mericq V. (2011) Metabolic syndrome in children born small-for gestational age. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2011;55/8.
- Hochberg Z., Feil R., Constanza M., Fraga M., Junien C., Carel J. C., Boileau P., Le Bouc Y., Deal C.L., Lillycrop K., Scharfmann R., Sheppard A., Skinner M., Szyf M., Waterland R.A., Waxman D. J., Whitelaw E., Ong K., Albertsson-Wikland K. (2011) Child Health, Developmental Plasticity and Epigenetic Programming. *Endocrine Reviews*, 32: 159-224.

- Hoyer D., Clarke D., Fozard J., Hartig P., Martin G., Mylecharane E., Saxena P., And Humphrey P. (1994). International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). PHARMACOLOGICAL REVIEWS, Vol. 46, No.2
- Huang Y. J., Maruyama Y., Lu K., Pereira E., Roper S. D. (2005). Mouse taste buds release serotonin in response to taste stimuli. Chem. Senses 30 (suppl 1): i39-i40, 2005.
- Ishimaru Y., (2009). Molecular mechanisms of taste transduction in vertebrates. Odontology 97: 1-7.
- Kanth VR, Reddy PU, Raju TN. (2006) Behavioral, morphological and physiological shift in the rats administered with tryptophan deficient regimen. Nutr Hosp. 2006 Sep-Oct; 21(5):596-603.
- Kaput J. (2004) Diet-Disease gene interactions. Nutrition 20:26-31, 2004.
- Kim DJ, Roper SD. (1995) Localization of serotonin in taste buds: a comparative study in four vertebrates. J Comp Neurol. 13; 353 (3):364-70.
- Krimm R. F. (2007) Factors that regulate embryonic gustatory development. BMC Neuroscience 2007, 8(Suppl 3):S4.
- Laugerette F., Gaillard D., Passilly-Degrace P., Niot I., Besnard P. (2007) Do we taste fat?. Biochimie 89 (2007) 265-269.
- Lindemann B. (2001) Receptor and transduction in taste. Nature, Vol. 443: 219-225.
- Lópes de Souza S, Orozco-Solís R, Grit I, Manhães de Castro R, Bolaños-Jiménez F. (2008) Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. Eur J Neurosci. 2008 Mar; 27(6):1400-8.
- Macías Sánchez K., Zazueta Novoa V., Mendoza Macías C., Rangel Serrano A., Padilla Vaca F. (2008) Epigenética, más allá de la genética. Acta Universitaria, enero-abril, año/vol. 18, número 001. pp. 50-56
- Magnold J. E., Hill D. L. (2007) Extensive reorganization of primary afferent projections into the gustatory brainstem induced by feeding sodium – restricted diet during development: less is more. The journal of neuroscience. 27 (17): 4650 – 4662.
- Manjarrez Gutiérrez G., Herrera Márquez J. R., Bueno Santoyo S., González Ramírez M., Hernández R. J. (2000) Cambios en la biosíntesis de serotonina cerebral en ratas con diabetes mellitus inducida por estreptozotocina: efecto del tratamiento con insulina. Revista de Investigación Clínica. Vol. 52 No. 5. Pág. 509-516.
- Manjarrez Gutiérrez G., Herrera Márquez R., Hernández Zamora E., Manuel Apolinar L., González Ramírez M., Hernández J. (1998) Elevación crónica de la síntesis de serotonina cerebral en rata adulta desnutrida in útero y recuperada nutricionalmente durante el amamantamiento. Bol Med Hosp Infant Mex. Volumen 55 Numero 11.

- Martins V.J.B., Toledo Florencio T. M. M., Grillo L. P., Franco M. do C., Martins P. A., Clemente A. P., Santos C. D. L., Vieira M. de F., Sawaya A. L. (2011) Long-lasting effects of undernutrition. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 8, 1817-1846.
- Mercado C.R., Hernández J. (1992). A molecular recognizing system of serotonin in rat fetal axonal growth cones; Uptake and high affinity binding. *Develop. Brain Res* 69:133-137.
- Miñana, S.M. y Escobar, C. (2007) Increased Susceptibility to Metabolic Alterations in Young Adult Females Exposed to Early Malnutrition. *J. Biol. Scienc.*3:12-19.
- Mistretta C. M., Hong- Xiang L. (2006) Development of fungiform papillae: Patterned lingual gustatory organs. *Arch Histol Cytol*, 69 (4): 199-208.
- Miura H., Kusakabe Y., Harada S. (2006) Cell lineage and differentiation in taste buds. *Arch. Histol. Cytol.* 69 (4): 209-225.
- Mojet J., Christ-Hazelhof E., Heidema J. (2001). Taste perception with age: generic or specific losses in threshold sensitivity to the five basic tastes. *Chem Senses* 26: 845-860.
- Molero Chamizo A. (2007). Aprendizaje aversivo gustativo: Características, paradigma y mecanismos cerebrales. *anales de psicología* 2007, vol. 23, nº 1 (junio), 57-64
- Morales A., Marti A. (2012) Influencia del ambiente-alimentación en la programación epigenética de la obesidad. *Rev. Fisiol. Alim.* 31008. pp: 1-21.
- Moreira de Andrade F., Judice L. F., Perez Cardoso G., Cisne R., Ramos C da F., Babinsky M.A. (2012) Maternal malnutrition during lactation in Wistar rats, effects on elastic fibers of the extracellular matrix in the trachea of offspring. *J. Bras Pneumol.* 2012, 38(5):588-594.
- Namik Kaya, Tiansheng Shen, Shao-gang Lu, Fang-li Zhao and Scott Herness. (2004) A paracrine signaling role for serotonin in rat taste buds: expression and localization of serotonin receptors subtypes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R649–R658.
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Pág.1-58.
- OMS. UNICEF-WHO- The World Bank joint child malnutrition estimates. Global Nutrition Database.
- Ortiz-Alvarado R., Guzman-Quevedo O., Mercado-Camargo R., Haertle T., Vignes C., Bolaños-Jimenez F. (2006) Expression of tryptophan hydroxylase in developing mouse taste papillae. *FEBS Letters* 580, 5371–5376
- Ortiz-Alvarado R., Nava-Barrios L. M., Rodríguez-Barron A., Meza-Carmen V. (2011). Co-localización del receptor GPR43 y gustadina en células gustativas de rata adulta. *Biológicas*, Diciembre 2011, 13 (2): 48-52.
- Prado-Rodríguez, L., Mercado-Camargo, R. (2010) Efecto de la dme sobre la expresión de receptores del gusto azucarado en las papilas caliciforme y fungiforme de la rata. *Ciencia Nicolaita no. Especial* 2010, 1-10.

- Razumiejczyk E., Macbeth G. E., López A. O. (2006) La percepción gustativa y su organización neurocognitiva. IIPUS.
- Roper S. D. (2007) Signal transduction and information processing in mammalian taste buds. *Eur J Physiol.* 454: 759- 776.
- Rubio Navarro L., Torrero C., Salas M. (2011) Basic brainstem taste responsiveness: effects of perinatal influences. *Revista eNeurobiología* 2(1):09051.
- Sánchez-López A., Centurión D., Lozano-Cuenca J., Muñoz-Islas E., Cobos-Puc E., Villalón C. (2008) Receptores de la serotonina que inhiben el tono simpático vasopresor en la rata descerebrada y desmedulada. *Arch Cardiol Mex* 2009; 79(Supl 2.): 83-94
- Smith J., Boughter D. (2007) *Neurochemistry of the gustatory system.* Springer – Verlag Berlin Heidelberg. 2007 110-111.
- Sugita M. (2006) Taste perception and coding in the periphery. *Cell.Mol. Life Sci.* 63.2000-2015.
- Suzuki T., (2007) Cellular mechanisms in taste buds. *Bull Tokyo Dent Coll.* 48 (4): 151-161.
- Taiwo A. Abayomi; David A. Ofusori; Oladele A. Ayoka; Samson A. Odukoya; Emmanuel O. Omotoso, Frank O. Amegor; Sunday A. Ajayi; Gideon B. Ojo & Oladele P. Oluwayinka. (2009). A Comparative Histological Study of the Tongue of Rat (*Rattus norvegicus*), Bat (*Eidolon helvum*) and Pangolin (*Manis tricuspis*). *Int. J. Morphol.*, 27(4):1111-1119.
- Tomchik S. M., Berg S., Kim J. W., Chaudhari N., Roper S. D. (2007) Breadth of Tuning and Taste Coding in Mammalian Taste Buds. *The Journal of Neuroscience*, 27(40):10840 –10848.
- Varvarigou A. Anastacia. (2010) Intrauterine Growth Restriction as a Potential Risk Factor for Disease Onset in Adulthood. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism.* 23, 215-224.
- Wakisaka S., (2005) Lectin histochemistry of taste buds in the circumvallate papilla of the rat. *Chem. Senses* 30 (suppl 1): i46 – i47.
- Wockel L., Jacob A., Holtmann M., Poustka F. (2008) Reduced number of taste papillae in patients with eating disorders. *J Neural Trasm* 115: 537-544.
- Yamamoto T., Nagai T., Shimura T., Yasoshima Y. (1998) Roles of chemical mediators in the taste system. *Jpn. J. Pharmacol.* 76, 325-348.
- Yi-Jen Huang, Yutaka Maruyama, Kuo-Shyan Lu, Elizabeth Pereira, Ilya Plonsky, John E. Baur, Dianqing Wu, and Stephen D. Roper. (2005) Mouse Taste Buds Use Serotonin as a Neurotransmitter. *The Journal of Neuroscience*, January 26, 2005. 25(4):843– 847.