



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**  
**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**



**“ACTIVIDAD DE LA BOMBA DE SODIO Y POTASIO EN PAPILA  
CALICIFORME DE RATAS CON RESTRICCIÓN PROTEICO-CALORICA.”**

**TESIS**

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

**PRESENTA:**

**P.Q.F.B. JESUS EDUARDO SÁNCHEZ VARGAS**

**ASESOR: D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO**

TESÍS PARCIALMENTE APOYADA POR CIC-UMSNH 2014,  
CONACYT-ANUIES-ECOS-NORD M-12-S01. CECTI-2014

MORELIA, MICHOACÁN NOVIEMBRE DEL 2014

## **DEDICATORIA**

A Karina y mis hijos Jared e Ian por ser el motor principal de mi vida.

A mis padres por su apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios porque sin el nada se hubiera logrado.

A mi asesor, el DC. Rosalío Mercado Camargo, por brindarme la oportunidad de aprender en su laboratorio, por su tiempo y apoyo.

A mis sinodales

A mis compañeros de Laboratorio, Robe, Omar, Edson, Oscar, Getza, Pedro, Felipe por el tiempo compartido en este camino de la investigación, y a Susy por su colaboración y apoyo en este trabajo.

A mis hermanos Israel y Angélica y mi cuñado José por confiar en mí.

# ÍNDICE

## *Contenido*

DEDICATORIA.	1
AGRADECIMIENTOS.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
ÍNDICE.	3
II. LISTA DE ABREVIATURAS.	4
RESUMEN.	7
INTRODUCCIÓN.	9
Restricción proteico-calórica o desnutrición.	9
El proceso de programación fetal.	10
Sistema gustativo.	14
Serotonina.	17
Sistema Nervioso Central.	18
Bomba de Sodio y Potasio ATPasa. $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa	19
JUSTIFICACIÓN.	21
HIPOTÉISIS.	22
OBJETIVOS.	22
MATERIAL Y METODOS.	22
RESULTADOS.	24
DISCUSIÓN.	38
CONCLUSIÓN.	40
BIBLIOGRAFIA.	41

## II. LISTA DE ABREVIATURAS

5-HIAA	–	Ácido 5-hidroxi-indolacético
5-HT	–	Serotonina, 5-Hidroxitriptamina
ECV	–	Enfermedad cardiovascular
SM	–	Síndrome metabólico
p.e.	–	Peso equivalente
DNA	–	Ácido desoxirribonucleico
RNA	–	Ácido ribonucleico
ATP	–	Trifosfato de adenosina
rpm	–	Revoluciones por minuto
Cl <sup>-</sup>	–	Ion cloruro
D.E.	–	Desviación estándar
CTL	–	Control
CTL PD	–	Control padre desnutrido
RN	–	Recuperada al nacimiento
RD	–	Recuperada al destete
RPC	–	Restricción proteico-calórica
RPC PD	–	Restricción proteico-calórica padre desnutrido
H <sub>2</sub> O	–	Agua
K <sup>+</sup>	–	Ion potasio

KCl	–	Cloruro de potasio
L-Trp	–	L-triptófano
RPC NAC	–	Restricción proteico-calórica al nacimiento
MgCl <sub>2</sub>	–	Cloruro de magnesio
mM	–	Milimolar
N	–	Normalidad
Na <sup>+</sup>	–	Ión sodio
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa	–	Bomba de sodio y potasio
NaCl	–	Cloruro de Sodio
RPC DEST	–	Restricción proteico-calórica al destete
SM	-	Síndrome Metabólico
SNC	–	Sistema nervioso central
SNP	–	Sistema nervioso periférico
TCA	–	Ácido tricloroacético
TPH	–	Triptófano hidroxilasa
Tris-HCl	–	Buffer de base trisma con ácido clorhídrico
w/v	–	Relación peso/volumen
µg	–	Microgramo
µL	–	Microlitro
L	–	Litro
mEq	–	Miliequivalentes
%	–	Por ciento
CTS	–	Esteroides cardiotónicos
Kg	–	Kilogramos
LSD	–	Ácido lisérgico

T1R	–	Receptor del gusto tipo 1
T2R	–	Receptor del gusto tipo 2
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
GI	–	Gastrointestinal
P3	–	Día postnatal 3
P7	–	Día postnatal 7
P14	–	Día postnatal 14
P21	–	Día postnatal 21
P30	–	Día postnatal 30
P60	–	Día postnatal 60
Pi	–	Fosfato inorgánico

## RESUMEN

La restricción proteico-calórica en etapas tempranas de vida promueve cambios genéticos permanentes en el individuo, siendo las primeras dos semanas de gestación una etapa crítica para el periodo fetal, ya que ocurren cambios metabólicos tanto para la madre como para el feto teniendo lugar la movilización de reservas de energía para preparar al neonato para el resto de su vida, estos ajustes serán causa de adaptaciones importantes que se manifestarán en la vida adulta. La calidad y el tipo de alimentación que tenga la madre durante la gestación y la lactancia serán muy importantes ya que determina las preferencias alimentarias del nuevo ser, aunque con diferentes tipos de desnutrición se ve afectado el sistema gustativo durante toda su vida dificultando la percepción de los sabores. Durante la desnutrición se experimentan cambios en las concentraciones en los niveles de serotonina haciéndose elevada en tejidos cerebrales como corteza y cerebelo teniendo relación esto con mayor actividad de la bomba de sodio y potasio. En el tejido cerebral se ha observado que la serotonina estimula la actividad de la bomba de sodio y potasio, en la papila caliciforme de la rata no existen reportes de actividad de la bomba de sodio y potasio y si ésta es modulada por serotonina por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar si existe actividad de la bomba de sodio y potasio y si ésta se modifica en ratas con restricción proteico-calórica. Los resultados obtenidos muestran que existe actividad basal de la bomba de sodio y potasio en la papila caliciforme de la rata y ésta disminuyó en los grupos con restricción proteico-calórica. Estos datos sugieren que la modulación de la actividad de la bomba de sodio y potasio por serotonina es diferente a la observada en otros tipos celulares.

Palabras Clave: Sistema Serotoninérgico, Desnutrición, Regulación enzimática.



## ABSTRAC

Protein-calorie restriction early in life promotes permanent genetic changes in the individual, the first two weeks of gestation are critical for fetal period, due to metabolic changes that occur for both mother and fetus such as the mobilization of energy reserves to prepare the infant for the rest of its life, these settings will cause significant adjustments manifest in adulthood. The quality and type of food that has the mother during pregnancy and lactation is very important because it determines the food preferences of the new being, but with different types of malnutrition the gustatory system is affected difficult flavors perception. During malnutrition, the mother suffers changes in the concentrations of serotonin levels, increasing those levels in brain tissue such as cortex and cerebellum resulting in a increasing of the sodium potassium pump activity. In brain tissue has been observed that serotonin stimulates the sodium potassium pump activity, but there has not been reported any activity in the circumvallate papilla's rat of the sodium potassium pump and if it is modulated by serotonin. The aim of this study is to determine whether there is activity in the sodium potassium pump, and if it is modified in rats with protein-calorie restriction. The results show that there is basal activity of the sodium and potassium pump in the circumvallate papilla of the rat and it is decreased in the groups with protein-calorie restriction. These data suggest that modulation of the activity of sodium-potassium pump serotonin is different to that observed in other cell types.

Key words: Serotonin System, Malnutrition, enzyme regulation.

## INTRODUCCIÓN.

### Restricción proteico-calórica o desnutrición

La asimilación deficiente de alimentos por el organismo, conduce a un estado patológico de distintos grados de seriedad, de distintas manifestaciones clínicas que se le llama desnutrición (Gómez, 2003).

La insuficiencia nutricional es uno de los principales factores no genéticos que afectan el desarrollo del cerebro. La desnutrición tiene incidencia en deficiencias nutricionales fetales e infantiles y evidencia de que los efectos nutricionales sobre el cerebro en desarrollo son de larga duración y conducen a déficit permanente en el aprendizaje y el comportamiento. Existen numerosos informes de resultados del deterioro cognitivo de la atención prenatal y postnatal, la cual se da especialmente en los grupos socioeconómicamente más desfavorecidos (Morgane et al., 2002).

Desde la fecundación, acontecen en el nuevo ser múltiples procesos que incrementan paulatinamente el número y tamaño de sus células, así como su especialización funcional que le permitirán adaptarse y sobrevivir extrauterinamente. Desde el ovulo fecundado, hasta el momento del parto tiene lugar la puesta en marcha de un programa de información “impreso” en sus propios genes e influido por el estatus materno, dónde no solo existen factores genéticos, sino ambientales, como la alimentación, que ejerce un papel central, los niveles hormonales materno-fetales y placentarios, el posible estrés, la presencia de factores tóxicos (Pascual-Leone et al., 2008).

Las dos primeras semanas del periodo embrionario son críticas, y adaptan al embrión muy vulnerable, cuando las condiciones son adversas. En el periodo fetal, puede tener lugar alteraciones morfológicas menores, pero importantes adaptaciones fisiológicas. Esta etapa es susceptible de ajustes que dan origen a la programación fetal (Moore et. al., 2003; Thompsom et. al., 2008; Barker et. al., 2008). Durante el embarazo, acontecen dos periodos fundamentales en la madre. El primero de índole anabólico o de creación de reserva seguido de una etapa en la que tiene lugar la movilización de las reservas creadas y la adaptación para el parto. Así, la primera etapa se extiende aproximadamente 2/3 del embarazo (p.e. 26-27 semanas en los humanos y 14 días en las ratas) (Herrera et. al., 1988). En la fase de distribución de reservas tiene lugar un crecimiento fetal con gancia de la

reserva materna, pero se reduce enormemente el ritmo de ganancia de la reserva materna. La madre debe ganar peso para asegurar la gestación (McGanity et al., 1998).

Al final de la gestación tiene lugar “ajustes” para permitir la transición desde el seno materno a la lactancia pasando por el parto, lo cual implica en la madre cambios en la concentración de sustratos y cambios en la concentración hormonal (Barker et. al., 2008; Herrera, et. al., 2008; Mataix et. al., 2009).

La nutrición en el embarazo, no solo aporta nutrientes y otras sustancias que aseguren recambio de estructuras y crecimiento, también funciones energéticas, estructurales y de control así como de regulación metabólica se debe a la interacción de los nutrientes sobre genes, aspecto que posibilitara la expresión genética y cambios bioquímicos que hagan posible la mejor funcionalidad de los nutrientes (Ordovás et al., 2008; Sánchez-Muñiz et al., 2010; Sánchez-Muñiz et. al., 2008; Mataix et al., 2009; Hernández et al., 2010).

La evolución de las especies, parece estar canalizada y dirigida por los medios nutritivos a su alcance; así un medio estable induce normalmente pequeños cambios adaptativos, mientras que un medio escaso normalmente promueve búsqueda de nuevas adaptaciones que llevan a la aparición, mutación, activación o represión de ciertos genes que favorezcan o permitan la existencia y perpetuidad de la especie (Cordón, 1978). Estos genes ahorradores conferirán una predisposición a la acumulación de energía, fundamentalmente en forma de grasa (Mataix y Arandas, 2009; Mataix y García, 2005; López et al., 2010).

### **El proceso de programación fetal.**

La obesidad se ha considerado como un riesgo en la infancia para desarrollar enfermedades del adulto, sobre todo el síndrome metabólico. Esta situación puede ser marcadamente influida por la exposición del individuo, a un ambiente prenatal comprometido por modificaciones metabólicas debidas al sobrepeso de la mujer gestante, y más adelante, durante las etapas iniciales de la vida extrauterina, por diversos factores como el estado nutricional del recién nacido, la alimentación temprana, la exposición a diferentes nutrientes, la velocidad de crecimiento y el porcentaje de masa/grasa ganado en los primeros seis meses de vida, en particular las dos primeras semanas. Estos factores propician el desarrollo de obesidad, diabetes mellitus tipo 2 (DM 2), enfermedad cardiovascular (ECV), hipertensión arterial (HTA), enfermedad pulmonar, renal y neurológica (Perea-Martínez et al., 2012).

Los efectos referidos como determinaciones epigenéticas para desencadenar el proceso de programación, se basan en las observaciones epidemiológicas de distintos autores, particularmente por Barker (Perea et al., 2012). Resultados que respaldan la hipótesis formulada hace varios años y conocida como el “fenotipo ahorrador”, la cual propone que cuando la nutrición fetal es pobre por la mala nutrición materna se produce una respuesta adaptativa del feto en desarrollo que permite el crecimiento de ciertos órganos clave en detrimento de otros, lo que lleva a un metabolismo posnatal alterado. Según esta propuesta, el mecanismo adaptativo fetal se dirige a aumentar la posibilidad de sobrevivir posnatal en condiciones crónicas de mala nutrición (McMiller y Robinson, 2005).

### CAMBIOS EPIGENÉTICOS:

Las enfermedades metabólicas y cardiovasculares más comunes del adulto, son factores exógenos específicos de riesgo debido a determinados estilos de vida: sedentarismo, aumento en el consumo calórico y de grasas saturadas y tabaquismo, que actúan sobre individuos genéticamente susceptibles. Adicionalmente a estos factores se ha propuesto una teoría: el impacto de las condiciones de vida intrauterina del individuo en la aparición de enfermedades crónicas en su vida extrauterina. Al respecto, los estudios epidemiológicos realizados en Inglaterra y replicados en otros países apoyan la hipótesis de Barker (2008), quien propuso los mecanismos por los cuales una acción durante la vida intrauterina es capaz de inducir una programación anormal de diversos sistemas relacionados entre sí, que se manifestaran en la vida extrauterina del individuo. Este fenómeno denominado por muchos como “programación”, consiste en la modificación estructural, funcional o ambas, permanente de uno o varios sistemas del organismo, generada en periodo sensitivo crítico de la vida fetal. La consecuencia de esta impronta, es una mayor susceptibilidad para el desarrollo de obesidad, resistencia a la insulina, hipertensión arterial, disfunción endotelial, osteoporosis y otras alteraciones. La mayor evidencia descrita para el desarrollo de esta programación prenatal se apoya en: (1) un fenotipo ahorrador; (2) una susceptibilidad para un crecimiento posnatal acelerado y fácil; (3) efecto de glucocorticoides; (4) cambios epigenéticos; (5) estrés oxidativo; (6) hipoxia prenatal; (7) disfunción placentaria y (8) reducción del número de células progenitoras. Los factores 2, 4 y 8 podrían ser los mecanismos que inciden mayormente en esta modificación orgánica (Perea et al., 2012).

Se ha demostrado que la nutrición intrauterina inadecuada da como resultado una pérdida de unidades estructurales como nefronas, cardiomiocitos y células beta pancreática durante el desarrollo fetal. Estas adaptaciones durante la programación y el desarrollo fetal pueden resultar perjudiciales si en estos individuos la alimentación se vuelve más abundante en el periodo posnatal

(McMiller y Robinson, 2005), propuesta que ha sido reforzada por la serie de trabajos realizados en sujetos concebidos durante el periodo de hambruna en Europa ocasionada por la segunda guerra mundial. Así, a los 50 años de edad los sujetos concebidos y nacidos durante el periodo transitorio de hambruna presentaron mayores tasas de obesidad, intolerancia a la glucosa y enfermedad arterial coronaria que los sujetos de iguales edad, sexo, etnia y región que no estuvieron expuestos a dicha hambruna (Ravelli et. al., 1999; Painter et al., 2006; De Rooij et al., 2006). Estas observaciones dan firme respaldo a la visión de que las deficiencias nutricionales que ocurren en etapas críticas del desarrollo ontogénico fetal pueden tener influencias de largo alcance, a través del control de la expresión de varios genes por interactuar con mecanismos epigenéticos, los cuales alteran la conformación de la cromatina y, por lo tanto, la expresión de ciertos genes, sobre expresándolos o silenciándolos, y también alterando la accesibilidad de los factores de transcripción (Waterland y Garza, 1999; Gallou-Kabani y Junien, 2005). Estos mecanismos resultan en mayor o menor síntesis de proteínas como angiotensina II, leptina y adiponectina (Waterland y Garza, 1999). Actualmente se respalda la hipótesis de que, además de la herencia del «fenotipo ahorrador», los individuos con síndrome metabólico (SM) sufren de una alterada «programación epigenética» durante el desarrollo fetal y posnatal por causa de una nutrición materna inadecuada, situación que se traduce en la vida posnatal, si en ella se expone al sujeto a excesos nutricionales, a los trastornos metabólicos característicos del SM, como la resistencia a la insulina y la inflamación de bajo grado. Estos individuos también pueden sufrir «efectos transgeneracionales» a causa de la herencia recibida por los cambios epigenéticos primeramente experimentados por sus padres y/o abuelos (Fig. 1, Gallou-Kabani y Junien, 2005).

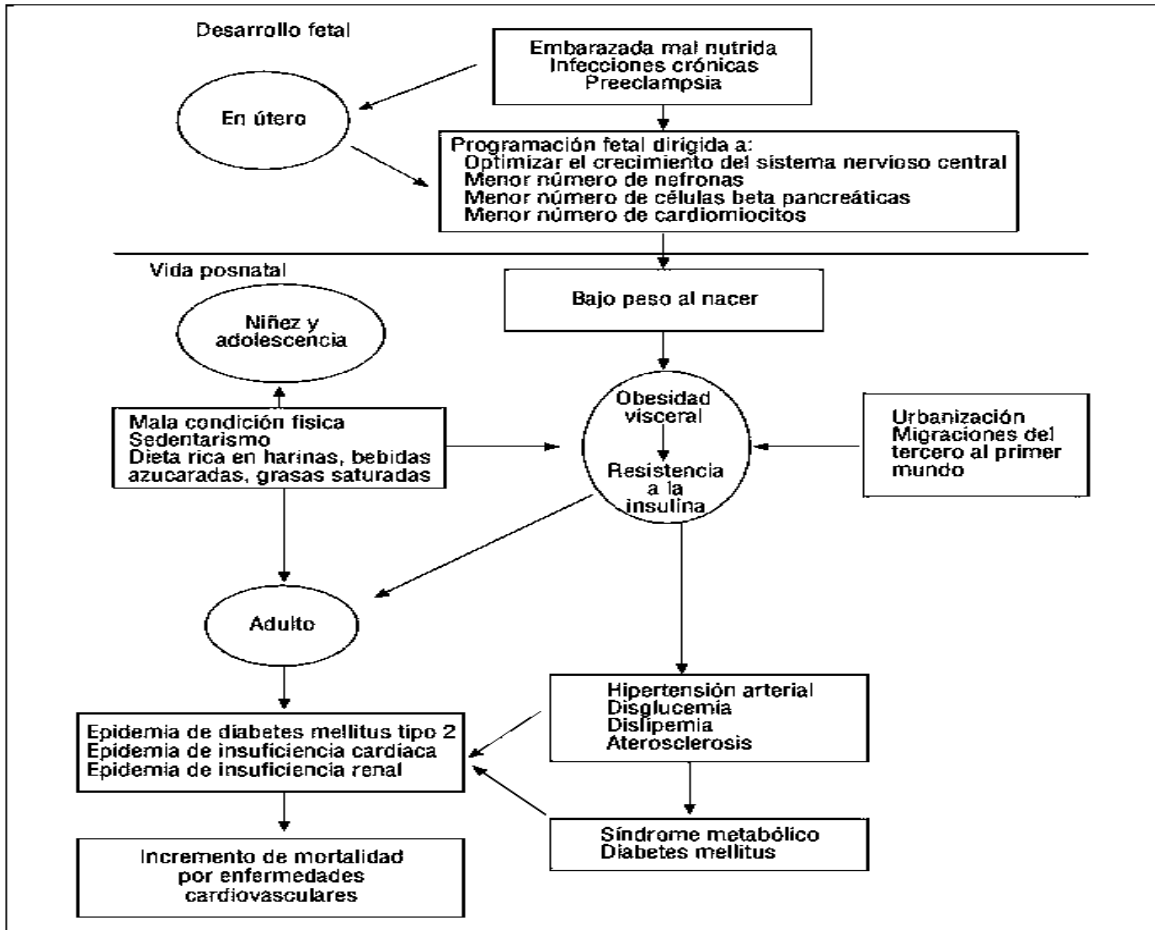


Fig. 1 Desnutrición materna y programación fetal que se asocia a mayor riesgo cardiovascular en la vida adulta (Imagen tomada de Rev. Esp. Cardiol. 2009; 62:670-676. Patricio López-Jaramillo).

Las observaciones referidas, conducen al contexto de los factores que determinan el crecimiento y el desarrollo funcional del individuo durante su vida fetal, procesos regulados por: a) el estado nutricional de la madre gestante, b) la función placentaria y c) la capacidad del feto para utilizar nutrientes (Perea et. al., 2012).

Son cuatro las modalidades epigenéticas: metilación del DNA, no codificación del RNA, factores de transcripción alterados y modificación de histonas. Cada uno contribuye e influye en la memoria epigenética que regula y controla la expresión genética del embrión, definiendo un dominio permisivo sobre la transcripción del genoma, que da por resultado distintos panoramas epigenómicos para el desarrollo de diferentes tipos celulares, aunado a sus efectos en la diferenciación y funcionamiento orgánico. Además, el incremento de mujeres embarazadas obesas, a elevado un 25% la frecuencia de recién nacidos con peso alto, factor de riesgo relacionado con obesidad en la infancia, adolescencia y adultez; además con enfermedades cardiometabólicas en la etapa de madurez del individuo (Perea et al., 2012).

Se ha demostrado el efecto que tienen los componentes nutricionales de un alimento, en la detección olfatoria, gustativa y de adherencia del individuo que lo consume. Este efecto se ha observado desde la vida intrauterina, en la que el tipo de alimentos que consume la madre gestante, determina una susceptibilidad y tendencia del feto a los mismos productos en la vida postnatal. También se ha visto que la alimentación del neonato (leche materna o fórmula), tiene un impacto en la conducta alimentaria subsecuente: La alimentación de la madre que amamanta, conduce el gusto y preferencia alimentaria de su hijo a través de la información que dan las características de la leche materna influida por los hábitos de consumo de la madre. Asimismo, los componentes de una fórmula influye directamente en las preferencias alimentarias posteriores del niño. También los alimentos sólidos proporcionados a niños, determinan el gusto y la preferencia alimentaria del individuo en su adultez, lo que indica que el mundo sensorial de los niños está en una dinámica constante. La evidencia científica señala que las cualidades generales de los alimentos que consume el individuo desde etapas prenatales hasta la vida adulta, por su olor, densidad, sabor y otras características, definen los patrones de gusto y aceptación al ingerirlos, lo que lleva a una conducta de consumo de los mismos con agrado y placer o por el contrario, a su rechazo (Perea et al., 2012).

### **Sistema gustativo.**

El sistema gustativo requiere vías neuronales para transmitir la información gustativa desde el receptor de células del sistema gustativo hasta la papila gustativa, a través de los nervios aferentes al soma de las neuronas ganglionares, y a través de procesos ganglionares en el tallo cerebral. Durante la formación inicial, las neuronas sensoriales ganglionares tienen una situación clave en el establecimiento de campos receptivos al extender las neuritas bidireccionalmente, a los órganos periféricos del gusto y para los núcleos centrales del gusto. La diferenciación funcional de los ganglios sensoriales que inervan la lengua, la morfogénesis, los patrones de la lengua y orante la papila. Los ganglios linguales y las papilas inicialmente se desarrollan de forma independiente, pero luego se convierten recíprocamente dependientes, siendo los ganglios linguales el soporte molecular de las papilas gustativas y las papilas requiere inervación sensorial para el crecimiento y la morfogénesis (Mistretta, 1998).

El sentido del gusto forma parte del sistema sensorial químico o de quimiorrepción de los mamíferos. El complejo proceso de la degustación comienza cuando las moléculas sápidas contenidas en los alimentos se liberan en la saliva y son registradas dentro de la cavidad oral. Células especializadas

localizadas principalmente en la superficie de la lengua permiten la detección de los compuestos sápidos, a través de la expresión de receptores específicos para la detección de las diferentes modalidades gustativas identificadas y aceptadas actualmente por ejemplo para el sabor dulce y umami se ha asociado a los receptores T1R (Damak et al., 2003; Kitsukawa, et al., 2001; Montmayeur, et al., 2001), sabores amargos a los receptores T2R (Miyoshi, et al., 2001; Mueller, et al., 2005), sabores salados, a canales iónicos (Chaudhari et al., 1996) así como sabores agrios (Herness et al., 1999; Richter et al., 2004) y de esta manera se permite la liberación posiblemente de algunos neurotransmisores (Herness et al., 2005) los cuales portan la señal a través de los nervios como el glossofaríngeo o trigésimo (Munger, 1993) hasta el sistema nervioso central, donde las señales gustativas son decodificadas y los sabores específicos son identificados (Shiffman, 2000).

## LOS SABORES:

Existen cinco modalidades de sabor: dulce, amargo, salado, ácido y el umami. A nivel molecular, la detección y traducción de los sabores es realizada por receptores localizados en la superficie de las microvelocidades presentes en la membrana apical de las células gustativas. En función de la naturaleza del sabor, el receptor activado pertenecerá, ya sea, a la familia de receptores de tipo canal para el sabor ácido y el salado en los cuales el sitio de unión para el ligando y un canal iónico forman parte de un mismo complejo macromolecular; (Boughter, 1997; Cummings y Kinnamon, 1992), o bien al tipo de receptores acoplados a proteínas G en los cuales, la estimulación del receptor activa una proteína G capaz de activar diversos sistemas de señalización intracelulares. Los receptores acoplados a proteínas G intervienen en la detección de los sabores dulce, amargo y umami (Hoon et al., 1999; Max et al., 2001; Montmayeur et al., 2001; Adler et al., 2000; Meyerhof, 2005; Nelson et al., 2002; Li et al., 2002).

El sabor corresponde al ensamblaje de las sensaciones percibidas durante la ingesta de alimento. El sabor engloba la percepción de los olores y los estímulos gustativos producida durante la masticación, además de las sensaciones producidas por la textura, la temperatura y la astringencia de los alimentos. A nivel neurofisiológico, la percepción del sabor es resultante de la estimulación combinada de tres sistemas sensoriales: el olfato, el gusto y el tacto que nos permite tener una representación lo más fiel posible del alimento a ingerir. El gusto y la olfacción contribuyen igualmente a la digestión en el inicio de las secreciones a nivel gastrointestinal, y están íntimamente asociados con la selección y el rechazo de los alimentos dañinos y potencialmente tóxicos. (Mattes y Cowart, 1994).



La percepción de las moléculas odorantes y sápidas comienza en células receptoras especializadas a partir de las cuales la información, vía diversos circuitos neuronales, es transmitida al cerebro. En el sistema gustativo, la detección de moléculas sápidas se lleva a cabo gracias a las células gustativas donde la estimulación de éstas activa una red neuronal que se extiende desde la lengua, el paladar y la faringe hasta zonas específicas de la corteza. En dicha red neuronal el punto de contacto se encuentra en la lengua y el primer elemento de transmisión, es un tipo de células epiteliales especializadas denominadas células gustativas que se agrupan en corpúsculos gustativos que a su vez forman papilas gustativas (Buck, 2000).

Las papilas gustativas, de acuerdo a su morfología se dividen en: fungiforme, caliciforme y foliadas; cada una de ellas está constituida de un número distinto y variable de corpúsculos gustativos se distinguen cuatro tipos morfológicamente diferentes de células gustativas: las células basales, las de tipo I, las de tipo II, y las de tipo III. Las células basales se localizan en la base del corpúsculo y es a partir de las cuales son generadas todas las células gustativas (Buck, 2000). Las células gustativas de tipo I poseen propiedades similares a las células gliales (Bigiani, 2001), esto es, sirven de sostén al corpúsculo gustativo y regulan las concentraciones extracelulares de iones al interior del corpúsculo. Las células de tipo II expresan las maquinarias necesarias para la detección y traducción de las señales gustativas (Boughter, 1997; Adler et al., 2000; Yang et al., 2000a y 2000b; Yee et al., 2001). Sin embargo, estas no forman sinapsis estructuralmente definida con las fibras aferentes primarias (Clapp et al., 2004). Por otro lado, las células de tipo III son las únicas que establecen sinapsis clásicas con nervios gustativos aferentes (Murray 1986; Yang et al., 2000b; Yang et al., 2004). Paradójicamente, las proteínas necesarias para la transducción gustativa son expresadas, como mencionamos, en las células de tipo II.

Las papilas caliciforme son las de mayor tamaño se encuentran ubicadas en la parte posterior de la lengua, como su nombre lo menciona tienen forma de caliz, aunque también se les nombra papilas circunvaladas o en forma de botón. En cuanto a su número de papilas este es variable dependiendo de la especie, ya que en humanos se encuentran de 9 a 12 papilas y en roedores se encuentra solo una. En general en todas las especies las papilas caliciformes contienen centenares de corpúsculos gustativos teniendo el 40% del total de los corpúsculos, las papilas caliciforme así como las papilas foliadas están inervadas por fibras nerviosas provenientes del nervio glossofaríngeo (Buck, 2000; Sugita, 2006; Suzuki, 2007).

La pérdida de la sensibilidad gustativa, (ageusia) alteraciones en la percepción gustativa (disgeusia) y/o olfativa (anosmia), se asocian con disminución de peso, desnutrición, desordenes inmunitarios así como a la degradación del estado de

salud general de personas mayores (Mattes y Coward 1994; Winkler et al., 1999). 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 (Kettaneh et al., 2002). 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 (Stolbova et al., 1999). Existe una asociación entre los desórdenes del gusto y la depresión, por una parte, los pacientes depresivos señalan frecuentemente sensaciones gustativas desagradables (Miller et al., 1989), y por otra, un estado depresivo es frecuente en los pacientes disgeusicos (Deems et al., 1991) en estos casos y en más comportamientos humanos la serotonina juega un papel determinante (Airan et al., 2007; Roth et al., 2004).

## **Serotonina.**

La serotonina es un neurotransmisor que tiene múltiples funciones en los sistemas nerviosos central y periférico regulando las funciones normales incluyendo el sueño, estado de ánimo y el apetito. Las anomalías en los sistemas serotoninérgicos también han sido implicados en la etiología de enfermedades incluyendo trastornos obsesivo-compulsivo, la depresión y la migraña.

La serotonina 5-HT fue identificado en 1948 como una molécula presente en el suero y capaz de inducir vasoconstricción (Rapport et al., 1948a, b). La serotonina regula la función cardiovascular (Kaumann y Levy, 2006), aunque dependiendo de su lugar de síntesis, la serotonina afecta a los procesos fisiológicos tan diferentes como la homeostasia primaria, la ansiedad y el movimiento intestinal (Gingrich y Hen, 2001; Gershon y Tack, 2007; Berger et. al., 2009).

La mayoría de la serotonina (95%) se produce en la periferia, mientras que sólo una pequeña fracción se sintetiza en el cerebro. Estudios clínicos muestran que el triptófano, el precursor de la biosíntesis de la serotonina, tiene propiedades antidepressivas y que los pacientes depresivos y maníacos disminuyen sus concentraciones de ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA), el producto de la degradación de la serotonina, en el líquido cefalorraquídeo (Coppen et al, 1963, 1972; Ashcroft et al, 1966). Estos estudios promueven la serotonina como regulador del estado de ánimo y el comportamiento, y abren el camino al establecimiento de su papel como neurotransmisor. La serotonina presenta una disociación entre el circulante y la serotonina central de la superficie. Esta disociación explica el hecho de que la serotonina no puede cruzar la barrera sangre-cerebro; por lo tanto, alterar sus niveles periféricamente no influye en sus concentraciones centrales, o viceversa (Mann et al., 1992). En otras palabras, las funciones centrales y periféricas de serotonina pueden ser completamente

disociadas. La serotonina se sintetiza en un proceso de dos fases en el que L-triptófano se hidroxila primero de una manera limitante de la velocidad en L-5-hidroxitriptófano por una triptófano hidroxilasa específica (TPH) y luego se descarboxila por una descarboxilasa de L-aminoácido (Grahame-Smith, 1964; Lovenberg et al., 1967). De la misma manera, las plaquetas contienen la mayor parte (> 95%) de la serotonina presente en la circulación general, y la serotonina se libera tras la agregación plaquetaria, se suponía, lógicamente, que la inactivación de la función del gen Tph1 llevaría a defectos graves de coagulación de la sangre (Holland, 1976; Gershon y Tack, 2007). Sin embargo, estudios en ratones deficientes de Tph1 no muestran un fenotipo evidente ya que son nacidos vivos, tienen una esperanza de vida normal y mostrar sólo anomalías menores en los niveles digestivos o de la coagulación (Walther et al, 2003). Por lo tanto, durante mucho tiempo el único impacto de los ratones Tph1-deficientes en el campo de la serotonina había sido permitir la identificación de otro gen, Tph2, que participa en la síntesis de serotonina en el cerebro (Ducy and Karsenty, 2010).

Los receptores de serotonina son importantes en la regulación de prácticamente todas las funciones del cerebro, y regulación del sistema serotoninérgico, y han sido implicados en la patogénesis de muchos trastornos psiquiátricos y neurológicos (Roth, 1994 y 2004). Esto ha demostrado que la serotonina tiene importantes funciones en muchos sistemas de órganos fuera del sistema nervioso central, incluyendo la regulación del balance energético, consumo de alimentos, función gastrointestinal, función endocrina, y la fisiología cardiovascular y pulmonar. Estos hallazgos podrían ayudar a explicar los diversos efectos secundarios de los medicamentos serotoninérgicos de la diabetes y el síndrome metabólico a la enfermedad cardíaca valvular (Kroeze, et. al., 2003) y (Roth, 2007). Neuronas de serotonina del SNC están por lo tanto en una posición ideal para modular la actividad de una amplia variedad de circuitos cerebrales humanos, lo que explica, en parte, los efectos pleiotrópicos de comportamiento de la serotonina en el cerebro (Mengod, et. al., 2007).

## **Sistema Nervioso central.**

El desarrollo del sistema nervioso central se produce en fases, que siguen una secuencia precisa, que es diferente en varias regiones del cerebro e incluso dentro de una región particular, y varía en el tiempo de una especie a otra. La secuencia esencial de los procesos de desarrollo del cerebro, es decir, el horario genótipicamente ordenado, no varía fundamentalmente entre los mamíferos. Las únicas diferencias sustanciales con respecto al desarrollo del cerebro están representadas por el momento de nacimiento en relación con la etapa de la

desnutrición cerebral. Esta consideración es de especial consecuencia debido a la utilización de modelos animales para examinar los procesos del cerebro afectados por la desnutrición (Morgane et al., 2002).

La estructura definitiva del cerebro se produce durante la etapa de histogénesis, la cual ocurre cuando las células cerebrales postmitóticas emigran de las zonas germinales para diferenciarse e interactuar con las demás, y que rodean los tejidos no neuronales en una serie altamente ordenada con pasos secuenciales. El desarrollo normal del cerebro no solo depende de esta secuencia exacta de las fases del desarrollo, sino también en las múltiples reacciones metabólicas que regulan estos eventos celulares (Morgane et al., 2002).

Factores exógenos, como la desnutrición, pueden alterar la actividad de las enzimas e interferir con la síntesis de proteínas y su estructura y por tanto, también interferir con la adecuada incorporación de los lípidos en varias estructuras cerebrales (Morgane, et al., 2002).

Períodos prenatales tempranos críticos en el cual existen alteraciones ambientales tienen efectos amplios sobre el cerebro fetal, que persisten en el desarrollo posnatal y la edad adulta. De hecho, los periodos limitados de exposición temprana aguda al etanol y la restricción de proteínas pueden resultar en efectos más pronunciados que los largos periodos de privación. El grado más probable de susceptibilidad a eventos ambientales anormales se refiere a los procesos de desarrollo específicos que ocurren durante cada período crítico. El sistema gustativo también es susceptible a la manipulación experimental durante periodos discretos de desarrollo. Sin embargo, a diferencia de otros sistemas sensoriales que las alteraciones neuronales son más profundas en la corteza, los cambios a gran escala ocurren en el tronco cerebral gustativo (Mangold, y Hill, 2007).

En el SNC la información se transmite principalmente bajo la forma de potenciales de acción, que pasan por una serie de neuronas en forma de impulsos. Cada potencial puede ser bloqueado, cambiar e integrarse con los impulsos de otras neuronas para dar lugar a modelos muy complejos de comunicación neuronal producidos por las funciones sinápticas de las neuronas (Kandel, 2001).

### **La bomba de sodio y potasio ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa).**

La  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa es una proteína de membrana integral formada principalmente por dos subunidades, alfa y beta. Subunidades alfa se extiende 10 veces a través de la membrana de la célula y contiene todos los componentes necesarios para el

transporte de iones: la vía de permeación de iones, el sitio de fosforilación, y el dominio de unión de ATP (Morth et al., 2007) y (Shinoda et al., 2009). La subunidad beta más pequeña se extiende una vez a través de la membrana para formar una estructura extracelular grande que se encuentra en la parte superior de la superficie externa de la subunidad alfa. La subunidad beta es esencial para el tráfico y el transporte de  $K^+$  (Lutsenko y Kaplan, 1993) y (Jaisser, et. al., 1992). Las mutaciones dentro de la  $Na^+/K^+$ -ATPasa han sido implicados con enfermedades humanas como inicio rápido de acción parkinsonismo, disfonía y la migraña hemipléjica familiar (Segall, et. al., 2005) y (De Fusco, et. al., 2003). Esta enzima, encontrada en todas las membranas de células de mamíferos, es necesario para la función celular adecuada, puesto que ayuda a preservar los gradientes iónicos a través de la membrana celular y por lo tanto la membrana potencial de equilibrio y osmótica de la célula (Skou et al., 1992).

La  $Na^+/K^+$ -ATPasa es también la diana farmacológica de esteroides cardiotónicos endógenos y exógenos (CTS). Los CTS con el tiempo han sido conocidos como potentes inhibidores de la función de bombeo de iones de  $Na^+/K^+$ -ATPasa, que es fundamental para su efecto sobre la afluencia acoplado a  $Na^+$ , aminoácidos, o glucosa (Aperia, 2007).

El potasio es el principal catión intracelular, donde alcanza concentraciones cercanas a 150 mEq/L, siendo su concentración en el plasma entre 3.5 a 5 mEq/L. Por lo tanto, la cantidad de  $K^+$  en el líquido extracelular es de entre 30 a 70 mEq, representando un 2% del potasio corporal total (2.5 a 4.5 mEq).

El cociente de la concentración de potasio entre el intra y extra es de 38:1, que se mantiene gracias al potencial de membrana en reposo y resulta esencial para la normalidad de la función neuromuscular. La bomba basolateral de ATPasa de  $Na^+$  y  $K^+$  transporta activamente al  $K^+$  al interior de la célula y al  $Na^+$  fuera de ella, en una proporción de 2:3, y la difusión pasiva del  $K^+$  hacia afuera es el factor cuantitativamente más importante para generar el potencial de membrana en reposo.

La actividad electrógena de la bomba de  $Na^+/K^+$  -ATPasa se puede estimular aumentando la concentración de  $Na^+$  intracelular y se puede inhibir cuando se induce intoxicación digitálica o en presencia de enfermedades crónicas, como la insuficiencia cardíaca o renal. La bomba de  $Na^+/K^+$  -ATPasa tiene la capacidad de unirse a la ouabaína endógena (OE), sustancia de efecto digitálico, y por lo tanto inhibidor de dicha bomba (fig. 2). Se ha observado que la OE se encuentra elevada en un 45% de los pacientes con hipertensión arterial (Zárate y Valenzuela, 2012).

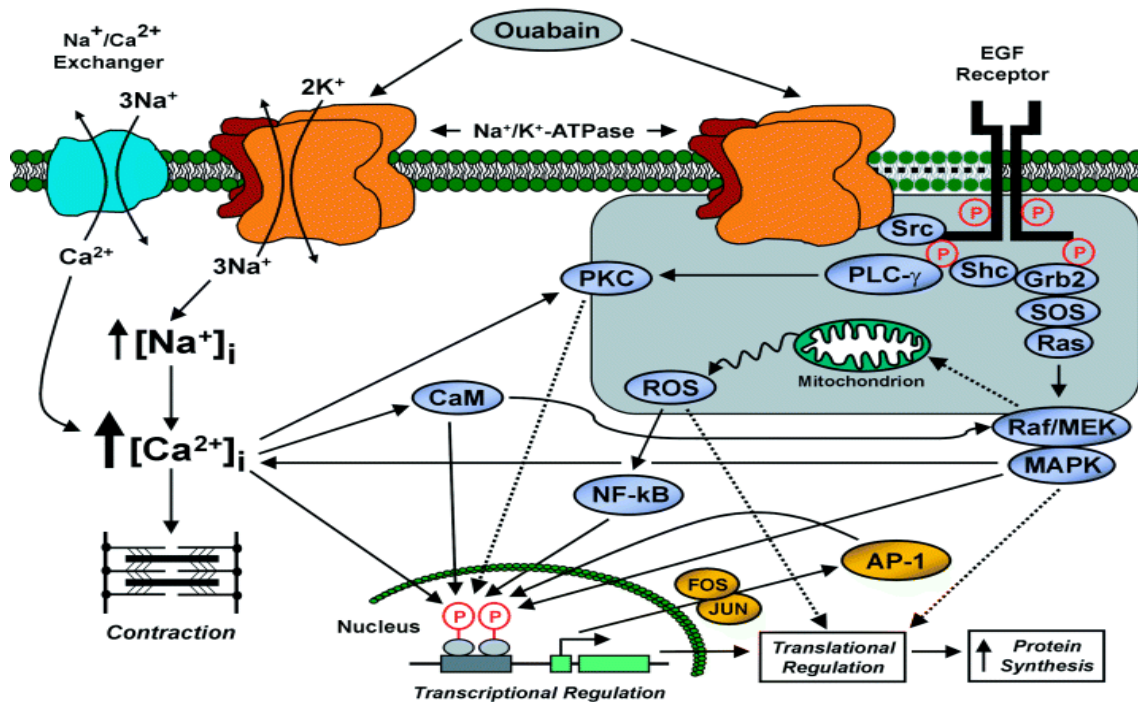


Fig. 2 Transducción de señales de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa y sus consecuencias en los miocitos cardíacos. (Tomada de Xie, Z. and Askari, A. (2002).

## JUSTIFICACION

La desnutrición es un estado patológico producido por un déficit en la ingesta o absorción de nutrientes que desencadenan una serie de trastornos metabólicos de distintos grados.

Experimentalmente se ha demostrado la presencia de 5-HT, de transportadores para la misma y de enzimas que participan en su síntesis, en corpúsculos gustativos de diversas especies. También existe evidencia que implican a la 5-HT en la detección y transmisión de las señales gustativas despolarizando las neuronas aisladas de las fibras aferentes primarias que inervan a los corpúsculos gustativos, así como también reduce la permeabilidad de iones Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> (Imendra et al., 2000; Imendra et al., 2002).

En animales de laboratorio con restricción proteico-calórica (RPC) se ha observado incremento en la actividad de la bomba de sodio y potasio en las células gliales de corteza y cerebelo derivado del incremento en la síntesis de serotonina por la RPC durante el desarrollo gestacional. No se conoce si en la papila caliciforme exista actividad de la bomba de sodio y potasio. Y si esta puede ser modificada durante la RPC por lo cual proponemos la siguiente:

## **HIPÓTESIS.**

Existe actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> -ATPasa en papila caliciforme de ratas y esta se modifica con la restricción proteico-calórica.

## **OBJETIVOS.**

### *Objetivo general.*

Determinar si existe actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> -ATPasa en papila caliciforme y el efecto de la RPC sobre la misma.

### *Objetivos específicos.*

Implementar un modelo con restricción proteico-calórica.

Determinar si existe actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> -ATPasa en papila caliciforme de ratas.

Determinar si el estrés nutricional modifica la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> -ATPasa en la papila caliciforme de rata.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se emplearon animales ratas hembras adultas de la cepa Wistar de 2 meses de edad con un peso inicial de 185±10 g, las cuales fueron mantenidas en el bioterio del Laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H., siguiendo los protocolos vigentes para el uso de animales de investigación (SAGARPA, 2001), con alimento y agua *ad libitum*, ciclos de luz y oscuridad de 12 H (7-19 H), temperatura de 24.0±2 °C y humedad relativa de 60.0±5%.

### *Implementación del esquema de RPC.*

Las ratas hembras elegidas para el esquema de restricción proteico-calórica al 50% fueron colocadas en jaulas individuales, siendo divididas las ratas en dos grupos, un grupo control y un grupo con RPC, a este último se le da la mitad del promedio semanal de alimento que consume el grupo control el cual tiene alimento *ad libitum*, y con estas condiciones se sometieron a un periodo de adaptación de dos semanas, en el cual se monitorea semanalmente además del consumo de alimento, el peso corporal. Finalizado el periodo de adaptación todas las ratas fueron apareadas con ratas machos adultos por tres días o hasta la observación del tapón vaginal, que es el indicativo que la rata hembra quedó preñada, considerando este día como G0 y por lo tanto se regresan las ratas a su respectiva jaula y se continúa con el proceso de RPC al 50%, 2 ratas adicionales del grupo control son apareadas con machos adultos con RPC, lo que formará



más adelante el grupo Control Padre Desnutrido (CTL PD), de igual forma se toman 2 ratas hembras del grupo con RPC lo que dará lugar al grupo Restricción Proteico-calórica Padre Desnutrido (RPC PD). En el nacimiento de las crías el día se tomó como P0 comenzando con el monitoreo de peso y talla de las crías y se obtuvieron dos grupos más, uno denominado RN obtenido del grupo RPC, las cuales al nacer se le da a la madre alimento ad libitum, y RPC NAC surgido del grupo control, en el que al nacer las crías, la madre es sometida con la dieta al 50%, obteniendo en total cuatro grupos. Terminado el tiempo de lactancia las crías son sexuadas y separadas de la madre enfocándonos solamente en las crías machos y el día se toma como P21, en el que se obtuvieron dos grupos adicionales, el RD obtenidos del grupo RPC, en el que las crías al ser destetadas de la madre consumen alimento ad libitum, y el RPC DEST surgido del grupo control en el que las crías al momento de su destete son sometidas a la dieta al 50%, teniendo finalmente los grupos CTL, CTL PD, RN, RD, RPC, RPC PD, RPC NAC y RPC DEST, cabe señalar que a partir del P21, la cantidad de alimento consumido por las crías de los grupos con estrés nutricional es obtenido del promedio de alimento semanal consumido por las crías del grupo control.

Los días establecidos para monitorear el peso y talla de las crías fueron P0, P3, P7, P14, P21, P30 y P60. Para las generaciones subsecuentes se conservaron ratas hembras de los 8 grupos ya establecidos y en el P60 son sometidas a cruce siguiendo con el mismo proceso de la primera generación.

#### *Obtención y homogeneizado de las papilas caliciformes.*

Los animales de todos los grupos se sacrificaron entre las 9:00 y 12:00 horas por fractura cervical, realizando una incisión en la mandíbula, inmediatamente se extrajo la lengua y se colocó en un microscopio para extraer la papila caliciforme con un bisturí, la cual se homogeneizó manualmente en 10 volúmenes de solución amortiguadora Tris-HCl 50 mM a pH 7.4. Se realizó determinación del contenido proteico del tejido de papila caliciforme por el método de Lowry et. al. (1951) para tener concentraciones finales de 2 µg de proteína/µL. A estos homogeneizados se les midió la actividad específica de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa como se describe a continuación.

#### *Determinación de la actividad específica de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa.*

La actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa se midió con el método usado por Mercado y Hernández (1999), por triplicado de alícuotas de 25 µL del homogeneizado de papila caliciforme equivalentes a 50 µg de proteína. Se preincubó el tejido durante 5 minutos a 37 °C en agitación constante de 150 ciclos por minuto en un incubador metabólico Dubnoff con 100 µL el amortiguador Tris-HCl 50 mM pH 7.4, MgCl<sub>2</sub> 6



mM, KCl 20 mM, NaCl 120 mM; y con 25  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O tridestilada para medir la actividad total o con ouabaina 0.1 mM para medir la actividad indirecta, en un volumen final de 150  $\mu$ L. Transcurrido el periodo de preincubación se adicionó 50  $\mu$ L de ATP 3 mM (adenosin-trifosfato, sal libre de vanadio); finalmente la reacción se detuvo a los 10 minutos adicionando 20  $\mu$ L de TCA (ácido tricloroacético) frío al 50% (w/v) colocando las muestras en una placa de hielo para después centrifugarlas a 3500 rpm durante 10 minutos. Se tomaron 100  $\mu$ L del sobrenadante para determinar el fosfato inorgánico (Pi) liberado de acuerdo al método de Fiske y SubbaRow (1925), se colocaron en tubos de ensayo que contenían 500  $\mu$ l de solución de sulfato ferroso al 4%, ácido sulfúrico 1.14 N y molibdato de amonio al 1%, se completó el volumen final con 400  $\mu$ L de agua. El Pi se determinó espectrofotométricamente a 800 nm a los 10 minutos de iniciada la reacción. Las lecturas de absorbencia se extrapolaron en una curva patrón de fosfato de potasio que se corrió en cada experimento. La actividad específica de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa fue calculada como la diferencia entre la actividad total y la medida en presencia de ouabaína (indirecta).

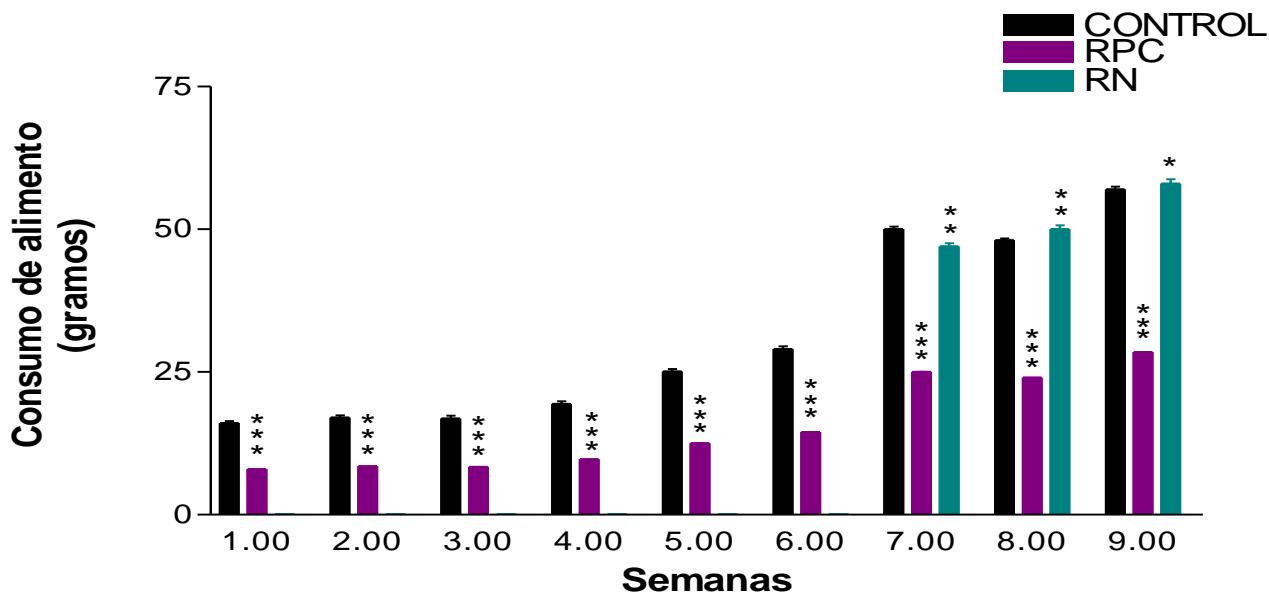
#### *Análisis estadístico.*

Se empleó el programa GradPad Prism 3.0 en la evaluación estadística de los resultados experimentales, así como para realizar su representación gráfica. Las curvas patrón de proteína y de fosfatos se sometieron a regresión lineal. Los datos fueron analizados por la prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar la distribución de Gauss, y a partir de estos, se calcularon la media aritmética y la desviación estándar (D.E). Las comparaciones de los grupos fueron evaluadas por la prueba de ANOVA y "t" de Student (Motulsky, 2003).

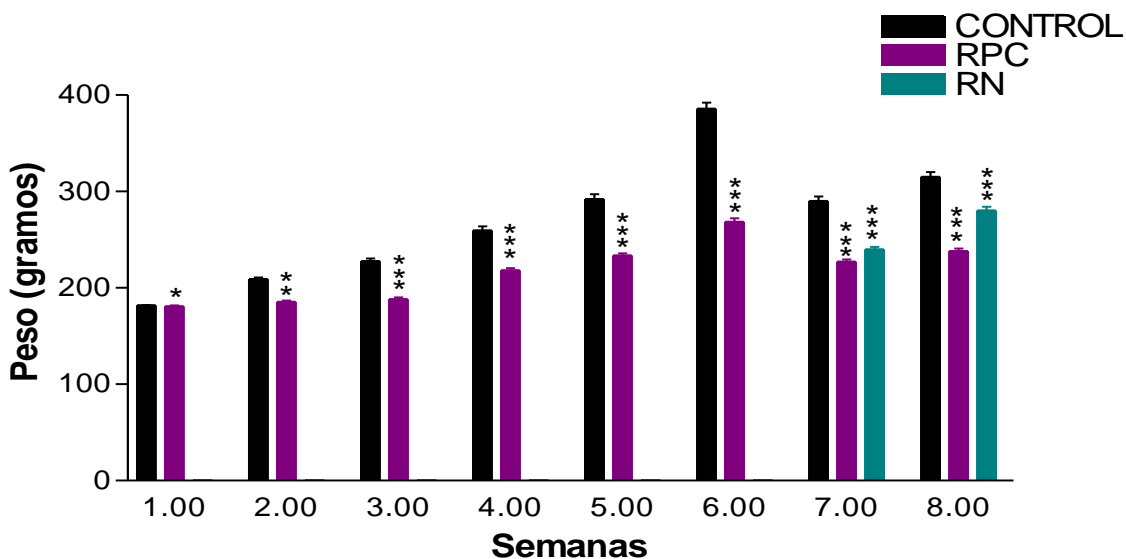
## **RESULTADOS.**

Con el objetivo de evaluar el modelo de desnutrición, se midió el consumo de alimento de las madres (**Figura 3**) y el peso corporal durante 9 semanas que corresponde a las etapas de adaptación (1 y 2 semanas), 3 semana de cruce, gestación (semana 4-6) y el periodo de la lactancia (semana 7-9), donde se observa la ingesta de comida en los tres grupos, el grupo RPC consume la mitad de alimento consumido por el grupo CTL durante todas las etapas, mientras que el grupo recuperado rebasa ligeramente en consumo de alimento al grupo control en las últimas 2 semanas (lactancia) . La **Figura 4** muestra la evolución

del peso corporal de las ratas madres, en donde se observa que el grupo con RPC conforme pasan las semanas bajan notablemente de peso, mientras que el grupo recuperado sube de peso pero no alcanza el valor de los grupos control.



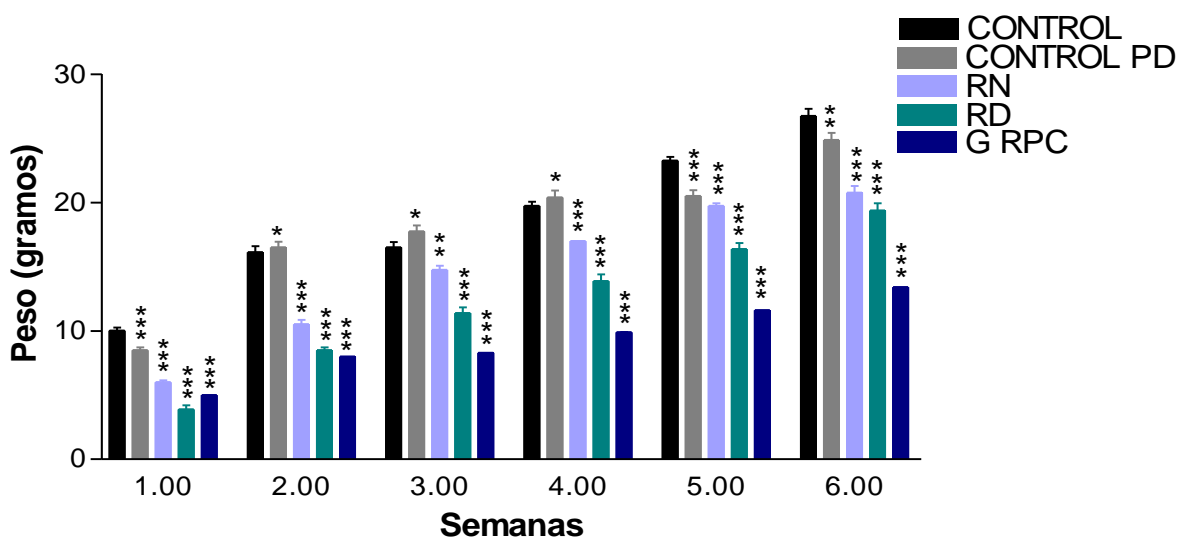
**Figura 3.** Ingesta de alimento de las ratas madre desde la adaptación (semana 1 y 2), cruce (semana 3), gestación (4-6 semana) y lactancia (7-9). Los valores corresponden a tres experimentos independientes. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$  indican, \*\*\* $p \leq 0.001$



**Figura 4.** Evolución del peso corporal de las ratas madre desde las dos semanas de adaptación, tres de gestación y tres de lactancia. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$

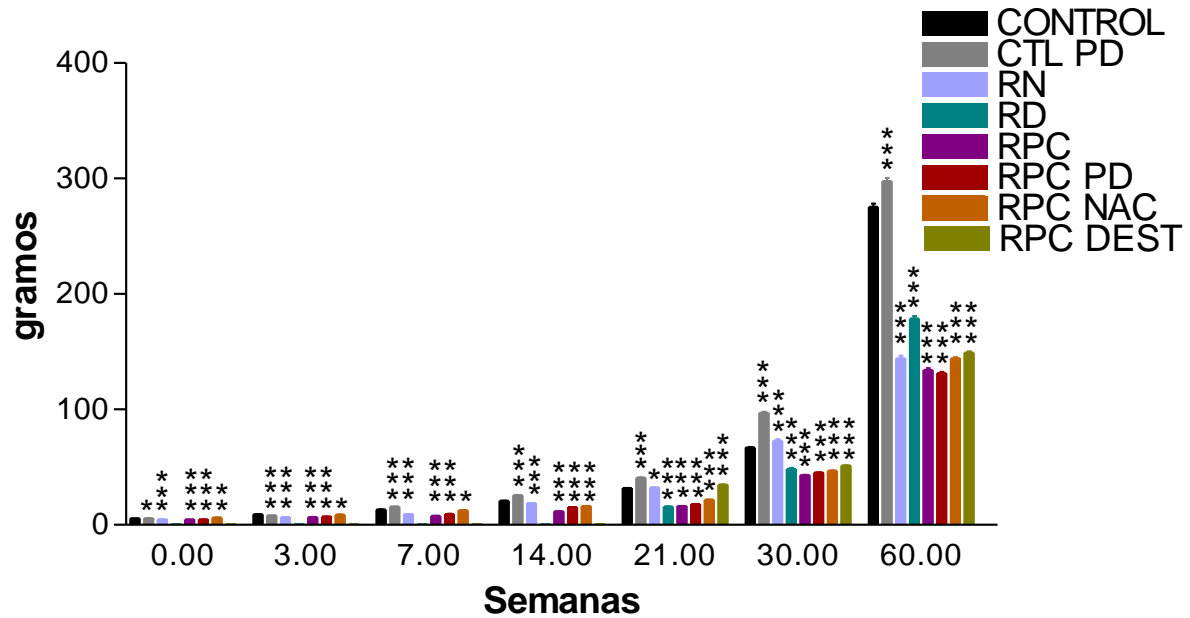
## Crías

Una rata a la edad de 21 días de nacido consume alimento por sí sola por lo cual se midió el consumo de alimento donde se muestra que los grupos con restricción proteico-calórica (G RPC) siempre consumen la mitad de alimento que el grupo CTL y que el grupo RN iguala al CTL en el consumo de alimento en las primeras semanas, pero no así en las últimas dos semanas donde el CTL si las supera. El grupo RD consume menor cantidad de alimento en todas las etapas con respecto al grupo CTL (**Figura 5**). En la **Figura 6** se observa la ganancia de peso de todos los grupos desde el nacimiento hasta la edad adulta siendo el grupo CTL PD quien mayor peso presentó a partir del día posnatal 7 (P7) hasta el P60. Los grupos restantes presentaron menor ganancia de peso comparados con el grupo control la cual es más evidente a partir del destete. En la **Figura 7** se muestra la longitud céfalo-sacra, en donde los grupos desnutridos presentan menor talla con respecto al grupo CTL los grupos recuperados y el CTL PD mostraron una talla similar al grupo control a excepción del grupo RD que está por debajo.



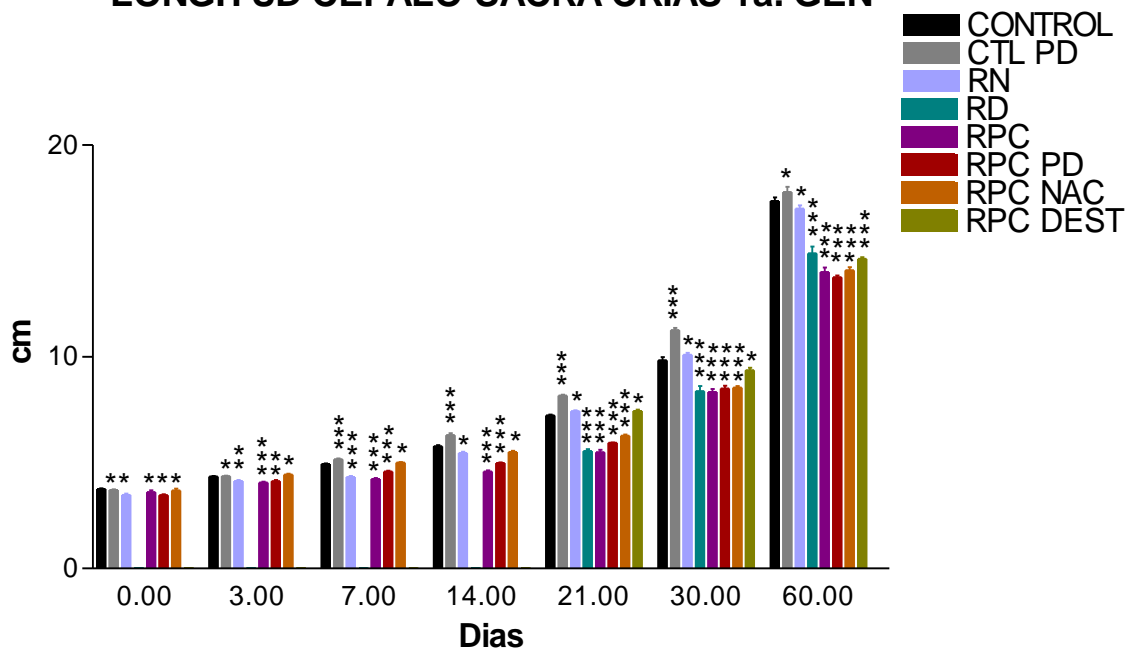
**Figura 5.** Consumo de alimento desde el nacimiento hasta la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$

## PESO CORPORAL CRIAS 1a. GEN



**Figura 6.** Evolución del peso corporal de los grupos control (CTL), control padre desnutrido (CTL PD), recuperado al nacimiento (RN), recuperado al destete (RD), restricción proteico-calórica (RPC), restricción proteico-calórica padre desnutrido (RPC PD), restricción proteico-calórica al nacimiento (RPC NAC), y restricción proteico-calórica al destete (RPC DEST) desde el nacimiento (P0) hasta la edad adulta (P60). Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$

## LONGITUD CEFALO-SACRA CRIAS 1a. GEN



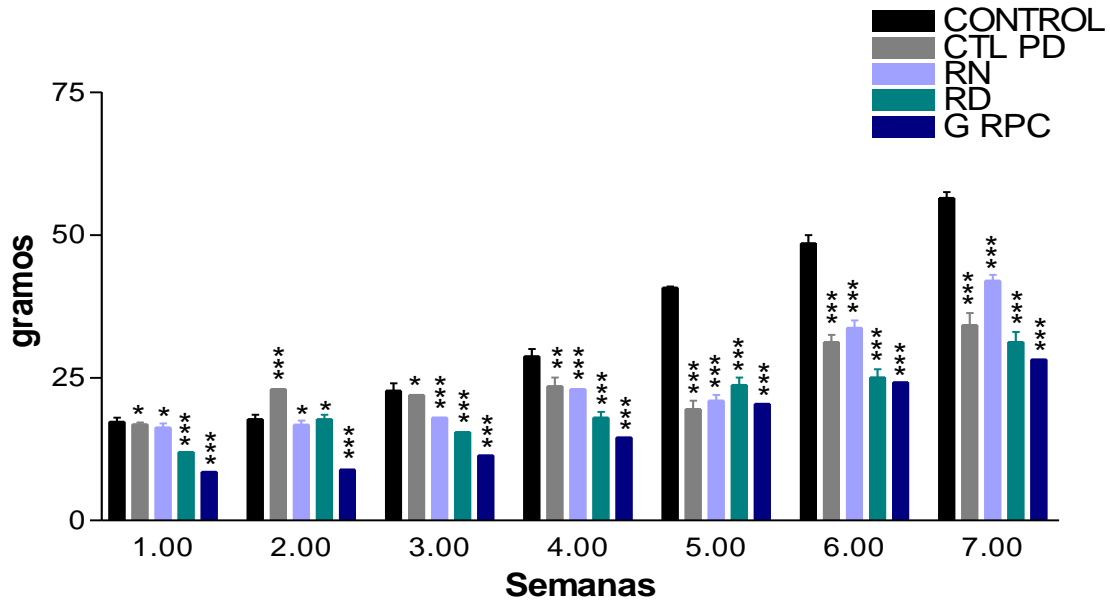
**Figura 7.** Longitud céfalo-sacra (LCS) de los grupos desde P0 hasta P60. Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$  indican, \*\*\* $p \leq 0.001$ .

### *Segunda generación.*

#### *Madres.*

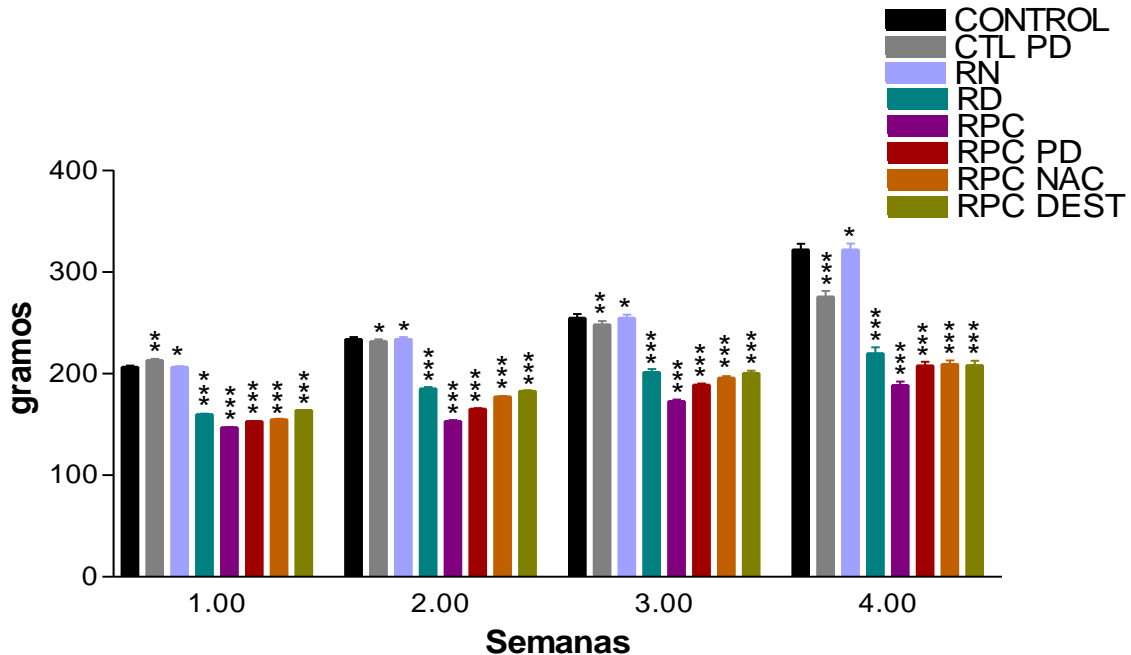
Para la segunda generación el grupo CLT PD tienen un consumo de alimento mucho menor comparado con el grupo CTL, los grupos RN y RD tuvieron un consumo menor a partir de la tercera semana con respecto al grupo CTL. Los grupos con restricción proteico-calórica (G RPC) siempre consumieron la mitad de alimento que consumía semanalmente el grupo CTL como se observa en la **Figura 8**. En la **Figura 9** se muestra que el peso corporal del grupo RN iguala al grupo CTL, el grupo CTL PD se mantiene igual al grupo CTL a excepción de la última semana, donde el peso del CTL PD ya es menor. El resto de los grupos se mantienen todo el esquema con una ganancia de peso menor que el grupo CTL.

## CONSUMO DE ALIMENTO MADRES 2a. GEN



**Figura 8. Consumo de alimento.** La primera semana es cuando salen de cruce hasta la semana 7 que es el destete de las crías. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$

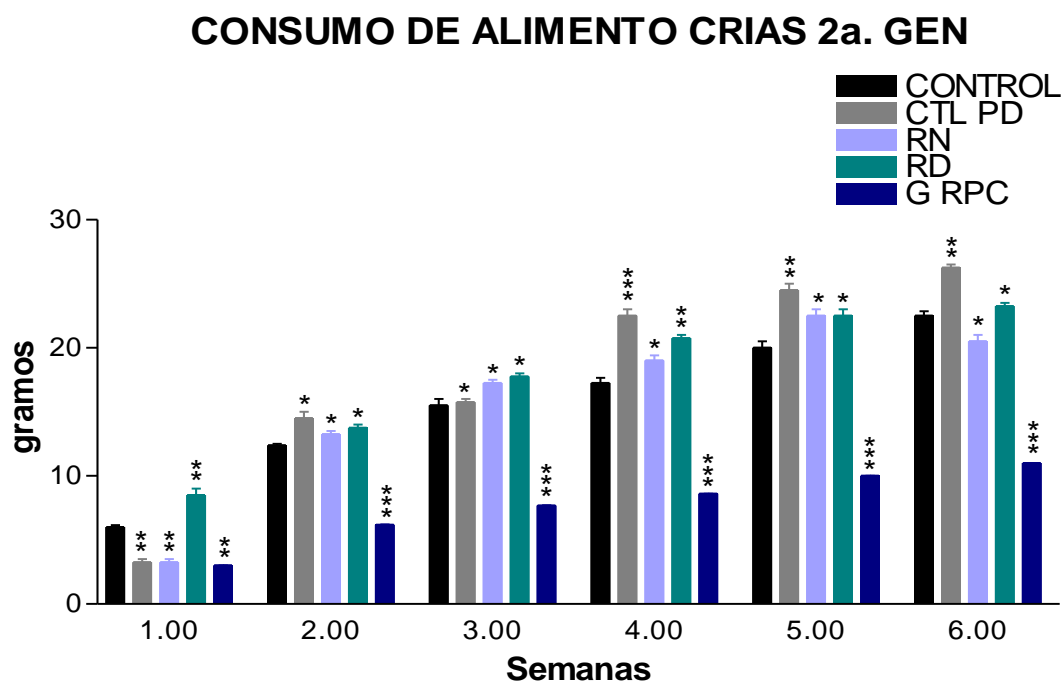
## PESO CORPORAL MADRES 2a. GEN



**Figura 9. Peso corporal de las madres.** Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$

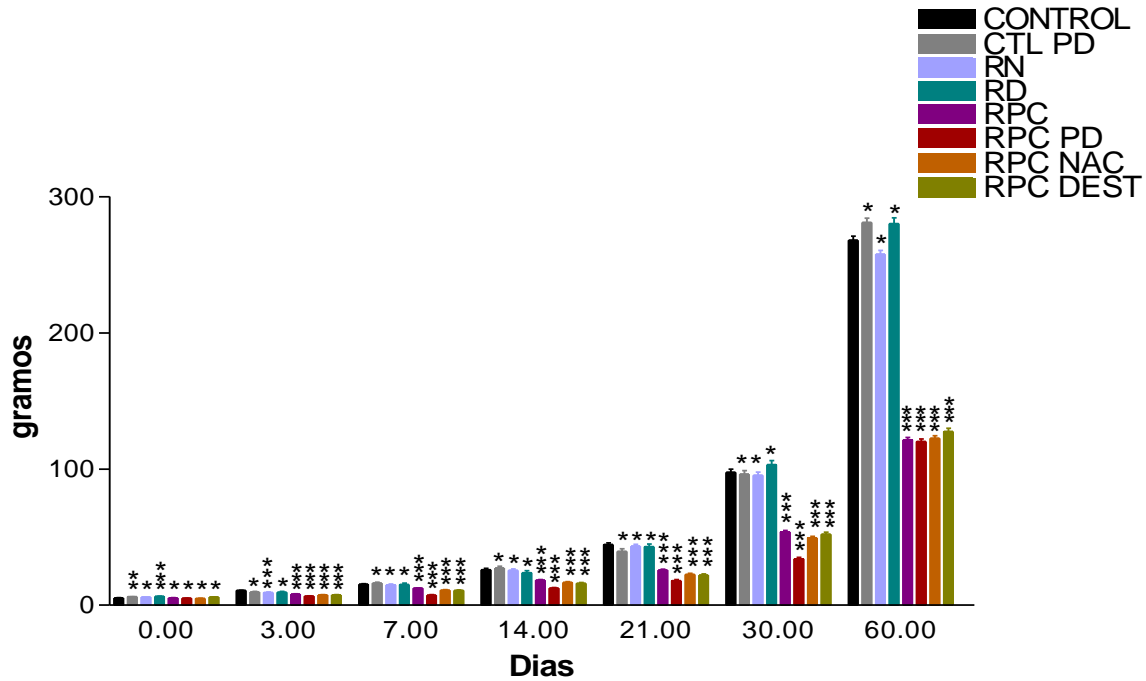
## Crías

El grupo RN consume más alimento que el grupo CTRL, RD y el RPC PD, solo este último grupo muestra una diferencia significativa en la semana cuatro con respecto al grupo CTL como se muestra en la **Figura 10**. En la evolución del peso corporal (**Figura 11**) los grupos recuperados y el grupo CTL PD no mostraron diferencia significativa comparada con el grupo control, a diferencia de todos los grupos con RPC que durante todo el esquema estuvieron por debajo del grupo CTL, incluso en la edad adulta se encuentra su peso por debajo de la mitad del peso del grupo CTL. La **Figura 12** muestra la longitud céfalo-sacra en donde el grupo RD está un poco por arriba del CTL y los grupos con RPC están por debajo del grupo CTL en la edad adulta.



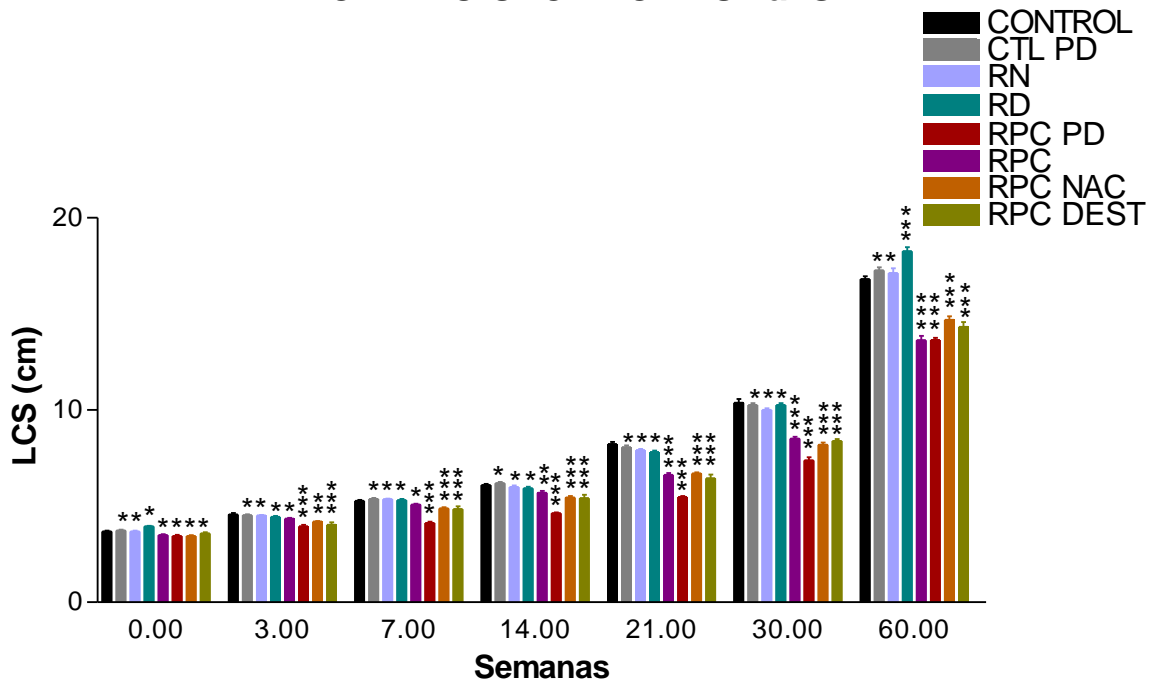
**Figura 10.** Consumo de alimento desde el nacimiento hasta la edad adulta del esquema de segunda generación. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$

## PESO CORPORAL CRIAS 2a. GEN



**Figura 11.** Peso de todos los grupos de segunda generación desde P0 hasta P60. Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$

## TALLA CEFALO-SACRA CRIAS 2a. GEN



**Figura 12.** Longitud céfalo-sacra (LCS) de todos los grupos desde P0 hasta P60 del esquema de segunda generación. Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$  indican, \*\*\* $p \leq 0.001$ .

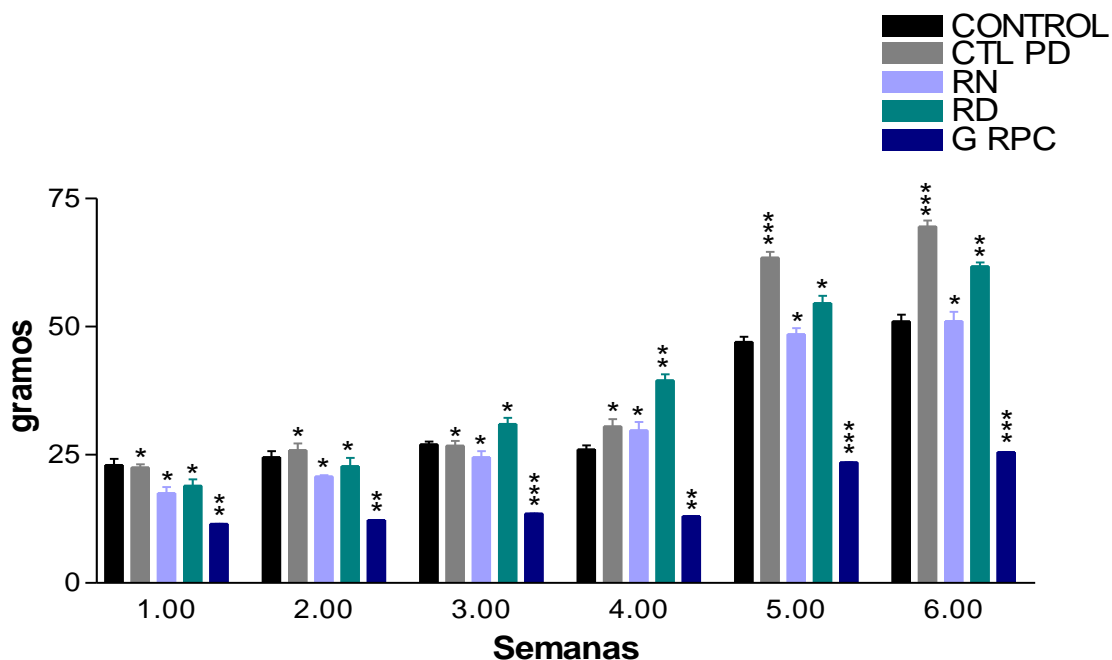


### Tercera generación.

#### Madres

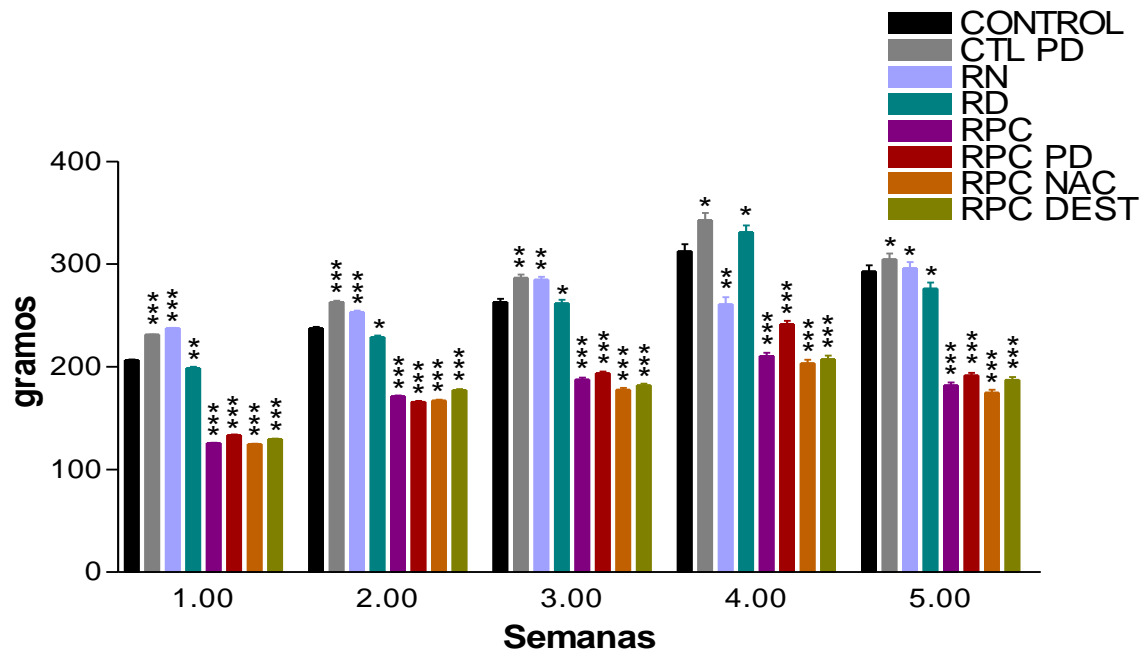
La **Figura 13** muestra la mayor cantidad de alimento que consumió el grupo RPC PD, así como el grupo RD comparado con el grupo CTL en las últimas cuatro semanas, siendo con el CTL PD donde se observa la mayor diferencia. El grupo RN no mostro diferencia significativa con respecto al grupo CTL durante todo el esquema, como en las dos generaciones anteriores los grupos con RPC consumieron la mitad de alimento que consume el grupo CTL. En el peso corporal los grupos con RPC mostraron mucha menor evolución con respecto al grupo CTL durante todo el esquema mientras que con los grupos recuperados y el CTL PD no mostro diferencia significativa durante casi todo el esquema (**Figura 14**).

### CONSUMO DE ALIMENTO MADRES 3a. GEN



**Figura 13.-** Consumo de alimento de las ratas madre de tercera generación. Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$  P

## PESO CORPORAL MADRES 3a. GEN

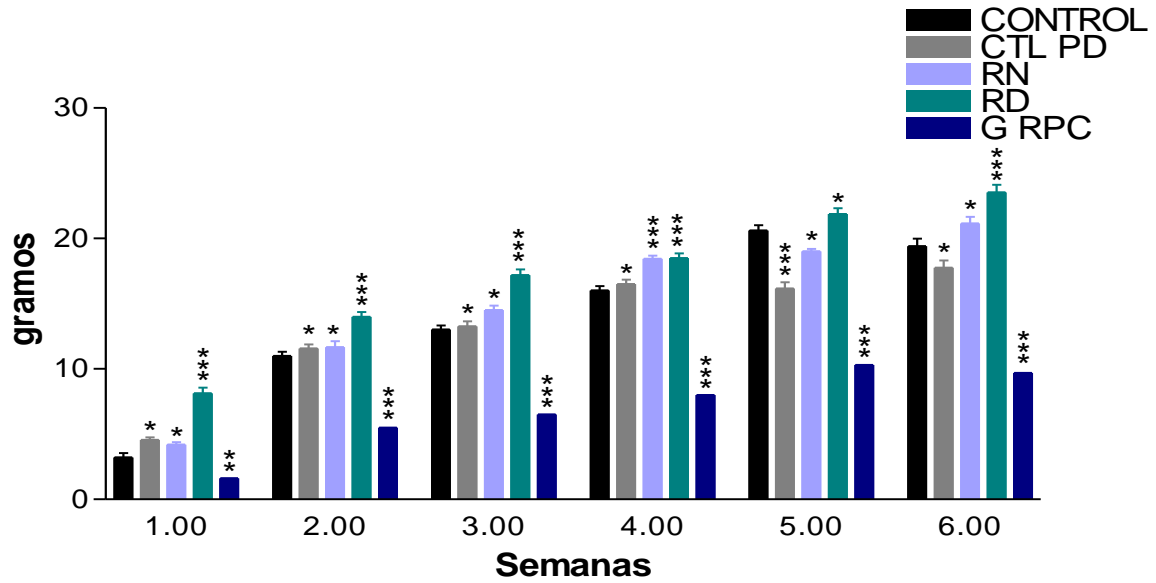


**Figura 14.** *Peso corporal de las ratas madre de tercera generación.* Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$ .

### Crías

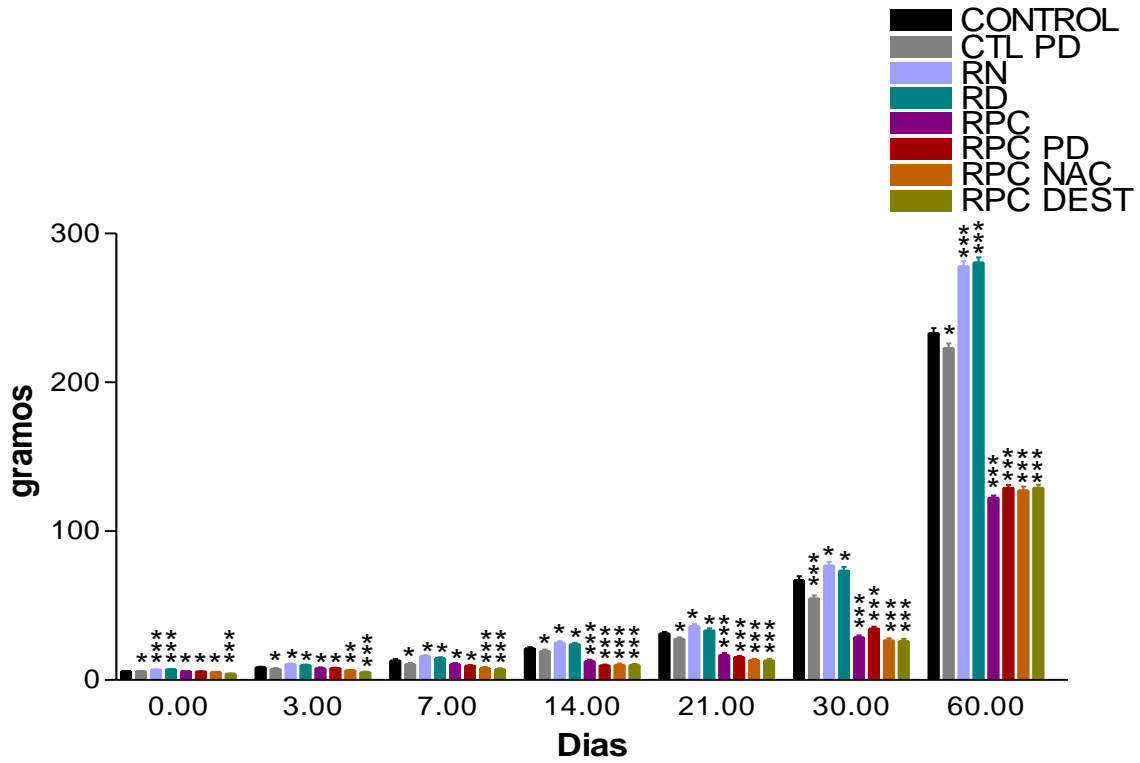
Para las crías, refiriéndonos al consumo de alimento son el grupo RD los que consumieron más gramos de alimento en todo el esquema como lo observamos en la **Figura 15**, con los demás grupos no presentaron diferencia significativa a excepción de los G RPC por las razones ya descritas con anterioridad. La **Figura 16** nos muestra como los grupos RN y RD en la edad adulta han ganado mayor cantidad de peso, incluso más que en las dos generaciones anteriores con respecto al grupo CTL, el grupo CTL PD se empareja en peso al grupo CTL en esta generación y los grupos con RPC se mantienen con una diferencia significativa con respecto al grupo CTL durante casi todo el esquema. Algo para destacar es que el grupo CTL PD tiene menor longitud céfalo-sacra que el grupo CTL en las últimas semanas, con los grupos recuperados no hay diferencia significativa en las últimas dos semanas con respecto al CTL, a su vez todos los grupos con RPC mostraron diferencia significativa comparado con el grupo CTL (**Figura 17**).

## CONSUMO DE ALIMENTO CRIAS 3a. GEN



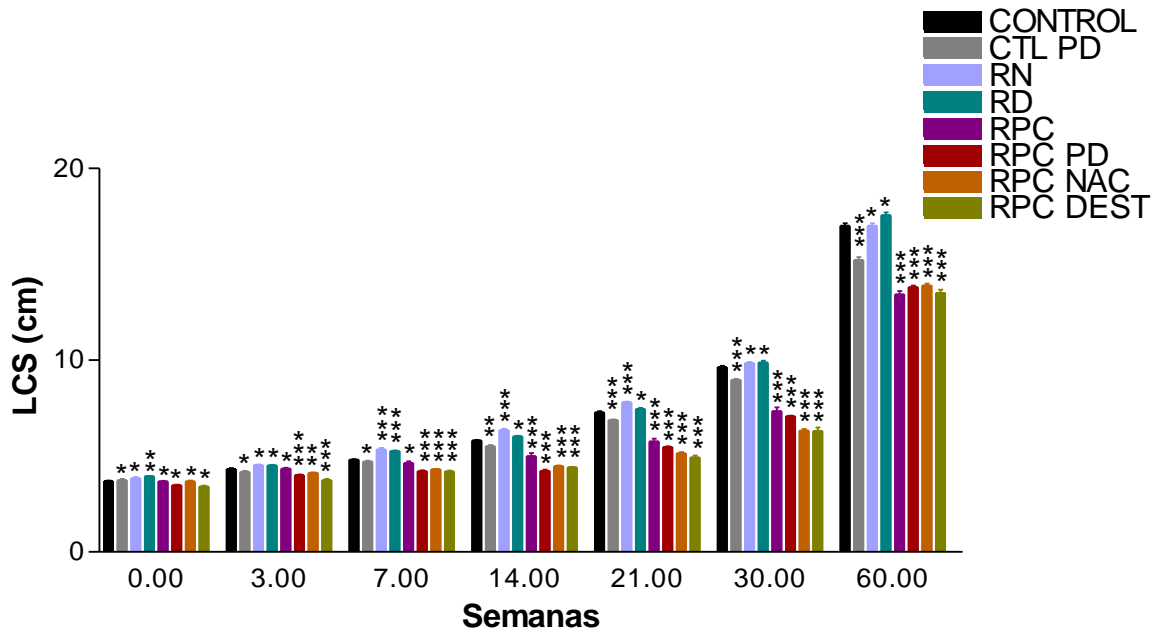
**Figura 15.** *Consumo de alimento* desde el nacimiento hasta la edad adulta de ratas de tercera generación. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$ .

## PESO CORPORAL CRIAS 3a. GEN



**Figura 16.** Peso corporal de la crías desde el nacimiento hasta la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$ .

## LONGITUD CEFALO-SACRA 3a. GEN

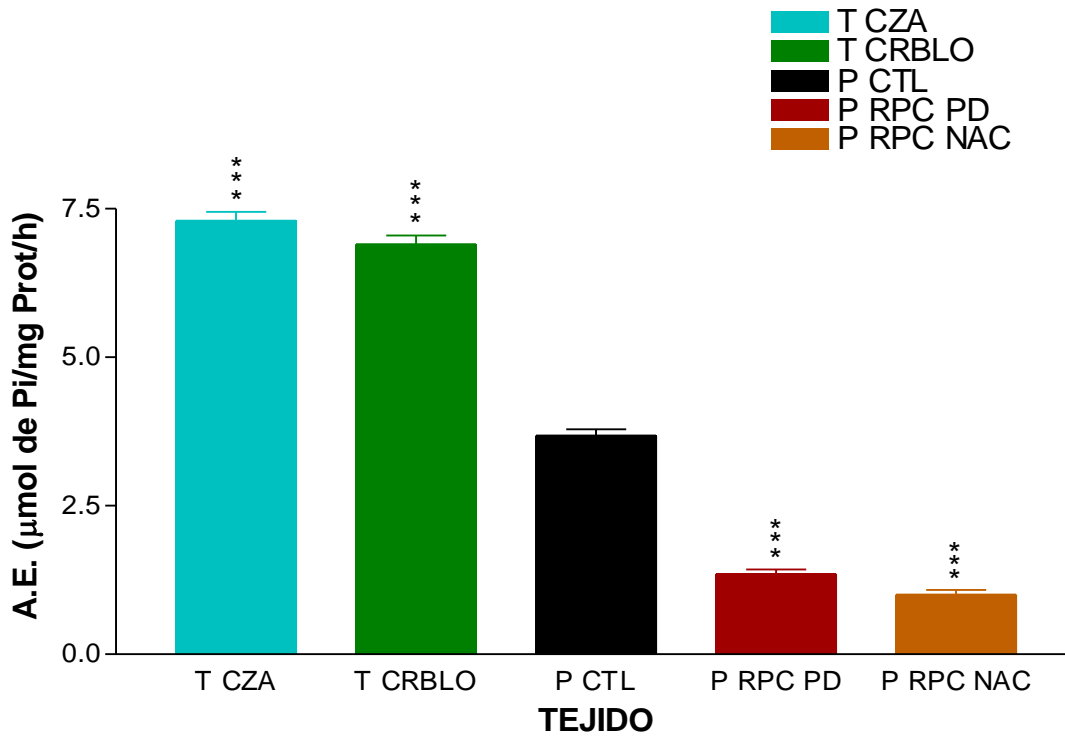


**Figura 17.** Peso corporal de la crías desde el nacimiento hasta la edad adulta. Los valores de la gráfica corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$  indican, \*\*\* $p \leq 0.001$  indican cambios significativos con respecto al grupo control.

### *Actividad de la $Na^+/K^+$ -ATPasa*

La actividad de la bomba de sodio y potasio en tejidos como cerebelo y corteza de rata CTL ya son muy conocidas por lo que fueron el parámetro para comparar las actividades de la bomba de sodio y potasio encontradas en la papila caliciforme en los grupos CTL, RPC PD y RPC NAC, las dos últimas se compararon con el grupo CTL siendo menor su actividad en ambas como se muestra en la **Figura 18**.

## ACTIVIDADES BASLES DE LA BOMBA DE SODIO Y POTASIO DE PAPILA CALICIFORME



**Figura 18.** Actividad de la bomba de sodio y potasio. Los valores corresponden a tres experimentos independientes por triplicado \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$ .

## DISCUSIÓN.

Los estudios en animales y seres humanos indican que una combinación de la desnutrición prenatal y postnatal es más perjudicial que cuando ocurre durante cualquier periodo solo. Sin embargo, la mayoría de los estudios también muestran que la malnutrición prenatal resulta en mayores deficiencias mentales permanentes que la desnutrición postnatal. Además desnutrición pregestacional combinado con desnutrición gestacional arroja efectos más graves en la conducta que la desnutrición gestacional solo (Morgane et al., 2002).

Aunque la respuesta materna a un estado nutricional deficiente varía mucho, se ha observado que una disminución en el consumo de alimentos por la madre o su capacidad de absorción, puede causar menor crecimiento fetal. Tanto en el feto como en el recién nacido con peso bajo, los niveles séricos de leptina son bajos debido a su escaso tejido adiposo.

Existe evidencia en recién nacidos a término, que la alimentación temprana es decir, los primeros seis meses de vida extrauterina, se acompaña de un incremento tardío en la ganancia de peso. La ingestión calórica postnatal temprana, denominada así al patrón de consumo calórico los primeros cuatro meses de vida y el crecimiento corporal rápido evaluado en incremento de peso, también eleva el riesgo de tener obesidad en la infancia tardía. Asimismo, además de la impronta de un mayor riesgo para incremento de peso fácil o temprano de los recién nacidos con bajo peso al nacer, se ha observado, que si son alimentados antes de los seis meses de edad, tienen un riesgo más para el desarrollo ulterior de síndrome metabólico en comparación con individuos sin estos factores. Finalmente, las dietas con alto aporte de carbohidratos en la etapa neonatal, son causa de un descenso en la transcripción de los genes que regulan la síntesis de proteínas desacoplantes 2 y 3 en tejido muscular, lo que expone a un individuo a una mayor predisposición a acumular grasa (Perea, et. al., 2012).

Además de la disfunción de los sistemas reguladores del apetito y la saciedad, diversos estudios indican que la desnutrición materna, programa el tejido adiposo fetal en su desarrollo y función, haciéndolo susceptible a una mayor lipogénesis, factor clave en el desarrollo de obesidad (Perea, et. al., 2012).

El peso corporal, la longitud y la circunferencia craneana fueron significativamente disminuidos en el grupo desnutrido (Manjarrez, et. al., 1998). Estos estudios demuestran que si aplicamos un estrés nutricional durante periodos críticos del desarrollo se altera la fisiología y el metabolismo del organismo acarreado consecuencias que se observaran en etapas posteriores, aún en ausencia de

estrés nutricional que las inicio, siendo este fenómeno la programación metabólica (Lucas, 1991).

En el caso de la biología del hueso, el cerebro y el complejo serotonina-intestino regulan la acumulación de masa ósea, pero lo hacen en modos opuestos y a través de diferentes vías. El sitio periférico importante de la producción de serotonina es el tracto gastrointestinal (Gershon y Tack, 2007). Sobre la base de este patrón de expresión y las observaciones clínicas que asocian niveles altos o bajos de la serotonina en la sangre con trastornos intestinales, se espera que la serotonina producida en el intestino fuera esencial para regular su movimiento. De acuerdo a nuestros resultados la papila es un sitio periférico donde la serotonina interviene en la regulación de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> –ATPasa.

En nuestros resultados la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> –ATPasa en la papila caliciforme en los grupos RPC PD y RPC NAC se encontró disminuida en comparación con el grupo CTL pudiéndose deber a que la papila no es tan importante para las funciones en los mamíferos como lo es el cerebro, por tal motivo no hay actividad elevada en estos grupos con desnutrición por la hipotrofia del tejido de la papila.



## **CONCLUSIÓN.**

La actividad de la bomba de sodio y potasio y su modulación por serotonina en la papila caliciforme de ratas es diferente a la observada en otros tipos celulares.

## BIBLIOGRAFÍA.

Adler, E., Hoon, M.A., Mueller, K.L., Chandrashekar, J., Ryba, N.J. and Zuker, C.S. (2000) a Novel Family of mammalian taste receptors. *Cell*, (100): 693-702.

Airan, R.D., Meltzer, L.A., Roy, M. (2007) High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* (317):819-23.

Aperia, A. (2007) New for an old enzyme: Na,K-ATPase emerges as an interesting drug target. *J Intern Med* (261): 44-52.

Ashcroft, G.W., Crawford, T.B., Eccleston, D., Sharman, D.F., MacDougall, E.J., Stanton, J.B., Binns, J.K. (1966) 5-hydroxyindole compounds in the cerebrospinal fluid of patients with psychiatric or neurological diseases. *Journal* (2):1049-1052.

Barker, D.J.P., Bergmann, R.L., Ogra, P.L. (2008) eds. The window of opportunity: pre-pregnancy to 24 months of age. *Karger*, vol 61, :1-266.

Berger, M., Gray, J.A., and Roth, B.L. (2009), The expanded biology of serotonin. *Annu. Rev. Med.* doi: 10.1146/annurev.med.60.042307.110802. 60: 355-366.

Bigiani, A. (2001) Mouse taste Cell with Glialike Membrane Properties. *J. Neurophysiol.* (85): 1552-1560.

Bougther, J.G. (1997) Amiloride Blocks Acid responses in NaCl-Best Gustatory Neurons of the Hamster Solitary Nucleus, *J. Neurophysiol.* (80):1362-1372.

Buck, L.B. (2000) Smell and taste: the Chemical Senses. In.: *Principles of Neural Sciences*, edited by E.R. Kandel, J.H. Schwatz, and T.M. Jessell McGraw Hill, vol: 625-647.

Chaudhari, N., Yang, H., Lamp, C., Delay, E., Cartford, C., Than, T., Roper, S. (1996) The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds. *The Journal of neuroscience.* 16(12):3817-3826.

Clapp, T.R., Yang, R., Stoick, C.L., Kinnamon, S.C. and Kinnamon, J.C. (2004) Morphologic Characterization of rat taste receptor cells that Express Components of the Phospholipase C Signaling Pathway. *J. Comp. Neurobiol.* (468):311-321.

Coppen, A., Whybrow, P.C., Noguera, R. Maggs, R., Prange, A.J. (1972) The comparative antidepressant value of L-tryptophan and imipramine with and without attempted potentiation by lithium. *Arch. Gen. Psychiatry.* (26):234-241.

Cordón, F. (1978) La alimentación, base de la biología evolucionista. Historia natural de la acción y experiencia. Parte Primera. Origen, naturaleza y evolución del protoplasma. Vol 1, 139-602.

Cummings, S.T. y Kinnamon, S.C. (1992) Apical K<sup>+</sup> Channels in Necturus taste cells. Modulation by Intracellular factors and taste Stimuli. *J. Physiol.* (99):591-613.

Damak, S., Rong, M., Yasumatsu, K., Kokrashashvili, Z., Varadarajan, V., Zou, S., Jiang, P., Ninomiya, Y., Margolskee, R.F. (2003) Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3. *Science.* 301(5634): 850-853.

De Fusco, M., Marconi, R., Silvestri, L., Atorino, L., Rampoldi, L., Morgate, L., Ballabio, A., Aridon, P., and Casari, G. (2003) Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat. Genet.* 33, 192-196.

Deems, D.A., Doty, R.L., Settle, R.G., Moore-Gillon, V., Shaman, P., Meater, A.F., Kimmelman, C.P., Brightman, V.J. and Snow, J.B JR. (1991) Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania smell and taste center. *Arch. Otolaryngol. Head neck surg.* (117):519-528.

De Rooij, S.R., Painter, R.C., Roseboom, T.J., Phillis, D.I., Osmond, C., Barker, D.J. (2006) Glucose tolerance at age 58 and the decline of glucose tolerance in comparison with age 50 in people prenatally exposed to the Dutch famine. *Diabetologia*, 49(4): 637-633.

Gallou-Kabani, C. y Junien, C. (2005) Nutritional epigenomics of metabolic syndrome. New perspective against the epidemic. *Rev. Diabetes*, 54(7):1899-1906.

Gershon, M.D., and Tack, J. (2007) The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology, Journal* (132): 397-414.

Gingrich, J.A., and Hen, R. (2001) Dissecting the role of the serotonin system in neuropsychiatric disorders using knockout mice. *Psychopharmacology Journal.* (155): 1-10.

- Gómez Federico (2003) Desnutrición, *Salud Pública Mex*, 45 (Su4): 576-582.
- Grahame-Smith, D.G. (1964) Tryptophan hydroxylation in brain. *Biochem. Biophys. Res.* (16): 586-592.
- Hernández, G. (2010) Nutrición durante la gestación y la lactancia. *Tratado de Nutrición. Nutrición humana en el estado de salud.* Editorial Medica Panamericana, 3(2):133-149.
- Hernández, G., Aguilera, G.C., Gómez, C. (2010) Nutrigenómica. *Tratado de Nutrición. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición.* Editorial Médica Panamericana, 3(1):749-806.
- Herness, M.S. and Sun, X.D. (1999) Characterization of chloride currents and their noradrenergic modulation in rat taste receptor cells. *Journal of Neurophysiology.* (82): 260-271.
- Herrera, E. (1988) Aspectos básicos de las adaptaciones metabólicas en la madre durante la gestación y relaciones materno-fetales. Ed. *Bioquímica perinatal.* Fundación Areces, Ceura: 17-39.
- Herrera, E. y Ramos Alvares M.P. (2008) Papel del tejido adiposo, sensibilidad insulínica e ingesta lipídica en la gestación y su implicación en el riesgo de padecer diabetes en la edad adulta. *Desarrollo perinatal: Origen de patologías adultas. Monografía XXIII.* Instituto de España. Real Academia Nacional de Farmacia: 205-238.
- Holland, J.M. (1976) Serotonin deficiency and prolonged bleeding in beige mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (151):32-39.
- Hoon, M.A., Adler, E., Lindemeier, J., Battey, J.F., Ryba, N.J. and Zuker, C.S. (1999) Putative Mammalian taste Receptors: a class of taste-specific GPCRS with distinct topographic selectivity. *Cell* (96):541-551.
- Imendra, K.G., Fujiyama, R., Miyamoto, T., Okada, Y., Sato, T. (2000) serotonin inhibits voltage-gated sodium current by cyclic adenosine monophosphate-dependent mechanism in bullfrog taste receptor cell. *Neurosci. Lett.* (294):151-154.
- Imendra, K.G., Miyamoto, T., Okada, Y., Toda, K. (2002) serotonin differentially modulates the electrical properties of different subset of taste receptors cell in bullfrog *Eur. J. Neurosci.* (16):629-640.
- Jaisser, F., Canessa, C.M., Horisberger, J. D., Rossier, B. C. (1992) Primary sequence and functional expression of a novel ouabain-resistant Na,K-ATPase.

The beta subunit modulates potassium activation of the Na,K-pump. *J. Biol. Chem.* (267):16895-16903.

Kandel, E.R., Schwartz, J.H. y Jessell, T.H. (2001). Cerebro, neuronas y conducta, en *Principios de Neurociencia*. Eds. McGraw-Hill, 2 (3):5-35.

Kaumann, A.J., and F.O. Levy. (2006) 5-hydroxytryptamine receptors in the human cardiovascular system. *Journal Pharmacol* (111): 674-706.

Kettaneh, A., Fain, O., Stirnemann, J. and Thomas, M. (2002) Taste disorders. *La Revue de Medecine Interne*, (23):622-631.

Kitsukawa, M., Kusakabe, Y., Miura, H., Ninomiya, Y., Hino, A. (2001) Molecular genetic identification of a candidate receptor gene for sweet taste. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (283): 236-242.

Kroeze, W.K., Hufeisen, S.J., Popadak B.A. (2003) H1-histamine receptor affinity predicts short-term weight gain for typical and atypical antipsychotic drugs. *Neuropsychopharmacology* (28):519-26.

Li, X., Staszewski, L., XU, H., Durick, K., Zoller, M. and Adler, E. (2002) Human Receptors for sweet and umami taste. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, (99): 4692-4696.

López, N.J.M. y López, H.F. (2010) Metabolismo Hidromineral: agua y electrolitos. *Tratado de nutrición. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición*. Editorial Médica Panamericana, (2): 593-621.

Lovenberg, W., Jequier, E., Sjoerdsma, A. (1967) Tryptophan hydroxylation: measurement in pineal gland, brainstem, and carcinoid tumor. *Science Journal* (155): 217-219.

Lucas, A. (1991) Programming by early nutrition in man. In: Bock GR, Whelan J, eds. *The childhood environment and adult disease*. Chichester: Wiley. 1:38-55.

Lutsenko, S., and Kaplan, J. H. (1993) An essential role for the extracellular domain of the sodium-potassium-ATPase .beta.-subunit in cation occlusion. *Biochemistry*. 32(26): 6737-6743.

Mangold, J.E. y Hill, D.L. (2007) *The Journal of Neuroscience*, 27(17): pp.4650-4662.

Manjarrez, G., Contreras, J. L., Chagoya, G., and Hernández-R, J. (1998) Free Tryptophan as an Indicator of Brain Serotonin Synthesis in Infants. *Pediatr. Neurol.* (18): 57-62.

Mann, J.J., McBride, P.A., Brown, R.P., Linnoila, M., Leon, A.C., DeMeo, M., Mieczkowski, T., Myers, J.E., Stanley, M. (1992) Relationship between central and peripheral serotonin indexes in depressed and suicidal psychiatric inpatients. *Arch. Gen. Psychiatry.* (49):442-446.

Mataix, J.M. y Arandas R.P. (2009) *Gestación en Nutrición y alimentación humana. Situaciones fisiológicas y patológicas.* Editorila Ergón, vol 1061-1084.

Mataix, V.J. y García, T.L. (2005) Agua y equilibrio hidroelectrolítico. *Nutrición y alimentación humana. II. Situaciones fisiológicas y patológicas.* Editorial Ergón, (2): 927-950.

Mataix, V.J. y Sánchez de Medina, C.F. (2009) Bases metabólicas y moleculares de la nutrición. *Regulación de la expresión genética. Nutrición y alimentación humana. I. Nutrientes y alimentos.* Ergón vol. 63-69.

Mattes, R.D. y Cowart, B.J. (1994) dietary assessment of patients with Chemosensory Disorders. *J. AM. Diet. Assoc.* (94):50-56.

Max, M., Shanker, Y.G., Huang, L., Rong, M., Liu, Z., Campagne, F., Weinstein, H., Damak, S. and Margolskee, R.F. (2001) TAS1R3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus sac. *Nat. Genet.* (28):58-63.

McGanity, W., Dawson, E.B., Van Hook, J. (1998) *Maternal nutrition, Modern Nutrition in health and disease.* 9 ed. Lippincott Williams and Wilkins, vol 811-838.

Mc Miller, I.C. y Robinson, J. S. (2005) Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev.* 85(2): 571-633.

Mengod, G., Vilaro, M.T., Cortes, R. (2007) Chemical neuroanatomy of 5-HT receptor subtypes in the mammalian brain. In *The Serotonin Receptors: From Molecular Pharmacology to Human Therapeutics*, Ed. BL Roth, Totowa, NJ: Humana. Vol: 319-364.

Meyerhof, W. (2005) Elucidation of mammalian bitter taste. *Rev. Physiol, Biochem. Pharmacol.* (154):37-72.

Miller, S.M. and Naylor, G.J. (1989) Unpleasant taste-aneglected symptom in depression. *J. Affect. Disord.* (17):291-293.

Miyoshi, M.A, Abe, K., Emori, Y. (2001) IP(3) receptor type 3 and PLCbeta2 are co-expressed with taste receptors T1R and T2R in rat taste bud cells. *Chemical senses.* 26(3):259-65.

Mistretta, C.M. (1998) The role of innervation in induction and differentiation of taste organs: introduction and background. *Ann. NY Acad. Sci.* 855:1–13.

Montayeur, J.P., Liberles, S.D., Matsunami, H., Buck, L.B. (2001) A candidate taste receptor gene near a sweet taste locus. *Nature Neuroscience.* (4): 492-498.

Moore, K.L. y Persaud T.V.N. (2003) *The developing human: Clinically oriented embryology*, Saunders W. B. Co. Ltd. Philadelphia, Pennsylvania, 7a ed. 156-201.

Morgane, P.J., Mokler, D.J., Galler, J.R. (2002) *Neuroscience and biobehavioral*, Reviews 26: 71-483.

Morth, J. P., Pedersen, B.P., Toustrup-Jensen, M. S., Sorensen, T. L., Petersen, J., Andersen, J. P., Vilsen, B., and Nissen, P. (2007) Crystal structure of the sodium-potassium pump. *Nature* (450): 1043-1049.

Mueller, K.L., Hoon, M.A., Erlenbach, I., Chandrashekar, J., Zuker, Ch.S., Ryba, J.P. (2005) The receptor and coding logic for bitter taste. *Nature*, (434):225-229.

Munger, B.L. (1993) The general somatic terminals in oral mucosae. In: *Mechanisms of taste transduction*, editet by S.A. Simon and Roper, Boca Raton, F1:CRC Press, vol: 83-104.

Murray, R.G. (1986) The Mammalian taste bud type III Cell: a Critical Analysis. *J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res.* (95): 175-188.

Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M.K., Feng, L., Ryba, N.J. and Zuker, C.S. (2002) An amino-acid taste receptors. *Rev. Nature*, (416):199-202.

Ordovás, J.M. y Corella, D. (2008) *La revolución del genoma humano. ¿Qué significa genómica, epigenética, nutrigenética, nutrigenómica, metabolómica?. Genética, nutrición y enfermedad.* Instituto Tomás Pascual y Consejo Superior de Investigaciones Científicas, vol: 17-29.

Pascual-Leone, A.M., Medina, J.M. (2008) *Desarrollo perinatal: Origen de patologías adultas*, Monografía XXIII. Instituto de España. Real Academia nacional de farmacia ,Vol?:15-17.

Painter, R.C., De Rooij, S.R., Bossuyt, P. M., Simmers, T.A., Osmond, C., Barker, D.J. (2006) Early onset of coronary artery disease after prenatal exposure to the Dutch famine. *Am J clin Nutr.* 84(2):322-466.

Perea-Martínez, A., López-Navarrete, G.E., Carbajal-Rodríguez, L., Rodríguez-Herrera, R., y col. (2012) Alteraciones en la nutrición fetal y en las etapas tempranas de la vida. Su repercusión sobre la salud en edades posteriores. *Acta Pediatr Mex*, 33(1):26-31.

Rapport, M.M., Green, A.A., Page, I.H. (1948a) Crystalline Serotonin. *Science*. (108):329-330.

Rapport, M.M., Green, A.A., Page, I.H. (1948b) Serum vasoconstrictor (serotonin). IV. Isolation and characterization, *The Journal of Biological Chemistry* (176): 1243-1251.

Ravelli, A.C., Van Der Meulen, J.H., Osmond, C., Barker, D.J., Bleker, O.P. (1999) Obesity at the age of 50 years in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr.*, 70(5): 811-6.

Roth, B.L. (1994) Multiple serotonin receptors: clinical and experimental aspects. *Clin. Psychiatry* (6):67-78.

Roth, B.L. (2007) Drugs and valvular heart disease. *J. Med.* Vol: 356:6-9.

Roth, B.L., Hanizavareh, S.M., Blum, A.E. (2004) Serotonin receptors represent highly favorable molecular targets for cognitive enhancement in schizophrenia and other disorders. *Psychopharmacology Berl.* (174):17-24.

Roth, B.L., Xia, Z. (2004) Molecular and cellular mechanisms for the polarized sorting of serotonin receptors: relevance for genesis and treatment of psychosis. *Crit. Rev. Neurobiol.* (16):229-36.

Sánchez-Muniz, F.J. (2008) Importancia de la interacción dietagénica en la prevención cardiovascular. *Genética, nutrición y enfermedad*. Instituto Tomás Pascual Sanz y CSIC Editores Médicos, S.A. 7: 125-144.

Sánchez-Muniz, F.J. y Bastida, S. (2010) Nutrigenómica y nutrigenética. Desde la expresión genética a las dietas a medida. *Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. COINSA*. 137:1783-1788.

Schiffman, S.S. (2000) Taste quality and neural coding: implications from psychophysics and neurophysiology. *Physiology and Behavior*. 69(1-2):147-59.

Segall, L., Mezzetti, A., Scanzano, R., Gargus, J.J., Purisima, E., and Blostein, R. (2005) Alterations in the alpha 2 isoforms of Na, K-ATPase associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (102):11106-11111.



- Shinoda, T., Ogawa, H., Cornelius, F., and Toyoshima, C. (2009) Crystal structure of the sodium-potassium pump at 2.4 Å resolution. *Nature* 459, 446-450.
- Sjoerdsma, A. (1959) Serotonin. *N. Engl. J. Med.* DOI: 10.1056/NESM195907022610104. 261:181.
- Sjoerdsma, A., and Palfreyman, M.G. (1990) History of serotonin and serotonin disorders. *J. Med.* . Vol: 7-8.
- Skou, J.C., Esmann, M. (1992) The Na,K-ATPase. *J Bioenerg Biomembr*, (24):249-261.
- Sugita M. (2006) Taste perception and coding in the periphery. *Cell. Mol. Life. Sci.* 63: 2000-2015.
- Suzuki T. (2007) Cellular Mechanism in taste buds. *Bull Tokyo Dent.* 45: 151-161. *Asso.* 130, 1759-1765.
- Stolbova, K., Hahn, A., Benes, B., Andel, M. and Treslova, L. (1999) Gustometry of diabetes mellitus patients and obese patients. *Int. Tinnitus. J.* (5):135-140.
- Thompson, J.L., Manore. M.M., Vaughan, L.A. (2008) *La nutrición en el ciclo vital: embarazo primer año de Vida.* Pearson Education SA. San Francisco, vol: 716.
- Walther, D.J., and Bader, M. (2003) A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem. Pharmacol.* (66): 1673-1680.
- Waterland, R.A. y Garza, C.(1999) Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *Am J clin Nutr.*, 69(2):179-197.
- Winkler, S., Garg, A.K., Mekayarajjanononh, T., Bakaeen, L.G. and Khan, E. (1999) depressed taste and smell in Geriatric Patients. *J. AM. Den. Asso.* (130):1759-1765.
- Xie, Z. y Askari, A. (2002). Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase as a signal transducer. *The FEBS Journals*, vol. 269, ISSUE 10, 2434-2439.
- Yang, R., Crowley, H., Rock, M.E. and Kinnamon, J.C. (2000) taste cells with Synapses in Rat circumvallate papillae display snap-25 like Immunoreactivity. *J. Comp. Neurol.* (424): 205-215.

Yang, R., Stoick, C.L. and Kinnamon, J.C. (2004) Synaptobrevin-2-Like Immunoreactivity is Associated with vesicles at synapses in rat circumvallate taste buds. *J. comp. Neurol.* (417):59-71.

Yang, R., Tabata, S., Crowley, H.H., Margolskee, R.F. and Kinnamon, J.C. (2000a) Ultrastructural Localization of Gustducin Immunoreactivity in Microvilli of type II taste cell in the Rat. *J. Comp. Neurol.* (425):139- 151.

Yee, C.L., Yang, R., Bottger, B., Finger, T.E. and Kinnamon, J.C. (2001) "type III" cells of rat taste buds: Immunohistochemical and ultrastructural studies of Neuron-specific enolase, protein gene product 9.5, and serotonin. *J. comput. Neurol.* (440):97-108.

Zárate M. L y Valenzuela M. A. (2012) Equilibrio sodio potasio en la regulación de presión arterial. *ActaMedica.* 6(1) :44-49.