

**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**



**FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA**



LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA

**“EFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL SOBRE EL
METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATAS”**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA

P.Q.F.B. RICARDO ESPINO GARCÍA

ASESOR DE TESIS

**DOCTOR EN CIENCIAS ROSALIO MERCADO
CAMARGO**

**TESIS PARCIALMENTE APOYADA POR CIC-UMSNH 2015,
CONACYT-ANUIES-ECOS-NORD M-12-S01.**

MORELIA MICHOACÁN, MARZO DE 2015

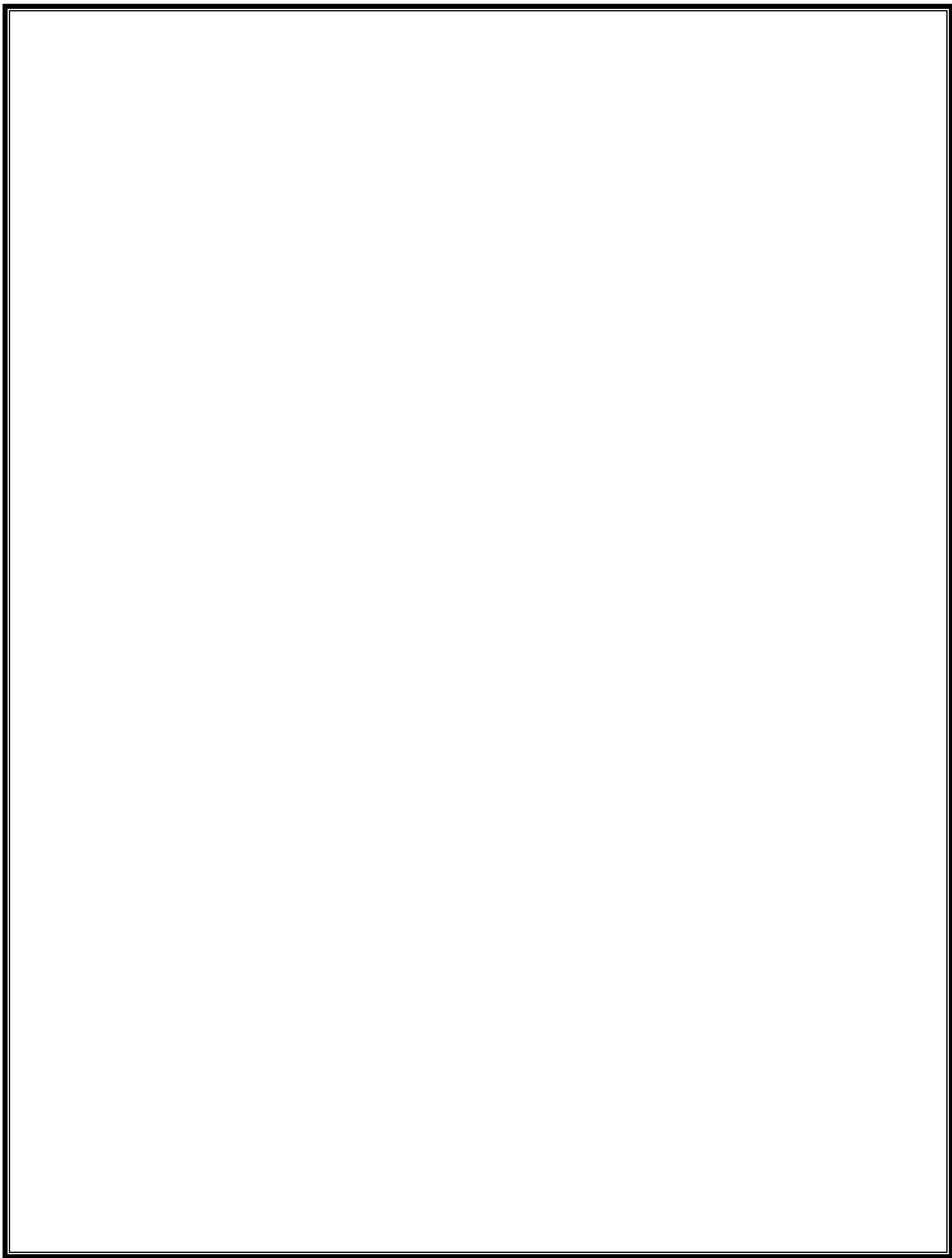
Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico
Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Tesis parcialmente apoyada por

CIC-UMSNH 2015, CONACYT-ANUIES-ECOS-NORD M-12-S01.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS



ÍNDICE

I. LISTA DE ABREVIATURAS	1
II. RESUMEN.....	3
II.I. ABSTRACT	4
III. INTRODUCCIÓN.....	5
III.I. Desnutrición	5
III.I.I. Tipos de desnutrición.....	6
III.I.II. Fenotipo ahorrador	7
III.I.III. Síndrome metabólico	8
III.I.IV. Cambios epigenéticos	8
III.I.V. Modelos de desnutrición (restricción proteico-calórica).....	9
III.I.VI. Programación intrauterina	9
III.II. Perfil lipídico.....	11
III.III. Serotonina y sistema serotoninérgico	13
III.III.I. Síntesis de serotonina	13
III.IV. Macronutrientes	16
III.IV.I. Proteínas	16
III.IV.II. Carbohidratos	17
IV. JUSTIFICACIÓN.....	19
V. HIPÓTESIS.....	20

VI. OBJETIVOS.....	20
VI.I. Objetivo general.....	20
VI.II. Objetivos particulares.	20
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.	21
VII.I. Implementación del esquema de RPC	21
VII.II. Obtención de sangre para determinación de parámetros bioquímicos.....	25
VII.II.I. Determinación de glucosa	25
VII.II.II. Determinación de colesterol total	25
VII.II.III. Determinación de colesterol HDL	26
VII.II.IV. Determinación de colesterol LDL	26
VII.II.V. Determinación de colesterol VLDL.....	26
VII.II.VI. Determinación de triglicéridos	26
VII.II.VII. Determinación de albúmina.....	27
VII.II.VIII. Análisis estadístico.....	27
VIII.RESULTADOS	28
VIII.I. Consumo de alimento de las madres	28
VIII.II. Peso corporal de las madres	29
VIII.III. Peso corporal de las crías	30
VIII.IV. Consumo de alimento de las crías	31
VIII.V. Longitud céfalo-sacra de crías	32

VIII.VI. Niveles de glucosa en sangre	33
VIII.VII. Niveles de albúmina en sangre	34
VIII.VIII. Niveles de colesterol total en sangre.....	35
VIII.IX. Niveles de triglicéridos en sangre.....	36
VIII.X. Niveles de HDLc en sangre.....	37
VIII.XI. Niveles de LDLc en sangre	38
VIII.XII. Niveles de VLDLc en sangre	39
VIII.XIII. Niveles de Lípidos totales en sangre.....	40
IX. DISCUSIÓN.....	41
X. CONCLUSIÓN.....	43
XI. LITERATURA CITADA	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de adaptación fetal a la desnutrición.....	10
Figura 2. Esquema de la síntesis de 5-HT	14
Figura 3. Características funcionales de los receptores de la 5-HT	15
Figura 4. Distribución de subtipos de receptores de serotonina.....	15
Figura 5. Esquema del modelo experimental de restricción proteico-calórica.....	23
Figura 6. Esquema del modelo experimental de restricción proteico-calórica.....	24
Figura 7. Consumo de alimento de las madres	28
Figura 8. Peso corporal de las madres.....	29
Figura 9. Peso corporal de la crías.....	30
Figura 10. Consumo de alimento de las crías	31
Figura 11. Longitud céfalo-sacra de las crías.....	32
Figura 12. Niveles de glucosa en sangre	33
Figura 13. Niveles de albúmina en sangre	34
Figura 14. Niveles de colesterol total en sangre.....	35
Figura 15. Niveles de triglicéridos en sangre	36
Figura 16. Niveles de HDL en sangre	37
Figura 17. Niveles de LDL en sangre	38
Figura 18. Niveles de VLDL en sangre.....	39
Figura 19. Niveles de lípidos totales en sangre.....	40

I. LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentaje
μ	Micras
μl	Microlitros
5-HT	5-hidroxitriptamina, Serotonina
5-HTP	5-Hidroxitriptófano
cm	Centímetros
CTRL	Control
ECV	Enfermedades cardiovasculares
g	Gramos
g/dl	Gramos sobre decilitro
g/mol	Gramos sobre mol
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HDLc	Colesterol relacionado a lipoproteínas de alta densidad
Hrs	Horas
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LDLc	Colesterol relacionado a lipoproteínas de baja densidad
L-Trp	L-Triptófano
MAO	Monoamino oxidasa
mg/dl	Miligramos sobre decilitros
min	Minutos
ml	Mililitros
mm Hg	Milímetros de mercurio
nm	Nanómetros
°C	Grados centígrados
RCIU	Restricción de crecimiento intrauterino

EFFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATAS

RD	Recuperado al destete
RN	Recuperados al nacimiento
RPC	Restricción proteico-calórica
RPC-D	Restricción proteico-calórica al destete
RPC-N	Restricción proteico-calórica al nacimiento
RPC-P	Padre con Restricción proteico-calórica
RPC-PM	Padre y Madre con Restricción proteico-calórica
rpm	Revoluciones por minuto
SNC	Sistema nervioso central
TG	Triglicéridos
TPH	Triptófano-5-hidroxilasa
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
VLDLc	Colesterol relacionado a lipoproteínas de muy baja densidad

II. RESUMEN

La dieta constituye uno de los mayores factores ambientales que ejercen un efecto profundo en muchos aspectos de la salud y riesgo de la enfermedad. En los países industrializados la ingesta calórica excesiva es uno de los mayores determinantes de enfermedades crónicas complejas, como la obesidad, diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Recíprocamente, en los países pobres la desnutrición o restricción proteico calórica, sobre todo durante el período perinatal, no sólo aumenta la mortalidad del neonatal y la morbilidad perinatal sino también el riesgo de enfermedades crónicas durante la madurez, de tal manera que la desnutrición temprana se ha asociado de forma significativa con las enfermedades crónicas en el futuro. El hallazgo de anomalías metabólicas en personas adultas con desnutrición en su vida fetal y/o postnatal temprana puede tener importantes implicaciones para la salud pública en los países en desarrollo, aunque sólo unos pocos estudios han examinado la relación entre el peso corporal en el primer año de vida y las anormalidades metabólicas posteriores. Estudios epidemiológicos han propuesto que la enfermedad del adulto está relacionada con condiciones ambientales adversas durante el desarrollo temprano; es así como la desnutrición materna durante el embarazo se ha relacionado con restricción de crecimiento intrauterino (RCIU), es decir, el feto no logra su potencial de crecimiento. El tamaño corporal pequeño al nacer se ha asociado con un perfil lipídico aterogénico. Antecedentes demuestran que se han encontrado asociaciones entre el bajo peso al nacer y la reducción del colesterol HDL o altas concentraciones plasmáticas de triglicéridos, otros entre la longitud del cuerpo corta al nacer o reducción de la circunferencia abdominal y el aumento del colesterol total, colesterol LDL y apolipoproteína B. Observaciones en ratas sugieren que la manipulación de la ingesta de la dieta materna durante la gestación altera permanentemente la síntesis del colesterol y las concentraciones de colesterol en plasma. El objetivo de este trabajo fue determinar si existen cambios en el metabolismo de lípidos en ratas con estrés nutricional y con recuperación alimenticia a diferentes etapas de la vida.

Los resultados obtenidos muestran un incremento en las concentraciones plasmáticas de colesterol total así como de su lipoproteína de alta densidad (HDL), así como un decremento en la talla y peso en las ratas con RPC. Esto sugiere que la restricción de nutrientes en etapas tempranas del desarrollo tiene un impacto en el desarrollo de enfermedades metabólicas, afectando el nivel de glucemia y lipemia.

Palabras Clave:

Restricción proteico calórica, epigenética, desarrollo.

II.I. ABSTRACT

The diet it's one of the major environmental factors that have a profound effect on many aspects of health and disease risk. In industrialized countries the excessive caloric intake is one of the major determinants of complex chronic diseases such as obesity, type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and cancer. However, in poor countries malnutrition or protein-caloric restriction, especially during the perinatal period, don't only increases the mortality of neonatal and perinatal morbidity but also the risk of chronic diseases in adulthood, such that early malnutrition was significantly associated with chronic diseases in the future. The abnormalities of metabolic in adults with malnutrition in their fetal life and / or early postnatal may have important implications for public health in developing countries, although few studies have examined the relationship between body weight in the first year of life and subsequent metabolic abnormalities. Epidemiological studies suggested that adult disease is related to adverse environmental conditions during early development; so as maternal malnutrition during pregnancy has been associated with intrauterine growth restriction; however, the fetus fails to achieve its growth potential. The small body size at birth is associated with an atherogenic lipid profile. Has been found associations between low birth weight and reduced HDL cholesterol or high plasma triglycerides, among other short body length at birth or reduction in waist circumference and increased total cholesterol, LDL and apolipoprotein B. Observations in rats suggest that the manipulation of maternal dietary intake during pregnancy permanently alters the synthesis of cholesterol and cholesterol concentrations in plasma. The objective of this study was to determine whether there are changes in lipid metabolism in rats with dietary nutritional stress and recovery at different stages of life.

The results show an increase in plasma concentrations of total cholesterol and its high density lipoprotein (HDL) and a decrease in size and weight in rats with RPC. This suggests that nutrient restriction in early stages of development has an impact on the development of metabolic diseases, affecting the level of glycaemia and lipemia.

Keywords:

Protein caloric restriction, epigenetics, development.

III. INTRODUCCIÓN

III.I. Desnutrición

La desnutrición es un estado patológico producido por un déficit en la ingesta o absorción de nutrientes que llevan a una serie de trastornos metabólicos de distintos grados (Rathbun and Druse, 1985; Yeh, 1988). Se ha considerado, de acuerdo a diversas estimaciones, que la desnutrición en México es relativamente grave, destacando que el porcentaje global de desnutrición es de casi 30% de la población infantil menores de 5 años (ENSANUT, 2012).

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 del desarrollo 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 (Albarrán-Bravo et al., 2008).

El término desnutrición indica que, pese a que todos los nutrientes requeridos se encuentran disponibles en la dieta, la cantidad ingerida es insuficiente. El término malnutrición implica, en cambio, que uno o varios de estos nutrientes esenciales o las calorías necesarias no están presentes en las proporciones adecuadas. (Morgane et al., 2002)

Cuando existe malnutrición/hiponutrición marcada se induce reducción asimétrica o simétrica del feto dependiendo de su duración, con efectos importantes en el tamaño y actividad del páncreas (Sánchez et al., 2013).

Durante el embarazo, en la futura madre, acontecen dos periodos fundamentales. El primero de índole anabólico o de creación de reserva, y el segundo, una movilización de las reservas para la adaptación del parto. Ambas etapas se distribuyen de manera similar en diferentes especies. Así, la primera etapa se extiende durante aproximadamente 2/3 del embarazo (26-27 semanas en los humanos y 14 días en la rata, Herrera et al., 2008).

III.I.I. Tipos de desnutrición

1. Desnutrición tipo Marasmo. Es la inanición por dieta deficiente tanto en proteínas como en calorías, aparece en los 3 primeros años de la vida con las siguientes manifestaciones (Torun y Chew, 2002):
 - Falta de crecimiento, apreciable por el peso corporal.
 - Diarreas
 - Alopecias
 - Signos de deficiencia vitamínica y deshidratación.
2. Desnutrición tipo Kwashiorkor. Se produce por una dieta muy escasa en proteínas, se presenta entre el 1er y 3er año de edad con las siguientes manifestaciones (Torun y Chew, 2002):
 - Falta de crecimiento
 - Edema
 - Atrofia muscular con conservación de grasa subcutánea
 - Irritabilidad
 - Dermatitis descamativa
 - Úlceras
 - Grietas en la piel
 - Hipoproteinemia: depleción de las proteínas séricas y disminución de proteínas viscerales (albúmina).
 - Signos de deficiencia vitamínica.
3. Desnutrición mixta (Kwashiorkor-Marasmático). Es la combinación de los dos tipos de desnutrición ya mencionados. (Torun y Chew, 2002).

4. Desnutrición tipo “Sugar baby”. En este tipo de desnutrición los niños lucen sanos y “gorditos” pero al ser sometidos a análisis sanguíneos se revela la insuficiencia de nutrientes, esto se debe a que perdieron grasa y nutrientes, pero acumularon agua y su peso está dentro de los parámetros normales (Ávila-Curiel et al., 1998).

En los cuatro tipos de desnutrición se presenta palidez, caída de cabello y disminución en el crecimiento.

III.I.II. Fenotipo ahorrador

El término “fenotipo ahorrador” atañe a las características de individuos que son capaces de vivir mediante la reducción de la utilización de sustratos. La deficiencia de nutrientes en la etapa perinatal induce una adaptación metabólica cuya finalidad es proteger al órgano central de la economía, el sistema nervioso, con lo que otros tejidos menos exigentes para la existencia del ser vivo se ajustan para reducir la utilización de sustratos (Barker, 1995).

Esta situación será válida mientras se mantenga la deficiencia de nutrientes, pero se presentarán alteraciones metabólicas y funcionales si posteriormente el individuo queda expuesto a condiciones diferentes a las que existían cuando se instauró la “programación”. Los cambios que acontecen en etapas muy tempranas de la vida, forzadas por condiciones adversas o de limitación, quedan programadas y la adaptación metabólica se vuelve permanente. Este aspecto parece adquirir enorme importancia en aquellos individuos que siendo “fenotipo ahorradores” son sometidos a sobrealimentación postnatal, ya que la situación de abundancia redundaría en la puesta en marcha de mecanismos que incrementarían la resistencia a la insulina (por lo tanto el aumento de la glucosa en la sangre Barker, 1995), producirán alteraciones en el perfil de lípidos (Osmond y Barker, 2000), y llevarían a un proceso degenerativo conocido como “síndrome metabólico”.

III.I.III. Síndrome metabólico

Comprende una agrupación de factores, entre ellos la obesidad abdominal, dislipidemia, el metabolismo de los carbohidratos perturbado y la hipertensión (Gazi et al., 2004).

De acuerdo con la definición del National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, el síndrome metabólico está presente si se cumplen tres o más de los siguientes cinco criterios: circunferencia de cintura de más de 40 pulgadas (hombres) o 35 pulgadas (mujeres), la presión arterial 130/85 mmHg, durante el ayuno de triglicéridos (TG) Nivel de más de 150 mg / dl, el ayuno de lipoproteínas de alta densidad (HDL) menos de 40 mg / dl (hombres) o 50 mg / dl (mujeres) y la glucemia en ayunas superior a 100 mg / dl. La definición uno de los más utilizados criterios de síndrome metabólico. Incorpora las características clave de la hiperglucemia / resistencia a la insulina, la obesidad visceral, aterogénico dislipidemia y la hipertensión (Huang, 2009).

III.I.IV. Cambios epigenéticos

La epigenética se refiere a los cambios heredables en el ADN e histonas que no implican alteraciones en la secuencia de nucleótidos pero modifican la estructura y condensación de la cromatina, por lo que afectan la expresión génica y el fenotipo (Jaenisch y Bird, 2003). Las modificaciones epigenéticas son principalmente metilación del ADN y modificaciones de histonas (Bernstein et al., 2007).

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, 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 manifestarán al nacer o en el crecimiento 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 (Perea-Martínez et al., 2012).

III.I.V. Modelos de desnutrición (restricción proteico-calórica)

La asociación entre los cambios dietéticos durante las etapas específicas de desarrollo y modificaciones epigenéticas ha sido informada en varios modelos animales. Estos constituyen una herramienta excelente para entender cómo particulares regímenes nutricionales o factores dietéticos específicos pueden influir en el epigenoma. Los desafíos nutritivos ampliamente estudiados incluyen la deficiencia proteica, la restricción calórica global, y el alimento con alto contenido en grasa (Van Straten et al., 2010).

El modelo de restricción proteico-calórica se ha utilizado en una gran cantidad de estudios con la finalidad de hacer una aproximación a las condiciones de alimentación que sufre la población que se encuentra con algún grado de malnutrición o desnutrición, la restricción proteico-calórica pueden ser implementada con diferente intensidad. Por ejemplo al 30% donde el animal en estudio come el 70% de lo que consume el animal; los diferentes grados de restricción son implementados dependiendo de la naturaleza del estudio (Colman et al., 2009).

III.I.VI. Programación intrauterina

Los principales agentes de la programación intrauterina son los factores de crecimiento, los nutrientes, las hormonas y neurotransmisores. El retraso en el crecimiento fetal, que en cierta forma refleja la malnutrición materna, aumenta el

riesgo de padecer enfermedades crónicas como consecuencia de la programación intrauterina. La patología no es causada por defectos genéticos, sino por la alteración de la expresión génica como consecuencia de la respuesta a los cambios ambientales durante el desarrollo fetal. Las adaptaciones prenatales que alteran permanentemente el metabolismo del adulto para responder favorablemente a las condiciones subóptimas de estrés, desnutrición o alguna otra carencia, pueden ser contraproducentes si el ambiente postnatal es diferente al esperado (Zambrano, 2003) (Figura 1).

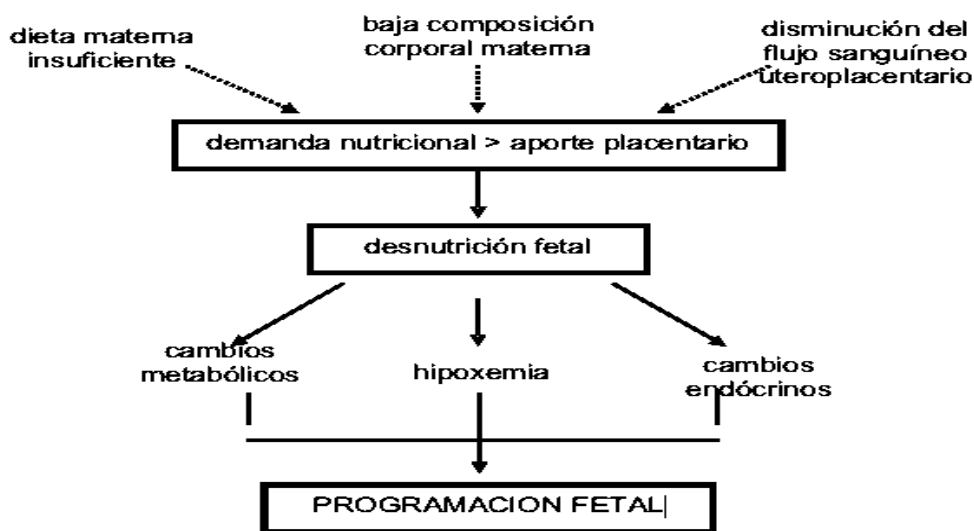


Figura 1. Mecanismos de adaptación fetal a la desnutrición (Imagen tomada de Zambrano, 2003)

Los estudios epidemiológicos indican que la inadecuada nutrición intrauterina se asocia con una mayor susceptibilidad a desarrollar enfermedades crónicas en la edad adulta como por ejemplo, diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Osmond y Barker, 2000)

Comparativamente, las asociaciones entre tamaño corporal pequeño al nacer y un perfil lipídico menos favorable en la edad adulta han sido descritos (Kajantie et al., 2008). Ya en los primeros días después del parto, el crecimiento restringido infantes muestran un perfil lipídico más aterogénico (concentraciones plasmáticas elevados de triglicéridos, colesterol total y LDL) en comparación con los recién nacidos con un peso al nacer apropiadas para la edad gestacional (Wang et. al., 2007).

III.II. Perfil lipídico

Se llama perfil lipídico a las concentraciones de lípidos en sangre:

Triglicéridos, colesterol total, colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDLc) y colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (LDLc), (Quesada, 2007).

Los lípidos son moléculas de alto peso molecular que poseen carbono e hidrógeno en altas proporciones; en menor proporción, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre. Como describen García y Silva (2006), las principales funciones de los lípidos:

- Reserva energética
- Aislante térmico
- Protección de órganos vitales
- Hormonas
- Estructural

Los lípidos pueden asociarse a otras moléculas orgánicas como los glúcidos, formando glucolípidos, o proteínas, formando lipoproteínas (Pallardo *et al.*, 2013), cumpliendo así funciones biológicas determinadas (Díaz *et al.*, 1997). En el plasma humano podemos encontrar, principalmente cuatro componentes lipídicos

- Colesterol
- Triglicéridos
- Fosfolípidos
- Ácidos grasos libres.

Las pruebas que valora este perfil lipídico incluyen (Ruiz, 2003):

- Colesterol total.
- Colesterol HDL.
- Colesterol LDL.
- Colesterol VLDL.
- Nivel de triglicéridos.

Triglicéridos. Estructura formada por la condensación de una molécula de glicerol con tres ácidos grasos, son reserva de energía (Bailey, 2007).

Colesterol. Es un constituyente vital de las membranas celulares y el precursor de las hormonas esteroideas y los ácidos biliares (Voet et al., 2007)

HDL-Colesterol. Lipoproteína de alta densidad. Sintetizado principalmente en el hígado. Es transportador de fosfolípidos en el torrente circulatorio.

LDL-Colesterol. Lipoproteína de baja densidad. Sustancias derivadas de las VLDL. Es transportador de colesterol y ésteres.

VLDL. Lipoproteína de muy baja densidad. Se sintetiza principalmente en hígado. Lleva lípidos desde hígado y el intestino a los tejidos periféricos (García y Silva, 2006)

La determinación del perfil de lípidos es útil para valorar el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, como aterosclerosis e hipertensión, las cuales se asocian con el riesgo de sufrir un infarto cardiaco. La dislipidemia es un proceso prolongado a lo largo de los años y progresivo, paso a paso. Cuando los niveles sanguíneos de las lipoproteínas LDL están altos y los de las lipoproteínas HDL están bajos, el exceso de lípidos no es adecuadamente eliminado por el organismo. Los lípidos en alta concentración comienzan a adherirse a las paredes arteriales, formando placas de ateroma, que las van estrechando la luz de las arterias hasta obstruirlas. Si bien la afectación más estudiada y comentada es la de las arterias coronarias, que lleva al infarto agudo de miocardio, en realidad esta afectación puede ocurrir a nivel de todo el árbol arterial y llevar a la afectación de los más diversos órganos. Este proceso es el conocido como aterosclerosis (Quesada, 2007).

A partir del perfil lipídico, se puede obtener un coeficiente denominado “*índice aterogénico*”, que representa la relación entre colesterol total y HDLc. Un valor mayor de cinco en esta relación indica la posibilidad de formar ateromas (depósitos de grasa) en las arterias y desarrollar una enfermedad cardiovascular (Quesada, 2007).

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 (Manjarréz-

Gutiérrez *et al.*, 1998) por disminución de concentraciones de albúmina (Manjarréz, 1997), 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 endocrino sea el óptimo, lo que les permite a estos animales una recuperación física completa (Manjarréz-Gutiérrez *et al.*, 1998).

III.III. Serotonina y sistema serotoninérgico

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una amina que se localiza en el SNC (donde se comporta como neurotransmisor), en el tracto gastrointestinal y en las plaquetas (hormona). Se sintetiza a partir del L-Trp y se almacena en las vesículas que la protegen de la acción de la MAO (monoamino oxidasa), enzima que la metaboliza. Se libera como consecuencia de diversos estímulos (nervioso, químicos, mecánicos, etc.) ejerce sus efectos a través de receptores específicos y sus acciones más importantes son:

- SNC: interviene en la regulación de apetito, el sueño, el tono postural, etc.
- Vasos: produce vasoconstricción en el cerebro y vísceras. Sin embargo el en músculo esquelético produce vasodilatación (De Ahumada *et al.*, 2002)
- SNP: tiene receptores en el tubo digestivo.

III.III.I. Síntesis de serotonina

La 5-HT está presente tanto en vertebrados como en invertebrados. En mamíferos la síntesis de serotonina es llevada en las células enterocromafines del intestino y a nivel del sistema nervioso central en las neuronas serotoninérgicas que se encuentran ubicadas en los núcleos del Rafé. El precursor inicial de la serotonina es el L-Trp, la 5-HT es sintetizada en un proceso que requiere de dos etapas (Figura 2):

1. La hidroxilación del L-triptófano a 5-hidroxitriptófano, esta reacción es llevada a cabo por la triptófano-5-hidroxilasa (TPH), esta reacción es la limitante de la vía serotoninérgica. De la TPH se han descrito dos isoformas la 1 y la 2 (Walther et al., 2009).
2. La segunda reacción es la descarboxilación de 5-hidroxitriptófano para generar la 5-HT, esta reacción es llevada a cabo por la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos (MAO), la cual comparte en el metabolismo de la serotonina y la degradación de las catecolaminas (Walther et al., 2009).

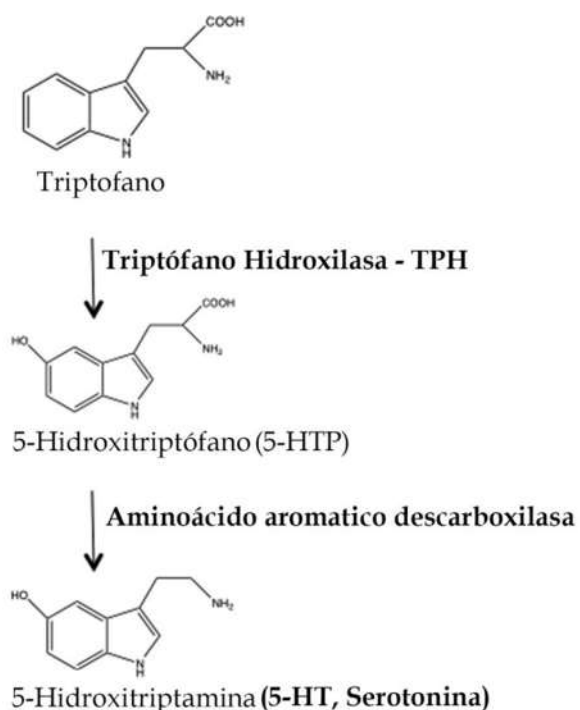


Figura 2. Esquema de la síntesis de 5-HT (Modificada de Watts et al., 2012)

La 5-HT actúa a través de receptores específicos, los cuales han sido denominados genéricamente como receptores serotoninérgicos, a través de estudios farmacológicos mediante agonistas y antagonistas serotoninérgicos, y con estudios bioquímicos, fisiológicos y de biología molecular se han admitido a la fecha 7 familias de receptores serotoninérgicos y 15 subtipos (Hoyer et al., 2002) (Figura 3-4).

EFFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATAS

Receptor	Agonistas	Antagonistas	S. transduccional	Función
5-HT _{1A}	8-OH-DPAT, indorrenato	WAY-100 635	(-) AC	Cambios conductuales, hipotensión central
5-HT _{1B}	5-CT ≥ 5-HT > sumatriptán	SB-224 289	(-) AC	Vasoconstricción, inhibición trigeminal
r5-HT _{1B}	CP-93 129	GR-127 935, Clonopindolol	(-) AC	Vasoconstricción, auto/heterorreceptor
5-HT _{1D}	PNU-142 633, sumatriptán	GR-127 935, BRL-15 572	(-) AC	Heterorreceptor en la aurícula humana
5-HT _{1E}	5-HT	☒ Metitepina	(-) AC	-----
5-HT _{1F}	Sumatriptán, LY-344 864	Metisergida	(-) AC	Inhibición trigeminal
5-HT _{2A}	α-Metil-5-HT, DOI	Ketanserina	(+) PLC	Vasoconstricción, agregación de plaquetas
5-HT _{2B}	α-Metil-5-HT, DOI	Rauwolfscina	(+) PLC	Constricción en el fondo del estómago de la rata; relajación
5-HT _{2C}	Ro-60-0175	RO-60-0491, Mesulergina	(+) PLC	Regulación del LCF; erección
5-HT ₃	2-metil-5-HT, 5-MeOT inactiva	MDL-72 222, Tropisetron, ICS-205-930	Canales Na ⁺ /K ⁺	Despolarización
5-HT ₄	5-MeOT, renzaprida	GR-113 808, ☒ Tropisetron	(+) AC	Taquicardia humana y porcina
5-HT _{5A/5B}	5-HT, ergotamina	LSD, 5-CT, SB-699 551-A	5-HT _{5A} (-) AC	¿Simpatoinhibición cardíaca?
5-HT ₆	5-MeOT ≥ 5-HT > 5-CT	Ro 04-6790, SB-357 134, SB-399 885	(+) AC	Consolidación de la memoria
5-HT ₇	5-CT > 5-HT ≥ 5-MeOT, LY-215 840 Sumatriptán inactivo	Mesulergina, Clozapina, SB-258 719	(+) AC	Vasorelajación, taquicardia felina

Figura 3. Características funcionales de los receptores de la 5-HT (imagen tomada de Sánchez et al., 2009)

Tipo o Subtipo de Receptor	Distribución
5-HT _{1A}	Núcleos del raté Hipocampo
5-HT _{1B}	Sustancia Nigra, Globo Pálido, y Ganglios Basales
5-HT _{1Da,b}	Cerebro
5-HT _{1E}	Corteza cerebral Putamen
5-HT _{1F}	Corteza cerebral Hipocampo
5-HT _{2A}	Plaquetas, Músculo liso y Corteza cerebral
5-HT _{2B}	Estómago (fondo)
5-HT _{2C}	Coroides, Hipocampo y Sustancia Nigra
5-HT ₃	Area postrema, nervios sensitivos y enérgicos
5-HT	SNC, neuronas mien-téricas y músculo liso
5-HT _{5A,B}	Cerebro
5-HT _{6,7}	Cerebro

Figura 4. Distribución de subtipos de receptores de serotonina (Modificada de med.javeriana.edu.co/fisiologia/fw/c351.htm de la Pontifica Universidad Javeriana, Bogotá)

Factores exógenos, como la desnutrición, pueden alterar la actividad de las enzimas e interferir con la síntesis de proteínas y su estructura (Morgane et al., 2002). Se ha demostrado en la rata que la desnutrición adquirida durante la gestación y en la lactancia produce elevación del L-Trp tisular y de la actividad de la TPH, que da como resultado una aceleración de la síntesis de 5-HT. Este cambio metabólico parece también cumplirse en los recién nacidos humanos desnutridos in útero, en cuyo plasma aumenta la fracción libre del L-Trp y disminuye el unido a albúmina, lo que sugiere que hay más L-Trp disponible para pasar al cerebro humano y aumentar la síntesis del neurotransmisor (Manjarréz et al., 1997).

III.IV. Macronutrientes

Los macronutrientes son los carbohidratos, proteínas y grasas que suministran los principales materiales de construcción para el crecimiento celular. También representan la única fuente de calorías o energía para el cuerpo (Gallego, 2012)

III.IV.I. Proteínas

Las proteínas son componentes esenciales de los seres vivos. Las proteínas actúan como agentes catalizadores o enzimas para los procesos metabólicos, como anticuerpos, como hormonas y como componentes estructurales de la célula (Patiño, 2006). En el organismo se encuentra una amplia diversidad de proteínas entre ellas la albúmina

III.IV.I.I. Albúmina

Es una proteína formada por 60 aminoácidos organizados en una cadena peptídica simple, doblada sobre sí misma en varias capas, con un peso molecular de 66.248 g/mol.

El plasma contiene unos 70 g de proteína total por litro, de los cuales unos 40 g corresponden a albúmina. Se estima que el organismo adulto contiene un total de 300 g de albúmina, de los cuales, 40% son albúmina plasmática, o sea, aproximadamente 120 g. Es decir un adulto con una concentración de 4 g/dl en el

plasma y con un volumen plasmático de 3 litros hay unos 120 g de albúmina circulante (Patiño, 2006).

La albúmina es sintetizada en el hígado y su vida media es de aproximadamente 16 días, con extremos entre 8 y 27 días.

Las funciones principales de la albúmina son:

- El transporte y ligación de moléculas pequeñas como las drogas, la vitamina B₆, etc.
- La presión coloidal-oncótica del plasma de la cual es responsable el 70%.

Las concentraciones inferiores a 3.5 g/dl son indicativas de estados de malnutrición o de falla hepática (Patiño, 2006).

III.IV.II. Carbohidratos

Los carbohidratos son componentes esenciales de los organismos vivos, y de hecho, la clase más abundante de células biológicas en general, después de las proteínas. El nombre carbohidrato significa hidrato de carbono, proviene de su composición química. Están constituidos de carbono, hidrógeno y oxígeno, $(CH_2O)_n$ en la que n es mayor o igual a 3.

Los carbohidratos presentes en el organismo son de origen exógeno como endógeno. Los de origen exógeno proceden de la dieta que contiene cereales, hortalizas, legumbres, lácteos, frutas, etc. Además, tanto el hígado como la corteza renal pueden formar glucosa a partir de aminoácidos gluconeogénicos, ácido láctico y de glicerol de las grasas (Hernández y Sastre, 1999).

Las funciones de los carbohidratos son las siguientes:

- Fuente de energía.
- Biosíntesis de ácidos grasos y de algunos aminoácidos.
- Constitución de moléculas complejas importantes, como glicolípidos, glicoproteínas, ácidos nucleicos
- Aporte de fibra en la dieta, como la celulosa.

III.V.II.I. Glucosa

La glucosa es un carbohidrato simple necesario para el funcionamiento normal de órganos tan importantes como el cerebro. Todos los tejidos usan la glucosa como fuente primaria de energía (López y López, 2008).

La captación de glucosa es regulada por la exocitosis/endocitosis sensible a la insulina de los transportadores de glucosa. La insulina estimula a los adipocitos y a las células para que capten glucosa (Voet et al, 2006).

IV. JUSTIFICACIÓN

La desnutrición es un estado patológico producido por un déficit en la ingesta o absorción de nutrientes que llevan a una serie de trastornos metabólicos de distintos grados (Rathbun and Druse, 1985; Yeh, 1988).

El bajo peso al nacer asociado en el crecimiento intrauterino está relacionado con trastornos en los niveles de lípidos, cardiopatía coronaria, accidente vascular encefálico, hipertensión arterial, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, diabetes y obesidad que se manifiesta en la edad adulta e incluso en algunos casos desde la infancia. La hipótesis de programación fetal plantea que estas enfermedades se originan debido a alteraciones en el desarrollo, en respuesta a la malnutrición durante la vida fetal y la infancia generando adaptaciones por parte del feto para su supervivencia.

En modelos experimentales con estrés nutricional se han observado alteraciones que se produce durante la etapa fetal, desencadenando patologías como la diabetes, obesidad, hipertensión arterial entre otras, así como cambios en sistemas de neurotransmisión como el serotoninérgico.

El presente trabajo pretende revelar las modificaciones metabólicas producidas por el estrés nutricional o la recuperación de este en diferentes etapas de la vida, en diferentes grupos de moléculas de gran importancia para el desarrollo del humano como son los lípidos, los carbohidratos y las proteínas. Ya que en México se estima que alrededor de un 30% de los niños menores de 5 años sufren algún grado elevado de desnutrición así como madres embarazadas (ENSANUT, 2012).

V. HIPÓTESIS

La desnutrición intrauterina y en las primeras etapas de la vida modifica los niveles normales de lípidos, proteínas y carbohidratos en plasma.

VI. OBJETIVOS

VI.I. Objetivo general

Determinar el perfil lipídico en sangre de ratas con estrés nutricional.

VI.II. Objetivos particulares.

- Implementar un modelo de restricción proteico-calórica prenatal y postnatal en ratas.
- Implementar un modelo de recuperación nutricional en etapa postnatal de ratas con restricción proteico-calórica.
- Determinar el efecto de la restricción proteico-calórica sobre el perfil de lípidos.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS.

Se emplearon ratas hembras adultas de la cepa Wistar de 8 semanas de edad con un peso inicial de 220 ± 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 Hrs (7-19 H), temperatura de 24.0 ± 2 °C y humedad relativa de $60.0 \pm 5\%$.

VII.I. Implementación del esquema de RPC

Se seleccionaron 16 ratas hembras de la cepa wistar de 2 meses de edad, las cuales fueron adaptadas a las condiciones ambientales estándares descritas, durante este periodo de adaptación los animales control recibieron una dieta a base de alimento para ratas y agua *ad-libitum*.

Fueron divididas en 2 grupos de 8 ratas cada grupo, un control, consumiendo alimento y agua *ad-libitum*; y otro grupo con RPC, consumiendo el 50% del alimento que el grupo control.

Se mantuvo este régimen de alimentación a cada grupo durante 2 semanas. Después de las 2 semanas, los 2 grupos fueron sometidos a cruce con machos control alimentados *ad-libitum*, durante el tiempo de cruce los 2 grupos se alimentaron *ad-libitum*. Una vez preñadas, las ratas fueron divididas en cajas individuales y se regresó al régimen anterior de alimentación (control: *ad-libitum*; RPC: 50% del alimento consumido por las control).

Al nacer las crías, el grupo control se dividió en 2 grupos de 4 madres con sus crías, 4 madres siguieron siendo control y las otras 4 estuvieron con RPC al nacimiento (**RPC-N**). Pasado 21 días, ya cuando las crías comen por si solas, del grupo control se dividieron 2 grupos de 2 camadas cada uno, un control (**CTRL**) y un RPC al destete (**RPC-D**).

EFFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATAS

De las 8 ratas que originalmente eran desnutridas, se separaron 2 grupos de 4 ratas madres, un grupo siguió RPC y otro recuperados al nacimiento **(RN)**. Pasado 21, ya cuando las crías comían por si solas, el grupo RPC se dividió en 2 grupos de 2 camadas cada uno, uno siguió con Restricción proteico-calórica **(RPC)** y otro recuperado al destete **(RD)**.

Quedando hasta este punto con 6 grupos de ratas: Control **(CTRL)**, Restricción proteico-calórica **(RPC)**, RPC al destete **(RPC-D)**, RPC al nacimiento **(RPC-N)**, Recuperadas al nacimiento **(RN)** y Recuperadas al destete **(RD)** como se muestra en la figura 5.

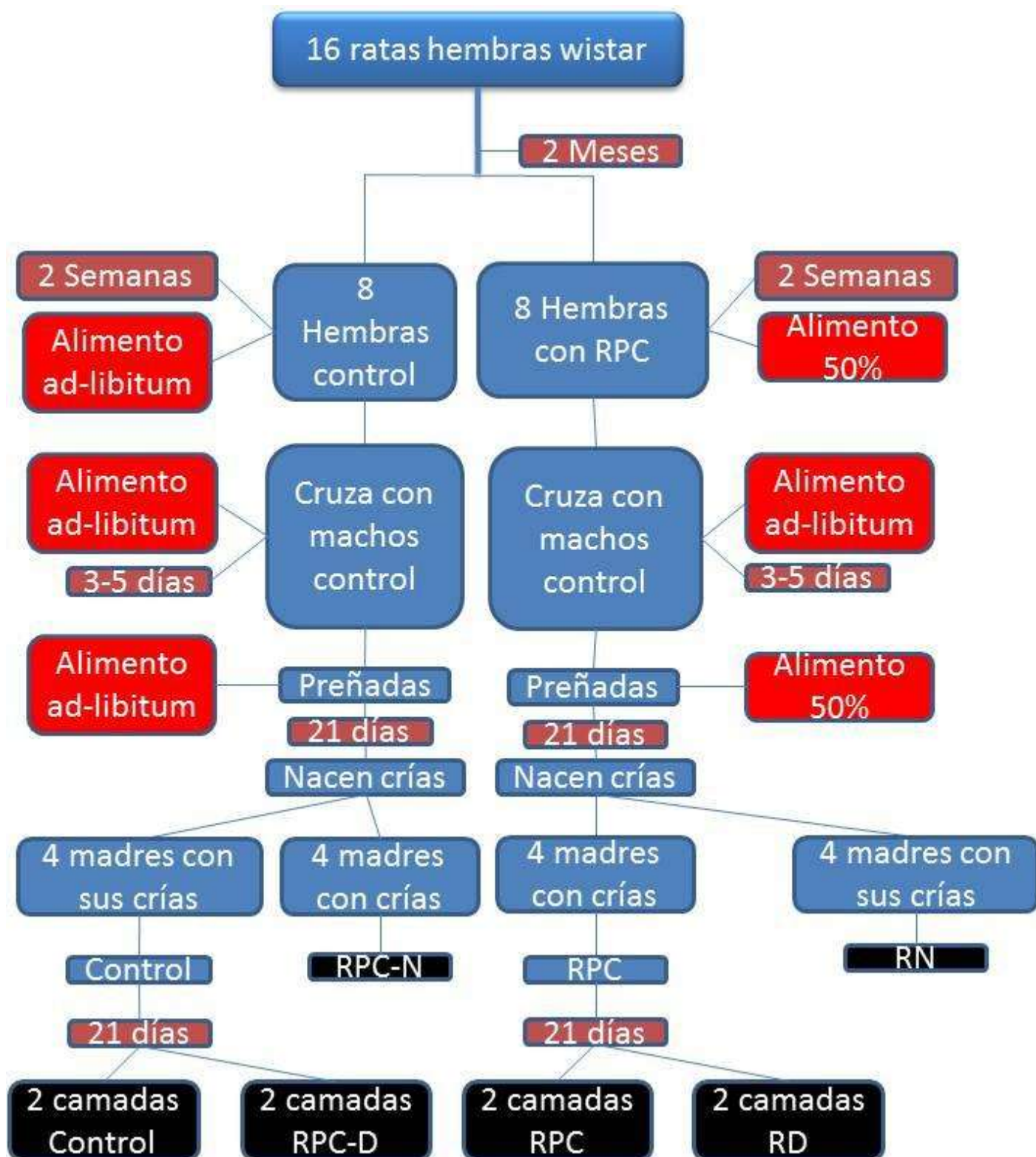


Figura 5. Esquema del modelo experimental de restricción proteico-calórica.

EFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATAS

Más tarde cuando las crías alcanzaron la edad adulta, fueron puestos a cruza, un macho del grupo RPC con una hembra del grupo CTRL; y un macho del grupo con RPC con una hembra del otro grupo con RPC.

Una vez preñadas, se retiraron los padres, a los 21 días nacieron las crías las cuales fueron nombradas grupo padre con RPC (**RPC-P**), y el otro grupo padre y madre con RPC (**RPC-PM**). Quedando así un total de 8 grupos (Figura 6).

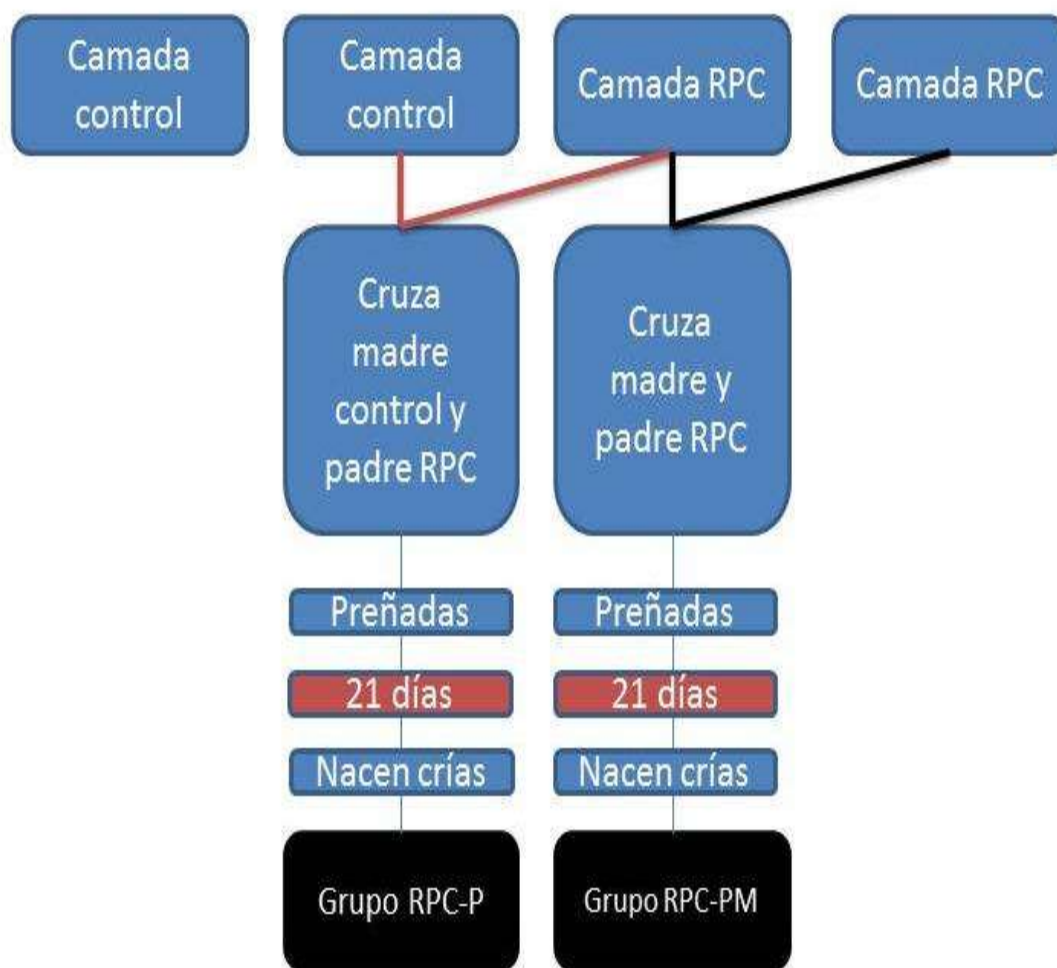


Figura 6. Esquema del modelo experimental de restricción proteico-calórica. Obtención de grupos RPC-P y RPC-PM

VII.II. Obtención de sangre para determinación de parámetros bioquímicos

Los animales de todos los grupos se sacrificaron entre las 9:00 y 12:00 Hrs por fractura cervical, inmediatamente se obtuvo la sangre por punción cardiaca en el ventrículo izquierdo de la rata con una jeringa y se transfirió a un tubo para su recolección y posteriormente se centrifugan las muestras a 3,500 rpm durante 15 minutos para la obtención de suero de cada una de las muestras para la determinación de los valores de glucosa, colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos y albumina.

VII.II.I. Determinación de glucosa

Una vez obtenido el suero, se mezclaron en una tubo de ensayo, 10 µl de muestra con 1 ml de reactivo, la mezcla se incubo 10 minutos a 37 °C, se transfirió a una cubeta y después de leyó la absorbancia de la de muestra a 505 nm y de igual manera el patrón, frente a un blanco de reactivo. Posteriormente se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración de glucosa en el suero.

$$\frac{Abs\ muestra}{Abs\ patrón} \times 100 (conc\ patrón) = \frac{mg}{dL} de\ glucosa\ en\ la\ muestra$$

VII.II.II. Determinación de colesterol total

Una vez obtenido el suero, se mezclaron en una tubo de ensayo, 10 µl de muestra con 1 ml de reactivo, la mezcla se incubo 5 minutos a 37 °C, se transfirió a una cubeta y después de leyó la absorbancia de la de muestra a 505 nm y de igual manera el patrón, frente a un blanco de reactivo. Posteriormente se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración de colesterol en el suero.

$$\frac{Abs\ muestra}{Abs\ patrón} \times (conc\ patrón) = \frac{mg}{dL} de\ colesterol\ en\ la\ muestra$$

VII.II.III. Determinación de colesterol HDL

Una vez obtenido el suero, se mezclaron en una tubo de ensayo, 1 ml de muestra con 100 µl de reactivo, la mezcla se incubo 10 min a temperatura ambiente, se centrifugó 20 min a 4000 r.p.m., se recogió el sobrenadante se transfirió a una cubeta y después de leyó la absorbancia de la de muestra a 505 nm y de igual manera el patrón, frente a un blanco de reactivo. Posteriormente se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración de HDLc en el suero.

$$\frac{Abs\ muestra}{Abs\ patrón} \times (conc\ calibrador) = \frac{mg}{dL} de\ HDLc\ en\ la\ muestra$$

VII.II.IV. Determinación de colesterol LDL

Una vez obtenido el suero, se mezclaron en una tubo de ensayo, 4 µl de muestra con 300 µl de reactivo, la mezcla se incubo 5 minutos a 37 °C, se transfirió a una cubeta y después de leyó la absorbancia de la de muestra a 600 nm y de igual manera el patrón, frente a un blanco de reactivo. Posteriormente se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración de LDLc en el suero.

$$\frac{Abs\ muestra}{Abs\ patrón} \times (conc\ patrón) = \frac{mg}{dL} de\ LDLc\ en\ la\ muestra$$

VII.II.V. Determinación de colesterol VLDL

Mediante la fórmula de Friedewald.

$$VLDLc = \frac{triglicéridos}{5}$$

VII.II.VI. Determinación de triglicéridos

Una vez obtenido el suero, se mezclaron en una tubo de ensayo, 10 µl de muestra con 1 ml de reactivo, la mezcla se incubo 5 minutos a 37 °C, se transfirió a una cubeta y después de leyó la absorbancia de la de muestra a 505 nm y de igual manera el patrón, frente a un blanco de reactivo. Posteriormente se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración de triglicéridos en el suero.

$$\frac{Abs\ muestra}{Abs\ patrón} \times 200 (conc\ patrón) = \frac{mg}{dL} de\ triglicéridos\ en\ la\ muestra$$

VII.II.VII. Determinación de albúmina

Una vez obtenido el suero, se mezclaron en una tubo de ensayo, 5 µl de muestra con 1 ml de reactivo, la mezcla se incubo 10 minutos a temperatura ambiente, se transfirió a una cubeta y después de leyó la absorbancia de la de muestra a 630 nm y de igual manera el patrón, frente a un blanco de reactivo. Posteriormente se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración de albúmina en el suero.

$$\frac{Abs\ muestra}{Abs\ patrón} \times 5 (conc\ patrón) = \frac{g}{dL} de\ glucosa\ en\ la\ muestra$$

VII.II.VIII. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se obtuvo la media aritmética y la desviación estándar de los datos experimentales. Se aplicó el análisis de la t student para la comparación entre los grupos experimentales y el grupo control. Para la obtención de gráficos se utilizó el programa Graph Pad Prism v.3.0.

VIII. RESULTADOS

VIII.I. Consumo de alimento de las madres

Con el fin de implementar un modelo de RPC al 50% se midió el consumo de alimento de las ratas madres cada semana a lo largo del experimento. En la figura 7 se muestran en consumo en gramos de cada grupo, donde se puede apreciar que el grupo RPC consumió la mitad de lo que consumían las ratas control. En ambos grupos tienen un consumo mantenido, pero en la cuarta semana (de gestación) comienza a incrementarse el consumo de alimento de ambos grupos. En la semana siete se crea el grupo recuperado al nacimiento (RN), el cual comía a voluntad, en la semana siete come menos que el control, pero en las próximas semanas el consumo fue mayor que el grupo control.

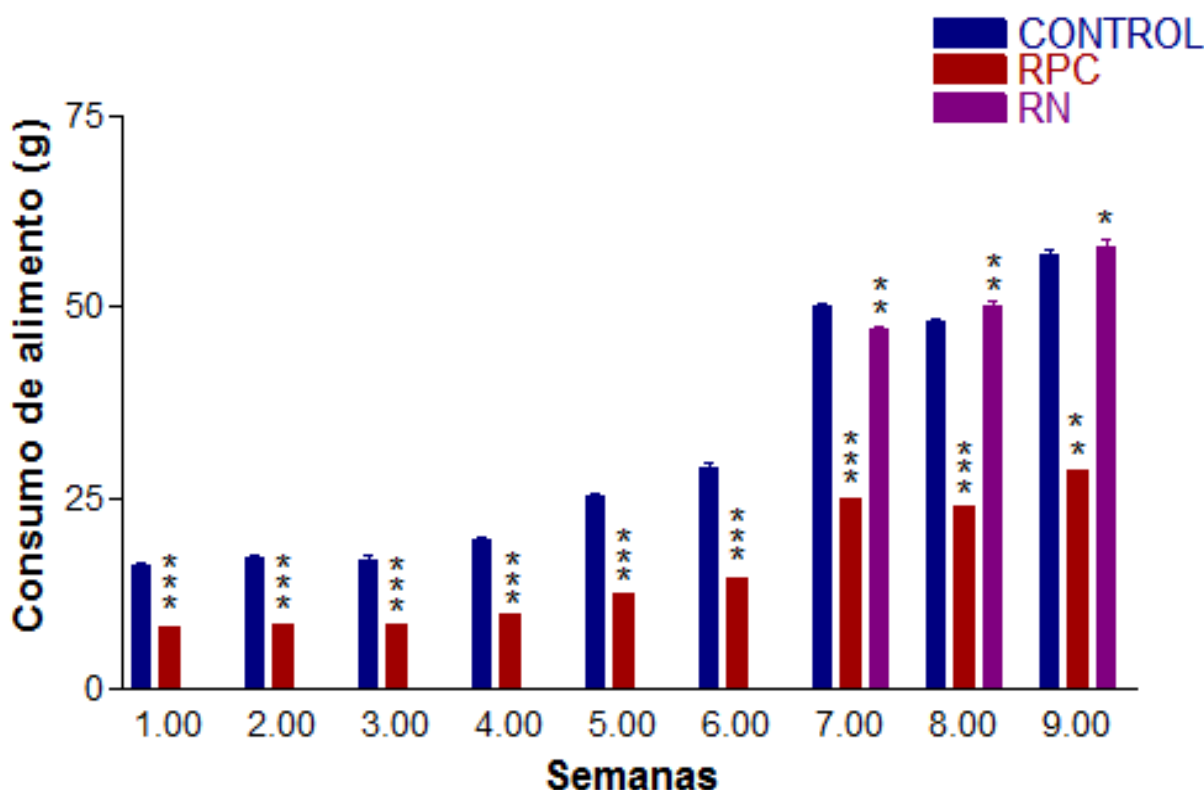


Figura 7. Consumo de alimento de las ratas madre a lo largo de 9 semanas del grupo control y el RPC, y la creación del grupo RN a partir de la semana siete. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparado con el grupo control.

VIII.II. Peso corporal de las madres

Con el fin de evaluar un modelos de RPC al 50% se midió el peso corporal de las ratas madres se midió al inicio del experimento y así cada semana a lo largo del experimento durante 8 semanas. En la figura 8 se muestra el peso corporal de las madres a lo largo de todo el experimento. Se puede observar que en la primera semana del experimento el peso es muy parecido, pero en la segunda semana la diferencia aumenta notoriamente con respecto al control, teniendo en la sexta semana una mayor diferencia. En la semana siete se crea el grupo recuperado al nacimiento (RN), y aunque las madres se alimentaron normalmente no pudieron alcanzar el peso corporal de las ratas control.

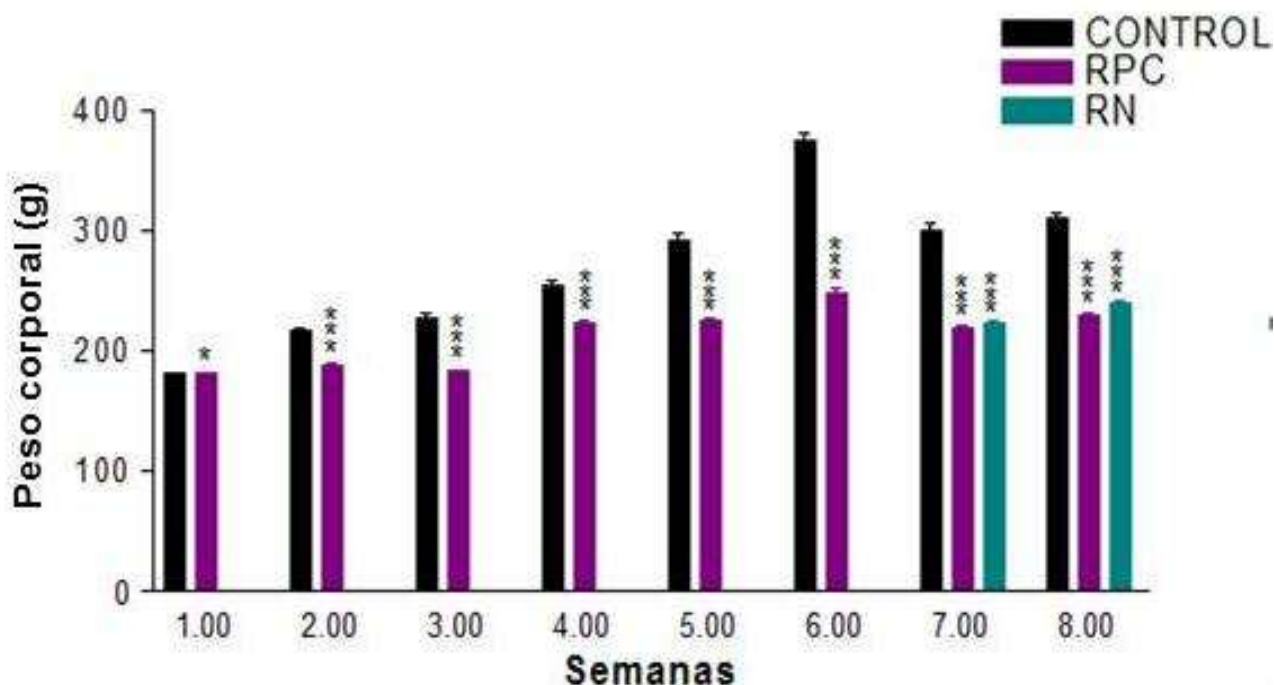


Figura 8. Peso corporal de las madres. Desde las dos semanas de adaptación, una de cruce, tres de gestación y dos de lactancia. Los valores corresponden a tres experimentos independientes, t student. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ con respecto al grupo control.

VIII.III. Peso corporal de las crías

Desde el nacimiento y hasta el día 60 considerada como la edad adulta de las ratas, se midió el peso corporal, en los primeros días solo había 6 grupos, en la figura 9 se observa que en la primera medición solo los grupos RPC-P y RPC-N están por encima de los valores de grupo control.

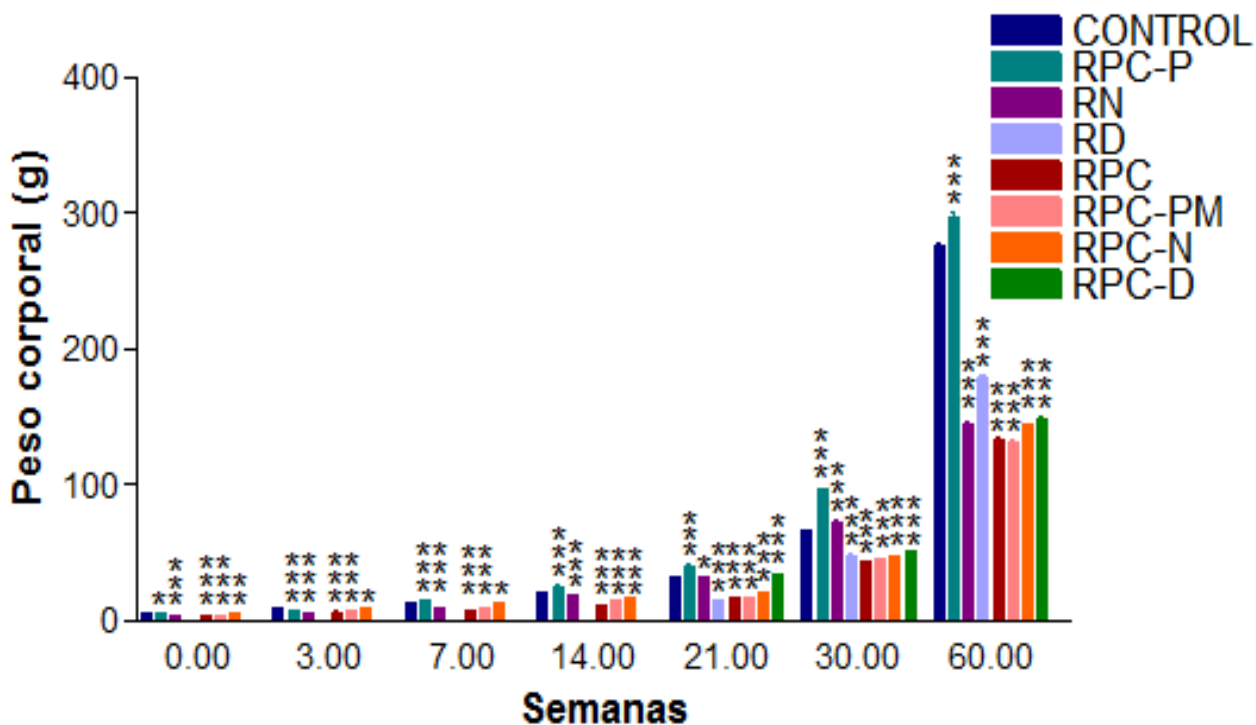


Figura 9. Peso corporal de la crías. Evolución del peso corporal de todos los grupos del experimento, desde el nacimiento hasta la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparado con el grupo control.

VIII.IV. Consumo de alimento de las crías

A partir del día 21, cuando las crías comen por si solas, se comenzó a medir el consumo de alimento y los resultados se muestran en la figura 10, donde se puede observar que en la primera semana el grupo control se encuentra por encima de los pesos de los demás grupos, pero en las siguientes tres semanas fue rebasado por el grupo RPC-P. No se incluyeron los grupos RPC-PM, RPC-N y RPC-D por que se alimentó al 50% del alimento consumido por el control, como el grupo RPC. El grupo recuperado al destete (RD) a pesar que consume más alimento no aumenta el peso corporal comparado con el control.

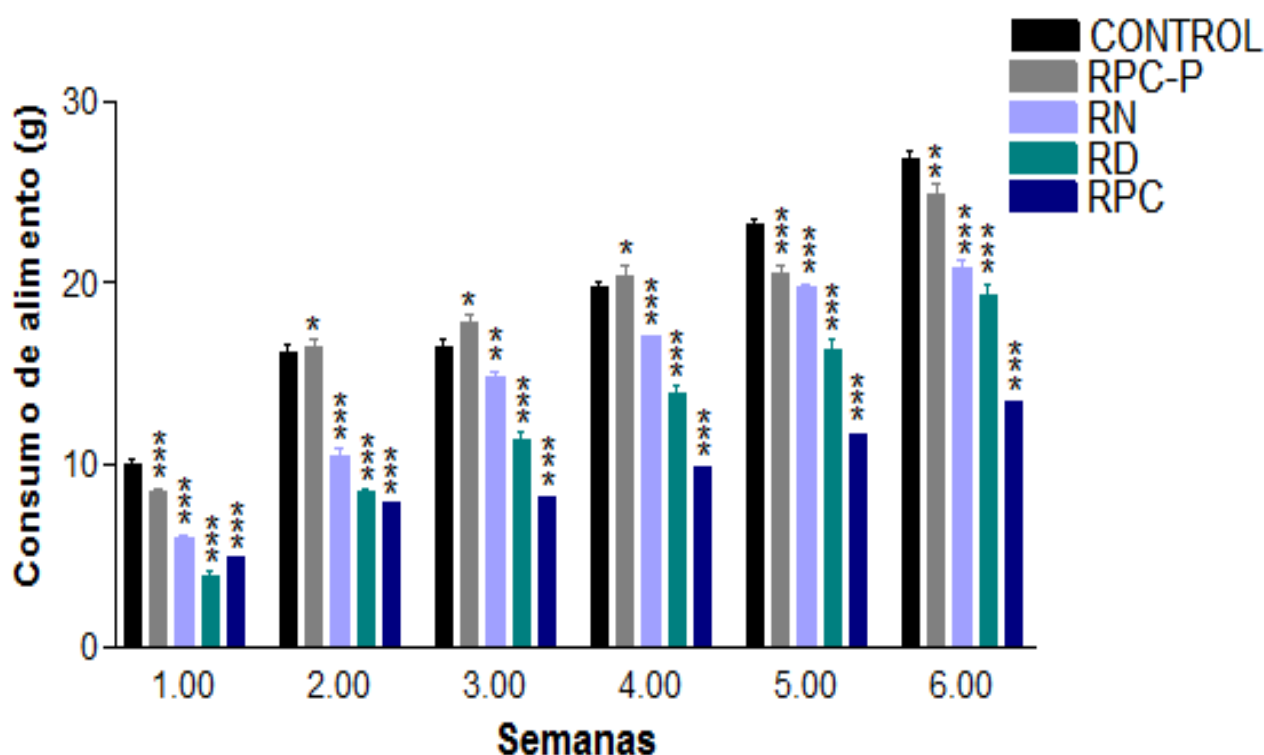


Figura 10. Consumo de alimento de las crías. Medición semanal del consumo de alimento de las crías a partir del día del destete (día 21) la edad adulta (Día 60). Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparado con el grupo control.

VIII.V. Longitud céfalo-sacra de crías

Desde el nacimiento de las crías hasta la edad adulta se midió la longitud céfalo-sacra donde en la figura 11 se puede observar que el día del nacimiento el grupo control está por encima de todos los grupos, pero en la siguiente medición el más alto es el grupo fue el grupo RPC-P manteniéndose así hasta el final del experimento. En el día 21 se crean los grupos RD y RPC-D los cuales se mantuvieron por debajo del grupo control.

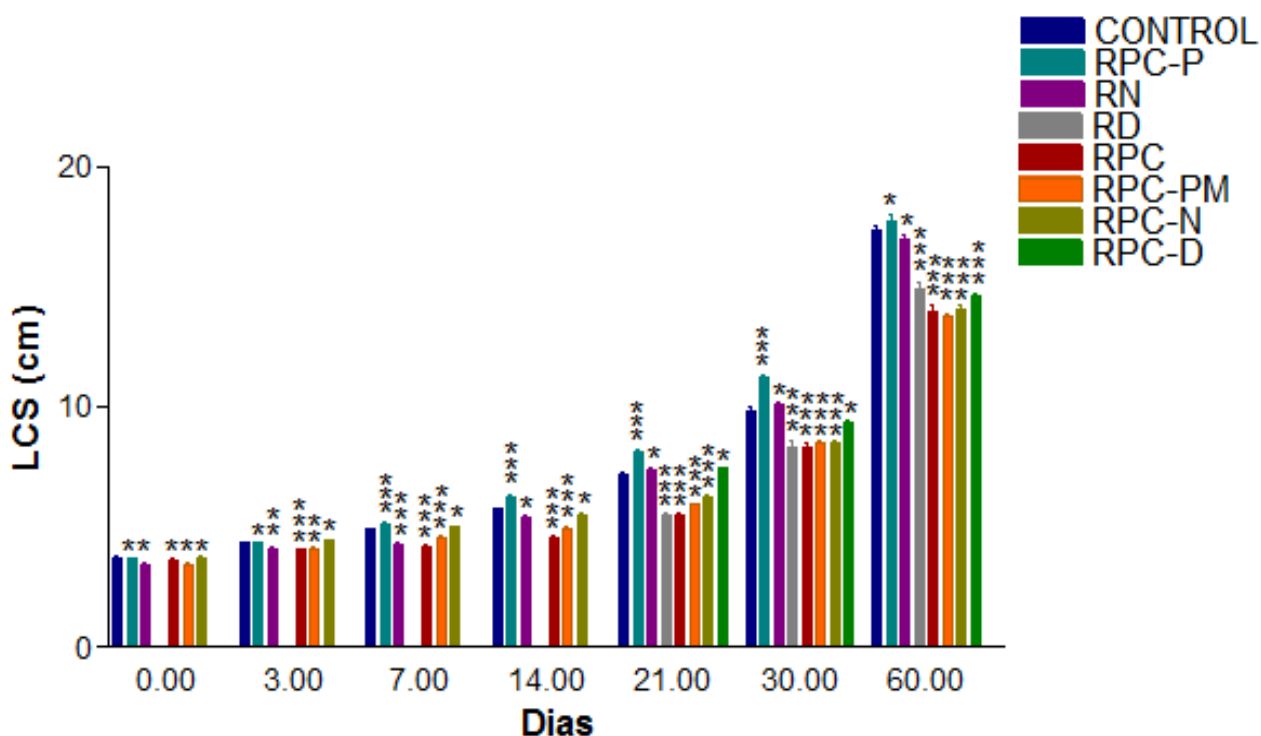


Figura 11. Longitud céfalo-sacra de las crías. Evolución de la longitud céfalo-sacra de las crías desde el día del nacimiento hasta la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparado con el grupo control.

VIII.VI. Niveles de glucosa en sangre

Con el fin de evaluar cambios en el metabolismo de las ratas sometidas a estrés nutricional en diferentes etapas de la vida, se evaluó la concentración de glucosa en sangre (figura 12), se observó el incremento de las concentraciones de glucosa en los grupos RPC, RPC-D y RPC-N.

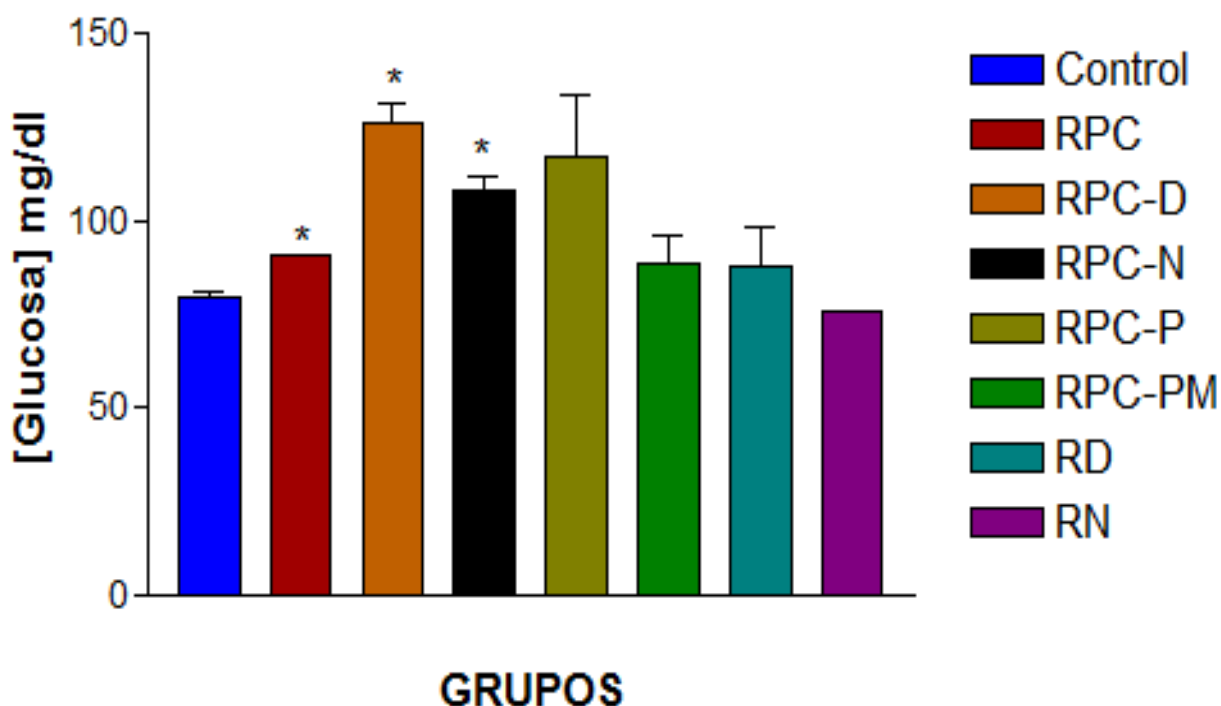


Figura 12. Niveles de glucosa en sangre de los diferentes grupos experimentales. Niveles de glucosa en sangre de las ratas en la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ comparado con el grupo control.

VIII.VII. Niveles de albúmina en sangre

Se ha documentado que en cuadros de desnutrición disminuyen las concentraciones de albúmina.

En la edad adulta se midieron los niveles de albúmina sérica de todos los grupos de ratas, los resultados se presentan en la figura 13, donde se puede observar que todos los valores están muy por debajo comparados con el grupo control.

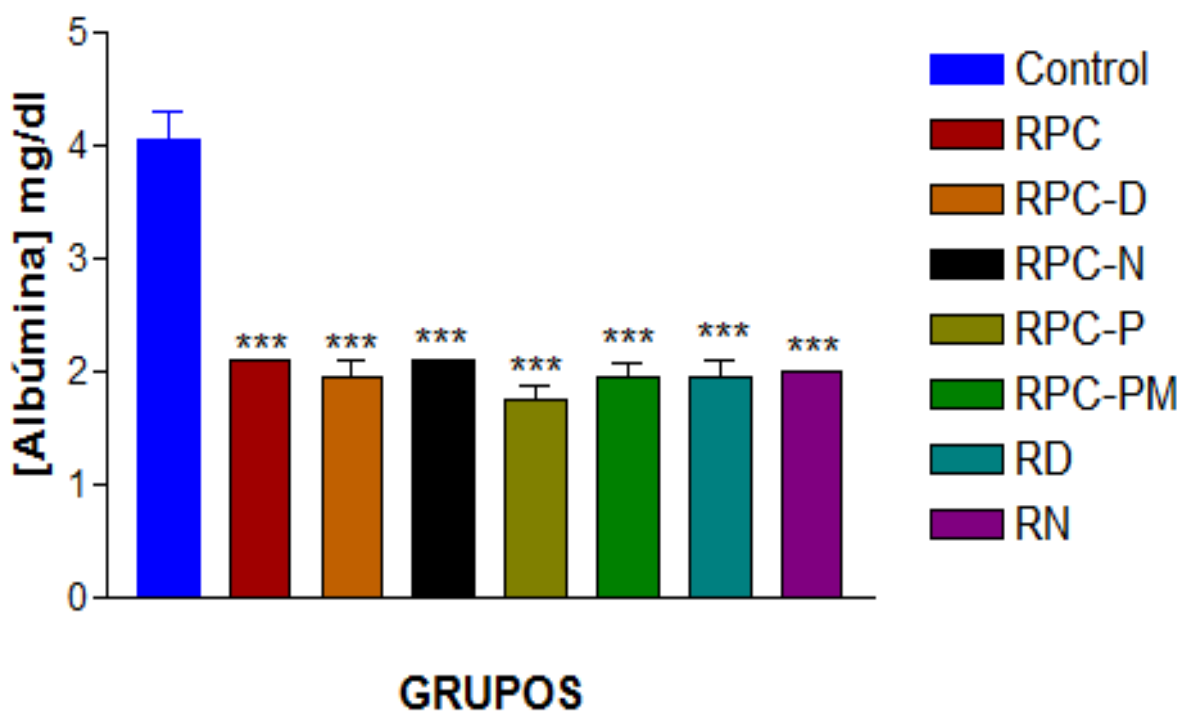


Figura 13. Niveles de albúmina en sangre de los diferentes grupos experimentales. Niveles de albúmina sérica en la edad adulta de todos los grupos de ratas. Los valores corresponden a tres experimentos independientes***p< 0.001 comparado con el grupo control.

VIII.VIII. Niveles de colesterol total en sangre

Al día 60 se midieron los niveles de colesterol total en la sangre de todos los grupos de ratas, los resultados se expresan en la figura 14, donde se puede observar que todos los grupos de ratas tienen valores elevados con respecto al control, excepto por el grupo RPC-P que es el único que se encuentra por debajo de los niveles del grupo control.

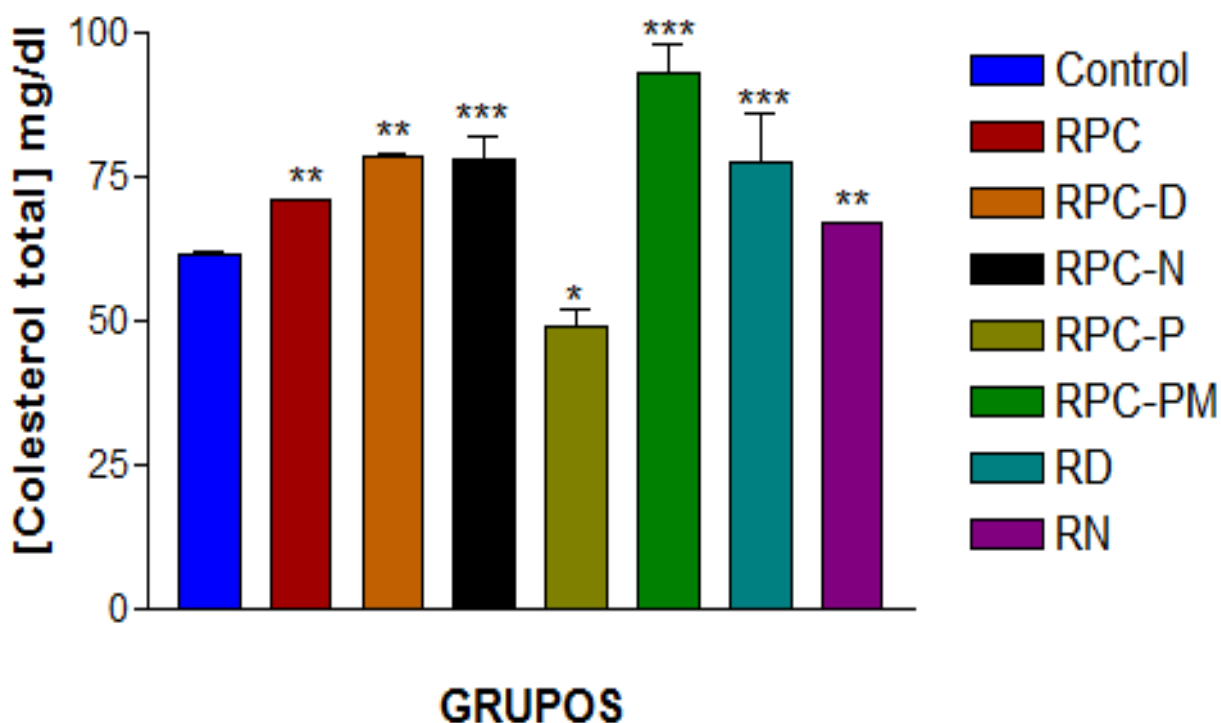


Figura 14. Niveles de colesterol total en sangre de los diferentes grupos experimentales. Niveles de colesterol en sangre de todos los grupos en la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparado con el grupo control.

VIII.IX. Niveles de triglicéridos en sangre

En el día 60 se midieron los niveles de triglicéridos en sangre de cada uno de los grupos de ratas, los resultados se expresan en la figura 15, donde se observa que todos los grupos tienen niveles bajos con respecto al control, pero los grupos RPC-D, RPC-P y RD no tienen diferencia significativa con respecto al control.

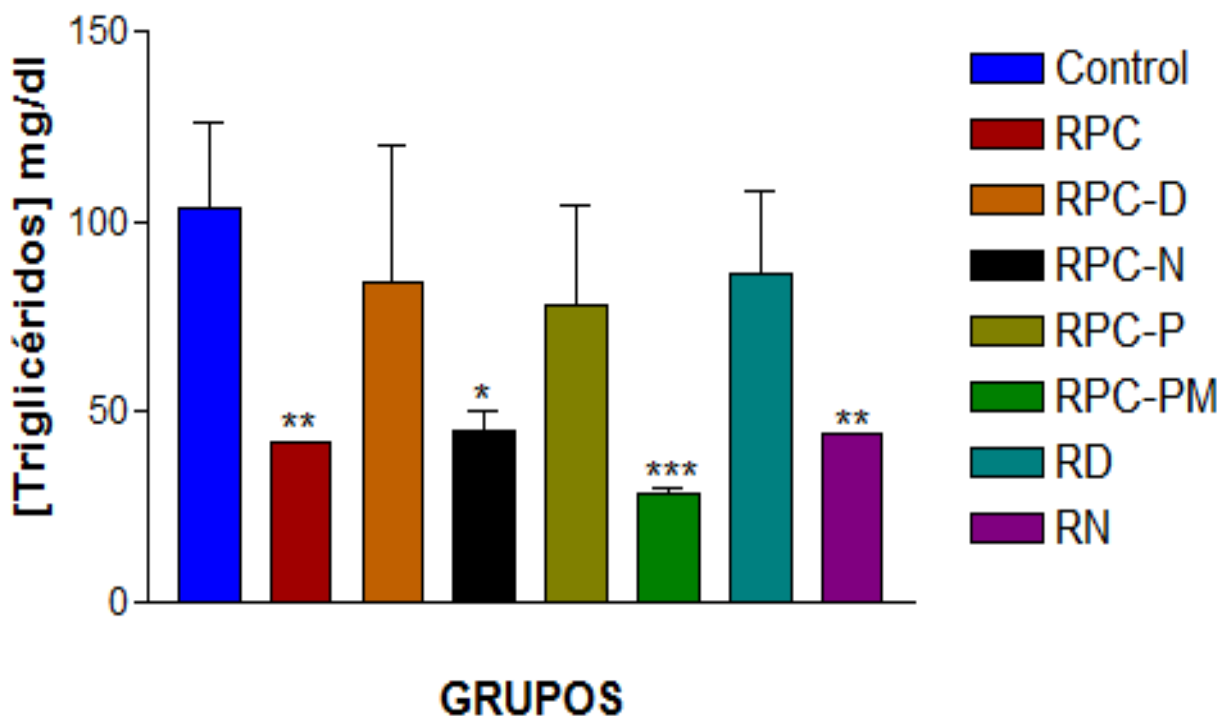


Figura 15. Niveles de triglicéridos en sangre de los diferentes grupos experimentales. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparado con el grupo control.

VIII.X. Niveles de HDLc en sangre

En la figura 16 se muestran los valores de la lipoproteína de alta densidad obtenidos de la medición en sangre de los grupos de ratas en el experimento en el día 60. Se puede observar que todos los grupos tienen valores por encima del grupo control, pero el grupo RPC-P no tiene diferencia significativa con respecto al control.

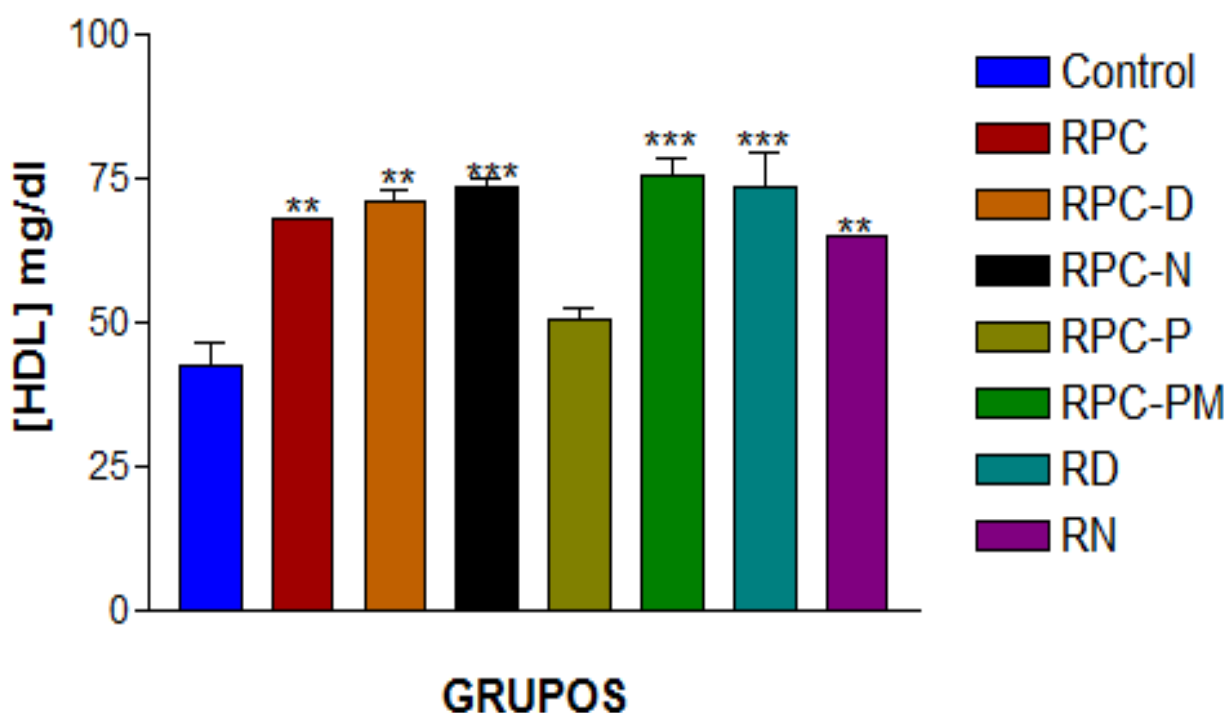


Figura 16. Niveles de HDL en sangre de los diferentes grupos experimentales. Niveles de HDL colesterol en sangre de las ratas en la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparado con el grupo control.

VIII.XI. Niveles de LDLc en sangre

En la figura 17 se muestran los valores obtenidos de la medición de la lipoproteína de baja densidad en el días 60. Se puede observar que todos los grupos tienen valores por debajo del grupo control, pero el grupo RPC-P no tiene diferencia significativa con respecto al control.

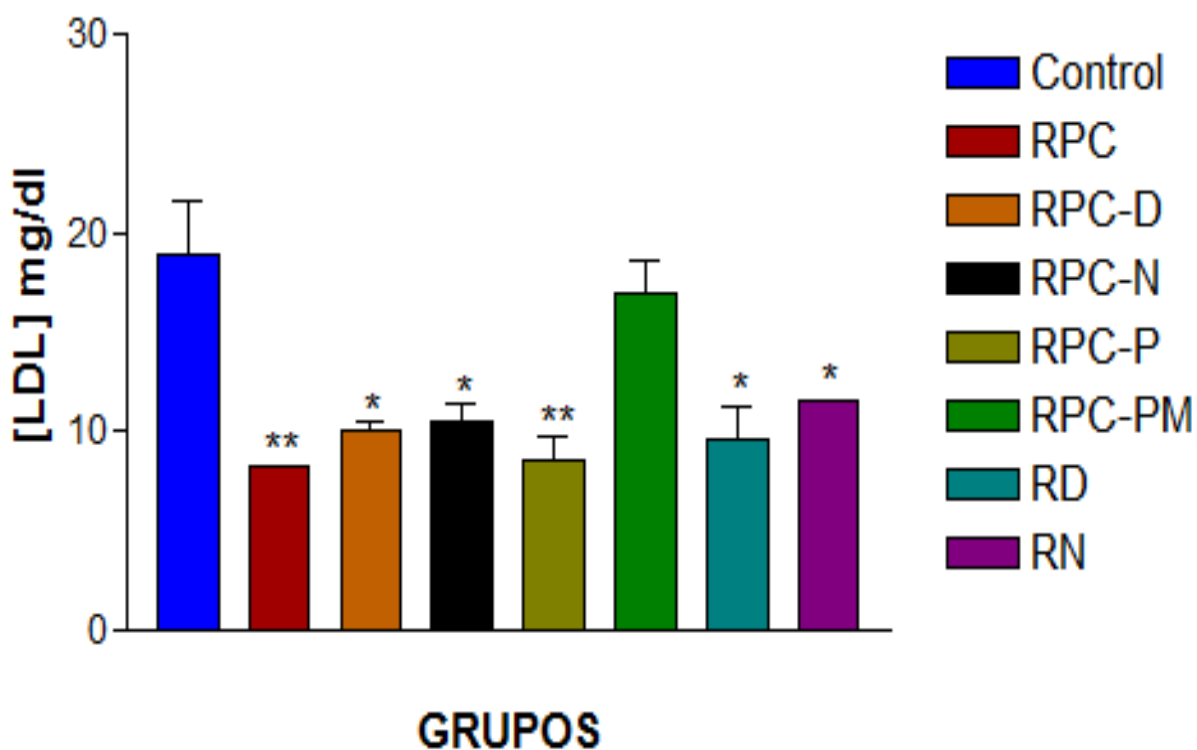


Figura 17. Niveles de LDL en sangre de los diferentes grupos experimentales. Niveles del LDL-colesterol en la sangre de los grupos de ratas del experimento en la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ comparado con el grupo control.

VIII.XII. Niveles de VLDLc en sangre

Los valores expresados en la figura 18 corresponden a los niveles de lipoproteínas de muy baja densidad calculados mediante la fórmula de Friedewald. Se observa que todos los grupos tienen niveles por debajo de los niveles del grupo control, pero los grupos RPC-D, RPC-P y RD no tiene diferencias significativas con respecto al grupo control. Lo cual podría deberse a las bajas concentraciones de lípidos en sangre, ya que para que una lipoproteína se vuelva de muy baja densidad necesitan una alta concentración de lípidos unidos a proteínas.

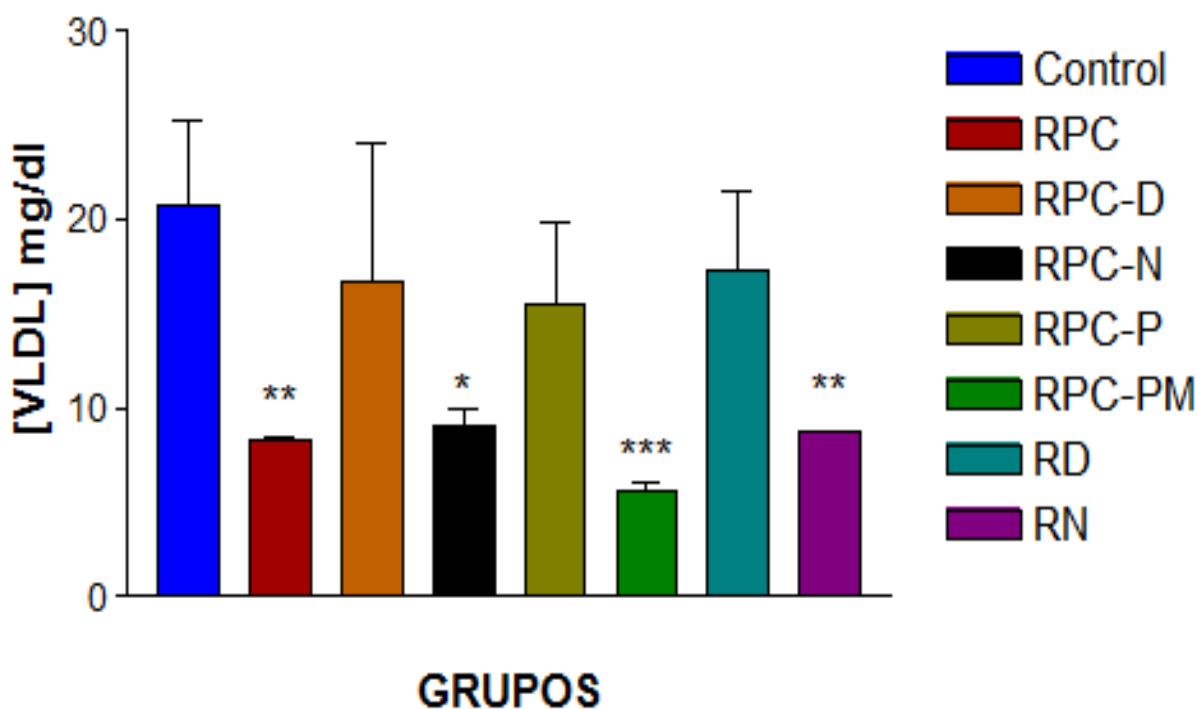


Figura 18. Niveles de VLDL en sangre de los diferentes grupos experimentales. Niveles del VLDL-colesterol de las ratas en la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparado con el grupo control.

VIII.XIII. Niveles de Lípidos totales en sangre

Los valores de lípidos totales en sangre de los grupos del experimento en la edad adulta se muestran en la figura 19, donde podemos observar que solo los grupos PRC, RPC-PM y RN, tienen diferencia significativa con respecto al grupo control.

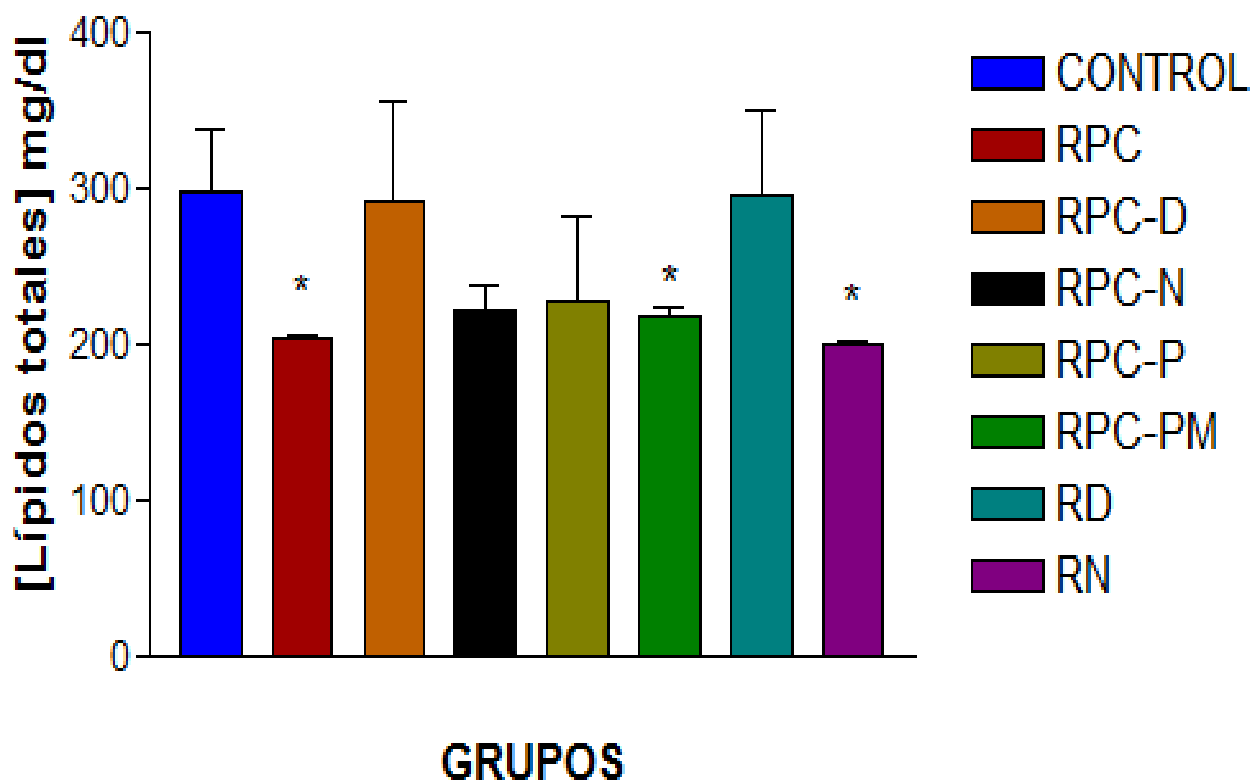


Figura 19. Niveles de lípidos totales en sangre de los diferentes grupos experimentales. Niveles de lípidos plasmáticos de las ratas del experimento en la edad adulta. Los valores corresponden a tres experimentos independientes. * $p < 0.05$ comparado con el grupo control.

IX. DISCUSIÓN

La desnutrición es un problema muy grave a nivel mundial, ya que se estima que aproximadamente 178 millones de niños menores de cinco años en el mundo sufren desnutrición (Black et al., 2008). De acuerdo con la ENSANUT 2012, en todo el país 2.8% de los menores de cinco años presentan bajo peso, 13.6% muestran baja talla y 1.6% desnutrición aguda.

La "Programación *in útero*" se refiere a las adaptaciones fisiológicas o metabólicas que adquiere el feto en respuesta a un micro-ambiente adverso con un pobre aporte de nutrimentos, o bien a un abastecimiento exagerado de los mismos que suceden en una etapa crítica del desarrollo estructural o funcional de ciertos órganos, y que influyen de manera permanente en las condiciones en las que el individuo se enfrentará a la vida extrauterina (Garibay y Miranda, 2008).

Cuando la desnutrición ocurre durante la gestación y/o los primeros años de vida tiene efectos adversos sobre la salud, al metabolismo y el desarrollo de sus facultades. Estudios epidemiológicos han asociado a la desnutrición temprana con la susceptibilidad a desarrollar enfermedades crónicas como diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Osmond y Barker, 2000).

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, como se observa en los grupos RN, RD, RPC, RPC-PM, RPC-N y RPC-D mostrados en las figuras 9 y 11, nuestros resultados coinciden. Confirmando la posibilidad de que estas crías en la vida adulta puedan desarrollar enfermedades relacionadas con el Síndrome Metabólico (Valiente et al, 1999). Otros estudios han reportado la un decremento en la talla de ratas con restricción proteico-calórica con respecto a un control, y así mismo un bajo consumo de alimento (Albarrán et al., 2008).

En el presente trabajo se planteó observar los cambios metabólicos debidos a estrés nutricional en diferentes etapas de la vida, y la expresión de estas modificaciones heredadas de padre y/o madre a las crías. Basándonos en la hipótesis del "fenotipo ahorrador" de Hales y Barker, en donde una pobre nutrición

fetal condiciona adaptaciones que le confieren una ventaja inmediata con el objetivo de sobrevivir a condiciones postnatales poco favorables, es de esperar que la exposición a un medio ambiente, en donde existe un aporte nutricional abundante, favorezca el acumulo de reservas energéticas, condicionando el desarrollo de obesidad y enfermedades relacionadas (Cripps et al., 2005), los animales de los grupos experimentales con RPC que fueron recuperados mostraron una mayor ingesta de alimento como se describe en la figura 10.

Estudios han demostrado que en fetos con Retardo intrauterino del crecimiento, la capacidad de respuesta de secreción de insulina por células β pancreáticas está limitada, probablemente como una respuesta de adaptación ante niveles de glucosa bajos durante la gestación (Stefan et al., 2004).

La resistencia a la insulina puede conllevar a la elevación de las concentraciones de glucosa en sangre como los que presentaron los grupos RPC, RPC-D y RPC-N mostrados en la figura 12, y a que el organismo comience a utilizar a los triglicéridos como fuente de energía y por consecuencia se dé la disminución de las concentraciones de los mismos (figura 15).

Se ha reportado la elevación de las concentraciones del colesterol total en sangre, lo cual podría deberse a que el organismo acelera su síntesis o reduce su metabolismo ya que como se sabe, el colesterol tiene funciones fisiológicas muy importantes, como precursor de hormonas esteroidales o como componente de la membrana celular; las muestras sanguíneas de los grupos RPC, RPC-D, RPC-N, RPC-PM, RD y RN presentan una concentración elevada de colesterol (figura 14) lo que concuerda con los datos reportados.

Las lipoproteínas con moléculas las cuales están formadas por una proteínas y lípidos, entre más lípidos contenga una proteína se vuelve de más baja densidad, las bajas concentraciones de triglicéridos en sangre (debidas a la baja ingesta o a la utilización de estos como fuente de energía por el organismo estrés nutricional) podría resultar en la baja concentración de lipoproteínas de baja (LDL) o muy baja densidad (VLDL) ya que estas necesitan una elevada cantidad de lípidos para su formación, y por ende aumenta la concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL) como se observa en las figuras 16, 17 y 18.

X. CONCLUSIÓN.

El estrés nutricional intrauterina y en etapas postnatales tempranas causa modificaciones en el metabolismo del organismo que se puede apreciar en una vida adulta con un mayor índice de glicemia y lipemia.

XI. LITERATURA CITADA

Albarrán B. S., Acosta, C. J., Guzmán, Q. O., Hernández R. M., Mercado C. R. (2008). Implementación de un modelo de restricción proteico-calórico en ratas para el estudio del síndrome metabólico. *Biológicas*, 10:79-86

Ávila-Curiel, A., Shamah-Levy, T., Galindo-Gómez C., Rodríguez-Hernández, G y Barragán-Heredia L. M. (1998). La desnutrición infantil en el medio rural mexicano. *Salud publica México*. 40:150-160.

Bailey E. A. (2007) Aceites y grasas industriales. *Reverte*. 2(1):4

Barker D. J. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *British Medical Journal*. 311:171-174.

Bastida S. (2013). La alimentación de la madre durante el embarazo condiciona el desarrollo pancreático, el estatus hormonal del feto y la concentración de biomarcadores al nacimiento de diabetes mellitus y síndrome metabólico. *Nutrición Hospitalaria*. 28(2): 250-274.

Bernstein, B. E., Meissner, A., Lander, E. S. (2007).The mammalian epigenome, *Cell* 128:669-681.

Black, R. E., Allen, L. H., Bhutta, Z. A., Caulfield, L. E., Ezzati M., Mathers, C., Rivera, J.(2008). Maternal and Child Undernutrition Study Group Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet* 371(9608):243-60.

Colman, R. J., Anderson, R. M., Johnson, S. C., Kastman, E. K., Kosmatka, K. J., Beasley, T. M., Allison, D. B., Cruzen, C., Simmons, H. A., Kemnitz, J. W., Weindruch, R. (2009). Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 325(5937):201-4

Cripps RL, Martin-Gronert MS, Ozanne SE. (2005). Fetal and perinatal programming of appetite. *Clin Sci*. 109: 1-11.

De Ahumada, V. I., Santana F. L., Serrano M. J. (2002) *Farmacología práctica para diplomaturas en ciencias de la salud*. Díaz de Santos, 1(16):105

ENSANUT (2012). Estado de nutrición, anemia, seguridad alimentaria en la población mexicana. México. Págs. 6-8.

Gallegos, J. F. (2012). Aplicación de normas y condiciones higiénico-sanitarias en restauración. *Paraninfo*. 2:58

EFFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATAS

García B. M. J. y Silvia. G. M. C. (2006). Técnico especialista en laboratorio. MAD. 1(5):90-91

Garibay, N. N. y Miranda L. A. L. (2008). Impacto de la programación fetal y la nutrición durante el primer año de vida en el desarrollo de obesidad y sus complicaciones. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 65(6), 451-467.

Gazi I, Liberopoulos E. N., Mikhailidis D. P., Elisaf M. (2004). Metabolic Syndrome: Clinical Features Leading to Therapeutic Strategies. *Vascular Disease Prevention*. 1:243-253

Hales, N., Levitt, N. S., Lambert, E. V., Woods, D., Andrew, R., Seckl, J. R. (1992). Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, non obese, young South African adults: early programming of cortisol axis. *J Clin Endocrinol Metab*. 85: 4611-8.

Hernández, R. M. y Sastre, G. A. (1999). Tratado de nutrición. Díaz de Santos. 5(1):53-54

Herrera E, Ramos Álvarez MP. (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. *Real academia nacional de farmacia*. Págs. 205-238.

Hoyer, D., Hannon, J. P., Martin, G, R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *ELSEVIER*. 71:533–554

Huang, P. L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms*. 2:231-237

Jaenisch, R., Bird, A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals, *Nature genetics*. 33:245-254.

López, C. J. y López, M. L. M. (2008). Fisiología clínica del ejercicio. Editorial Médica Panamericana. 19:301.

Manjarrez, G. G., Contreras, L. J., Magdaleno, V. M., Chagoya G. G., Hernández R. J. (1997). Increased levels of free plasma L-tryptophan in nursing infants with malnutrition in utero up to the third month of extra-uterine life. *Bol. méd. Hosp. Infant. Méx*, 54(1):9-12

Manjarréz, G.G., Herrera, M.R., Hernández, Z.E., Manuel, A.L., González, R.M., y 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*. 55 (11): 651-658.

EFFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATAS

Morgane, P. J., Mokler, D. J., Galler, J. R. (2002) Neuroscience and biobehavioral reviews 26, 471-483

Osmond C, Barker DJ (2000) Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women. Environ Health Perspect 108:545–553

Pallardo, S. L. F., Lucas M. T., Marazuela, A. M., Rovira, L. A. (2013). Endocrinología clínica. Díaz de Santos. 2(38):353.

Patiño, R. J. F. (2006). “Metabolismo, nutrición y shock”. Medica internacional. 4(3):96-97

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 Pediátrica Mexicana, 33(1):26-31.

Quesada, M. S. (2007) Manual de experimentos de laboratorio de bioquímica. EUNED, 1(8):76-77.

Rathbun, W.E. y Druse, M.J. (1985). Maternal undernutrition during lactation: effect on amino acids in brain regions of offspring. J. Neurochem. 45(6):1802-1808.

Ruiz J. M. A. (2003). Factores de riesgo cardiovascular en niños y adolescentes. Díaz de Santos. 1(5):120

Sánchez-Muñiz F. J., Gesteiro E., Espárrago Rodilla M., Rodríguez Bernal B.,

Stefan N, Weyer C, Levy-Marchal C. Endogenous glucose production, insulin sensitivity, and insulin secretion in normal glucose-tolerance. Pima Indians with low birth weight. Metab Clin Exp. 2004; 53: 904-11.

Torun, B. y Chew, F. (2002). Desnutrición calórica-proteica. Mc Graw Hill. 2:1103-1113.

Valiente, D., Alfonso, C., Gilda, M., Molina, J. y González, V. (1999). Crecimiento y composición corporal de las crías de ratas sometidas a restricción alimentaria Rev. Cubana Invest. Biomed. 18: 104-10.

Van Straten, M. E., Bloks, W. V., Huijckman, N. C. (2010) “The liver X-receptor gene promoter is hypermethylated in a mouse model of prenatal protein restriction”. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 298 R275-R282.

Voet D., Voet G. J., Pratt W. C. (2007). Fundamental of biochemistry. Panamericana: 671

EFFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATAS

Walther, J., Peter, J., Bashammakh, S., Hortnagi, H., Voits, M., Fink, H., Badre, M. (2009). "Synthesis of serotonin by a second tryptophan Hydroxylase isoform. Science. 299:76.

Wang, X., Cui, Y., Tong, X., Ye, H., Li, S. 2007 Glucose and lipid metabolism in small-for-gestational-age infants at 72 hours of age. J Clin Endocrinol Metab 92:681–684

Watts, W.S., Morrison, F.S., Davis, P.R. y Barman M.S. (2012) Serotonine and blood pressure Regulation. Pharmacological Reviews. 64(2):359-388.

Yeh, Y.Y. (1988). Maternal dietary restriction causes myelin and lipid deficits in the brain of offspring. J. Neurosci. Res. 19:57-363.

Zambrano, G. E. (2003). "Desnutrición intrauterina y su relación con enfermedades de la vida adulta". Veritas in Humanitatis servitium. 16(2):4-11.