



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACTULDAD DE CIENCIAS

**“Efecto de una dieta a base de tortillas
en el comportamiento alimenticio y el
metabolismo en ratas”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA**

**P R E S E N T A:
MARÍA EMILIA HORJALES ARAÚJO**



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

**Dirección de Tesis:
DRA. PATRICIA ILEANA JOSEPH BRAVO**

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumnos

Horjales

Araújo

María Emilia

56227620

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

300839784

2. Datos del tutor

Dra.

Patricia Ileana

Joseph

Bravo

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Margarita

Martínez

Gómez

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Carolina

López

Rubalcava

5. Datos del sinodal 3

Dr.

José Luis

Puente

García

6. Datos del sinodal 4

M en C

Elizabeth Lorraine

Jaimes

Hoy

7. Datos del trabajo escrito

El efecto de una dieta a base de tortillas sobre el comportamiento alimenticio y el metabolismo en ratas.

84p

2007

Esta tesis y todo el trabajo detrás de ella está dedicada a aquellos que padecen las desigualdades sociales y económicas de la realidad mexicana, que, entre otras cosas, los han privado de una educación escolar y/o universitaria e irónicamente han pagado la mía.

AGRADECIMIENTOS

A papá y mamá no sólo por su gran paciencia, amor y consejos, si no también por enseñarme a luchar por las ideas, los sueños y el cambio de las realidades aún cuando sean una utopía, porque en la selva hay mucho por hacer...

A Ximena por ser la cómplice y compañera incondicional, por los abrazos, los gritos, las lágrimas y las risas; a Inés por estar ahí y mostrarme, con el mejor ejemplo, que a pesar de las adversidades con paciencia las cosas se pueden lograr, lo sigo tratando! La vida sin ustedes dos no sería igual.

Al bicho, por ponerle tu brillo a mi vida!

A los amigos que en su momento han compartido conmigo su tiempo y espacio, y nos hemos prestado orejas para escuchar nuestras locuras;

A Patricia Joseph por ser más que mi directora de tesis, una amiga, por tu pasión y dedicación con este trabajo.

A la Dra. Patricia de Gortari, por todas sus ayudas durante el proyecto.

A mis sinodales: la Dra. Margarita Martínez Gómez, Dra. Carolina López Rubalcava, Dr. José Luis Puente García y M. en C. Lorraine Jaimes Hoy.

A los del laboratorio por sus consejos y enseñanzas, en especial a la gran cadena de ambos sacrificios: Mariana, Rosa, Arlene, Lorraine, Elena, Candy, Jean Louis, Sergio, Patricia Joseph, Patricia de Gortari, Miguel Ángel, Manuel e Isabel. Al Q.F.B. Miguel Cisneros, por su paciencia y gran ayuda; a Elena Álvarez por su guía; a Manuel Villa, Miguel Olvera y Elena Martell por su apoyo diario en el laboratorio. Sra. Elena gracias por los kilos y kilos de tortillas.

Al bioterio de ambos institutos, a Sergio González por su inmensa ayuda con las ratas.

Al Instituto de Biotecnología y al Instituto de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Y por último, pero no menos importante, a la UNAM (toda ella), por lo mucho que ha ayudado en mi educación universitaria y personal, espero no cambie!

ÍNDICE

Resumen.....	6
Introducción.....	7
Control alimenticio y homeostasis energética.....	9
Efecto de la dieta sobre el consumo alimentario.....	13
Antecedentes.....	16
Hipótesis.....	17
Objetivos.....	17
Objetivos particulares.....	17
Estrategia experimental.....	17
Material y Método.....	19
Experimento 1.....	19
Dietas experimentales.....	19
Extracción y análisis de tejido.....	19
Prueba conductuales.....	20
Nado forzado.....	20
Enterramiento defensivo.....	21
Experimento 2.....	22
Dietas experimentales.....	23
Análisis y extracción de tejido.....	24
Pruebas conductuales.....	24
Laberinto en cruz elevado.....	24
Ejercicio voluntario.....	25
Análisis bioquímicos.....	25
Radioinmunoensayo de corticosterona.....	25
Radioinmunoensayo de TSH.....	26
Radioinmunoensayo de triyodotironina.....	26
Radioinmunoensayo de tiroxina.....	26
Cálculo de concentraciones.....	26
Determinación de Trp libre en plasma.....	27
Análisis de los resultados.....	27
Resultados.....	28
Experimento 1.....	28
Consumo alimentos.....	28
Consumo energía.....	28
Peso.....	29
Ganancia de peso.....	31
Peso tejido adiposo blanco.....	32
Peso tejido adiposo pardo interescapular.....	32
Consumo carbohidratos.....	33
Consumo lípidos.....	34
Consumo proteína.....	35

Consumo lisina.....	35
Consumo triptófano.....	36
Relación CHO:Trp consumido.....	38
Triptófano sérico.....	38
Efecto de la dieta en el estrés.....	39
Corticosterona sérica.....	39
Peso de las glándulas adrenales.....	40
Hormona estimulante de tiroides sérica.....	41
Triyodotironina sérica.....	41
Tiroxina.....	41
Pruebas conductuales.....	42
Nado forzado.....	42
Enterramiento defensivo.....	43
Experimento 2.....	44
Período de acondicionamiento.....	44
Consumo de energía.....	44
Peso.....	45
Período experimental.....	47
Consumo de energía.....	47
Consumo carbohidratos.....	47
Peso.....	48
Peso tejido adiposo blanco.....	49
Peso tejido adiposo pardo interescapular..	51
Pesos ovarios.....	52
Consumo lípidos.....	53
Consumo proteínas.....	53
Consumo lisina.....	54
Consumo triptófano.....	55
Relación CHO:Trp consumido.....	56
Triptófano sérico.....	57
Efecto de la dieta en el estrés.....	58
Peso glándulas adrenales.....	58
Pruebas conductuales.....	58
Laberinto en cruz elevado.....	58
Ejercicio voluntario.....	59
Discusión.....	61
Respuesta al estrés.....	64
Conclusión.....	67
Bibliografía.....	68
Anexo 1.....	75
Anexo 2.....	81
Anexo 3.....	82

RESUMEN

Una dieta adecuada debe proporcionar los diferentes nutrimentos para un buen funcionamiento. El organismo desarrolla mecanismos con los cuales pueda compensar las deficiencias que se presenten mediante la búsqueda de un alimento que contenga el nutrimento, el incremento del consumo del alimento disponible, ó disminuyendo el metabolismo basal. El incremento en la ingesta calórica puede inducir obesidad si se presenta un desequilibrio entre el consumo de energía y el gasto energético.

En este estudio se analizó el efecto de la calidad de la proteína contenida en la dieta sobre la conducta alimentaria, el funcionamiento del eje tiroideo, así como en el estado de ansiedad o depresión. Tomando como referencia los hábitos alimentarios de la población rural mexicana de bajos recursos, el estudio se basó en las tortillas como fuente del 70% de las calorías. La tortilla preparada con maíz contiene sólo el 8% de las Kcal en proteínas que son deficientes en los aminoácidos esenciales Lys y Trp. Se realizaron dos experimentos, en el primero se separaron a las ratas Wistar tanto machos como hembras en cuatro grupos, las control alimentadas con Purina chow 5001, las ISO alimentadas con las mismas calorías que las control pero 30% de ellas aportadas por el chow y 70% por tortilla Maseca, las TAL alimentadas con el mismo 30% de chow y tortilla *ad libitum* y TCAL, alimentadas con chow y tortilla *ad libitum*. Los resultados mostraron preferencia por la tortilla en los grupos TAL y TCAL de ambos sexos, siendo mayor en las hembras que aumentaron considerablemente la ingesta calórica lo cual repercutió en un incremento en el peso y grasa. Sin embargo, las conductas ansiosas o depresivas se vieron disminuídas comparadas al grupo ISO.

En el segundo experimento, para descartar el efecto hedónico de la diferencia en sabores, las ratas fueron alimentadas con: tortillas de masa hecha con Maseca y amaranto (que complementa los requerimientos de lisina) y adicionada con Trp (grupo A); tortillas Maseca y amaranto (B), tortillas Maseca adicionada con Trp (C) y, exclusivamente con tortillas de masa Maseca (D). Las diferencias en el consumo calórico entre los grupos A, B y D fueron leves pero en general, las hembras tuvieron una mayor ingesta calórica. Aún así, hubo un aumento considerable en el peso del tejido adiposo abdominal en los machos de los grupos B y D mientras que en las hembras, los C y D. La adición de triptófano a la dieta deficiente en proteína (C) disminuyó el consumo (comparado a D) y repercutió en una conducta más ansiosa en los machos. La mayor proporción de carbohidratos:triptófano en el grupo D apoya lo sugerido en la literatura sobre su efecto benéfico al permitir un mayor transporte a cerebro. Las diferentes dietas no causaron hipotiroidismo (reducción del metabolismo basal) ni disminución en la actividad (ejercicio voluntario) por lo que el aumento en adiposidad se relaciona a la mayor proporción de carbohidrato:proteína en hembras y, a carbohidrato:trp en machos.

INTRODUCCIÓN

Los grandes problemas económicos y políticos del último siglo, han generado grandes problemas de salud pública, siendo sobresalientes los problemas de desequilibrio nutricional. A nivel mundial se han identificado cuatro tipos principales de desnutrición: desnutrición calórico-proteica, deficiencia de hierro (anemia), de yodo y de vitamina A (Stephenson *et al.*, 2000).

Las dietas deficientes en calorías y/o proteínas generan estrés nutricional (Elverdin *et al.*, 2006), que se expresa con diferentes síndromes: kwashiorkor (deficiencia proteica), marasmo (deficiencia calórica) y kwashiorkor marásmico (deficiencias calórico y proteica) (McGilvery, 1970, Stephenson *et al.*, 2000; Rivera y Sepúlveda, 2003). La desnutrición calórico-proteico puede generar pérdida de tejidos grasos subcutáneos y musculares, bajo desarrollo físico y mental en niños, bajo rendimiento laboral, debilidad muscular, hipotonía, hipotrofia y depresión del sistema inmune (facilitando las recurrentes infecciones), además de cambios en el estado de ánimo como apatía, irritabilidad, ansiedad, fatiga crónica e hipo o hiperactividad (Stephenson *et al.*, 2000, Heike Hesse, 2000)

A nivel cerebral, esta deficiencia puede generar cambios anatómicos en la formación hipocampal que ocasiona un déficit de aprendizaje y memoria; cambios en el tamaño y peso del cerebro, fibras mielinizadas de bajo calibre, falla en la elongación internodal y desmielinización segmentaria significativa. También se ha relacionado a este tipo de desnutrición con disminución de las espinas dendríticas, alteraciones en la arborización dendrítica y disminución en el diámetro del axón (Heike Hesse, 2000)

La restricción calórico-proteica lleva a varios cambios en la anatomía y función tiroidea como retraso en la formación del folículo tiroideo y reducción de la glándula, además de provocar un decremento en los niveles de triyodotironina (T₃) y de Tiroxina (T₄), hormonas importantes en la regulación de la utilización de reservas energéticas (Ramos *et al.*, 2000; Flier *et al.*, 2000).

Conviviendo con los problemas de desnutrición encontramos los problemas de sobrepeso y obesidad, los cuales se han convertido en una de las principales enfermedades del siglo XXI. La OMS en el 2001 reportó que de 1995 al 2000, el índice de obesos incrementó en un 50%, alcanzando hasta 300 millones de adultos obesos a nivel mundial. México no es la excepción, y son varios los problemas que afectan a la población en este ámbito. Según la Segunda Encuesta Nacional de Nutrición (1999), “tanto la obesidad como el sobrepeso se han convertido en una epidemia nacional”, con una alta incidencia en adultos, aunque también empieza a ser un problema en niños; el aumento de personas afectadas se ve acentuado en comunidades

rurales (Rivera y Sepúlveda, 2003). De acuerdo con Sánchez-Castillo *et al.*, 2001, el índice de obesidad es más alto en mujeres que en hombres, llegando a presentarse, junto con el sobrepeso, en el 59.6% de las mujeres mexicanas de entre 18 y 49 años de edad (Sánchez-Castillo *et al.*, 2001; Rivera y Sepúlveda, 2003).

La obesidad se ha definido como el resultado de un desequilibrio entre la ingesta calórica y el gasto energético, que en la mayoría de los casos se da por el consumo de dietas con un alto contenido energético (Rivera y Sepúlveda, 2003). El incremento del índice de obesidad en comunidades rurales no parece estar relacionado con un consumo excesivo de grasas, sino con un elevado consumo de carbohidratos (Sánchez-Castillo *et al.*, 2001). En un estudio realizado en mujeres de una comunidad semi-rural (Ixtenco-Tlaxcala) (Charli-Joseph, 2005), se determinó que si bien la dieta consumida es adecuada en proteínas, tiene grandes cantidades de carbohidratos, proporcionados casi en su totalidad por el elevado consumo de tortillas.

Las tortillas son un alimento que se obtiene moliendo el maíz crudo con cal (nixtamal) con el cual se prepara una masa, y se hacen tortas delgadas que se cocinan sobre una superficie caliente (comal); dependiendo de la forma de la torta se obtienen gorditas, sopes, huaraches, etc. Este alimento es la base de la comida mexicana; son más consumidas en las familias de bajo nivel socioeconómico, registrando un promedio de 200 gramos de tortilla por día en mujeres de entre 18 a 49 años de edad, equivalente al 50-70% del consumo total de calorías (Rivera y Sepúlveda, 2003; Charli-Joseph, 2005).

Por contener grandes cantidades de almidón, las tortillas son consideradas una excelente fuente de calorías (Álvarez Salas, 2006), así como de calcio (debido al proceso de nixtamaización), y otras vitaminas (Arámbula Villa *et al.*, 2001). Como la mayoría de los cereales, el maíz carece de hierro y zinc, y las proteínas que los componen son deficientes en lisina además, el maíz tiene la peculiaridad de ser deficiente en triptófano. Ver tabla 1 y 2. Las proteínas de alto valor biológico contienen la proporción de aminoácidos requeridos por el ser humano y se toma como referencia, a la albúmina de huevo. De particular importancia son los aminoácidos esenciales que no pueden ser sintetizados por los mamíferos, entre los que se encuentran la lisina y el triptófano. Algunos de éstos son además precursores de neurotransmisores (triptófano de serotonina, tirosina de dopamina).

Tabla 1: composición de macronutrientes en 100 gramos de tortilla. (Maseca)

Energía Kcal	369
Proteína	8 gr
Carbohidratos	75.4 gr
Lípidos	3.9 gr
Ca	111(mg)
P	184 (mg)
Fe	2,21 (mg)

Tabla 2: Composición de aminoácidos en tortilla
Muñoz de Chávez, 1996

Aminoácido (aa)	mg de aa/100 gr de proteína
Isoleucina	351
Leucina	953
Lisina	147
Metionina	112
Fenilalanina	258
Treonina	240
Triptófano	32
Valina	310
Arginina	247
Histidina	160

Los organismos cuentan con mecanismos de regulación que incluyen el consumo de nutrimentos; así, cuando a las ratas se les ofrece una dieta baja en proteínas (5-8%) y una dieta con cantidades normales (14%), éstas tienden a elegir la segunda, asegurándose la ingesta de las cantidades adecuadas de proteínas (Harper y Peters, 1989; Tome, 2004; Elverdin *et al.*, 2006). Consecuentemente, si las ratas son alimentadas únicamente con una dieta deficiente en proteínas, éstas aumentarán su consumo de alimentos, buscando homeostasis (Du *et al.*, 2000, Tome, 2004).

Control alimentario y homeostasis energética

La homeostasis energética es el proceso que, por medio de diferentes mecanismos, logra un ajuste del organismo para poder responder adecuadamente a sus demandas tanto internas como externas; y se basa, principalmente, en un equilibrio entre la ingesta (que se puede determinar por el comportamiento alimenticio) y el gasto energético.

El gasto energético está compuesto por tres factores, el metabolismo basal, la termogénesis y la actividad física que realice el individuo. Estos factores llevan a la conversión de oxígeno y comida (o energía almacenada en forma de grasa, glucógeno o proteínas) a dióxido de carbono, agua y ATP (de Gortari y Joseph-Bravo, 2006).

La homeostasis se logra mediante una regulación neuronal y hormonal del gasto energético y la ingestión de comida.

Las hormonas adrenales y tiroideas son los principales factores catabólicos que regulan el metabolismo basal. Un aumento transitorio de cortisol, estimula la degradación de glucógeno, lo que lleva a un aumento en las concentraciones de glucosa en sangre, y a la movilización de aminoácidos a músculo y la lipólisis (de Gortari y Joseph-Bravo, 2006). Las hormonas tiroideas son responsables del 20-25% del gasto energético basal y juegan un papel importante en la termogénesis (al regular la expresión de las proteínas desacopladoras, en tejido graso y músculo, que permiten la generación de calor) así como de la síntesis de enzimas que participan en el metabolismo de carbohidratos y proteínas, (Yen, 2001, Bianco *et al.*, 2005, de Gortari y Joseph-Bravo, 2006).

Las sensaciones de saciedad o hambre se generan a partir de señales periféricas que provienen del aparato gastrointestinal y, de la activación de neuronas sensoras, principalmente del hipotálamo. El estómago, al estar vacío secreta grelina, que activa a las neuronas hipotalámicas productoras de péptidos orexigénicos. Al ingerir alimentos, el estómago deja de liberar grelina y por la absorción de nutrimentos a través del intestino secreta colecistoquinina, que disminuye el vaciamiento gástrico aumentando la secreción de enzimas pancreáticas; el incremento de glucosa en sangre libera insulina del páncreas. Todas estas moléculas inciden sobre las neuronas hipotalámicas y generan la sensación de saciedad (Joseph-Bravo 2004).

Algunas señales metabólicas como la glucosa y aminoácidos pueden afectar directamente las propiedades electrofisiológicas de las neuronas, y otras como la insulina y la leptina (secretada de adipositos), pueden modificar la expresión y liberación de péptidos con actividad anoréxica (que inhiben la sensación de hambre) u orexigénica (que la provocan). Varios núcleos hipotalámicos están involucrados en el control del peso corporal y la conducta alimentaria; en particular, las neuronas de los núcleos del arcuato, localizados en la base del hipotálamo, el lateral, el ventro y el dorso medial emiten señales aferentes que inervan al núcleo paraventricular (PVN). En el PVN se sintetizan dos péptidos importantes para la homeostasis energética: el TRH que regula al eje hipotálamo-hipófisis-tiroides (HPT) y el CRH, al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) (de Gortari y Joseph-Bravo, 2006).

La hormona liberadora de tirotrópina (TRH) es un tripéptido sintetizado como un precursor proteico en el núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo que es procesado en gránulos y transportado a la eminencia media; en respuesta a estímulos neuronales y señales metabólicas, el TRH es liberado a la adenohipófisis por medio del sistema portal hipofisiario. Allí el TRH actúa sobre su receptor TRH-R1 lo que genera la secreción de la hormona estimuladora de tiroides (TSH) de la hipófisis. La secreción de esta hormona estimula la

síntesis y liberación de triyodotironina (T_3) y Tiroxina (T_4) de la tiroides (Lechan y Toni, 1992; Joseph-Bravo *et al.*, 1998, Joseph-Bravo, 2004) (Fig. 1).

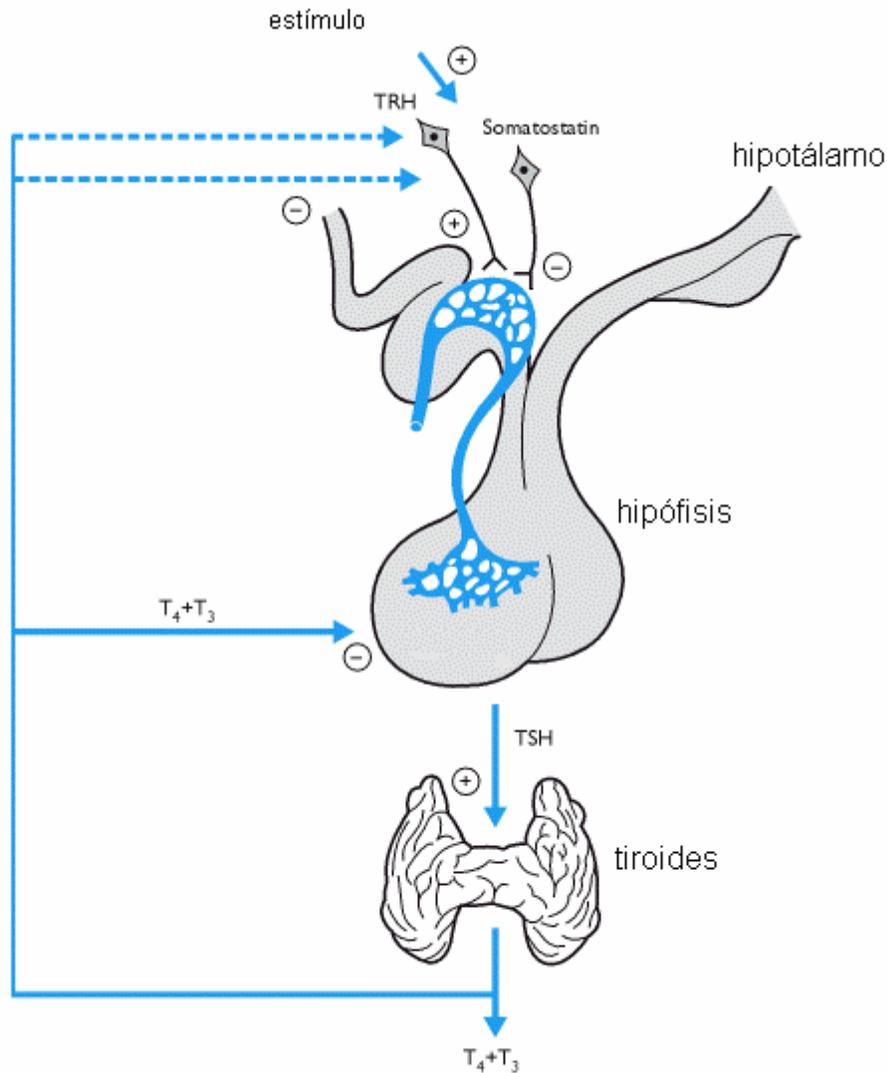


Fig. 1. Eje hipotálamo-hipófisis-tiroides. El TRH se sintetiza en el núcleo paraventricular del hipotálamo y es liberado al sistema hipofisiario, donde estimula la secreción de TSH. Esta hormona estimula la secreción de T_3 y T_4 en la tiroides. Las hormonas tiroideas viajan vía el torrente sanguíneo y actúan sobre sus órganos blancos, donde regulan la expresión de varios genes. El eje tiroideo se autorregula por retroalimentación negativa inhibiendo la síntesis y secreción de TRH y de TSH. Imagen obtenida de Nussey y Whitehead, 2001.

Los niveles circulantes de glucocorticoides (corticosterona en los roedores; cortisol en humanos) dependen de la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) (Fig. 2) ante la exposición a un agente estresor. La respuesta se inicia en el núcleo paraventricular donde se sintetiza la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y la vasopresina que, liberados de la eminencia media, llegan a la hipófisis y estimulan la liberación de la hormona adrenocorticotropina (ACTH).

Ésta, actúa sobre la corteza de la glándula adrenal induciendo la secreción de los glucocorticoides (GC), los cuales actúan sobre varios órganos blanco para movilizar la energía y permitir los cambios adaptativos fisiológicos necesarios (García Vázquez, 2006) (Fig. 2).

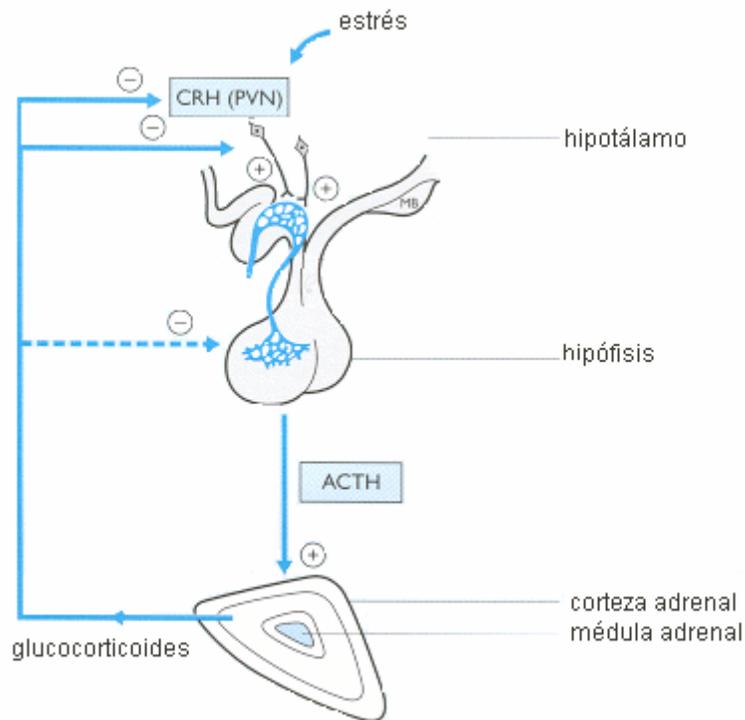


Fig. 2 Regulación de la actividad del eje HPA. El estrés induce la síntesis de CRH en el núcleo paraventricular, y su liberación de la eminencia para llegar a la hipófisis, donde estimula la liberación de la ACTH, que en la corteza de la glándula adrenal induce la liberación de glucocorticoides. Imagen obtenida de Nussey y Whitehead, 2001

La actividad del eje HPT y del HPA está regulada por retroalimentación negativa: incremento en los niveles de hormonas tiroideas (o glucocorticoides) en el torrente sanguíneo inhiben la síntesis y liberación de TRH (ó CRH) en el núcleo paraventricular y la de TSH (ó ACTH) al actuar en la hipófisis, lo que restaura los niveles basales de T_3 y T_4 (ó glucocorticoides) (Akil *et al.*, 1999; Bornstein *et al.*, 2006) (Fig.1 y 2).

Son varios los factores que pueden alterar el funcionamiento de estos ejes. El frío, por ejemplo, estimula la liberación de TRH, generando un aumento en la liberación de las demás hormonas tiroideas. El estrés psicológico estimula al eje HPA mientras que inhibe al HPT, modificando la actividad de las neuronas TRHérgicas en el núcleo paraventricular (Uribe *et al.*, 1993; García Vázquez, 2006). En casos de balance energético negativo como en el ayuno se incrementan las concentraciones circulantes de corticosterona y disminuyen las de hormonas tiroideas. Sin embargo, no incrementa la expresión de TRH

o TSH, sino que se encuentran disminuidas (Shi *et al.*, 1992, Ramos *et al.*, 2000); esto se ha explicado por el efecto de la disminución de leptina que actúa sobre las neuronas del núcleo arcuato modulando la expresión de TRH, así como por el aumento de glucocorticoides que la inhiben (de Gortari y Joseph-Bravo, 2006).

De manera similar, el consumo de una dieta deficiente en proteína por un largo período, baja las concentraciones séricas de T₃ y T₄ y disminuye la captación del yodo, provoca un ligero aumento en las concentraciones de TSH pero un decremento en las de TRH (Shi *et al.*, 1992; Ramos *et al.*, 2000; Van Haasteren *et al.*, 1996). Se presenta además una elevación en las concentraciones de glucocorticoides, un aumento en la síntesis y secreción de ACTH. Bajo esta desnutrición, las acciones catabólicas de los glucocorticoides facilitan la liberación de la proteína corporal almacenada (Herbert *et al.*, 1993, Álvarez Salas, 2006). Sin embargo, si la dieta es consumida por un lapso corto de tiempo, una dieta con 9% de proteína aumenta la concentración de T₃ (Smallridge *et al.*, 1982). Debido a la relación de las hormonas tiroideas con el metabolismo basal, la disminución en las concentraciones hormonales pueden alterar el peso corporal al reducir la utilización de las reservas energéticas provocando un aumento de peso (sobrepeso y obesidad) (Shi *et al.*, 1992; Bornstein *et al.*, 2006).

En el caso de glucocorticoides, un exceso induce acumulación de grasa abdominal, elevan el consumo de alimentos por la estimulación del neuropéptido Y (NPY), y la inhibición de la hormona liberadora de CRH (Berthoud, 2002; Broberger, 2005; Álvarez Salas, 2006), permitiendo un balance positivo de energía independiente de las concentraciones de leptina (Smart *et al.*, 2006). Alteraciones en el eje HPA, como ocurre en pacientes con depresión, aumentan la incidencia de la obesidad (Bornstein *et al.*, 2006).

Efecto de la dieta sobre el consumo alimentario

Las proteínas tienen el índice de saciedad más alto, seguido por las grasas. Así, una dieta baja en proteínas está asociada a un gran consumo de alimento y viceversa (Harper y Peters, 1989; Tome, 2004, Elverdin *et al.*, 2006). Esto coincide con lo ya mencionado sobre el aumento en el consumo del alimento cuando éste es deficiente en proteínas.

Una dieta deficiente de proteína y alta en carbohidratos está relacionada con un aumento en el transporte de triptófano (Trp) al cerebro (Harper y Peters, 1989; Fernstrom, 2000; Wurtman *et al.*, 2003). Los aminoácidos son transportados al cerebro por medio de proteínas que distinguen grupos de aminoácidos con características hidrofóbicos, de cadena larga, ó con carga. El triptófano compite con los aminoácidos de cadena larga (LNAAs) para ser transportado al

cerebro. El transporte de los LNAAs es inhibido por la insulina por lo que se ha propuesto que los carbohidratos, al ser digeridos y provocar la liberación de insulina, facilitan el transporte de Trp al cerebro. Debido a que el Trp es el precursor de la serotonina, la síntesis de este neurotransmisor depende de la concentración de este aminoácido en el cerebro que a su vez, depende de las concentraciones plasmáticas (Wurtman *et al.*, 1983; Harper y Peters, 1989; Young, 1996; Fernstrom, 2000; Wurtman *et al.*, 2003; Coskun *et al.*, 2006; Koopmans *et al.*, 2006).

La serotonina es un neurotransmisor sintetizado a partir del Trp (Fig. 3) y está implicado en un sin número de procesos entre los que destacan el estado anímico (depresión, ansiedad) (Leibowitz y Alexander, 1998; Bell y Abrams, 2001; Del Ángel Meza *et al.*, 2001; Berthoud, 2002; Steiger, 2004; Coskun *et al.*, 2006; Hasegawa *et al.*, 2006; Bornstein *et al.*, 2006; Waselus *et al.*, 2006), el control del HPA (Bornstein *et al.*, 2006) y la regulación de la ingesta de alimentos. La serotonina es un fuerte anorexigénico, que amplifica las señales mediadoras de la saciedad, inhibiendo la ingesta de alimentos y el peso corporal (Leibowitz y Alexander, 1998; Berthoud, 2002; Steiger, 2004; Coskun *et al.*, 2006).

La disminución de serotonina neuronal causada por la ingestión de una dieta baja en proteínas, dirige el comportamiento hacia la búsqueda e ingesta de alimentos con proteínas (Fernstrom *et al.*, 2001). Por esto se propone que dicho neurotransmisor tiene una función reguladora que evalúa la cantidad de proteínas de la dieta (Harper y Peters, 1989; Hallem y Haider, 1996; Haider y Haleem, 2000; Coskun *et al.*, 2006). Ratas sometidas a restricción proteica tienen un incremento en las concentraciones de serotonina, sin embargo el incremento es aún mayor en las ratas alimentadas con maíz, lo cual es coherente con la relación propuesta entre la ingesta de carbohidratos y las concentraciones de Trp y serotonina en el cerebro (Del Ángel Meza *et al.*, 2001)

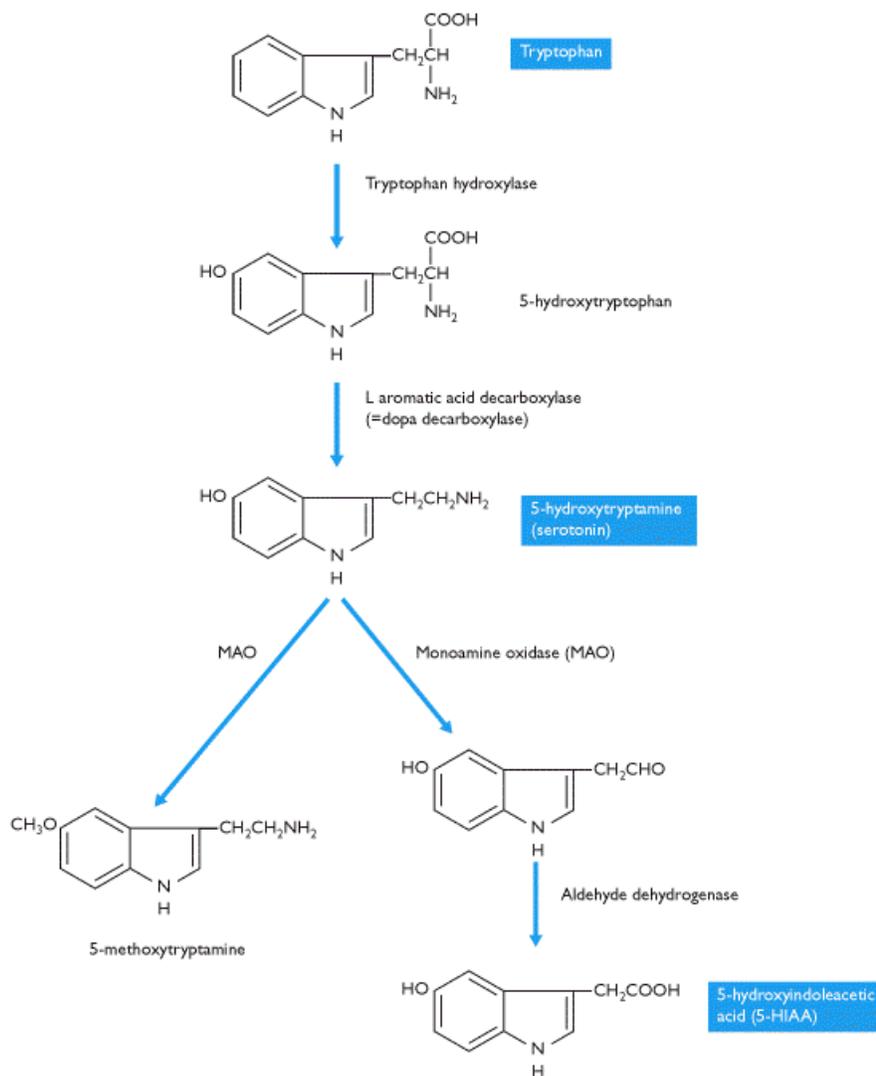


Fig. 3 Síntesis y metabolismo de serotonina a partir de su precursor el triptófano. Imagen obtenida de Nussey y Whitehead, 2001

El conjunto de estas observaciones sugiere una relación directa entre la ingesta de proteínas y carbohidratos con el estado anímico, al mantener la síntesis adecuada de serotonina. Se cree que es por esta relación serotonina-ingesta de alimento- estado de ánimo, que el neurotransmisor se ve alterado en pacientes con anorexia y bulimia (Steiger, 2004). También se ha relacionado la variación en las concentraciones de serotonina durante el ciclo menstrual (estral) de las hembras (mayor en las etapas preovulatorias y menores en las etapas menstruales) con el estado anímico y el “carbohydrate craving” (Del Ángel Meza *et al.*, 2001).

ANTECEDENTES

Si bien son muchos los trabajos que han analizado la ingesta de proteínas y carbohidratos en relación con la concentración de serotonina y Trp, tanto en plasma como en el cerebro de ratas, sólo hay un estudio (Álvarez Salas, 2006) en el que se analiza la influencia de la dieta basada en tortillas con la conducta alimenticia (consumo calórico), la ansiedad y la depresión.

En dicho trabajo se dividieron a las ratas en tres grupos: las control (alimentadas con chow *ad libitum*), las alimentadas isocalóricas (30% de chow y 70% de tortilla) y las tortilla *ad libitum*, alimentadas con 30% de chow y acceso libre a tortilla. Las ratas que tuvieron acceso libre a tortilla tuvieron un consumo calórico mayor, un aumento en el peso del tejido adiposo blanco y, una menor proporción de proteínas (en consecuencia, de triptófano (Trp) y de lisina (Lys)), a pesar de que la ingesta de estos nutrimentos fue la mínima necesaria. Este comportamiento fue más pronunciado en las hembras quienes además, en pruebas conductuales presentaban una menor depresión y ansiedad.

Basado en dicho trabajo, se propone un estudio en el cual se comprueben los resultados y analice la relación entre el consumo de los nutrimentos, el aumento en los tejidos adiposos (y el peso corporal) y el comportamiento de las ratas. Con un segundo experimento, se propone elucidar si la motivación por consumir las grandes cantidades de tortillas es la deficiencia en proteína o la deficiencia en triptófano.

HIPÓTESIS

Debido a que la tortilla es deficiente en triptófano, al administrarles a las ratas una dieta basada en tortilla, éstas aumentarán su ingesta con el fin de compensar las deficiencias de dicho aminoácido, y garantizar el consumo mínimo necesario de los nutrimentos. Al aumentar la cantidad de alimento consumido, y por lo tanto de carbohidratos, las ratas tendrán un aumento en el peso corporal, así como un aumento en el peso de las grasas. El aumento en el consumo alimenticio va a garantizar una adecuada proporción de carbohidratos: triptofano que evitará deficiencias en serotonina las cuales se verán reflejadas en menor depresión y ansiedad.

OBJETIVOS

En este trabajo, en el que se usaron ratas como modelo animal, se pretende definir el efecto de la calidad y cantidad de proteína en la dieta sobre el eje tiroideo y las conductas alimenticias, así como de depresión y ansiedad.

En particular:

- Reproducir los datos obtenidos por Álvarez Salas.
- Determinar el efecto de la cantidad de proteína de la dieta sobre el consumo calórico.
- Estudiar el efecto de la dieta con relación al comportamiento de depresión y ansiedad.
- Evaluar el efecto de una dieta baja en proteína y alta en carbohidratos en el desarrollo de obesidad en ratas.
- Estudiar la relación entre las diferentes dietas administradas (cantidades diferentes de proteína) y el funcionamiento del eje tiroideo (mediante la cuantificación de hormonas en suero).
- Analizar el efecto de dietas con diferentes cantidades de Trp y proteína en relación al comportamiento alimenticio y el metabolismo de las ratas para elucidar el nutrimento (Trp o proteína) que motive a las ratas a consumir más alimento.
- Comparar el efecto de la cantidad de proteína en la dieta entre machos y hembras.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Para lograr estos objetivos, se diseñaron dos experimentos. En el primero se analizó el efecto de la dieta basada en tortilla y alimento para ratas Purina chow 5001; dividiendo a las ratas en los tres grupos del experimento de Álvarez-Salas e incluyendo un cuarto grupo en el cual se suministró chow y tortilla ad libitum permitiendo así, que el animal tuviese libre elección entre el alimento completo o la tortilla.

En el segundo, se suministró a los distintos grupos el alimento preparado a partir de masa (complementada con más proteína o más triptófano). Este experimento permitirá evitar el efecto hedónico del sabor de la tortilla vs. el de chow que se tiene en el experimento 1 y definir si el aumento en el consumo de alimento se debe a la deficiencia de proteína o de Trp en la dieta. En ambos, se determinará el consumo de alimento, las variables ponderales y los niveles de hormonas tiroideas y corticosterona.

MATERIAL Y MÉTODOS

EXPERIMENTO 1

El experimento se llevó a cabo con ratas Wistar crecidas y mantenidas en el bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INP), en colaboración con Elena Álvarez.

Ratas macho (n=25) y hembras (n=25) de dos meses de edad (170-270 g), se mantuvieron en cajas individuales, con ciclo regular de luz-oscuridad de 12+12 horas a una temperatura constante de 24±1°C.

Los animales fueron divididos en cuatro grupos con diferentes dietas y diariamente se cuantificó su consumo registrando diferencia del peso del alimento colocado el día anterior. Las ratas fueron manipuladas diariamente entre las 11 y las 16 hrs. El experimento tuvo una duración de 15 semanas.

Dietas experimentales

- Grupo control, C (n=6), alimentado a base de Purina Chow 5001 *ad libitum* con 23% de las kcal totales provistas por proteína.
- Grupo isocalórico, ISO (n=6), alimentado con el 30% del chow consumido del grupo control (8% de proteína), y tortilla hasta alcanzar las kilocalorías (Kcal) consumidas por el grupo control, el día precedente.
- Grupo tortilla *ad libitum*, TAL (n=6), alimentado con 30% del chow consumido por el grupo control (8% de proteína), y acceso *ad libitum* a tortilla de maíz nixtamalizado.
- Grupo tortilla y chow *ad libitum*, TCAL (n=7), alimentado con libre acceso de Purina Chow 5001 y tortilla de maíz nixtamalizado.

Se registró el alimento consumido diariamente para el cálculo del consumo de energía (kcal), macronutrientes (proteína, lípidos y carbohidratos), triptófano y lisina (tablas del chow y tortilla en el anexo 1). Semanalmente se registró el peso de los animales.

Extracción y análisis de tejido

Las ratas fueron sacrificadas por decapitación al término del experimento (semana 15). La sangre troncal fue colectada para obtener el suero y cuantificar triyodotironina (T₃), tiroxina (T₄), hormona estimulante de tirotrópina (TSH) y corticosterona (CORT), por radioinmunoensayo (RIA).

Se recolectó la sangre del tronco de cada animal, se extrajeron y pesaron el tejido adiposo blanco epididimal u ovárica (obtenido de de

la grasa que cubre los testículos ó los ovarios), el tejido adiposo pardo (interescapular) y las glándulas adrenales (como medida de estrés crónico). El tejido adiposo blanco tiene relación con el estado de las reservas energéticas del animal; el pardo participa en el balance de energía y en la activación de la termogénesis disipando la energía en forma de calor (Yen *et al.*, 2001, Bianco *et al.*, 2005; Cousin B. *et al.*, 1993). Los cerebros se extrajeron y congelaron a -70°C para análisis posterior.

El día del sacrificio se realizó un frotis vaginal para determinar la etapa del ciclo estral en el cual se encontraban las hembras.

Pruebas conductuales

Para analizar las conductas de depresión y ansiedad de las ratas se llevaron a cabo las pruebas conductuales, previamente utilizadas (E. Álvarez-Salas, 2006).

- Prueba de nado forzado

Esta prueba es conocida como el paradigma de Porsolt y es usada para predecir la eficacia de tratamientos antidepresivos (Porsolt *et al.*, 1977, Barros HM, 1998) y se realizó durante la semana 10 en el laboratorio de Farmacología Conductual (Dept. Neurociencias, INPRFM). La prueba consta de dos sesiones de nado: la pre-prueba y la prueba. En la primera se introduce al animal durante 15 minutos a un cilindro de vidrio, de 46 cm. de alto por 20 cm. de diámetro, que contenga agua (de entre 23 y 25 °C) hasta una altura de 30 cm. Veinticuatro horas después, se realiza la prueba con una duración de 5 minutos.

Las sesiones (pre y prueba) fueron video grabadas para su evaluación posterior. Esta evaluación se lleva a cabo por muestreo temporal, en el cual, cada 5 segundos se observa y registra el comportamiento de la rata durante la prueba. Los comportamientos se clasifican en: a) *inmovilidad* (refleja estado de depresión), la rata permanece flotando en el agua, sin tratar de salir del tanque y realizando únicamente los movimientos necesarios para mantener su cabeza a flote; b) *nado*, la rata presenta movimientos activos de nado, más allá de los necesarios para mantener su cabeza fuera del agua; c) *escalamiento*, la rata lleva a cabo movimientos activos con sus patas delanteras, fuera y dentro del agua, dirigidos hacia las paredes del cilindro (Detke *et al.*, 1995; B. Petit-Demouliere *et al.*, 2005; Álvarez Salas, 2006).

- Prueba de enterramiento defensivo

La prueba de enterramiento defensivo es un paradigma utilizado para identificar el papel ansiolítico de las drogas (Treit *et al.*, 1981). Como la prueba anterior, fue realizada en el laboratorio de Farmacología en el Departamento de Neurobiología del Instituto de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”. En éste se colocan a los animales, de forma individual, en una caja de plástico de 40x30x40 cm., cubierta con una capa de 5 cm. de aserrín molido en el fondo y que contiene un electrodo en una de las paredes de la caja situado a 2 cm. del material del fondo. Cuando la rata toca el electrodo recibe un breve choque de 0.3mA. (Treit *et al.*, 1981). En respuesta al choque, el animal entierra el electrodo empujando el aserrín con sus patas delanteras, con movimientos rápidos, tratando de tapar el electrodo (la conducta de enterramiento es una conducta natural de roedores ante elementos nocivos).

La prueba tiene una duración de 15 minutos y el comportamiento de cada rata es video grabado para su posterior evaluación. En la cual se registra: a) *latencia de enterramiento*, tiempo que tarda la rata en enterrar el electrodo. Con este parámetro se evalúa la reactividad del animal; b) *enterramiento*, que es el tiempo acumulado en el que la rata entierra el electrodo a lo largo de la prueba. Cuanto menor sea el tiempo de enterramiento, menor será la ansiedad que presente la rata (Treit *et al.*, 1981); y c) *choques recibidos*, que es el número de choques a los que es sometida la rata a lo largo de la prueba. (Treit *et al.*, 1981; Álvarez Salas, 2006). Esta prueba se realizó en la semana 14.

EXPERIMENTO 2

El experimento se llevó a cabo en el Bioterio del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Ratas Wistar machos (n=24) y hembras (n=24) de dos meses y medio de edad, se mantuvieron en cajas individuales, con ciclo regular de luz-oscuridad de 12+12 horas, a una temperatura constante de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Los primeros quince días se suministró a las ratas las mismas dietas que en el experimento anterior, con el fin de corroborar si las ratas de ambos bioterios se comportaban de igual manera a pesar de las diferencias en las condiciones ambientales. Las ratas fueron divididas en tres grupos, control, ISO y TCAL (eliminando el tercer grupo debido al comportamiento similar que presentó con el grupo TCAL en el experimento 1). Al observar que las ratas presentaban el mismo comportamiento, se las alimentó durante dos semanas más con una dieta basada en tortilla adicionada con harina de soya, de tal modo que durante ese tiempo, los animales se alimentaron con los nutrimentos necesarios (ver tabla 3) y se acostumbraron al sabor, olor y textura de la tortilla, ya que estos parámetros pueden cambiar el comportamiento alimenticio de la rata (Berridge, 2000; Macht y Dettmer, 2006). Al grupo control se suministró tortillas hechas a base de masa Maseca adicionada con harina de soya (relación 1:0.29) y L-triptófano (Sigma) (0.12 gr de Trp por cada 100gr de masa); al grupo ISO, la misma masa sin el triptófano adicional, en cantidades isocalóricas al control y, el grupo *ad libitum*, esta masa (sin Trp) al libre consumo.

A partir de la semana 5 y hasta la semana 13 del experimento (durante 9 semanas), los animales fueron divididos en cuatro grupos que recibieron las dietas experimentales calculadas para cubrir las cantidades de carbohidratos, lípidos, proteínas y lisina consumidas por las ratas ISO del experimento 1, dejando el triptófano variable entre las dietas (ver tabla 4 y 5).

La masa para las tortillas fue preparada en el laboratorio mezclando las cantidades (correspondientes a cada dieta) de Maseca, harina de soya (adquirida en tienda naturista) o amaranto (grano tostado sin azúcar; Vía Verde). El triptófano se disolvió en 100 ml de NaOH 0.1N y se incorporó al agua (Electropura). La masa con la textura adecuada se utilizó en la preparación de tortillas (aprox. 12 cm de diámetro) en cantidad suficiente para 3 días (mantenidas a 4°C). Todas las tortillas hechas en el laboratorio fueron pesadas para el cálculo adecuado de gramos consumidos y su equivalencia en Kcal.

Se cuantificó el consumo diario de alimento de los grupos del mismo modo que en el experimento 1.

Tabla 3: Información nutricional de la dieta administrada durante las semanas 3 y 4 a las ratas del experimento 2.

	Harina Maseca (100gr)	Harina de soya (29.32gr)	Total (en 100 kcal)
Kcal	369	104.37	
CHO	75.4 g	10.73 g	72.7%
Proteína	8 g	10 g	15.21%
Lípido	3.9 g	1.9 g	11.02%
Trp	32 mg	155.98 mg	41.5 mg
Lys	147 mg	777.85 mg	204.3 mg

Dietas experimentales

El grupo A consumió una dieta de tortilla preparada con masa Maseca y amaranto (relación 1:1) adicionada con Trp (0.31 g de Trp por cada kilo de Maseca), la cual contenía los requerimientos de nutrimentos mínimos para la manutención de las ratas (NCR, 1995). El grupo B consumió una dieta a base de tortilla preparada con harina Maseca y grano de amaranto (relación 1:1), que ofrecía las cantidades adecuadas de proteína y lisina pero era deficiente de Trp. La dieta C fue basada en Maseca adicionada con Trp (0.42g de Trp por cada kilo de Maseca) por lo cual su deficiencia era en la proteína, que cubría únicamente los requerimientos mínimos, y la dieta D fue a base de tortilla (Maseca) únicamente, deficiente en Trp y sólo ofrecía las concentraciones mínimas de proteína (ver tabla 4 y 5). Estas dos últimas dietas tenían una menor cantidad de lisina.

Tabla 4: Información nutricional de la dieta administrada a las ratas del segundo experimento.

	Harina Maseca (100gr)	Amaranto tostado (100gr)	Total (en 100 kcal)
Kcal	369	383	
CHO	75.4 g	66 g	75.21%
Proteína	8 g	14 g	11.7%
Lípido	3.9 g	7 g	13.04%
Trp	32 mg	51 mg	11.03 mg
Lys	147 mg	970 mg	148.53 mg

Tabla 5: Porcentaje de kcal aportada por los nutrimentos contenidos en cada dieta.

dieta	% CHOs	% proteínas	% lípidos	Triptófano (mg/100kcal)	Lisina (mg/100kcal)
A	75.2	11.7	13	20	148
B	75.2	11.7	13	11	148
C	81.7	8.6	9.5	20	39.8
D	81.7	8.6	9.5	8.6	39.8

Extracción y análisis de tejido

Las ratas fueron sacrificadas por decapitación al término del experimento (semana 13). La sangre troncal fue colectada para

medición en suero de corticosterona, triyodotironina (T₃), tiroxina (T₄), hormona estimulante de tirotropina (TSH), por radioinmunoensayo (RIA).

Al igual que en el experimento anterior, al sacrificar las ratas se recolectó la sangre de cada animal, se extrajo y pesó el tejido adiposo blanco y el tejido adiposo pardo interescapular, el tejido adiposo blanco epididimal, el tejido adiposo blanco abdominal y las glándulas adrenales (García Vázquez, 2006).

Se obtuvo el cerebro de las ratas y las adenos para un análisis posterior.

Se realizó un frotis vaginal ya que hay una relación entre la etapa del ciclo estral y la síntesis de serotonina (Joffe y Cohen, 1998; Del Ángel-Meza *et al.*, 2001) y se sacaron y pesaron los ovarios, pues se han reportado alterados por las cantidades de proteína en la dieta (Del Ángel-Meza *et al.*, 2001).

Pruebas conductuales

- Laberinto en cruz elevado (LCE)

La prueba del laberinto en cruz elevado (LCE) permite detectar el estado de ansiedad del animal (Hoog, 1996) y ha sido optimizada en el laboratorio (Mariana Gutiérrez Mariscal). Los animales son colocados en el centro de un laberinto en cruz de 70 cm. de alto, el cual tiene dos brazos con paredes (brazos cerrados) y dos brazos sin paredes (brazos abiertos). Las ratas permanecen en dicha cruz durante cinco minutos durante los cuales están libres de explorar el terreno.

La prueba se realizó en la semana 9 del experimento, entre las 10 y las 13 horas. Para la evaluación de las pruebas, el laberinto es dividido en tres zonas, la neutra, los brazos abiertos y los brazos cerrados (figura 4). El análisis de la prueba se realizó mediante el software SMART y los resultados son presentados en porcentaje. Durante los cinco minutos las ratas son videograbadas, para corroborar el análisis computacional.

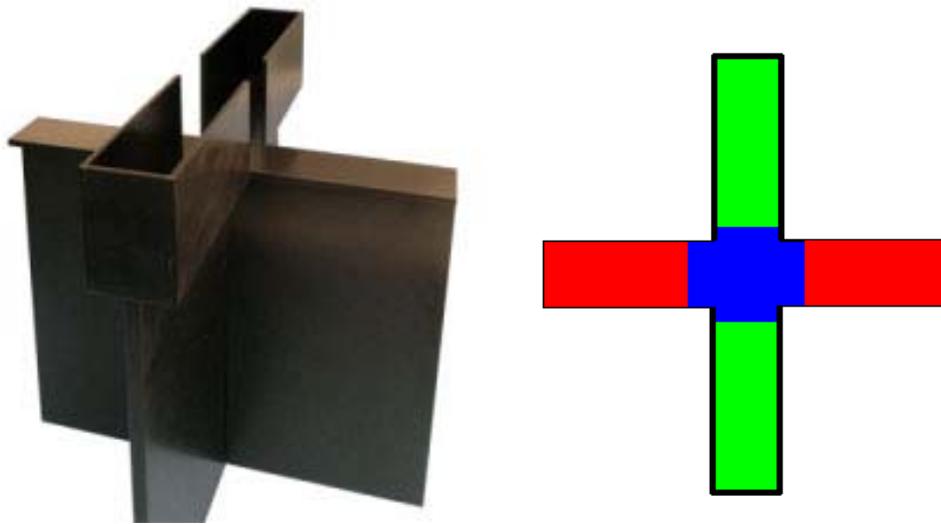


Fig4. LCE, a) fotografía del laberinto b) esquema de las zonas establecidas para la evaluación, de verde los brazos cerrados o también llamadas zona segura, en rojo los brazos abiertos y en azul la zona neutra.

- Ejercicio voluntario

Esta prueba se realizó en la semana 12, durante el ciclo activo de la rata, de siete de la noche a siete de la mañana. En este período la rata es colocada en una caja cúbica de acrílico (45 cm x 45 cm, con comida y agua) que contiene una rueda de 25 cm. de diámetro. Al momento de retirar a las ratas de la caja se anotó el número de vueltas que el animal dio durante la noche y se multiplicó por 0.254 para obtener la distancia recorrida en metros.

Análisis bioquímicos

La sangre troncal se dejó reposar durante 3h a temperatura ambiente y posteriormente se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos a 4 °C. Del suero obtenido, se prepararon alícuotas que se congelaron a -20° C para la posterior determinación de corticosterona, hormonas tiroideas y TSH , por la técnica de radioinmunoensayo (RIA) realizada con el QFB Miguel Cisneros.

- Radioinmunoensayo de corticosterona (CORT)

Se realizó una dilución 1:1000 de todos los sueros tomando 10 µl y 5 ml de buffer de RIA y se calentaron en un baño con agua a 98°C por 10 minutos. Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se tomaron 500 µl y se le adicionó: 100 µl de anticuerpo contra CORT previamente diluido a 1:1200 y 100 µl de 3H-Corticosterona (ICN Farmacéutica) equivalentes a 10000 cpm. Las muestras se agitaron y dejaron incubando a 4°C por 18-24 horas. Transcurrido dicho tiempo,

se tomaron los tubos exceptuando los cpm totales, y se les adicionó 200 μ l de Carbon-Dextran (ICN Farmacéutica), se agitaron e incubaron a 4 °C por 20 minutos. Posteriormente se centrifugaron a 980 x g por 15 minutos, el sobrenadante fue transferido a viales especiales para conteo de radiaciones β y se les adicionó a cada vial 4 ml de líquido de Centelleo, incluyendo a los tubos cpm totales. Se contaron las cpm en un contador β .

- Radioinmunoensayo de tirotropina (hormona estimulante de la tiroides, TSH)

Realizado mediante las técnicas usadas en el laboratorio, en la que se colocan en tubos 100 μ l de la muestra y se le adiciona 100 μ l de buffer RIA. A cada tubo se le agrega 100 μ l de anticuerpo (Ab) dilución 1:10000. A continuación se añade 100 μ l de I¹²⁵-TSH.

Se incuba por 48 horas a 4°C y se añade 1ml de etanol frío. Se centrifuga a 3000 rpm por 30 minutos. Se aspira el sobrenadante y se cuantifica en I¹²⁵ con el contador gamma.

- Radioinmunoensayo de tiroxina (T₄)

Mediante el kit comercial de radioinmunoensayo I¹²⁵ de fase sólida Coat-A-Count Total T4 DPC®/TKT41, se cuantificó la concentración de T₄; intervalo de calibración de 1 a 24 μ g/dl. El procedimiento fue de acuerdo a las instrucciones del kit.

- Radioinmunoensayo de triyodotironina (T₃)

La cuantificación de T₃ total en suero se llevó a cabo con el kit comercial de radioinmunoensayo I¹²⁵ de fase sólida Coat-A-Count Total T3 DPC®/TKT31], intervalo de calibración: 20 y 600 ng/dl.

Cálculo de concentraciones:

El contenido de las hormonas en sangre fue calculado a partir del valores en cpm de las curvas estándar y de las muestras problemas mediante el software "ENRI", que calcula la función logit-log con la fórmula $B=(cpm-NSB)/Bo$

- Determinación de triptófano (Trp) en suero por fluorometría

Hay dos formas de medir el triptófano que se encuentra en el plasma, una es el triptófano total y la otra es el triptófano libre; si embargo, sólo el triptófano libre tiene la propiedad de cruzar la barrera hemato-encefálica. El método se basa en transformar al Trp en un producto

muy fluorescente (Norharman) mediante una reacción de condensación con formaldehído en medio ácido (ácido tricloroacético). Dicho procedimiento fue optimizado por el QFB Miguel Cisneros Ramírez.

Las muestras de suero fueron tratadas por duplicado. En tubos de tapa con rosca, se colocan 50 μ l del suero, 50 μ l de agua, 2.9 ml de ácido tricloroacético al 10% y 100 μ l de formaldehído al 17.5%; se incubaron durante 20 minutos en baño de agua hirviendo. A los tubos se les adicionó 100 μ l de Peróxido de Hidrógeno al 5% y se incubaron nuevamente por 20 minutos. Se sacaron los tubos y se los dejó equilibrar a la temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos. De dicha centrifugación se obtuvo el sobrenadante, el cual se usó para leer la fluorescencia a 365 nm de activación (con valor de 15 para la longitud del paso óptico) y 440 nm de emisión (con 20 de longitud para el paso óptico). El fluorometro se calibró con una curva estándar preparada a partir de una solución de Trp que tenía 1nmol/ μ l, de la cual se tomaron diferentes volúmenes (0, 2.5, 5, 10, 25, 50 y 100 μ l) y se complementó a 100 μ l con agua.

Análisis de los resultados

Se aplicó un análisis estadístico de varianzas (ANOVA) seguido por la prueba Posthoc de Fisher; en algunos casos se realizó la prueba T de student. Se utilizó el paquete estadístico SuperANOVA® y el paquete StatView®. Los datos son representados como la media \pm error estándar.

Para normalizar los resultados, el consumo de los nutrimentos es presentado como gramos del nutrimento consumido al día por kilogramo de peso de la rata. En el caso del experimento 2 se muestran los resultados obtenidos a partir de la semana 5 cuando se inició la alimentación con las dietas experimentales.

RESULTADOS.

Experimento 1

- Consumo de alimentos

Las ratas tuvieron diferente comportamiento ante la comida disponible. Las ratas ISO consumieron toda la tortilla y el chow (30 % de las Kcal) que les fue administrado día a día. Los grupos TAL y TCAL disminuyeron el consumo de chow a lo largo de las quince semanas, incrementando el de la de tortilla.

Los machos del grupo ISO consumieron casi todo el alimento proporcionado ($78.99 \pm 1.46\%$ de tortilla y $21.00 \pm 1.46\%$ de chow); los del TAL se alimentaron con un $84.6 \pm 2.63\%$ de tortilla y $15.3 \pm 2.63\%$ de chow en promedio; los del grupo TCAL se alimentaron con $83.7 \pm 1.85\%$ de tortilla y $16.2 \pm 1.85\%$ de chow. [n = 6/grupo].

En las hembras, el consumo de tortilla es mayor ($p < 0.05$). En el grupo TAL el consumo de tortilla fue de $91.95 \pm 1.64\%$ y de chow fue de $8.9 \pm 1.64\%$. En las ratas del grupo TCAL, el consumo de tortillas fue de $94.50 \pm 1.73\%$ y de chow fue de $5.49 \pm 1.73\%$; las del grupo ISO consumieron $79.0 \pm 2.16\%$ de tortilla y $20.9\% \pm 2.16\%$ de chow. [n = 6/grupo]

- Consumo de energía

El aumento en el consumo de tortilla provocó un mayor consumo de kcal por Kg. de peso comparado al grupo chow.

Entre las ratas macho, hubo diferencia significativa en las ratas del grupo TAL y TCAL al compararlas con el control y las ISO. Mientras que el grupo control consumió un promedio de 195.4 ± 4.5 kcal/Kg/día y el grupo ISO 191.46 ± 2.70 , el grupo TAL, 204.45 ± 4.83 , y el TCAL, 200.5 ± 6.7 [ANOVA una vía: $F(3,371) = 28.1$ $p < 0.001$](Fig. 5).

Las hembras TAL y TCAL presentaron un mayor consumo (Fig. 5). Las del grupo control consumieron 193.92 ± 3.59 kcal/Kg/día, las ISO 193.81 ± 5.08 , las TAL 212.6 ± 9.2 y las TCAL, 209.7 ± 5.06 kcal/Kg/día [ANOVA una vía: $F(3,326) = 25.9$ $p < 0.001$].

Comparando machos y hembras se observa un incremento en el consumo de Kcal/Kg/día en los grupos TAL y TCAL de las hembras si bien, no llega a ser estadísticamente significativo.

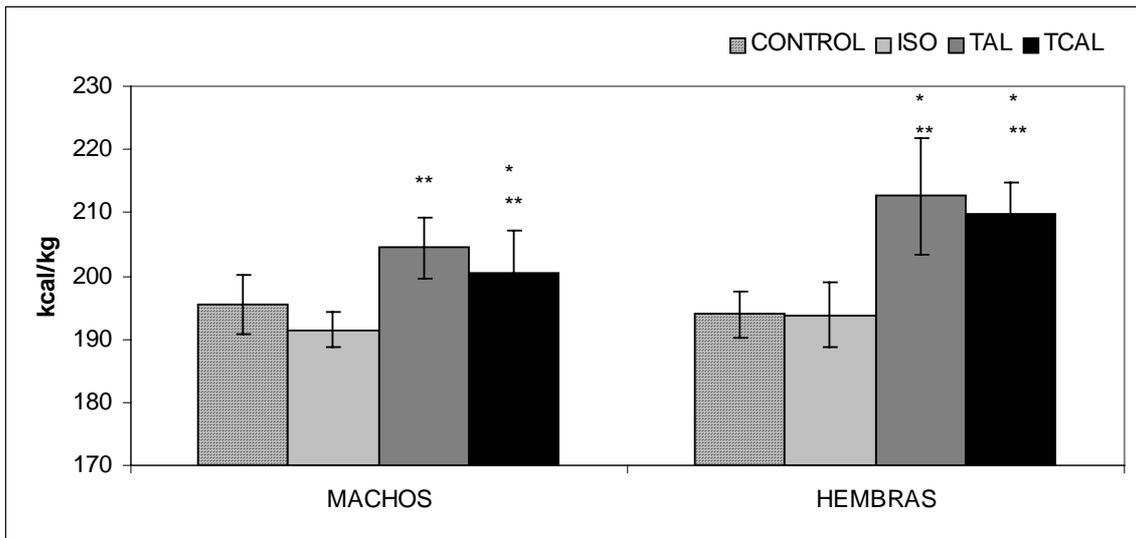


Fig. 5 Promedio del consumo diario de calorías por Kg. de peso en las ratas \pm el error estándar.

* $p < 0.05$ al compararlas con las control y ** $p < 0.001$ vs. las ISO. $n = 6$ ratas por grupo.

- Peso

En los machos se observa un aumento significativo ($p < 0.05$) en el peso del grupo TCAL que, en la última semana del experimento llegaron a pesar 499.44 ± 24 g; las ratas del grupo control registraron un peso máximo de 445 ± 7.6 gr, las ISO, 438.25 ± 13.6 , y las TAL 412 ± 27.5 g en la misma semana (Fig. 6).

En las ratas hembras, el cambio se presentó tanto en las ratas TAL como en las TCAL, llegando a pesar en la semana 15 hasta 279 ± 6.3 y 273 ± 12.2 g respectivamente, contra los controles (258.7 ± 5 g) y las ISO (244.9 ± 5.6 g) (Fig. 7).

Las ratas machos mostraron un mayor peso que las ratas hembras día [ANOVA una vía: $F(1,4285081) = 4341$ $p < 0.001$].

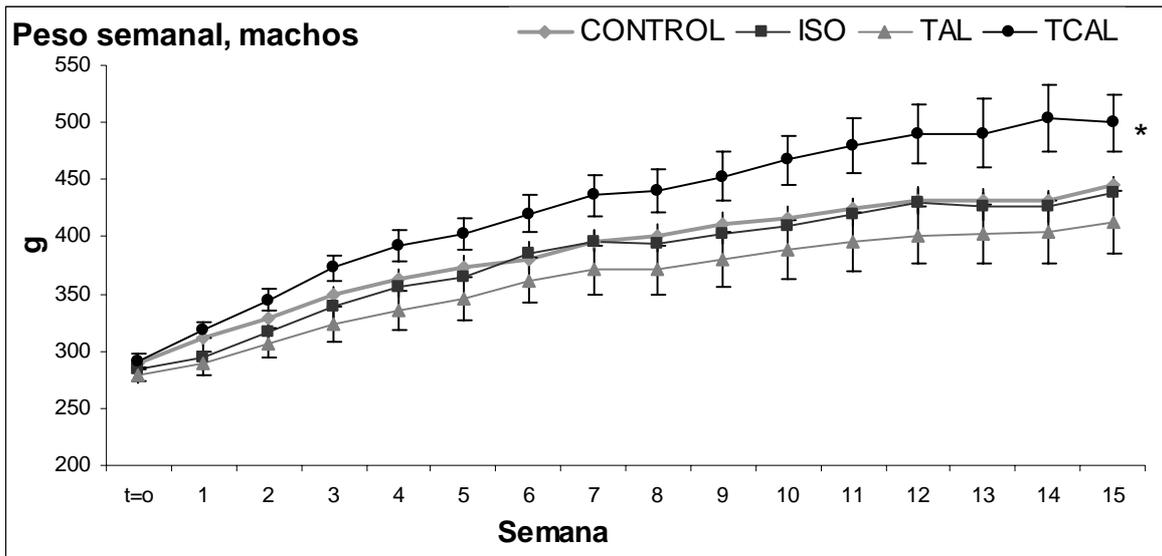


Fig. 6 Peso semanal de las ratas machos, donde se muestra el promedio \pm el error estándar. [ANOVA una vía: $F(3,122239)=41.2$ $p<0.001$].

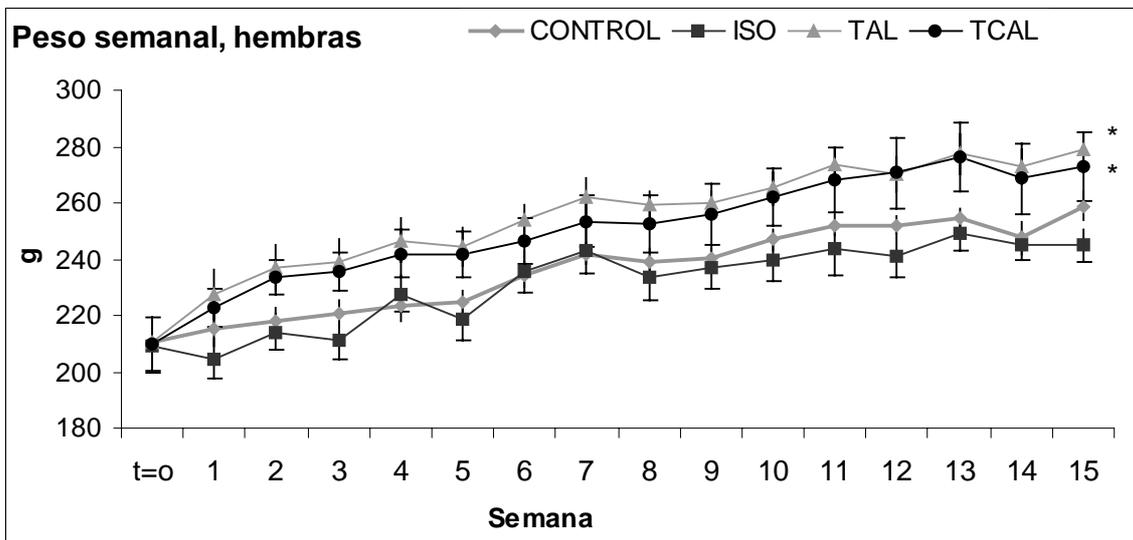


Fig. 7 Peso semanal de las ratas hembras. Se gráfica el promedio del peso \pm el error estándar, donde el n de cada grupo es igual a 6. [ANOVA una vía: $F(3,144764)=48.8$ $p<0.001$].

- Ganancia de peso

Hay diferencia entre la ganancia de peso de las ratas machos y las hembras ($p<0.001$) [ANOVA una vía: $F(3,144764)=48.8$ $p<0.001$].

Los machos TCAL presentan un aumento significativo ($p < 0.05$) en la desde la primer semana comparado con el control; la cual fue acentuándose con el transcurrir del experimento, llegando a ser de hasta 208.55 ± 23.6 g en la semana 15 ($C=157.1 \pm 11.6$ g); los otros grupos no presentan diferencias (Fig. 8).

Las hembras tienen un cambio en la ganancia de peso tanto en las ratas del grupo TAL como en las TCAL ($p < 0.05$) a partir de la primer semana mientras que el grupo ISO tiene una pequeña pérdida de peso (Fig.9). En el grupo TAL, la ganancia de peso llega a ser de 68 ± 6.6 g en la semana 15 y en el grupo TCAL, de 63.15 ± 11.6 g comparado a 48.1 ± 5 g en el control.

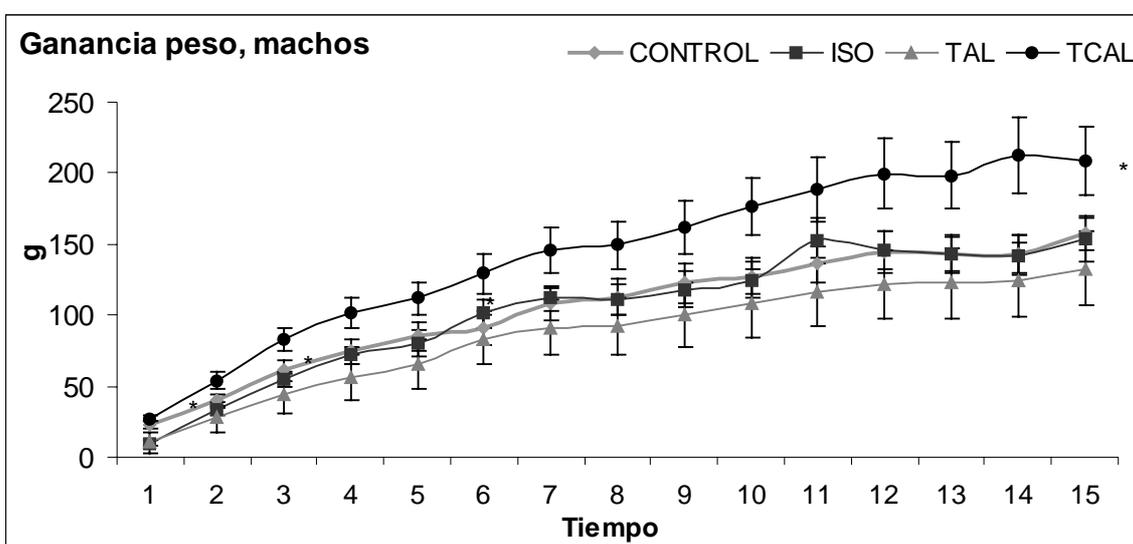


Fig. 8 Ganancia de peso de los machos por semanas, se gráfica el promedio \pm el error estándar. La muestra es igual a 6 ratas por grupo. * $p < 0.05$ resultado de prueba T de Student.

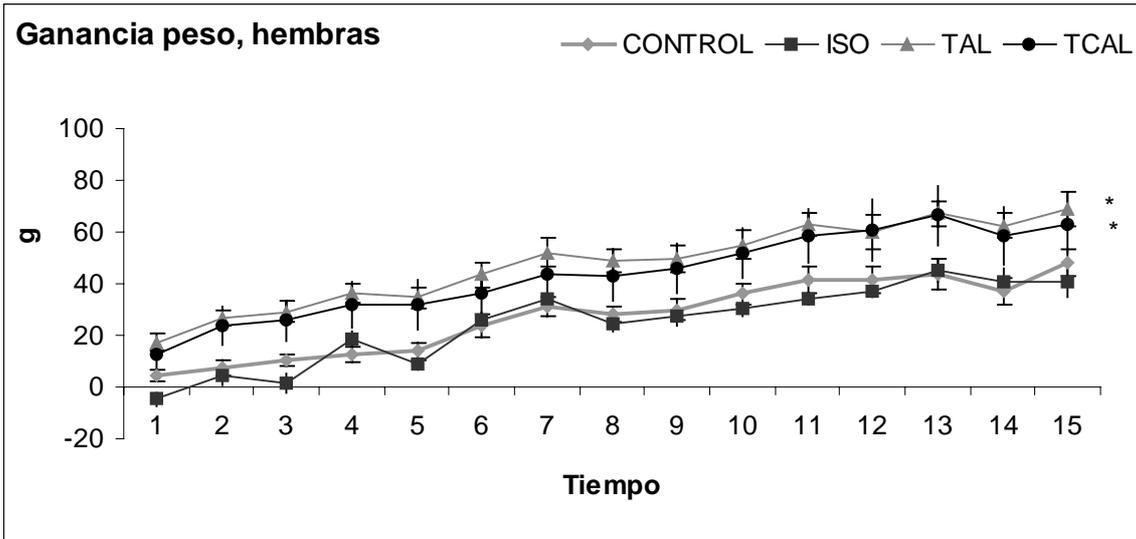


Fig.9 Ganancia de peso de las ratas hembras por semana. se gráfica el promedio \pm el error estándar. La muestra es igual a 6 ratas por grupo. * $p < 0.05$ resultado de prueba T de Student

- Peso tejido adiposo blanco

En las ratas machos y en las hembras se observa un aumento en el peso del tejido blanco epididimal/ovárcio en las ratas ISO, TAL y TCAL al compararlas con las control (Fig. 10).

- Peso tejido adiposo pardo interescapular

Sólo el grupo ISO de los machos tuvo diferencia significativa ($p < 0.05$) en el peso del tejido pardo, si bien se observa una tendencia al aumento en TAL y TCAL (Fig. 11).

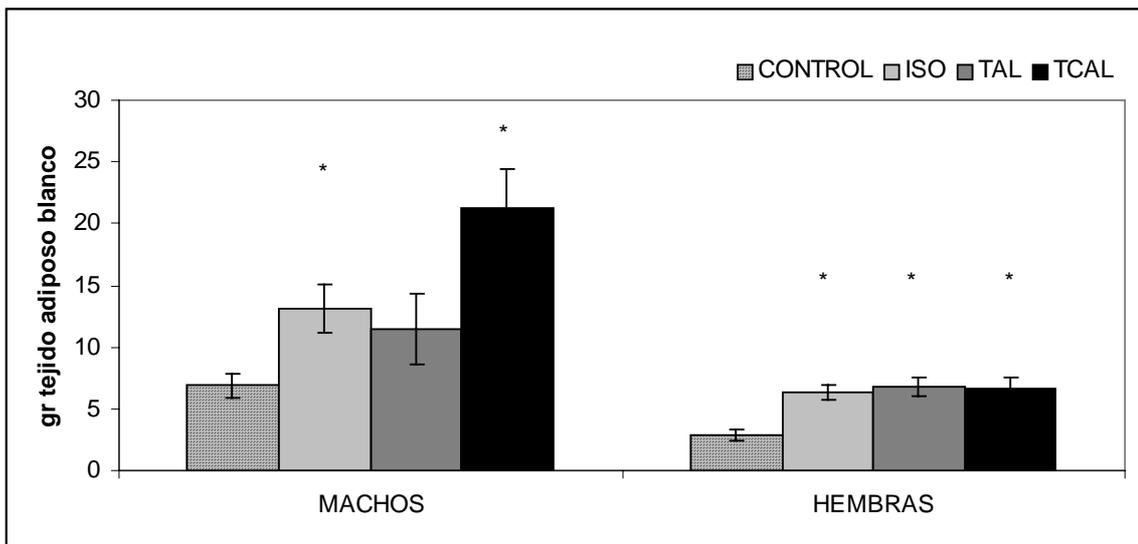


Fig. 10 Peso de los tejidos adiposos blancos. Se grafican los promedios \pm el error estándar . * $p < 0.05$ vs. control como resultado de un aprueba T de Student.

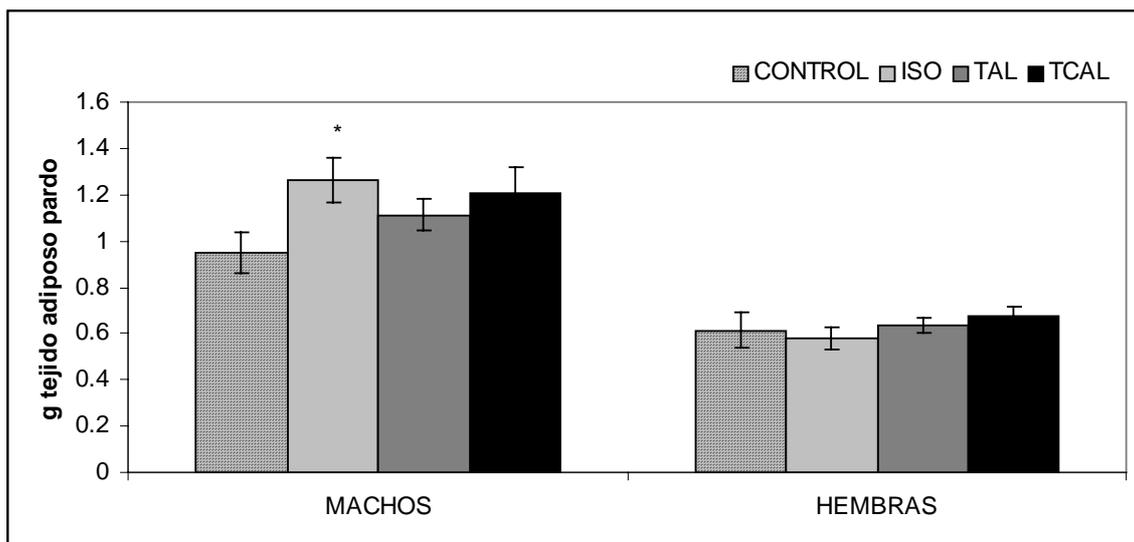


Fig. 11 Peso de los tejidos adiposos pardos. * $p < 0.05$ vs. control. Se grafican los promedios \pm el error estándar. * $p < 0.05$ vs. control como resultado de un prueba T de Student

- Consumo de Carbohidratos

Debido a la alta cantidad de carbohidratos en las tortillas, los grupos ISO, TAL y TCAL de ambos géneros presentaron un aumento significativo en el consumo de macro nutrientes (Fig. 12).

Los machos control consumieron un promedio de 32.15 ± 0.75 gCHO/Kg/día a lo largo del experimento, mientras que las ratas ISO tuvieron una ingesta promedio de 35.10 ± 0.49 , las TAL de 37.85 ± 0.9 y las TCAL, 37.06 ± 1.4 gCHO/Kg/día [ANOVA una vía: $F(3,356) = 52.9$ $p < 0.001$].

Las hembras control consumieron 31.8 ± 0.59 gCHO/Kg/día, las ISO, 35.66 ± 0.93 , las TAL 39.8 ± 1.79 y las TCAL 39.4 ± 0.99 [ANOVA una vía: $F(3,357) = 71.9$ $p < 0.001$].

Los grupos TAL y TCAL de ambos géneros consumen más carbohidratos siendo significativa ($p < 0.001$) la diferencia entre géneros.

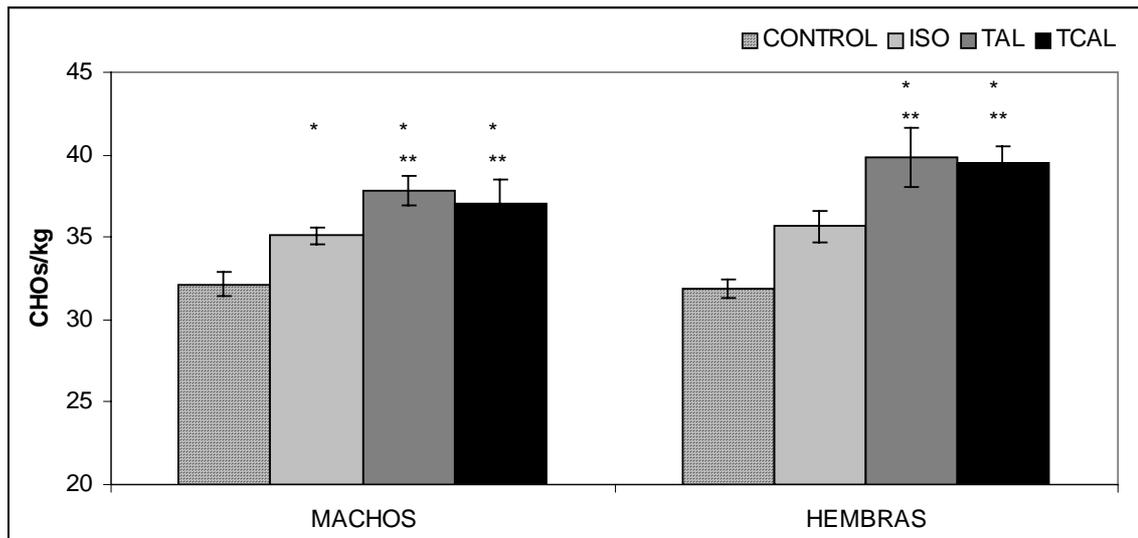


Fig. 12 Promedio del consumo diario de carbohidratos por kg de peso. Se gráfica las medias \pm el error estándar. A partir de las ANOVAS, * $p < 0.001$ al compararla contra control y ** $p < 0.001$ al compararla contra ISO

- Consumo de lípidos

El consumo de lípidos por Kg. de peso por día tuvo el mismo comportamiento que el del consumo de proteínas. Así, a mayor consumo de tortilla, menor consumo de lípidos (Fig. 13).

Las ratas control macho ingirieron un promedio de 6.34 ± 0.19 g lípido/Kg/día, mientras que las ratas de los grupos ISO, TAL y TCAL consumieron 2.77 ± 0.06 , 2.60 ± 0.13 y 2.89 ± 0.22 respectivamente [ANOVA una vía: $F(3,371) = 383.8$ $p < 0.001$] (Fig. 13).

Las ratas control hembras consumieron 6.37 ± 0.11 lípido/Kg/día, las ratas ISO, 2.8 ± 0.10 y las TAL y TCAL, 2.28 ± 0.15 y 2.01 ± 0.04 , respectivamente [ANOVA una vía: $F(3,341) = 1149$ $p < 0.001$] (Fig. 14).

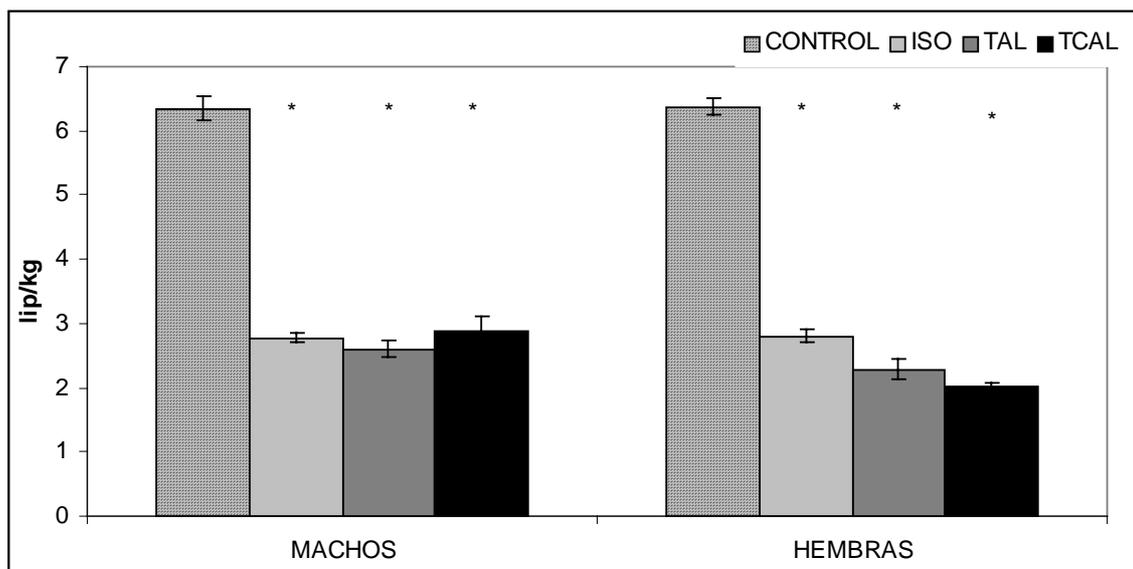


Fig. 13 Promedio del consumo diario de lípidos por Kg. de peso. Se gráfica medias \pm error estándar. A partir de ANOVA, * $p < 0.001$ al compararlas con las control.

- Consumo de proteína

El consumo de proteínas fue inversamente proporcional al consumo de tortilla

En los machos, las ratas control consumieron un promedio de 15 ± 0.35 g proteínas/Kg de peso/día, mientras que los demás grupos consumieron 7.1 ± 0.35 las TAL y 7.6 ± 0.11 las TCAL (Fig.14) [ANOVA una vía: $F(3,371)=709.5$ $p < 0.001$].

Las hembras control consumieron 14.9 ± 0.27 g proteínas/Kg/día, las ratas ISO, 7.43 ± 0.24 , y las ratas TAL y TCAL, 6.5 ± 0.35 y 5.9 ± 0.11 respectivamente [ANOVA una vía: $F(3,341)=807.8$ $p < 0.001$] (Fig.14).

- Consumo de lisina

El consumo de lisina fue proporcional al consumo del tipo de proteína. Hay una diferencia marginal ($p < 0.058$) entre lo consumido por los machos y las hembras del grupo TCAL.

Los machos presentan una disminución en el consumo del nutrimento en los grupos ISO (0.4 ± 0.009 g Lys/Kg de peso/día), TAL (0.37 ± 0.019) y TCAL (0.39 ± 0.030) al compáralos con el control (0.91 ± 0.021). También se observa un decremento al comparar lo consumido por las ISO y las TAL [ANOVA una vía: $F(3,371)=819.4$ $p < 0.001$] (Fig. 15).

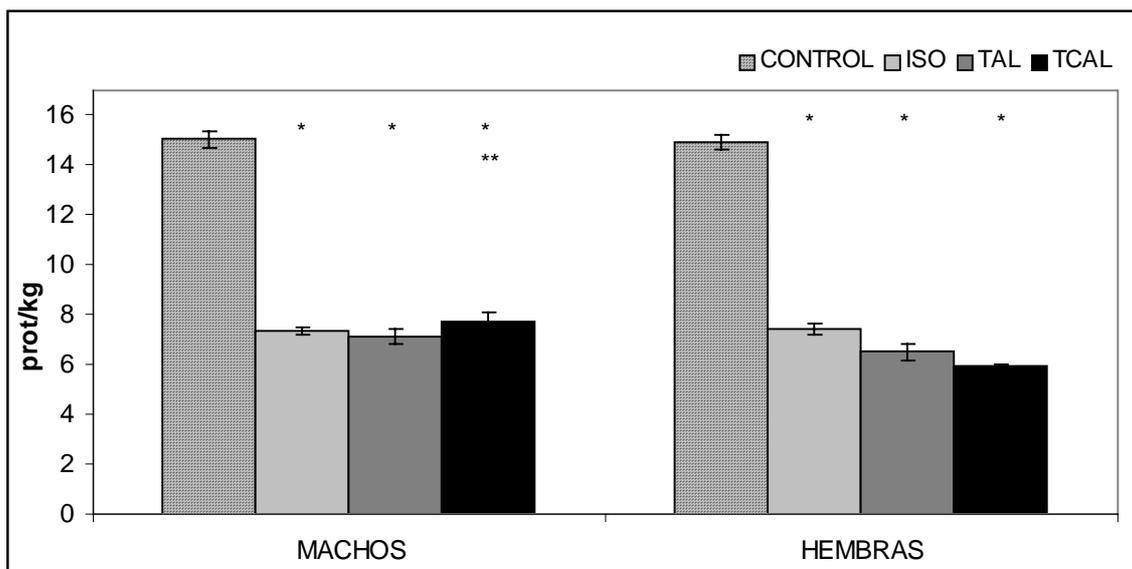


Fig. 14 Promedio del consumo diario de proteínas por Kg. de peso. Se gráfica medias \pm error estándar. A partir de ANOVA, * $p < 0.001$ al compararla contra la control y ** $p < 0.001$ al compararla con TAL.

Las hembras mostraron un decremento en las ratas ISO (0.40 ± 0.014 g Lys/Kg de peso/día), TAL (0.33 ± 0.021) y TCAL (0.29 ± 0.006), al compararlas con el control (0.90 ± 0.016) [ANOVA una vía: $F(3,371) = 1054.9$ $p < 0.001$] (Fig. 15).

- Consumo de triptófano

Debido a la baja ingesta de proteínas y la alta deficiencia de triptófano en el maíz, hubo un decremento considerable en el consumo diario de g de Trp por Kg de peso. Entre los géneros, la cantidad de triptófano ingerido tiene una diferencia marginalmente significativa ($p < 0.06$).

Las ratas macho presentan un decremento significativo en el consumo de Trp en los grupos ISO (0.082 ± 0.001 g Trp/Kg peso/día), TAL (0.077 ± 0.003) y TCAL (0.085 ± 0.006) en comparación con el grupo control (0.18 ± 0.004). Así como una diferencia ($p < 0.05$) del grupo TAL al compararlo con el grupo ISO y el grupo TAL con el TCAL [ANOVA una vía: $F(3,371) = 819$ $p < 0.001$] (Fig. 16).

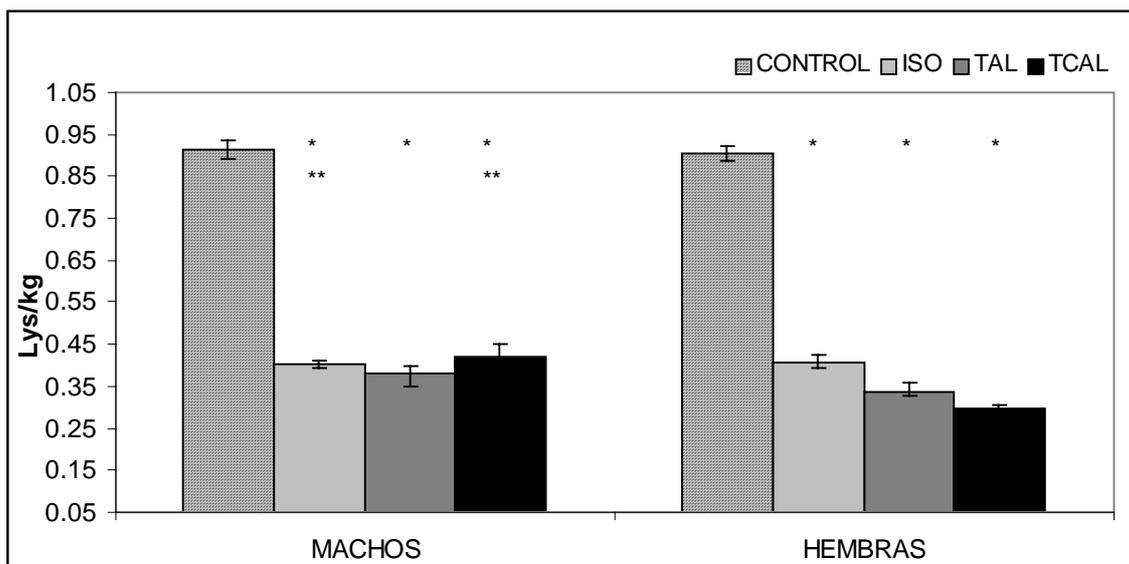


Fig. 15 Promedio del consumo diario de lisina por Kg. de peso. Se gráfica medias \pm error estándar. A partir de ANOVA, * $p < 0.05$ vs. control. ** $p < 0.001$ vs. TAL.

Del mismo modo, las hembras presentan un mayor decremento en el consumo de Trp conforme al consumo de tortilla. Así, los grupos ISO (0.083 ± 0.003 g Trp/Kg peso/día), TAL (0.068 ± 0.004) y TCAL (0.068 ± 0.0013), disminuyeron ($p < 0.001$) su consumo de Trp al compararlo contra el control (0.18 ± 0.003). Las ratas del grupo TAL se ve disminuido al compararlo con el grupo ISO y el TCAL se ve aún menor que los dos grupos anteriores [ANOVA una vía: $F(3,356) = 1137.6$ $p < 0.001$]. (Fig. 16).

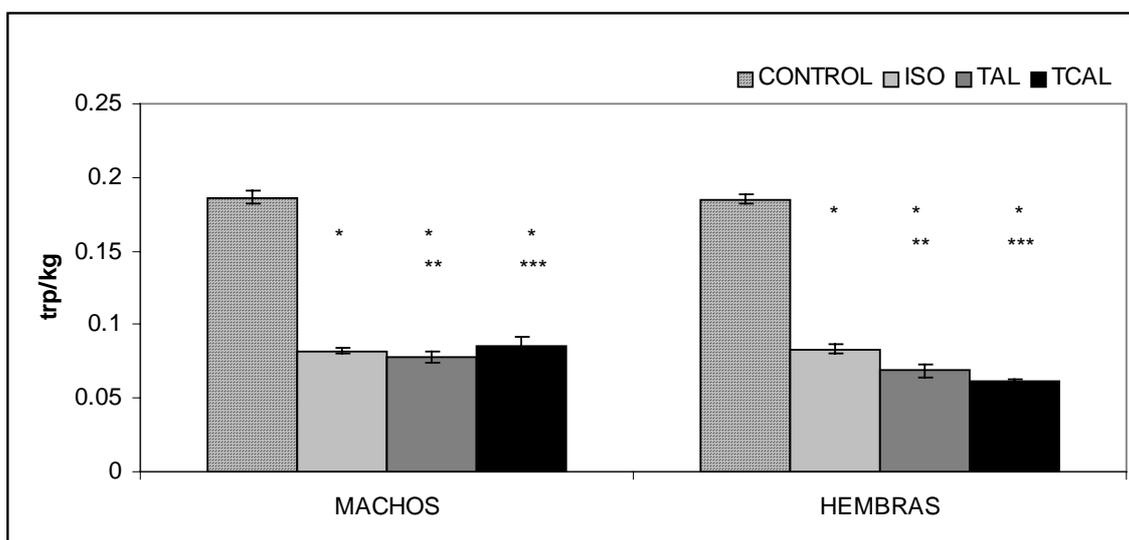


Fig. 16 Promedio del consumo diario de triptófano por kilogramo de peso. Se gráfica medias \pm error estándar. A partir de ANOVA, * $p < 0.001$ en comparación al control. ** $p < 0.001$ vs. ISO y *** $p < 0.001$ vs. TAL.

- Relación de CHOs:Trp consumido por Kg. de peso

Debido a la disminución en el triptófano consumido por Kg. de peso en las ratas ISO, TAL y TCAL, la relación de carbohidratos ingeridos vs. triptófano por Kg de peso/día aumentó en dichos grupos en relación al control.

En las ratas machos, los grupos ISO (422.8 ± 8.07), TAL (475.6 ± 21.7) y TCAL (471.9 ± 45.3) presentan un aumento en la relación al compararlas con las ratas control (172.4 ± 0.0000009) [ANOVA una vía: $F(3,20)=28.3$ $p < 0.001$] (Fig. 17).

En las ratas hembras, se observó el mismo incremento en el grupo ISO. Sin embargo, es mayor en las ratas TAL (590.1 ± 38.4) y TCAL (649.3 ± 17.7) al compararlas con las ratas ISO (427.9 ± 6.3). Las control tuvieron un promedio de 172.4 ± 0 [ANOVA una vía: $F(3,20)=105.8$ $p < 0.001$] (Fig. 17).

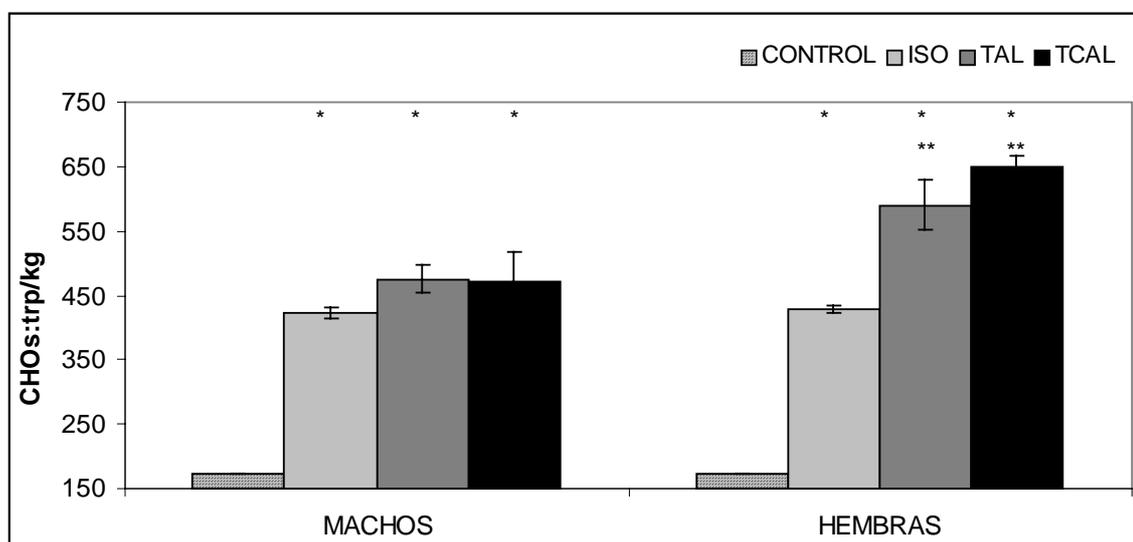


Fig. 17 Relación del consumo diario de CHOs: Trp por Kg. de peso. Se gráfica medias \pm error estándar. A partir de ANOVA, * $p < 0.001$ vs. control y ** $p < 0.001$ vs. ISO

- Triptófano sérico

Tanto en machos como en hembras, se observa sólo una tendencia a la disminución en los niveles de triptófano de las ratas macho TCAL y las hembras TAL y TCAL (Fig. 18)

Efecto de la dieta en el estrés

Para analizar el efecto de la dieta baja en proteínas y alta en carbohidratos sobre el estrés, se midió la corticosterona sérica y se pesaron las glándulas adrenales.

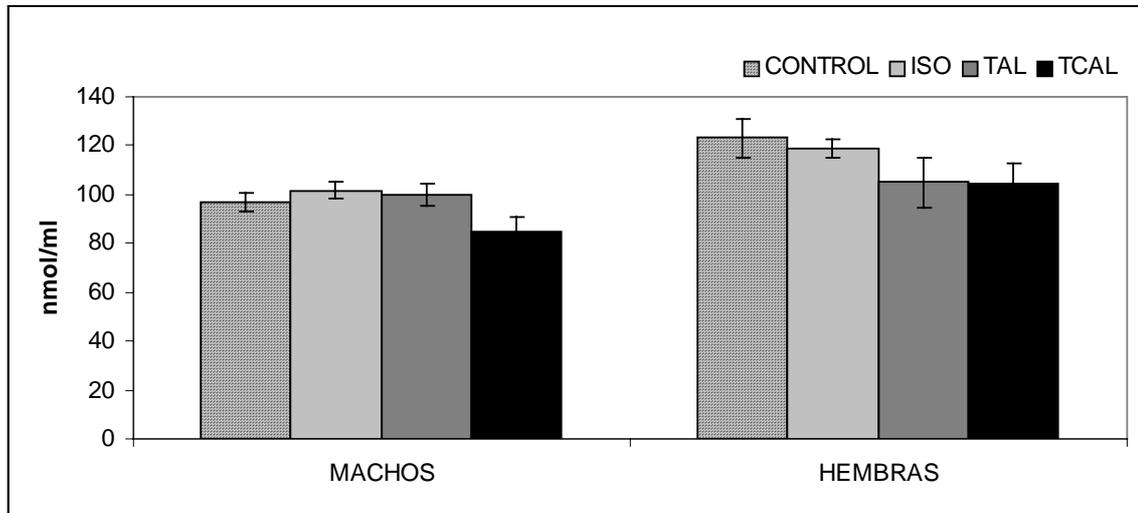


Fig. 18 Concentraciones de triptófano en suero de las ratas. Se gráfica medias \pm error estándar. A partir de ANOVA no se observa diferencia significativa entre los grupos.

- Corticosterona sérica

En las ratas macho se observa una tendencia a disminuir las concentraciones de CORT sérica en las ratas TAL (470.8 ± 72.3) y TCAL (372.3 ± 80.1) al compararlas con las ratas control (554.3 ± 77.9) e ISO (559.4 ± 107.8), pero no llega a ser significativo [ANOVA una vía: $F(3,20)=1.71$ $p < 0.001$] (Fig.19) (tabla 2).

En las hembras, las concentraciones de CORT sérica disminuyó en las ratas del grupo ISO (902.8 ± 129.6), TAL (815.8 ± 147.17) y TCAL (951.2 ± 194.02) al compararlas con las control (1472.33 ± 72.9) [ANOVA una vía: $F(3,21)=2.1$ $p < 0.001$] (Fig. 19) (Tabla 2).

También se observa diferencia en las cantidades de CORT sérica entre géneros ($p < 0.05$).

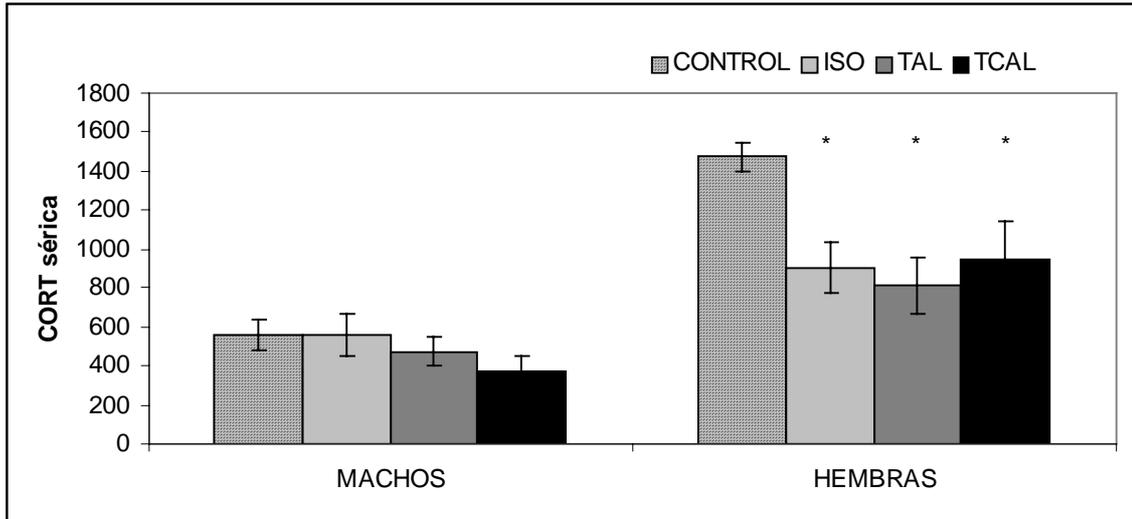


Fig. 19 Corticosterona sérica (ng/ml) encontrada en las ratas. Se gráfica medias \pm error estándar. A partir de ANOVA, * $p < 0.05$ vs. control.

- Peso de las glándulas adrenales

No se observa diferencia en el peso de las glándulas adrenales en los machos de los diferentes grupos (Fig. 20). En las ratas hembras, se observa un aumento en el peso de las glándulas adrenales izquierdas en las ratas TAL y TCAL, al compararlas con las control (Fig. 20).

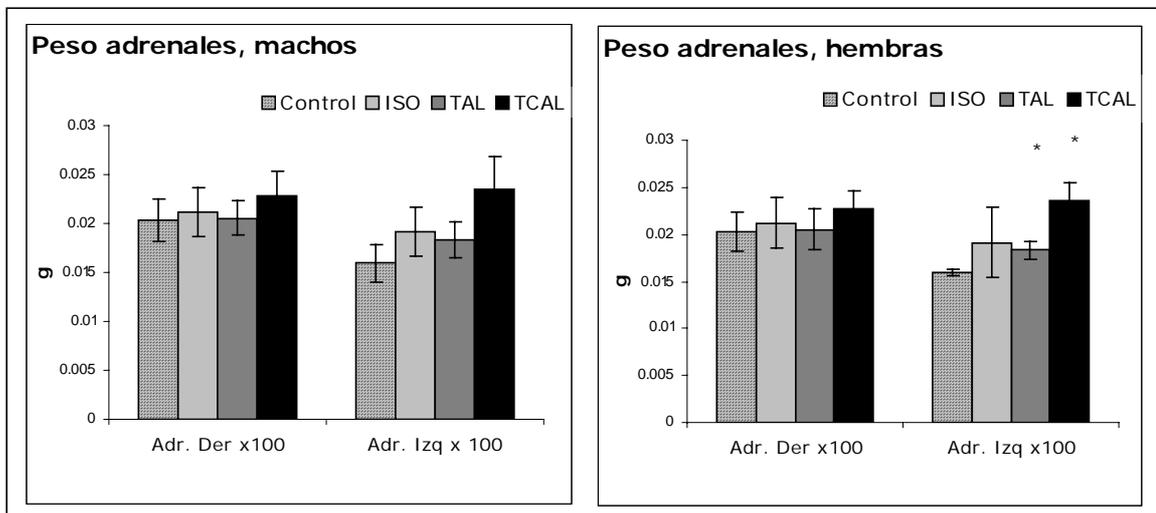


Fig. 20 Peso de las glándulas adrenales. A partir de prueba T de Student, * $p < 0.05$ vs el control.

- Hormona estimulante de tiroides (TSH) sérica

La hormona TSH, al igual que las hormonas tiroideas (TH), fueron cuantificadas como indicador del efecto de la dieta en la tasa metabólica.

No se observó diferencia significativa en las concentraciones de la hormona TSH sérica de las hembras o de las macho [ANOVA una vía: $F(3,21)=1.6$ $p<0.001$] (tabla 4).

- Triyodotironina (T_3) sérica

Las concentraciones de T_3 sérica aumentaron en las ratas machos del grupo TAL al compararlas con el control. También, en las ratas hembras TAL y TCAL al compararlas contra las ratas control [ANOVA una vía: $F(3,21)=1.7$ $p<0.001$] (Fig. 21) (Tabla 4).

- Tiroxina (T_4) sérica

En los machos, la concentración de T_4 sérica disminuye en los grupos con acceso a tortilla (ISO, TAL, TCAL) (Fig.22) (tabla 4).

En las hembras del grupo TAL, se observa un gran decremento en las concentraciones de T_4 sérica [ANOVA una vía: $F(3,21)=1.5$ $p<0.001$] (Fig. 22) (Tabla 4).

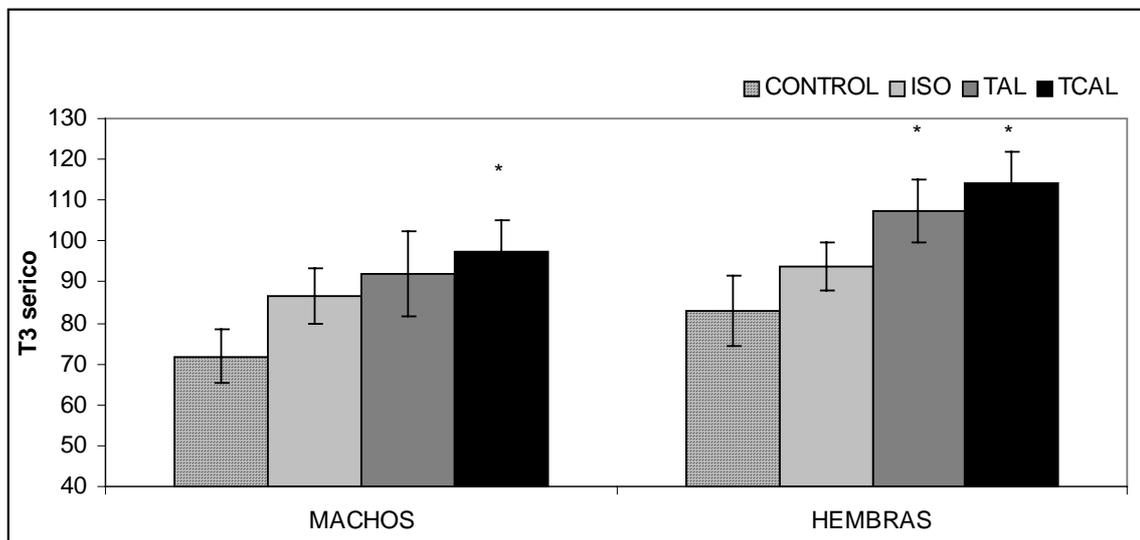


Fig. 21 Concentraciones de T_3 sérica en las ratas. Se gráfica medias \pm error estándar. A partir de ANOVA * $p<0.05$ vs. control las concentraciones están expresadas en ng/dl.

Tabla 4. Concentraciones de hormonas séricas encontrada en las ratas * maca las diferencias encontradas significativas ($p<0.05$) al compararlas con las control.

	Machos
--	--------

	CONTROL	ISO	TAL	TCAL
CORT (ng/ml)	554.3±77.9	559.4±107.8	470.8±72.3	372.3±80.1
TSH (ng/ml)	3.8±0.94	2.68±0.36	2.66±0.26	3.4±0.26
T ₃ (ng/dl)	71.8±6.5	86.6±6.89	91.94±10.4*	97.36±7.82
T ₄ (µg/ml)	2.4±0.31	1.7±0.11*	1.7±0.22*	1.8±0.27*
Hembras				
	CONTROL	ISO	TAL	TCAL
CORT (ng/ml)	1472.33±72.9	902.8±129.6*	815.8±147.1*	951.2±194.02*
TSH (ng/ml)	1.84±0.15	2.03±0.38	2.15±0.36	2.35±0.30
T ₃ (ng/dl)	82.88±8.4	93.6±5.8	107.17±7.69*	114±7.64*
T ₄ (µg/ml)	1.44±0.19	1.09±0.09*	0.49±0.10*	1.14±0.2

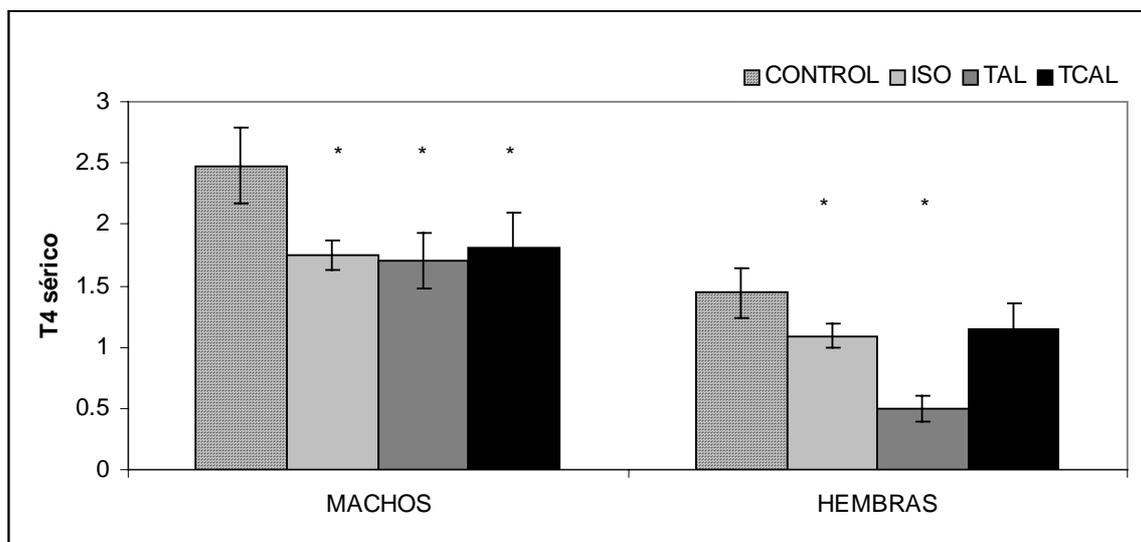


Fig. 22 Concentraciones de T₄ sérica. Se gráfica medias ± error estándar. A partir de ANOVA *p<0.05 vs. control. La concentración está expresadas en µg/ml

Pruebas conductuales

- Prueba de nado forzado

Al analizarlas con la prueba ANOVA no hubo cambios significativos en comportamiento de inmovilidad de los machos [ANOVA una vía: $F(3,420)=6$ $p=0.0042$] y sí, en la conducta de escalamiento de las ratas del grupo TAL contra el control [ANOVA una vía: $F(3,109.7)=0.67$ $p=0.164$] así como en el comportamiento de nado que disminuyó en TCAL y TAL al comparar contra el control y, en menor grado, contra ISO [ANOVA una vía: $F(3,270)=4.6$ $p=0.01$] (Fig. 23).

Las hembras no presentaron cambios en la conducta de escalamiento [ANOVA una vía: $F(3,109.7)=0.67$ $p=0.164$]; el grupo TAL nadó más tiempo que los demás grupos [ANOVA una vía: $F(3,270)=4.6$ $p=0.01$] y éste junto con TCAL estuvieron menos inmóviles [ANOVA una vía: $F(3,420)=6$ $p=0.0042$] (Fig. 23).

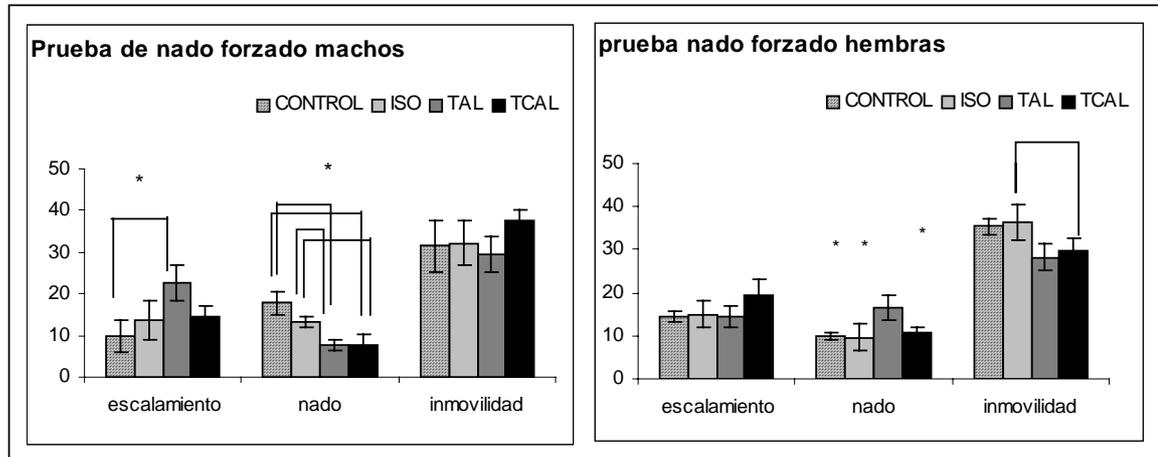


Fig. 23 Resultados de la prueba de nado forzado. En el eje de las ordenadas se muestra el número de conductas desplegadas en 5 min. Se grafica la media \pm el error estándar. En los machos se observa una diferencia significativa $p < 0.05$ en el comportamiento de escalamiento entre el grupo TAL y el CONTROL, así como en la conducta de nado ($p < 0.05$) entre los grupos TAL y TCAL vs el CONTROL y esos dos grupos vs. el ISO. En las hembras se observa diferencia significativa ($p < 0.05$) en el comportamiento de nado en los grupos CONTROL, ISO y TCAL al compararlas contra el grupo TAL; y en la conducta de inmovilidad hay diferencia ($p < 0.05$) entre los grupos ISO y TCAL.

- Prueba de enterramiento defensivo

En esta prueba sólo se presentan cambios en el comportamiento de enterramiento, tanto de machos [ANOVA una vía: $F(3,7.4)=1.7$ $p=0.039$] como de hembras [ANOVA una vía: $F(3,6)=1.7$ $p=0.039$], en el grupo TCAL al compararlo contra el control (Fig.24).

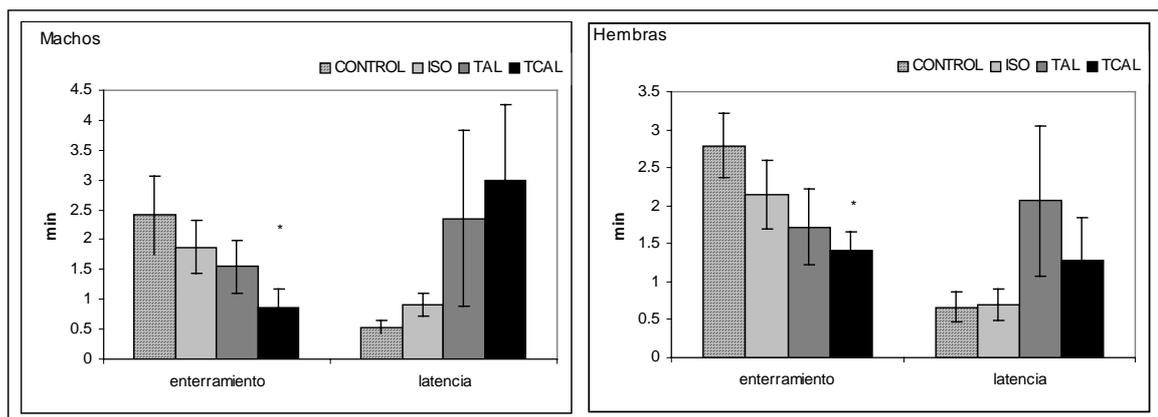


Fig. 24 Resultados prueba enterramiento defensivo..A partir de ANOVA $*p < 0.001$ vs el CONTROL.

Experimento 2

Durante las primeras 4 semanas se administraron dos diferentes dietas (2 semanas cada una) para acondicionar a las ratas. En los primeros quince días, las ratas recibieron la misma dieta administrada en el experimento anterior (grupo control, ISO y TCAL). Los siguientes quince días, el grupo control recibió una dieta basada en tortillas preparadas con masa Maseca y harina de soya suplementada con triptófano; tortillas preparadas sin triptófano fueron suministradas al grupo ISO (en cantidad isocalórica al control) y al TCAL (*ad libitum*).

A partir de la 5ª semana todos los grupos fueron alimentados con las tortillas preparadas a partir de la masa de maíz y amaranto (A y B) ó maíz solo; las dietas de los grupos A y C fueron adicionadas con triptófano.

PERÍODO DE ACONDICIONAMIENTO

- Consumo energía

Durante las primeras dos semanas, tanto en machos como en hembras, se observó el mismo comportamiento que en el experimento 1: el grupo administrado con 30% de chow y tortilla *ad libitum* consumió un exceso de Kcal/Kg de peso/día (Fig. 25 y 26, semanas 1 y 2). Al cambiar a todos los grupos a tortillas preparadas con masa de maíz y harina de soya (semanas 3 y 4) los grupos que tenían tortilla *ad libitum* disminuyeron su ingesta igualando a los grupos control e ISO (Figs. 25 y 26).

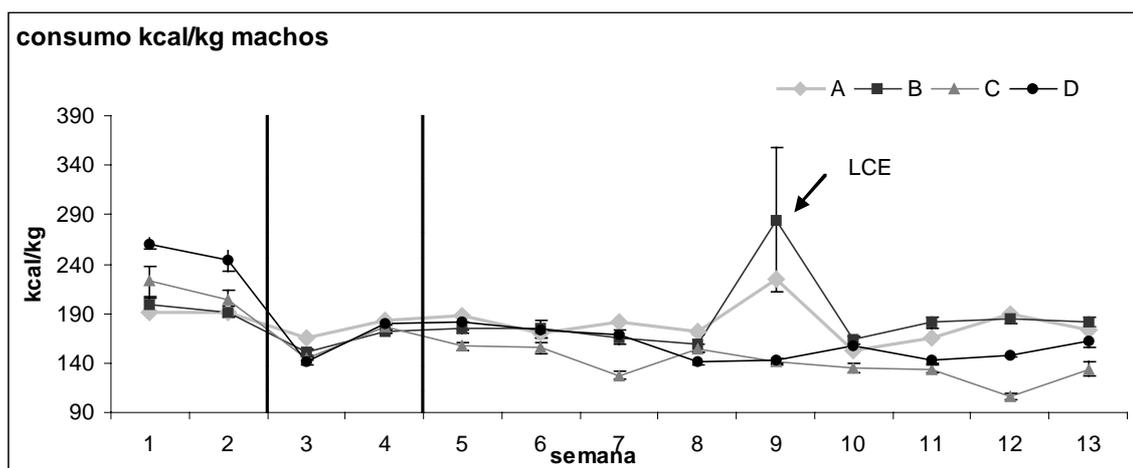


Fig. 25 Promedio semanal del consumo diario de Kcal por Kg. de peso de las ratas macho. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. Solo se observa una diferencia ($p < 0.05$) en las ratas A y B en la semana 9, en la cual se aplicó el EPM. Se gráficaron las medias \pm error estándar.

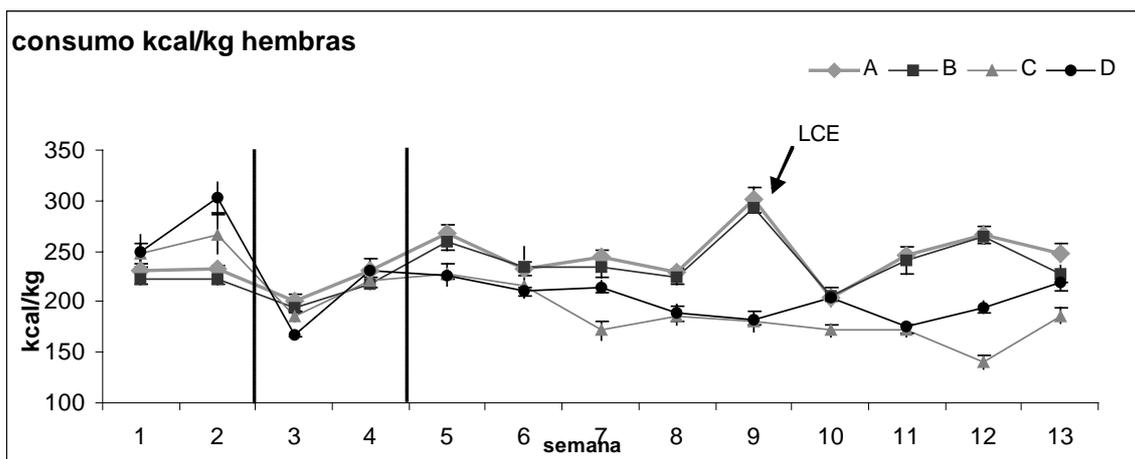


Fig. 26 Promedio semanal del consumo diario de kcal por Kg. de peso de las ratas hembras. En las semanas 5, 8, 9, 11 y 12 hay diferencia ($p < 0.05$) en los grupos A y B al compararlos con los grupos C y D. En la semana 7, 10, 12 y 13 hay una disminución en el consumo de kcal/kg de peso de las ratas del grupo C al compararlas con los demás grupos. Cabe señalar que en la semana 9 fue aplicada la prueba EPM y el consumo de kcal de las ratas A y B se ve muy aumentado ($p < 0.05$). Se gráficán las medias \pm error estándar

- Peso

El aumento en el consumo observado en el grupo *ad libitum*, durante las primeras dos semanas del experimento, se vio reflejado en un incremento de peso en las hembras (Fig. 28).

Al cambiar a tortillas preparadas con masa de maíz y harina de soya adicionadas con Trp, el aumento en peso fue similar en los grupos de los machos (Fig. 27) mientras que las hembras que consumieron solo masa de maíz y harina de soya *ad libitum* permanecieron con un peso mayor (Fig. 28).

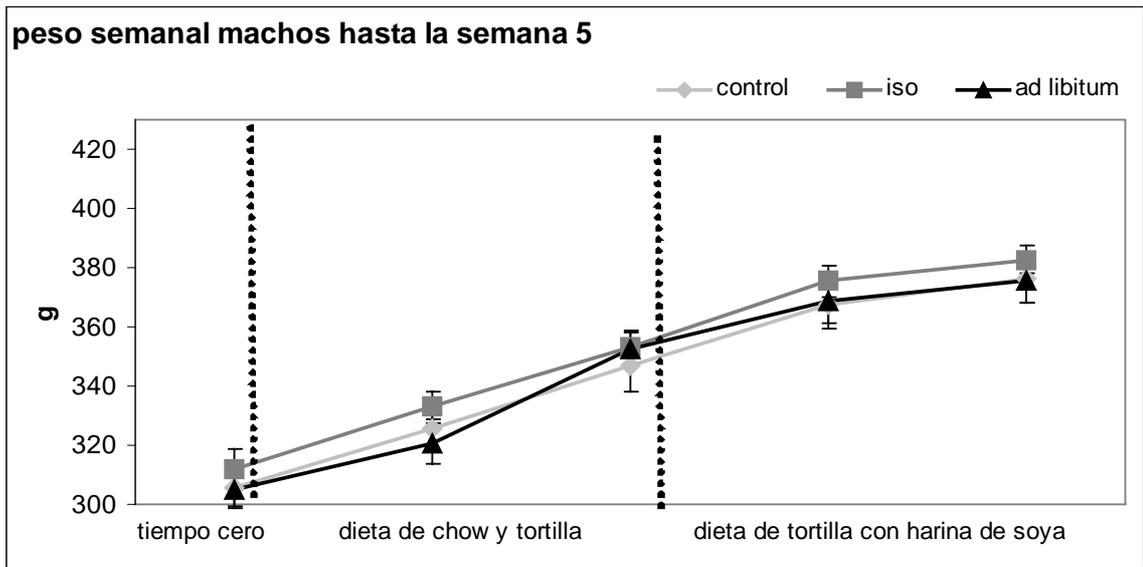


Fig. 27 Pesos de las ratas machos antes de administrarles la dieta experimental. Se presentan las medias \pm el error estándar. No se observan cambios significativos. Analizado con T de Student

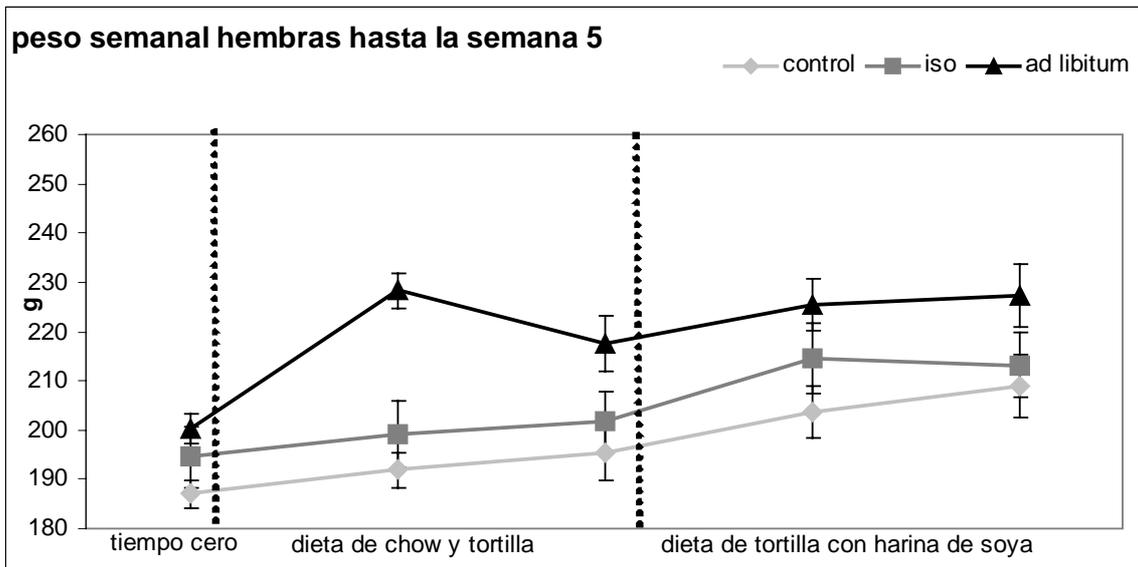


Fig. 28 Pesos de las ratas hembras antes de administrarles la dieta experimental. Se observan cambios ($p < 0.05$) en el grupo ad libitum al administrarles la dieta del experimento anterior a base de chow y tortilla. Analiza con T de Student y se grafican las medias \pm el error estándar.

PERÍODO EXPERIMENTAL

De los 3 grupos control, ISO, TCAL (8 ratas/grupo) se formaron 4 de la siguiente forma: 6 del control = A; 6 ISO = B; 6 de TCAL = C y los dos restantes de cada grupo (C, ISO, TCAL) conformaron el grupo D.

- Consumo energía

A lo largo del experimento el promedio del consumo semanal de cada grupo se mantiene estable a excepción de los grupos A y B (de ambos géneros) que incrementaron su ingesta en la semana 9, cuando se sometieron a los animales al laberinto en cruz (Fig.25 y 26). En promedio, las ratas hembras de todos los grupos presentan un mayor consumo de Kcal/Kg de peso/día que los machos.

Diferencias significativas entre grupos se observan, para los machos del grupo C (menor consumo) sólo en las semanas 7, 12 y 13 (Fig. 25). Las hembras de los grupos A y B consumieron más Kcal que las C y D desde el inicio de cambio de dieta, siendo significativo en las semanas 5, 8, 9, 11 y 12. El grupo C muestra menor consumo que el grupo D en las semanas 7, 12 y 13 (Fig. 26).

El análisis del consumo diario durante todo el experimento (Kcal/Kg de peso/día) muestra diferencias significativas en los machos de los grupos A (179.8 ± 1.9) y B (185.5 ± 3.8) comparados a D (159.1 ± 2.4) y C (139.8 ± 4). Las ratas hembras de los grupos los grupos A (248.6 ± 5.1) y B (242.7 ± 6.1) presentan también mayor consumo que C (189.4 ± 5.6) y D (201.6 ± 5) [ANOVA una vía: $F(3,20)=18.24$ $p < 0.001$].

- Consumo carbohidratos

La tendencia en el consumo de carbohidratos fue similar a la tendencia en el consumo de kcal si bien las diferencias son mayores ya que la dieta de los grupos A y B contiene 75.2 % de Kcal proveniente de carbohidratos contra 81.7% en los grupos C y D. El consumo de los machos del grupo C (28.4 ± 7.4) fue el menor (A= 33.8 ± 0.35 , B= 34.8 ± 0.75 , D= 32.32 ± 0.48 g/Kcal/día) (Fig. 35). Las hembras del grupo B (45.5 ± 1.12), C (37.5 ± 1.1) y D (41.3 ± 0.98) tienen un menor consumo al compararlas con el grupo A (46.6 ± 0.99). También hay diferencia entre los grupos B y C (Fig. 29).

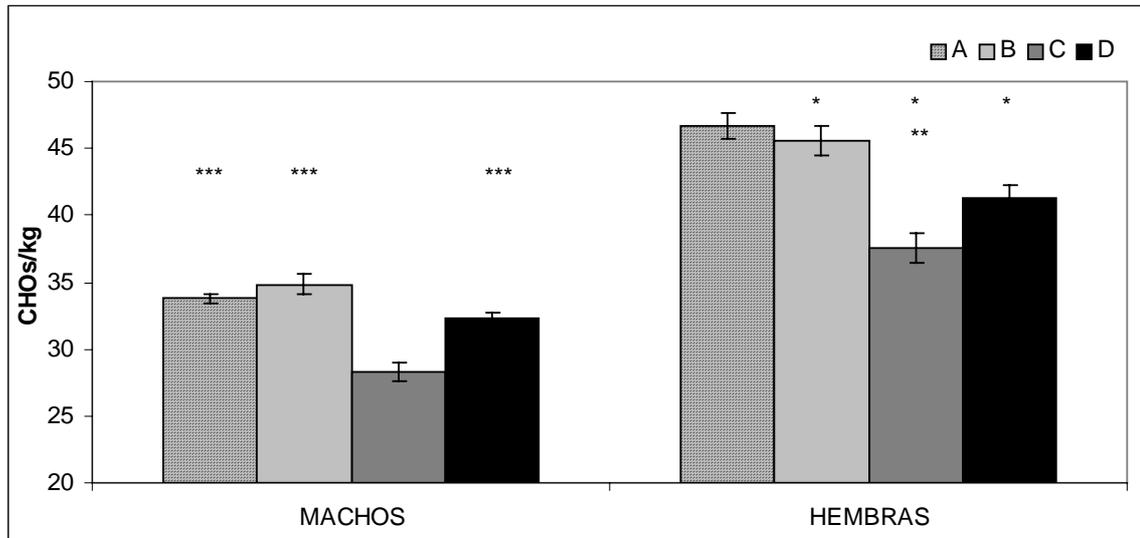


Fig. 29 Promedio del consumo diario de carbohidratos (g) por Kg. de peso/día. Se presentan las medias \pm el error estándar. Analizado a con ANOVA. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. * p <0.05 vs. A, ** p <0.05 vs. B y *** p <0.05 vs. C.

- Peso

Como era de esperarse, las ratas machos de todos los grupos presentaron un mayor peso que las hembras (p <0.001).

El cambio a la dieta experimental (semana 4) produce una ganancia de peso menor en los machos del grupo C aunque no alcanza a ser significativa (Fig. 30).

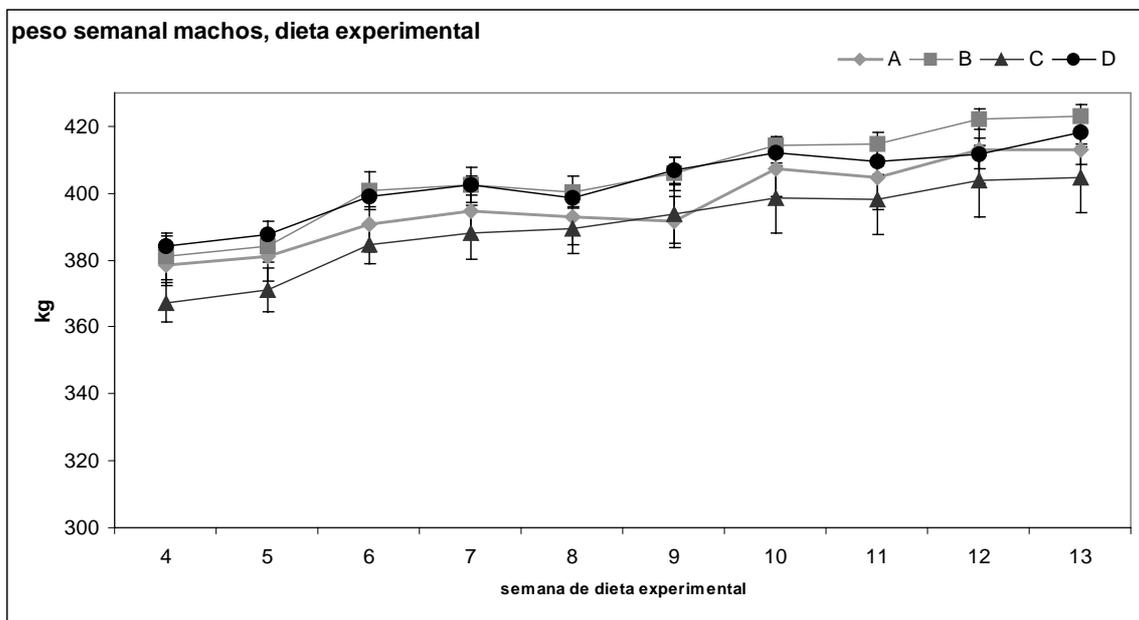
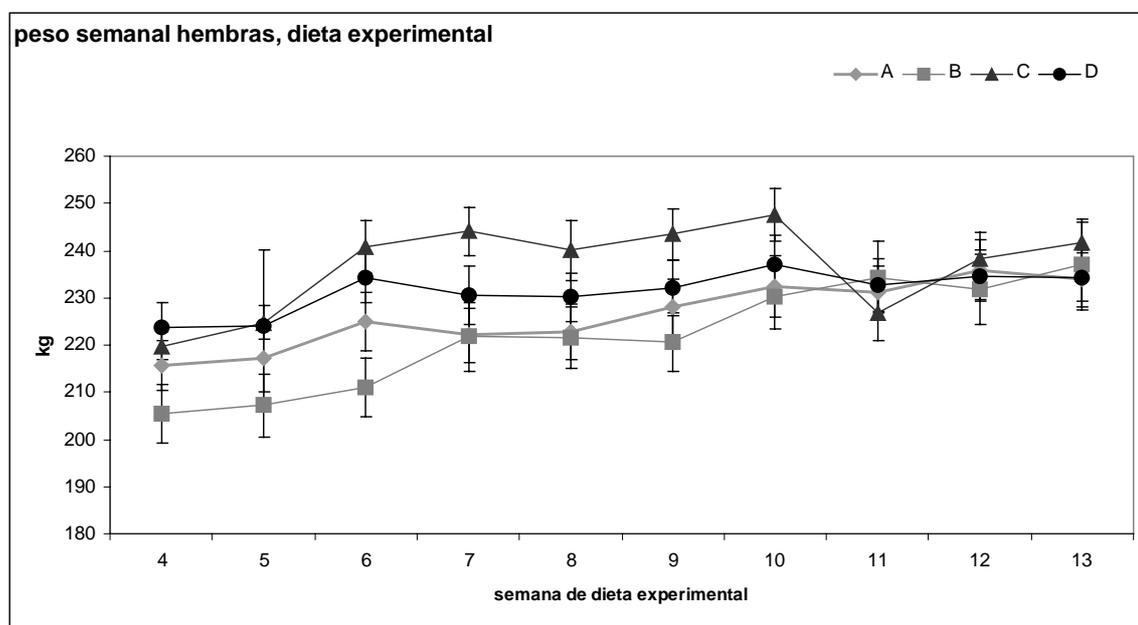


Fig. 30 Peso semanal de las ratas macho del experimento 2 a partir de la semana 5. No hay cambios significativos entre los grupos. Analizado con t de Student. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo].

Las hembras del grupo C, mantienen el aumento de peso ganado durante las primeras dos semanas del régimen TCAL, si bien hay una disminución en la semana 11 que coincidió con un descenso de 3°C en la temperatura del bioterio. La ganancia de peso es menor en el grupo D; las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos se observan antes de la semana 10 (mayor C y D y menor en B)



comparado a A) (Fig. 31).

Fig. 31 Peso semanal de las ratas hembras. De las semanas 7-10 hay un aumento en el peso de las ratas del grupo C al compararlas con el grupo A. De la semana 2 a la semana 7 hay diferencia ($p < 0.05$) en el peso de las ratas del grupo B al compararlas con los grupos C y D. A partir de la semana 10 no se registran cambios significativos entre los grupos. Analizado con T de Student. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo].

- Peso del tejido adiposo blanco

Para este experimento se disecó el tejido adiposo blanco de diferentes regiones: abdominal, ovárico o testicular, y del espacio interescapular.

Tejido adiposo blanco abdominal

En los machos del grupo B, hubo un aumento al compararlas con las del grupo A; la diferencia entre los grupos A y D no alcanza a ser significativa [ANOVA una vía: $F(3,20)=1.98$, $p=0.15$] (Fig.32)

En las ratas hembras, hay un aumento en el peso del tejido del grupo C al compararlas con el grupo A, además de una tendencia al aumento en el grupo D al compararlo con el grupo A [ANOVA una vía: $F(3,20)=2.35$ $p=0.10$] (Fig.33).

Tejido adiposo blanco testicular

No se observó diferencia significativa el tejido epididimal de los grupos, si bien hay una tendencia al aumento en los grupos que estaban deficientes de triptófano (B y D) [ANOVA una vía: $F(3,20)=0.23$ $p=0.87$] (Fig. 32).

Tejido adiposo blanco ovárico

En este tejido no se observó diferencia significativa entre los grupos, sólo una pequeña tendencia al aumento en aquellos grupos con restricción proteica (C y D) [ANOVA una vía: $F(3,20)=1.57$ $p=0.23$].

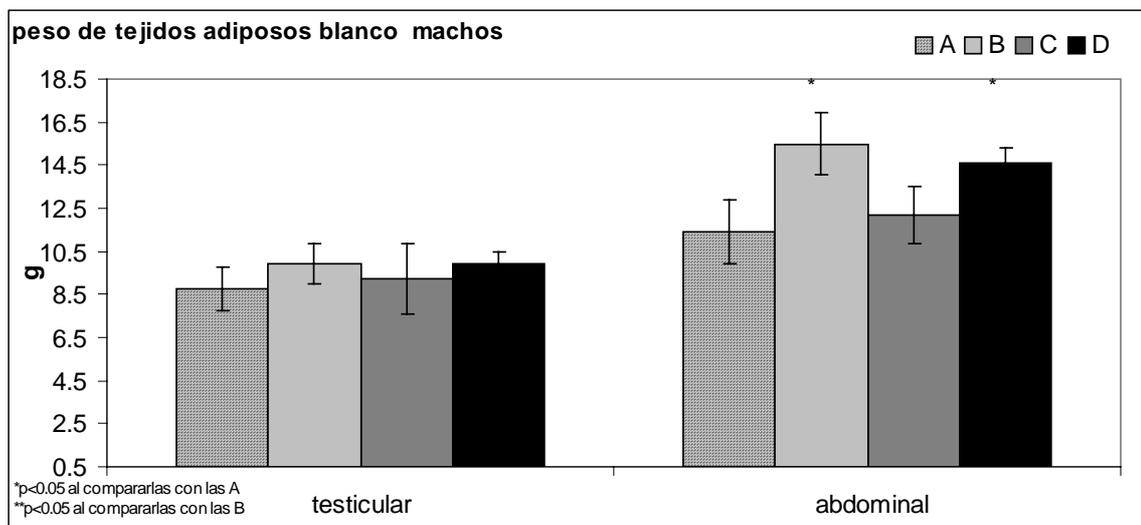


Fig. 32. Peso de los diferentes tejidos adiposos blanco de las ratas machos. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. Se analizó con ANOVA, de lo cual se obtuvo que * $p<0.05$ vs. A.

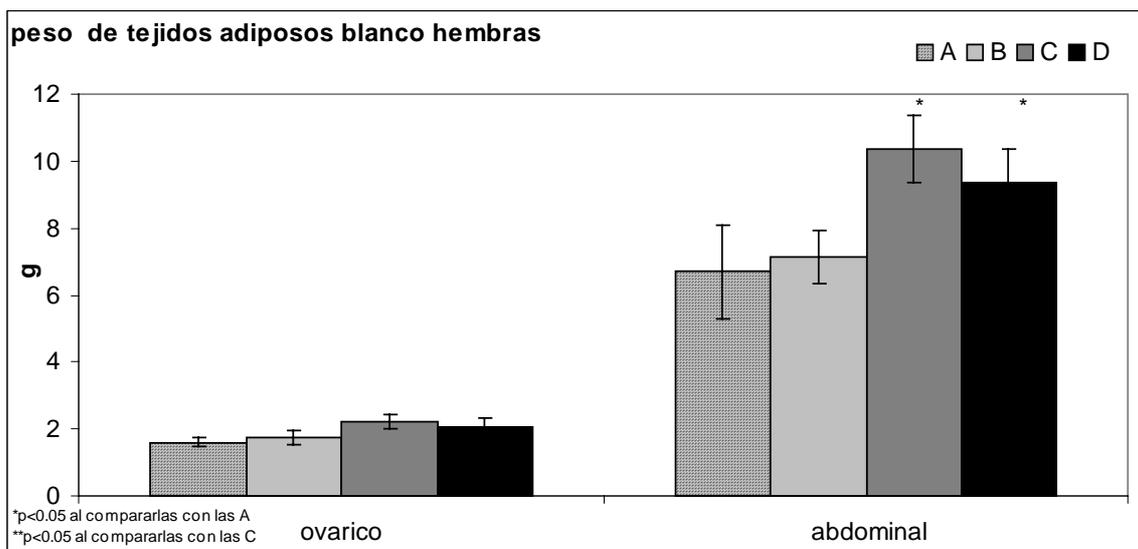


Fig. 33 Peso de los tejidos adiposos blanco de las ratas hembras. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8%

proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. Se analizó con ANOVA, de lo cual se obtuvo que * p<0.05 vs. A

Tejido adiposo blanco interescapular

Se observa un aumento en el peso del tejido de las ratas machos D al compararlas con las ratas A [ANOVA una vía: F (3,20)=1.98 p=1.15] (Fig. 33). En las hembras, se encuentra un cambio en las ratas C al compararlas con las ratas A y B [ANOVA una vía: F (3,20)=4 p=0.029] (Fig. 34).

- Peso del tejido adiposo pardo interescapular

En las ratas machos de los grupos C y D se observa un aumento al compararlos con los grupos A y B [ANOVA una vía: F (3,20)=9.95 p<0.001] (Fig34). En cambio, en las ratas hembras no se observa diferencia entre los grupos [ANOVA una vía: F (3,20)=1.48 p=0.25] (Fig. 35).

Para comparar los incrementos entre los grupos y los géneros se calcularon los pesos de los tejidos respecto al grupo A. El aumento del tejido adiposo blanco interescapular de los machos del grupo B fue del $24.6 \pm 4\%$, $37 \pm 12\%$ del C y $37 \pm 12.5\%$ del D; los cambios relativos fueron similares en el tejido adiposo blanco abdominal de B ($36 \pm 13\%$) pero menores en C (no significativo) y $28 \pm 6\%$ en D. En las hembras, el aumento en el tejido adiposo blanco interescapular fue de $25 \pm 13\%$ en B, $78 \pm 14\%$ en C y $32 \pm 16\%$ en D. A diferencia de los machos, el incremento en el tejido adiposo blanco abdominal se incrementó sólo en C ($55 \pm 15\%$) y en D ($40 \pm 15\%$).

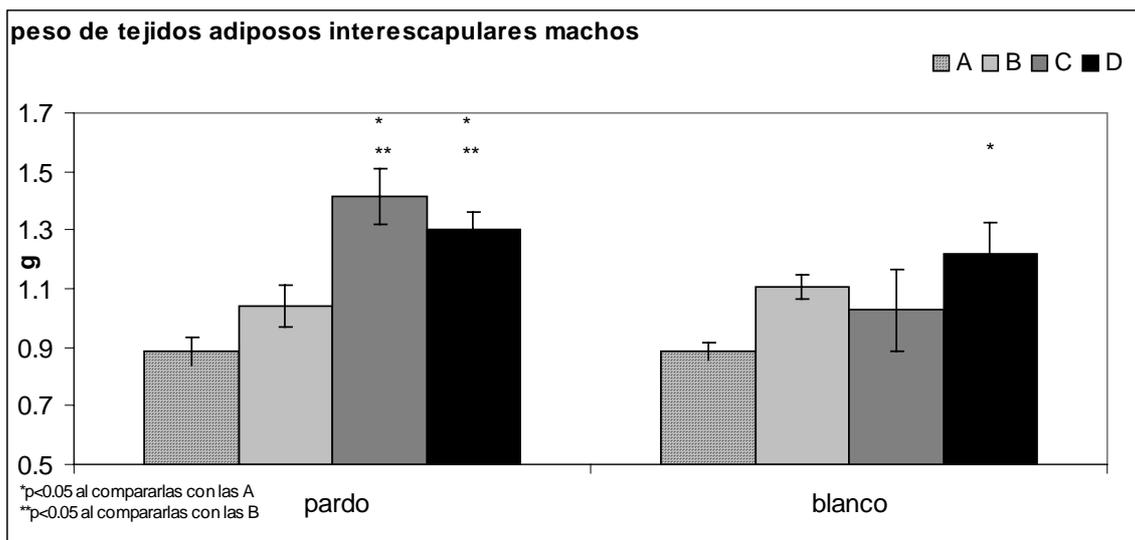


Fig. 34 Peso de los tejidos adiposos interescapulares extraído de las ratas macho. Se observa un aumento ($p<0.05$) en el tejido adiposo pardo interescapular de las ratas C y D al compararlas con las controles. También hay un aumento ($p<0.05$) en el tejido adiposo blanco interescapular de las ratas D.

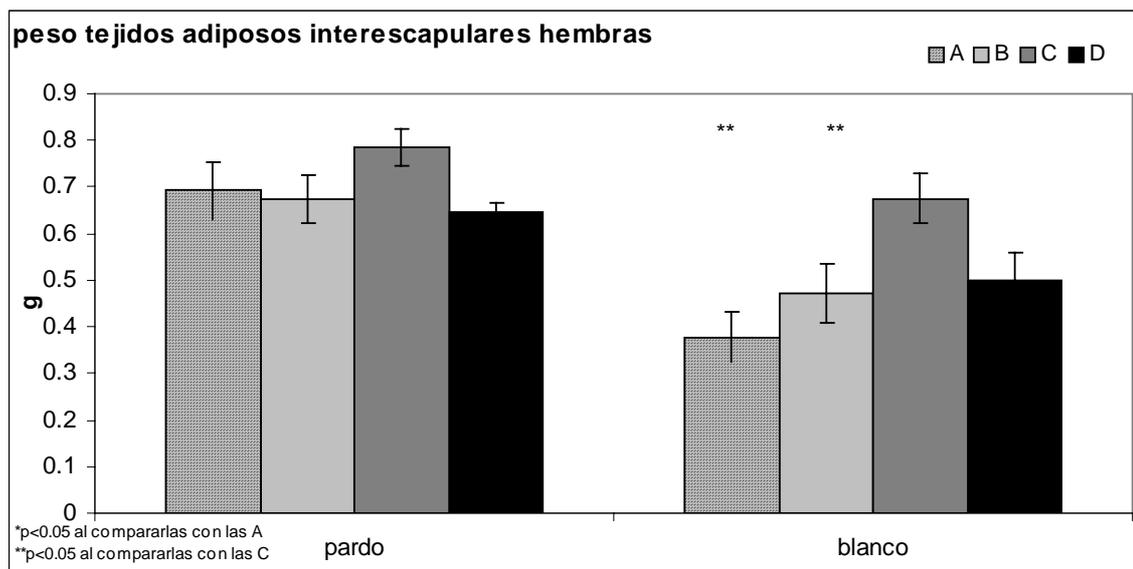


Fig. 35 Peso de los tejidos adiposos interescapulares de las ratas hembras. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. No se observa diferencia en el peso del tejido adiposo pardo interescapular. Se observa un aumento ($p<0.05$) en el peso del tejido adiposo blanco interescapular en las ratas del grupo C al compararlas con el grupo A y B.

- **Peso ovarios**

No se observó un cambio significativo en el peso de los ovarios de las ratas [ANOVA una vía: $F(3,20)=1.48$ $p<0.25$].

Tampoco se encontró ninguna tendencia ni relación entre las etapa del ciclo estral de las ratas y los parámetros analizados en este trabajo.

- Consumo de lípidos

El consumo de lípidos por Kg. de peso fue similar al consumo de proteínas.

En los machos, se ve un decremento en el consumo del nutrimento (g/Kg de peso/día) en los grupos C (1.47 ± 0.033) y D (1.67 ± 0.027) al compararlas con el A (2.61 ± 0.029) y B (2.68 ± 0.097). También se ve diferencia entre el grupo D contra el C (Fig. 36).

Al igual que con el consumo calórico, las hembras consumieron más lípidos pero la diferencia entre los grupos fue similar a la de los machos (A: 3.59 ± 0.075 , B: 3.42 ± 0.09 , C: 1.94 ± 0.062 y D: 2.13 ± 0.052 (Fig. 36).

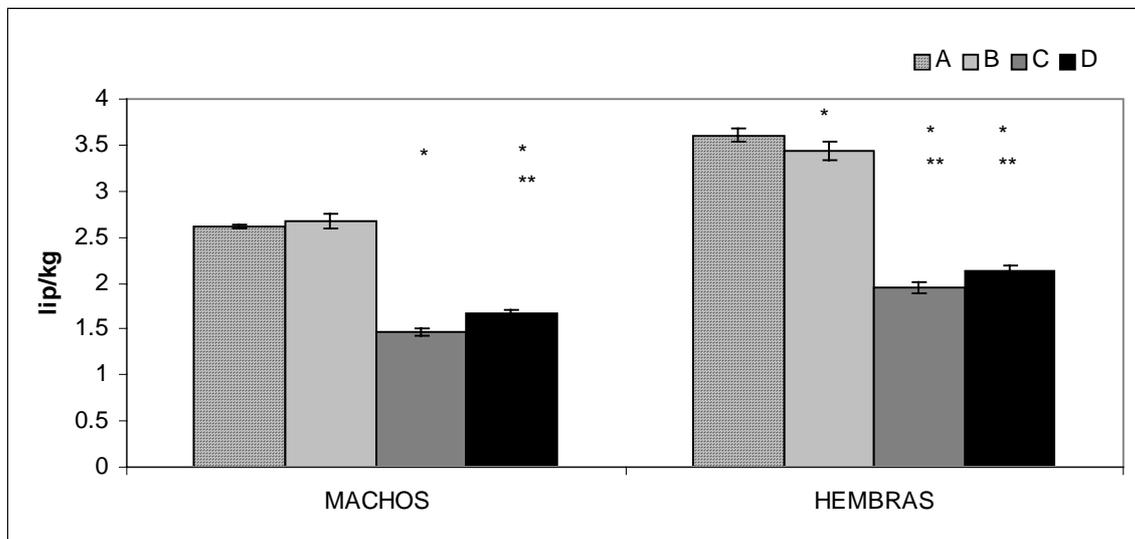


Fig. 36 Promedio del consumo diario de lípido por Kg. de peso. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. *p<0.05 vs. A y **p<0.05 vs. B

- Consumo de proteína

Los grupos C y D muestran un consumo considerablemente menor en proteína debido a la composición de la masa de maíz que contiene sólo el 8% de las Kcal provenientes de proteína, comparada a la masa de maíz y amaranto, que equivale al 11.7%.

El comportamiento fue similar en ambos sexos sin embargo, el aumento en la ingesta calórica de las hembras se refleja en un consumo de más proteínas que la de los machos (Fig. 37).

Las ratas hembras del grupo A consumieron 7.26 ± 0.17 g de prot/Kg/día, las B, 6.86 ± 0.27 , las C, 4.05 ± 0.13 y las D, 4.46 ± 0.12 ; los machos del grupo A, 5.27 ± 0.17 , el grupo B 5.38 ± 0.28 , C 3.07 ± 0.066 y D 3.47 ± 0.066 (Fig. 37).

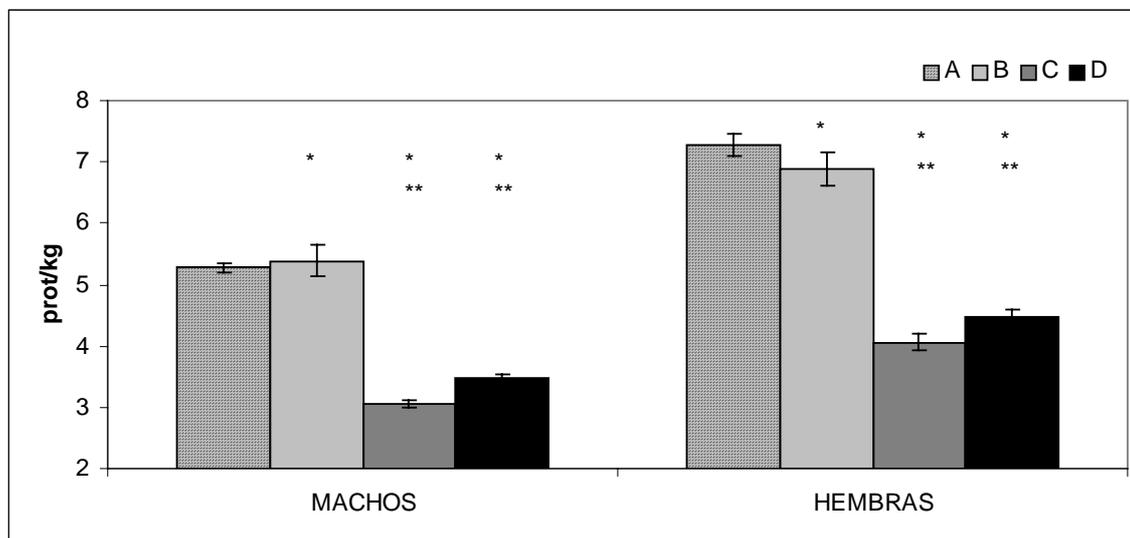


Fig. 37 Promedio del consumo diario de proteínas por Kg. de peso. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. *p<0.05 vs. A y **p<0.05 vs. B

- Consumo de lisina

El amaranto tiene grandes cantidades de lisina (253 g/100Kcal) comparado al maíz (40 g/100 Kcal) por lo que la mezcla provee (148.5 g / 100 Kcal) explicando la fuerte diferencia de los grupos A y B contra C y D (Fig. 38). La ligera disminución del grupo C coincide con la disminución de la ingesta calórica.

En consumo de lisina por Kg de peso/día fue similar al de triptófano. En los machos de los grupos C (0.058 ± 0.0020) y D (0.065 ± 0.0021) se observa un decremento al compararlos con el grupo A (0.27 ± 0.0033) y B (0.27 ± 0.013), así como C y D con el B (Fig. 38).

En las hembras, el comportamiento fue similar: grupo A = 0.37 ± 0.0082 , B= 0.35 ± 0.015 , C = 0.077 ± 0.0033 y D = 0.084 ± 0.0033 g de lys/Kg. de peso (Fig. 38).

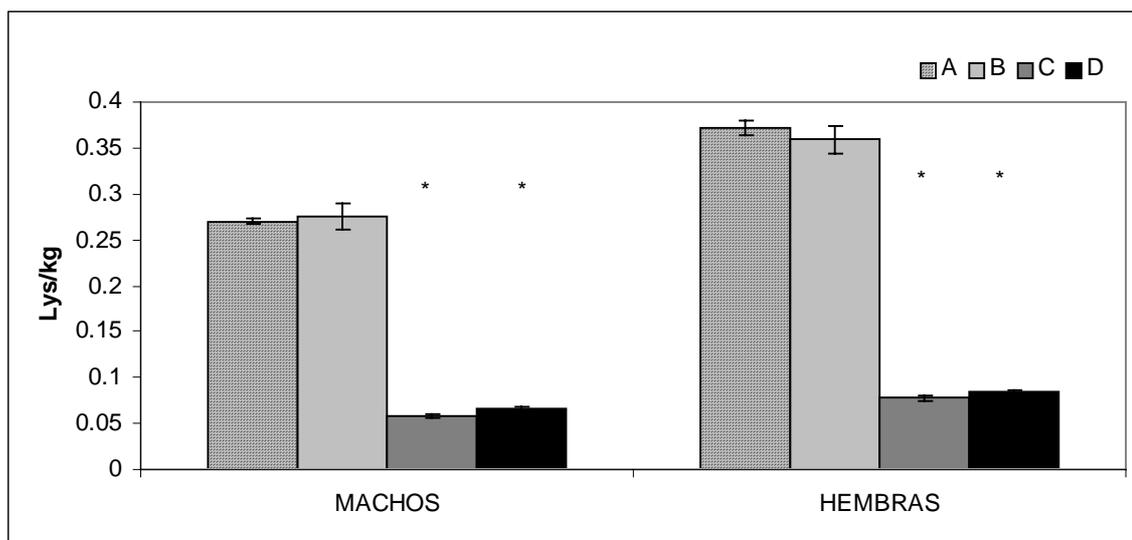


Fig. 38 Promedio del consumo diario de lisina por Kg. de peso de las ratas. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. *p<0.05 vs. A y B.

- Consumo triptófano

Además de las diferencias en el contenido de triptófano de las masas de maíz y amaranto (A y B = 11 mg de Trp/100 Kcal) contra la de maíz (8.7 mg) hay que recordar que a la masa de los grupos A y C se les adicionó Trp para alcanzar 20mg/100kcal.

En las ratas machos se observan diferencias significativas entre todos los grupos; como era de esperarse, los grupos B (0.023 ± 0.0006 g Trp/kg de peso/día) y D (0.015 ± 0.00024) presentaron un menor consumo que el grupo C (0.027 ± 0.00065), el cual a su vez tiene una menor ingesta que el grupo A (0.040 ± 0.0004) (Fig. 39).

En las ratas hembras de los grupos B (0.032 ± 0.0027), C (0.034 ± 0.002) y D (0.022 ± 0.0034), se observó un decremento al compararlas con el grupo A (0.052 ± 0.0042); la diferencia entre C y D también es significativa (Fig. 39).

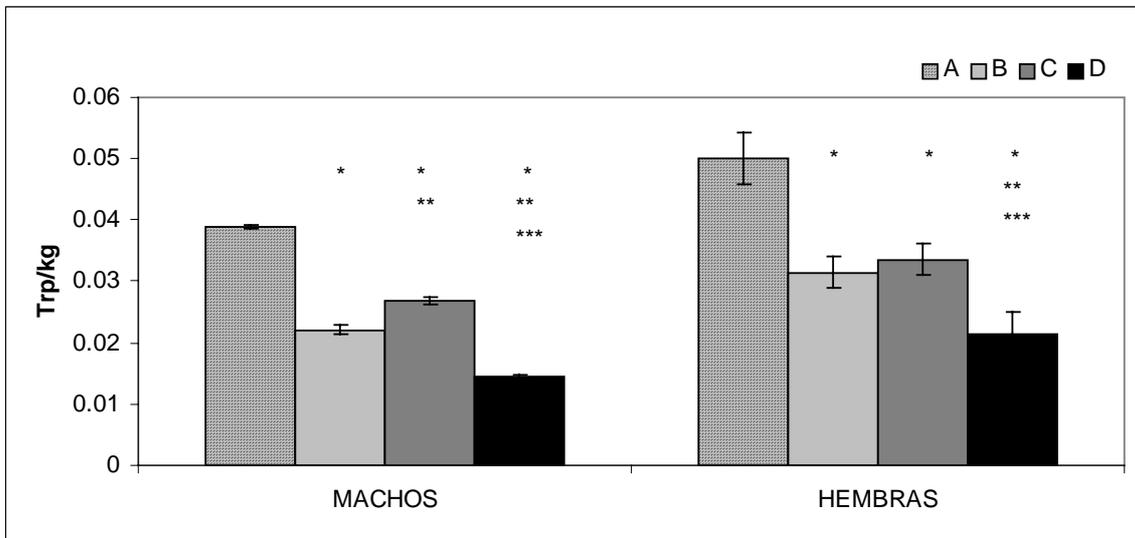


Fig. 38 Promedio del consumo diario de triptófano por Kg. de peso. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. *p<0.05 vs. A; **p<0.05 vs. B; ***p<0.05 vs. C

- Relación de CHOs:Trp consumido por Kg. de peso

Los grupos C y D ingieren un 30-37% menos de proteína que los grupos A y B si bien la diferencia en carbohidratos es de 20% máximo. Sin embargo, la adición de Trp a la dieta de los grupos A y C disminuye considerablemente la relación de carbohidratos:Trp. En ambos géneros se observa una mayor relación g CHO/Kg de peso/día en el grupo D, seguido por el B que es mayor que la de los grupos a los que se les adicionó triptófano (C y A) (Fig. 40). El grupo C presenta una mayor relación que el A dado el mayor contenido de carbohidratos en la masa de maíz.

En los machos, el grupo A (893.64 ± 1.04) es el que presenta una menor relación CHO:Trp, seguido por el grupo C (1053.72 ± 99.6) y los grupos B (1625.78 ± 25.45), y D (2263 ± 177).

Las ratas hembras mostraron cambios similares: un aumento en la relación CHO:Trp en los grupos D (2089.06 ± 241.07) y B (1530.97 ± 118.38), comparados al grupo A (1006.33 ± 108.92) y el C (1147.94 ± 111.95) (Fig. 40).

Las diferencias entre los grupos son similares en ambos géneros a diferencia del grupo B que presenta un aumento del 83 ± 3 % del valor del grupo A en machos comparado a 52 ± 8 % del B en hembras.

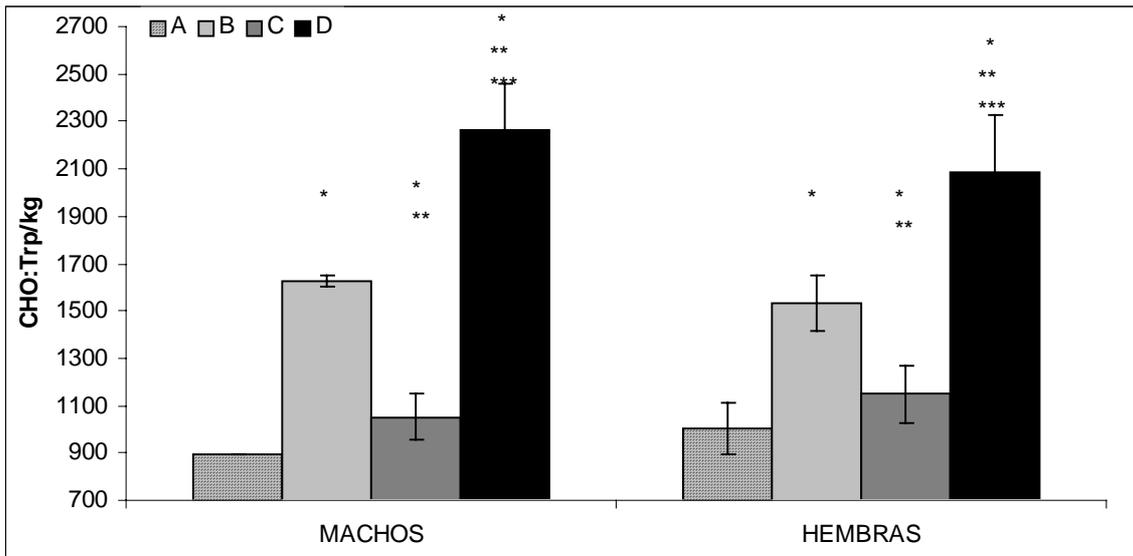


Fig. 40 Relación de carbohidratos vs. triptófano consumido por Kg. de peso de las ratas. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. *p<0.05 vs. A; **p<0.05 vs. B; ***p<0.05 vs. C.

- Triptófano sérico

Los grupos B, C y D de los machos tuvieron menor concentración de triptófano en plasma que el grupo A. También hay una disminución en el grupo D al compararlo con el B (Fig. 41).

En las ratas hembras, los grupos A y B presentan una mayor concentración que el grupo C, siendo el D menor que el B (Fig. 41).

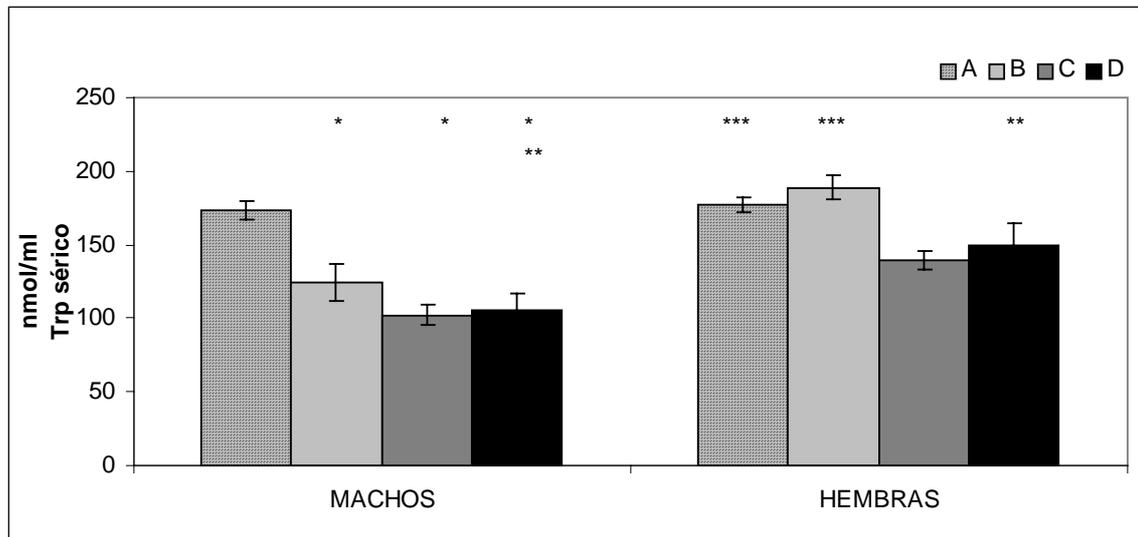


Fig. 41 Concentraciones de triptófano libre en plasma en las ratas. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. *p<0.05 vs. A; **p<0.05 vs. B y ***p<0.05 vs. C.

Efecto de la dieta en el estrés

Con la misma finalidad que en el experimento anterior, se registró el peso de las glándulas adrenales. Desafortunadamente no ha sido posible medir las concentraciones de corticosterona por la falta de reactivos (los sueros están en congelación y serán evaluados posteriormente).

- Peso glándulas adrenales

En este experimento no se observaron cambios significativos en el peso de las glándulas adrenales de las ratas machos ni de las hembras.

Pruebas conductuales

- LCE

Se eligió para este experimento una prueba conductual en la que el animal no fuera sometido a un estímulo agresivo como el de enterramiento defensivo, sino uno que midiera el estado de ansiedad del animal como es el caso del de exploración en el laberinto de cruz elevado.

Se encontraron muy pocas diferencias significativas entre los grupos. En general, las hembras tuvieron más entradas y permanecieron más tiempo en los brazos abiertos que los machos sugiriendo un estado menos ansioso.

En los machos, si bien es evidente que todos los grupos permanecen más tiempo en los brazos cerrados que en los abiertos, no se observa diferencia entre los grupos en el tiempo de permanencia en cada brazo (Fig. 42). El grupo C presenta menos entradas al brazo abierto, y más al cerrado, que el grupo A, sugiriendo un estado de mayor ansiedad en el grupo C (Fig. 42).

En las ratas hembras no se observan diferencias en el número de entradas a los brazos; el grupo B permaneció un mayor tiempo en los brazos abiertos y menor tiempo en los cerrados comparado a los demás grupos (Fig. 43) siendo así el grupo menos ansioso.

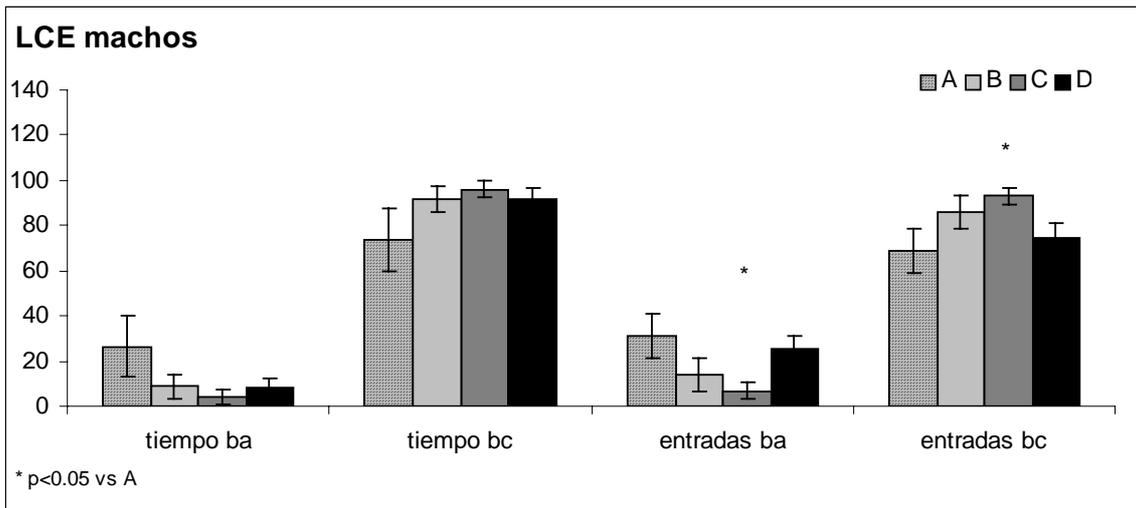


Fig. 42. Resultados del EMP de las ratas macho. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. No hay diferencia significativa en el tiempo de permanencia en los diferentes brazos entre los grupos experimentales, sin embargo las ratas del grupo C presentan menos entradas al brazo abierto y más entradas al cerrado ($p<0.05$) que el grupo A n= 6 ratas por grupo. En el eje de las Y se encuentra el tiempo que permanecieron las ratas en cada brazo y el número de entradas.

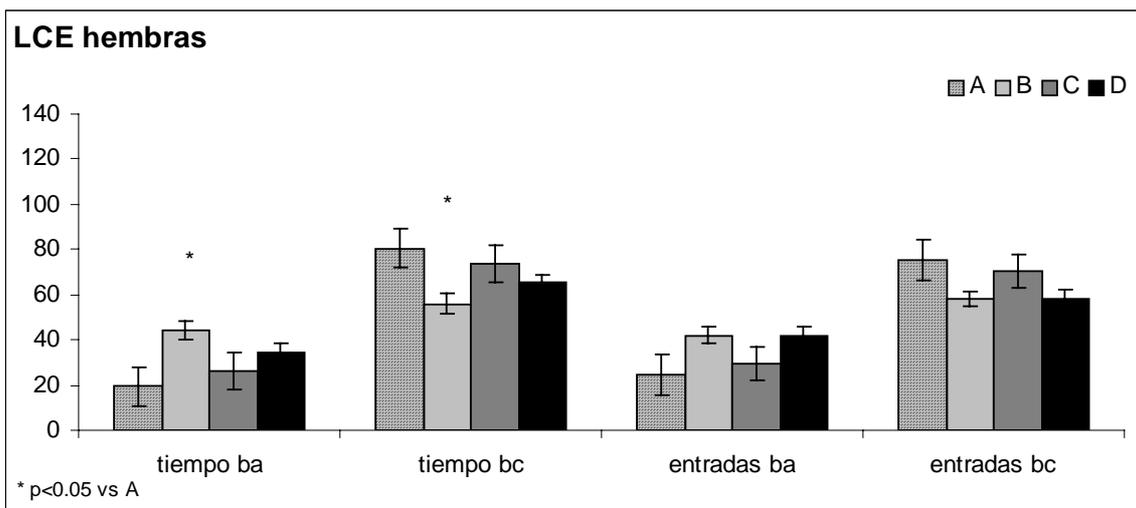


Fig. 43 Resultados del EPM de las ratas hembras. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. Los animales del grupo C permanecen menor tiempo en el brazo abierto y mayor en el cerrado ($p<0.05$) que los del grupo A. No se observan diferencias en el número de entradas a los brazos entre los grupos. En el eje de las Y se encuentra el tiempo que permanecieron las ratas en cada brazo y el número de entradas.

- Ejercicio voluntario

El aumento en tejido adiposo pudiera estar relacionado no sólo a un incremento en la ingesta sino a un menor gasto energético. Con el objetivo de verificar si la dieta causaba cambios en actividad física, se determinó la capacidad de realizar ejercicio voluntario.

Los machos del grupo D (118.2 ± 17.1 metros) corrieron más que el grupo A (83 ± 11 m). Si bien el grupo B (89.2 ± 11 m) y el C (111.33 ± 15 m) no presentaron cambios significativos, se registra una tendencia a mayor actividad que ratas del grupo A (Fig. 44).

Las ratas hembras de todos los grupos hicieron más ejercicio ($p < 0.001$) que las ratas machos pero no se observa diferencia significativa entre los grupos (Fig. 44).

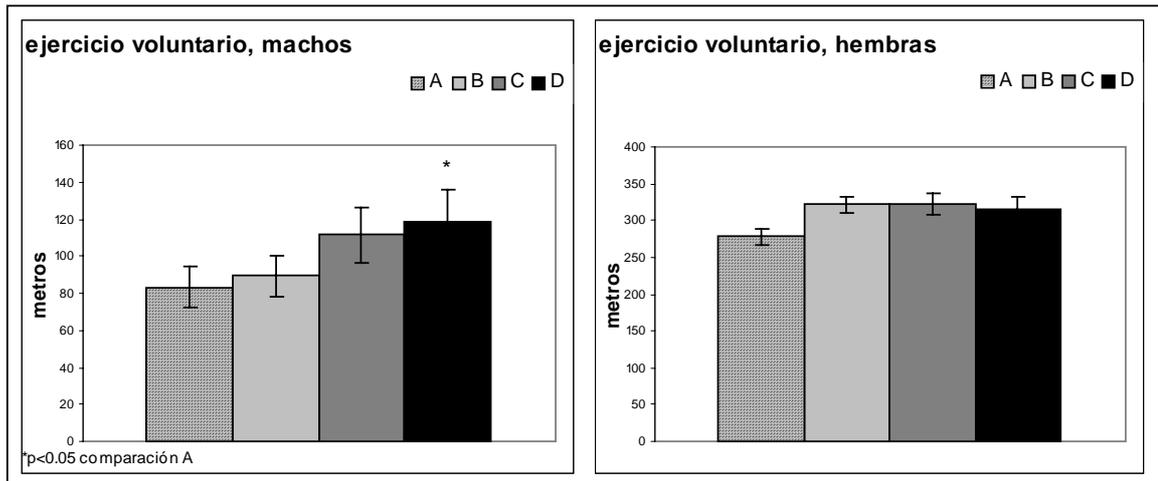


Fig. 44 Prueba de ejercicio voluntario. Se presentan las medias \pm el error estándar. A= 11.7% proteína + 0.02% Trp; B= 11.7% (0.011% Trp) proteína; C= 8% proteína + 0.02%Trp; D= 8% proteína (0.011% Trp) [n=6 por grupo]. En las hembras no se observa diferencia significativa, mientras que en las machos se observa un aumento ($p < 0.05$) en las ratas del grupo D al compararlas con las ratas del grupo A.

El resumen de los resultados se presenta en la tabla anexo 3.

DISCUSIÓN

El presente trabajo analiza el comportamiento alimenticio y la respuesta al estrés de las ratas adultas con una dieta basada en tortilla. En el primer experimento se estudió el efecto de la dieta chow con distintas proporciones de tortilla (70% de Kcal [ISO] ó *ad libitum*). El grupo control recibió chow *ad libitum*, y en base a su consumo, se administró el 30 % de las Kcal como chow y el 70% como tortilla al grupo isocalórico (ISO); el tercer grupo recibió la misma cantidad de chow que el ISO y tortilla *ad libitum* (TAL), mientras que el cuarto tuvo los dos alimentos *ad limitum* (TCAL). Los resultados de los primeros 3 grupos fueron similares al experimento realizado por E. Álvarez Salas (2006), las ratas alimentadas con 30 % de chow y tortilla *ad libitum* incrementaron el consumo de tortilla disminuyendo voluntariamente el de chow a 16% los machos y a 9% las hembras lo cual llevó a un aumento del consumo total de Kcal y de carbohidratos.

El comportamiento alimenticio observado en el grupo TCAL contradice lo reportado por varios autores que sugieren que los animales son capaces de elegir una dieta con cantidades balanceadas de macronutrientes (Harper y Peters, 1989; Tome, 2004) en cuyo caso debieran haber consumido una mayor proporción de chow. Es evidente que la diferencia en el sabor y la textura de la tortilla, comparada a la pastilla de chow, representa un factor hedónico que favorece su elección (Berridge, 2000).

En los machos de los grupos TAL y TCAL, el consumo total de Kcal/Kg de peso es sólo de 4% y de carbohidratos 18% mayor al control, lo que repercutió en una ganancia en tejido adiposo blanco (testicular) del 10%; este tejido aumentó también en el grupo ISO (93%) pese a haber consumido las mismas Kcal que el control (con 9% más de carbohidratos). En las hembras, el exceso en el consumo de Kcal es sólo del 9%, pero llega a 25% de carbohidratos que ocasionan una ganancia de peso de 45% en TAL y de 52% en TCAL; la grasa blanca (ovárica) aumenta aún en el grupo ISO (135%; 119 en TAL y 115 ± 19% en TCAL). Estos resultados confirman la diferencia entre géneros: un mayor consumo de Kcal y CHOs de las hembras TAL comparado a los machos TAL, así como un incremento del grupo ISO en tejido adiposo blanco de las hembras similar al grupo TAL.

El experimento 2 permitió demostrar que las diferencias encontradas en el experimento 1 entre el grupo chow y el de tortilla *ad libitum* se debieron al efecto hedónico. En el experimento 1, el grupo control de machos consumió un promedio de 195 Kcal/Kg de peso al día provenientes de chow (193 las hembras) y las TCAL, 200-209. El experimento realizado por Álvarez-Salas obtuvo un consumo de 152 ± 8 Kcal/Kg peso al día en los controles macho y 187 ± 14 en hembras mientras que las TAL consumieron 176 ± 8 (machos) y 241 ± 15 (hembras). En contraste, el consumo del grupo A (similar en B) fue

de 180 ± 9 en machos; mientras que el de las hembras fue 249 ± 5 . La dieta con menor proteína (C y D) causó una leve disminución en el consumo del grupo D sólo de hembras ($17 \pm 2\%$) pero, la adicionada con triptófano (C) disminuyó en $20 \pm 3\%$ en los machos y $24 \pm 3\%$ en las hembras.

En todos los experimentos, las hembras tuvieron un mayor consumo diario (en Kcal/Kg de peso) que los machos. El menor consumo calórico fue en los grupos C y D que afectaron muy poco el peso corporal, ya que éste sólo varió en menos del 2% en los machos, y 5% en las hembras al final del experimento. Sin embargo, la ganancia de peso obtenida desde el cambio de dieta fue mayor en el grupo B (22% en machos comparada a 73% en hembras).

El peso del tejido adiposo blanco en el segundo experimento se vio incrementado en mayor proporción en la zona abdominal y la interescapular, comparada a la testicular/ovárica (que aumentó en forma similar al exp. 1 en machos). En las ratas macho la mayor acumulación se observó en la zona abdominal de los grupos B y D mientras que en las hembras, en C y D. Sólo los machos presentaron incrementos en tejido adiposo pardo (grupos C y D). Como se mencionó, el grupo C de ambos géneros fue el que tuvo el menor consumo calórico con una diferencia menor al 20% y sin embargo, fue el grupo que en las hembras, presentó mayor aumento de grasa blanca abdominal e interescapular (78 y 55% respectivamente), seguido por el grupo D (40 y 32% respectivamente). En los machos, los aumentos en grasa blanca fueron sólo del 30% en los grupos B y D, mientras que el mayor incremento se detectó en grasa parda tanto en C como D.

Todos estos resultados sugieren una mayor susceptibilidad de las hembras a acumular tejido adiposo al incrementar la ingestión de carbohidratos y, confirman la diferencia en las respuestas entre hembras y machos ante situaciones intrínsecas y que favorecen el desarrollo de la obesidad, tales como cambios hormonales, estrés, efecto de la dieta y genes, entre otras ambientales (Bates *et al.*, 1999; Del Parigi *et al.*, 2002; Geary, 2004). Si bien las diferencias en la acumulación de grasas pueden estar dadas por un menor gasto energético debido a baja actividad física realizada, las determinaciones de ejercicio voluntario permiten descartar esta posibilidad ya que en ambos géneros, el grupo A fue el que presentó menor actividad.

Por los resultados observados en el segundo experimento, pareciera que la relación entre carbohidratos y proteínas tuviese un papel importante en la acumulación de grasa blanca en las hembras, y en la parda en los machos machos (CHO:prot en A y B = 6.4, C y D = 9.3) mientras que la acumulación en grasa abdominal en machos de B y D correlaciona sólo con la relación CHO:Trp ya que es más alta en estos grupos. Esto corrobora la diferencia entre géneros en la asimilación

de alimento y desarrollo de reservas energéticas (Del Parigi *et al.*, 2002; Bates *et al.*, 1999). Dichas diferencias entre machos y hembras se han asociado a las hormonas sexuales ya que los machos tienden a acumular más tejido adiposo en las regiones viserales (tejido adiposo intrabdominal) donde se encuentran altas concentraciones de receptores de andrógenos, mientras que en las hembras, la acumulación de grasa tiende a ser en la zona glúteo-femoral (tejido adiposo subcutáneo), con altas concentraciones de receptores de oestrógenos y progesterona (Woods *et al.*, 2003; Mayers y Watson, 2004, Wagener *et al.*, 2006) Woods y colaboradores (2003) proponen que también hay diferencia en la sensibilidad cerebral de machos y hembras ante las hormonas encargadas del balance energético (insulina y leptina), ya que al aplicarles inyecciones de estas hormonas a las ratas observaron que las hembras son más susceptibles a las bajas concentraciones de leptina, mientras que los machos tienen una mayor susceptibilidad a bajas concentraciones de insulina. En el trabajo realizado por Álvarez-Salas se cuantificaron las concentraciones de leptina sérica (la cual es secretada por el tejido adiposo), los niveles detectados coincidieron con los aumentos en el tejido adiposo blanco, siendo mayor el aumento en las hembras que en los machos, lo cual apoya las diferencias planteadas entre los géneros en relación a la acumulación y distribución de la grasa corporal.

Como se mencionó en la introducción, también las hormonas tiroideas juegan un papel muy importante en regular el metabolismo basal. El funcionamiento del eje tiroideo se encuentra inhibido en condiciones de restricción alimentaria fundamentalmente, en deficiencia proteica (Van Haasteren, 1996). En los dos experimentos realizados con chow y tortilla (el presente y el de Álvarez-Salas) se cuantificaron las concentraciones de hormonas tiroideas y de tirotropina para evaluar el efecto de la dieta en el eje HPT. En ninguno de los dos experimentos (Álvarez Salas y el presente) se detectaron cambios significativos en los niveles de TSH y sí, una disminución en los de T_4 en los grupos ISO y TAL en hembras; sólo en el presente experimento se detectó esta disminución en los machos TCAL, TAL e ISO. Bajos niveles de T_4 pudieran indicar un hipotiroidismo primario sin embargo, el incremento en los niveles de T_3 en TAL y TCAL en hembras y TCAL en machos aunados a los niveles normales de TSH descartan esta posibilidad. El ligero aumento de T_3 coincide con lo reportado por Smallridge *et al.* en 1982, que observa que la administración por corto tiempo, de una dieta con 9% de proteína, aumenta las concentraciones de T_3 en plasma. Con estos resultados podemos sugerir que el aumento en la acumulación de grasa y peso no se deben a una disfunción tiroidea.

Respuesta al estrés.

De acuerdo a lo reportado (Beiko *et al.*, 2004), los niveles basales de corticosterona en hembras es mayor que en machos. Se postula que los estrógenos amplifican la respuesta al estrés en la corteza prefrontal lo cual aumenta la susceptibilidad a trastornos de ansiedad y depresión (Shansky *et al.*, 2004). Las concentraciones de dicha hormona modulan el aumento en la actividad de serotonina, tanto en su síntesis como en su recaptura (Joffe y Cohen, 1998) y este neurotransmisor tiene importantes efectos antidepresivos (Bell y Abrams, 2003) y ansiolíticos (Kent *et al.*, 2002), lo cual además cambia el comportamiento hacia el consumo de diferentes alimentos (Fernstrom *et al.*, 2001).

Sólo las hembras presentaron cambios en los niveles circulantes de CORT dependiente de la dieta, disminuyendo en un 50% del control tanto en ISO, TAL, como TCAL. Es difícil distinguir si los niveles reducidos se deben a un estado de estrés crónico mayor en estos grupos que causa una inhibición del eje HPA o, efectivamente, están menos estresadas. Los experimentos conductuales apoyan la segunda opción.

La prueba de nado forzado es una herramienta que permite medir el estado de depresión en las ratas, inferido por una menor inmovilidad o un mayor nado durante la prueba (Porsolt *et al.*, 1977, Barros HM, 1998). Los grupos de hembras TAL y TCAL fueron las que, comparadas a todos los demás grupos, mostraron menos inmovilidad; en cambio, los machos TCAL tuvieron una tendencia al aumento.

Para evaluar la respuesta de ansiedad ante un estímulo nocivo se utilizó la prueba de enterramiento defensivo; a mayor latencia o tiempo de enterramiento, mayor ansiedad. En general, se ha visto que las hembras permanecen más tiempo en el comportamiento de enterramiento, lo cual se ha relacionado con una mayor prevalencia de trastornos de ansiedad en dicho género, sin embargo, en este experimento, las ratas TCAL tanto en machos como en hembras mostraron una disminución significativa en el tiempo de enterramiento de TCAL al compararlas contra el control. Si bien la tendencia a la disminución en los grupos ISO y TAL no llegó a ser significativa los resultados apuntan a una disminución en la ansiedad, que es más evidente en los grupos TCAL (y mayor en hembras).

No ha sido posible aún medir corticosterona del experimento 2 por problemas de importación de reactivos. Sin embargo las pruebas conductuales realizadas apoyan una respuesta diferencial entre hembras y machos. La prueba del laberinto elevado en cruz no provoca el mismo grado de ansiedad que la de enterramiento y permite evaluar el estado intrínseco del animal. En ella fue evidente

que las hembras presentaban una conducta menos ansiosa. Los machos alimentados con una dieta deficiente en proteína y triptófano mostraron el más alto grado de ansiedad mientras que las hembras de este grupo se comportaron como el control. Entre los grupos de hembras, el B fue el único que mostró diferencias (menor ansiedad). La disminución en la ansiedad y la depresión en las hembras del grupo con mayor consumo de tortilla (exp. 1) coincide con una mayor proporción de CHO:trp lo que apoya la hipótesis de que el alto consumo de tortilla compensa la deficiencia de Trp provocado por el bajo consumo de chow. Si bien no se observó diferencia significativa en las concentraciones del aminoácido libre en plasma, la tendencia a la disminución del aminoácido libre de las ratas hembras TAL y TCAL, pudiera deberse a que éste tiene mayor facilidad de ser transportado al cerebro, una vez inhibido el transporte de los aminoácidos de cadena larga por la insulina liberada a causa del alto consumo de carbohidratos (Harper y Peters, 1989; Wurtman *et al.*, 2003); dicha inhibición y la posterior transportación del aminoácido al cerebro puede estar generando un aumento en la síntesis de la serotonina, lo que bajaría la depresión, la ansiedad y la respuesta fisiológica al estrés, por esta razón se medirán las concentraciones del aminoácido en diferentes regiones cerebrales, así como de serotonina y sus metabolitos.

Los niveles de triptófano sérico en el experimento 2 sí mostraron diferencias significativas siendo menor en los dos grupos alimentados con harina de maíz. En hembras, los niveles de triptófano sérico del grupo B fueron iguales al que fue suplementado con triptófano (A) mientras que en machos, el B sí está disminuido con respecto al A. Se ha sugerido que el requerimiento de este aminoácido es más alto en hembras que en machos por el efecto inhibitorio de estrógenos en la conversión de éste a niacina. Para sustentar esta posibilidad, se requerirá comparar los datos en animales cuya dieta sea complementada con vitaminas lo cual, no se realizó en este experimento con la intención de evaluar lo más fielmente posible la dieta (deficiente) de la población mexicana de bajos recursos.

Es importante considerar que los grupos C y D son, además, deficientes en lisina y, aunque existen pocos estudios, un grupo ha reportado que esta deficiencia incrementa la ansiedad ya sea modificando la liberación de serotonina en el núcleo central de la amígdala (sin modificar la síntesis del neurotransmisor) (Smriga *et al.*, 2002; Smriga y Torii, 2003) o alterando las concentraciones de cortisol en plasma sin tener un efecto directo en las glándulas adrenales (Smriga *et al.*, 2004). Esto puede estar generando que, a pesar de la adición de Trp a las tortillas del grupo C, al estar deficientes en Lys las ratas macho sean más susceptibles a la ansiedad. El efecto se ve sólo en machos que restringen más su consumo; es posible que las hembras alcancen el nivel requerido (lo cual será corroborado una vez que se tengan los niveles de corticosterona).

En conjunto, los resultados obtenidos muestran una disminución en los niveles de corticosterona, en ansiedad y depresión en las hembras del grupo con mayor consumo de tortilla y mayor proporción CHO:Trp (exp. 1) y, en aquellas con alta proporción CHO:Trp no deficientes en Lys (grupo B, exp. 2). Estos resultados apoyan la importancia de la relación CHO:Trp, en situaciones de nutrición desbalanceada por la baja calidad de la proteína consumida, que posiblemente optimice el transporte de Trp a cerebro y la síntesis de serotonina.

CONCLUSIÓN

La obesidad puede ser el resultado de un elevado consumo de energía y un bajo gasto de ésta (Rivera y Sepúlveda, 2003), sin embargo alteraciones de origen tanto hormonal como neuronal en el metabolismo pueden favorecer el desarrollo de esta enfermedad. Estas alteraciones pueden ser generadas por factores intrínsecos (como son los genéticos) o extrínsecos (ambientales) al individuo. Los resultados de esta tesis apoyan la idea de que la calidad de la dieta es un factor determinante en el desarrollo de la obesidad, ya que puede motivar a un mayor consumo calórico que incida en una sensación de bienestar al disminuir el estado de ansiedad o depresión.

En este trabajo se propone que, al tener opción de elegir entre el chow (dieta con todos los nutrimentos necesarios) y la tortilla, las ratas eligen la segunda por el factor placentero (hedónico) del sabor. Sin embargo, estas dietas son deficientes en triptófano y lisina, por lo que las ratas aumentan la ingesta del alimento en busca de homeostasis en los nutrimentos consumidos. La dieta basada en tortillas proporciona los carbohidratos necesarios para que aumente la liberación de insulina en los animales, esta hormona inhibe el transporte de los aminoácidos de cadena larga favoreciendo el transporte del triptófano al cerebro, lo que debe aumentar la síntesis de serotonina.

El aumento en el consumo de tortillas, genera un aumento de peso corporal y de la cantidad de tejido adiposo que no se debe a un incremento en glucocorticoides (los cuales incrementan la acumulación de grasa abdominal) ya que si bien la desnutrición proteica genera su aumento, las ratas que consumieron más tortilla presentaron los menores niveles. Esto puede deberse a la interrelación con la serotonina (por las altas concentraciones de Trp) sin embargo en las ratas con alimento adicionado en Trp presentan una mayor ansiedad, debida, posiblemente, a la deficiencia en Lys.

En resumen, en este trabajo se propone que la cantidad de CHOs, pero sobre todo la calidad proteica de la dieta, afecta sustancialmente el desarrollo de obesidad en las ratas, además de favorecer el desarrollo de enfermedades tanto metabólicas como psicológicas (al cambiar el estado de ánimo).

BIBLIOGRAFÍA

Akil, Cappeau, Cullinan, Lechan, Toni, Watson, Moore (1999) Neuroendocrine system I: Overview thyroid and adrenal axes. En Zigmond, Blomm, Landis, Roberts, Squire. Fundamental Neuroscience Academic Press. pp:1127-1150.

Álvarez Salas Elena (2006) Efecto de la calidad proteica de la dieta en el metabolismo, conductas de depresión, ansiedad y su relación con la conducta alimentaria en ratas. Tesis de Licenciatura en Dietética y Nutrición. Escuela de Dietética y Nutrición.

Arámbula Villa, Barrón Ávila, González Hernández, Moreno Martínez, Luna Bárcenas (2001) Efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, reológicas, estructurales y texturales del grano, masa y tortillas de maíz; Archivos Latinoamericanos de Nutrición; 51(2):187-194.

Barros HM, Ferigolo M. (1998) Entopharmacology of imipramine in the forced-swimming test: gender differences; Neuroscience and Biobehavior Review; 23:279-286.

Bates, Prentice, Finch (1999) Gender differences in food and nutrient intakes and status indices from the National Diet and Nutrition Survey of people aged 65 years and over; Eur J Clin Nutr; 87:125-132.

Bear, Connors, Paradiso, Neuroscience: Exploring the brain, second edition, Lippincott Williams & Wilkins, EUA, 2006.

Beiko, Lander, Hampson, Boon, Cain (2004) Contribution of sex differences in the acute stress response to sex differences in water maze performance in the rat; Behavioral Brain Research; 151: 239-253.

Bell C., Abrams J. (2001) Tryptophan depletion and its implications of psychiatry; British Journal of Psychiatry; 178:399-405.

Bell Caroline, Abrams Jolane, Nutt David (2003) Tryptophan depletion and its implications for psychiatry; British Journal of Psychiatry; 178:;399-405.

Berridge KC (2000) Measuring hedonic impact in animals and infants: microstructure of affective taste reactivity patterns; Neuroscience and biobehavioral reviews; 24:173-198.

Berthoud Hans- Rudolf (2002) Multiple neural systems controlling food intake and body weight; *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 26:393-428.

Bianco Antonio C., Maia Ana Luiza, Seixas da Silva Wagner, Christoffolete (2005) Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure; *Bioscience Report* 25(3/4):191-208.

Blenneman, Leahy, Kim, Freake (1995) Tissue-specific regulation of lipogenic mRNAs by thyroid hormone; *Molecular Cell Endocrinology*; 12:2406-2417.

Bornstein SR, Schuppenies A, Wong M-L, Licinio J.(2006) Approaching the shared biology of obesity and depression: the stress axis as the locus of gene-environment interactions; *Molecular Psychiatry* 11:892-902.

Broberger C.(2005) Brain regulation of food intake and appetite: molecules and networks; *Journal of Internal Medicine*; 258:301-327.

Charli- Joseph L. (2005) Análisis de la conducta alimentaria y el estado nutricional en mujeres de edad fértil de Ixtenco, Tlaxcala. Tesis Licenciatura Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México

Coskun Sule, Özer Çigdem, Gönül Bilge, Take Gülnur, Erdogan Deniz (2006) The effect of repeated tryptophan administration on body weight, food intake, brain lipid peroxidation and serotonin immunoreactivity in mice; *Molecular and Cellular Biochemistry*;286(1-2):133-138

Cousin, Cinti, Morroni (1992) Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization; *Journal Cell Science.*; 103:931-42.

De Gortari y Joseph-Bravo (2006) Neuroendocrinocrine regulation of energy homeostasis; *Molecular Endocrinology*; 661(2): 65-85

Del Ángel Meza, Feria-Velasco, Ontiveros-Martínez, Gallardo, Gonzalez-Burgos, Beas-Zárate (2001) Protein and typtophan restricted diets induce changes in rat gonadal hormone levels; *Journal of Nutritional Biochemistry*; 12:192-199.

Del Piagi, Chen, Gautier (2002) Sex differences in the human brain's response to hunger and satiation; *Am J Clin Nutr*; 75:1017-22.

Du, Higginbotham, White (2000) Food intake, energy balance and serum leptin concentrations in rats fed low protein diet; *Journal of Nutrition*; 130:514-21.

Elvedrin Juan, Chiarenza A.P., Luchelli M.A., Vatta M., Bianciotti L.G., Boyer P., Vacas M.I. (2006) Protein free diet feeding: effects on sympathetic activity and salivary evoked secretion in the submandibular gland of the rat; in press

Fernstrom JD y Fernstrom MH (2001) Monoamines and protein intake: are control mechanisms designed to monitor a threshold intake or a set point?; *Nutritional Review*; 59:S60-S68

Fernstrom Jonh D. (2000) Can nutrient supplements modify brain function?; *American Journal of Clinical Nutrition*; 71(S1):1669S-73S.

Flier, Harris y Hollenberg (2000) Leptin, nutrition, and the thyroid: the why, the wherefore and the wiring; *Clinical Physiology*; 105:859-861.

García Vázquez Arlene Iskra (2006) El estrés psicológico modula la actividad de las neuronas TRHérgicas en el sistema límbico. Tesis Maestría Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Geary (2004) Is the control of fat ingestión sexually differentiated?; *Psychology and Behavior*; 83:659-671.

Hallem DJ, Haider S. (1996) Food restriction decreases serotonin and its synthesis rate in the hypothalamus; *NeuroReport*; 7:1153-1156

Harper AE, Peters JC (1989) Protein intake, brain aminoacids and serotonin concentrations, and protein self-selection; *Journal of Nutrition*; 119:677-689

Haider y Haleem (2000) Decreases of brain serotonin following a food restriction schedule of 4 weeks in male and female rats; *Medical Science Monitor*, 6(6): 1061-7.

Hasegawa Shu, Nishi Kyoko, Watanabe Arata, Overstreet David, Diksic Mirko (2006) Brain 5-HT synthesis in the Flinders Sensitive Line rat model of depression: An autoradiographic study; *Neurochemistry International*; 48: 358-366

Heike Hesse(2000) La desnutrición proteico-calórica y el sistema nervioso, www.scn.es/cursos/tropical/DESNUTRICION.htm

Herbert DC, Yashiro T, Muraki T (1993) Quantitative morphological an analysis of the pituitary gland in protein calorie malnourished rats; *Anat Record*; 235:121-125.

Hoog (1996) A Review of the validity and variability of the levated Plus-Maze as an animal model of anxiety; *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 54(1):21-30.

Instituto Nacional de Salud Pública (2000) Encuesta Nacional de Salud (ENSA) Tomo II: La Salud de los Adultos. México, D.F., INSP.

Joffe y Cohen (1998) Estrogen, serotonin and mood disturbance: where is the therapeutic bridge?; *Biological Psychiatry*; 44:798-811.

Joseph- Bravo, Uribe, Vargas, Pérez-Martínez, Zoeller, Charli (1998) Multifactorial modulation of TRH metabolism; *Cellular and Molecular Neurobiology*; 18(2): 231-247.

Joseph-Bravo (2004) Hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone neurons as transducers of energy homeostasis; *Endocrinology*; 145(11): 4813-5.

Kent, Mathew, Gorman (2002) Molecular targets in the treatment of anxiety; *Biol Psychiatry*; 52(10):1008-30

Koopmans, Guzik, van der Meulen, Dekker, Kogut, Kerr, Southern (2006) Effects of supplemental L-tryptophan on serotonin, cortisol, intestinal integrity and behavior in weaning piglets; *J. Anim. Sci.*; 84:963-971.

Lechan y Toni (1992) Thyrotropin-releasing hormone neural system in the central nervous system; En Nemeroff CB (ed): *Neuroendocrinology*. CRC Press; EUA pp:279-330.

Leibowitz y Alexander (1998) Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size and body weight; *Biological Psychiatry*; 44:851-864.

Lieberman, Wurtman, Chew (1986) Changes in mood after carbohydrate consumption among obese individuals. *American Journal of Clinical Nutrition*; 44:772-778.

Macht y Dettmer (2006) Everyday mood and emotions after eating chocolate bar or an apple; *Appetite*; 46:332-336.

Mayers y Watson (2004) Direct effect of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity; *Obesity Reviews*; 5:197-216.

Mc Gilvery (1970) *Biochemistry: a functional approach*. WB Saunders y Co. Philadelphia.

Muñoz de Chavez (1996) *Tablas de valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en Latinoamérica*, ed. Pax, México.

National Research Council, 1995. "Nutrient requirements of laboratory animals" Washington, DC. United States. Fourth revised edition, p13 Table 2-2.

ONU (2001) Obesity: preventing and managing the global epidemic; Geneva, World Health Organization (WHO), Technical Report Series No. 894

Petit Demouliere, Chenu, Bourin (2005) Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity; Psychopharmacology; 177:245-255.

Porsolt R., Le Pichon M., Jalfre M. (1977) Depression: a new model sensitive to antidepressant treatments; Nature; 266:730-732

Ramos, Vilanova Teixeira, Fonseca Passos, Cabanellas Pazos-Moura, Lisboa PC, Henrique Curty, Gaspar de Moura(2000) Low protein diet changes thyroid function in lactating rats; Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine; 224(4):256-63.

Rivera Juan y Sepúlveda Jaime (2003) Conclusiones de la Encuesta Nacional de Nutrición 1999: traduciendo resultados en políticas públicas sobre nutrición; Salud pública de México; vol.45, suplemento 4

Sánchez- Castillo C.P., Lara J.J., Villa A.R., Aguirre J., Escobar M., Gutiérrez H., Chávez A., James W.P.T. (2001) Original communication: Unusually high prevalence rates of obesity in four Mexican rural communities; European Journal of Clinical Nutrition; 55:833-840.

Shansky , Glavis-Bloom, Lerman (2004) Estrogen mediates sex differences in stress-induced prefrontal cortex dysfunction; Molecular Psychiatry; 9:531-8.

Shi, Levy, Lightman (1992) The effect of dietary protein on thyrotropin-releasing hormone and thyrotropin gene expression; Brain Research; 606:1-4.

Smallridge, Glass, Wartofsky (1982) Investigations into the etiology of elevated serum T₃ level in protein-malnourished rats; Metabolism;31:538-542.

Smart, Tolle, Low (2006) Glucocorticoids exacerbate obesity and insulin resistance in neuron-specific proopiomelanocortin-deficient mice, Physiology of Behavior;79:3-12.

Smigra y Torii (2003) Prolonged treatment with L-lysine and L-arginine reduces stress-induced anxiety in a EPM; *Nutritional Neuroscience*; 6(2):125-128.

Smriga, Ghosh, Mounemne, Pellett, Scrimshaw (2004) Lysine fortification reduces anxiety and lessens stress in family members in economically weak communities in Northwesy Syria; *PNA*; 101(2):8285-88.

Smriga, Kameishi, Uneyama, Torii (2002) Dietary L-lysine deficiency increases stress-induced anxiety and fecal excretion in rats; *Journal of Nutrition*; 132:3722-46.

Steiger Howard (2004) Eating disorders and the serotonin connection: state, trait and developmental effects; *Rev Psychiatr Neurosci*; 29(1): 20-29.

Stephenson, Latham, Ottesen (2000) Global malnutrition; *Parasitology*;121:S5-S22.

Tome Daniel (2004) Protein, amino acids and the control of food intake; *British Journal of Nutrition*; 92 Suppl. 1, S27-S30

Treit D., Pinel J., Fibiger H.(1981) Conditioned defensive burying: a new paradigm for the study of anxiolytic agents; *Pharmac Biochem Behav.*; 15:619-626.

Uribe RM, Redondo JL, Charli JL, Joseph-Bravo P. (1993) Suckling and cold stress rapidly and transiently increase TRH mRNA in the paraventricular nucleus. *Neuroendocrinology*; 58:140-145.

Van Haasteren, Linkels, Van Toor, Wklootwijk, Kaplein, Jong, Reymond, Visser, Greef (1996) Effects of long term food reduction on the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in male and female rast; *Journal of endocrinology* 150(2):169-178.

Villalobos JM (1999), *Alimentación para una Buena salud*, OPS-OMS

Wagener, Schmitt, Asku, Schlote, Neuschl, Gudrun, Brockman (2006) enetic, sex and diet effects on body weight and obesity in Berlin Fat Mouse Inbred lines; *Physiology and Genomics*; 27:264-270.

Waselus Maria, Galvez Juan, Valentino Rita, Van Bockstaele Elisabeth J. (2006) Differential projections of dorsal raphe nucleus neurons to the lateral septum and striatum; *Journal of Chemical Neuroanatomy*; 31(4) 233-242.

Woods, Goton, Clegg (2003) Gender differences in energy homeostasis; *Experimental biology and medicine*; 228(10):1175-80.

Wurtman JJ, Moses RJ, Wurtman RJ (1983) Prior carbohydrate-consumption affects the amount of carbohydrate that rats choose to eat; *Journal of Nutrition*; 113:70-78

Wurtman RJ, Wurtman JJ, Regan MM, McDemott JM, Tsay RH, Breu JJ (2003) Effects of normal meals rich in carbohydrates or proteins on plasma tryptophan and tyrosine ratios; *American Journal of Clinical Nutrition*; 77:128-132

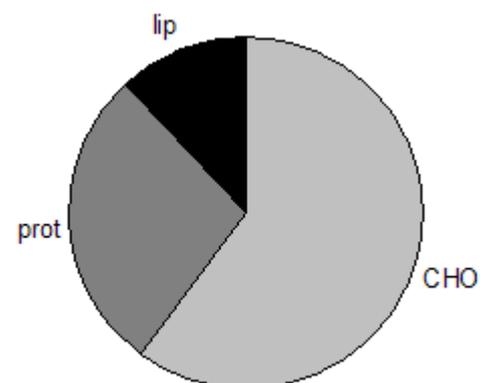
Yen Paul M. (2001) Physiological and molecular basis of thyroid hormone action; *Physiological Reviews*; 81(3):1097-1142.

Young Simon (1996) Behavioral effects on dietary neurotransmitter precursors: basic and clinical aspects; *Neuroscience and behavioral reviews*; 20 (2):313-323.

ANEXO 1

Información nutricional de Purina chow 5001.

	100 gr chow
Kcal	304
Hidratos g	49.9
Proteína g	23.4
Lípidos g	10
Ácido ascórbico (Vit C) mg	0
Acido fólico mcg	0
Calcio mg	950
Cobalamina mcg	-
Fósforo mg	670
Hierro mg	27
Magnesio mg	210
Niacina (Vit B3) mg	12.4
Piridoxina (Vit B6)mg	0.6
Potasio mg	1001
Retinol (Vit A) mcg	6.6
Riboflavina (Vit B2) mg	0.8
Sodio mg	400
Tiamina (Vit B1) mg	1,7
Zinc mg	7

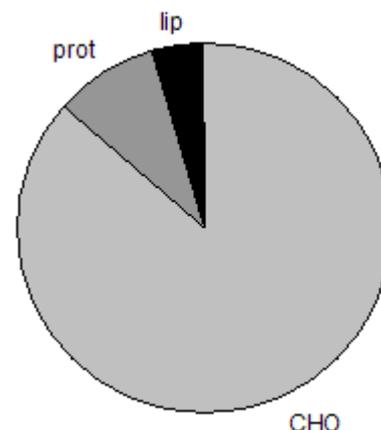


Contenido de aminoácidos

aminoácido	gr aa en 100 gr proteína
Arginina	1.38
Fenilalanina	1.03
Histidina	0.55
Isoleucina	1.18
Leucina	1.70
Lisina	1.42
Metionina	0.43
Treonina	0.91
Triptófano	0.29
Valina	1.21

Información nutricional de la tortilla hecha con Maseca.

	100 gr harina
Kcal	369
Hidratos g	75.4
Proteína g	8
Lípidos g	3.9
Ácido ascórbico (Vit C) mg	0
Acido fólico mcg	0
Calcio mg	108
Cobalamina mcg	-
Fósforo mg	111
Hierro mg	2.50
Magnesio mg	0
Niacina (Vit B3) mg	0.90
Piridoxina (Vit B6)mg	-
Potasio mg	-
Retinol (Vit A) mcg	1
Riboflavina (Vit B2) mg	0.08
Sodio mg	variable
Tiamina (Vit B1) mg	0.17
Zinc mg	2.5

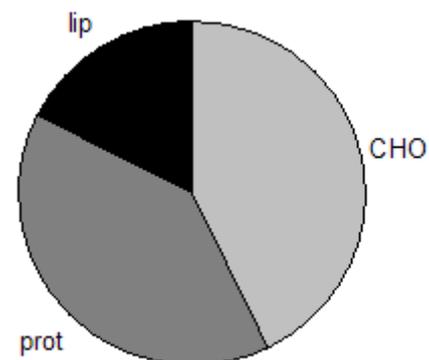


Contenido de aminoácidos

aminoácido	gr aa en 100 gr proteína
Arginina	0.247
Fenilalanina	0.258
Histidina	0.16
Isoleucina	0.351
Leucina	0.953
Lisina	0.147
Metionina	0.112
Treonina	0.24
Triptófano	0.032
Valina	0.31

Información nutricional de la harina de soya.

	100 gr harina
Kcal	36.6
Hidratos g	34.1
Proteína g	6.7
Lípidos g	
Ácido ascórbico (Vit C) mg	0
Acido fólico mcg	410
Calcio mg	263
Cobalamina mcg	0
Fósforo mg	593
Hierro mg	9.10
Magnesio mg	229
Niacina (Vit B3) mg	2.60
Piridoxina (Vit B6)mg	0.52
Potasio mg	2570
Retinol (Vit A) mcg	4
Riboflavina (Vit B2) mg	0.36
Sodio mg	18
Tiamina (Vit B1) mg	0.83
Zinc mg	1.18

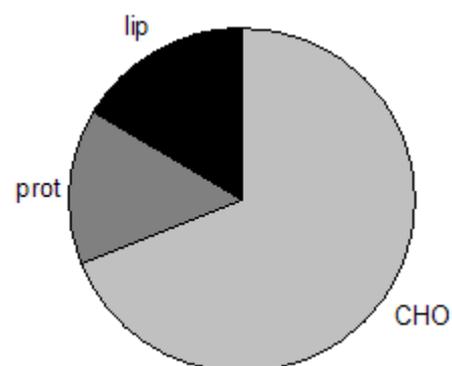


Contenido de aminoácidos

aminoácido	gr aa en 100 gr proteína
Arginina	3
Fenilalanina	2.05
Histidina	1.05
Isoleucina	1.89
Leucina	3.23
Lisina	2.65
Metionina	0.525
Treonina	1.60
Triptófano	0.532
Valina	1.99

Información nutricional del amaranto tostado (Vía Verde).

	100 gr amaranto
Kcal	383
Hidratos g	66
Proteína g	14
Lípidos g	7
Ácido ascórbico (Vit C) mg	0
Acido fólico mcg	-
Calcio mg	292
Cobalamina mcg	-
Fósforo mg	517
Hierro mg	1.60
Magnesio mg	-
Niacina (Vit B3) mg	1.10
Piridoxina (Vit B6)mg	-
Potasio mg	-
Retinol (Vit A) mcg	0
Riboflavina (Vit B2) mg	0.32
Sodio mg	-
Tiamina (Vit B1) mg	0
Zinc mg	-

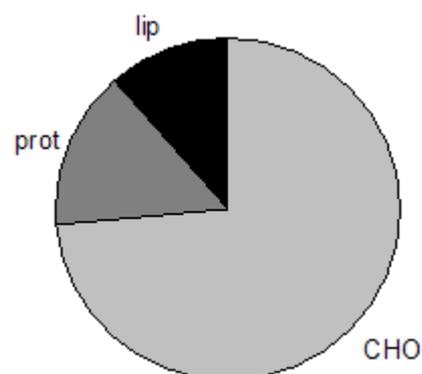


Contenido de aminoácidos

aminoácido	gr aa en 100 gr proteína
Arginina	1.45
Fenilalanina	0.71
Histidina	0.451
Isoleucina	0.69
Leucina	1.03
Lisina	0.97
Metionina	0.34
Treonina	0.676
Triptófano	0.051
Valina	0.842

Información nutricional de las tortillas de Maseca + harina de soya (1:0.29)

	100 gr masa
Kcal	366
Hidratos g	66.5
Proteína g	13.9
Lípidos g	4.5
Ácido ascórbico (Vit C) mg	-
Acido fólico mcg	92.9
Calcio mg	140
Cobalamina mcg	-
Fósforo mg	319
Hierro mg	5
Magnesio mg	51.9
Niacina (Vit B3) mg	1.5
Piridoxina (Vit B6)mg	0.11
Potasio mg	582
Retinol (Vit A) mcg	1.6
Riboflavina (Vit B2) mg	0.11
Sodio mg	4.8
Tiamina (Vit B1) mg	0.35
Zinc mg	2.1

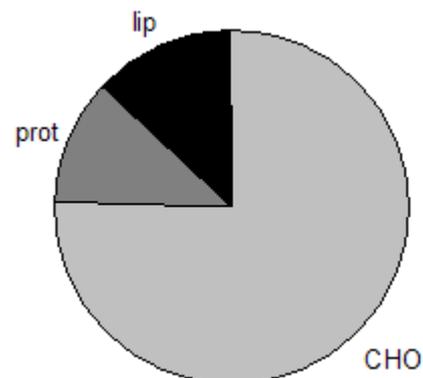


Contenido de aminoácidos

aminoácido	gr aa en 100 gr proteína
Arginina	1.76
Fenilalanina	1.24
Histidina	0.65
Isoleucina	1.20
Leucina	2.2
Lisina	1.52
Metionina	0.34
Treonina	1
Triptófano	0.30
Valina	1.23

Información nutricional de las tortillas de Maseca + amaranto tostado (1:1)

	100 gr masa
Kcal	376
Hidratos g	70.7
Proteína g	11
Lípidos g	5.45
Ácido ascórbico (Vit C) mg	0
Acido fólico mcg	0
Calcio mg	200
Cobalamina mcg	0
Fósforo mg	314
Hierro mg	2.05
Magnesio mg	0
Niacina (Vit B3) mg	1
Piridoxina (Vit B6)mg	-
Potasio mg	-
Retinol (Vit A) mcg	0.5
Riboflavina (Vit B2) mg	0.2
Sodio mg	0
Tiamina (Vit B1) mg	0.085
Zinc mg	1.25



Contenido de aminoácidos

aminoácido	gr aa en 100 gr proteína
Arginina	2
Fenilalanina	1.09
Histidina	0.7
Isoleucina	1.1
Leucina	2
Lisina	1.3
Metionina	0.5
Treonina	1.03
Triptófano	0.09
Valina	1.3

ANEXO 2

Requerimientos alimenticios necesarios para la manutención de ratas según NCR 1995.

TABLE 2-2 Estimated Nutrient Requirements for Maintenance, Growth, and Reproduction of Rats

Nutrient	Unit	Amount, per kg diet		
		Mainte- nance	Growth	Repro- duction (Female)
Fat	g	50.0	50.0	50.0
Linoleic acid (n-6)	g	^a	6.0 ^a	3.0 ^a
Linolenic acid (n-3)	g	R	R	R
Protein	g	50.0 ^b	150.0 ^b	150.0
Amino Acids ^c				
Arginine	g	ND	4.3	4.3
Aromatic AAs ^d	g	1.9	10.2	10.2
Histidine	g	0.8	2.8	2.8
Isoleucine	g	3.1	6.2	6.2
Leucine	g	1.8	10.7	10.7
Lysine	g	1.1	9.2	9.2
Methionine + cystine ^e	g	2.3	9.8	9.8
Threonine	g	1.8	6.2	6.2
Tryptophan	g	0.5	2.0	2.0
Valine	g	2.3	7.4	7.4
Other (including nonessentials)	g	^f	66.0	66.0
Minerals				
Calcium	g	^g	5.0	6.3
Chloride ^h	g	^g	0.5	0.5
Magnesium	g	^g	0.5	0.6
Phosphorus	g	^g	3.0	3.7
Potassium ^h	g	^g	3.6	3.6
Sodium	g	^g	0.5	0.5
Copper	mg	^g	5.0	8.0
Iron	mg	^g	35.0	75.0
Manganese	mg	^g	10.0	10.0
Zinc ⁱ	mg	^g	12.0	25.0
Iodine	µg	^g	150.0	150.0
Molybdenum	µg	^g	150.0	150.0
Selenium	µg	^g	150.0	400.00
Vitamins				
A (retinol) ^j	mg	^g	0.7	0.7
D (cholecalciferol) ^k	mg	^g	0.025	0.025
E (RRR-α-tocopherol) ^l	mg	^g	18.0	18.0
K (phyloquinone)	mg	^g	1.0	1.0
Biotin (d-biotin)	mg	^g	0.2	0.2
Choline (free base)	mg	^g	750.0	750.0
Folic acid	mg	^g	1.0	1.0
Niacin (nicotinic acid)	mg	^g	15.0	15.0
Pantothenate (Ca-d- pantothenate)	mg	^g	10.0	10.0
Riboflavin	mg	^g	3.0	4.0
Thiamin (thiamin-HCl) ^m	mg	^g	4.0	4.0
B ₆ (pyridoxine) ⁿ	mg	^g	6.0	6.0
B ₁₂	µg	^g	50.0	50.0

ANEXO 3

Resumen de los datos obtenidos en ambos experimentos.

	Experimento 1						Experimento 2					
	Machos			Hembras			Machos			Hembras		
	ISO	TAL	TCAL	ISO	TAL	TCAL	B	C	D	B	C	D
Kcal/kg	-	↑↑	↑	-	↑↑	↑	-	↓	-	-	↓	↓
CHO/kg	-	↑↑	↑	-	↑↑	↑	-	↓	↑	-	↓	↓
Prot/kg	↓↓	↓↓	↓	↓↓	↓↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Lip/kg	↓↓	↓↓	↓	↓↓	↓↓	↓	-	↓	↓	↓	↓	↓
Trp/kg	↓↓	↓↓	↓	↓↓	↓↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Lys/kg	↓↓	↓↓	↓	↓↓	↓↓	↓	-	↓	↓	-	↓	↓
Peso corporal	-	↑	↑	-	↑	↑	-	-	-	-	↑	↑

Al compararlos en el experimentos 1 con el control y en el experimento 2 con el grupo A. Las flechas hacia arriba indican un aumento, las fechas hacia abajo indican un decremento, y las flechas en gris indican los datos obtenidos por Álvarez-Salas.