



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**“ EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA (ANSIEDAD) POR EL CONSUMO A LARGO PLAZO DE DIETAS HIPOCALÓRICAS A TEMPERATURAS DE 40°C Y 50°C ,DEFICIENTES DE VITAMINA C EN RATAS CEPA WISTAR (45 DÍAS)”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**CALEB VALDOVINOS AYALA**

**ASESOR: DRA. RUTH BUSTAMANTE GARCÍA**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2016**



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Evaluación de la conducta (ansiedad) por el consumo a largo plazo de dietas hipocalóricas a temperaturas de 40°C y 50°C, deficientes de vitamina C en ratas cepa Wistar (45 días).

Que presenta el pasante: **Caleb Valdovinos Ayala**

Con número de cuenta: **302179611** para obtener el Título de la carrera: Química Farmacéutico Biológica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de Noviembre de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Luisa Martínez Aguilar	
VOCAL	Dra. Ruth Bustamante García	
SECRETARIO	Dra. Jazmín Flores Monroy	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Jessica G. Filisola Villaseñor	
2do. SUPLENTE	L.F. Raúl Sampieri Cabrera	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/cga\*

## **AGRADECIMIENTOS:**

Quiero agradecer infinitamente el apoyo de mi familia que en todo momento me impulso, me apoyo y confió en mí. A mi madre linda por ser mi gran apoyo y quien siempre está ahí en los buenos y malos momentos quien siempre confía y me apoya en cada decisión. A mi Padre por su gran apoyo, paciencia y por siempre luchar para que no nos falte nada estoy muy agradecido por su gran apoyo. Mi hermano que siempre es quien siempre se preocupa por mi como yo me preocupo por el y por estar en las buenas, en las malas y en las fiestas.

A la doctora Ruth y al doctor Atonatiu, por sus sabios consejos por que aparecieron en una etapa muy difícil de mi vida y me brindaron su amistad su sabiduría y mas que profesores los quiero como amigos se ganaron mi corazón por ser tan excelentes personas, nunca olvidare todo lo que hicieron por mí y mi amistad para con ustedes es y será por muchos años más. A mí querida Janeth porque me caíste del cielo eres una gran amiga y excelente mujer la más inteligente de todas, te agradezco los jalones de oreja desde que hicimos el servicio social. Son de las personas que aparecen en tu vida y nunca se van de tu corazón.

A la familia García (Don Juan, Mama Amparo, Michel, Gyssel, al pequeño Dominic y a mi querida amiga Miriam) porque siempre están conmigo son mi segunda familia, son excelentes personas que me hacen sentir parte de su familia con sus consejos, regaños y siempre confiaron en mí y siento a cada momento su apoyo incondicional los AMO.

Arturo, Angelica, Mia y a mi alegría el pequeño Dylan, que son mi familia y siempre cuento con ustedes y ustedes siempre contarán conmigo, su pequeño bebe llego a alegrarme mis días con su sonrisa y sus travesuras es el motivo por que cada mañana no se me hace tarde y me hace los días con cada ocurrencia y maldad que hace cada vez que lo veo.

A mis queridos amigos de toda la vida: edmers (rojo y azul), por su amistad incondicional, Sr. Fernando su esposa y a sus hijos Jair, Jaqueline, Alberto por su amistad y por el gran apoyo que hicieron para conmigo en cada momento.

Mely porque siempre me impulso a estudiar y a acabar mi carrera, jamás te olvidare eres la niña mas importante en toda mi vida.

A mi queridísima amiga hermana Mayren porque siempre está conmigo en las buenas y en las malas y en las fiestas TE AMO.

A mi amigo Adrian por ser quien siempre me está regañando jajaja.

A mi primo Alex por que nos sonsacábamos mutuamente.

A mi hermanito del alma, Andrés Ayala ya hasta me da miedo ir a tenexpa contigo, a Mariel y el buen Yeudiel por ser como hermanos para mí.

A la banda de toda la vida: Sandro, Bati, Manuel, Sabino, Jefe Guerrero, Ito, Tito, Chris, Valeria, Priscila, Belinda, pimpón, Piri, Rodrigo, Toño, Mariel, Negry, Lui.

La Banda de la Fesc Veronica, Nayeli, Lizz, Efren (el negro), Ludho, chapu, Pollo, Omar, Pacheco, Tania, Edgar, Chucho, Laura, Tony gracias por tantos bellos recuerdos de la universidad.

GRACIAS POR SU APOYO Y POR CREER EN MÍ.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁGINA
ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE GRAFICAS	8
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	9
1.-RESUMEN	11
2.-ANTECEDENTES	12
2.1.- DEFINICIÓN DE DIETA	12
2.1.1.- DIETAS HIPOCALÓRICAS	12
2.2.- MODIFICACIONES DE LAS PROTEÍNAS EN LA DIETA	13
2.2.1.- DESNATURALIZACIÓN PROTÉICA	13
2.2.2.- AGENTE CALOR EN LA DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS	13
2.3.- VITAMINA C	14
2.4.- ANSIEDAD	15
2.4.1.- CLASIFICACIÓN DE LA ANSIEDAD	16
2.4.2.- NEUROANATOMÍA DE LA ANSIEDAD	17
2.5.- APROXIMACIONES EXPERIMENTALES	17
2.5.1.- EXPERIMENTACIÓN ANIMAL	18
3.- OBJETIVO GENERAL	20
3.1.- OBJETIVOS PARTICULARES	20
4.- HIPÓTESIS	20
5.- MATERIAL	21
5.1.- INSTRUMENTOS, EQUIPOS Y MATERIAL	21
5.1.1.- REACTIVOS QUIMICOS	21
5.1.2.- MATERIAL BIOLÓGICO	21
5.1.3.1.- ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	21

5.1.3.2.- ALIMENTO PARA LA EXPERIMENTACIÓN	21
5.1.3.2.1.- ALMACENAMIENTO DE LA ALIMENTACIÓN	23
5.2.- MÉTODOS	23
5.2.1.- MARCADO Y DISTRIBUCIÓN DE LOTES	23
5.2.2.- MÉTODOS PARA EVALUAR ANSIEDAD	23
5.2.2.1.- MODELO LUZ-OSCURIDAD ( WHITE-BLACK)	23
5.2.2.2.- PRUEBA MODELO DE ESFERAS	24
5.2.2.3.- ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ ( MONITOREO DE LA ACTIVIDAD ESPONTANEA)	25
5.2.3.- PRUEBAS PARA EVALUAR CAMBIOS HEMATOLÓGICOS	26
5.2.3.1.- TOMA DE MUESTRA	26
5.2.3.2.- DETERMINACIÓN DE GLUCOSA	26
5.2.3.2.1.- ESQUEMA DE LA REACCIÓN QUÍMICA	26
5.2.3.2.2.- METODOLOGÍA GLUCOSA	27
5.2.3.3.- DETERMINACIÓN DE COLESTEROL	27
5.2.3.3.1.- ESQUEMA DE LA REACCIÓN QUÍMICA	27
5.2.3.3.2.- METODOLOGÍA COLESTEROL	27
5.2.3.4.- DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS	27
5.2.3.4.1.- ESQUEMA DE LA REACCIÓN QUÍMICA	27
5.2.3.4.2.- METODOLOGÍA TRIGLICÉRIDOS	28
5.3.- DISEÑO EXPERIMENTAL	29
6.- RESULTADOS	30
7.- DISCUSIÓN	50
8.- CONCLUSIONES	53
9.- REFERENCIAS	54

<b>Índice de figuras</b>	<b>página</b>
<b>FIGURA 1.</b> Estructura del ácido L-ascórbico (vitamina C) y reacción de oxidación en la que se convierte en dehidroascórbico.	15
<b>FIGURA 2.</b> Modelo luz-oscuridad (White-black)	24
<b>FIGURA 3.</b> Modelo de esferas	25
<b>FIGURA 4.</b> Mostrador automático para evaluar la actividad locomotriz	25

<b>Índice de tablas</b>	<b>página</b>
<b>TABLA 1.</b> Aporte a las ingestas recomendadas (humano)	13
<b>TABLA 2.</b> Comparación de los trastornos de ansiedad entre el ICD-10 y el DSM-IV.	16
<b>TABLA 3.</b> Como se pueden modelar los síntomas de los trastornos de ansiedad en roedores	18
<b>TABLA 4.</b> Alimentación utilizada como dieta normal	21
<b>TABLA 5.</b> Alimentación que se utilizará como dieta referencia	22
<b>TABLA 6.</b> Alimentación que se utilizará como dieta hipocalórica expuesta a temperaturas de 4°C, 40°C y 50°C.	22
<b>TABLA 7.</b> Almacenamiento de dieta hipocalórica	23
<b>TABLA 8.</b> Distribución de las ratas en los 5 lotes	23
<b>TABLA 9.</b> Concentraciones plasmáticas de glucosa, triglicéridos y colesterol	49

<b>Índice de graficas</b>		<b>pagina</b>
<b>GRAFICA 1</b>	Peso de las ratas	30
<b>GRAFICA 2</b>	Permanencia en área blanca	31
<b>GRAFICA 3</b>	Levantamientos área blanca	32
<b>GRAFICA 4</b>	Acicalamientos área blanca	33
<b>GRAFICA 5</b>	Porcentaje de permanencia en área blanca	34
<b>GRAFICA 6</b>	Transiciones área blanca	35
<b>GRAFICA 7</b>	Permanencia en área oscura	36
<b>GRAFICA 8</b>	Levantamientos área oscura	37
<b>GRAFICA 9</b>	Porcentaje de permanencia en área oscura	38
<b>GRAFICA 10</b>	Transiciones área oscura	39
<b>GRAFICA 11</b>	Acicalamientos área oscura	40
<b>GRAFICA 12</b>	Esferas enterradas	41
<b>GRAFICA 13</b>	Latencia de enterramiento	42
<b>GRAFICA 14</b>	Actividad total	43
<b>GRAFICA 15</b>	Actividad ambulatoria	44
<b>GRAFICA 16</b>	Actividad vertical	45
<b>GRAFICA 17</b>	Determinación de glucosa	46
<b>GRAFICA 18</b>	Determinación de triglicéridos	47
<b>GRAFICA 19</b>	Determinación de colesterol	48

## SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

-	menos
+	mas
=	igual
%	por ciento
±	mas-menos
®	marca registrada
°C	Grados Celsius
<b>4-AAP</b>	Aminoantipirina
<b>CE</b>	Ester de colesterol
<b>cm</b>	centímetros
<b>CO</b>	Colesterol Oxidasa
<b>DHBS</b>	Acido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfonico
<b>DSM-IV</b>	Manual diagnostico y estadístico de los trastornos mentales IV
<b>E.L.N.</b>	Extracto libre de nitrógeno
<b>E.E</b>	Error Estándar
<b>g</b>	gramos
<b>GK</b>	Glicerol Quinasa
<b>Glut</b>	Transportador de glucosa
<b>GPO</b>	Glicerol Fosfato Oxidasa
<b>H</b>	Hidrogeno
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido
<b>HDL</b>	Lipoproteína de alta densidad
<b>HIF-1 α</b>	Factor de hipoxia inducible 1- α
<b>HPO</b>	Peroxidasa de rábano picante
<b>ICD-10</b>	International Classification of Diseases (clasificación internacional de enfermedades)

<b>Kg</b>	kilogramos
<b>LC</b>	Locus Coerulus
<b>max</b>	máxima
<b>mg</b>	miligramos
<b>min</b>	minuto
<b>nm</b>	nanómetros
<b>n.s</b>	no significativo
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>s</b>	segundo
<b>SNA</b>	Sistema Nervioso Autónomo
<b>SVCT2</b>	Transportador dependiente de sodio 2
<b>W</b>	cepa Wistar

## 1.-RESUMEN

Los alimentos son trascendentales para la existencia humana, por lo que se requiere de un especial cuidado, como es el almacenaje a temperaturas idóneas para el aumento del tiempo de su vida útil, lo que conlleva al mantenimiento de sus cualidades nutricionales.

Sin embargo cuando las condiciones de almacenaje no son las adecuadas, como es en el caso de un aumento excesivo de temperatura, puede ocasionar que el valor nutricional se vea afectado, lo cual al ser ingerido puede no proporcionar las cantidades estándar sugeridas para el consumo diario de nutrientes o nutrimentos como son: carbohidratos, proteínas, minerales, vitaminas, grasa y agua; pudiendo ocasionar una malnutrición que puede derivar no solo en trastornos fisiológicos sino conductuales, como la ansiedad, la depresión, trastornos obsesivos compulsivos o deficiencias en la memoria.

Por lo tanto para evaluar el efecto de la temperatura (40°C y 50 °C) y deficiencia de la vitamina C en la conducta (ansiedad) se utilizaron 30 ratas cepa Wistar recién destetadas

Se registró su peso corporal durante 30 días, y tuvo acceso libre de agua y se mantuvieron bajo las condiciones que indica la NOM 062-Z00-199 (especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y las normas internacionales). Se les determinó las concentraciones plasmáticas de glucosa, colesterol y triglicéridos, donde se comparan los resultados de los lotes controles y los lotes bajo las condiciones de dieta.

Posteriormente se realizaron las pruebas para evaluar ansiedad mediante el modelo de enterramiento de esferas por 15 minutos, modelo luz-oscuridad (black-White) durante 10 min y la actividad locomotriz durante 5 min.

Se recabaron los datos y se analizaron mediante la prueba de ANOVA de una vía, para observar y comparar los resultados obtenidos. Donde se observó que las ratas pertenecientes a los lotes alimentadas con las dietas hipocalóricas expuestas a 40°C y 50°C, muestran un mayor grado de ansiedad en comparación con los lotes control contra los cuales se compararon los resultados.

## **2.-ANTECEDENTES**

Los alimentos son trascendentales para la existencia humana, por lo que se requiere de un especial cuidado, como es el almacenaje a temperaturas idóneas para el aumento del tiempo de su vida útil, lo que conlleva al mantenimiento de sus cualidades nutricionales.

Para poder proporcionar a cada persona o grupo de personas los alimentos necesarios para su adecuado desarrollo, según su estado fisiológico y sus circunstancias se lleva mediante dietas (Buss, 1987).

### **2.1.-DEFINICIÓN DE DIETA**

Se define como el conjunto y cantidades de los alimentos o mezclas de alimentos que se consumen habitualmente, aunque también puede hacer referencia al régimen que, en determinadas circunstancias, realizan personas sanas, enfermas o convalecientes en el comer y beber. Solemos decir: “estar a dieta” como sinónimo de una privación parcial o casi total de comer. La Dietética estudia la forma de proporcionar a cada persona o grupo de personas los alimentos necesarios para su adecuado desarrollo, según su estado fisiológico y sus circunstancias. Es decir, interpreta y aplica los principios y conocimientos científicos de la Nutrición elaborando una dieta adecuada para el hombre sano y enfermo (Fontanilla, 2006).

Como dietas adecuadas, equilibradas o saludables se define aquellas que contienen la energía y todos los nutrientes en cantidad y calidad suficientes para mantener la salud. Los componentes de los alimentos que están relacionadas con algunas de las importantes funciones que realiza nuestro organismo se conocen con el nombre de nutrientes. Así, un nutriente es toda sustancia, de estructura química conocida, esencial para el mantenimiento de la salud que, sin embargo, a diferencia de otras, no puede formarse o sintetizarse dentro de nuestro cuerpo, por lo que debe ser aportada desde el exterior, a través de los alimentos y de la dieta. Además, si no se consume en cantidad y calidad suficientes, puede dar lugar a algún tipo de desnutrición, y manifestarse en algún tipo de enfermedad algunas por mencionar son el beri-beri, la pelagra, el escorbuto, etc. Por tanto, para que la dieta sea correcta y equilibrada tienen que estar presentes en ella la energía y todos los nutrientes en las cantidades adecuadas y suficientes para cubrir las necesidades y mantener la salud (Fontanilla, 2006).

Existen diferentes tipos de dietas, este tema será enfocado en las dietas hipocalóricas.

#### **2.1.1.-DIETAS HIPOCALÓRICAS**

Las dietas hipocalóricas son aquellas que aportan menos calorías de las que nuestro organismo necesita, pero tienen que seguir suministrando igual cantidad de nutrientes (véase la Tabla 1) y cumplir los criterios de calidad nutricional exigibles a cualquier otra dieta (Carbajal, 2005).

Tabla 1.- **APORTE A LAS INGESTAS RECOMENDADAS (HUMANO)(Carbajal, 2005).**

	<b>APORTE A LAS INGESTAS RECOMENDADAS</b>			
	Calorías	Proteína	Calcio	Vitamina C
Dieta habitual	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
Dieta hipocalórica	<b>75</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Las dietas hipocalóricas se siguen utilizando para conseguir pérdidas de peso en pacientes con problemas de sobrepeso u obesidad. Ello es debido a que ocasionan una pérdida de peso que redundará en una pérdida de masa grasa (Vilaplana, 2005).

Sin embargo cuando las condiciones de almacenaje de los alimentos no son las adecuadas, como es en el caso de un aumento excesivo de temperatura, puede ocasionar que el valor nutricional de la dieta se vea afectado ya que las proteínas de la dieta sufren modificaciones.

## **2.2.-MODIFICACIONES DE LAS PROTEÍNAS EN LA DIETA**

Las proteínas están formadas por cadenas de aminoácidos unidos por enlace peptídico. Algunos de estos aminoácidos son esenciales, es decir, debemos incorporarlos con la dieta. Además de su función desde el punto de vista nutricional, las proteínas otorgan textura y sabor a los alimentos, las proteínas sufren modificaciones como son el fraccionamiento y la desnaturalización proteica (Lupano, 2013). La investigación siguiente está enfocada en la desnaturalización proteica.

### **2.2.1.-DESNATURALIZACIÓN PROTÉICA**

En la desnaturalización de proteínas se pasa de un estado ordenado a uno desordenado, sin romper ninguna unión peptídica. Se producen modificaciones en la conformación de las proteínas (estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria), y desenmascaramiento de zonas hidrofóbicas, dando como resultado el desplegamiento de la molécula (Lupano, 2013).

Desde el punto de vista nutricional, se modifica la digestibilidad: en general la digestibilidad aumenta, ya que al desplegarse quedan más sitios expuestos al ataque de las proteasas. La digestibilidad puede disminuir si el desplegamiento de la proteína va seguido de agregación. Uno de los agentes que participa en la desnaturalización proteica es el factor temperatura (calor) (Lupano, 2013).

### **2.2.2.-AGENTE CALOR EN LA DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS**

La aplicación de calor es uno de los agentes desnaturalizantes que se utilizan con mayor frecuencia en alimentos ya que facilita la digestión de las proteínas, y logra desnaturalizar los inhibidores de proteasas que frecuentemente se hallan en alimentos basados en proteínas de leguminosas. La aplicación de calor afecta la estabilidad de las interacciones no-covalentes de la estructura tridimensional de las proteínas, pues se eleva la entalpía de la molécula y se rompe el delicado balance

de los enlaces que mantienen el equilibrio, esto afecta las propiedades funcionales del alimento (Badui, 2006).

Dentro de esta investigación a realizar, se evaluará la conducta de nuestras ratas, exponiendo su alimentación basada en una dieta deficiente de vitamina C, ya que se ha encontrado información donde se demuestra que la deficiencia de tal vitamina, está relacionada con problemas conductuales tal como lo es la ansiedad.

### **2.3.-Vitamina C**

Las vitaminas son un grupo de sustancias orgánicas de variada estructura, sin valor energético propio, necesarias en pequeñas cantidades que el organismo es incapaz de sintetizar (Entrala, 1995).

Las vitaminas realizan dentro de la fisiología humana, funciones muy específicas: actúan como hormonas, catalizadores de reacciones celulares, coenzimas en el metabolismo de los macronutrientes entre otras funciones (Marin, 2000).

Se dividen clásicamente en dos grupos en función de su solubilidad en disolventes: vitaminas liposolubles y vitaminas hidrosolubles. La vitamina C se encuentra dentro de las vitaminas hidrosolubles, estas vitaminas tienen como características que se disuelven en agua y se destruyen fácilmente por la acción del calor y la exposición prolongada a la luz solar, no se almacenan en el organismo y se desechan vía renal (Entrala, 1995).

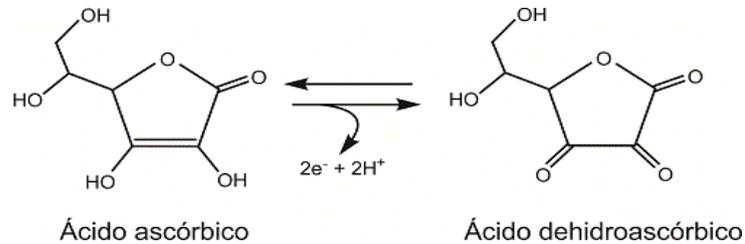
Otras de sus funciones están relacionadas con el metabolismo, actúa como un potente agente reductor y antioxidante.

Es una de las vitaminas a la que se atribuyen mayor número de propiedades terapéuticas, aunque existen muchas líneas de investigación abiertas y queda mucho por demostrar. Las fuentes alimentarias de vitamina C son principalmente alimentos de origen vegetal: frutas, verduras y hortalizas, fresas, tomate crudo, perejil y pimientos crudos, cítricos, etc. En los productos de origen animal las cantidades son despreciables, exceptuando el hígado, que se considera una buena fuente de esta vitamina. En el procesamiento y conservación de los alimentos hay que tomar especiales precauciones, pues la vitamina C es de las más lábiles, siendo las pérdidas considerables e incluso totales. Puede destruirse por cambios de pH, por la luz, el calor, la oxidación y por la presencia de iones metálicos, especialmente cobre (Royo, 2013).

Ascorbato (vitamina C) es una molécula antioxidante vital en el cerebro. Sin embargo, también tiene una serie de otras funciones importantes, participa como co-factor en varias reacciones enzimáticas, incluyendo la síntesis de catecolaminas, la producción de colágeno, y la regulación de HIF-1 $\alpha$ . El Ascorbato es transportado hacia el cerebro a través de la vitamina C por medio del transportador dependiente de sodio 2 (SVCT2), con lo cual causa acumulación de Ascorbato dentro de las células contra un gradiente de concentración.

El Ácido dehidroascórbico (Figura 1), la forma oxidada del Ascorbato, se transporta a través de transportadores de glucosa de la familia GLUT. El Ascorbato se propone como un neuromodulador de glutamatérgico, dopaminérgico, colinérgicos,

y la transmisión GABAérgica y comportamientos relacionados. Las enfermedades neurodegenerativas implican típicamente altos niveles de estrés oxidativo y, por tanto el Ascorbato se ha relacionado por tener participación en funciones terapéuticas contra el accidente cerebro-vascular isquémico, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Huntington (Harrison, 2009).



**Figura 1.** Estructura del ácido *L*-ascórbico (vitamina C) y reacción de oxidación en la que se convierte en dehidroascórbico (<http://goo.gl/blpMAI>)

El cerebro es el mayor consumidor de oxígeno. Por consiguiente, es un sustrato importante para la oxidación de diversas especies nativas de oxígeno. En particular, la membrana neuronal es particularmente susceptible a la Peroxidación lípidica por su alto contenido de ácidos grasos poli-insaturados. La Peroxidación de las terminales nerviosas altera el transporte del neurotransmisor y subsecuentemente afecta el funcionamiento del SNC. Agregándose el daño que las especies reactivas de oxígeno pueden causar por estrés oxidativo y cambios vasculares, todo lo cual ha sido observado en el desorden del ánimo. Los antioxidantes sirven al organismo como mecanismos de defensa del organismo contra el estrés oxidativo, pero de forma interesante, la concentración de antioxidantes del cerebro es baja, lo cual puede favorecer un ambiente pro-oxidante. Los suplementos con altas dosis de antioxidantes han demostrado enlentecer la progresión del daño neuronal y la enfermedad vascular, y por consiguiente pueden ser efectivos en la prevención del desorden del ánimo, aunque es muy escasa la literatura al respecto. La vitamina C o ácido ascórbico es un potente antioxidante que es necesario para la prevención del estrés oxidativo, de hecho, ningún otro antioxidante reduce su nivel hasta que el ácido ascórbico se agote. Pequeños estudios han demostrado que suplementos altos en vitamina C reducen la severidad de los desórdenes del ánimo, así como las puntuaciones de depresión en individuos saludables (Bodnar, 2005).

Ya que existen artículos de investigación en los que se demuestra que la vitamina C, tiene participación y está involucrada en el desorden del ánimo, evaluaremos la ansiedad en nuestras ratas.

## 2.4.-ANSIEDAD

La ansiedad, es un mecanismo que nos permite adaptarnos a situaciones adversas que ponen en peligro la homeostasis o equilibrio corporal y psíquico de un individuo, está íntimamente relacionada a la idiosincrasia del mismo y puede presentarse ante diferentes circunstancias como el estrés ( Cofer,1987).

La ansiedad se presenta como una serie de trastornos psiconeuroticos, razón por la cual su explicación biológica o psicológica es difusa. Las manifestaciones fisiológicas que se presentan cuando la ansiedad ha dejado de ser un mecanismo de defensa, para convertirse en una situación patológica, se puede explicar mediante una hipótesis en la cual se cree que la ansiedad es capaz de estimular al sistema nervioso autónomo (SNA), produciendo descargas adrenérgicas las cuales son responsables de las manifestaciones fisiológicas presentadas por la ansiedad (File, 1996).

#### 2.4.1.-CLASIFICACIÓN DE LA ANSIEDAD

Con respecto a las dos nosologías psiquiátricas internacionales: The International Statistical Classification of diseases tenth revisión y al Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder American Psychiatric Association, los trastornos de ansiedad son clasificados de la siguiente manera (Tabla 2)

**Tabla 2. COMPARACION DE LOS TRASTORNOS DE ANSIEDAD ENTRE EL ICD-10 Y EL DSM-IV (Echeburua, 1996).**

ICD-10	DSM-IV
F40 Trastornos fóbicos F40.1 agorafobia F40.2 Fobia especifica	300.21 Trastorno de pánico con agorafobia 300.22 Agorafobia sin historia de trastorno de pánico 300.23 Fobia social
F41 otros trastornos de ansiedad F41.0 Trastornos de ansiedad F41.1 Trastornos de ansiedad generalizada F41.2 Trastorno mixto de ansiedad y depresión	300.29 Fobia especifica 300.01 Trastorno de pánico sin agorafobia 300.02 Trastorno de ansiedad generalizada 300.30 Trastorno obsesivo compulsivo
F42 Trastorno obsesivo compulsivo F43 Trastorno de estrés intenso y trastorno de adaptación F43.0 Reacción de estrés aguda F43.1 Trastorno de estrés postraumático F60.6 Trastorno de personalidad ansiosa (por evitación).	300.24 Trastorno adaptativo con estado de (animo ansioso) 300.81 Trastorno de estrés postraumático 300.82 Trastornos de personalidad por evitación

A pesar de la semejanza entre la clasificación de los trastornos, las diferencias existentes plantean las cuestiones conceptuales que aun no están resueltas y que corresponden a los limites de los trastornos de ansiedad y como pueden ser clasificados estos dentro de tales limites (Echeburua, 1996).

En la neuroanatomía y neuroquímica funcional, se contempla a las bases biológicas y químicas de la ansiedad como un entramado de redes neuronales, con lo cual es posible explicar la ansiedad en relación a diferentes sistemas de neurotransmisión.

## **2.4.2.-NEUROANATOMÍA DE LA ANSIEDAD**

Los circuitos neuronales que explican el mecanismo de la ansiedad, están organizados en diferentes niveles que indican las demandas para los procesos cognitivos. Entre las regiones cerebrales involucradas en el sustrato anatómico del sistema de inhibición del comportamiento, se encuentra la amígdala cerebral, en la cual se producen implicaciones sobre la expresión, condicionamiento de la extinción del miedo o ansiedad aguda, así como la responsable del condicionamiento clásico.

Otra región involucrada es el sistema septo-hipocampal, el cual se cree que está involucrado en la integración del conocimiento y mecanismos fisiológicos en reacciones defensivas.

La materia gris periaqueductal y locus coeruleus (LC) median la respuesta autonómica simple, además el LC ha sido implicado en la génesis de pánico. Por otro lado, en investigaciones realizadas con pacientes que sufrieron de trastornos como el estrés posttraumático, han demostrado que existe degeneración en el hipocampo. Aunado a esto, se ha determinado que los niveles elevados de ansiedad pueden causar daños estructurales cerebrales (Bustamante, 2012).

## **2.5.-APROXIMACIONES EXPERIMENTALES**

Históricamente, la investigación en animales principalmente roedores, ha sido fundamental en los esfuerzos para entender los sistemas neurales que regulan emociones, como estos sistemas presentan disfunciones en condiciones patológicas y como pueden ser moduladas terapéuticamente (Cryan, 2005).

A pesar de que roedores y humanos comparten más del 90% de su genes (Kumar, 2013), existen considerables diferencias anatómicas en cerebros de humano y roedor, como la corteza cerebral por lo que ciertos aspectos de la sintomatología que se expresa en el humano son imposibles de modelar en animales.

Sin embargo, la corteza cerebral no actúa de forma aislada, sino que esta íntimamente interconectada con estructuras subcorticales, bien conservadas en los mamíferos y organizadas estructuralmente de forma común en los cerebros de los vertebrados (Cryan, 2005).

Para evaluar si un procedimiento experimental en un animal tiene validez como modelo para evaluar ansiedad, debe contar con estos mínimos requisitos para su validez.

Debe ser razonablemente análogo a un trastorno humano en sus manifestaciones o sintomatología (Tabla 3); que provoque un cambio conductual que pueda ser monitoreado objetivamente; que produzca cambios conductuales que sean revertidos por las mismas modalidades de tratamiento que son efectivas en humanos; y que sea reproducible entre investigadores (Cryan, 2005).

**Tabla 3. Como se pueden modelar los síntomas de los trastornos de ansiedad en roedores (Cryan, 2005).**

SÍNTOMA	MODELO ANIMAL
Evitación de lugares de donde el escape puede ser difícil (agorafobia)	Alta evitación de áreas expuestas y bien iluminadas
Aparición repentina de miedo intenso, frecuentemente con dificultad respiratoria y miedo de "volverse loco" (ataque de pánico)	Conducta de escape de un depredador
Ansiedad provocada por situaciones sociales, llevando a una conducta de evitación ( fobia social)	Baja interacción social con congéneres desconocidos
Ansiedad provocada específicamente por un objeto de miedo, llevando a una conducta de evitación ( fobia específica)	Aversión condicionada al sabor
Re- experiencia de un evento traumático, llevando a un incremento en la activación y evitación de estímulos asociados con el evento ( trastorno de estrés post-traumático)	Aumento en la respuesta de freezing o congelamiento a una señal o contexto condicionados al miedo.
Obsesiones que provocan ansiedad y compulsiones que reducen la ansiedad ( trastorno obsesivo compulsivo)	Aumento en la conducta de enterramiento de canicas y acicalamiento excesivo
Dificultad para concentrarse o mente en blanco ( trastorno de ansiedad generalizada)	Deficiencias en la atención sostenida

Para la evaluación de la ansiedad en animales de laboratorio existen diferentes modelos, los cuales se basan en la conducta y etología de estos, como son conductas exploratorias, miedo a la luz-oscuridad, aversión a estímulos adversos (toques con corriente eléctrica), o conductas repetidas mediante estímulos específicos.

Las ratas manifiestan su ansiedad con acicalamiento, levantamiento en dos patas, el tiempo que permanecen sin presentar movimientos, entre otras manifestaciones, lo cual se analizara mediante los métodos siguientes:

En los procesos de investigación con respecto a la ansiedad se han desarrollado y validado modelos para su estudio, dentro de los cuales existen: Actividad Locomotriz; prueba modelo de esferas, Modelo White-Black. Los cuales se explicaran detalladamente en que consisten dentro de la metodología.

### **2.5.1.-EXPERIMENTACIÓN ANIMAL**

Un modelo animal puede definirse como el uso de un animal para simular una condición de una patología humana. Estos son usados para estudiar el origen y los mecanismos subyacentes a la enfermedad, así como para generar tratamientos para combatirla. En gran medida, gracias a la investigación con animales, los científicos han descubierto maneras de sanar enfermedades y prolongar la vida humana. El uso de nuevos fármacos o procedimientos terapéuticos destinados al

tratamiento de patologías humanas requieren de una evaluación previa en sistemas biológicos completos no humanos; para tal propósito son de gran utilidad los animales de experimentación. Así los resultados de la investigación con modelos animales proporcionan la información necesaria para diseñar pruebas humanas que también deben completarse para la aprobación legal de nuevos dispositivos, fármacos y procedimientos con carácter terapéutico y de diagnóstico (Zuñiga, 2001).

La experimentación animal se define como una actividad que tiene como misión evidenciar o aclarar fenómenos biológicos sobre especies animales determinadas en este caso se realizara la experimentación sobre ratas cepa Wistar macho (Zuñiga,2001).

Se entiende que un experimento empieza cuando se inicia la preparación del animal para su uso y termina cuando se acaban las observaciones a realizar sobre el mismo. El uso de los animales como reactivos biológicos en el contexto de la investigación científica ha aportado numerosos beneficios. Los estudios en animales de laboratorio han contribuido de manera directa a incrementar la esperanza de vida del hombre, en la producción y validación de vacunas, en el estudio de las enfermedades, entre otras.

Existe amplia evidencia de que el daño que la desnutrición causa en la estructura encefálica trae repercusiones tanto físicas como neurológicas. Se han realizado trabajos de investigación, en donde las ratas han sido sometidas a una malnutrición proteica con lo cual se han visto afectadas a nivel neurológico lo cual se ha demostrado realizando modelos tales como son el test "laberinto de tipo lineal". Este tipo de estudios demuestran que no existe relación entre el desarrollo corporal y la capacidad de aprendizaje, ya que mientras el primero se muestra reversible con la rehabilitación nutricional, no ocurre así en el segundo. La desnutrición llevada a cabo en ratas, trae como consecuencia una reducción del peso encefálico, lo cual persiste incluso después de la rehabilitación nutricional de las ratas (Sánchez, 1975).

Se ha encontrado información en la cual la malnutrición o una alimentación no completa lleva a las ratas a tener un efecto ansiogénico en el comportamiento de la rata, con lo cual se evaluará con una dieta hipocalórica y así poder demostrar si causa el efecto ansiogénico en las ratas (Villa,2010).

### **3.-OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la conducta (ansiedad) de ratas Wistar macho, alimentadas mediante dietas hipocalóricas expuestas a temperaturas de 40°C y 50°C deficientes de vitamina C, para así determinar si presentan cambios significativos conductuales (ansiedad) y a nivel plasmático.

#### **3.1.-OBJETIVOS PARTICULARES**

- Registrar el peso corporal de cada rata Wistar durante 30 días para mantener un registro de los pesos de las ratas.
- Evaluar por medio del modelo de enterramiento de esferas, el grado de ansiedad de las ratas.
- Registrar la actividad locomotriz durante un periodo de 5 min a cada rata.
- Se registrará la conducta por medio del modelo luz-oscuridad (black- white) durante un tiempo de 10 minutos a cada rata, para observar la conducta que manifiestan.
- Determinar las concentraciones plasmáticas de glucosa, colesterol, triglicéridos e insulina de cada una de las ratas.

### **4.-HIPÓTESIS**

Dado que en estudios realizados se ha comprobado que el factor temperatura afecta a las proteínas presentes en los alimentos y la deficiencia de vitamina C en la dieta que está relacionada con cambios en la conducta como la ansiedad, se espera por lo tanto, que el estudio que se realizará en ratas cepa W alimentadas con una dieta deficiente de vitamina C y expuesta a temperaturas de 40°C y 50°C tenga un efecto significativo en su conducta.

## 5.-MATERIAL

### 5.1.-INTRUMENTOS, EQUIPOS Y MATERIAL

MATERIAL	MARCA
Caja de Acrílico	N/A
Viruta	N/A
Actividad locomotriz	Opto-Varimex
SYNCHRON CX® 5 Delta	Beckman-Coulter
Racks	N/A
Cámara de vida de Anaquel	BARNSPEAD mod. E12560

#### 5.1.1.-REACTIVOS QUIMICOS

REACTIVOS
Etanol 70%
Éter

#### 5.1.2.-MATERIAL BIOLÓGICO

##### 5.1.3.1.-ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Para el estudio se utilizaran 30 ratas cepa Wistar (macho) de 45 días de edad, los cuales se dividieron en 5 grupos de 6 animales los cuales se distribuirán de la siguiente manera: GRUPO A: Control con dieta Normal, GRUPO B: Control Dieta Referencia, GRUPO C: Dieta hipocalórica expuesta a 4°C, GRUPO D: Dieta hipocalórica expuesta a 40°C, GRUPO E: Dieta hipocalórica expuesta a 50°C. Se obtendrá y se registrará el peso corporal durante 30 días, las ratas se alimentarán durante 30 días a las condiciones de dieta mencionadas a continuación. Los animales que se utilizaran en este experimento fueron proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Química, UNAM.

##### 5.1.3.2.-ALIMENTO PARA LA EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaran 3 tipos de dietas para las ratas, una se utilizara para las ratas control (Tabla 4), dieta para el lote referencia (tabla 5) y el otro tipo de dieta, se utilizara para las ratas alimentadas con dieta hipocalórica expuesta a temperaturas de 4,40 y 50 (Tabla 6).

**Dieta Laboratory chow 5001 para ratas de laboratorio**

**TABLA 4.- Alimentación que se utilizara para las ratas que se utilizaran como normal:**

ESPECIFICACIONES	PORCENTAJES
Humedad (max.)	12.0 %
Proteína (min.)	23.0 %
Grasa (min.)	4.50 %
Calcio (max.)	1.0 %
Fibra (max.)	6.0 %
Cenizas (max.)	8.0 %
E.L.N. (p. DIF.)	46.50 %
Fosforo	0.61 %

**Tabla 5.-Alimentación que se utilizara para las ratas que se utilizaran como referencia:**

<b>INGREDIENTE</b>	<b>A</b> <b>g/100g DE DIETA</b>	<b>B</b> <b>g/100g DE DIETA</b>
HUMEDAD	-	1.5
PROTEÍNA	-	10
LÍPIDOS	-	14.17
FIBRA CRUDA	-	6
CENIZAS	-	2.24
HIDRATO DE CARBONO	-	66
VITAMINA C (mg)	-	0.045
CASEINA (88%) DE PUREZA	11.4	-
SACAROSA	22	-
GLUCOSA	19	-
FECULA DE MAIZ	25	-
MANTECA VEGETAL	8	-
ACEITE DE MAIZ	6	-
MEZCLA DE SALES	2	-
MEZCLA DE VITAMINAS	1	-
DISOLUCION DE COLINA AL 50%	0.4	-
CELULOSA COMERCIAL	6	-
ENERGÍA (Kcal)	431	431.53

Dentro de la columna A pertenecen los componentes y sus cantidades utilizados en la dieta tomada como referencial los datos son obtenidas por el proveedor, la columna B muestra el análisis químico proximal de la formulación obtenido de la tabla de composición de valor nutritivo de los alimentos (Muñoz, 1996).

**Tabla 6.-Alimentación que se utilizara para las ratas que se utilizará como prueba:**

<b>FORMULACION 1</b>	<b>A</b> <b>g/100g de formulación</b>	<b>B</b> <b>g/100g de formulación</b>	<b>C</b> <b>g/100g de formulación</b>
HUMEDAD	-	2.32	2.16
PROTEÍNA	-	10	14.82
LÍPIDOS	-	20.12	29.82
FIBRA CRUDA	-	9.66	-
CENIZAS	-	5.01	4.46
HIDRATO DE CARBONO	-	52.23	48.11
VITAMINA C	0.6	0.4	0.6
LECHE ENTERA	57.7	-	-
ACEITE DE MAIZ	15.0	-	-
MAIZENA	26.7	-	-
ANTI-OXIDANTE BHT	0.03	-	-
ENERGÍA (Kcal)	430	430	520

La formulación perteneciente a la columna A son las propiedades de la dieta que se encuentran englobadas en cada uno de sus componentes, la columna B es cada una de las propiedades especificadas con el análisis químico proximal de la formulación en forma detallada la cual fue expuesta a temperaturas de 4°C, 40°C y 50°C, y la columna C son los componentes y cantidades obtenidas de forma teórica de la tabla de composición de valor nutritivo de los alimentos (Muñoz, 1996).

### 5.1.3.2.1.-ALMACENAMIENTO DE LA ALIMENTACIÓN

La formulación (Tabla 7), que será nuestra dieta problema será sometida a las siguientes condiciones (Tabla 8), durante un periodo de 2 meses antes de ser alimentadas.

**TABLA 7.-Almacenamiento de dieta problema**

TEMPERATURA( °C)	ALMACENAMIENTO	% DE HUMEDAD RELATIVA
4°C	Refrigeración	No está controlada
40°C	Cámara	15
50°C	Cámara	15

## 5.2.-MÉTODOS

### 5.2.1.-MARCADO Y DISTRIBUCION DE LOTES

Se trabajara con un total de 30 ratas cepa Wistar machos, las cuales se marcaran para posteriormente distribuir las como se muestra en la tabla 8:

**TABLA 8.- DISTRIBUCION DE RATAS EN LOS 5 LOTES A TRABAJAR.**

LOTE	DIETA	NUMERO DE RATAS
LOTE 1	Control "Normal"	6
LOTE 2	Referencia ( Caseína)	6
LOTE 3	Hipocalórica expuesta a 4°C	6
LOTE 4	Hipocalórica expuesta a 40°C	6
LOTE 5	Hipocalórica expuesta a 50°C	6

### 5.2.2.-METODOS PARA EVALUAR ANSIEDAD

Se evaluará la ansiedad en todas nuestras ratas de los diferentes 5 lotes utilizando los métodos siguientes:

#### 5.2.2.1.-MODELO LUZ-OSCURIDAD (WHITE-BLACK).

Crawley y Goodwin lo describieron como un modelo sencillo utilizado para detectar el comportamiento de ratas o ratones ante los efectos de diversos ansiolíticos (Vogel, 2008).

Para realizar la siguiente prueba se seguirá con el procedimiento siguiente:

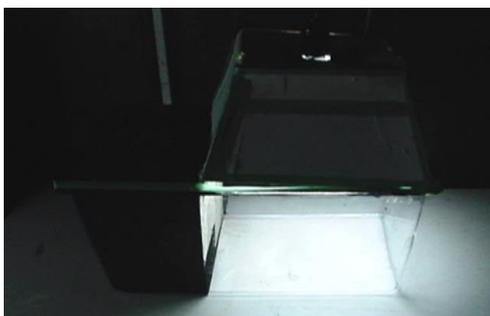
El equipo utilizado para la prueba de la transición/ oscuridad consistirá en una caja de acrílico (45 cm X 27 cm X 27 cm) separada en dos secciones por medio de una base aproximada de 9cm<sup>2</sup> con una apertura de 7.5 cm situado a nivel de piso.

Dos quintas partes de la caja se pintaron de color negro y se iluminaron con luz roja tenue (1x 60 watts), la parte restante de la caja, se pintó de color blanco y se iluminara con luz blanca brillante (1x60 watts).

Los animales se adaptarán a estas condiciones por un periodo de 1 h, en donde de forma individual se colocarán a las ratas en el centro del compartimiento blanco; por un periodo de 5min.

La conducta se video grabará para su posterior análisis.

Se registrarán los parámetros siguientes: tiempo de permanencia en cada compartimiento(s), número de levantamientos en cada área, número de acalamientos en cada compartimiento y el número de transiciones entre el área blanca y el área oscura (Costall, 1989).



**Figura 2.** Modelo luz-oscuridad (white-black) (Bustamante, 2012).

#### **5.2.2.2.-PRUEBA MODELO DE ESFERAS**

Fernández-Guasti y López-Rubalcava, utilizaron este modelo para estudiar la potencia de diversos ansiolíticos. Njung'e y Handley, describieron el escondrijo de esferas en ratones, como un modelo para la detección de ansiedad (Vogel, 2008).

Para realizar esta prueba se siguió la metodología siguiente:

- 1.- Se cubrirá el fondo de la caja de acrílico con viruta comprimiéndolo levemente con la palma de la mano, hasta tener un grosor (altura) de 3cm.
- 2.- Se colocarán 25 “esferas” (1.5 cm de diámetro) por caja, distribuidas al azar sobre el aserrín comprimido
- 3.- Se evaluará a las ratas en forma individual dentro de la caja con la viruta comprimida y las “esferas”. Se evaluó y se registro el número de “esferas” enterradas por cada ratón (se considero una “esfera” enterrada hasta el 75% del tamaño de la misma), durante 15minutos, posteriormente, se sacó a los ratones y se cuantificó la respuesta por “enterramiento”.
- 4.- Se registrará el comportamiento conductual siguiente: número de esferas enterradas y la latencia medida en minutos al enterrar las esferas.

5.-Se registrarán los datos y se analizaron mediante ANOVA de una vía o Kruskal-Wallis prueba post-hoc: Duncan's (Naranjo, 2009).



**Figura 3.** Modelo de Esferas (Bustamante, 2012)

### **5.2.2.3.-ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ (MONITOREO DE LA ACTIVIDAD ESPONTÁNEA)**

Con este modelo se evaluarán los efectos potenciales de la dieta a las que serán expuestas las ratas sobre su actividad espontánea, todas las ratas se probarán en un mostrador automático de la actividad. Este sensor consiste en una jaula de acrílico que mide 51.1x 9.5x 69.2 cm con dos series de 15 rayos infrarrojos que están colocados en forma perpendicular uno al otro. Los rayos están a una distancia de 2.5 cm, de tal manera que la interrupción de cada rayo genera un impulso eléctrico que se procesa y se evalúa el evento. Se registrarán los eventos ambulatorios y la actividad total en un tiempo máximo de 5 min (Bustamante, 2012).



**Figura 4.** Mostrador automático para evaluar la actividad locomotriz (Bustamante, 2012).

## 5.2.3.-PRUEBAS PARA EVALUAR CAMBIOS HEMATOLOGICOS

### 5.2.3.1.-TOMA DE MUESTRA

La muestra sanguínea que se tomara de nuestras ratas, se obtendrá por sangrado de seno infraorbital el cual se lleva acabo de la manera siguiente:

Se anestesia a la rata con un anestésico volátil y de corta duración (éter), se requiere de un tubo capilar partido en tres, una de las tres partes del capilar se va a introducir en la comisura externa del ojo de la rata, teniendo cuidado de no tocar el ojo, al termino del procedimiento se extrae el capilar, no debe haber sangrado, pero en caso de que ocurra, se hace un poco de presión con un trozo de gasa o algodón en el parpado.

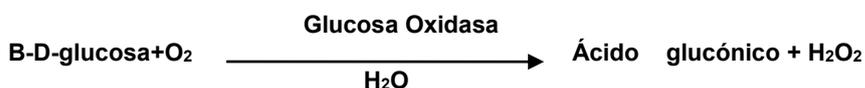
Posteriormente la muestra sanguínea se centrifugara, y se separara el plasma, para ponerlo en conservación de ultra-congelación a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  (Bustamante, 2010).

### 5.2.3.2.-DETERMINACIÓN DE GLUCOSA

La determinación de los niveles plasmáticos de glucosa, se obtendrá utilizando el sistema automatizado SYNCHRON CX® 5 Delta de Beckman-Coulter.

#### 5.2.3.2.1.-ESQUEMA DE LA REACCIÓN QUIMICA

El oxígeno se consume a la misma velocidad en la que la glucosa reacciona para formar ácido glucónico



Debido a que se mide el consumo de oxígeno en vez de la formación de peróxido, el único requisito es que el peróxido debe ser destruido de tal forma que no vuelva a formar oxígeno. Según la reacción siguiente, la adición de etanol al reactivo hace que el peróxido, en presencia de la catalasa, se destruya sin producir oxígeno



Para asegurar la destrucción completa del peróxido, se agrega yoduro y molibdato al reactivo enzimático, lo que produce la reacción siguiente:



La reacción será efectiva aun después de que la actividad de la catalasa haya disminuido con el tiempo de almacenamiento.

### **5.2.3.2.2.-METODOLOGÍA GLUCOSA**

La proporción es una parte de muestra a 76 partes de reactivo. La velocidad pico de consumo de oxígeno es directamente proporcional a la concentración de GLUC en la muestra (<https://goo.gl/48d4we>)

### **5.2.3.3.-DETERMINACIÓN DE COLESTEROL**

Utilizando el sistema automatizado SYNCHRON CX® 5 Delta de Beckman-Coulter, se registrarán los niveles de colesterol en plasma.

#### **5.2.3.3.1.-ESQUEMA DE LA REACCIÓN QUÍMICA**

El Reactivo CHOL, se usa para medir la concentración de colesterol por un método de punto final.

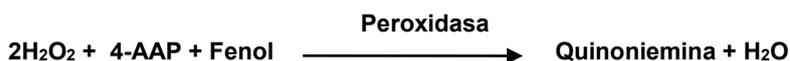
En la reacción el Ester de Colesterol (CE) hidroliza los ésteres de colesterol a colesterol libre y ácidos grasos



El colesterol libre es oxidado a colestén-3-ona y peróxido de hidrógeno por medio del colesterol oxidasa (CO)



La peroxidasa cataliza la reacción del peróxido de hidrógeno con 4- aminoantipirina (4-AAP) y fenol y produce un producto de quinoniemina de color.



### **5.2.3.3.2.-METODOLOGÍA COLESTEROL**

La proporción es una parte de muestra a 100 partes de reactivo. El sistema controla el cambio de absorbancia a 520 nm. Este cambio de absorbancia es directamente proporcional a la concentración de CHOL en la muestra y es usado por el sistema para calcular y expresar la concentración de CHOL.

### **5.2.3.4.-DETERMINACIÓN DE TRIGLICERIDOS**

Utilizando el sistema automatizado SYNCHRON CX® 5 Delta de Beckman-Coulter, se registrarán los niveles plasmáticos de triglicéridos.

#### **5.2.3.4.1.-ESQUEMA DE LA REACCIÓN QUÍMICA**

El Reactivo GPO se usa para medir la concentración de triglicéridos mediante un método de punto final.

Los triglicéridos en la muestra son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres por acción de la lipasa



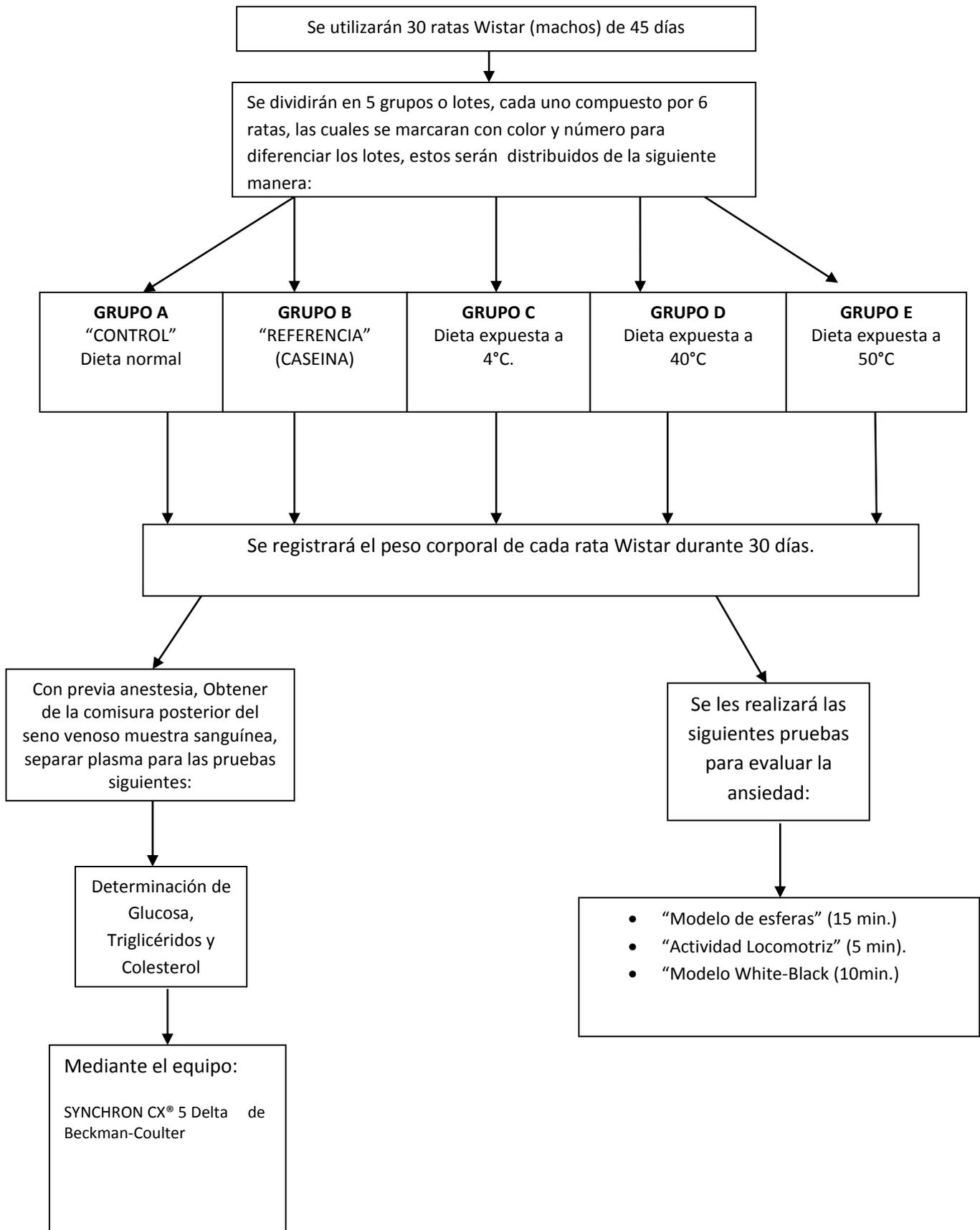
Una secuencia de tres pasos enzimáticos acoplados usando glicerol quinasa (GK), glicerol fosfato oxidasa (GPO), y peroxidasa de rábano picante (HPO) que causa el acoplamiento oxidante del ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfónico (DHBS) con 4-aminoantipirina y forma un colorante rojo de quinoniemina



#### 5.2.3.4.2.-METODOLOGÍA TRIGLICERIDOS

La proporción es una parte de muestra a 100 partes de reactivo. El sistema controla el cambio de absorbancia a 520 nm. Este cambio de absorbancia es directamente proporcional a la concentración de TG en la muestra y es usado por el sistema para calcular y expresar la concentración de TG.

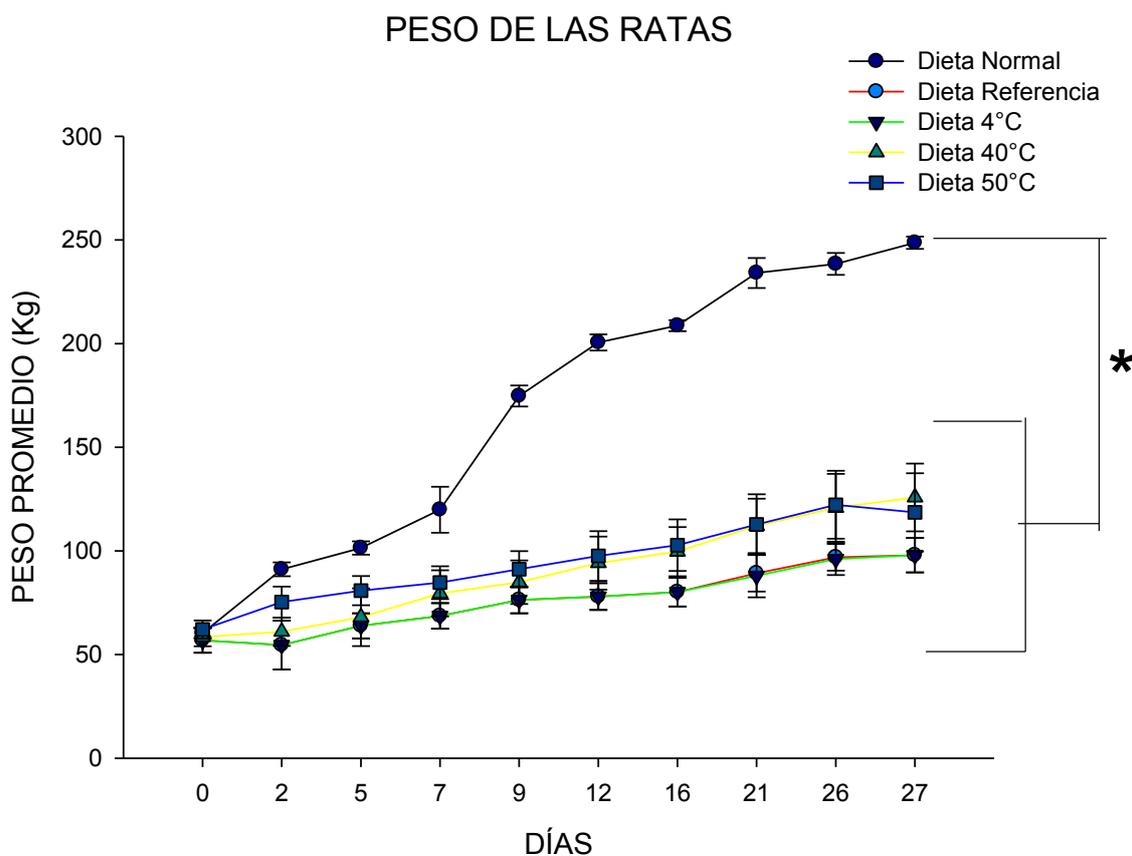
### 5.3.-DISEÑO EXPERIMENTAL



## 6.-RESULTADOS

### PESO PROMEDIO OBTENIDO DE LAS RATAS DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN

La grafica 1 representa el peso promedio de las ratas pertenecientes a los diferentes lotes expresado en Kg. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvieron diferencias significativas  $F_{49, 0.05} = 11.204$ .



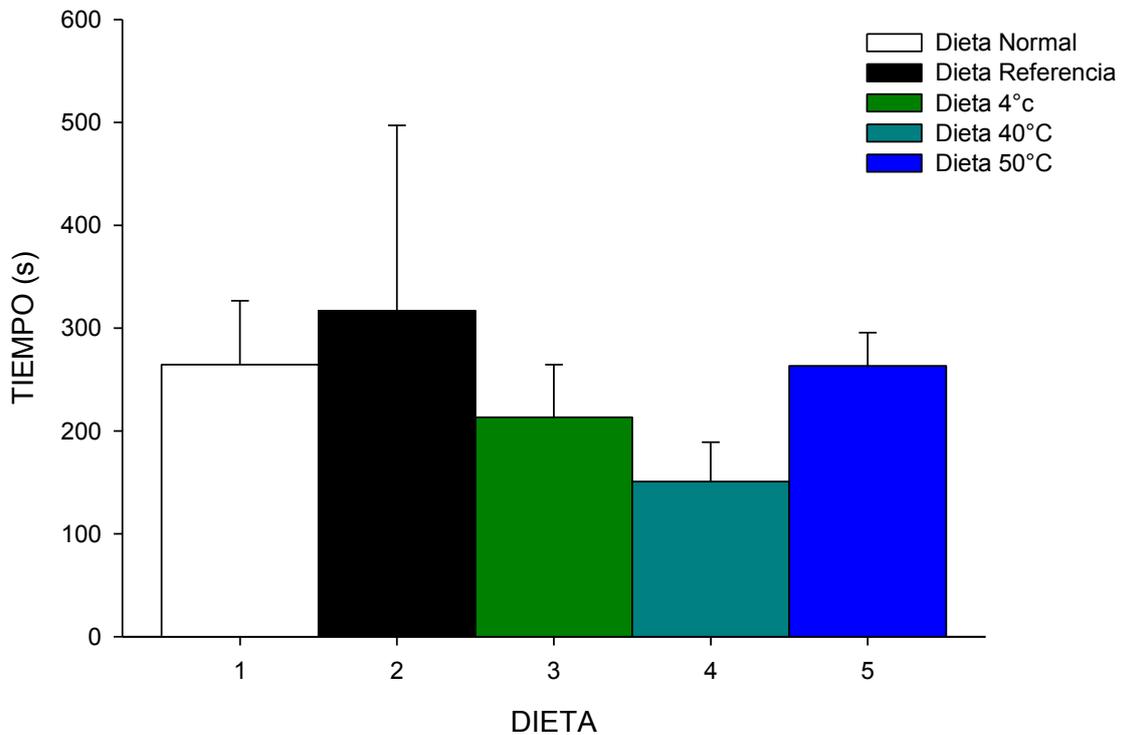
**GRAFICA 1.** Peso de las ratas. Cada línea representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencia significativa a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C y dieta hipocalórica expuesta a 50°C. ANOVA de una vía ( $F_{49, 0.05} = 11.204$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

## 6.1.-RESULTADOS MODELO WHITE-BLACK

A continuación se muestran las graficas obtenidas al someter a las ratas al modelo luz-oscuridad (White-Black):

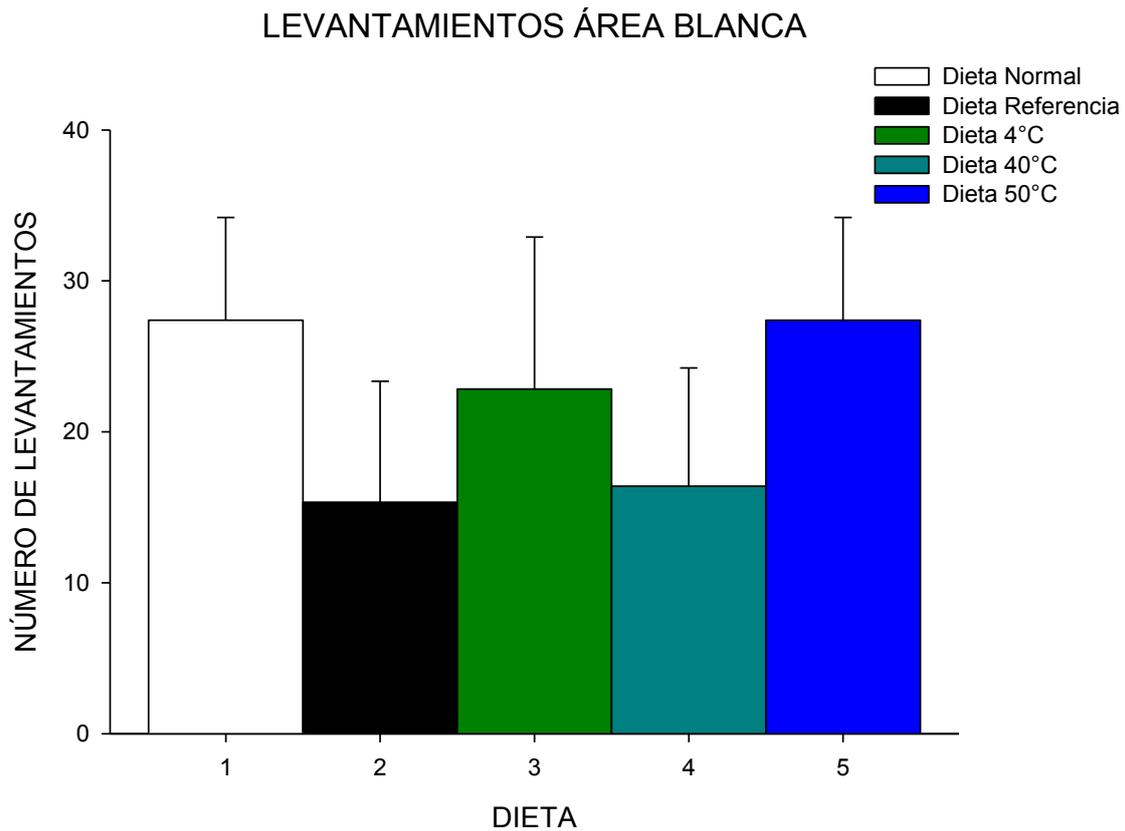
En la grafica 2 se muestra el periodo de permanencia en el área blanca de las ratas pertenecientes a los diferentes lotes expresado en segundos, se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 2.401$ .

### PERMANENCIA ÁREA BLANCA



**GRAFICA 2.** Permanencia en área blanca. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. expresado en segundos. n.s a  $*p > 0.05$ . ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 2.401$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

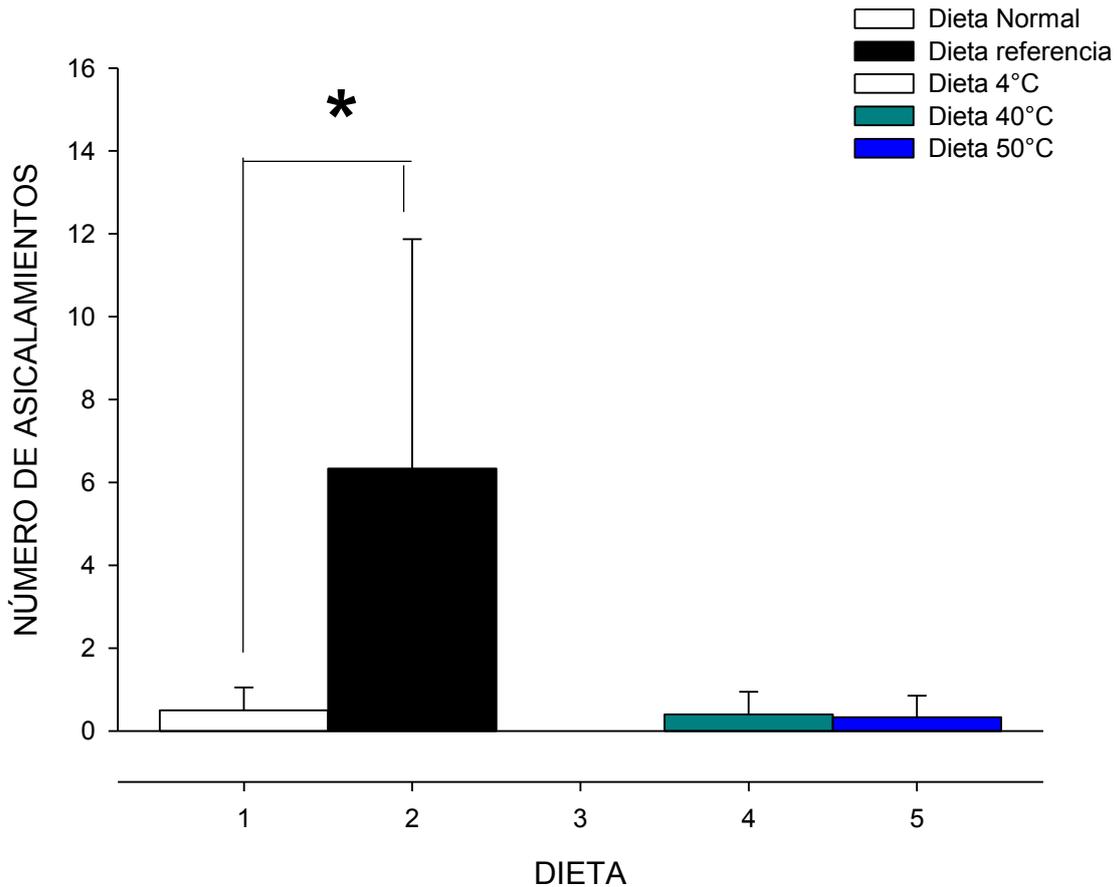
La grafica 3 muestra los levantamientos en el área blanca de las ratas pertenecientes a los diferentes lotes, se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 1.819$ .



**GRAFICA 3.** Levantamientos área blanca. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. n.s a  $*p > 0.05$ . ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 1.819$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

La grafica 4 representa los acicalamientos realizados en el área blanca. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 6.260$ .

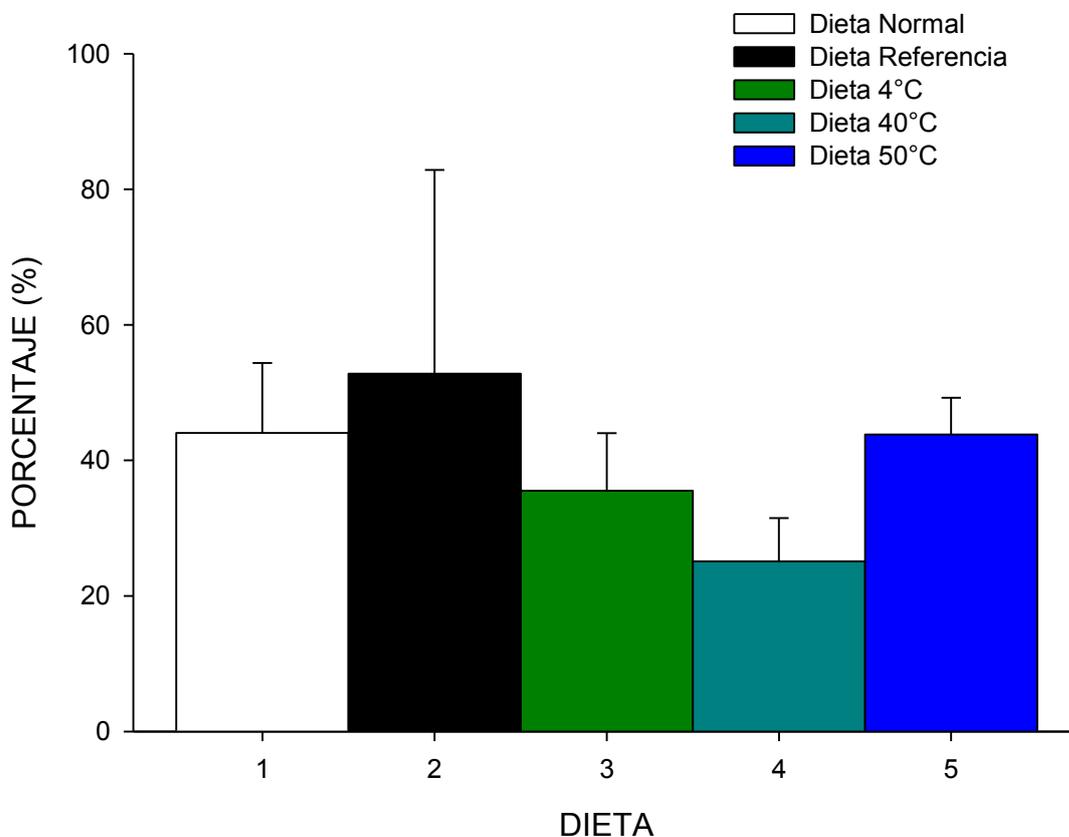
### ACICALAMIENTOS ÁREA BLANCA



**GRAFICA 4.** Acicalamientos área blanca. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencia significativa a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta referencia. ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 6.260$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

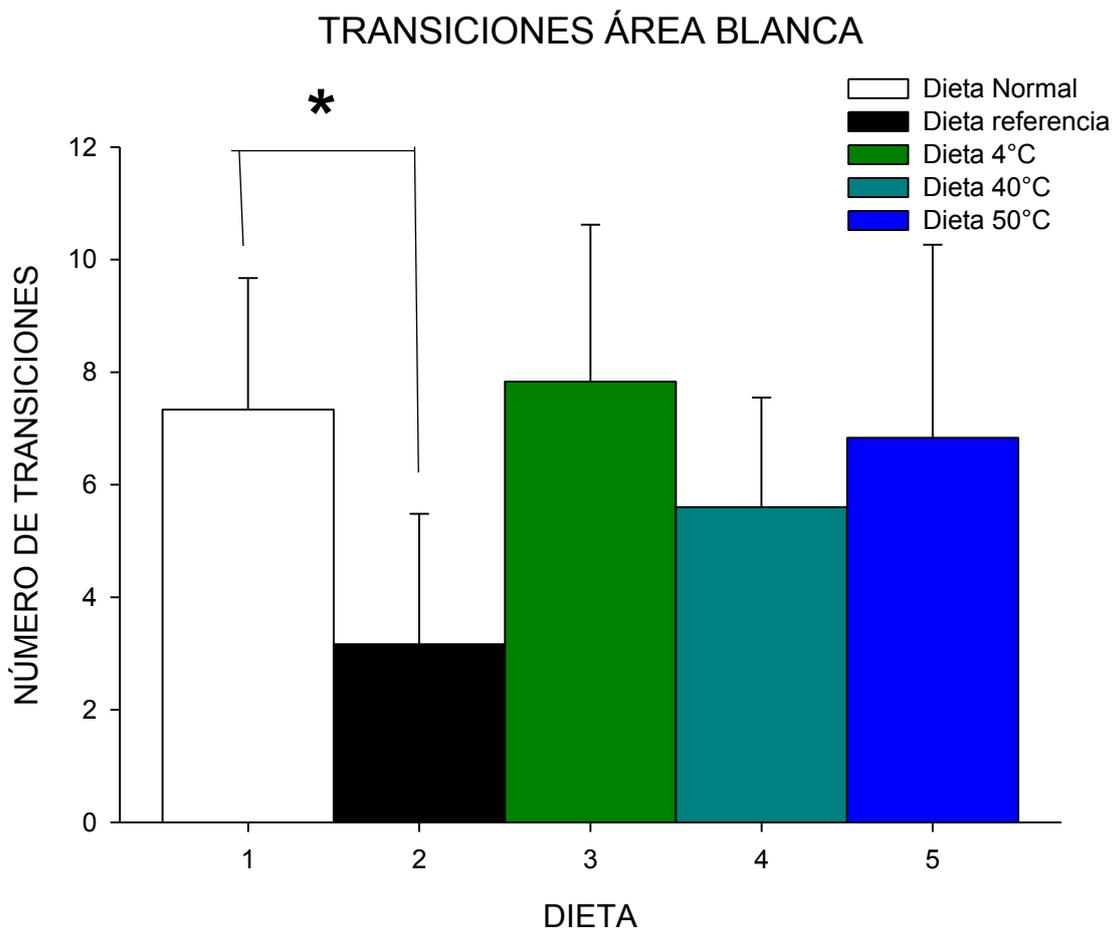
La grafica 5 muestra el porcentaje de permanencia en el área blanca. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 2.397$ .

### PORCENTAJE DE PERMANENCIA EN ÁREA BLANCA



**GRAFICA 5.** Porcentaje de permanencia en el área blanca. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. n.s a  $*p > 0.05$ . ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 2.397$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

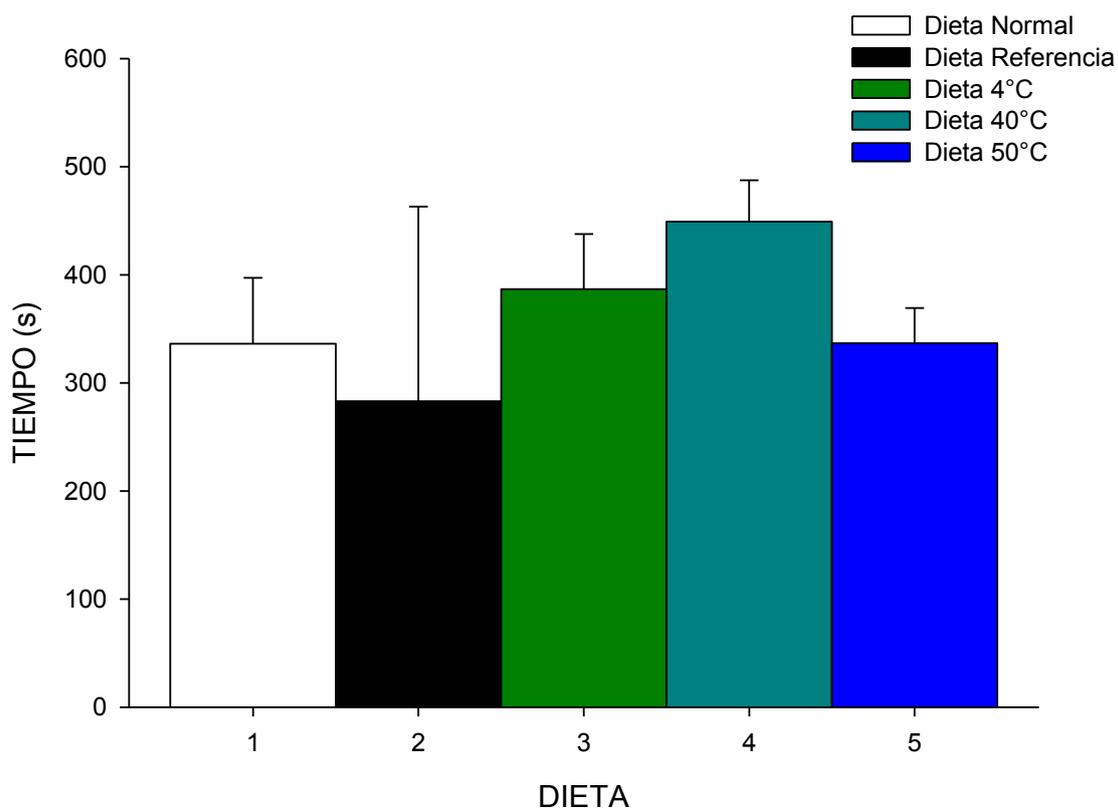
La grafica 6 representa las transiciones en el área blanca. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvo diferencias significativas entre dieta normal vs dieta referencia  $F_{28, 0.05} = 2.985$ .



**GRAFICA 6.** Transiciones área blanca. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencia significativa a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta referencia. ANOVA de una vía ( $F_{28, 0.05} = 2.985$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

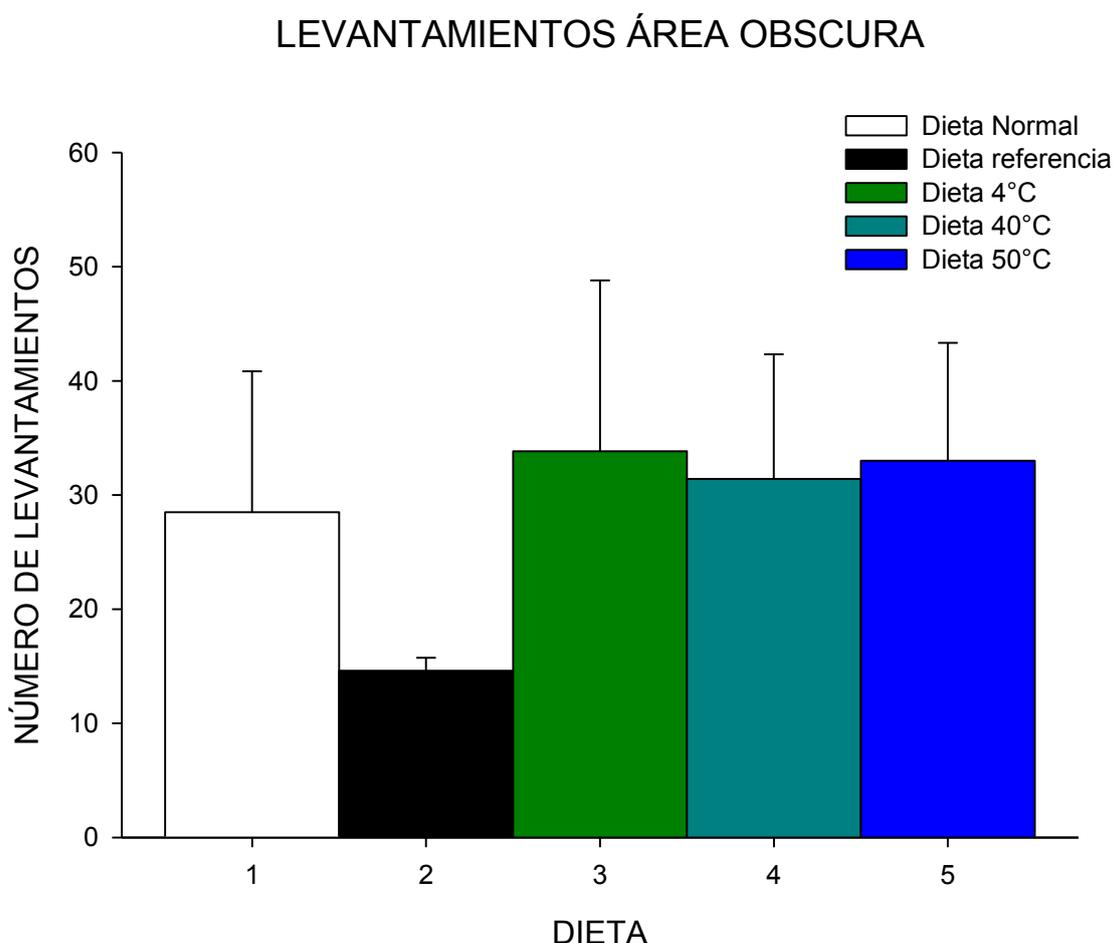
La grafica 7 se muestra el periodo de permanencia en el área oscura de las ratas pertenecientes a los diferentes lotes expresado en segundos, se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 2.403$ .

### PERMANENCIA ÁREA OSCURA



**GRAFICA 7.** Permanencia en área oscura. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. expresado en segundos. \*n.s a  $p > 0.05$ . ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 2.403$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

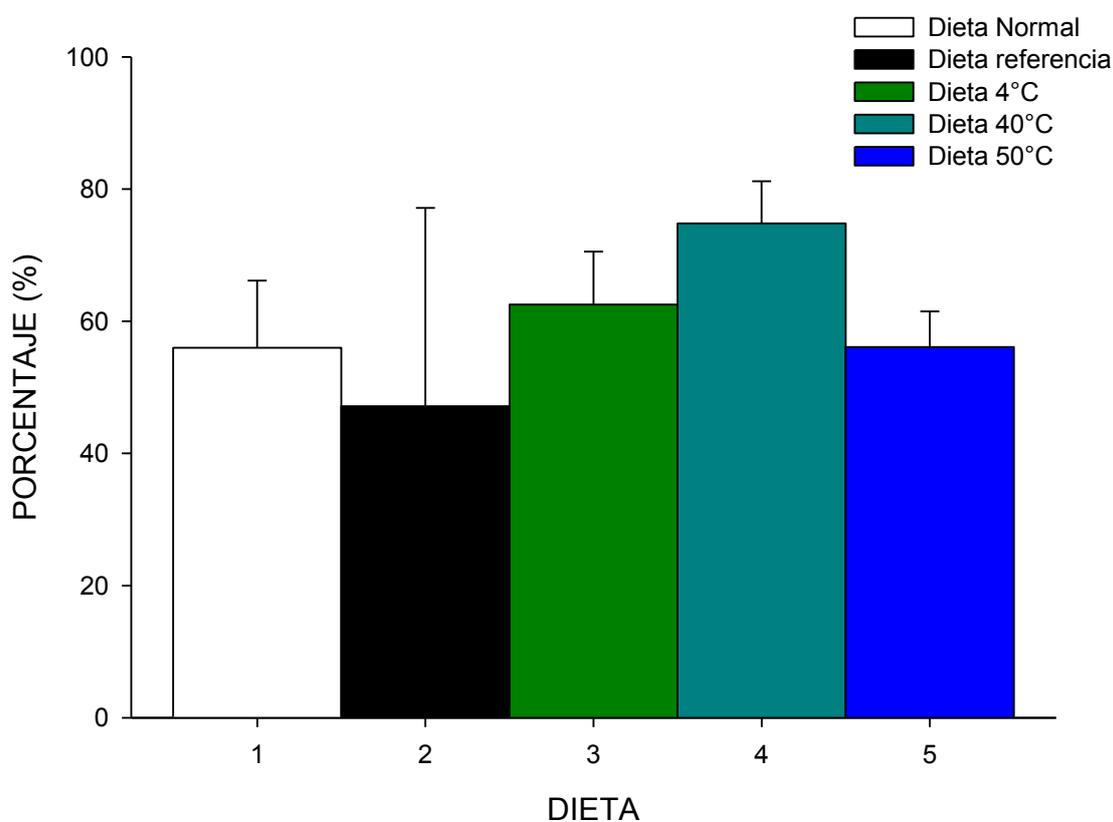
La grafica 8 muestra los levantamientos en el área oscura de las ratas pertenecientes a los diferentes lotes, se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 2.524$ .



**GRAFICA 8.** Levantamientos área oscura. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. n.s a  $*p > 0.05$ . ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 2.524$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

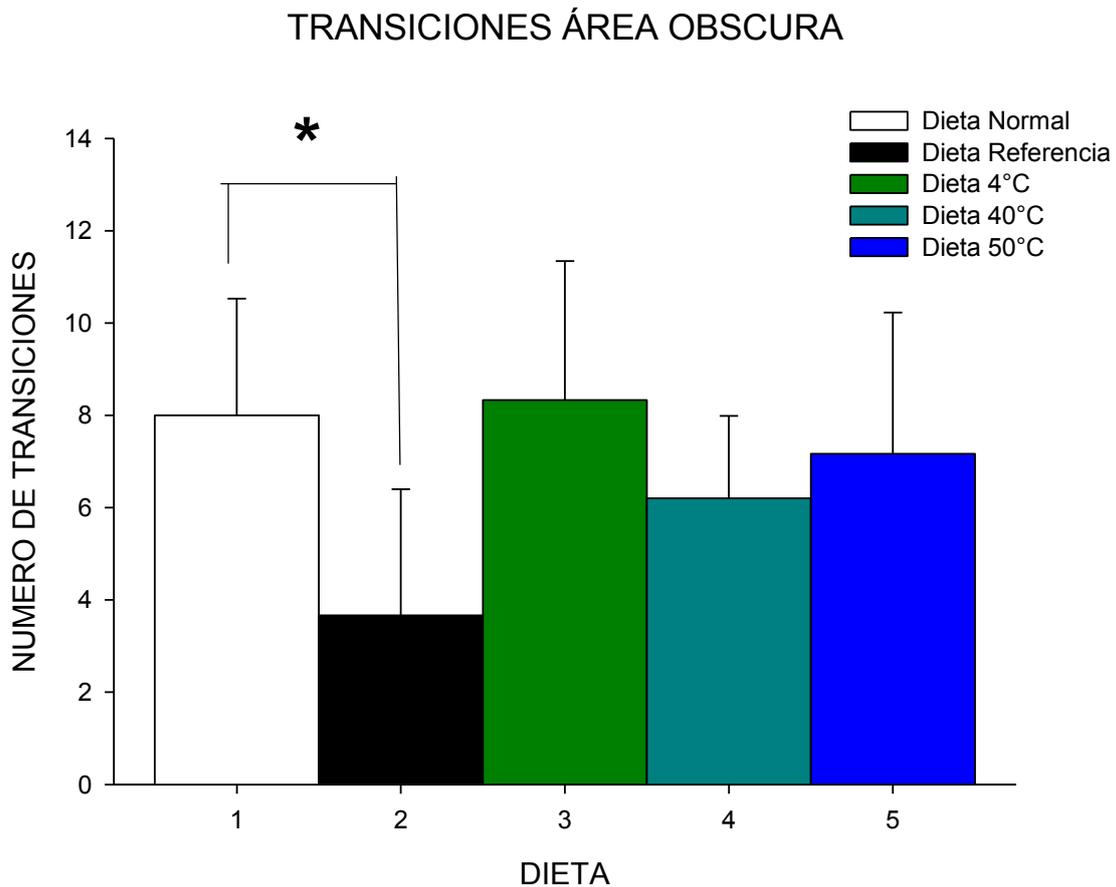
La grafica 9 muestra el porcentaje de permanencia en el área oscura. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 2.230$ .

### PORCENTAJE DE PERMANENCIA ÁREA OSCURA



**GRAFICA 9.** Porcentaje de permanencia en el área oscura. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. n.s a  $*p > 0.05$ . ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 2.230$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

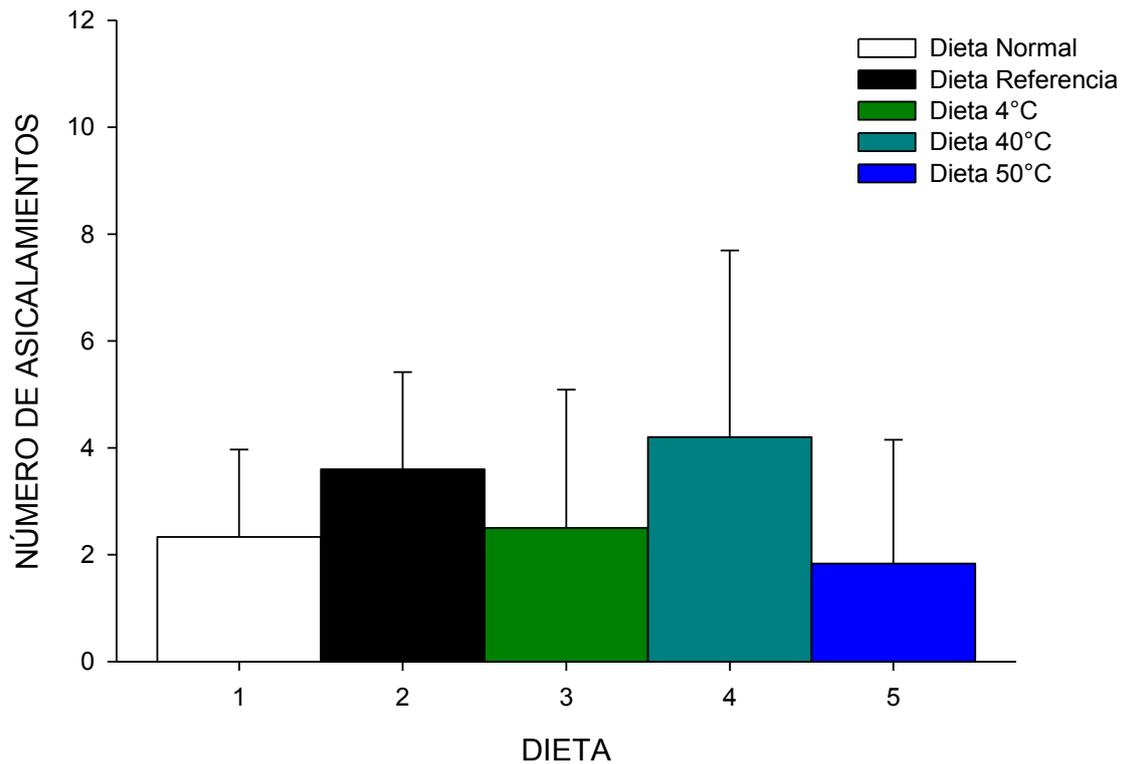
La grafica 10 representa las transiciones en el área oscura. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvo diferencias significativas entre dieta normal vs dieta referencia  $F_{28, 0.05} = 2.888$ .



**GRAFICA 10.** Transiciones área oscura. Cada barra representa el valor promedio ± E.E. Diferencia significativa a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta referencia. ANOVA de una vía ( $F_{28, 0.05} = 2.888$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

La grafica 11 representa los acicalamientos realizados en el área oscura. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 0.866$ .

### ACICALAMIENTOS ÁREA OSCURA

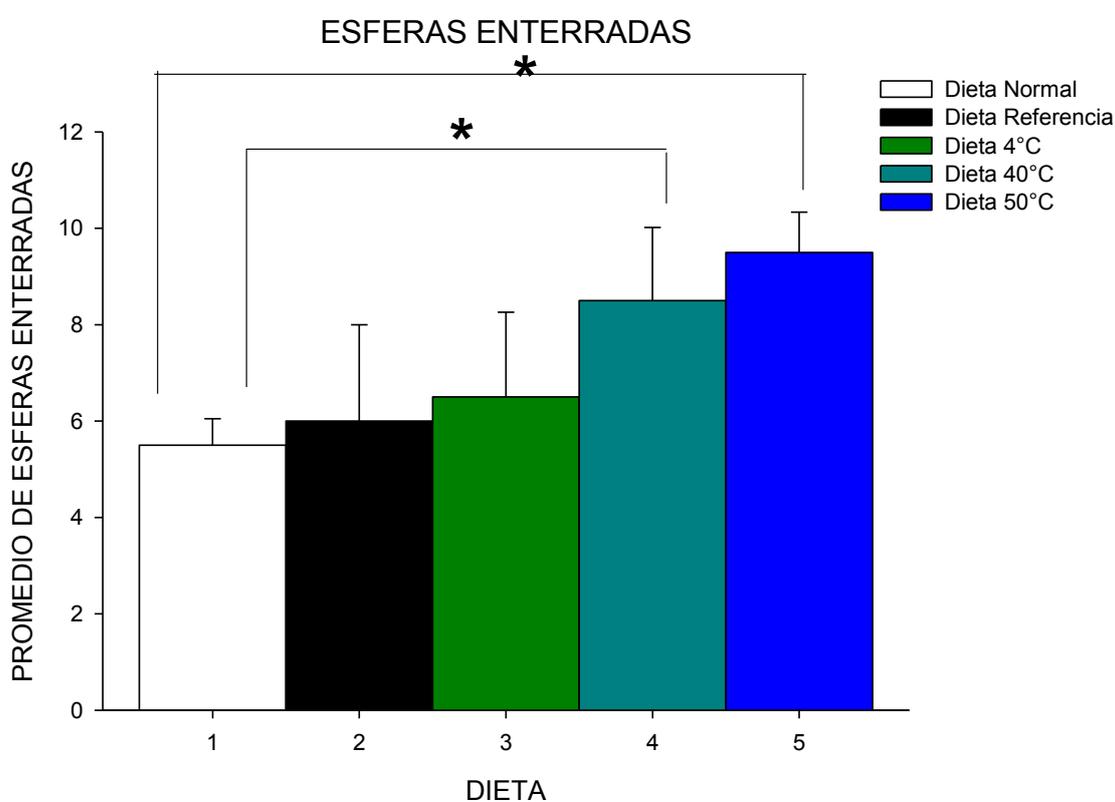


**GRAFICA 11.** Acicalamientos área oscura. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. n.s a  $*p > 0.05$ . ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 0.866$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

## 6.2.-RESULTADO MODELO DE ESFERAS

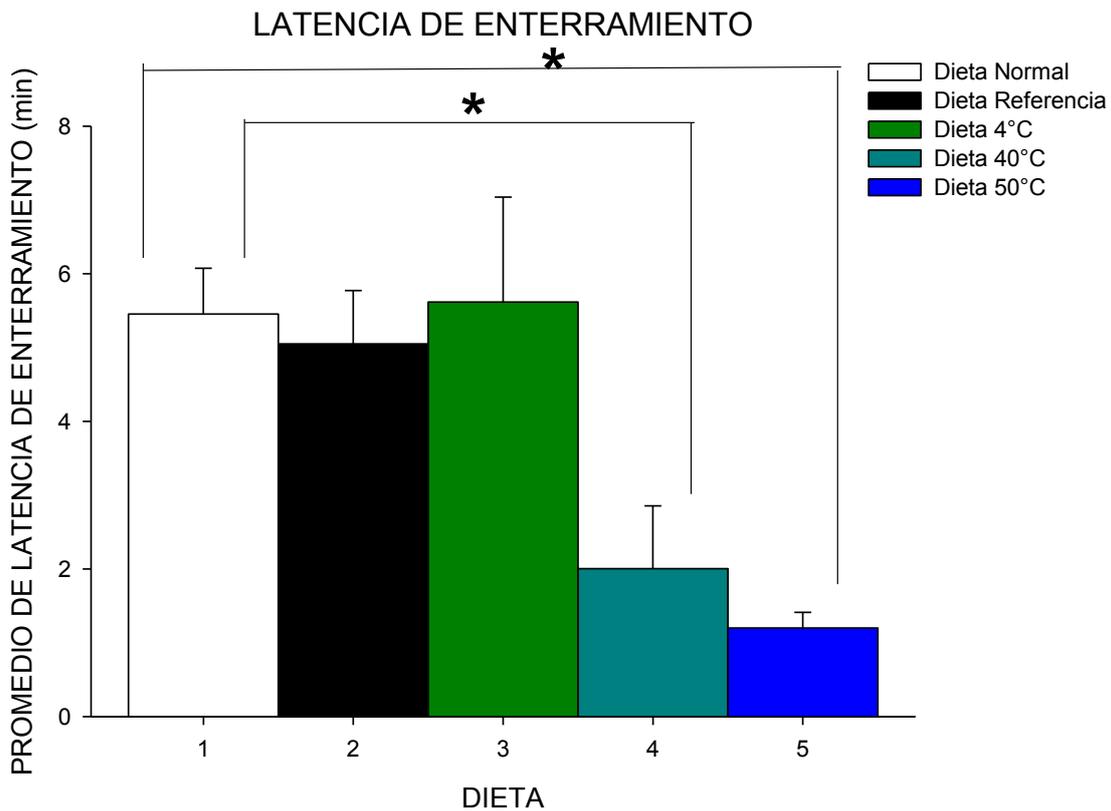
Se sometieron nuestras ratas al modelo de esferas con lo cual se obtuvieron los siguientes resultados:

La grafica 12 muestra el promedio de esferas enterradas. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual no se obtuvieron diferencias significativas  $F_{29, 0.05} = 8.510$ .



**GRAFICA 12.** Esferas enterradas. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencias significativas a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta hipocalórica expuesta a 40°C y dieta hipocalórica expuesta a 50°C. ANOVA de una vía ( $F_{29, 0.05} = 8.510$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

La grafica 13 muestra el promedio de latencia de enterramiento expresado en minutos. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvieron diferencias significativas  $F_{29, 0.05} = 35.587$ .

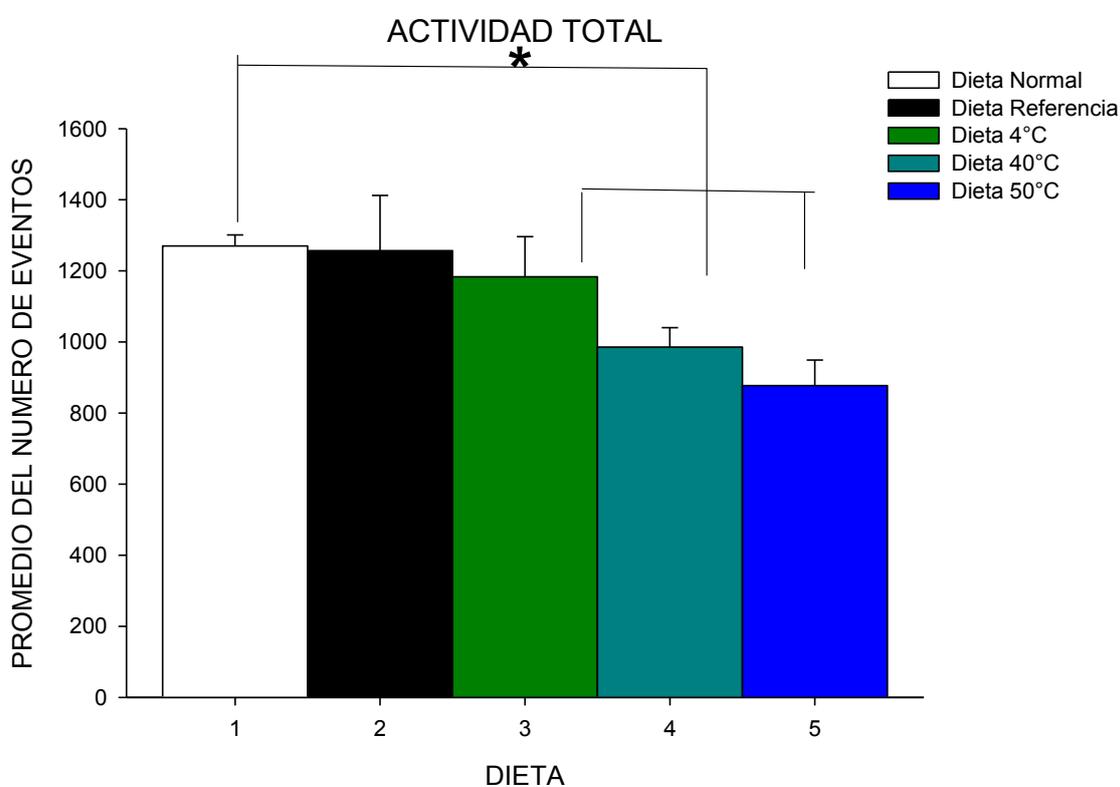


**GRAFICA 13.** Latencia de enterramiento .Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencias significativas a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta hipocalórica expuesta a 40°C y dieta hipocalórica expuesta a 50°C. ANOVA de una vía ( $F_{29, 0.05} = 35.587$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

### 6.3.-RESULTADOS ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ

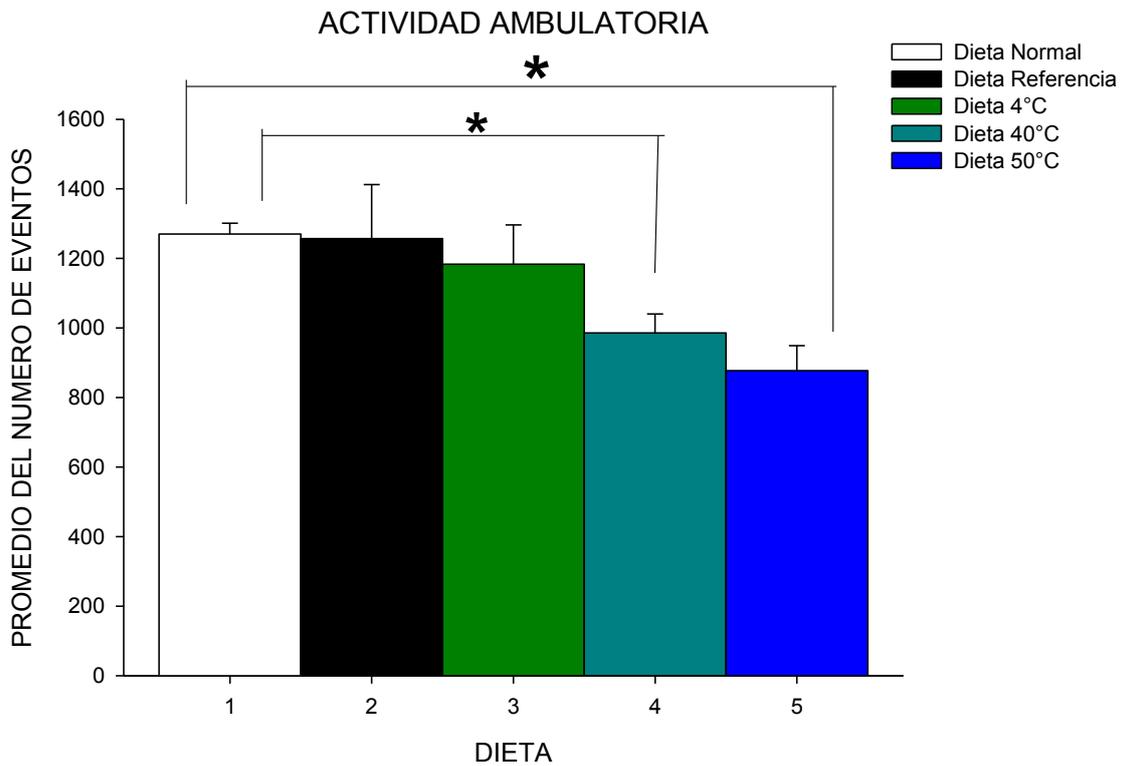
Al someter a las ratas al modelo actividad locomotriz se obtuvieron los siguientes resultados:

La grafica 14 muestra el promedio de número de eventos realizados en actividad total. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvieron diferencias significativas  $F_{29, 0.05} = 34.404$ .



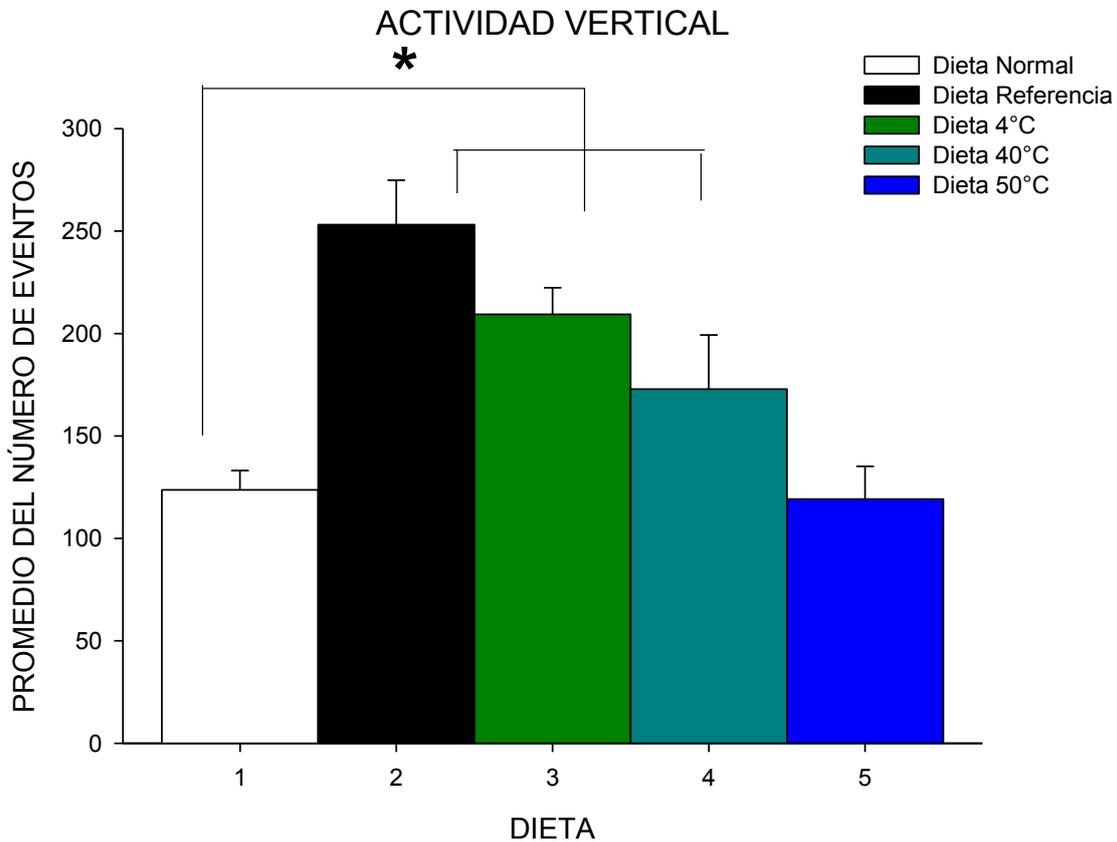
**GRAFICA 14.**Actividad total. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencias significativas a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C y dieta hipocalórica expuesta a 50°C. ANOVA de una vía ( $F_{29, 0.05} = 34.404$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

El grafico 15 muestra el promedio del número de eventos realizados en actividad ambulatoria. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvieron diferencias significativas  $F_{29, 0.05} = 19.858$ .



**GRAFICA 15.** Actividad ambulatoria. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencias significativas a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta hipocalórica expuesta a 40°C y dieta hipocalórica expuesta a 50°C. ANOVA de una vía ( $F_{29, 0.05} = 19.858$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

La grafica 16 representa el promedio del número de eventos realizados en actividad vertical. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvieron diferencias significativas  $F_{29, 0.05} = 19.858$ .

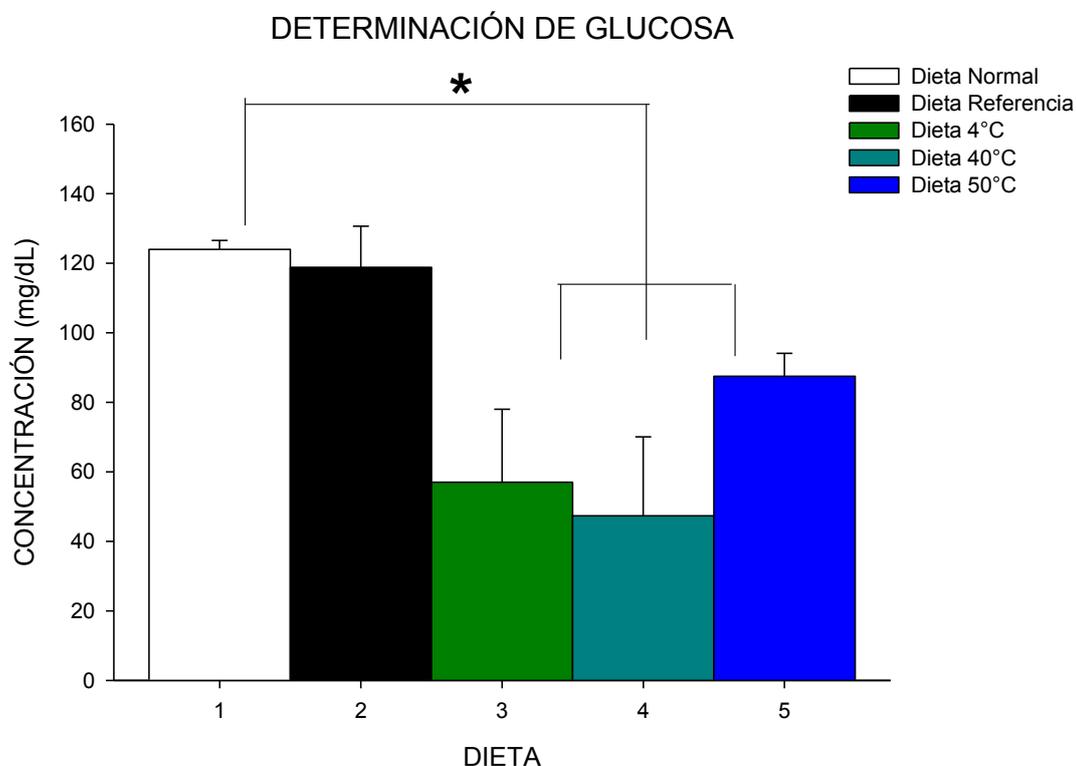


**GRAFICA 16.** Actividad vertical. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencias significativas a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C y dieta hipocalórica expuesta a 40°C. ANOVA de una vía ( $F_{29, 0.05} = 19.858$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

#### 6.4.-RESULTADOS DETERMINACIÓN DE GLUCOSA, TRIGLICERIDOS Y COLESTEROL

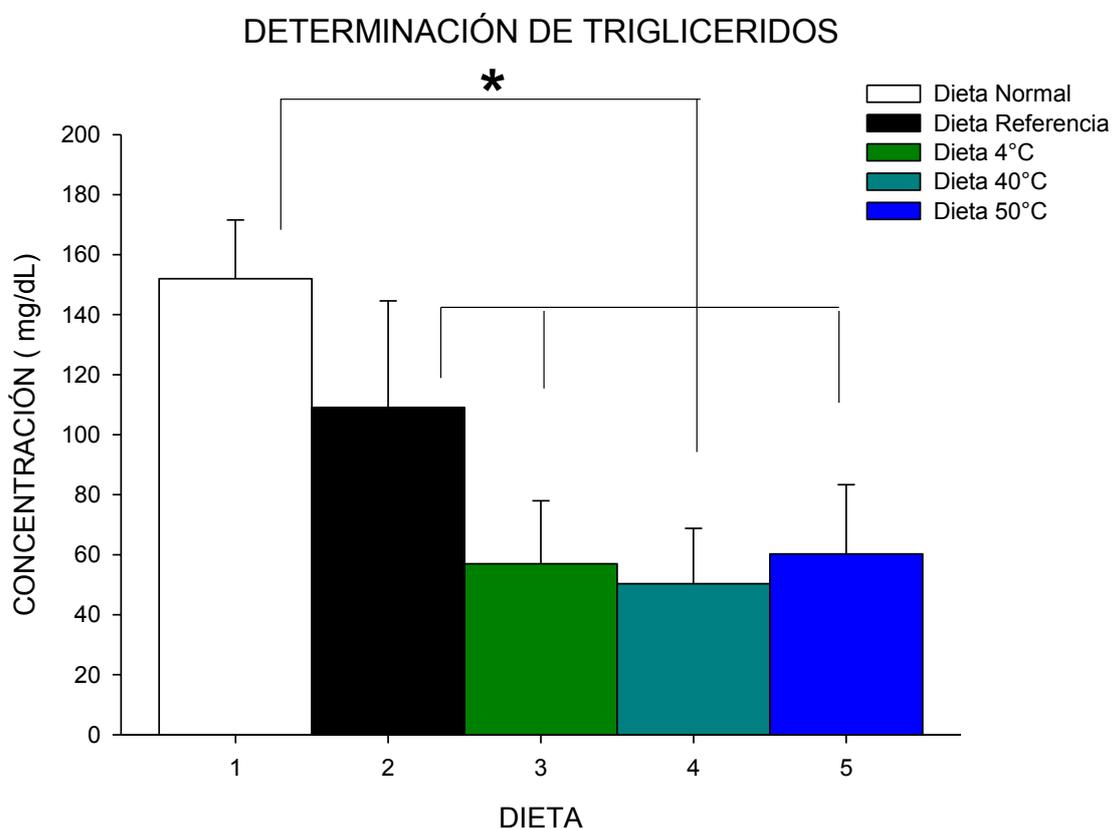
Al analizar las pruebas hematológicas para cuantificar los niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos y colesterol se obtuvieron los siguientes resultados:

La grafica 17 representa los niveles plasmáticos de glucosa. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 34.769$ .



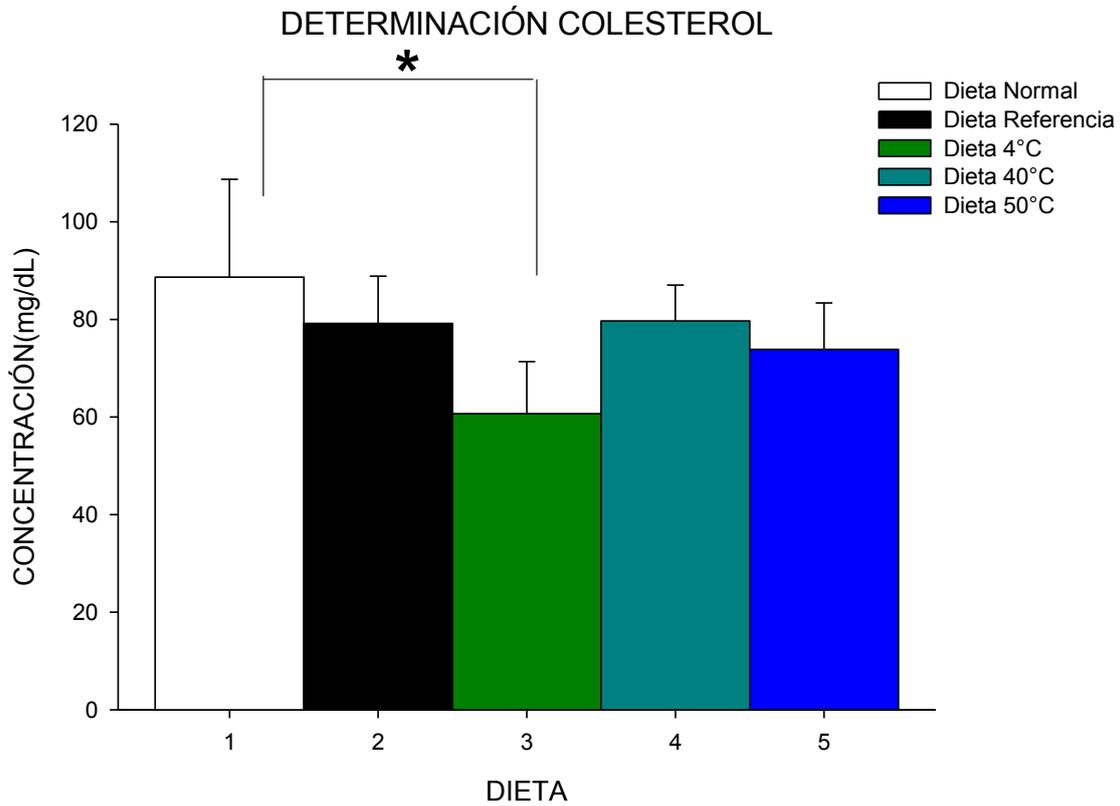
**GRAFICA 17.** Determinación de glucosa. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencias significativas a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C y dieta hipocalórica expuesta a 50°C. ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 34.769$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

El grafico 18 representa los niveles plasmáticos de triglicéridos. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvieron diferencias significativas  $F_{27, 0.05} = 13.745$ .



**GRAFICA 18.** Determinación de triglicéridos. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencias significativas a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C y dieta hipocalórica expuesta a 50°C. ANOVA de una vía ( $F_{27, 0.05} = 13.745$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

La grafica 19 muestra los niveles plasmáticos de colesterol. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía de los diferentes lotes (dieta normal, dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C, dieta hipocalórica expuesta a 50°C). Así mismo se realizó la comparación con respecto al grupo control (dieta normal) en la cual se obtuvieron diferencias significativas  $F_{29, 0.05} = 2.822$ .



**GRAFICA 19.** Determinación de colesterol. Cada barra representa el valor promedio  $\pm$  E.E. Diferencias significativas a  $*p < 0.05$  entre dieta normal vs dieta referencia, dieta hipocalórica expuesta a 4°C, dieta hipocalórica expuesta a 40°C y dieta hipocalórica expuesta a 50°C. ANOVA de una vía ( $F_{29, 0.05} = 2.822$ ), prueba post-hoc Duncan's test.

**TABLA COMPARATIVA CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE GLUCOSA, TRIGLICERIDOS Y COLESTEROL**

A continuación se muestra la comparación de las concentraciones plasmáticas de las pruebas hematológicas realizadas glucosa, triglicéridos y colesterol (tabla 9).

**TABLA 9.** Concentraciones plasmáticas de glucosa, triglicéridos y colesterol.

<b>CONCENTRACIONES PLASMATICAS (mg/dL)</b>			
<b>LOTE</b>	<b>GLUCOSA</b>	<b>TRIGLICERIDOS</b>	<b>COLESTEROL</b>
<b>DIETA NORMAL</b>	124	152	88.66
<b>DIETA REFERENCIA</b>	118.81	109.11	79.18
<b>DIETA HIPOCALÓRICA EXPUESTA A 4°C</b>	57	57	60.66
<b>DIETA HIPOCALÓRICA EXPUESTA A 40°C</b>	47.33	50.33	79.66
<b>DIETA HIPOCALORICA EXPUESTA A 50°C</b>	87.5	60.28	73.85

## 7.-DISCUSIÓN

Dentro de este trabajo de investigación, se sometió a las ratas cepa Wistar a una dieta hipocalórica deficiente de vitamina C, esta dieta expuesta a diferentes temperaturas (4°C, 40°C, 50°C), se compararon los resultados con una dieta control, al encontrar en libros que una dieta equilibrada contiene todos los nutrientes necesarios en cantidad y calidad para mantener la salud (Fontanilla,2006),hablando de calidad dentro de esta experimentación nos referimos a la importancia que conlleva un buen almacenamiento de los alimentos como lo es no exponer el alimento a un aumento excesivo de temperatura ya que las proteínas presentes en la dieta presentan modificaciones tal como lo es la desnaturalización proteica en la cual se producen modificaciones en la estructura de las proteínas (Lupano,2013). El factor calor es con frecuencia un agente desnaturalizante que afecta constantemente a los alimentos, ya que al exponer las proteínas de los alimentos a altas temperaturas facilitan la digestión de las proteínas y esto logra desnaturalizar los inhibidores de proteasas y por lo cual se rompen enlaces que mantienen el equilibrio conformacional de la proteína y esto se ve reflejado en la afectación de las propiedades funcionales del alimento.(Badui,2006).

En el presente trabajo una de las condiciones de la dieta a la que fue expuesta es la deficiencia de vitamina C ya que se sabe que es una molécula anti-oxidante vital para el cerebro (Harrison, 2009) entendiéndose que el cerebro es el mayor consumidor de oxígeno y la vitamina C es un potente antioxidante que es de suma importancia para la prevención del estrés oxidativo, se ha encontrado en artículos que una Dieta baja en esta vitamina está relacionada con cambios en el estado del ánimo como lo es la ansiedad.( Bodnar, 2005).

Basados en la información anterior, se sometió a las ratas a modelos de ansiedad

El modelo luz-oscuridad (White-Black) es descrito como un modelo para detectar el comportamiento ansiogénico en roedores (Vogel, 2008), dentro de tal modelo se encontraron diferencias significativas en el número de acicalamientos en el área blanca y el número de transiciones en el área oscura entre la dieta hipocalórica expuesta a 4°C comparado con la dieta normal, las diferentes etapas dentro del modelo sometido en general se observaron tendencias en las cuales el lote expuesto con la dieta expuesta a 40°C registro un mayor comportamiento ansiogénico, en la literatura se encontró que este es un modelo no condicionado y con lo cual revela más variabilidad en los valores conductuales basales y cuentan con un nivel más alto de validez neurobiológica. (Gómez, 2002), los roedores al presentar ansiedad dentro de este modelo tienden a buscar el lado oscuro del modelo al observar los tiempos y el porcentaje de permanencia en el área blanca se registro que el lote de ratas alimentado con la Dieta expuesta a 40°C permaneció durante un corto periodo de tiempo en el área blanca comparado con los datos de los diferentes lotes también expuestos al modelo, pero con diferente característica en la dieta (Crawley, 1980).

El acicalamiento en un estado natural se despliega siguiendo un patrón cefalo-caudal, sin embargo cuando la rata presenta estrés se rompe el patrón, y lo manifiesta acicalándose una sola parte del cuerpo esto comparado con nuestros datos se observó la tendencia de las ratas alimentadas con la dieta expuesta a 40°C presentaron un mayor número de acicalamientos en el área oscura comparado con

las diferentes dietas esto relacionado a que la permanencia en el área oscura es sinónimo de efecto ansiogénico.( Rogel,2011).

Se evaluó el número de veces que la rata se colocó con las extremidades traseras en una posición vertical(levantamientos) haciendo movimientos u olfateando al aire, este tipo de comportamiento es indicativo de la actividad locomotora del animal, es decir el aumento en esta conducta indica una mayor prevalencia de ansiedad y con los datos observados en las graficas las ratas pertenecientes al lote control alimentadas con dieta normal presentaron mayor número de levantamientos en el área blanca, y los resultados de levantamientos del área oscura las ratas de los lotes con dieta expuesta a 40°C y 50°C presentaron un mayor número de levantamientos.(Kaluef,2005).

La rata al presentar entradas del área oscura al área blanca o al contrario, es la manifestación a un estado cómodo por lo cual nos indica que presenta un efecto ansiolítico, las ratas del lote con dieta normal y las ratas del lote de dieta expuesta a 4°C, registraron el mayor número de transiciones tanto en área blanca como en área oscura lo cual nos indica que no presentaban estado ansiogénico (Rogel,2011).

Integrando la información obtenida de los parámetros de este modelo, se puede decir que la permanencia en el área oscura (Crawley, 1980), acicalamiento

( Rogel,2011),levantamiento( Kalueff,2005) y transiciones entre área oscura y área blanca ( Rogel,2011) son significativos de una tendencia a un estado ansiogénico en las ratas, al examinar todos los datos obtenidos se demostró que las ratas pertenecientes al lote alimentados con la dieta expuesta a 40°C son las que presentaron un mayor efecto ansiogénico, al permanecer un mayor número de tiempo dentro del área oscura y presento el mayor numero de acicalamientos y levantamientos dentro del área oscura (Rogel, 2011).

Los roedores dentro del modelo de esferas, tienen una reacción de defensa natural a los objetos desconocidos esto es a una reacción innata a enterrar aquellos estímulos que le son amenazantes (Soloso, 2011), al observar los resultados de nuestras gráficas, se encontraron diferencia significativas tanto en el numero de esferas enterradas y latencia de enterramiento en las ratas alimentadas con la dieta hipocalórica expuesta a 40°C y 50°C comparando los resultados con la dieta normal. Al observar las tendencias que manifiestan los resultados se encontró que el mayor número de esferas enterradas fue obtenido por las ratas de las dietas expuestas a 40°C y 50°C y esto fue logrado en un corto periodo de tiempo comparado con las demás dietas (normal, referencia y 4°C),lo que indica que debido a la ansiedad presentada en las ratas de los lotes expuestos a 40°C y 50°C al sentir a las esferas como una amenaza, por respuesta innata las hacia enterrar una mayor número de esferas en un corto periodo de tiempo, al compararlo con el lote con dieta normal que fue el que presentó un menor número de esferas enterradas pero un mayor número de tiempo de latencia al enterrar la esfera eso indica que las ratas de este lote no tomaban las esferas como una amenaza a diferencia de las ratas de los lotes problema (40°C y 50°C)(Vogel,2008).

En el modelo actividad locomotriz se encontraron diferencias estadística significativas. al someter a las ratas a la prueba actividad total en la cual las diferencias se observaron en las dietas hipocalóricas expuestas a 4°C, 40°C y 50°C con respecto a la dieta normal, en la prueba de actividad ambulatoria se reflejo diferencias significativas con las dietas hipocalóricas expuestas a 40°C y 50°C comparadas con la dieta normal y por ultimo en la actividad vertical se observó diferencias significativas en la dieta referencia, dieta hipocalórica expuestas a 4°C y 40°C en comparación con la dieta normal. Al integrar las graficas de este modelo se puede observar que tanto en Actividad total y actividad Ambulatoria, el lote con Dieta normal y el lote con dieta referencia tienen los valores más altos a comparación con las otros tres lotes de las dietas hipocalóricas expuestas a diferentes temperatura, esto es resultado de que las ratas pertenecientes a los lotes alimentados con dieta hipocalórica expuesta a diferentes temperaturas tienen a bajar su actividad locomotriz, movimientos, levantamientos, debido a que al someter la dieta a altas temperaturas y este aumento de temperatura modifica la estructura de las proteínas (Lupano,2013), las ratas no están obteniendo el aporte energético debido, lo cual se ve reflejado al observar los resultados, por que al no tener energía suficiente esta obtenida de una dieta normal con todos los nutrimentos necesarios como las ratas de los lotes normal y referencia, tienen una actividad menor, no presentan la misma actividad locomotora sus movimientos se ven disminuidos.(Badui,2006)

El contenido calórico presente en una dieta influye sobre la cantidad de lípidos en la sangre, con lo cual se han realizado investigaciones en la cual se encuentra que una dieta baja en calorías produce un descenso en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, glucosa y un aumento de colesterol HDL, como se puede observar en las graficas (Miguel, 2009).

## **8.-CONCLUSIONES**

- La dieta hipocalórica deficiente de vitamina C expuesta a 40°C y 50°C tienden a ser causante de un aumento de ansiedad en ratas cepa Wistar.
- Con las pruebas para evaluar ansiedad se observó una tendencia de las ratas expuestas a 40°C a manifestar una mayor ansiedad comparada con los otros lotes.
- Las dietas hipocalóricas y deficientes de vitamina C expuestas a 40°C y 50°C, tienden a causar cambios a nivel plasmático en niveles de triglicéridos, colesterol y glucosa en roedores.

## 9.-REFERENCIAS

1. Bustamante G.R.,Gomez M.A., Naranjo R.E.(2010) Manual para el uso y manejo de la rata y el ratón como animales de laboratorio, Facultad de Química, UNAM.Mexico, D.F.
2. Badui S. (2006). Química de los alimentos. Editorial Pearson educación, 4ta edición, México, D.F.
3. Bodnar L.M., Wisner K.L. (2005).Implications for Improving Mental, health among Child Bearing-Aged women. Biol Psychiatry. 58(9):679-85.
4. Bremner J.D., Randall P., Scott T.M.(1995).MRI based measurement of hipocampal volumen in patients with combat related post traumatic stress disorder. A.m. J. Psychiatry. 152(7):973-81.
5. Buss D., Tyler H., Barbery S. (1987).Manual de nutrición. Editorial Acribia. España.
6. Bustamante G.R. (2012).Cernimiento neurofarmacológico de dos análogos de la melatonina en ratón de la cepa CD1. Tesis para obtener el grado de doctorado. Escuela Superior de Medicina, IPN, México, D.F.
7. Carbajal A. (2005).Manual de nutrición y dietéticas. Facultad de farmacia, Universidad Complutense. Madrid, España.
8. Choleris E., Thomas A. W., Kavaliers M. (2001).Adetailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of Diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field.Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 25(3):235-60.
9. Cofer S.N., Appley M.H. (1987).Psicología de la motivación.editorial trillas, México, D.F.
10. Costall B., Jones B.J., Kelly M.E., Naylor R.J. (1989).Exploration of mice in a Black and White Test Box: Validation as a Model of Anxiety.Pharmacology. Biochemistry and Behavior . 32(3):777-85.
11. Crawley J., Goodwin F. (1980).Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. Pharmacol Biochem Behav. 167-170.
12. Cryan J., Holmes A. (2005).The ascent of mouse: advance in modeling human depression and anxiety. Nature publishing group. 4(9):775-90.
13. Echeburua E. (1996). Clasificacion de los trastornos de ansiedad.Avances en el tratamiento psicológico de los trastornos de ansiedad, Madrid, España.
14. Entrala. (1995). Vitaminas: aspectos prácticos en medicina. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, España

15. Estructura del ácido L-ascórbico (vitamina C) y reacción de oxidación en la que se convierte en dehidroascórbico. Instituto del Metabolismo Celular. Consultado en línea (17/09/2015) <http://www.metabolismo.biz/web/vitamina-c/>
16. File S.E. (1996). Recent developments in anxiety, stress and depression, pharmacol Biochemistry and behavior. 54(1):3-12.
17. Fontanilla J.A. (2006). La dieta equilibrada, prudente o saludable. Nueva imprenta, España.
18. Gomez C., Saldivar-Gonzalez A., Rodriguez R. (2002). Modelos animales para el Estudio de la ansiedad: una aproximación crítica. Instituto Nacional de Psiquiatria Ramón de la Fuente Muñiz, México, D.F. 25 (1).
19. Harrison F.E., James M.M. (2009). Vitamina C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. *Freeradiomed*. 46(6):719-30.
20. Kalueff, A., Tuohimaa P. (2005). The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potencial utility for neurobehavioural stress research. *J. Neuroscience Methods*. 143(2):169-77.
21. Lupano C.E. (2013). Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento. Editorial de la Universidad de la plata, 1a edición. Buenos Aires, Argentina.
22. Marin (2000), Elementos de nutrición humana. Editorial Universidad Estatal a Distancia. Costa Rica. 85-87.
23. Miguel S. P. E., Crus T. E. (2009). Efectos beneficiosos de cambios en la dieta y ejercicios físicos en mujeres obesas con síndrome metabólico. *Escuela latinoamericana de Medicina*. 29-36.
24. Muñoz M., Chavez A. (1996). Tablas de valor nutritivo de los alimentos. Editorial pax, México D.F.
25. Rodriguez E.B. (2009). Manual de Sesiones Practicas en Farmacología Aplicada, UNAM. México D.F.
26. Royo M.A. (2007). Nutrición en salud pública. Instituto de Salud Carlos III Ministerio de sanidad y consumo. España.
27. Salazar R., Rubalcava L. (2011). Evaluation of the anxiolytic-like effects of clomipramine in two rat strains with different anxiety vulnerability (Wistar and wistar-Kyoto rats): participation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Behavioural Pharmacology*. 22(2):136-46.
28. Sanchez M., Gonzalez S., Sabater J. (1975). Efectos de la desnutrición precoz sobre la capacidad de aprendizaje en la rata. Quinta reunión Anual de la European Association for Behaviour Therapy, Mallorca, España.

29. Soloso-Dupont I., Estrada Camarena E., Lopez Rubalcaba C. (2011). Medicina tradicional: estudios preclínicos de plantas con propiedades ansiolíticas. Medigraphic 78-84
30. Vilaplana M. (2005). Dietas hipocalóricas razones bioquímicas para su fracaso. Farmaceutica comunitaria Master en nutrición y ciencia de los alimentos, España.
31. Villa A. (2010). Posible efecto Ansiolítico del ejercicio voluntario en un modelo de ratas sometidas a restricción alimentaria. Tesis para obtener el grado de licenciatura, Universidad Austral de Chile.
32. Vogel H.G. (2008). Drug discovery and evaluation pharmacological assays, editorial Springer-Verlag, New York.
33. Von Hosier G. (1999). The age of biology: opportunities and challenges for laboratory animal Medicine. Scan J. Lab. Anim., 176-184.
34. Zuñiga J., Tur M., Milocco S., Piñeiro R. (2001). Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal. Editorial Mcgraw-Hill Interamericana, México, D.F.
35. Inserto de la determinación de Glucosa, laboratorio Beckman Coulter. Consultado en línea (17/09/2015). [https://www.uclouvain.be/cps/ucl/doc/plateforme/documents/EN\\_GLU.pdf](https://www.uclouvain.be/cps/ucl/doc/plateforme/documents/EN_GLU.pdf)
36. Inserto de la determinación de Colesterol, laboratorio Beckman Coulter. Consultado en línea (17/09/2015). [https:// www.crbreus.org/pnt/colesterol.pdf](https://www.crbreus.org/pnt/colesterol.pdf)
37. Inserto de la determinación de triglicéridos, laboratorio Beckman Coulter. Consultado en línea (17/09/2015). [https:// www.crbreus.org/pnt/ triglicerids.pdf](https://www.crbreus.org/pnt/triglicerids.pdf)