



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Maestría en Nutrición Humana

## DESNUTRICIÓN PERINATAL Y CONDUCTA APETITIVA EN RATAS JÓVENES DESNUTRIDAS

### TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Nutrición Humana

### Presenta:

L. N. Regina Fernández Vázquez Mellado

### Dirigido por:

Dr. Manuel Salas Alvarado

Dra. Diana Beatriz Rangel Peniche

### SINODALES

Dr. Manuel Salas Alvarado

Presidente

Dra. Diana Beatriz Rangel Peniche

Secretario

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca

Vocal

Dra. Olga Patricia García Obregón

Suplente

Dra. Alejandra Castilla León

Suplente

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca

Directora de la Facultad

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Dr. Ildefonso Torres Pacheco

Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Octubre, 2013  
México



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

**Desnutrición perinatal y conducta apetitiva en  
ratas jóvenes desnutridas**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Nutrición Humana

Presenta

L.N. Regina Fernández Vázquez Mellado

Querétaro, Querétaro a 02 de octubre de 2013



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Maestría en Nutrición Humana

## DESNUTRICIÓN PERINATAL Y CONDUCTA APETITIVA EN RATAS JÓVENES DESNUTRIDAS

### TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Nutrición Humana

### Presenta:

L. N. Regina Fernández Vázquez Mellado

### Dirigido por:

Dr. Manuel Salas Alvarado  
Dra. Diana Beatriz Rangel Peniche

### SINODALES

Dr. Manuel Salas Alvarado

Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Diana Beatriz Rangel Peniche

Secretario

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca

Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Olga Patricia García Obregón

Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Alejandra Castilla León

Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca

Directora de la Facultad

Dr. Irineo Torres Pacheco

Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Octubre, 2013  
México

## RESUMEN

La restricción perinatal de alimento afecta las partes distales de las dendritas de estructuras cerebrales relacionadas con la ingesta de alimento, con pocos efectos sobre los parámetros del soma neuronal. En este estudio se investigó si durante la adolescencia, en ratas que fueron desnutridas en la vida temprana, hay alteraciones en la conducta apetitiva. Se midió la capacidad social para transmitir la preferencia por un alimento entre una rata “demostradora” (DEM) y otra “observadora” (OBS), utilizando el modelo de la rata Wistar desnutrida. La desnutrición se realizó durante el periodo perinatal (DPN), reduciendo al 50% el aporte de alimento (7.8 g) del día de gestación (G) 6 al G12; al 70% (10.9 g) del G13 al G18 y se dio dieta completa hasta el parto. La DPN se continuó ligando los conductos galactóforos de una de dos madres lactantes y rotándolas (cada 12 h) entre las camadas. Se preparó una dieta con sabor a cocoa o a canela para evaluar la frecuencia de acercamientos, husmeos, latencia de inicio de ingesta, tiempo de consumo y gramos consumidos durante la prueba de preferencia a los sabores. En la OBS se evaluó la frecuencia de observación hacia la DEM, el autoaseo y la frecuencia de posición en dos patas. En el encuentro social se midió la frecuencia de contactos con la cabeza, con el cuerpo, el husmeo del hocico de la DEM por la OBS y la ingesta de fragmentos de alimento. Las ratas con DPN observaron menos a las DEM, presentaron mayor frecuencia de contactos con la cabeza, con disminución del husmeo del hocico vs sus controles. Las ratas DEM prefirieron la dieta con canela, mientras que las OBS controles consumieron cantidades similares de ambos sabores; las ratas OBS con DPN prefirieron la dieta de canela al igual que sus DEM. Los hallazgos sugieren que las ratas con DPN exploran y husmean menos a su pareja, tienen más contactos con la cabeza e ingieren el mismo sabor que sus DEM. Se concluye que la DPN interfiere con la capacidad social para transferir la información de preferencia al sabor a su congénere.

**(Palabras clave:** desnutrición, conducta apetitiva, preferencia alimentaria, ratas)

## SUMMARY

Perinatal food restriction affects distal parts of the dendrites in neuronal structures related with food ingestion, with little effects on the neuronal perikarya measures. In this study we investigated whether during adolescence, undernourished rats in early life, had alterations in the appetitive behavior, by assessing their social capacity to transfer food preferences between a demonstrator (DEM) and an observer (OBS) using the undernourished Wistar rat model. Undernutrition was developed during the perinatal period, reducing to 50% their food intake (7.8 g), from gestational day (G) 6 to G12, up to 70% from G13 to G18, and with complete diet until parturition. Perinatal undernutrition was continued with the nipple ligation of one of a pair of lactating mothers, and rotating (every 12 h) between litters. Diets with cocoa and cinnamon were prepared to evaluate the frequency of approaches, olfaction, intake latency onset, time of consumption and food ingestion (g) during a flavor preference test. We recorded the grooming, the rearing and the observation frequency to the DEM by the OBS. Frequency of head and corporal contacts, snout sniffing of the OBS to the DEM and food fragment ingestion during the social encounters were also measured. Rats with perinatal undernutrition observed less to their DEM, they had greater frequency of head contacts, with lower snout sniffing vs their controls. In the food flavor test, DEM rats preferred the cinnamon diet, whereas controls OBS consumed similar quantities of both flavors. The OBS rats with perinatal undernutrition preferred the cinnamon diet as well as their DEM. These findings suggest that rats with perinatal undernutrition explore and sniff less their partner, they have more head contacts and eat the same flavor their DEM does. It is concluded that the perinatal undernutrition interferes with the social capacity to transfer the flavor preference information between conspecifics.

**(Key words:** undernutrition, appetitive behavior, food preference, rats)

## **DEDICATORIA**

Este trabajo lo dedico a todas las personas que de alguna forma me ayudaron durante la Maestría. En especial agradezco a mi esposo, por apoyarme en este paso importante en mi vida y por estar siempre ahí, porque haces que saque lo mejor de mí, y por ser un ejemplo de trabajo, esfuerzo y emprendimiento. A mis papás, por darme el ejemplo de estudio, constancia, responsabilidad y perseverancia, gracias por su apoyo y grandes enseñanzas que me permiten ahora dar un paso más en la vida. Gracias mamá, por enseñarme que cuando algo se quiere se puede lograr, y papá, de ti nació mi gusto por la investigación, por querer saber más de los aspectos que nos interesan. A mis hermanos, por darme el ejemplo de seguir estudiando a pesar de los sacrificios y esfuerzos que esto implica, y por sacarme una carcajada cada vez que los veo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Dr. Salas y a Carmelita por su cariño, por su apoyo incondicional, paciencia, por guiarme y ayudarme en este proyecto, asesorarme, por compartir sus conocimientos y permitirme pertenecer a su equipo de trabajo y a su laboratorio aprendiendo y disfrutando de su compañía día con día.

Agradezco a la Dra. Bety, a la Dra. Tere, a la Dra. Olga y a la Dra. Ale por aceptar formar parte de este proyecto a pesar de que no es el tema en que trabaja ninguna de ellas, sin embargo cada punto de vista, de las distintas especialidades, me permitió realizar un trabajo más completo, abordando distintos temas relacionados con la desnutrición perinatal.

Agradezco al Instituto de Neurobiología de la UNAM por permitirme realizar mi proyecto de Maestría en las instalaciones y facilidades de dicha institución.

Asimismo, agradezco el apoyo de la Universidad Autónoma de Querétaro, por los conocimientos que he adquirido en ella desde la Licenciatura, que me han guiado en el ámbito profesional y me han permitido crecer como persona.

Agradezco el apoyo parcial de DGAPA/UNAM, IN207310-22, IN200413, UAQ-FOMIX y del CONACYT (CVU: 425095/Becario: 284452).

## ÍNDICE

RESUMEN .....	i
SUMMARY .....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
ÍNDICE .....	v
ÍNDICE DE CUADROS .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	viii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Definición de desnutrición y obesidad.....	3
2.2. El olfato y el gusto en la rata.....	10
2.3. Conducta apetitiva en la rata - Conducta de motivación.....	14
2.4. Interacción social en la rata para la selección de alimento .....	18
2.5. Sustrato neuronal de la conducta apetitiva .....	20
III. HIPÓTESIS .....	34
IV. OBJETIVOS.....	35
V. METODOLOGÍA .....	36
5.1. Diseño del estudio .....	36
5.2. Población de estudio.....	36
5.3. Variables de medición.....	38
5.4. Procedimientos .....	40
5.4.1. Grupo desnutrido (GD) .....	40

5.4.2. Grupo control (GC) .....	42
5.4.3. Desarrollo físico .....	42
5.5. Técnicas y pruebas analíticas.....	42
5.5.1. Preferencia gustativa a los sabores en la rata .....	42
5.6. Consideraciones éticas.....	45
5.7. Procesamiento de datos y análisis estadístico .....	46
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	47
6.1 Desarrollo físico .....	47
6.2 Contenido nutrimental de las dietas.....	48
6.3 Evaluación de conducta apetitiva .....	51
6.3.1 Actividad de respuesta anticipatoria para la ingesta de alimento .....	53
6.3.1.1 Efectos de la repetición en la prueba de discriminación gustativa..	53
6.3.1.2 Comparación de los efectos en el acercamiento, husmeo y latencia de inicio de ingesta entre ratas DEM y OBS.....	61
6.3.1.3 Efectos de la observación del compañero DEM .....	69
6.3.1.4 Efectos de la interacción social.....	72
6.3.2 Actividad durante la respuesta consumatoria .....	77
6.3.2.1 Efectos de repetición en la prueba de discriminación gustativa .....	77
6.3.2.2 Comparación de los efectos en tiempo y gramos consumidos entre DEM y OBS .....	80
VII. CONCLUSIONES .....	94
LITERATURA CITADA.....	96

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
5.2.1. Componentes de la dieta de roedores 5001.	38
6.1.1. Medias de pesos corporales ( $\pm$ EEM) de ratas macho control y desnutridas durante el desarrollo.	47
6.2.1. Información nutrimental de la dieta 5001 para roedores de Purina.	48
6.2.2. Información nutrimental de la cocoa en polvo y de la canela en polvo.	49
6.2.3 Información nutrimental de dieta de cocoa y de dieta de canela.	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
2.2.1. Ruta del bulbo olfatorio principal y la del bulbo olfatorio accesorio.	12
2.5.1. Diagrama de las áreas involucradas en el control de la ingesta alimentaria y el balance de energía.	21
2.5.2. Ruta de activación de receptores gustativos para la representación neuronal sensorial.	22
2.5.3. Rutas para las proyecciones del bulbo olfatorio a la corteza insular.	24
2.5.4. Circuito neuronal de estructuras involucradas en la integración de la información hedónica.	25
2.5.5. Estructuras que amplifican el impacto hedónico del placer y circuitos hedónicos.	28
2.5.6. Circuito neuronal de la vía gustativa y estructura que se afectan por la restricción perinatal de alimento en la rata.	31
5.3.1. Esquema de zonas de ingesta de alimento de la rata observadora a la rata demostradora.	40
5.4.1.1. Paradigma de alimentación de las ratas en desarrollo.	41
5.5.1.1. Rata demostradora y observadora en el día 4 de experimentación.	43
5.5.1.2. Diagrama de flujo de metodología. Preferencia gustativa a los sabores en la rata.	44
6.3.1. Acercamiento de la rata a la dieta de canela.	52
6.3.2. Husmeo de la rata a la dieta de canela.	52
6.3.3. Ingesta por la rata de la dieta de canela.	52
6.3.1.1.1. Frecuencia de acercamiento a la dieta de ratas demostradoras control y desnutridas.	55
6.3.1.1.2. Frecuencia de husmeo de la dieta de ratas demostradoras control y desnutridas.	57

6.3.1.1.3. Latencia de inicio de ingesta en ratas demostradoras control y desnutridas.	61
6.3.1.2.1. Frecuencia de acercamiento a la dieta en el día 1 de prueba de ratas demostradoras vs la frecuencia de acercamiento del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.	62
6.3.1.2.2. Frecuencia de acercamiento a la dieta en el día 3 de prueba de ratas demostradoras vs la frecuencia de acercamiento del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.	64
6.3.1.2.3. Frecuencia de husmeo de la dieta en el día 1 de prueba de ratas demostradoras vs la frecuencia de husmeo del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.	65
6.3.1.2.4. Frecuencia de husmeo de la dieta en el día 3 de prueba de ratas demostradoras vs la frecuencia de husmeo del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.	66
6.3.1.2.5. Latencia de inicio de ingesta del día 1 de prueba de ratas demostradoras vs la latencia de inicio de ingesta del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.	67
6.3.1.2.6. Latencia de inicio de ingesta del día 3 de prueba de ratas demostradoras vs la latencia de inicio de ingesta del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.	68
6.3.1.3.1. Frecuencia de observación del DEM por el OBS.	70
6.3.1.3.2. Frecuencia de autoaseo del OBS.	71
6.3.1.3.3. Frecuencia de posición en dos patas del OBS.	72
6.3.1.4.1. Frecuencia de contacto de cabezas entre DEM y OBS en el encuentro social.	73
6.3.1.4.2. Frecuencia de contacto corporal entre DEM y OBS en el encuentro social.	74
6.3.1.4.3. Frecuencia de husmeo del hocico del DEM por el OBS en el encuentro social.	75

6.3.1.4.4. Frecuencia de ingesta de fragmentos del cuerpo del DEM por el OBS en el encuentro social.	76
6.3.2.1.1. Tiempo de consumo de las dietas de ratas demostradoras control y desnutridas.	78
6.3.2.1.2. Gramos consumidos por ratas demostradoras control y desnutridas.	80
6.3.2.2.1. Tiempo de consumo del día 1 de prueba de ratas demostradoras vs el tiempo de consumo del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.	81
6.3.2.2.2. Tiempo de consumo del día 3 de prueba de ratas demostradoras vs el tiempo de consumo del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.	82
6.3.2.2.3. Gramos consumidos el día 1 de prueba por ratas demostradoras vs gramos consumidos el día 1 por ratas observadoras control y desnutridas.	85
6.3.2.2.4. Gramos consumidos el día 3 de prueba por ratas demostradoras vs gramos consumidos el día 1 por ratas observadoras control y desnutridas.	87

## I. INTRODUCCIÓN

La desnutrición, entendida como la ingesta deficiente en calidad y cantidad de alimento hoy día es un gran problema de salud en México. Puede ser causada por un aporte insuficiente de nutrimentos o por una inadecuada utilización de éstos por el organismo, clasificándose así en primaria y secundaria.

La desnutrición primaria es causada por problemas económicos, falta de disponibilidad y accesibilidad a los alimentos, desempleo, entre otras, que limitan el consumo de alimentos. En tanto que problemas de masticación y/o deglución, de mala absorción o metabólicos son la causa de la desnutrición secundaria. Cuando los factores anteriores se conjugan, la desnutrición se clasifica como mixta.

La desnutrición perinatal es aquella que se ocurre durante el embarazo y la lactancia, daña la organización anatómica y la función de los mecanismos que regulan los procesos cognitivos como la atención selectiva, la exploración, la memoria y el aprendizaje, limitando el desempeño intelectual y la competencia profesional en el mundo laboral, afectando la economía de un país.

Los trastornos que ocurren en la vida temprana, ya sea desde la madre gestante o en el mismo individuo en el periodo postparto afectarán su desarrollo. Esto puede llevar a la presencia de trastornos crónicos de la conducta alimentaria, los cuales “programan” o hacen más propensos a los individuos para desarrollar determinadas patologías, alteraciones en el crecimiento del organismo, enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, obesidad y diabetes, y pueden estar relacionadas con el desarrollo del síndrome metabólico en etapas futuras. En este contexto, el modelo de la rata desnutrida como especie altricial (de *altrix*: nodriza) similar al hombre, es capaz de reproducir durante la adolescencia y la adultez

deficiencias en el desarrollo físico, en la inmunidad, en la regulación térmica, y limitaciones en el desarrollo cognitivo, a través de cambios en la expresión genómica durante la vida.

Dado que no pueden estudiarse experimentalmente los efectos de la DPN a largo plazo en seres humanos, se usa el modelo de la rata Wistar desnutrida con el fin de conocer los daños y mecanismos asociados a la restricción de alimento. El trabajo de investigación reciente con modelos animales establece que los sujetos desnutridos, o con diferentes grados de privación sensorial temprana, se ven afectados en el desempeño de procesos cognitivos del tipo del aprendizaje. Asimismo en estos efectos la desnutrición y la atención materna juegan un papel fundamental para el cuidado de los recién nacidos y para su aprendizaje temprano. Además, se sabe que las ratas con restricción perinatal del alimento, tienen un desarrollo inadecuado de estructuras cerebrales relacionadas con la ingesta de alimentos.

Con fundamento en estos antecedentes, en el presente estudio se investigó si durante la etapa juvenil en ratas que fueron desnutridas en la vida temprana, se presentaron alteraciones en la conducta apetitiva. Asimismo, si hubiera deficiencias en la discriminación gustativa, éstas podrían contribuir al entendimiento del desarrollo de obesidad y del síndrome metabólico que parece ser el origen de varias enfermedades neurodegenerativas en el estado adulto. Asimismo, si la desnutrición ocurrida en la vida temprana podría en el largo plazo ser causa de alteraciones en los procesos cognitivos que requieren de gran plasticidad, como sería el caso de los trastornos de la conducta alimentaria.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Definición de desnutrición y obesidad

La desnutrición es un estado patológico inespecífico, sistémico y potencialmente reversible, representado por un cuadro clínico específico que se genera por el balance o aporte insuficiente de uno o más nutrimentos, o por la alteración en su utilización por las células del organismo (NOM-043, 2012). Esta alteración se puede clasificar por su cronicidad y grado de su intensidad en (Nandy et al., 2005; Gutiérrez et al., 2012):

- Emaciación: indicador de una desnutrición aguda, resultante de una privación reciente de alimentos o por enfermedad, en el cual se presenta un peso para la longitud o talla con un puntaje Z por debajo de -2 de la media de la población de referencia internacional de niños sanos y bien alimentados de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2006.
- Baja talla: indicador de desnutrición crónica, debido a una prolongada privación de alimento y/o enfermedad, en el que se presenta una longitud o talla para la edad con una puntuación Z menor a -2 de la media de la población de referencia internacional anteriormente mencionada.
- Bajo peso: se utiliza como un indicador mixto, el cual está influido por la desnutrición aguda y la crónica, aunque no se puede distinguir entre ambas, y se presenta un peso para la edad con un puntaje Z menor a -2 de la media de la población de referencia internacional.

Las causas de este padecimiento son varias, incluyendo la falta de acceso y disponibilidad de alimentos, secundaria a una enfermedad o por trastornos de la conducta alimentaria, como son la anorexia y la bulimia (Nandy et al., 2005).

La población de niños menores de 5 años es la más vulnerable, ya que en ella concurren numerosos procesos del crecimiento cerebral (neurogénesis, migración, diferenciación, sinaptogénesis, angiogénesis, mielinogénesis, gliogénesis, etc.) que hacen “crítica” a esta etapa de la vida para la formación y funcionamiento cerebral (Dobbing, 1972; Morgane et al., 1993). Los efectos cerebrales causados por la desnutrición fueron reportados desde hace más de 40 años. Frecuentemente son permanentes, y en el largo plazo limitan el desarrollo de las capacidades cognitivas (memoria, aprendizaje, atención, emotividad, respuesta al estrés, etc.) que son esenciales para el desarrollo de las capacidades intelectuales, profesionales, económicas y creativas de la población humana (Cravioto y Robles, 1965).

El estado patológico caracterizado por deficiencias energéticas, y de macro y micronutrientes durante la gestación y la lactancia se conoce como desnutrición perinatal (DPN). Este aporte insuficiente de micronutrientes puede comprometer el desarrollo y la función cerebral del producto. El ácido fólico y la vitamina B<sub>12</sub> actúan como cofactores o donadores moleculares para procesos epigenéticos como la metilación del DNA, la cual modula la expresión genética, y por lo tanto la proliferación celular y apoptosis en etapas tempranas del embarazo (Owens y Fall, 2008). Así, se ha considerado que la nutrición es uno de los factores del ambiente intrauterino que altera la expresión del genoma fetal, y que puede tener consecuencias en el largo plazo. Los mecanismos por los que se lleva a cabo la alteración en esta expresión son poco conocidos, pero se sabe que podrían ser a través de dos mecanismos que median efectos epigenéticos de metilación del DNA que ocurren en posiciones 5' de residuos de citosina dentro de los dinucleótidos CpG (citosina-fosfato-guanina), y modificaciones de histonas por acetilación y metilación (Jaenisch y Bird, 2003).

Un aporte insuficiente de micronutrientes como ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> en la madre durante el crecimiento fetal puede inducir estrés oxidativo en

las crías, situación que puede continuar durante la adolescencia, contribuyendo a un déficit en el neurodesarrollo y a la generación de enfermedades neurodegenerativas. Este estrés oxidativo también puede estar relacionado con los bajos niveles de ácidos grasos omega-3, en especial el ácido docosahexaenóico (DHA) en las crías al nacer (Roy et al., 2012).

El tejido nervioso es el segundo, después del tejido adiposo, con mayor concentración de ácidos grasos. Por lo que alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos pueden causar desórdenes del aprendizaje y del comportamiento como trastorno de hiperactividad y déficit de atención, dislexia, dispraxia y autismo (Richardson y Ross, 2000).

La actividad cerebral y la actividad cognitiva están relacionadas con el hierro. El cuerpo estriado y el hipocampo tienen una considerable maduración durante el periodo posnatal temprano y se ven afectados con la deficiencia de hierro (Lozoff y Georgieff, 2006). Durante la etapa prenatal y la lactancia se produce la arborización dendrítica, el crecimiento axonal, la sinaptogénesis, el desarrollo de la neurotransmisión y la mielinización, la deficiencia grave de hierro afecta la mielinización, la dendrocitogénesis, la sinaptogénesis, la neurotransmisión y el neurometabolismo (Beard y Connor, 2003). Además, el hierro es indispensable para el desarrollo del sistema dopaminérgico y el sistema de mielinización (Lozoff y Georgieff, 2006). La deficiencia de hierro también altera las funciones de memoria, aprendizaje y comportamiento así como la memoria visual y espacial, relacionadas con un déficit a nivel del hipocampo y el lóbulo frontal (Lukowski et al., 2010).

El embarazo es el momento en el que los suministros dietéticos de colina son limitados; las ratas preñadas son vulnerables a su deficiencia (Zeisel et al., 1995), y si éstas se encuentran desnutridas la deficiencia será aún más grave, ya que durante el embarazo grandes cantidades de colina son llevadas al feto a través de la placenta, lo que disminuye las reservas maternas (Gwee y

Sim, 1978). Este micronutriente es necesario para la síntesis de fosfolípidos en las membranas celulares, en el metabolismo de metilo, neurotransmisión colinérgica, señalización transmembranal y en el transporte y metabolismo del colesterol (Zeisel y Blusztajn, 1994). Una dieta deficiente en colina agota las reservas y desarrolla disfunción hepática (Lieber et al., 1994). Animales alimentados con una dieta deficiente en colina desarrollaron retardo en el crecimiento, disfunción renal y hemorragia, o anomalías óseas (Newberne y Rogers, 1986). La baja disponibilidad de colina en la infancia afectará la memoria espacial y la memoria de precisión a largo plazo (Wong-Goodrich et al., 2008), así como el crecimiento de órganos, debido a que se requieren de grandes cantidades de colina para la biosíntesis de membranas (Zeisel, 1992).

De diversos estudios se sabe que la desnutrición moderada y leve que ocurre durante los 5 primeros años de la vida tiende a generar obesidad durante la adolescencia y la juventud debido, principalmente, a trastornos de tipo metabólico que frecuentemente en poco tiempo dan origen a diabetes tipo 2 y a otras alteraciones degenerativas. Normalmente, el consumir alimento más allá de las necesidades homeostáticas, parece ser dependiente del placer que genera la degustación del alimento (palatabilidad), más no por la necesidad individual de energía, lo anterior se considera un factor de riesgo que promueve el sobrepeso de los sujetos afectados (Sorensen et al., 2003).

En la mayoría de los casos, los efectos percibidos por el gusto y el olfato, así como los efectos post-ingestión combinados, generan un reforzamiento en la búsqueda de alimento, y también están involucrados aspectos relacionados con la relevancia de incentivo o motivación generados por determinados alimentos. Entonces, una vez aprendida la relación de relevancia del incentivo o recompensa generada por determinado alimento, se promueve la generación de un mayor consumo, a pesar de que ya no se obtengan los beneficios nutricionales básicos post-ingestión o reforzadores

primarios. Lo anterior recluta mecanismos de aprendizaje que contribuyen a un riesgo inminente de sobrealimentación y ganancia de peso (Alsiö et al., 2012).

Las causas de la obesidad son múltiples ya que implican factores genéticos, metabólicos y conductuales que finalmente dan como resultado el desajuste energético a largo plazo. La diabetes es una enfermedad crónica caracterizada por la presencia de un trastorno en el metabolismo de los hidratos de carbono que incrementa los niveles de glucosa en sangre y puede acompañarse de condiciones patológicas que afectan a la función renal, la visión, al sistema cardiovascular y al sistema nervioso (Zieve y Eltz, 2011). La diabetes también afecta la función gustativa, principalmente por trastornos en la detección del sabor dulce (Settle, 1991). El umbral a los sabores está elevado en los sujetos diabéticos para ciertos azúcares simples, incluyendo la glucosa (Schelling et al., 1965; Lawson et al., 1979) y la sacarosa (Lawson et al., 1979; Abbasi, 1981). El daño neurológico asociado a la diabetes incrementa los trastornos del sistema gustativo, aunque éstos pueden darse sin daño neurológico e incluso pueden presentarse sin causa aparente en los miembros familiares en primer grado (Settle, 1981).

La desnutrición es un problema que desde hace muchos años ha existido en nuestro país. Actualmente, millones de personas padecen pobreza, la cual se relaciona con la restricción y la inaccesibilidad a múltiples satisfactores, como bajo suplemento de agua, baja sanidad e higiene. Lo anterior lleva a los individuos a desarrollar enfermedades infecciosas que derivan en la desnutrición, ésta a su vez incrementa el riesgo de enfermedades y de muerte temprana (WHO, 2012).

En la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos en los Hogares del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) que se publicó para el bienio 2006-2008, se indica que el número de personas en condición de pobreza se incrementó de 42.6 a 50.6 millones (Melgar, 2009).

Del año 2008 al 2010 la pobreza moderada y extrema aumentaron de 44.5% a 46.2%, pasando de 48.8 millones a 52.0 millones de mexicanos pobres, así como un incremento de la población que carece de acceso a la alimentación. En el Estado de Querétaro la pobreza pasó de 35.4% (618.8 mil personas) en el año 2008 a un 41.4% en el año 2010 (760.1 mil personas) (CONEVAL, 2010).

El indicador de inseguridad alimentaria se ha establecido como un parámetro de medición de la pobreza en México, ya que permite definir los grupos de población que se encuentran en pobreza de ingresos y que además se perciben como carentes de alimentación. La ENSANUT 2012 muestra que un 41.6% de los hogares mexicanos se encuentran en la clasificación de inseguridad leve, es decir, experimentan preocupación por el acceso a los alimentos e inclusive pueden estar sacrificando la calidad de la dieta familiar. Un 17.7% de los hogares mexicanos presentan inseguridad moderada y un 10.5 inseguridad severa, por lo que se enfrentan al consumo de una dieta insuficiente en cantidad y, en casos extremos, han experimentado hambre debido a la falta de dinero u otros recursos. Tomando como referencia los resultados reportados por el CONEVAL en 2010, en un período de dos años parece haber una ligera tendencia hacia el aumento en la prevalencia de inseguridad alimentaria moderada y severa (Gutiérrez et al., 2012).

La crisis económica internacional, desempleo, bajos salarios y marginación social redujo la adquisición de elementos de la canasta básica como el pollo, tortilla, leche, maíz, frijol, arroz, frutas y verduras, lo que generó un cambio en los hábitos de alimentación de la población marginada. Así, se prefieren, por baratos, los pastelillos, frituras, dulces, refrescos, tamales, atole, sopas instantáneas y caldos que conducen al sobrepeso y a la obesidad (Melgar, 2009), padecimientos que ya alcanzaron el 10% en menores de 5 años de edad, el 34% en niños de 5 a 11 años, el 35% de los adolescentes y el 70% en adultos de la población mexicana (Gutiérrez et al., 2012). La obesidad,

a su vez, se considera como una de las causas más frecuentes de diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, renales, ceguera e hipertensión que son causas de incapacidad y muerte. Por otro lado, el Sector Salud de Querétaro señala que alrededor del 10% de los recién nacidos tiene un alto índice de riesgo de daño cerebral al nacimiento, asociado a desnutrición materna por falta de atención primaria durante el embarazo (González, 2003). Asimismo, en México un 70% de la población tiene sobrepeso y un 30% obesidad, ocupando el 2° lugar a nivel mundial en adultos obesos (OECD, 2010) y el 1° en obesidad infantil (Téllez, 2010).

La Norma Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2010 define la obesidad como una enfermedad caracterizada por el exceso de tejido adiposo en el organismo y es determinada en adultos cuando existe un índice de masa corporal igual o mayor a  $30 \text{ kg/m}^2$  y en personas adultas de estatura baja igual o mayor a  $25 \text{ kg/m}^2$ . El sobrepeso es definido como un estado pre mórbido de la obesidad, caracterizado por la existencia de un índice de masa corporal igual o mayor de  $25 \text{ kg/m}^2$  y menor de  $29.9 \text{ kg/m}^2$  en población adulta general, y en adultos de talla baja, igual o mayor de  $23 \text{ kg/m}^2$  y menor de  $25 \text{ kg/m}^2$ . En menores de 19 años, la obesidad se determina cuando el IMC se encuentra desde el percentil 95 en adelante, y sobrepeso cuando el IMC se encuentra entre el percentil 85 y 95, de las tablas de IMC para edad y sexo de la OMS (NOM-008, 2010).

Los trastornos de la conducta alimentaria como la obesidad, la anorexia nervosa y la bulimia entre otros, pudieran tener conexión con trastornos que ocurrieron en la vida temprana ya sea desde la madre o propios, lo que crea una programación de alteraciones metabólicas que hacen más propensos a los individuos a desarrollar ciertas patologías (Vieau et al., 2007). Se ha establecido que el ambiente durante la etapa fetal y la infancia está estrechamente relacionado con el incremento en el riesgo de desarrollo de enfermedades no transmisibles en la vida adulta (Barker, 2004). Éstas pueden

estar relacionadas con el desarrollo en etapas futuras del síndrome metabólico (Waterland y Jirtle, 2004; Yajnik, 2004; Yajnik y Deshmukh, 2008), estado patológico que incluye varios componentes relacionados a la enfermedad cardiovascular, dentro de los cuales se encuentran la resistencia a la insulina, bajas concentraciones de colesterol HDL, la hipertrigliceridemia, la hipertensión arterial y la elevación de la proteína C-reactiva y del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (Grundy et al., 2004).

Las patologías en menores de 5 años del tipo de gastroenteritis, prematuridad, enfermedades metabólicas, trastornos genéticos, etc., pueden inducir alteraciones en el crecimiento del organismo, las cuales pueden llevar al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer, depresión, esquizofrenia, esclerosis múltiple), renales o cardiovasculares, trastornos alimentarios como la diabetes, la obesidad, entre otros (Koenig et al., 2002; Yajnik, 2002; Wells, 2003; Wlodek et al., 2008).

Para estudiar los efectos a corto y largo plazo de la DPN, se ha desarrollado el modelo de la rata Wistar desnutrida (Pérez-Torrero et al., 2003), el cual permite realizar diversos estudios con el fin de conocer los mecanismos básicos de las afecciones que acarrea este padecimiento.

## *2.2. El olfato y el gusto en la rata*

En los animales altriciales como la rata, la ingesta neonatal de alimento depende principalmente de las señales ambientales olfativas y gustativas existentes durante las interacciones tempranas entre la madre y la camada (Carreón et al., 2012). Cuando ocurre la apertura de oídos y de ojos de las crías y las actividades motoras mejoran, las señales olfativas ambientales y maternas se expanden y se relacionan con estímulos táctiles, auditivos y visuales fuera del nido, promoviendo el aprendizaje y la experiencia olfativa durante la etapa de pre-destete y las interacciones sociales en la vida adulta (Nyakas y Endroczi, 1970; Teicher y Blass, 1977; Sullivan et al., 1990).

Los receptores olfativos son neuronas de primer orden que detectan sustancias químicas suspendidas en el aire que, a través de los movimientos inspiratorios del ciclo respiratorio, son arrastradas hasta la mucosa olfativa, ubicada en la parte alta de la mucosa nasal. Sus axones penetran por los orificios de la lámina cribosa del hueso etmoides de la base del cráneo para terminar en los glomérulos del bulbo olfatorio (BO). A través de proyecciones axonales de las células de segundo orden del BO, las células mitrales y las células en penacho, los impulsos nerviosos, modulados por la actividad de células granulares, se transportan a un grupo de estructuras basales telencefálicas conocidas como el núcleo olfatorio anterior, la corteza piriforme, la amígdala, el hipocampo y la corteza olfativa primaria (Shipley y Geinisman, 1984), definida como la región que recibe proyecciones directas de fibras desde el BO para integrar la información olfativa codificada que determina la discriminación olfativa y la ingesta de alimento (Fu et al., 2004).

En paralelo con la vía del sistema olfativo principal, está la vía del sistema vomeronasal, también llamada del bulbo olfatorio accesorio, que sigue la ruta del BO principal, pero que al dejar el BO, se proyecta a la amígdala y después al hipotálamo y al sistema límbico (Watson et al., 2010). Esta vía sensorial detecta a nivel del órgano vomeronasal (órgano de Jacobson) ubicado en la mucosa nasal, cerca del tabique nasal, sustancias químicas diluidas en el moco nasal (feromonas) que son capaces de afectar el reconocimiento y la conducta de congéneres relacionada con la conducta reproductiva y de supervivencia medioambiental (Fig. 2.2.1). Este sistema, por lo tanto, permite en los individuos de diferentes especies la delimitación de territorio (marcaje), la jerarquía social, la fijación al pezón para la succión, la sincronización de los ciclos reproductores, la selección de pareja, el reconocimiento de congéneres, el lamido anogenital de los neonatos, etc., (Brodal, 2010).

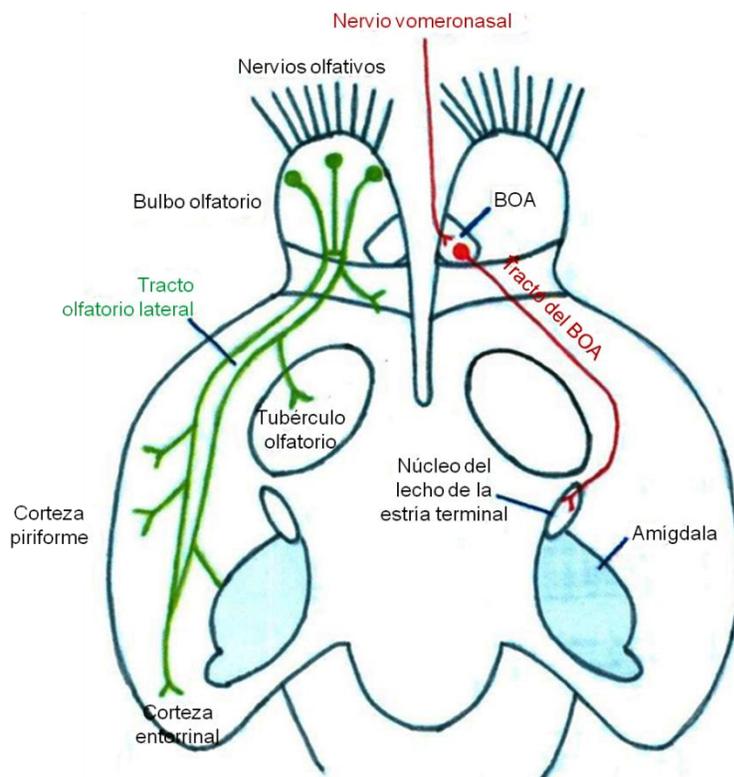


Figura 2.2.1. Ruta del bulbo olfatorio principal y la del bulbo olfatorio accesorio. BOA, bulbo olfatorio accesorio (Adaptado de Nieuwenhuys et al., 1998).

Durante el primer mes de vida, el olfato de la rata tiene un desarrollo casi completo y suficiente para la discriminación olfativa temprana que ayuda a la supervivencia. Sin embargo, la DPN disminuye el área total neonatal del BO, afecta la organización y tamaño de los glomérulos olfativos, así como el desarrollo de las células mitrales y las células en penacho. Éstas presentan un árbol dendrítico pobremente desarrollado con reducción de la función inhibitoria de las neuronas granulares, resultando en deficiencias discriminatorias olfativas, lo que podrá afectar la regulación de la ingesta alimentaria (Debassio et al., 1996; Frías et al., 2006, 2009; Carreón et al., 2012).

El gusto se va desarrollando por etapas. Las primeras papilas (caliciformes) que aparecen son las del paladar blando (parte posterior de la lengua). Éstas permiten detectar sabores desagradables que potencialmente pueden ser tóxicos y causar un daño morfológico y funcional; son un mecanismo temprano de protección del recién nacido para evitar el consumo

de sustancias que provocan aversión o diferentes grados de intoxicación y por lo tanto, son esenciales para la supervivencia en el medio ambiente. Posteriormente, se forman las de la parte media (foliadas) y por último las anteriores (fungiformes) de la lengua, las cuales le dan más versatilidad a la degustación de los sabores. La restricción de alimento también deteriora el desarrollo de los receptores gustativos y las neuronas de los relevos de la vía gustativa que se proyectan hasta la corteza cerebral (Rubio-Navarro et al., 2011).

Los sistemas quimiosensoriales gustativos y olfativos dependen de receptores localizados en la cavidad nasal y en la oral, los cuales interactúan con determinadas moléculas para generar potenciales locales y de acción, y así transmitir patrones de impulsos nerviosos que codifican los efectos del estímulo químico a las regiones apropiadas del SNC (Sugai et al., 2005). El olfato y el gusto funcionan en sinergia para dar la quimiorrecepción y modular la discriminación de señales químicas, activando circuitos para los procesos perceptuales y la ingesta de alimento (Hermann y Rogers, 1985). Así los trastornos en la función gustativa usualmente se convierten también en alteraciones en el olfato (Davidson et al., 1998; De Campos et al., 2007). Por lo tanto, la investigación sobre el desarrollo y funcionamiento de los mecanismos de la sensibilidad química que van asociados a la desnutrición crónica en animales de experimentación, tiene gran relevancia por sus repercusiones en los procesos de reconocimiento materno, de congéneres, depredadores, en la discriminación a olores y sabores, en el desarrollo de la conducta social y el establecimiento de los hábitos de alimentación, y para el entendimiento del origen de las patologías asociadas a la desnutrición y la obesidad (Brodal, 2010).

### *2.3. Conducta apetitiva en la rata - Conducta de motivación*

Las conductas motivadas son aquellas que están orientadas a una meta, son iniciadas por estímulos internos y externos, e incluyen conductas de desplazamiento hacia la meta, aumento del nivel del estado de alerta y orientación del organismo en direcciones que lo acercan o lo alejan de metas específicas. Las conductas motivadas suelen ser anticipatorias e incluyen aspectos cognitivos asociados con aprendizaje y planeación. La motivación y la anticipación pueden surgir como resultado de la expresión de relojes biológicos que le confieren orden temporal a los procesos fisiológicos y a la conducta (Escobar y Aguilar, 2002).

Desde el punto de vista de su organización, las conductas de diferentes especies están estructuradas en varios componentes que incluyen: 1) respuesta anticipatoria, es la pauta inicial, desencadenada por estímulos endógenos y exógenos diversos; 2) respuesta consumatoria, por la cual se satisface una necesidad básica; 3) conducta o estado de placidez o relajación, que pone fin a la expresión conductual (Salas et al., 2002).

Las conductas motivadas se han clasificado de la siguiente manera: las motivaciones primarias son aquellas que se considera surgen a partir de insatisfacciones o privaciones corporales y que su satisfacción es esencial para la supervivencia del individuo. Son innatas porque no requieren de un aprendizaje, y son comunes en todos los individuos de una especie, como por ejemplo, el hambre y la sed. Las conductas motivadas secundarias son aquellas que se observan principalmente en el ser humano y que involucran actividades aprendidas, intelectuales o sociales, como alcanzar un buen rendimiento deportivo, logros en el estudio, obtener dinero, etc., (Escobar y Aguilar, 2002). La conducta apetitiva como conducta motivada primaria, comprende todos aquellos comportamientos que controlan la ingesta de

alimento y agua para satisfacer las necesidades biológicas básicas de los individuos (Barnett, 1963).

En la rata, el sentido del olfato desempeña un papel importante para la expresión de la conducta asociada a funciones básicas necesarias para la supervivencia de los sujetos en su medio ambiente. Así, diversos estudios han demostrado en relación a los olores que: 1) pueden determinar la dirección de los movimientos de la rata, 2) puede haber respuestas de preferencia o de evasión a determinados olores, 3) la rata puede aprender a relacionar el alimento con olores particulares, incluso con un olor que anteriormente causaba aversión, o con olores provenientes de la madre o del nido que le aportan experiencia temprana que puede ser útil para modular su preferencia por el alimento en diferentes estadios del periodo de vida (Barnett, 1963; Sullivan, 2005; Moriceau y Sullivan, 2006; Ruiz-Díaz et al., 2010).

La dirección de los movimientos de una rata cuando va a ingerir algo también puede ser influenciada por otras ratas; esto puede ser definido como un estímulo social. La mayoría de las interacciones sociales que influyen en el comportamiento alimentario dependen del aprendizaje. La elección de alimento en la rata no siempre está determinada por las necesidades fisiológicas, sino que los gustos o aversiones a determinados sabores también forman parte de la conducta apetitiva. Las características particulares del alimento influyen en la cantidad que se ingiere de éste; de la misma forma los efectos físicos favorables o desfavorables que éste posea (textura y sabor) o si provoca dolor afectarán la elección del alimento. Estos efectos dependen de la organización de los estímulos químicos y del sistema nervioso central (SNC) (Barnett, 1963).

Estudios previos indican que la rata recién nacida es capaz de distinguir gradualmente entre los sabores dulce, salado y amargo, expresando respuestas gustofaciales de aceptación o de rechazo (Ganchrow et al., 1986; Steiner et al., 2001). Tal función gustativa debe depender tanto del desarrollo

de las papilas gustativas como de las vías que transmiten la información en el SNC antes y después del nacimiento (Salas et al., 2012b).

Cuando a un animal experimental se le requiere para que aprenda a preferir un determinado sabor, muestra inicialmente neofobia o temor a sufrir un daño corporal potencial antes de definir su preferencia por ese sabor (preferencia condicionada al sabor). De esta manera cuando un animal ingiere una sustancia nueva poco dañina, inicialmente muestra su neofobia e ingiere con suma cautela una pequeña cantidad del material novedoso; después de aprender que el alimento es seguro para consumirse, incrementará su consumo en subsecuentes exposiciones (Bures et al., 1998). A través de este proceso de atenuación de la neofobia (seguridad aprendida), puede clasificar como familiar y seguro el alimento novedoso (Gutiérrez et al., 2003; Bahar et al., 2004). De estudios más recientes se sabe que la atenuación de la neofobia depende no sólo de la actividad de la corteza insular, sino también del hipocampo y la corteza perirrinal (Rodríguez-Ortiz et al., 2005; De la Cruz et al., 2008).

La evidencia experimental indica que la ingesta de alimento obtenida por el aprendizaje o por formas no relacionadas con éste, parece estar regulada por la palatabilidad a los sabores (valor hedónico). Asimismo, ésta es críticamente dependiente de las interacciones recíprocas entre las estructuras del sistema gustativo en el tallo cerebral, y aquellas de la parte ventral del cerebro anterior. En los omnívoros, la selección del alimento enfrenta a los sujetos a decidir entre un alimento benéfico y otro dañino mediante una evaluación refinada de las características sensoriales del alimento, particularmente su sabor, olor y textura (Lundy, 2008).

También participa en la elección de alimento la predisposición innata a los sabores (vgr. se prefiere un alimento dulce, con aversión por uno amargo) (Hudson y Distel, 1999; Yamamoto y Ueji, 2011). Las interacciones sociales

también participan en la selección de un alimento (Galef y Clark, 1972; Galef et al., 1988; Londei et al., 1988). Las preferencias por un alimento se fortalecen cuando éste se paree o no con otro que provoca malestar gastrointestinal y signos de enfermedad (Sclafani, 1995).

Cuando los sujetos se exponen incluso una sola vez a una sustancia desagradable se genera una fuerte aversión a ella. García et al. (1974) observaron que las ratas que bebieron una solución de azúcar con agua que contenía veneno que las enfermaba, posteriormente rechazaban o evitaban la solución azucarada. Lo anterior indica que un sabor pareado con malestar condiciona una aversión gustativa inconsciente, casi reflexiva y adaptativa denominada “aversión condicionada al sabor” (García et al., 1974; Nicolaous et al., 1983).

La capacidad para hacer asociaciones condicionadas entre claves gustativas y malestares puede ser una explicación del “miedo al cebo” que presentan los animales cuyo crecimiento y reproducción se controla por venenos incluidos en cebo. De esta manera, una rata silvestre que ingiere una dosis no letal que le provoca la aversión, en el futuro evitará ingerir ese tipo de alimento a menos que se le cambie el sabor (Barnett, 1963).

Por otro lado, existen factores corporales en la rata que también influyen en la ingesta de alimento, indicando que el hambre es un proceso complejo, los cuales son (Barnett, 1963):

- Inician o incrementan la ingesta alimentaria: bajo suministro de glucosa, decremento de la temperatura corporal, baja temperatura ambiental y contracciones del estómago cuando está vacío.
- Reflejos: órganos sensitivos (olfativo, gustativo, etc.), neuronas sensoriales, núcleos del tallo cerebral, neuronas motoras y músculos.

- Detienen o disminuyen la ingesta alimentaria: ejercicio, deshidratación, aumento de la temperatura corporal, incremento de temperatura ambiental, estímulos de la boca y de la faringe y la distensión estomacal.

El hipotálamo, junto con el contenido de metabolitos en la sangre o la tonicidad de los fluidos corporales regulan la ingesta de alimento. Esta estructura cerebral es la parte más anterior del sistema nervioso autónomo, está altamente vascularizada, responde a cambios en la composición corporal y tiene conexiones aferentes y eferentes con los hemisferios cerebrales, con la hipófisis y sus secreciones y el tálamo (Barnett, 1963).

#### *2.4. Interacción social en la rata para la selección de alimento*

El término “social” se refiere a cualquier comportamiento que está directamente influenciado por otro miembro de la misma especie. De esta forma, la conducta social puede tener una influencia importante en la alimentación de las ratas. En determinadas circunstancias, una rata puede estimular a otra a alimentarse e ingerir más de lo que normalmente hubiera comido (Barnett, 1963), o a presentar una conducta de imitación de sus compañeros como una forma de aprendizaje social que favorece la adaptación (Galef et al., 2007).

Varios autores han estudiado la conducta apetitiva y el aprendizaje en las ratas. Se ha observado que dentro de una colonia de ellas, hay un líder, el cual prueba primero el alimento y les lleva a sus compañeros, quienes comerán lo que llevó o pueden lamer de su cara y patas residuos de éste que los alerta acerca del alimento disponible en su entorno (Barnett, 1963).

La elección de alimento en animales depende principalmente de la prueba individual de los sabores y la subsecuente evaluación de las consecuencias postingesta, las cuales pueden ser contrastadas con la memoria

de sabores o alimentos previamente almacenada. Sin embargo, la interacción entre congéneres puede determinar o influir en las experiencias posnatales gustativas de otras ratas del grupo social (Galef, 1981).

La evidencia experimental indica que los efectos sociales sobre la alimentación pueden provenir de cinco diferentes fuentes. 1) En el útero, las ratas pueden detectar y familiarizarse con los sabores de algunos alimentos que su madre ingiere (Hepper, 1988). 2) Los sabores de los alimentos que la madre ingiere son transportados a sus crías a través de la leche, y en la ablactación, las ratas crías prefieren los alimentos con sabores que experimentaron durante la lactancia (Galef y Henderson, 1972; Martin y Alberts, 1979). 3) Cuando las crías buscan sus primeros alimentos sólidos son atraídas por la visión de sus congéneres adultos, se acercan a éstos e ingieren alimentos sólidos por primera vez junto a ellos (Galef y Clark, 1971). 4) Mientras se alimentan, las ratas depositan señales olfativas en el alimento y alrededor de éste, y las ratas que buscan alimentarse prefieren los alimentos y lugares marcados que los no marcados (Galef y Heiber, 1976; Laland y Plotkin, 1993). 5) Finalmente, husmeando el aliento de sus congéneres, las ratas pueden determinar qué alimentos han estado ingiriendo sus compañeros y muestran una preferencia incrementada por ese mismo alimento (Galef y Wigmore, 1983; Heyes y Durlach, 1990).

La información que un observador (OBS) extrae de su demostrador (DEM), y que influye en la subsecuente elección del alimento consiste en dos componentes olfativos: 1) el componente relacionado con la dieta que permite que el OBS identifique la dieta de su DEM, y 2) el contexto producido por la rata que actúa junto con el componente relacionado con la dieta para mejorar la subsecuente preferencia del OBS por la dieta de su DEM. Las señales olfativas necesarias para el aprendizaje del OBS emergen de la nariz y de la boca del DEM, por lo que el OBS debe de acercarse a la cabeza del DEM para detectar esas señales. Consecuentemente, las señales táctiles, visuales o auditivas que

pasan entre los DEM y los OBS pueden facilitar el aprendizaje social (Galef y Stein, 1985; Galef y Jeimy, 2004).

Resultados de varios estudios mostraron que después de que una rata OBS interactúa brevemente con un congénere DEM, quien recientemente ingirió un alimento con un sabor distintivo, la preferencia de la rata OBS por el alimento que comió su DEM se incrementó significativamente. La rata OBS que interactuó con la rata DEM mantenida con alimento con sabor a canela y que después elige entre alimento con sabor a canela o a cocoa, ingerirá cantidades significativamente mayores del alimento con sabor a canela que una rata OBS a la que se le ofrecen las mismas opciones de dieta después de interactuar con la rata DEM alimentada con dieta con sabor a cocoa (Galef y Wigmore, 1983).

### *2.5. Sustrato neuronal de la conducta apetitiva*

A través del cerebro se recibe continuamente información proveniente de varios receptores que registran procesos y estados fisiológicos del cuerpo (Craig, 2002). La integración fisiológica de la información proveniente de distintas modalidades sensoriales es una propiedad general del sistema nervioso de los mamíferos, cuyo objetivo es mejorar la detección o identificación de estímulos a través de neuronas multimodales que reciben la información sensorial para emitir una respuesta específica (Small y Prescott, 2005).

El sistema interoceptivo, constituido por regiones viscerosensoriales distribuidas en regiones cerebrales como el troncoencéfalo, el tálamo y la corteza cerebral, registra procesos y estados fisiológicos del cuerpo a través de receptores (fibras sensoriales de pequeño diámetro que inervan prácticamente todos los tejidos del cuerpo) (Craig, 2002), que a su vez activan la interacción de varias regiones cerebrales. Estas interacciones generan cambios en la conducta del sujeto que intenta resolver, cambiar o mantener el estado emocional producido por la sensación de su cuerpo (Contreras et al., 2008).

Los alimentos ingeridos tienen un impacto en el SNC por dos mecanismos principales. Los micronutrientes pueden provocar efectos sobre la estructura y función del sistema nervioso en general, siendo éste uno de los mecanismos. Por otro lado, los macronutrientes ingresados a las vías del metabolismo energético son almacenados e interactúan con el sistema nervioso directamente o a través de la liberación de hormonas peptídicas, que permiten que el cerebro reconozca la disponibilidad de fuentes energéticas a corto y largo plazo. Estas dos rutas, junto con los sistemas endócrino, autonómico y de conducta y los circuitos integradores cerebrales, forman un sistema homeostático, el cual regula el balance energético para controlar la ingesta y el gasto. Este sistema es modulado por otros factores, como los ritmos circadianos, el ciclo reproductivo, el sexo y etapas relativas de la vida (Morrison y Berthoud, 2007).

Las interacciones de las señales ambientales e internas con el SNC son sensibles a la predisposición genética o posiblemente a la modulación epigenética (Morrison y Berthoud, 2007). La información gustativa que llega al SNC a través del nervio glosofaríngeo, del nervio facial y del nervio vago, llega hasta niveles prosencefálicos del cerebro (Ricardo y Tongju-Koh, 1978), siendo el tallo cerebral, el hipotálamo y el sistema límbico de las tres principales áreas cerebrales involucradas en el control neural de la ingesta alimentaria y balance de energía (Fig. 2.5.1) (Morrison y Berthoud, 2007).

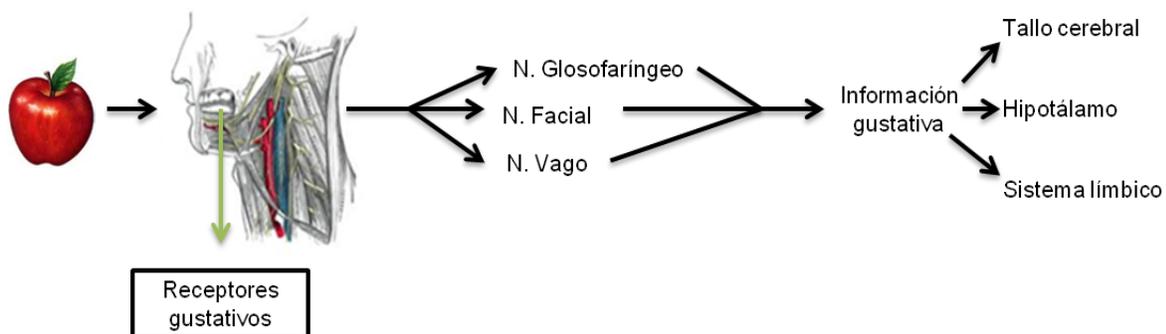


Figura 2.5.1. Diagrama de las áreas involucradas en el control de la ingesta alimentaria y el balance de energía. N, nervio craneal.

En la rata, la activación de los receptores gustativos sigue la vía de los pares craneanos VII, IX y X que hacen sinapsis con células en las papilas gustativas (Yamamoto, 2006), la proyectan vía de los ganglios extracraneanos petroso, nodoso y geniculado al núcleo del fascículo solitario (NFS), siguiendo una ruta para la representación sensorial y otra para la de recompensa-aversión (Sewards, 2004). El componente sensorial releva en el núcleo del fascículo solitario rostral (NFSr), sigue a los subnúcleos central medial y ventral lateral del núcleo parabraquial (NPB); éste manda dos rutas paralelas ascendentes, una hacia la amígdala (Nishijo et al., 1998) y otra continúa al núcleo dorsal lateral del tálamo, alcanzando finalmente a la corteza insular gustativa (Fig. 2.5.2) (Yamamoto, 2006). La codificación neural de la información gustativa (sabor) va a estar dada por las respuestas de distintas magnitudes desarrolladas en varias neuronas así como por la localización espacial de estas neuronas y la manera de activarse en las distintas porciones de su estructura (Yamamoto y Yuyama, 1987; Lemon y Smith, 2006; Lemon y Katz, 2007).

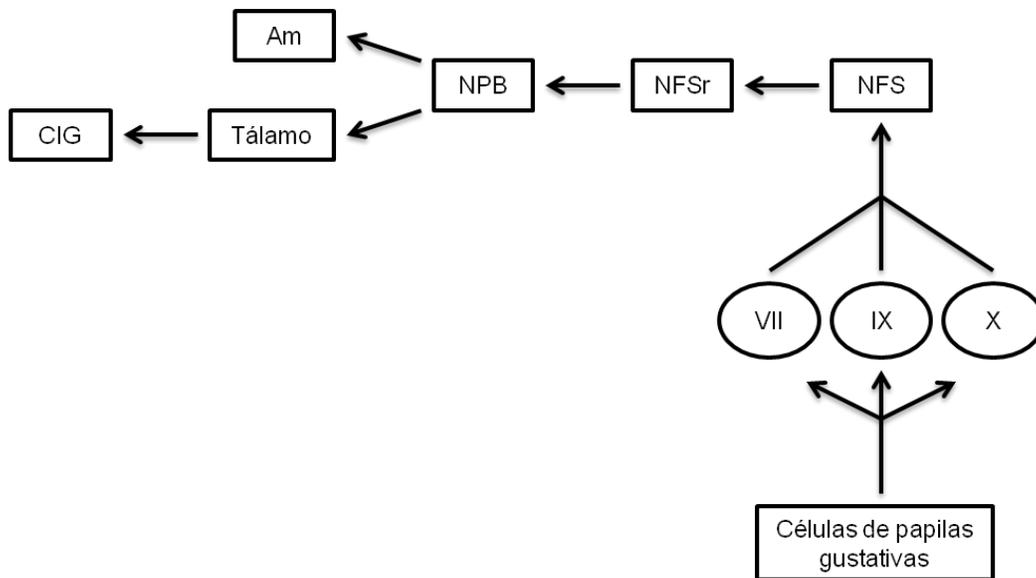


Figura 2.5.2. Ruta de activación de receptores gustativos para la representación neuronal sensorial. VII, nervio facial, IX, nervio glossofaríngeo, X, nervio vago; NFS, núcleo del fascículo solitario; NFSr, núcleo del fascículo solitario rostral; NPB, núcleo parabraquial; Am, amígdala; CIG, corteza insular gustativa.

El BO principal tiene proyecciones a la corteza olfativa primaria (Fu et al., 2004) y a un sector de la corteza insular (CI). Esta parte de la CI también recibe aferencias de relevos de las principales estructuras gustativas y viscerales, y dispone de proyecciones descendentes al NFS y al NPB, y a varias zonas medulares que contienen motoneuronas preganglionares parasimpáticas (Shiple y Geinisman, 1984).

La corteza piriforme (CP) es la estructura más larga de la corteza olfativa; además la región piriforme incluye a un núcleo localizado entre la CP y el putamen caudal, llamado el núcleo endopiriforme (NEP). La CP es un centro importante antes de que la información olfativa alcance el sistema mayor a través del NEP (Sugai et al., 2005). Las neuronas de este núcleo tienen largos axones que proyectan a la corteza olfativa, al núcleo talámico mediodorsal (MD), a la amígdala, así como a la zona disgranular y a la agranular, y pocas a la zona granular de la CI (Fu et al., 2004). Aunque la zona agranular está mayormente asociada con funciones víscero-sensoriales y autonómicas más que con el sabor, esta región es importante para la propagación de la información del NEP a la corteza gustativa (Sugai et al., 2005).

Se sugieren dos rutas para las proyecciones del bulbo olfatorio a la CI: a) una ruta es la del BO a la CP y de la CP a la CI; b) la segunda ruta es desde la CP a través del NEP al MD, y del MD a la CI (Fig. 2.5.3.) (Sugai et al., 2005).

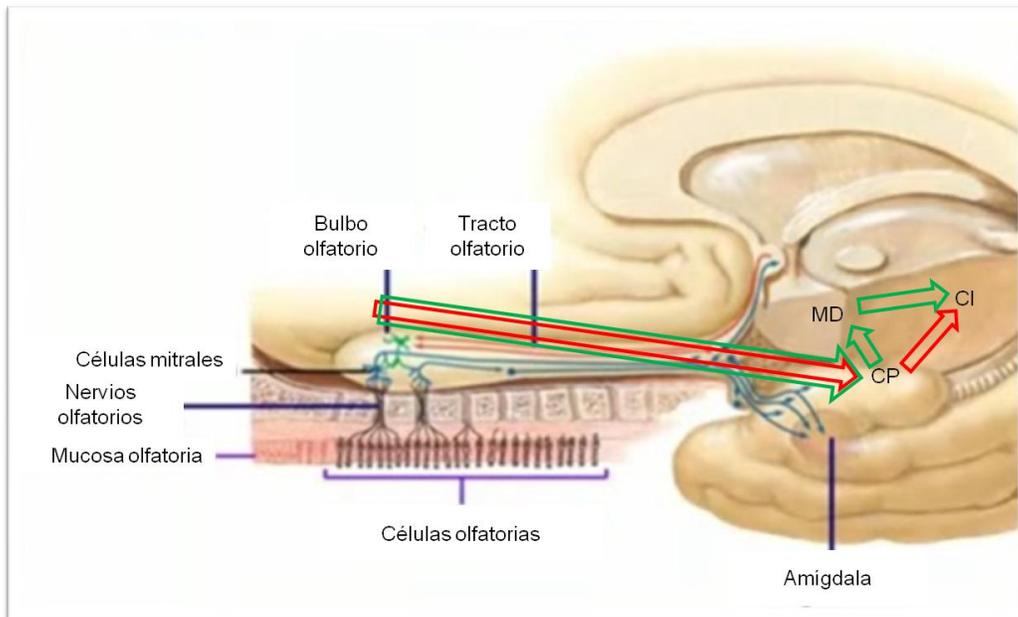


Figura 2.5.3. Rutas para las proyecciones del bulbo olfatorio a la corteza insular. CP, corteza piriforme; MD, núcleo talámico mediodorsal; CI, corteza insular. Flechas rojas, ruta a; flechas verdes, ruta b.

La información hedónica llega a la porción intermedia del NFS, releva en los subnúcleos externo lateral y externo medial del NPB, continúa al MD y a varias estructuras límbicas que incluyen a la corteza medial prefrontal, al núcleo central de la amígdala, núcleo del lecho de la estría terminal y al hipotálamo lateral (Morgane y Mokler, 2006). Estudios recientes de marcaje retrógrado en el área de la “cintura” del NPB revelan conexiones eferentes a éste desde la CI (zonas disgranular y agranular), el núcleo del lecho de la estría terminal y el núcleo central de la amígdala (Tokita et al., 2009). El pálido ventral y el área ventral tegmental no tienen acceso directo a la vía gustativa sin embargo, estas estructuras hacen uso de la información sobre el valor hedónico de los alimentos a partir de la amígdala, vía el núcleo accumbens (NAcc) para motivar a los animales a consumir alimentos o líquidos agradables. El sistema mesolímbico modula las respuestas alimentarias dependientes de la palatabilidad a través de su conexión con el área hipotalámica lateral (Fig. 2.5.4) (Shimura et al., 2005).

La información mecanosensorial, quimiosensorial y termosensorial del tracto gastrointestinal y otros órganos abdominales, junto con la información del sabor, llegan al NFS y al área postrema a través de neuronas aferentes y hormonas. Asimismo, el tallo cerebral recibe información sobre los nutrientes absorbidos a través de sensores en la vena porta hepática, riñones y el páncreas (Fig. 2.5.4) (Morrison y Berthoud, 2007).

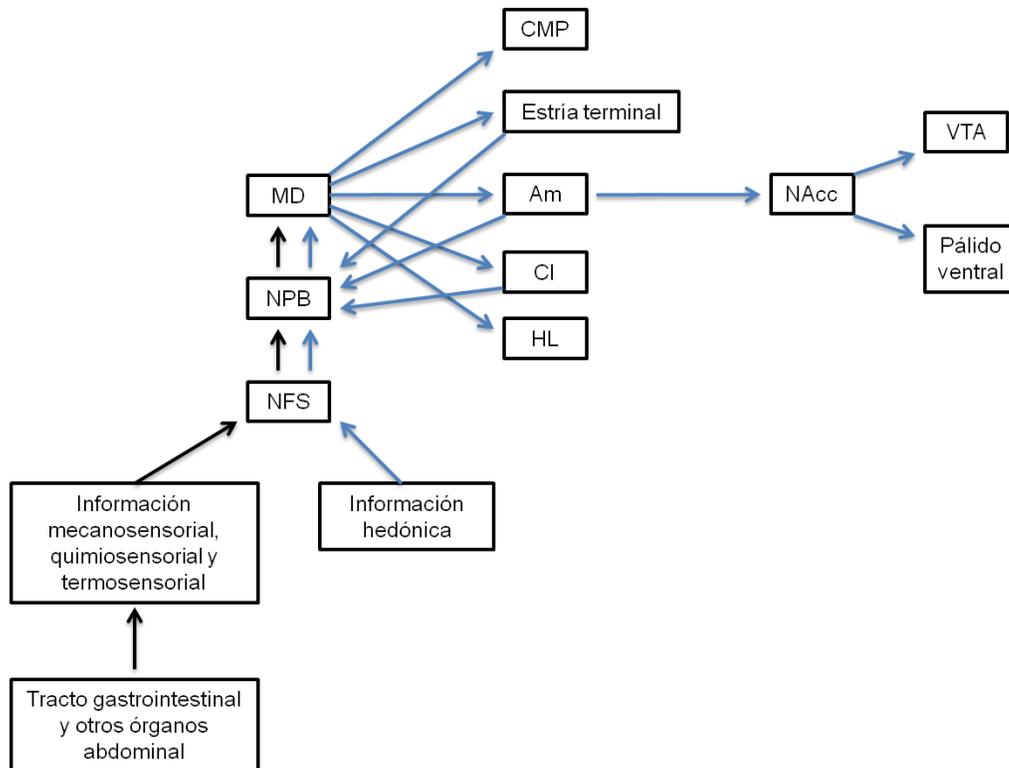


Figura 2.5.4. Circuito neuronal de estructuras involucradas en la integración de la información hedónica. Las flechas azules representan la transferencia de información hedónica; las flechas negras representan la transferencia de información mecano, quimio y termosensorial. NFS, núcleo del fascículo solitario; NPB, núcleo parabraquial; MD, núcleo talámico mediodorsal; CMP, corteza medial prefrontal; Am, amígdala; CI, corteza insular; HL, hipotálamo lateral; NAcc, núcleo accumbens; VTA, área ventral tegmental.

El estudio de Shipley y Geinisman (1984) mostró que en la CI cerebral existe un sitio en el que la información olfativa, gustativa y visceral puede interactuar funcionalmente después de algunos relevos sinápticos. Los axones nerviosos olfativos terminan en las células en penacho y en las células mitrales, estas últimas proyectan a la CI por lo tanto la información olfativa está a sólo

dos sinapsis de las neuronas de la CI. Las fibras gustativas-visceral aferentes terminan en el NFS, el cual proyecta al NPB, que a su vez proyecta a la CI directamente e indirectamente a través de un relevo sináptico al núcleo ventromedial del tálamo. Esta información gustativa-visceral alcanza la CI después de 2-3 relevos sinápticos (Shiple y Geinisman, 1984). Se ha demostrado en seres humanos, que los impulsos gustativos y olfativos convergen en áreas cerebrales particulares como la corteza insular agranular, la parte caudal de la corteza orbitofrontal, la amígdala y la corteza cingulada anterior (De Araujo et al., 2003). Estas regiones juegan un papel importante integrando los impulsos sensoriales que permiten la percepción de un sabor específico. La representación temprana del sabor y del olor ocurre en regiones del cerebro límbico y paralímbico, sugiriendo que la integración sabor-olor ocurre en etapas tempranas del procesamiento y puede estar influenciada por la experiencia y factores afectivos, ya que el aprendizaje y el proceso afectivo son las principales funciones de esta zona cortical (Small y Prescott, 2005).

Posiblemente, la actividad resultante de la interacción funcional de las vías sensoriales olfativa y gustativa-visceral puede modificar directamente el estado funcional del núcleo gustativo-visceral del tallo cerebral y el núcleo autónomo involucrados en la salivación y los reflejos abdominales-visceral. Las proyecciones descendentes de la CI al NPB, al NFS y a las áreas preganglionares parasimpáticas del tallo cerebral pueden modular elementos sensitivos y motores regulando así la conducta y la selección de alimento. Por lo tanto, la CI juega un papel fundamental en la percepción del sabor, la sensación gustativa y el olor, y en la respuesta visceral asociada a la ingesta alimentaria (Shiple y Geinisman, 1984).

La información sobre el sabor que ingresa al sistema nervioso es llevada al sistema de recompensa y al centro de alimentación. Estos dos sistemas interactúan entre sí. Se cree que la amígdala, la corteza prefrontal y la CI son las estructuras que los unen (Yamamoto, 2006). Los alimentos placenteros

activan sitios corticales en la parte anterior del cerebro implicadas en la regulación de la emoción, como la corteza orbitofrontal, la corteza anterior cingulada y la corteza insular; así como estructuras subcorticales límbicas como la amígdala, el NAcc y el pálido ventral; y proyecciones mesolímbicas de dopamina. Todas estas estructuras codifican para los alimentos placenteros, es decir, durante la observación, la olfacción, degustación o la alimentación se activan estas recompensas. Otras activaciones cerebrales pueden reflejar consecuencias del placer iniciado en otros sitios; estas activaciones a su vez, pueden provocar motivación, aprendizaje, cognición u otras consecuencias funcionales para la recompensa pero no causarán placer *per se* (Fig. 2.5.5) (Berridge, 2009).

El “gusto” es la reacción hedónica al placer de una recompensa; y el “querer” no es placer, sino que es un proceso psicológico de incentivo atribuido a las recompensas y sus señales predictivas, que ayudan a determinar el valor motivacional, no necesariamente es consciente y es mediado por mecanismos cerebrales básicos (Berridge, 2009).

Recientemente se ha descrito una red en el cerebro anterior de estructuras que amplifican el impacto hedónico del placer sensitivo y utilizan neurotransmisores opioides que incrementan el “gusto” por el sabor y el “querer” para incrementar la recompensa alimentaria: el NAcc y el pálido ventral. Estas estructuras comparten proyecciones recíprocas y están incrustadas en los sistemas mesocorticolímbicos de recompensa más grandes. No solamente los neurotransmisores opioides en estas estructuras contribuyen a la motivación de recompensa, sino que cada estructura contiene una subregión anatómica en la que los opioides son capaces de amplificar el impacto hedónico del placer sensitivo (Peciña et al., 2006).

También se han encontrado subregiones amplificadoras del impacto hedónico en el NPB, y posiblemente en la amígdala o en regiones corticales

como la corteza orbitofrontal. Estos sitios de “gusto” están distribuidos pero se encuentran conectados para que interactúen como un solo sistema afectivo que opera de una forma jerárquica, flexible y compleja, y así el comportamiento final o expresión afectiva reflejen los procesos de “gusto” del cerebro anterior (Fig. 2.5.5) (Berridge, 2009).

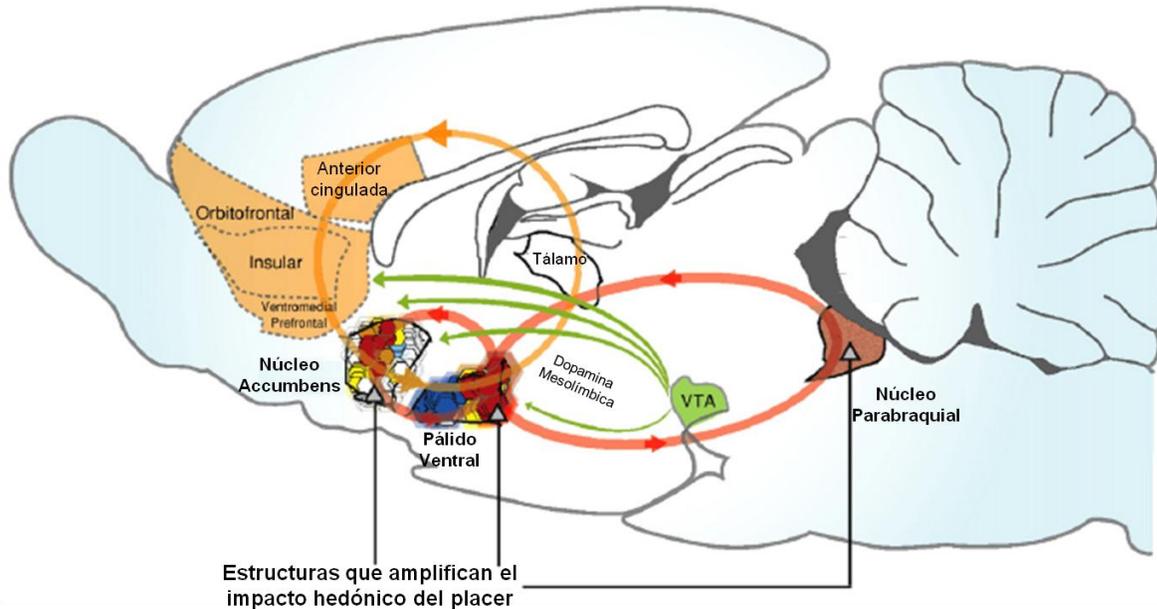


Figura 2.5.5. Estructuras que amplifican el impacto hedónico del placer y circuitos hedónicos. Las estructuras que amplifican el impacto hedónico se muestran en el núcleo accumbens, en el pálido ventral, y en el núcleo parabraquial donde señales opioides y otras amplifican las reacciones de “gusto” a lo dulce. VTA, área ventral tegmental (Modificado de Smith et al., 2009).

Se ha reconocido que el NAcc contiene unas subdivisiones mayores llamadas núcleo y cubierta. La estructura que amplifica el “gusto”, liberando señales neuroquímicas opioides y endocannabinoides, se encuentra en la cubierta. Esto se comprobó mediante la activación del receptor de opioides y cannabinoides; se observó que éste receptor estimula el apetito, en parte, incrementando el “gusto” por la palatabilidad percibida por los alimentos y el “querer” o la ingestión de comida. Sin embargo el mecanismo del “querer” se extiende más allá de la cubierta, este proceso se encuentra extensamente distribuido en el NAcc e incluso en estructuras externas, incluyendo la amígdala

o el núcleo estriado. Por lo tanto, la zona que incrementa el apetito es mucho más grande que la estructura que amplifica el placer: es un gran mar de sistemas opioides de “querer” que llenan la cubierta del NAcc, y contienen una isla opioide más pequeña que puede incrementar simultáneamente el “gusto” por la misma recompensa (Berridge, 2009).

El segundo punto que amplifica el placer se encuentra en el extremo posterior del pálido ventral. Hace 20 años se creía que esta área formaba parte del hipotálamo lateral, pero hoy en día tiene varios nombres que corresponden a diferentes divisiones de esta parte ventral del cerebro anterior. Los nombres principales son “pálido ventral” que contiene la parte conocida por causar el “gusto” por el placer sensitivo, “núcleo basal” para la zona anterior rica en acetilcolina involucrada en la atención, y “amígdala sublenticular extendida” para el remanente entre el pálido ventral y el hipotálamo lateral. El hipotálamo lateral ha sido el más connotado por su participación en la ingesta de alimento y en la recompensa alimentaria. Pero el pálido ventral puede ser más importante, al menos para el “gusto” de recompensas alimentarias. Esta estructura y sus alrededores contienen la única región cerebral conocida hasta el momento que la muerte de neuronas suprime todo “gusto” y lo reemplaza con “disgusto” incluso por lo dulce (al menos por varias semanas) (Cromwell y Berridge, 1993; Berridge, 2009).

La actividad de las neuronas en el pálido ventral codifica el “gusto” para lo dulce, lo salado y otras recompensas alimentarias. Gracias a varios estudios con ratas, ya se sabe que estas neuronas codifican el sabor placentero de tal forma que es sensible a las necesidades fisiológicas del momento. Por ejemplo, cuando se administraron hormonas que causan que el cuerpo necesite más sal, se incrementó el “gusto” percibido por los sabores intensamente salados (Berridge, 2009). Ambas estructuras que amplifican el impacto hedónico, las del NAcc y las del pálido ventral, pueden interactuar una con la otra, directa o indirectamente, y la neurotransmisión opioide entre ambas

quizás sea necesaria para la amplificación de los sabores hedónico por cualquiera de ellas (Peciña et al., 2006).

En el área ventral tegmental se origina el sistema dopaminérgico, el cual modula a través de la liberación de  $\beta$ -endorfinas, la motivación para ingerir una comida palatable. Así mismo, el hipotálamo regula la ingesta de alimento; por ejemplo, el núcleo arcuato del hipotálamo es un sitio de integración de información metabólica; sus neuronas son sensibles a señales hormonales, neuronales o metabolitos que indican el estado nutrimental. La leptina es una de las señales que actúa en dicho núcleo y en sitios afuera de éste, expresando así péptidos orexigénicos, como la orexina, la grelina, el neuropéptido Y y la proteína agouti-relacionada (Yamamoto, 2003, 2006; Morrison y Berthoud, 2007).

Cuando se presenta un sobreconsumo de un alimento con sabor dulce y palatable, se atribuye a la activación de neuropéptidos orexigénicos, como la orexina y el neuropéptido Y, así como al sistema dopaminérgico que mejora la función digestiva y facilita el consumo de alimentos y bebidas. Por lo tanto, las propiedades de recompensa de la comida que hacen que uno coma más e influyen en la elección de alimentos, resulta de una asociación de estímulos orosensoriales y viscerosensoriales (Yamamoto, 2003, 2006). La amígdala también juega un papel importante en el reconocimiento del estímulo relacionado con el alimento, basándose en la asociación de la sensación oral, el sabor y otros estímulos sensoriales (Nishijo et al., 1998).

Salas y su grupo en estudios han analizado en varios relevos de la vía gustativa y olfatoria de la rata, los efectos provocados por la DPN sobre el desarrollo neuronal de la CI, núcleos del tallo cerebral como el NFSr e intermedio (NFSi), el NPB, la amígdala y las papilas gustativas (Fig. 2.5.6). Estos núcleos transmiten la información de las señales gustativas codificadas provenientes de sus receptores en ruta hacia la corteza cerebral y el sistema

límbico. Los efectos encontrados en ellos son consistentes con efectos significativos en las partes periféricas de los árboles dendríticos (menor número de ramas y reducción de su densidad), con pocos efectos sobre parámetros del soma neuronal y desorganización papilar gustativa (Escobar y Salas, 1993; Rubio et al., 2004; Lemon y Katz, 2007; Torrero et al., 2008; Carreón et al., 2011; Salas et al., 2012 a, b).

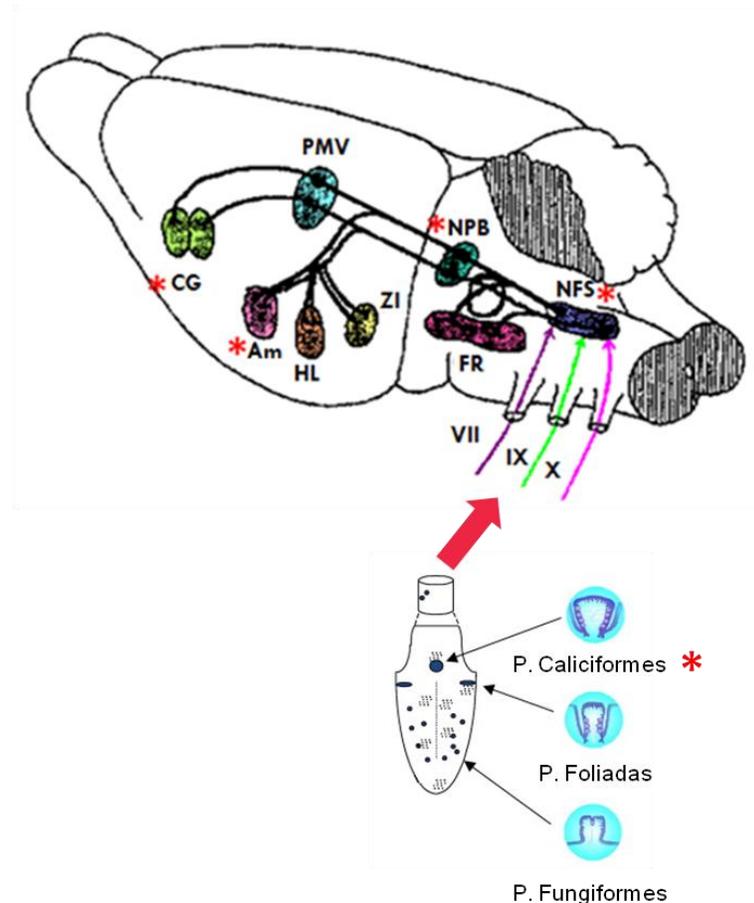


Figura 2.5.6. Circuito neuronal de la vía gustativa y estructura que se afectan por la restricción perinatal de alimento en la rata.

\* , Estructuras afectadas por la restricción perinatal de alimento. P, papilas; VII, nervio facial, IX, nervio glossofaríngeo, X, nervio vago; NFS, núcleo del fascículo solitario; FR, formación reticular; NPB, núcleo parabraquial; ZI, zona incierta; HL, hipotálamo lateral; Am, amígdala; PMV, núcleo talámico posteromedial ventral; CG, corteza insular gustativa (Modificado de Yamamoto et al., 1998; Khan y Besnard, 2009).

La desnutrición durante los primeros tres meses de vida afecta elementos del sistema nervioso autónomo de la rata, disminuyendo el

contenido total de proteínas ganglionares y algunas neuronales, así como el número de adrenerceptores en el SNC. Entre el día de gestación (G) 13.5 y el G15 se presentan los neuroblastos paravertebrales, en el día G14 los axones preganglionares se han extendido a los nervios espláncnicos primitivos, y los axones del plexo mientérico del intestino delgado que contienen noradrenalina se forman entre el día G20 y G21. Conboy et al. (1986) observaron que el ganglio celíaco y el mesentérico superior presentan neuronas más pequeñas y ausencia de núcleos de células intersticiales en ratas desnutridas del día G7 al G21 de gestación, así como una menor producción de noradrenalina.

Sin embargo, bajo condiciones de DPN se conocen poco los impactos sobre el desarrollo neuronal de los núcleos del tallo cerebral, posteriores del tálamo, hipotálamo lateral y la CI. Por otro lado, en los animales desnutridos durante el periodo pre-destete, poco se sabe de los patrones de activación neuronal en los relevos de la vía gustativa provocados por la ingesta de sustancias sápidas provenientes del ambiente del nido (materia fecal, orina, fragmentos de alimento artificial, aserrín contaminado con deyecciones, etc.) o bien de sustancias del ambiente circundante (perdigones de alimento materno, agua, fragmentos de papel, aserrín limpio, semillas, etc.) al que las crías tienen acceso después del día 13 de edad cuando su actividad de movimiento se los permite, y los cambios en los patrones de activación neuronal relacionados con el paso de la dieta láctea a la dieta artificial y mixta previas al destete (Galef y Clark, 1972; Scott y Perrotto, 1980; Geisler et al., 1996; Galef, 2001).

En el vientre materno, la nutrición de la rata está dada a través de la circulación sanguínea fetoplacentaria. Al momento del nacimiento se echan a andar mecanismos para la producción de leche en la madre, permitiendo así el crecimiento de las crías durante los primeros 13 a 15 días. Después de éstos, la producción de leche disminuye, debido a que las crías comienzan a ingerir alimento sólido por imitación de sus congéneres, lo cual favorece su

crecimiento. El día 25 ocurre el destete, los animales comienzan a ingerir preferentemente alimentos sólidos (pellets), lo cual genera cambios en la organización del sustrato que integra la conducta alimentaria, en el desarrollo de las papilas gustativas y en la organización de estructuras neuronales (Galef y Clark, 1972). Sin embargo, los cambios provocados por la desnutrición no son bien conocidos. El conocimiento derivado de estudios previos pudiera ser relevante para el grupo de los sujetos con el antecedente de DPN, dado que los periodos de tiempo en los que progresivamente van ocurriendo los cambios en la dieta se ven retrasados en su expresión y pudieran afectar la discriminación apetitiva.

Estudios previos han concluido que la pubertad de la rata inicia entre el mes y mes y medio de edad, lo que equivale a 12 y 12.5 años humanos (Andreollo et al., 2012). En el presente estudio se evaluaron animales en su etapa juvenil (a partir de los 35 días de edad), cuando ya se ha definido su preferencia por el alimento sólido, y que fueron desnutridos durante su etapa perinatal.

### **III. HIPÓTESIS**

La restricción perinatal de alimento en ratas, producirá alteraciones en la conducta apetitiva y en la transferencia de información, que impactarán en la selección de un alimento en su etapa juvenil.

## IV. OBJETIVOS

### *Objetivo general*

Investigar alteraciones en la capacidad de discriminación social a dos sabores específicos en la rata con desnutrición perinatal, en su etapa juvenil.

### *Objetivos particulares*

- Evaluar la discriminación entre dos sabores específicos de un demostrador, ante la presencia de un observador, previamente desnutridos.
- Evaluar si un demostrador con desnutrición perinatal muestra alteraciones en su capacidad para la transferencia de información asociada a la discriminación a dos sabores específicos.
- Definir la discriminación entre dos sabores específicos de un observador, posterior al encuentro social con un demostrador, previamente desnutridos.

## V. METODOLOGÍA

### 5.1. Diseño del estudio

El tipo de estudio que se llevó a cabo fue experimental, longitudinal, siguiendo un paradigma de desnutrición con ratas juveniles macho de la cepa Wistar (Pérez-Torrero et al., 2003).

### 5.2. Población de estudio

Se utilizaron ratas juveniles macho de la variedad Wistar (*Rattus norvegicus*), mantenidas en un bioterio automáticamente controlado  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , con un ciclo luz oscuridad (L/O) de 12 h (luz a las 0800 h), con agua y alimento (5001 Dieta de Roedores, de Purina) *ad libitum* (Cuadro 5.2.1). Para la crusa se colocaron 3 machos con 5 hembras vírgenes (200-250 g) en una caja de plástico (50 x 40 x 20 cm<sup>3</sup>). Las hembras que al frotis vaginal mostraron espermatozoides, se separaron en cajas de plástico de maternidad individuales (45.5 x 24 x 19 cm<sup>3</sup>) con aserrín como material para construir el nido. Un día después del parto las crías se pesaron, se separaron por sexo y se asignaron al azar 4 hembras y 4 machos de cada camada por madre con el propósito de evitar los efectos del sexo.

Cuadro 5.2.1. Componentes de la dieta de roedores 5001. Composición química de la dieta, con los macronutrientes y micronutrientes que reciben los animales del bioterio para su alimentación.

<b>5001 Dieta de Roedores</b>	
Proteína cruda mínima	23.0%
Grasa cruda mínima	4.5%
Fibra cruda máxima	6.0%
Minerales y cenizas	10.5%
<b>Composición química</b>	
<b>Aminoácidos</b>	

Arginina	Cistina
Glicina	Histidina
Isoleucina	Taurina
Leucina	Lisina
Metionina	Fenilalanina
Tirosina	Triptófano
Valina	Serina
Ácido aspártico	Ácido glutámico
Alanina	Prolina
<b>Grasa</b>	
Colesterol	Ácido linoléico
Ácido linolénico	Ácido araquidónico
Ácidos grasos Omega-3	Ácidos grasos saturados
Ácidos grasos monoinsaturados	Ácidos grasos
<b>Fibra (Cruda)</b>	
Fibra detergente neutra	Fibra detergente ácida
<b>Extractos libres de nitrógeno (por diferencia)</b>	
Almidón	Glucosa
Fructosa	Sacarosa
Lactosa	
<b>Minerales</b>	
Cenizas	Calcio
Fósforo	Fósforo (no fitato)
Potasio	Magnesio
Azufre	Sodio
Cloro	Flúor
Hierro	Zinc
Manganeso	Cobre
Cobalto	Iodo
Cromo	Selenio
<b>Vitaminas</b>	
Caroteno	Vitamina K (como menadiona)

Hidrocloruro de tiamina	Riboflavina
Niacina	Ácido pantoténico
Cloruro de colina	Ácido fólico
Piridoxina	Biotina
B <sub>12</sub>	Vitamina A
Vitamina D <sub>3</sub>	Vitamina E
Ácido ascórbico	
Nutrientes digeribles totales	76.0%
Energía bruta	4.07 kcal/g
Valor fisiológico del combustible	3.36 kcal/g
Energía metabolizable	3.02 kcal/g

(Purina, 2012)

### 5.3. Variables de medición

La forma y las variables en que se midieron en las grabaciones los componentes de la conducta apetitiva registrada durante una hora en las ratas DEM (en los días 2, 3 y 4 de experimentación) y en las OBS (en el día 5 de experimentación) (Fig. 5.5.1.2) se dividieron y definieron de la siguiente forma:

1. Respuesta anticipatoria:
  - a) *Frecuencia de acercamiento a la dieta de cocoa*: se define como el número de veces que la cabeza y/o el cuerpo de las ratas sobrepasan el recipiente de plástico sobre el que se coloca la dieta de cocoa.
  - b) *Frecuencia de acercamiento a la dieta de canela*: se refiere al número de veces que la cabeza y/o el cuerpo de las ratas sobrepasan el recipiente de plástico sobre el que se coloca la dieta de canela.
  - c) *Frecuencia de husmeo a la dieta de cocoa*: es el número de veces que las ratas rastrean con el olfato la dieta de cocoa.
  - d) *Frecuencia de husmeo a la dieta de canela*: corresponde al número de veces que las ratas rastrean con el olfato la dieta de canela.

e) *Latencia de inicio de la ingesta*: segundos transcurridos desde el inicio del experimento hasta que la rata prueba cualquiera de las dos dietas.

2. Respuesta consumatoria:

a) *Tiempo de ingesta de la dieta de cocoa*: tiempo en minutos que la rata ingiere la dieta de cocoa.

b) *Tiempo de ingesta de la dieta de canela*: tiempo en minutos que la rata ingiere la dieta de canela.

c) *Gramos consumidos de la dieta de cocoa*: consumo en gramos de la dieta de cocoa.

d) *Gramos consumidos de la dieta de canela*: consumo en gramos de la dieta de canela.

La forma y las variables que se midieron en las grabaciones en las ratas OBS, durante la hora en que se encontraban observando (día 4 de experimentación) y que son parte de la respuesta anticipatoria, fueron:

a) *Frecuencia de observación de la rata DEM*: se define como el número de veces que la rata OBS voltea a ver a la rata DEM mientras esta última se encuentra en una caja anexa con los dos tipos de dieta.

b) *Frecuencia de autoaseo o acicalamiento*: se refiere al número de veces que la rata se acicala todo el cuerpo (no se contabilizó si solamente se lamía las patas).

c) *Frecuencia de posición en dos patas*: es definido como el número de veces que la rata se para sobre el tren posterior.

La forma y las variables que se midieron en las grabaciones durante los 30 min de interacción entre la rata DEM y la rata OBS (día 4 de experimentación) y que forman parte de la respuesta anticipatoria, fueron:

- a) *Frecuencia de husmeo del hocico*: se refiere al número de veces que la rata OBS rastrea con el olfato el hocico de la rata DEM.
- b) *Frecuencia de ingesta de fragmentos de alimento*: es el número de veces que la rata OBS ingiere, muerde o lame residuos de alimento del cuerpo de la rata DEM. Se dividieron las zonas como: 1) cara y cuello, 2) lomo, 3) laterales, 4) extremidades inferiores y superiores y 5) cola (Fig. 5.3.1)
- c) *Frecuencia de contacto corporal*: corresponde al número de veces que la rata OBS tuvo contacto corporal con la rata DEM.
- d) *Frecuencia de contacto con cabezas*: es el número de veces que la rata OBS tuvo contacto con su cabeza con la cabeza de la rata DEM.

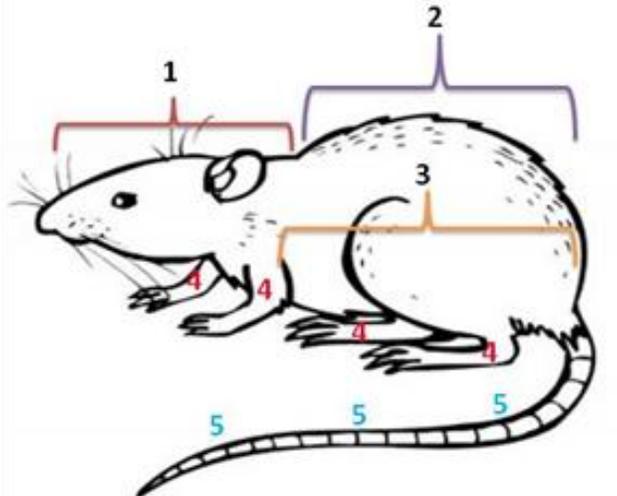


Figura 5.3.1. Esquema de zonas de ingesta de alimento de la rata observadora a la rata demostradora.

1, cara y cuello; 2, lomo; 3, laterales; 4, extremidades inferiores y superiores; 5, cola.

## 5.4. Procedimientos

### 5.4.1. Grupo desnutrido (GD)

El grupo GD se formó con crías (n=12) que provenían de por lo menos 4 camadas diferentes. Las madres fueron alimentadas del día de G6 al G12 con el 50% (7.8 g) de la dieta normal ingerida por los animales controles (5001 Dieta para Roedores), del día G13 al G18 con el 70% (10.9 g) y con el 100%

(15.6 g) de la dieta hasta el parto, para evitar la reabsorción de fetos y al nacimiento el canibalismo de las crías. El cálculo del aporte energético para esta dieta fue 89.31 kcal por día en el caso de una rata normal. Se utilizó este paradigma de desnutrición (Pérez-Torrero et al., 2003) porque el desarrollo de las estructuras cerebrales que regulan la conducta apetitiva en las ratas se inicia durante los periodos prenatal y neonatal, extendiéndose hasta el día 30 postnatal (Harada et al., 2000; El-Sharaby et al., 2001). Al nacimiento, las crías desnutridas durante el periodo prenatal, continuaron su desnutrición al ser alimentadas por un par de madres lactantes desnutridas durante el periodo prenatal, a una de las cuales se le ligaron los conductos galactóforos. Las madres permanecieron del día 1 al 24 de la lactancia, 12 h con una madre sin ligar y 12 h con una madre ligada (Fig. 5.4.1.1) (Rubio et al., 2004). Después del destete realizado en el día 25, el grupo continuó su alimentación con dieta normal equilibrada (5001 dieta para roedores) hasta el momento del estudio, el cual se inició a los 35 días de edad.

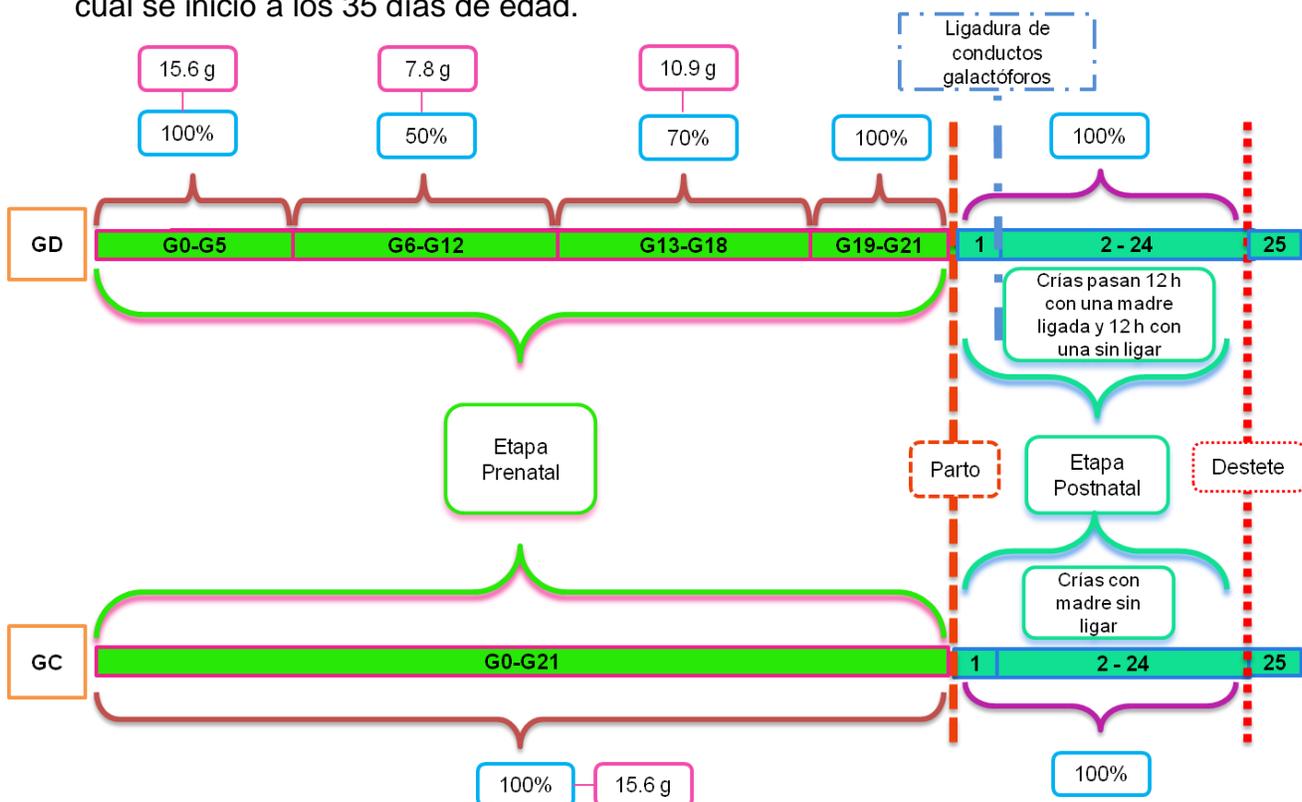


Figura 5.4.1.1. Paradigma de alimentación de las ratas en desarrollo. GD, grupo desnutrido; GC, grupo control; G, gestación.

#### 5.4.2. Grupo control (GC)

El GC se formó con un total de crías (n=12) obtenidas de 4 camadas bien nutridas y alimentadas por madres con libre acceso al agua y al alimento (5001 dieta para roedores). Después del parto, las crías fueron alimentadas por un par de madres sin desnutrición y sin ligadura de conductos galactóforos (sólo una con simulación de cirugía), permaneciendo 12 h con una madre y 12 h con la otra del par de madres disponibles. Después del destete realizado en el día 25 el grupo continuó con dieta normal equilibrada (5001 dieta para roedores) hasta el momento del estudio, el cual inició a los 35 días de edad.

#### 5.4.3. Desarrollo físico

Los efectos de la restricción perinatal de alimento sobre el desarrollo físico de las crías se evaluaron midiendo el peso corporal cada 5 días a partir del nacimiento hasta los 25 días de edad.

### 5.5. Técnicas y pruebas analíticas

#### 5.5.1. Preferencia gustativa a los sabores en la rata

Para evaluar los efectos a largo plazo provocados por la DPN en las ratas adolescentes, se midió la capacidad social para transmitir la preferencia por un alimento entre una rata DEM y otra OBS en el periodo entre 35 y 50 días de edad. La rata DEM es aquella que tuvo contacto con una dieta o sabores específicos de forma repetida y posteriormente interactuó con la OBS, para la transferencia de información. La rata OBS es aquella rata que se colocó en un espacio definido, cercano (10 cm) a la rata DEM y sin comida. El objetivo era que observara cómo se alimenta esta última, para después recibir información sobre la preferencia alimentaria de su compañera al momento de la interacción social (Figura 5.5.1.1). Este es un método confiable y eficiente según se reporta

para inducir de manera rápida la conducta apetitiva en ratas, ratones y jerbos (Galef, 2002).

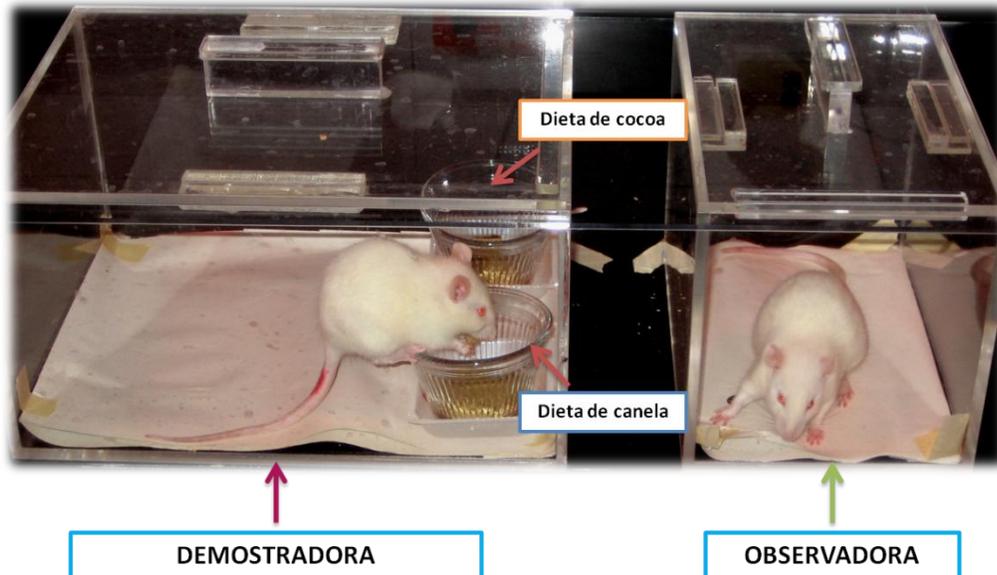


Figura 5.5.1.1. Rata demostradora y observadora en el día 4 de experimentación.

El procedimiento consta de 3 etapas: en la primera a las ratas DEM se les da a comer dos alimentos “marcados” con un sabor durante 1 h. En la segunda etapa, se le permite a una rata DEM interactuar durante 30 min con la rata OBS, en este periodo esta última tiene la oportunidad de oler el alimento marcado en el aliento de su respectiva DEM. Durante la tercera etapa, después de un retardo que puede ser desde pocos minutos hasta semanas (de 24 h en este estudio), a la rata OBS se le da la opción de escoger entre dos alimentos marcados con los mismos sabores que los de la DEM. Bajo esta situación, la OBS incrementa su preferencia por cualquiera de los dos alimentos marcados que su respectiva DEM haya comido en el estadio uno. Con este paradigma experimental, se considera que el sujeto DEM es esencialmente pasivo y que el OBS extrae información de él, así como de otros detalles del medio ambiente circundante (Fig. 5.5.1.2).

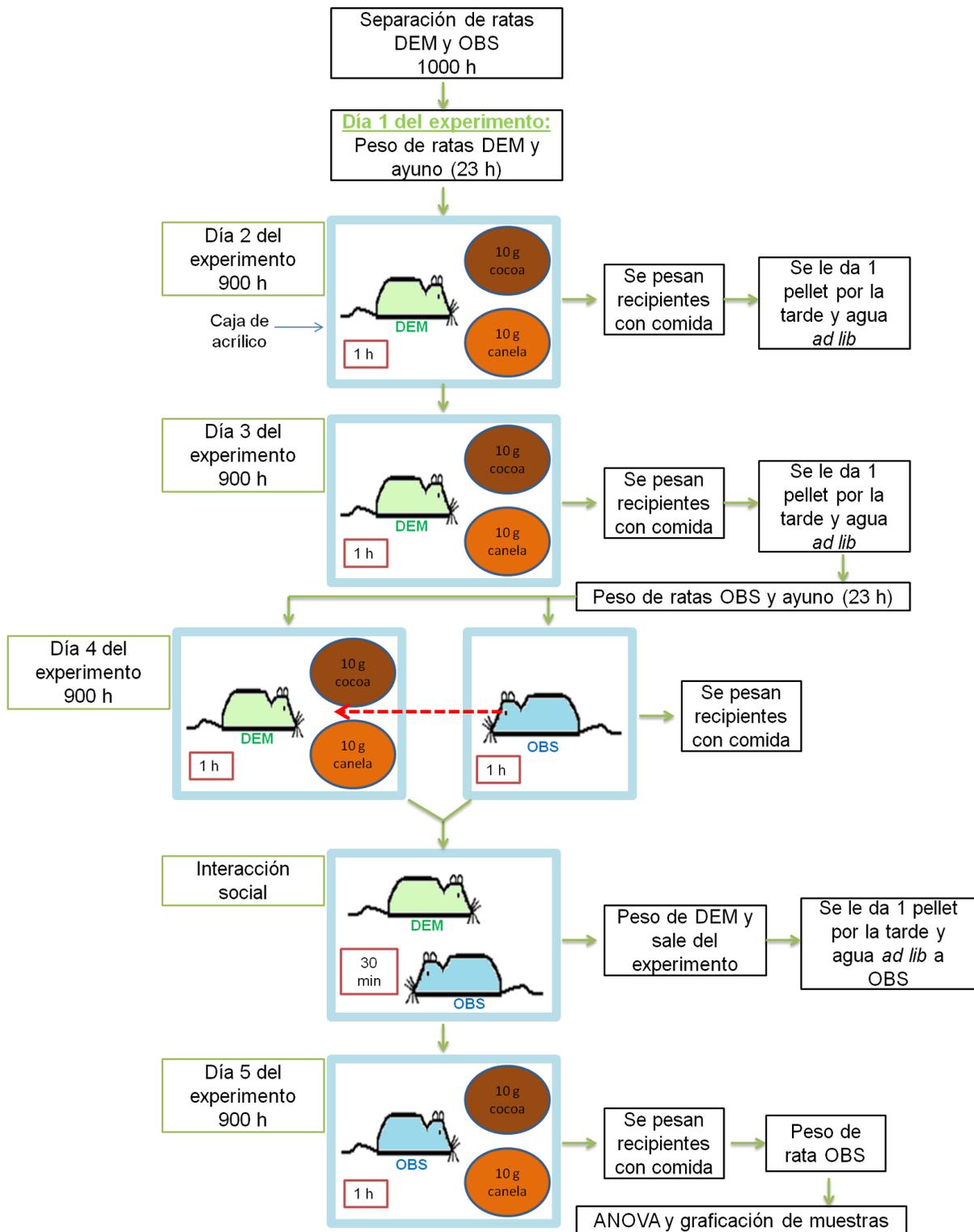


Figura 5.5.1.2. Diagrama de flujo de metodología. Preferencia gustativa a los sabores en la rata.

DEM, demostradora; OBS, observadora.

Las dietas marcadas que se utilizaron se prepararon (500 g) de la siguiente manera: una contenía 5001 dieta para roedores en polvo (495 g) mezclada con canela en polvo McCormick® (5 g); la otra dieta contenía 5001 Dieta para Roedores en polvo (490 g) mezclada con cocoa Hershey's® en polvo no dulce (10 g). Se considera que las dietas son igualmente palatables, es decir que su carácter hedónico es muy similar. Durante la prueba se ofrecieron al DEM y al OBS dos recipientes de vidrio que contenían 10 g de peso de cada una de las dietas y fueron colocadas en un extremo de la caja de experimentación. Este protocolo lo introdujo exitosamente Galef (2002), para evaluar la capacidad social para transmitir la preferencia por una dieta en la rata y el ratón.

El método tiene entre otras ventajas, que no requiere de gran experiencia del experimentador, en poco tiempo se tiene un muestreo suficiente para su análisis estadístico y permite evaluar con relativa facilidad los efectos asociados a fármacos y lesiones del circuito cerebral involucrado en la conducta apetitiva (Galef, 2002).

Las cajas de experimentación se colocaron sobre una base de acrílico de fondo negro de 60 X 100 cm y 6 mm de espesor. Las cajas en donde se llevaron a cabo las pruebas del DEM, de interacción y del OBS después de la interacción estaban hechas de acrílico transparente con una medida de 31 X 23 X 16.5 cm<sup>3</sup>. La caja en la que se colocó a la rata OBS durante la hora de observación, también era de acrílico transparente con medidas de 16 X 23 X 16.5 cm<sup>3</sup>; con una separación de 7 cm entre la caja del DEM y la del OBS (Fig. 5.5.1.1).

#### *5.6. Consideraciones éticas*

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de

Animales de Laboratorio del NIH (National Institutes of Health), USA (NIH, 2011).

### *5.7. Procesamiento de datos y análisis estadístico*

Los hallazgos experimentales se analizaron con el paquete estadístico Statistica versión 6.

Para la evaluación del desarrollo físico mediante el peso corporal de las crías se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, con comparaciones post-hoc mediante la prueba de Fisher LSD.

Para analizar las diferencias entre los valores de la muestra en cada uno de los parámetros conductuales evaluados durante las pruebas de conducta apetitiva, se usó un ANOVA de tres vías con una medida repetida:

Se evaluaron 2 condiciones de nutrición (control y desnutrido) x 2 sabores (canela y cocoa) x 3 días de prueba (1, 2 y 3). Se hicieron comparaciones post-hoc mediante la prueba de Fisher LSD para cada una de las condiciones de nutrición, de los sabores y de los días de prueba.

Para evaluar la conducta de las ratas durante la observación y la interacción social se realizó un ANOVA de una vía.

El nivel de significación mínimo fue de  $p \leq 0.05$  para todos los parámetros.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Desarrollo físico

El desarrollo físico se evaluó en cambios de peso cada cinco días, desde el primer día de nacimiento hasta el día 25 de edad de las crías, cuando ocurre el destete. Los animales desnutridos tuvieron decremento de su peso corporal, lo que verifica que el paradigma de desnutrición aquí utilizado fue el adecuado, ya que se afectó el desarrollo de los animales de estudio mostrando una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) del peso corporal en las ratas del GD, comparadas contra los de sus testigos. Las ratas del GD llegaron a presentar una diferencia de hasta 8 g menos que las ratas del GC a los 25 días de edad (Cuadro 6.1.1). Los datos estadísticos están en concordancia con otros estudios que han utilizado este paradigma de desnutrición (Loranca et al., 1999; Pérez-Torrero et al., 2001; Salas et al., 2012a).

Cuadro 6.1.1. Medias de pesos corporales ( $\pm$  EEM) de ratas macho control y desnutridas durante el desarrollo.

Edad (Días)	Peso (g)		P
	Control	Desnutridos	
1	6.67 $\pm$ 0.11	5.83 $\pm$ 0.10	0.750
5	10.59 $\pm$ 0.14	8.05 $\pm$ 0.28	0.765
10	20.36 $\pm$ 1.17	14.11 $\pm$ 0.39	0.008*
15	25.15 $\pm$ 1.34	20.00 $\pm$ 0.72	0.027*
20	36.66 $\pm$ 1.61	25.75 $\pm$ 1.13	0.001*
25	53.15 $\pm$ 2.39	45.28 $\pm$ 1.23	0.001*

Los valores son medias  $\pm$  error estándar.

\*, Diferencia significativa,  $p < 0.05$ .

n= 12 ratas por grupo.

La mayoría de los resultados obtenidos en estudios de desnutrición están acordes con la reducción de talla, así como con el retraso en la apertura de ojos y oídos de las crías de madres desnutridas (Pérez-Torrero et al., 2001; Soriano et al., 2006). Aunque en este estudio no se realizaron estas

evaluaciones cuantitativamente, se pudo observar cualitativamente que el aspecto físico de los animales desnutridos mostró una disminución del grosor de la piel y de la talla en comparación con los animales control, así como el pelo con rala implantación cutánea (Salas et al., 1995).

## 6.2 Contenido nutrimental de las dietas

Las calorías (kcal) que se tomaron en cuenta para el cálculo energético de las dietas consumidas por los animales de estudio fueron las kcal de la canela, las de la cocoa y las del alimento Purina 5001 para roedores. De este último se encontraron reportadas en la información nutrimental del alimento diferentes formas de valor energético (energía bruta, valor fisiológico del combustible y la energía metabolizable) sin embargo, el cálculo se realizó con el valor fisiológico del combustible, debido a que éste considera las funciones biológicas del organismo para el aporte energético (Cuadro 6.2.1). El contenido energético de la cocoa y de la canela (Cuadro 6.2.2) se obtuvo del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (United States Department of Agriculture) (USDA, 2012 a,b), debido a que no venía reportado en las etiquetas de ninguno de los dos productos y así se obtuvo una misma referencia para ambas. Lamentablemente no se cuenta con los dispositivos para la medición precisa de los micronutrientes contenidos en la dieta para roedores Purina 5001, por lo que el cálculo de micronutrientes en las dietas preparadas para el estudio se calculó en cantidades aproximadas.

Cuadro 6.2.1. Información nutrimental de la dieta 5001 para roedores de Purina

<b>1 g de Dieta 5001 para Roedores</b>	
<b>Energía (kcal)</b>	3.36
<b>Grasa (g)</b>	0.13
<b>Hidratos de Carbono (g)</b>	0.57
<b>Proteínas (g)</b>	0.28

(Purina, 2012)

Cuadro 6.2.2. Información nutrimental de la cocoa en polvo y de la canela en polvo

<b>Información nutrimental</b>	<b>1 g de Cocoa</b>	<b>1 g de Canela</b>
<b>Energía (kcal)</b>	4.00	2.30
<b>Grasa (g)</b>	0.10	0.01
<b>Hidratos de Carbono (g)</b>	0.60	0.53
<b>Proteínas (g)</b>	0.20	0.03
<b>Azúcares</b>	0.00	0.02
<b>Minerales</b>		
<b>Calcio (mg)</b>	0.00	10.00
<b>Hierro (mg)</b>	0.36	0.08
<b>Magnesio (mg)</b>	0.00	0.76
<b>Fósforo (mg)</b>	0.00	0.76
<b>Potasio (mg)</b>	0.00	4.23
<b>Sodio (mg)</b>	0.00	0.00
<b>Zinc (mg)</b>	0.00	0.01
<b>Vitaminas</b>		
<b>Vitamina C (mg)</b>	0.00	0.03
<b>Tiamina (mg)</b>	0.00	0.00
<b>Riboflavina (mg)</b>	0.00	0.00
<b>Niacina (mg)</b>	0.00	0.01
<b>Vitamina B-6 (mg)</b>	0.00	0.00
<b>Folato (mcg DFE)</b>	0.00	0.00
<b>Vitamina B-12 (µg)</b>	0.00	0.00
<b>Vitamina A (mcg RAE)</b>	0.00	0.00
<b>Vitamina E (alfatocoferol) (mg)</b>	0.00	0.02
<b>Vitamina D (µg)</b>	0.00	0.00
<b>Vitamina K (filoquinona) (µg)</b>	0.00	0.30

(USDA, 2012 a,b)

Se obtuvo el cálculo total de energía de cada una de las dietas, con el fin de observar las diferencias que pudieran existir entre la dieta de cocoa y la de canela. La dieta de cocoa se preparó con 490 g de alimento 5001 para roedores, el cual aporta 1,646.4 kcal de energía, más 10 g de cocoa, que aportan 40 kcal, es decir cada 500 g de dieta de cocoa contienen 1,686.4 kcal. Mientras que 500 g de dieta de canela aporta 1,663.2 kcal provenientes del alimento 5001 para roedores, y 11.53 kcal provenientes de los 5 g de canela utilizados, es decir, cada 500 g de dieta de canela contienen 1,674.73 kcal. Durante el experimento, se les ofreció a las ratas 10 g de cada una de las dietas en dos moldes diferentes. En el Cuadro 6.2.3 se muestra el aporte de energía, de gramos de grasa, de carbohidratos y de proteínas por cada 10 g de dieta de cocoa y de canela.

Cuadro 6.2.3 Información nutrimental de dieta de cocoa y de dieta de canela

<b>Información nutrimental</b>	<b>10 g Dieta de Cocoa</b>	<b>10 g Dieta de Canela</b>
<b>Energía (kcal)</b>	33.72	33.49
<b>Grasa (g)</b>	1.29	1.28
<b>Hidratos de Carbono (g)</b>	5.70	5.72
<b>Proteínas (g)</b>	2.78	2.77

Una posibilidad para elegir la dieta, ya sea la de canela o la de cocoa puede ser por el contenido energético, el contenido de grasas, hidratos de carbono, proteínas y/o micronutrientes, ya que los animales aprenden a preferir el sabor de comida o fluidos que asocian con consecuencias positivas postingestivas nutrimentales (Yamamoto y Ueji, 2011). Además, es de esperarse que las deficiencias en la elección de las dietas, también pudieran guardar relación con el daño parcial o difuso a las estructuras de relevo que forman parte de los mecanismos neurofisiológicos que regulan la ingesta del alimento. Sin embargo, se puede observar en el Cuadro 6.2.3 que el aporte de las dos dietas en cuanto a energía y cada uno de los macronutrientes no presentaron diferencias significativas. La cocoa tiene un contenido energético

mayor que la canela, el aporte de grasas, de hidratos de carbono y de proteínas es mayor sin embargo, la dieta de canela se preparó con una mayor cantidad de alimento 5001 para roedores; mientras que la dieta de cocoa se preparó con menos gramos de alimento 5001 y una mayor cantidad de cocoa, en comparación con la cantidad de canela agregada a la dieta de canela con el objeto de que el aporte energético y el contenido nutrimental de las dos dietas fuera muy similar.

En cuanto al aporte de micronutrientos, las dietas variaron entre sí. En el Cuadro 6.2.2 se observa que la canela contiene algunas vitaminas y minerales, mientras que la cocoa solamente aporta hierro. Tomando en cuenta que la dieta de canela se preparó con una mayor cantidad del alimento 5001, el cual también contiene vitaminas y minerales, la dieta de canela aportó más micronutrientos que la dieta de cocoa sin embargo, las cantidades de micronutrientos contenidas en los 10 g de dieta ofrecida son mínimas. Por lo tanto, los hallazgos obtenidos muestran que la elección de la dieta por las ratas no pareció ser dependiente del contenido energético, ni del contenido de macro y micronutrientos el cual fue muy similar.

### *6.3 Evaluación de conducta apetitiva*

Para la evaluación de la conducta apetitiva se grabaron en videos VHS cada una de las pruebas realizadas con el fin de reunir los conteos de las diferentes variables a lo largo del experimento, y no perder ningún detalle ni evidencia en su evaluación. Las siguientes imágenes muestran cada uno de los parámetros medidos en las ratas DEM y OBS el día de la prueba de preferencia gustativa a los sabores evaluada en los días 2, 3 y 4 para las DEM y en el día 5 de la prueba de discriminación gustativa para las OBS.

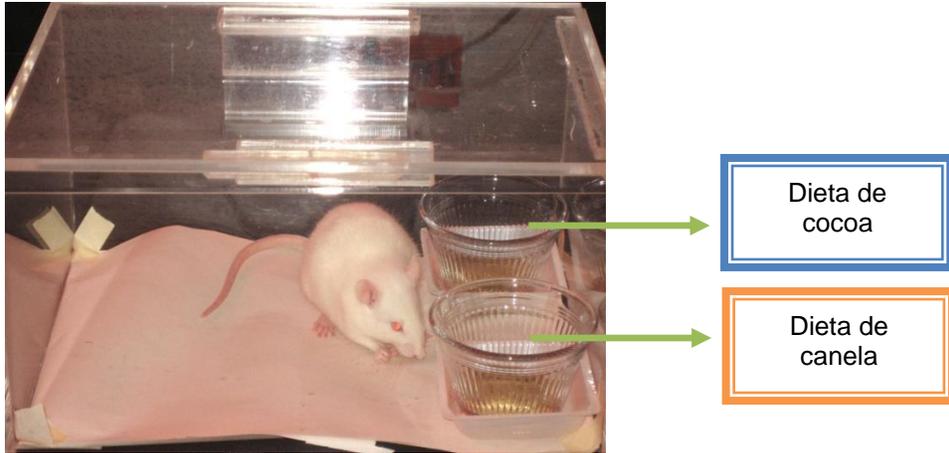


Figura 6.3.1. Acercamiento de la rata a la dieta de canela.

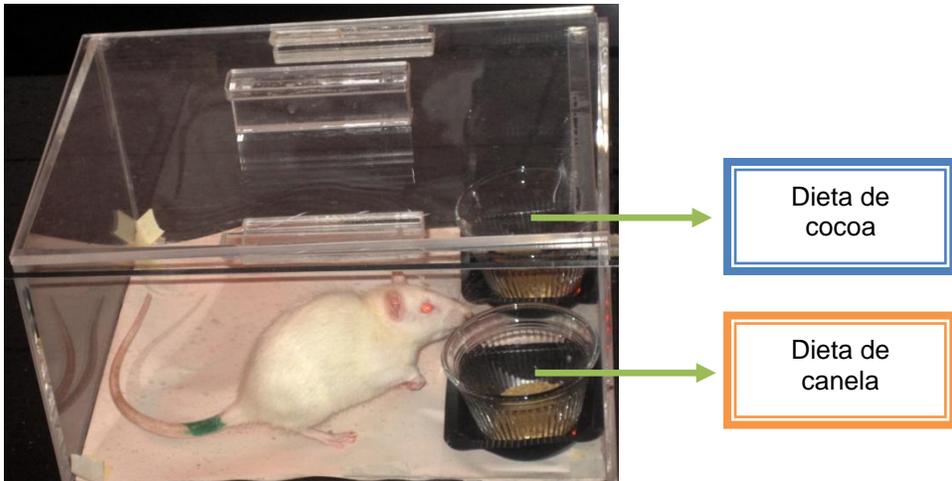


Figura 6.3.2. Husmeo de la rata a la dieta de canela.

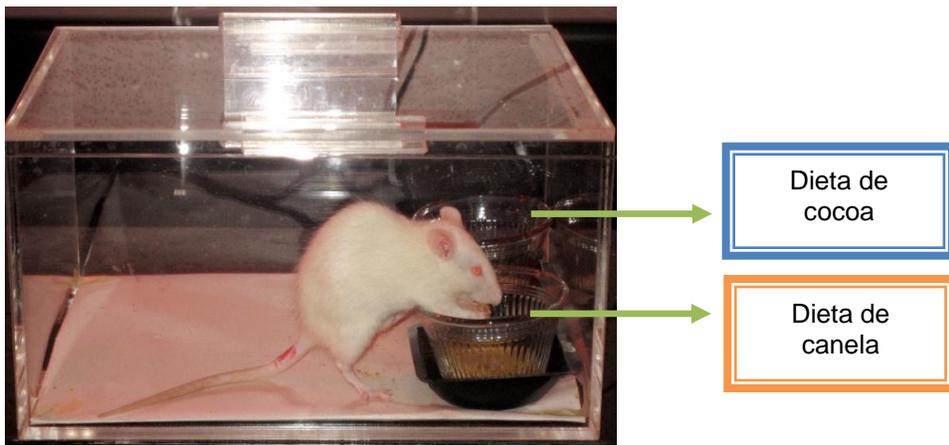


Figura 6.3.3. Ingesta por la rata de la dieta de canela.

### *6.3.1 Actividad de respuesta anticipatoria para la ingesta de alimento*

#### *6.3.1.1 Efectos de la repetición en la prueba de discriminación gustativa*

La frecuencia de acercamiento y de husmeo hacia cada una de las dietas ofrecidas a las ratas durante los días de prueba (día 2, 3 y 4 para DEM y día 5 para OBS) así como los minutos que pasaron ingiriendo cualquiera de las dos dietas fueron variables que permitieron estudiar y conocer la conducta apetitiva de las ratas control y las desnutridas durante la etapa perinatal.

La Figura 6.3.1.1.1 muestra la frecuencia de acercamiento de las ratas DEM a la dieta de cocoa en comparación con la frecuencia de acercamiento a la dieta de canela. Se observa que el primer día de prueba las ratas DEM control y desnutridas tuvieron un mayor acercamiento a las dos dietas en comparación con los días siguientes de experimentación. De la misma forma, la frecuencia de husmeo de la dieta de cocoa y de la dieta de canela fue menor en el segundo y tercer día de prueba de las DEM control y desnutridas, en contraste con el primer día (Figura 6.3.1.1.2). Por lo tanto, la frecuencia de acercamientos y de husmeos conforme avanzaron los días de experimentación, disminuyeron gradualmente, lo que sugiere la presencia de un fenómeno de habituación de los sujetos experimentales a las dietas asociado a su repetición durante las pruebas. Pletnicov et al. (1995) estudiaron el fenómeno de habituación a un estímulo acústico. Definen la habituación como una forma sencilla de aprendizaje no asociativo en la que se observa la disminución de una respuesta, conducta o comportamiento debido a las aplicaciones repetidas del estímulo. En este trabajo no se midió en las ratas OBS la discriminación gustativa en días repetidos dado que no era éste el objetivo del estudio, aunque sí se realizó en las ratas DEM sin embargo, es de esperarse que el fenómeno de habituación ocurra tanto en los sujetos control como en los desnutridos como fue el caso del presente estudio.

Estudios anteriores en los que se ha medido tanto en seres humanos como en rata desnutrida el fenómeno de habituación, apoyan esta posibilidad. Estudios previos en los que se evaluó en un grupo de niños desnutridos la habituación, midiendo los valores de la frecuencia cardíaca provocados por la aplicación de estímulos acústicos repetitivos, se encontró que había deficiencia en el desarrollo de este fenómeno, juzgado a través de la reducción en los valores de la frecuencia cardíaca. En efecto, la habituación así provocada requería de un tiempo más prolongado para alcanzarse comparado con los valores de sus testigos (Lester et al., 1975). Por otra parte, en ratas desnutridas en el periodo neonatal por separación parcial (12 h) en una incubadora (días 1-24 de edad), y colocadas a la edad de 90-100 días en un campo abierto por 4 min diarios durante 4 días sucesivos, se encontró igualmente retardo para lograr la habituación a varias conductas exploratorias comparadas con sus controles (Salas y Cintra, 1979).

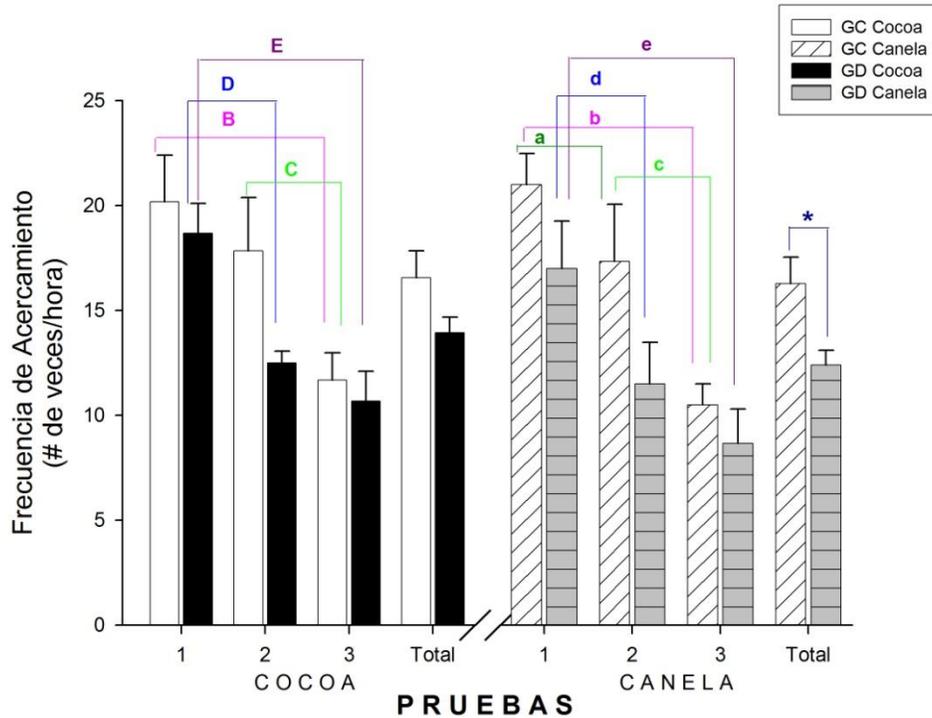


Figura 6.3.1.1.1. Frecuencia de acercamiento a la dieta de ratas demostradoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido.

Las comparaciones significativas entre los grupos se indican a continuación:

**B**, GC cocoa prueba 1 vs GC cocoa prueba 3  $p = 0.001$ ; **C**, GC cocoa prueba 2 vs GC cocoa prueba 3  $p = 0.001$ ; **D**, GD cocoa prueba 1 vs GD cocoa prueba 2  $p = 0.001$ ; **E**, GD cocoa prueba 1 vs GD cocoa prueba 3  $p = 0.001$ ; **a**, GC canela prueba 1 vs GC canela prueba 2  $p = 0.033$ ; **b**, GC canela prueba 1 vs GC canela prueba 3  $p = 0.001$ ; **c**, GC canela prueba 2 vs GC canela prueba 3  $p = 0.001$ ; **d**, GD canela prueba 1 vs GD canela prueba 2  $p = 0.002$ ; **e**, GD canela prueba 1 vs GD canela prueba 3  $p = 0.001$ ; **\***, GC canela total vs GD canela total  $p = 0.023$ .

Mediante un análisis de varianza de tres vías se comparó el efecto de las dos condiciones, las dos dietas y los tres días de prueba. Las diferencias estadísticas de acercamiento y de husmeo se encuentran representadas en las Figuras 6.3.1.1.1 y 6.3.1.1.2. En la frecuencia de acercamiento no se encontró una diferencia significativa entre el GD y el GC en los tres días de prueba sin embargo, hubo una ligera tendencia a reducirse los valores en el acercamiento a la cocoa en la prueba 2 de las ratas control vs las ratas desnutridas ( $p = 0.095$ ); asimismo ocurrió una reducción en el acercamiento a la canela en la

prueba 2 en las ratas control contra las desnutridas ( $p= 0.071$ ). La prueba 2 de las ratas desnutridas de acercamiento a la canela en comparación con la prueba 3 no mostró una diferencia significativa pero sí una ligera tendencia ( $p= 0.093$ ). En general, se observó que el GD presentó menores acercamientos a las dietas que el GC durante los 3 días de prueba, y en comparación con estudios previos sobre conducta y habituación se esperaba lo contrario esto es, incrementos en los valores de acercamiento, ya que la DPN interfiere con mecanismos del SNC que a su vez interfieren en el proceso de habituación (Carreón et al., 2012). Sin embargo, los hallazgos pueden deberse al mayor consumo de alimento por el GD que más adelante se describe.

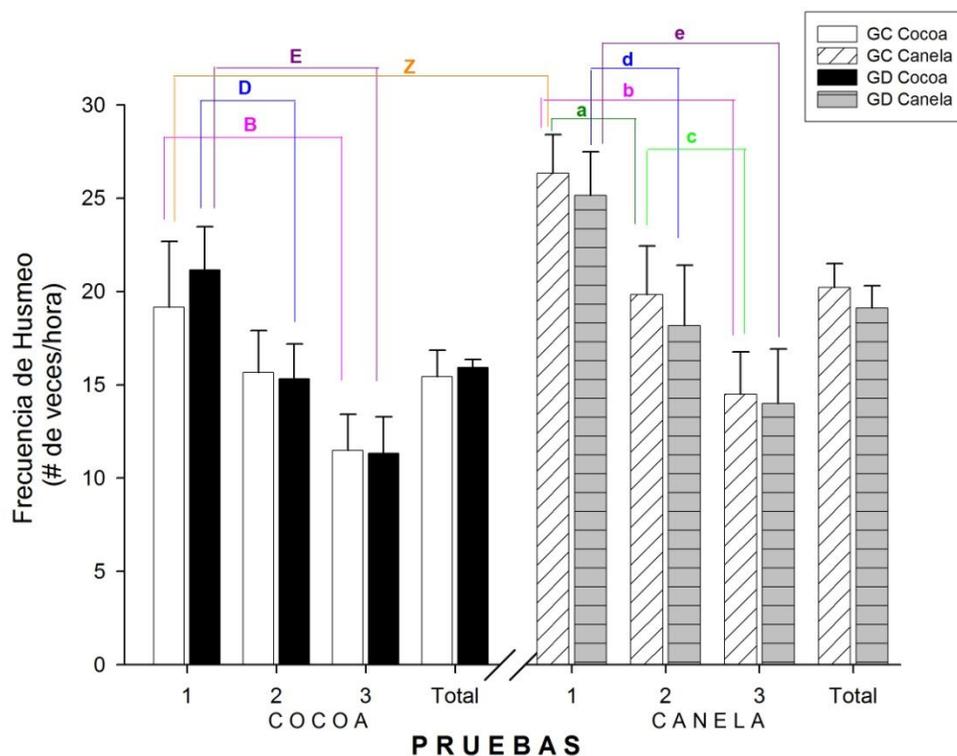


Figura 6.3.1.1.2. Frecuencia de husmeo de la dieta de ratas demostradoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido.

Las comparaciones significativas entre los grupos se indican a continuación:

**B**, GC cocoa prueba 1 vs GC cocoa prueba 3  $p = 0.002$ ; **D**, GD cocoa prueba 1 vs GD cocoa prueba 2  $p = 0.014$ ; **E**, GD cocoa prueba 1 vs GD cocoa prueba 3  $p = 0.001$ ; **a**, GC canela prueba 1 vs GC canela prueba 2  $p = 0.007$ ; **b**, GC canela prueba 1 vs GC canela prueba 3  $p = 0.001$ ; **c**, GC canela prueba 2 vs GC canela prueba 3  $p = 0.023$ ; **d**, GD canela prueba 1 vs GD canela prueba 2  $p = 0.004$ ; **e**, GD canela prueba 1 vs GD canela prueba 3  $p = 0.001$ ; **Z**, GC cocoa prueba 1 vs GC canela prueba 1  $p = 0.003$ .

La frecuencia de husmeo, así como la de acercamiento, tampoco mostró diferencias significativas entre el GC y el GD. Las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) que se hallaron están representadas en la Figura 6.3.1.1.2. La prueba 2 del GC para el husmeo de cocoa vs la prueba 3 mostró una tendencia pero sin llegar a ser significativa ( $p = 0.069$ ). Asimismo, el GD en la prueba 2 en comparación con la prueba 3, el husmeo de cocoa mostró una ligera tendencia a reducirse ( $p = 0.080$ ) pero no una diferencia significativa. El día de la prueba

2, el GC mostró una ligera tendencia a incrementar el husmeo de la canela sobre la cocoa ( $p= 0.069$ ). El GD, el día de la primera prueba mostró una tendencia a la preferencia por el husmeo de la canela sobre la cocoa ( $p= 0.080$ ). Así como en los acercamientos, la frecuencia de husmeo de la dieta de canela en el GD fue menor que en el GC. Los resultados mostraron una preferencia por la frecuencia en el acercamiento y el husmeo de la canela sobre la cocoa tanto en el GD como en el GC.

Se observó que el husmeo fue disminuyendo en ambos grupos conforme los días de prueba pasaron. Estos hallazgos son consistentes con varios estudios que muestran que las ratas adultas y los ratones silvestres (jerbos) investigan más los olores novedosos que los familiares (Ables et al., 2007; Shimozuru et al., 2007).

La DPN afecta el funcionamiento del cerebro durante el periodo predestete, provocando daños a largo plazo en la adultez. Esta desnutrición también interfiere con la relación de la madre y la camada, induciendo una pobre responsabilidad maternal que afecta la plasticidad del BO de las crías con hipoplasia neuronal del complejo amigdalino y de neuronas del hipocampo. Estas alteraciones estructurales pudieran ser parte de la base anatómica para explicar las deficiencias en la discriminación olfativa a largo plazo; los sujetos desnutridos requieren de exposiciones adicionales a los olores comparados con los sujetos control para lograr la misma respuesta olfativa discriminatoria (Rosenzweig y Bennett, 1996; Turner et al., 2003; Frías et al., 2006, 2009; Carreón et al., 2012). Sin embargo, el trabajo no mostró diferencias en el husmeo entre el GC y el GD, cuestión que pudo deberse a la convergencia que existe entre el sistema olfativo y el gustativo. En efecto, de varios estudios de anatomía se conoce que en diferentes niveles del SNC hay mezcla de ambos tipos de información quimiosensorial codificada, lo que pudiera al mezclarse compensar las deficiencias de uno u otro canal sensorial y con ello la expresión de la respuesta al estímulo del alimento (Fu et al., 2004).

De otros estudios se ha demostrado que los estímulos olfativos activan neuronas individuales en la corteza piriforme, en el hipotálamo y en la corteza orbitofrontal a través del tálamo. Se ha observado en primates, que las neuronas en la corteza orbitofrontal responden a estímulos gustativos y olfativos, lo que sugiere que esta corteza es el centro olfativo principal, en donde la información olfativa y la gustativa son integradas (Fu et al., 2004). Generalmente es necesario que exista una estabilidad en las asociaciones de olor-sabor para facilitar la formación y la percepción de los sabores, ya que existe evidencia de que una parte de las representaciones olfativas en esta región cerebral están relacionadas con el valor hedónico del estímulo olfativo y con el estado de alimentación-saciedad, es decir, los alimentos saben mejor cuando se tiene hambre, y tienen sabor hedónico neutro cuando se ha ingerido un alimento hasta saciar el organismo, situación que no se ha observado en el NFS, en la corteza gustativa frontal e insular (Rolls, 2005).

Asimismo, se ha encontrado en la rata que hay una propagación de la señal del NEP a la corteza gustativa a través de la zona agranular de la CI y viceversa. Por lo tanto, la actividad olfativa y la gustativa convergen en el NEP, existiendo conexiones recíprocas entre ambas rutas. Las conexiones descendentes del NEP y de la zona agranular hacia la amígdala permiten la integración de la información olfativa, gustativa, visceral y nociceptiva para modular mecanismos involucrados en la selección de alimentos (Fu et al., 2004).

La integración y convergencia del sabor y el olor en determinadas zonas cerebrales puede ser la razón por la que no se observaron mayores frecuencias en la conducta de husmeo de las dietas en las ratas del GD. Estas regiones aún no han sido estudiadas en sujetos con DPN, pero pueden no ser afectadas por la deficiencia alimentaria, lo que permite que los animales distinguan y asocien los sabores con los olores, facilitando su consumo y evitando que dependan de mayores requerimientos de conductas exploratorias

para reconocer los estímulos gustativos que se les presentan independientemente de su estado nutricional. Es decir, estas estructuras pudieran compensar de alguna forma las deficiencias en el sistema gustativo y en el olfativo que se desarrollan por la DPN (Debassio et al., 1996; Frías et al., 2006, 2009; Rubio-Navarro et al., 2011; Carreón et al., 2012).

Dentro de las variables que se midieron para la respuesta anticipatoria, se evaluó la latencia de inicio de ingesta de alimentos, es decir, los segundos que transcurrieron entre que se colocó al animal dentro de la caja de experimentación hasta que probó cualquiera de las dos dietas ofrecidas, con el fin de encontrar diferencias entre los grupos sobre la ingesta de alimento independientemente del sabor. La Figura 6.3.1.1.3 muestra los tres días de experimentación de las ratas DEM, se observa que ambos grupos experimentales disminuyeron el tiempo de inicio de ingesta en el día 2 y 3 en comparación con el día 1 de prueba, sin embargo no hubo una diferencia significativa entre el GC y el GD durante los tres días de pruebas. Las diferencias significativas que se hallaron fueron del GC, entre el día 1 de prueba y el día 2, y el día 1 contra el día 3.

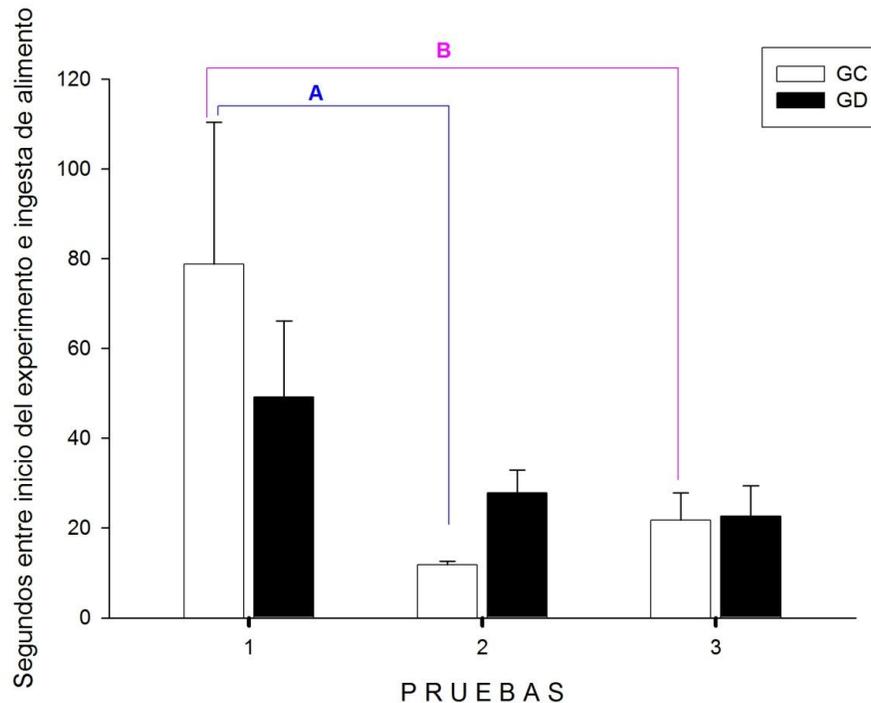


Figura 6.3.1.1.3. Latencia de inicio de ingesta en ratas demostradoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido.

Las comparaciones significativas entre los grupos se indican a continuación:

**A**, GC prueba 1 vs GC prueba 2  $p = 0.003$ ; **B**, GC prueba 1 vs GC prueba 3  $p = 0.010$ .

### 6.3.1.2 Comparación de los efectos en el acercamiento, husmeo y latencia de inicio de ingesta entre ratas DEM y OBS

Se realizaron comparaciones de las frecuencias de acercamiento, de husmeo y de latencia de inicio de ingesta de alimento entre las ratas DEM y las OBS. Se comparó el primer y tercer día de prueba de las DEM con el único día de prueba de las OBS, después de la interacción con las DEM, para la preferencia entre las dos dietas. Cuando se comparó la conducta de las OBS con el primer día de las DEM (Figura 6.3.1.2.1), se observó que las ratas OBS del GD se acercaron más a las dietas, en especial a la de cocoa, que las DEM y las OBS del GC; el acercamiento de las OBS del GD a la cocoa fue significativamente mayor que el de las OBS del GC. Esto puede deberse a que

requieren de mayor número de acercamientos para relacionar el olor de los residuos de alimento de su compañera DEM con el de las dietas ofrecidas para poder elegir entre ellas. También se observó una diferencia significativa en el acercamiento a la cocoa en las ratas OBS del GD, sugiriendo que las ratas del GD tienen en este día 1 una preferencia por el sabor a la cocoa y no a la canela como se esperaría (Fig. 6.3.1.2.1). Las ratas OBS del GC mostraron una frecuencia de acercamiento similar a sus DEM, aunque no hubo diferencias significativas consistentes con respecto a ellos.

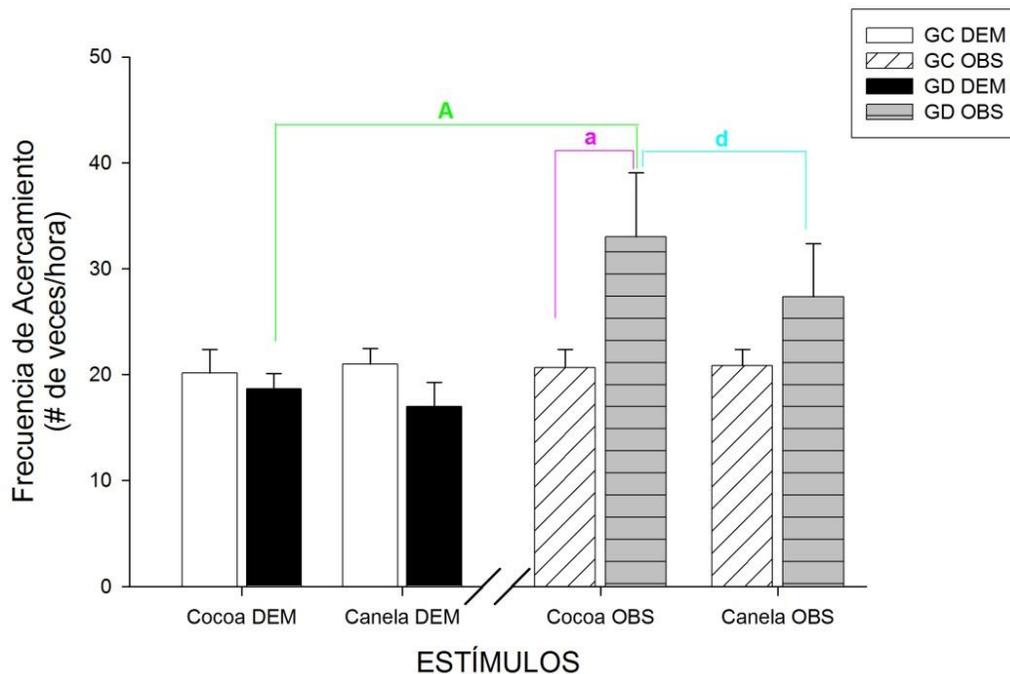


Figura 6.3.1.2.1. Frecuencia de acercamiento a la dieta en el día 1 de prueba de ratas demostradoras vs la frecuencia de acercamiento del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

**A**, DEM GD cocoa vs OBS GD cocoa  $p = 0.029$ ; **a**, OBS GC cocoa vs OBS GD cocoa  $p = 0.056$ ; **d**, OBS GD cocoa vs OBS GD canela  $p = 0.008$ .

El día 3 de prueba de las DEM también fue comparado con el día de prueba de preferencia alimentaria de las OBS (Figura 6.3.1.2.2). Las OBS, tanto del GC como del GD, presentaron una mayor frecuencia de acercamiento hacia ambas dietas que las DEM en el día 3 de prueba, debido a que ellas

presentaron el fenómeno de habituación, mientras que las OBS solamente habían tenido contacto con las dietas a través de la interacción con su compañera DEM es decir, las dietas son un estímulo semi-novedoso por lo que requieren de más acercamientos para definir su preferencia. Las OBS del GD, de la misma forma que se observa en la Figura 6.3.1.2.1 presentaron una mayor frecuencia de acercamiento a las dietas que las OBS del GC. Hubo una diferencia significativa entre la frecuencia de acercamiento de las OBS del GD en comparación con las OBS del GC; así como una diferencia entre las frecuencias de acercamiento a la canela sobre la cocoa en las OBS del GD. Las ratas DEM del GC en comparación con las OBS del GC no mostraron diferencias significativas entre ellas, pero sí una tendencia de mayor acercamiento a la canela en las OBS, como se observó en el GD. Este hallazgo, obtenido para el día de la prueba gustativa de las ratas OBS sugiere que estas ratas OBS controles y desnutridas en sus acercamientos tanto a la cocoa como a la canela, los incrementan en comparación con sus DEM, posiblemente para promover la extracción de la información respecto a la preferencia por los sabores de sus DEM. Esto quizás sea parte de la evidencia relacionada con la transferencia de información para la discriminación apetitiva (Galef y Wigmore, 1983). Por otra parte, las comparaciones entre los grupos experimentales relacionados con los acercamientos fueron más claras en el día 3, que en el día 1 del estudio.

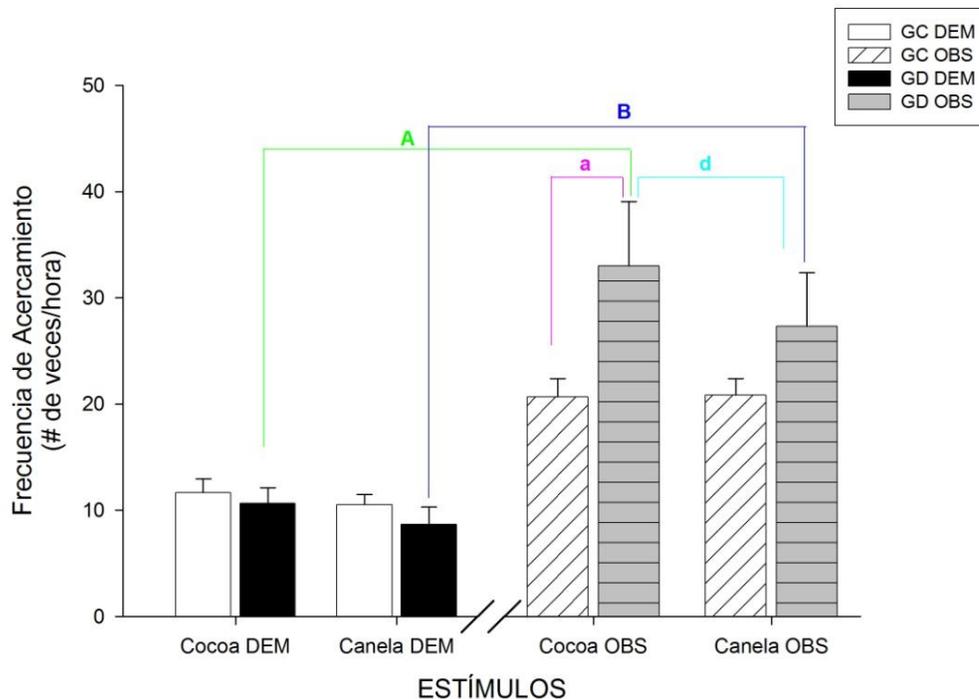


Figura 6.3.1.2.2. Frecuencia de acercamiento a la dieta en el día 3 de prueba de ratas demostradoras vs la frecuencia de acercamiento del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

Las comparaciones significativas entre los grupos se indican a continuación:

**A**, DEM GD cocoa vs OBS GD cocoa  $p = 0.001$ ; **B**, DEM GD canela vs OBS GD canela  $p = 0.004$ ; **a**, OBS GC cocoa vs OBS GD cocoa  $p = 0.056$ ; **d**, OBS GD cocoa vs OBS GD canela  $p = 0.008$ .

En cuanto al husmeo de las dietas de las DEM en el día 1 de prueba en comparación con las OBS se observó una tendencia similar a la conducta de acercamiento a las dietas sin embargo, aquí no se presentó diferencia significativa, aunque sí una tendencia al incremento (Figura 6.3.1.2.3). Las ratas OBS del GD tendieron a husmear más que las DEM en su primer día de prueba, esto puede ser por la misma razón que en el acercamiento, requieren más husmeo para detectar el olor que sus DEM tenían impregnado en su cuerpo.

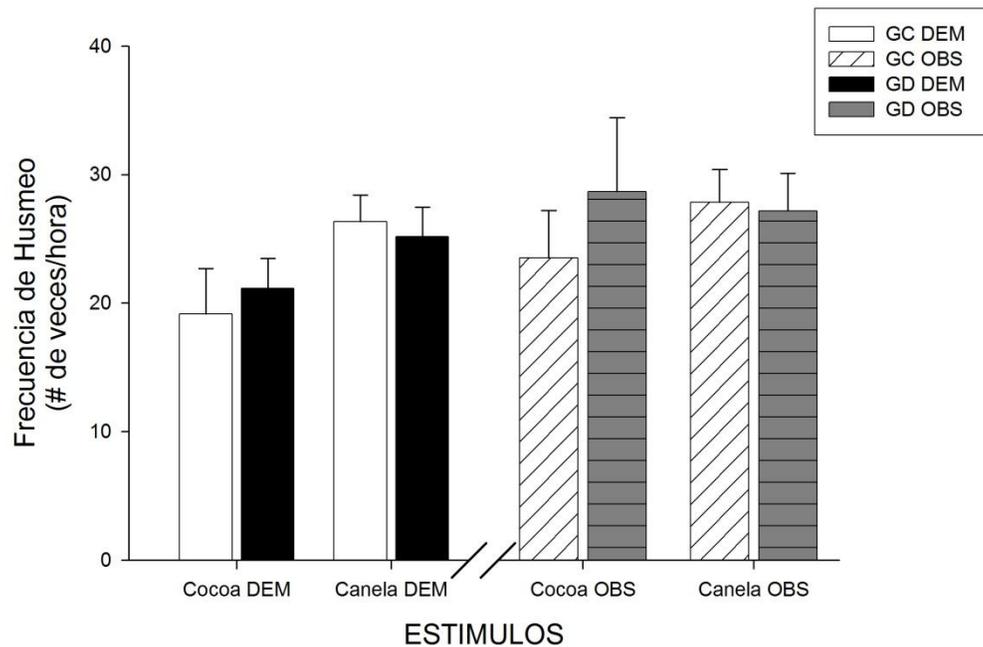


Figura 6.3.1.2.3. Frecuencia de husmeo de la dieta en el día 1 de prueba de ratas demostradoras vs la frecuencia de husmeo del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

No hay diferencias significativas en las comparaciones.

En la comparación del día de prueba 3 de las DEM con la frecuencia de husmeo de las OBS (Figura 6.3.1.2.4) también se observó una conducta similar a la frecuencia de acercamiento. Las ratas OBS tanto del GC como del GD husmearon más que las DEM, debido a que estas últimas ya habían tenido contacto anteriormente con las dos dietas y las OBS lo tuvieron a través de su compañera DEM. De la misma forma que en el acercamiento, las OBS del GD husmearon más la dieta de cocoa que la de canela, y las del GC husmearon ligeramente más la canela. Cuando los hallazgos obtenidos en este día 3 del estudio se comparan con los correspondientes al día 1 de las pruebas, es posible reconocer que las OBS del GC y GD ante los dos tipos de sabores requieren mayores frecuencias de husmeos. Este efecto, como en el caso de la frecuencia de acercamiento, pone de manifiesto la dificultad en la transferencia de información de los DEM hacia los OBS o la dificultad en la recepción de

información por los OBS, ya que estos últimos requirieron de mayor número de husmeos comparados con los DEM del GC y GD antes de iniciar con los dos sabores.

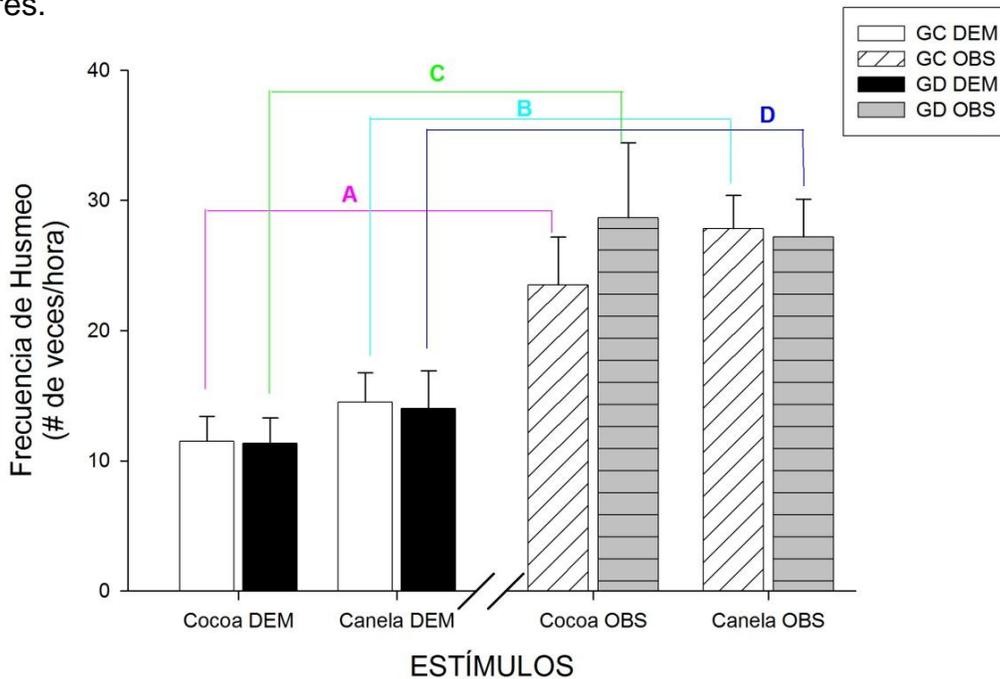


Figura 6.3.1.2.4. Frecuencia de husmeo de la dieta en el día 3 de prueba de ratas demostradoras vs la frecuencia de husmeo del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

Las comparaciones significativas entre los grupos se indican a continuación:

**A**, DEM GC cocoa vs OBS GC cocoa  $p = 0.040$ ; **B**, DEM GC canela vs OBS GC canela  $p = 0.024$ ; **C**, DEM GD cocoa vs OBS GD cocoa  $p = 0.004$ ; **D**, DEM GD canela vs OBS GD canela  $p = 0.026$ .

Estos efectos sugieren que las ratas OBS parecen extraer vía del husmeo la información de los dos sabores que experimentaron. Sin embargo, el aumento del husmeo fue muy similar en los OBS del GD y del GC ante los dos sabores independientemente de su tratamiento dietético; por lo tanto, el incremento del husmeo parecería estar más relacionado con los sabores experimentados en el día 3, comparados con el día 1 de la prueba, que actuaría sobre un substrato neuronal más sensibilizado por la experiencia previa dejada por los tres días de exposición. En este sentido, los presentes

hallazgos tienen apoyo en estudios previos que indican que los campos receptivos de neuronas corticales sensoriales son plásticos, ya que cambian en respuesta a las alteraciones en la actividad neuronal o por la experiencia previa (Thompson, 2005; Karmarkar y Dan, 2006; Froemke et al., 2007).

En la comparación de la latencia de inicio de la ingesta de alimento de las DEM el día 1 de prueba contra el día de prueba de preferencias gustativa de las OBS no se encontró diferencia significativa entre los grupos experimentales (Fig. 6.3.1.2.5). Sin embargo, se puede ver la tendencia de los OBS a demorarse menos para ingerir alimento durante el día 1 de prueba, lo que puede ser debido a que tuvieron contacto e interacción con su compañera DEM, quien le transfirió información (“informó”) sobre la disponibilidad de alimentos y sabores ofrecidos por lo que necesitaron de menor tiempo para reconocer el alimento novedoso y comenzar a ingerirlo.

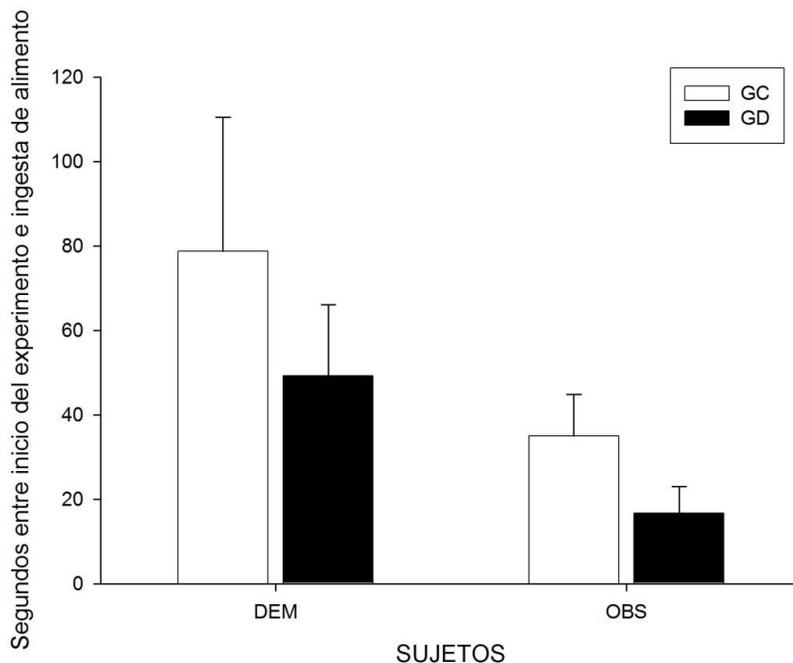


Figura 6.3.1.2.5. Latencia de inicio de ingesta del día 1 de prueba de ratas demostradoras vs la latencia de inicio de ingesta del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

No hay diferencias significativas en las comparaciones.

En la Figura 6.3.1.2.6 se muestra la comparación de la latencia de inicio de ingesta entre el día 3 de prueba de los DEM y el único día de prueba gustativa de los OBS, en la cual se observa que los DEM requirieron de menos tiempo para comenzar a ingerir alimento debido a que ya habían tenido contacto con ambas dietas en los dos días anteriores. Sin embargo las ratas OBS del GC mostraron tendencia para incrementar su latencia de inicio de la ingestión de cualquiera de las dietas, cuestión que pudo ser debida a que fue su primer día de prueba gustativa a los sabores, y por lo tanto solamente habían tenido contacto con éstos a través de su compañera DEM. Los datos no mostraron diferencias significativas entre los días de prueba y los grupos experimentales.

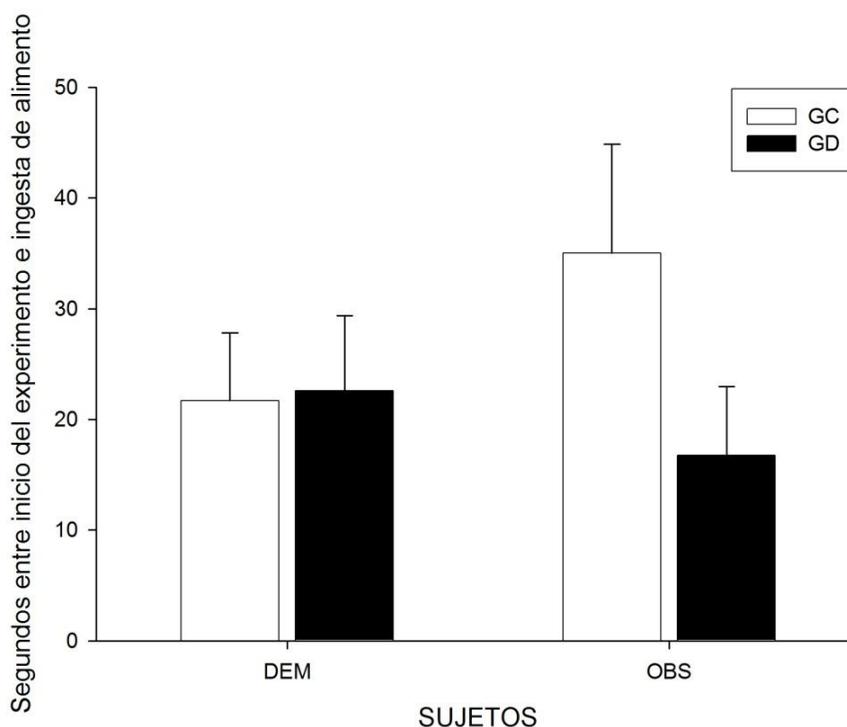


Figura 6.3.1.2.6. Latencia de inicio de ingesta del día 3 de prueba de ratas demostradoras vs la latencia de inicio de ingesta del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

No hay diferencias significativas en las comparaciones.

### 6.3.1.3 Efectos de la observación del compañero DEM

Se evaluaron distintas conductas que las ratas OBS presentaron cuando fueron colocadas en la caja de registro para observar a su compañera DEM mientras ésta última ingería alimento en otra caja.

La Figura 6.3.1.3.1 representa la frecuencia con la que la rata OBS observó a la rata DEM que estaba en la caja anexa. Existe una diferencia significativa entre el número de observaciones entre el GC y el GD, este último observó menos veces a su compañera DEM como signo de exploración que el GC. Lo anterior puede ser debido a que la DPN afectó mecanismos que alteran la exploración, llevándolas a explorar menos que los animales control. En este contexto se sabe, por estudios previos, que la DPN reduce la capacidad de exploración, juzgada a través de la aparición de inmovilidad o congelamiento (freezing), o de hipermotilidad como una respuesta al estrés incrementada, que se acompaña de mayor número de bolos fecales depositados o de cuadros orinados en un “campo abierto” (Fraňková y Barnes, 1968; Levitsky y Barnes, 1970; Salas y Cintra, 1979). Esto sugeriría que los sujetos del GC observaron más al sujeto DEM para extraer información y posiblemente así definir su preferencia al sabor.

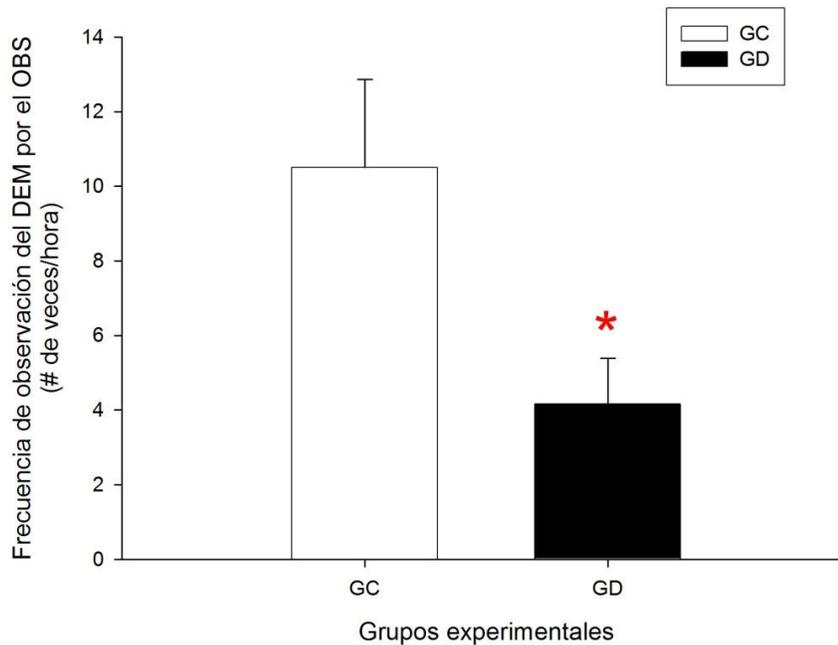


Figura 6.3.1.3.1. Frecuencia de observación del DEM por el OBS.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

\*, GC vs GD  $p = 0.038$

El autoaseo es una conducta normal en las ratas sin embargo en estudios previos se ha encontrado que los animales desnutridos tienden a presentar esta conducta de manera más frecuente, en especial cuando se presenta una situación de estrés como puede ser el ayuno y/o el ambiente novedoso al cual fueron sometidas las ratas en el estudio (Salas y Cintra, 1979). La Figura 6.3.1.3.2 muestra la frecuencia de autoaseo del GC y del GD durante el periodo de observación de su compañero DEM. Se observa una diferencia significativa entre los grupo experimentales, presentando un mayor número de autoaseos el GD que el GC. Los resultados son consistentes con previos estudios en los que se demuestra que los animales desnutridos son más expectantes o emotivos que los animales control dentro de un ambiente novedoso (Salas y Cintra, 1979; Guzmán, 2011).

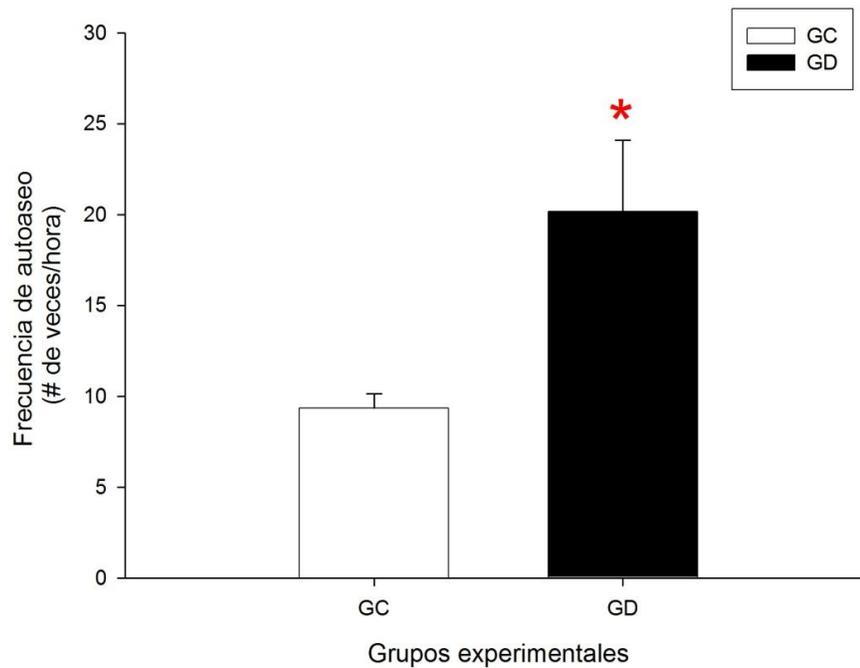


Figura 6.3.1.3.2. Frecuencia de autoaseo del OBS.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

\*, GC vs GD  $p = 0.021$

La Figura 6.3.1.3.3 muestra la frecuencia con la que los animales se pararon sobre sus dos patas traseras mientras se encontraban en la caja de experimentación para observar a su compañero DEM. Las ratas del GD presentaron ligeramente una mayor frecuencia aunque no se encontró ninguna diferencia significativa entre los animales del GC y el GD.

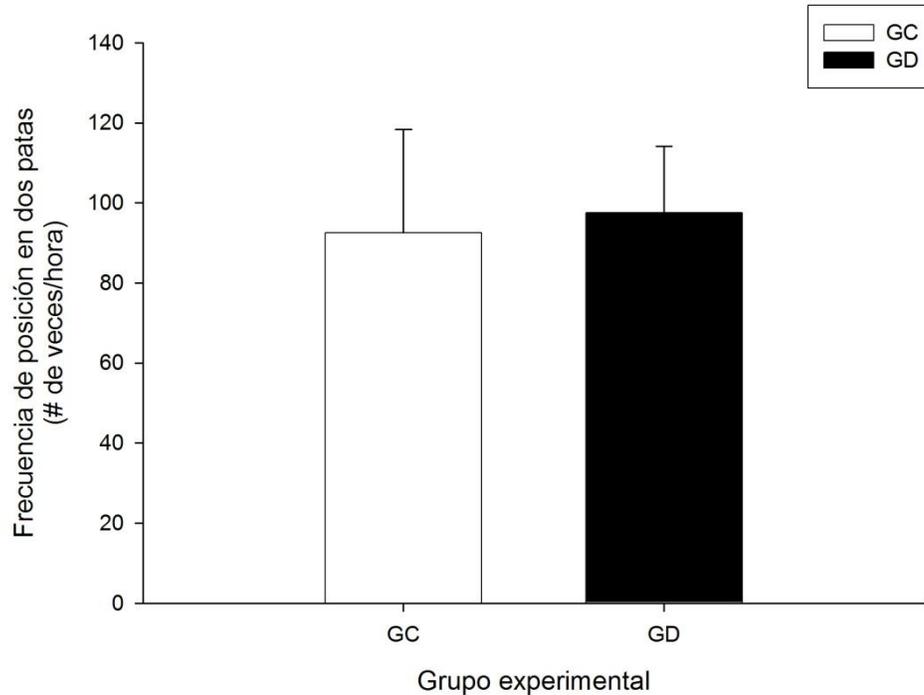


Figura 6.3.1.3.3. Frecuencia de posición en dos patas del OBS.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras  
No hay diferencias significativas en las comparaciones

#### 6.3.1.4 Efectos de la interacción social

Las ratas se comunican a través de vocalizaciones audibles, vocalizaciones ultrasónicas, husmeos, contactos corporales, contactos con la cabeza, etc. Por lo que se evaluaron distintas conductas que se presentaron durante la media hora en que la rata DEM interactuó con la rata OBS, con el fin de indagar si hubo un intercambio de información.

La Figura 6.3.1.4.1 muestra la frecuencia de contactos con la cabeza que presentaron la rata DEM y la OBS. Se observa una diferencia significativa entre los animales del GC y los del GD, mostrando este último una mayor frecuencia de contactos que el control, situación que puede ser debida a que los animales desnutridos tienden a ser más impulsivos o quizás requirieron de

un mayor contacto para detectar el sabor de la dieta que su compañero DEM prefirió.

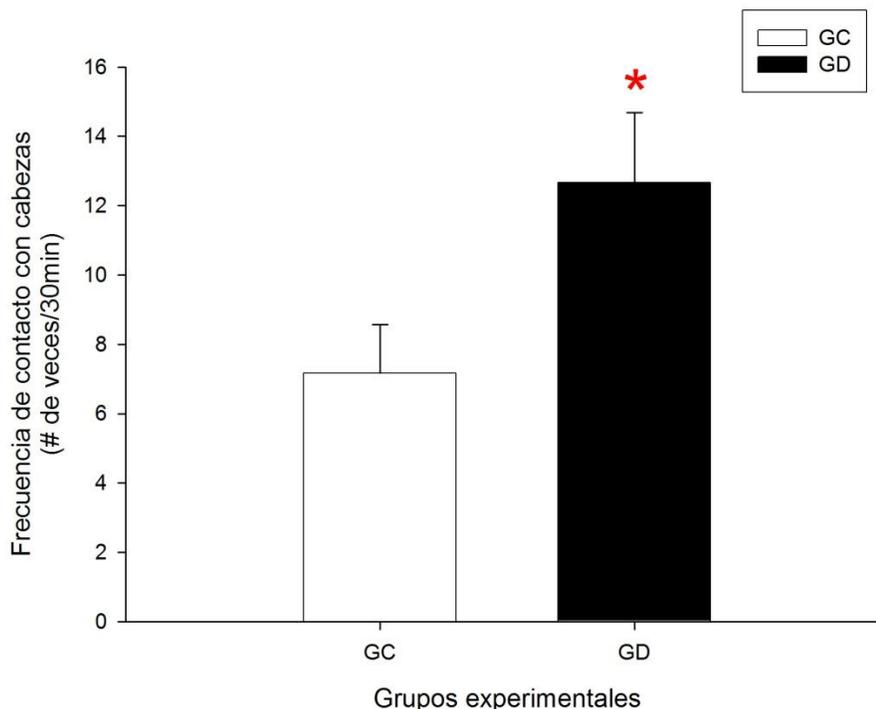


Figura 6.3.1.4.1. Frecuencia de contacto de cabezas entre DEM y OBS en el encuentro social.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

\*, GC vs GD  $p = 0.048$

En cuanto a los contactos corporales se observa que los animales del GD muestran una tendencia a contactar menos durante la prueba con el cuerpo que el GC (Figura 6.3.1.4.2). No se presentaron diferencias significativas ya que con esta conducta sería más difícil intercambiar información sobre la ingesta alimentaria y el sabor elegido.

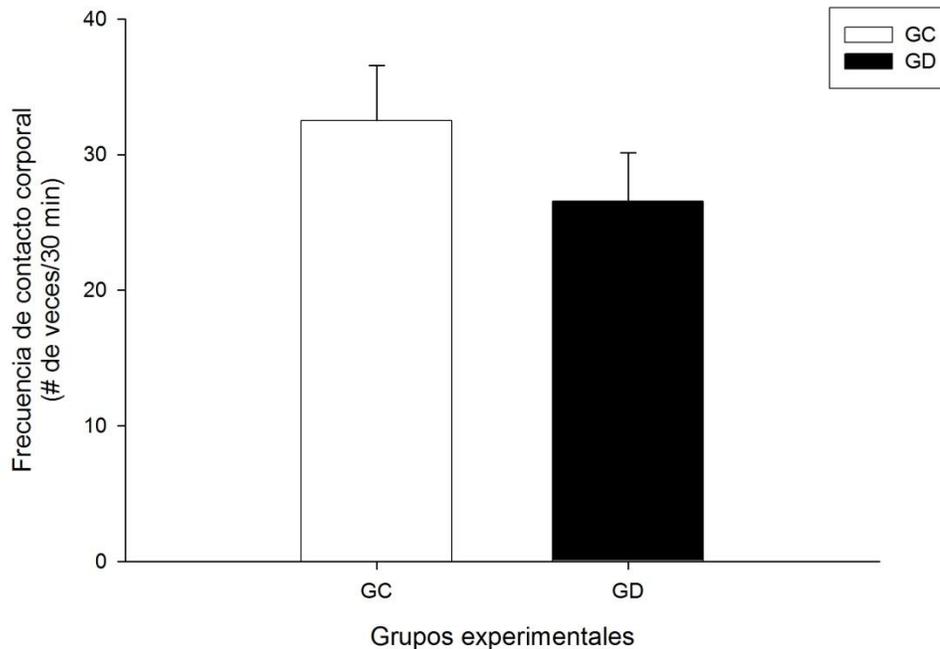


Figura 6.3.1.4.2. Frecuencia de contacto corporal entre DEM y OBS en el encuentro social.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6 GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

No hay diferencias significativas en las comparaciones

Dentro de la prueba experimental de interacción social también se evaluó el husmeo del hocico de la rata DEM por su compañera OBS. La Figura 6.3.1.4.3 muestra una diferencia significativa entre el GC y el GD. Los animales OBS desnutridos tuvieron una menor frecuencia de husmeo del hocico que las ratas control. Esta conducta de husmeo es opuesta al contacto con cabezas, por lo que se puede pensar que el GD husmea menos porque tiene un mayor contacto con la cabeza de su compañero, o porque es menos curioso o explorador que el GC cuando se encuentra con su compañera. Esta situación también puede ser debida a que los animales desnutridos no tienen el mismo olfato que los controles. En efecto, de diversos estudios se sabe que la DPN afecta el desarrollo del BO, los glomérulos olfativos, las células mitrales y las células en penacho, lo que lleva a los animales a presentar deficiencias en la discriminación olfativa (Debassio et al., 1996; Frías et al., 2006, 2009; Carreón

et al., 2012) prefiriendo así el intercambio de información a través de los contactos con la cabeza más que por el husmeo del hocico de su compañero DEM.

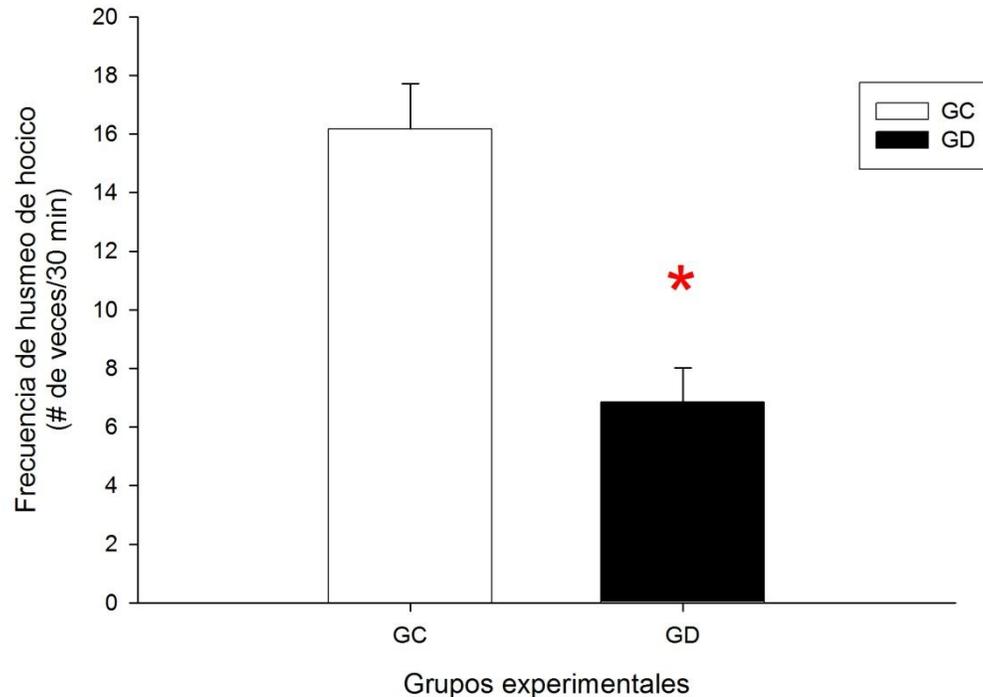


Figura 6.3.1.4.3. Frecuencia de husmeo del hocico del DEM por el OBS en el encuentro social.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

\*, GC vs GD  $p = 0.001$

Durante las pruebas de preferencia gustativa a los sabores los animales pasaron de un recipiente a otro, introduciendo las extremidades superiores e inferiores, la cola, la cabeza, etc., dentro de los recipientes que contuvieron las dietas, lo que hizo que tuvieran fragmentos de las dietas por diferentes zonas de su cuerpo. Es por eso que también se evaluó la frecuencia de ingesta de fragmentos de alimento del cuerpo del DEM por parte del OBS, quien tuvo un ayuno previo de 23 h, por lo que tenía hambre al momento de la observación y la interacción social.

La Figura 6.3.1.4.4 presenta la frecuencia de ingesta de fragmentos del cuerpo del DEM por los OBS dividido por zonas corporales. Entre GC y GD no hubo una diferencia significativa cuando se comparó la misma zona corporal. Sin embargo, cuando se comparó la zona de cara y cuello del GD contra las demás zonas corporales tanto del GC como del GD se encuentran diferencias significativas para las 4 zonas y para los dos grupos experimentales. Como era de esperarse la mayor ingesta de fragmentos se dio en la zona de cara y cuello, ya que fue la zona corporal con mayor contacto con el alimento que la rata DEM prefirió. Las demás zonas no necesariamente se relacionaron con la preferencia de la rata DEM, ya que pudo tener contacto con ambas dietas independientemente de su selección.

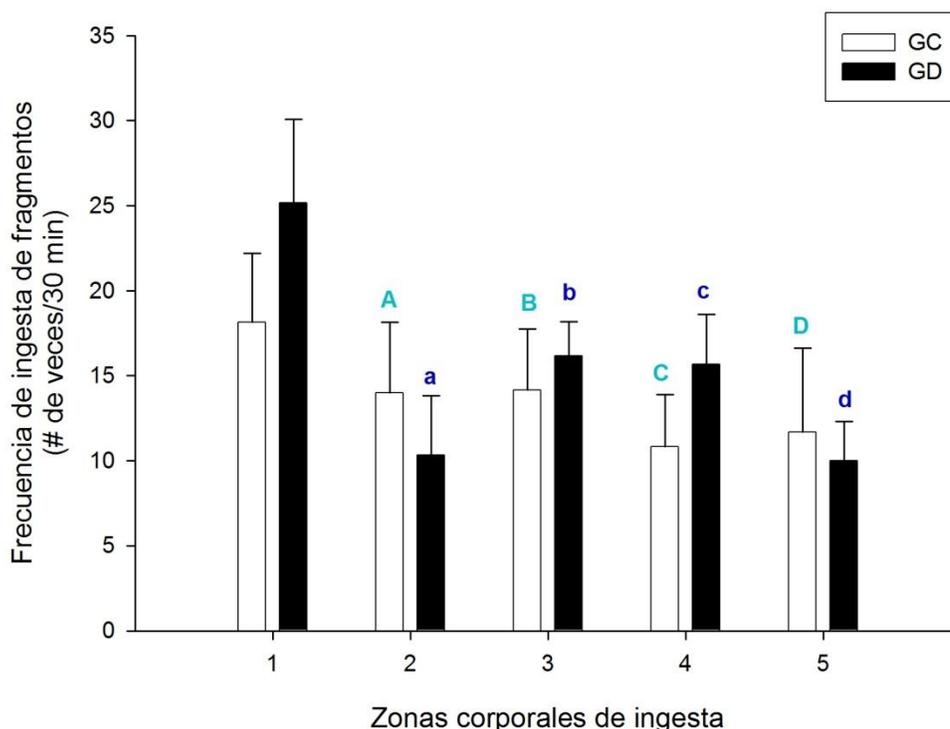


Figura 6.3.1.4.4. Frecuencia de ingesta de fragmentos del cuerpo del DEM por el OBS en el encuentro social.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

1, cara y cuello; 2, lomo; 3, laterales; 4, extremidades inferiores y superiores; 5, cola.

**A**, GD1 vs GC 2  $p = 0.039$ ; **B**, GD1 vs GC 3  $p = 0.041$ ; **C**, GD1 vs GC 4  $p = 0.009$ ; **D**, GD1 vs GC 5  $p = 0.013$ ; **a**, GD1 vs GD 2  $p = 0.001$ ; **b**, GD1 vs GD 3  $p = 0.038$ ; **c**, GD1 vs GD 4  $p = 0.028$ ; **d**, GD1 vs GD 5  $p = 0.001$ .

### *6.3.2 Actividad durante la respuesta consumatoria*

#### *6.3.2.1 Efectos de repetición en la prueba de discriminación gustativa*

En relación al tiempo que las ratas pasaron comiendo de cada una de las dietas durante los tres días de prueba de las DEM (Figura 6.3.2.1.1) las ratas DEM del GD pasaron más tiempo en la dieta de cocoa que el GC. Sin embargo, ambos grupos mostraron una tendencia a pasar más tiempo consumiendo la dieta de canela, siendo ligeramente más el tiempo del GC que el GD, pero sin ninguna diferencia significativa. Se tomaron los gramos ingeridos por cada rata y el tiempo que pasaron en cada una de las dietas; se esperaba que las ratas que pasaron una mayor cantidad de tiempo consumiendo de alguna de las dietas fueran las que más consumieran alimento; no obstante esta relación no siempre se presentó, ya que las ratas que pasaron mucho tiempo en cualquiera de las dos dietas, no consumieron cantidades significativamente mayores que las que pasaron menor tiempo consumiendo. Lo que sugiere que el tiempo que la rata pasa en los recipientes de cada una de las dietas no necesariamente fue porque estuvieran consumiendo alimento, sino que esto se pudo deber a que esas ratas comieron a un ritmo más lento que las otras.

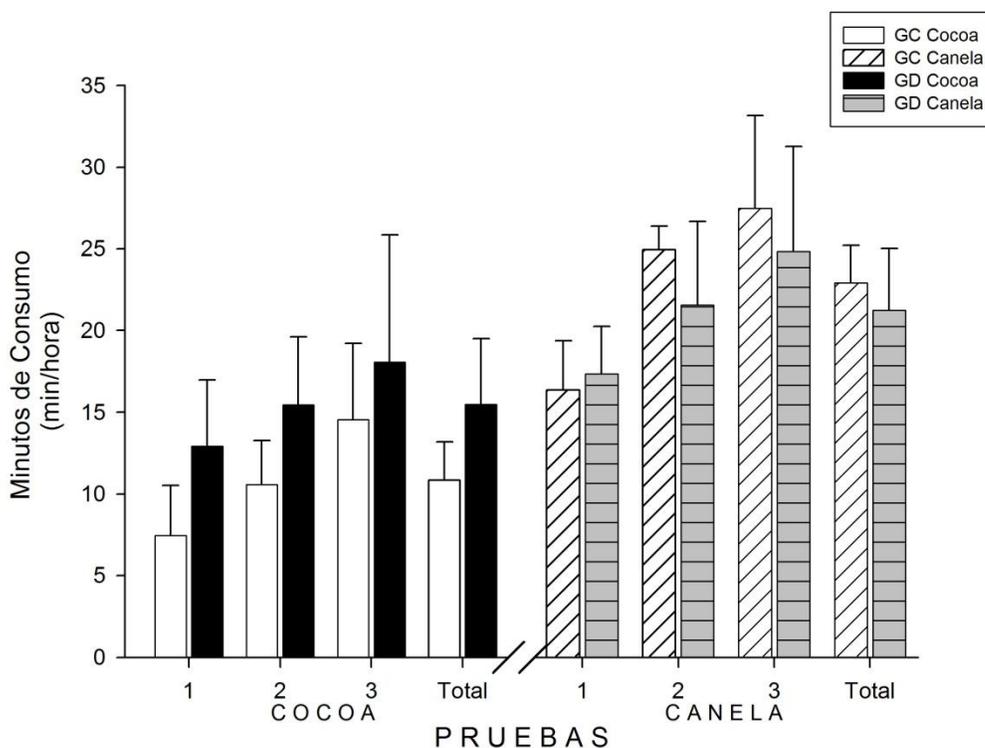


Figura 6.3.2.1.1. Tiempo de consumo de las dietas de ratas demostradoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

No hay diferencias significativas en las comparaciones.

Cuando se compararon los valores totales acumulados de los tres días de prueba, pudo observarse que las DEM permanecieron más tiempo consumiendo la dieta con canela, en comparación con la dieta con cocoa (Fig. 6.3.2.1.1). Estos hallazgos se correlacionan con la mayor preferencia de los sujetos por el alimento dulce (canela) que por el alimento amargo (cocoa) desde etapas tempranas (Hudson y Distel, 1999; Yamamoto y Ueji, 2011).

La Figura 6.3.2.1.2 muestra los gramos consumidos por las ratas DEM de ambas condiciones nutricias. Se observó que el primer día de prueba el consumo de las dietas fue menor tanto el GC como en el GD, lo que pudo deberse a que fueron estímulos novedosos, por lo que hubo una mayor exploración del ambiente y de las dietas a través del husmeo y del

acercamiento a éstas, como se ha demostrado en otros estudios que cuando los estímulos novedosos se hacen repetitivos se pierde la curiosidad por los mismos (Levitsky y Barnes, 1970; Salas y Cintra, 1979). Conforme fueron pasando los días de prueba, el consumo de alimento fue mayor, en particular el de la dieta de canela. Ambos grupos prefirieron la dieta con este sabor, lo que pudo ser debido a que la cocoa, la cual no estaba endulzada, tiene un sabor amargo, al menos para el ser humano y la canela da un sabor ligeramente dulce a los alimentos, haciéndolos más palatables y placenteros. Esto último pudo llevar al incremento del consumo del alimento que contenía este sabor determinado. Aportan apoyo a esta posibilidad la preferencia natural al sabor dulce que tienen los mamíferos, por otros sabores en la selección del alimento (Hudson y Distel, 1999).

El GD consumió una mayor cantidad de gramos de los dos tipos de dietas que el GC, lo que se relacionó con el menor número de frecuencias en la conducta de acercamiento y de husmeo en comparación con el GC. Las ratas del GC mostraron un consumo significativamente mayor de dieta de canela el día 3 de prueba que el día 1; asimismo, el consumo de la dieta de canela del día 3 de este mismo grupo y del GD fue significativamente mayor que el de la dieta de cocoa en ambos grupos.

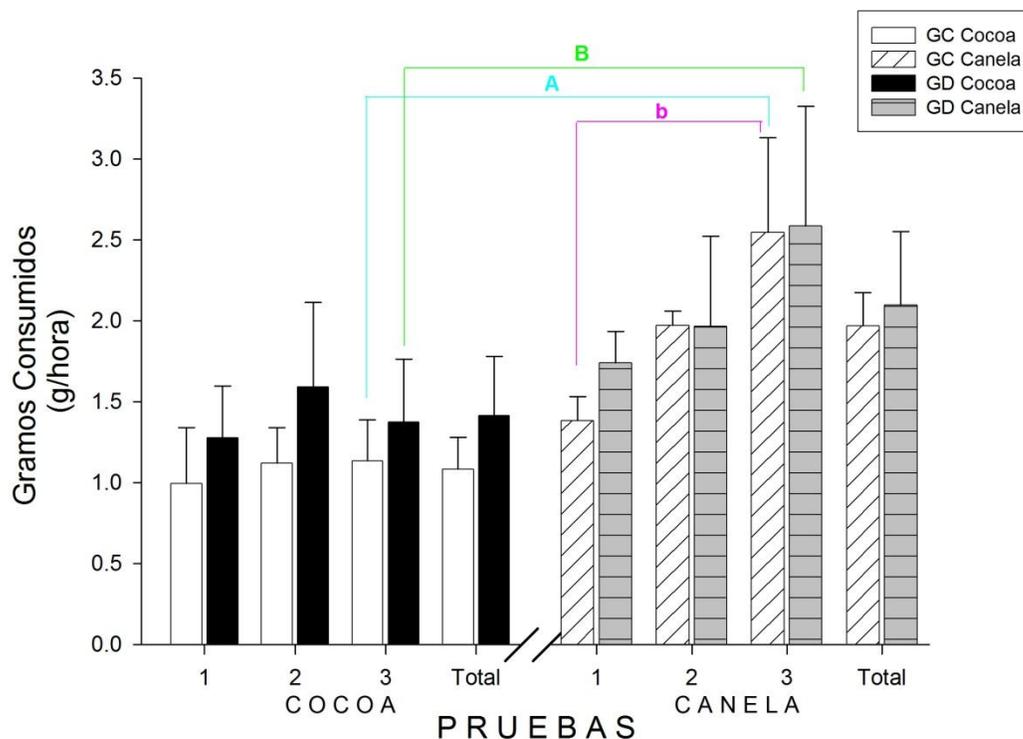


Figura 6.3.2.1.2. Gramos consumidos por ratas demostradoras control y desnutridas. Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido.

**A**, GC cocoa prueba 3 vs GC canela prueba 3  $p = 0.013$ ; **B**, GD cocoa prueba 3 vs GD canela prueba 3  $p = 0.031$ ; **b**, GC canela prueba 1 vs GC canela prueba 3  $p = 0.038$ .

### 6.3.2.2 Comparación de los efectos en tiempo y gramos consumidos entre DEM y OBS

Se comparó el tiempo de consumo del primer día de prueba de las ratas DEM contra el día de prueba de consumo de las dietas de las ratas OBS (Figura 6.3.2.2.1). Las DEM de ambos grupos consumieron de las dos dietas sin embargo, pasaron una mayor cantidad de minutos en la dieta de canela que en la de cocoa, y el GD pasó una mayor cantidad de tiempo en la dieta de cocoa que el GC, pero pasó mayor tiempo en la dieta con canela. En comparación con las OBS, las ratas del GD pasaron significativamente menos tiempo en la dieta con cocoa que el GC, el cual pasó ligeramente menos tiempo en la dieta de canela que en la de cocoa. Se observó una diferencia

significativa entre el tiempo de consumo de la dieta de cocoa por las OBS del GD en comparación con el consumo de la dieta de canela de las OBS del GD. El tiempo de consumo de la dieta de cocoa en las DEM del GC fue significativamente diferente que el consumo de canela por los DEM del GD. Asimismo, el tiempo de consumo de las ratas DEM del GC fue significativamente menor que el de las OBS del mismo grupo. En este primer día los OBS del GD tienen mayor tiempo de consumo que los OBS del GC.

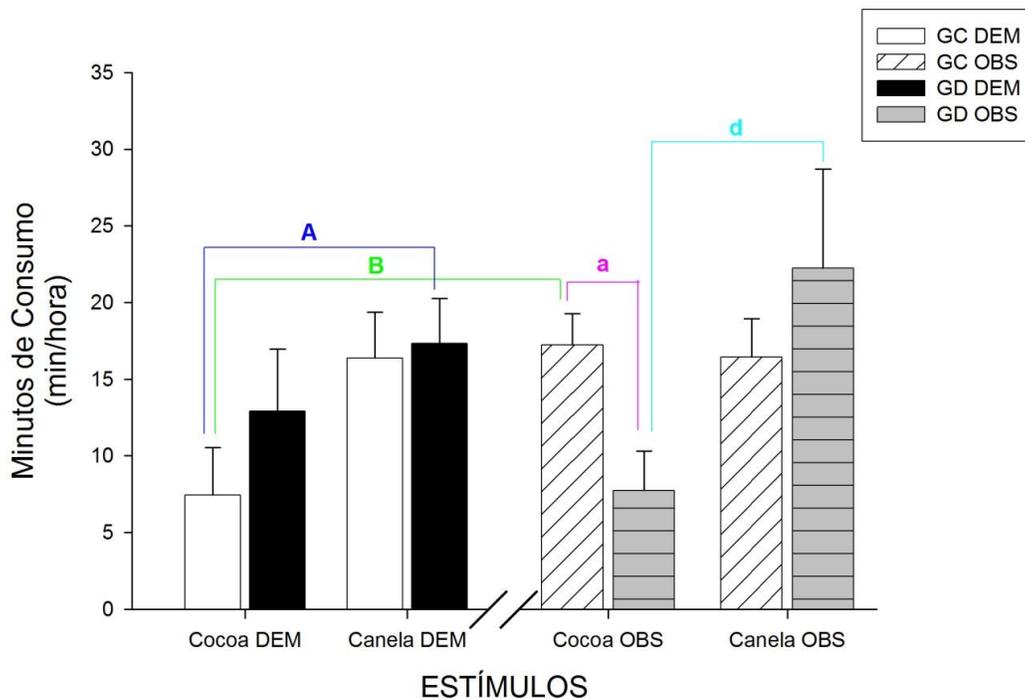


Figura 6.3.2.2.1. Tiempo de consumo del día 1 de prueba de ratas demostradoras vs el tiempo de consumo del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

**A**, DEM GC cocoa vs DEM GD canela  $p = 0.058$ ; **B**, DEM GC cocoa vs OBS GC cocoa  $p = 0.024$ ; **a**, OBS GC cocoa vs OBS GD cocoa  $p = 0.028$ ; **d**, OBS GD cocoa vs OBS GD canela  $p = 0.0231$ .

En la comparación del tercer día de prueba de las DEM contra las OBS (Figura 6.3.2.2.2) se observó que las DEM presentaron un mayor tiempo de consumo que las OBS. En las DEM no se encontraron diferencias significativas entre los dos sabores de dieta y las dos condiciones nutricias sin embargo,

ambos pasaron más tiempo consumiendo la dieta de canela. Las OBS pasaron un tiempo menor en las dietas en comparación con las DEM. Las OBS del GC pasaron un tiempo significativamente mayor en la dieta de cocoa que las ratas del GD. El GC de las OBS pasó un tiempo muy similar en cada una de las dietas, mientras que las del GD prefirieron la dieta de canela. Las ratas DEM del GD pasaron más tiempo consumiendo la dieta de cocoa que las OBS; de la misma manera, las DEM del GC presentaron un mayor tiempo de consumo de la dieta de canela que las ratas OBS.

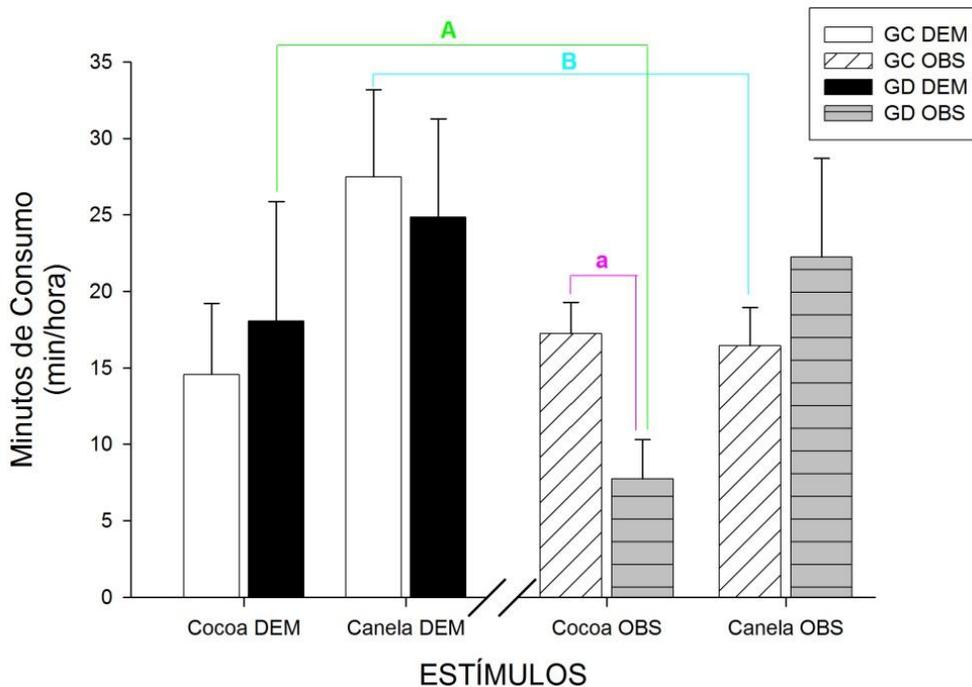


Figura 6.3.2.2.2. Tiempo de consumo del día 3 de prueba de ratas demostradoras vs el tiempo de consumo del día 1 de ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido; DEM, demostradoras; OBS, observadoras.

**A**, DEM GD cocoa vs OBS GD cocoa  $p = 0.042$ ; **B**, DEM GC canela vs OBS GC canela  $p = 0.030$ ; **a**, OBS GC cocoa vs OBS GD cocoa  $p = 0.059$ .

Los datos sobre el tiempo de consumo de alimento coincidieron, de forma inversa, con las gráficas de frecuencia de acercamiento y de husmeo, es decir, conforme disminuyó la frecuencia de estas dos conductas, el tiempo de consumo se fue incrementado. Lo mismo sucedió con los gramos ingeridos de alimento, al pasar los días, la ingestión de alimento se incrementó, mientras

que los parámetros de conducta, como el acercamiento y el husmeo fueron disminuyendo. Así los animales que se habituaron tanto al ambiente como a las dietas están más familiarizados con los estímulos, y de esta manera dejan de ser estímulos novedosos por lo que, probablemente, se reduce el estrés, el apetito aumenta y las conductas de exploración disminuyen.

Igualmente se compararon los gramos consumidos por las ratas DEM el día 1 de prueba contra las OBS el día de su prueba sobre la preferencia gustativa a los sabores (Figura 6.3.2.2.3). Se observó que las ratas del GD consumieron más alimento que las del GC, lo que puede sugerir que las ratas del GD tuvieron una alteración en el mecanismo de saciedad, llevándolas a ingerir una mayor cantidad de alimento que el GC. Dan apoyo a esta posibilidad los estudios recientes de Stapleton et al. (2006), de Zhou et al. (2009) y de Salas et al. (2012b) que señalan que a nivel de la corteza insular el daño neuronal asociado a la desnutrición temprana, pudiera interferir con los niveles del umbral de activación involucrados en la estimulación gustativa aferente. Asimismo, que posiblemente en los pacientes diabéticos, el umbral gustativo para los carbohidratos se incremente significativamente, lo cual permitiría una mayor ingesta de alimentos con sabor dulce antes de alcanzar el nivel de saciedad (Stapleton et al., 2006; Zhou et al., 2009; Salas et al., 2012b).

En el GC se observó que las ratas DEM tuvieron una preferencia por el consumo de la dieta de canela sin embargo, las OBS de esta misma condición nutricia tuvieron un mayor consumo de dieta de cocoa. Por otra parte, el GD tuvo una preferencia por la dieta de canela tanto en DEM como en las OBS, incluso el consumo de esta dieta fue significativamente mayor que el de las ratas del GC y que el consumo de cocoa de las OBS del GD.

Estos hallazgos están acordes con estudios en los que se encontró que las ratas “insatisfechas”, es decir, alimentadas con una dieta diluida con celulosa (dieta diluida), tuvieron un mayor uso de la información socialmente

disponible en comparación con las ratas “satisfechas” (alimentación normal), indicando así que los animales insatisfechos tienden más a copiar el comportamiento de otros animales que aquellos que están satisfechos. Las preferencias alimentarias de las OBS mantenidas con la dieta diluida mostraron influencias de los DEM significativamente mayores que las preferencias alimentarias de los OBS mantenidos con dieta normal. Las ratas satisfechas se basan en su aprendizaje individual mientras que un animal que se considera fracasado es más común que abandone sus elecciones alimentarias individuales y adopte las de otro, y así evita el aprendizaje por ensayo-error (Galef et al., 2007). En el presente estudio se observó que las ratas DEM del GD consumieron mayor cantidad de la dieta que su OBS prefirió, mientras que el GC eligió la dieta contraria a sus DEM.

Las ratas OBS tuvieron un consumo mayor de alimento, lo que puede sugerir que sí hubo transferencia de información en el encuentro social entre los DEM y los OBS, y un aprendizaje social preferencial por la ingesta de uno de los alimentos ofrecidos después de la interacción. Las ratas DEM posiblemente pasaron la información de la dieta elegida a su respectiva rata OBS, haciendo que el estímulo fuera semi-novedoso, lo cual las llevó probablemente a la mayor ingesta de alimento.

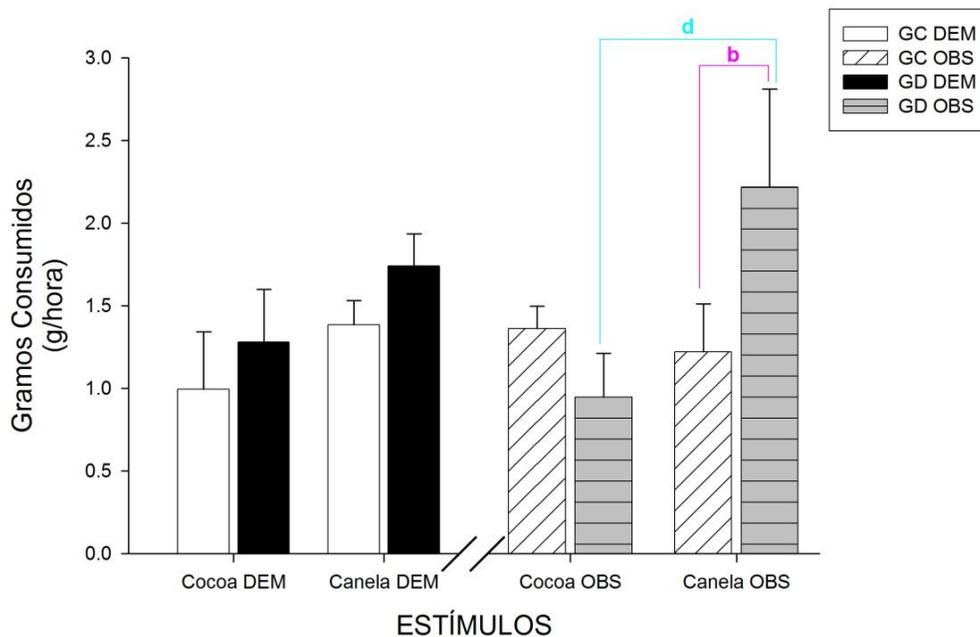


Figura 6.3.2.2.3. Gramos consumidos el día 1 de prueba por ratas demostradoras vs gramos consumidos el día 1 por ratas observadoras control y desnutridas. Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .  
 n GC= 6; n GD= 6  
 GC, grupo control; GD, grupo desnutrido.  
**b**, OBS GC canela vs OBS GD canela  $p = 0.038$ ; **d**, OBS GD cocoa vs OBS GD canela  $p = 0.010$ .

En la comparación del día 3 de prueba de las ratas DEM contra el día de prueba de las OBS (Figura 6.3.2.2.4), se observó que las ratas DEM tanto del GC como del GD prefirieron la dieta de canela, aunque también consumieron de la dieta de cocoa. El consumo de las ratas OBS fue menor que el de las DEM, lo que pudo ser debido a que las DEM ya habían tenido contacto directo con el alimento y, por lo tanto, ya no fue un estímulo novedoso. Así que, las OBS solamente tuvieron contacto a través del olor de su compañera DEM, de la ingesta de fragmentos que ella traía en su cuerpo, por la interacción social y posiblemente por el paso de información a través de vocalizaciones ultrasónicas. Moles y D'amato (2000) mostraron que el índice de emisión de vocalizaciones ultrasónicas emitidas por ratones después de una corta reunión con sus congéneres, incrementa significativamente si uno de los miembros ingiere un alimento desconocido, particularmente cuando éste es palatable.

En un estudio con ratas hembras de la cepa Norway se observó un incremento en la tasa de producción de vocalizaciones ultrasónicas cuando un miembro es separado de su pareja e ingiere un alimento novedoso. Sin embargo, estos datos no sustentan la sugerencia de que las vocalizaciones ultrasónicas facilitan el aprendizaje social para preferencias alimentarias en ratas hembras jóvenes OBS. Esto puede ser debido a que una vez que el OBS descubre que el DEM ha ingerido una dieta desconocida e incrementa la producción de vocalizaciones ultrasónicas, ya ha sido expuesto a los estímulos olfativos que alteran su preferencia alimentaria subsecuente. Incluso periodos muy breves (desde 2 min) de contacto nariz-nariz de un DEM con su OBS incrementa su preferencia hacia la dieta del DEM (Galef y Jeimy, 2004). Sin embargo, esta posibilidad sobre las vocalizaciones ultrasónicas requiere de estudios complementarios que la definan y la validen, ya que éstas son motivo de gran estudio en el presente. Hasta el momento se conocen pocas vocales ultrasónicas en la rata sin embargo, el análisis de éstas durante la interacción social podrían dar conocimiento sobre la transferencia de información de la discriminación a dos sabores entre congéneres, y posiblemente estar afectada por la DPN (Tonkiss et al., 2003; Galef y Jeimy, 2004).

Se encontró una diferencia significativa entre el consumo de dieta de cocoa por las DEM del GC en comparación con el consumo de dieta de canela; así como, un mayor consumo de dieta de canela por las DEM del GC en comparación con las OBS del mismo grupo que lo mostraron reducido. Las ratas DEM y OBS del GD mostraron una ligera tendencia a un mayor consumo de dieta de canela sobre el consumo de la dieta de cocoa (Fig. 6.3.2.2.4).

Los OBS del GD prefirieron la dieta de canela (igual a sus DEM) lo que puede deberse a que fue el olor que mayormente detectaron en su compañero, ya que la canela huele más que la cocoa; el GD, teniendo alteraciones en su BO por la DNP, quizás distingue más fácil y/o rápido los olores característicos, mientras que aquellos que huelen menos se dificulta más la distinción de éstos.

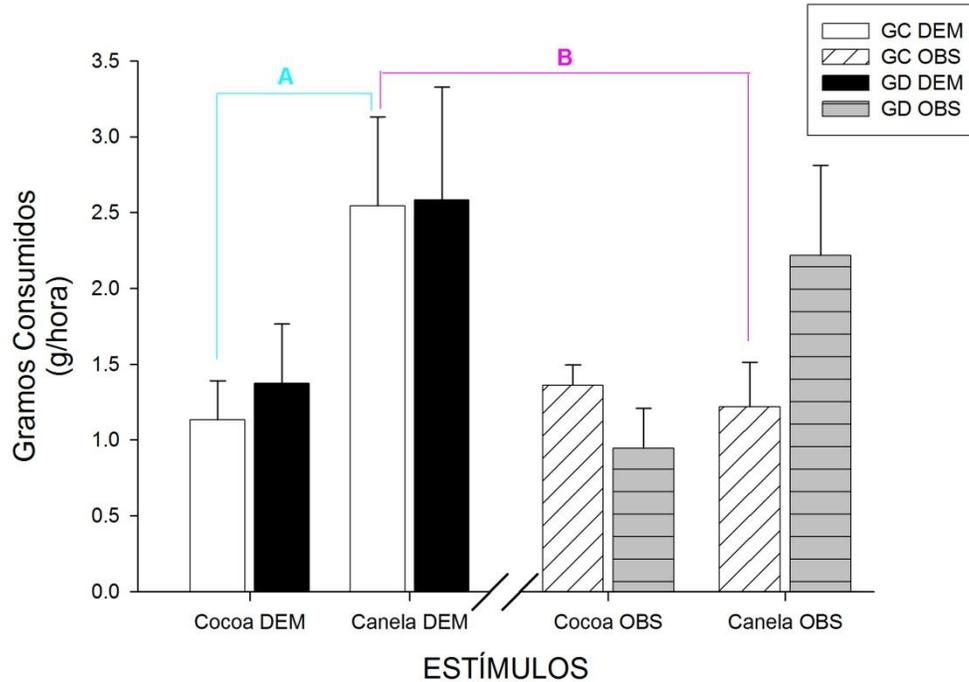


Figura 6.3.2.2.4. Gramos consumidos el día 3 de prueba por ratas demostradoras vs gramos consumidos el día 1 por ratas observadoras control y desnutridas.

Los valores son medias  $\pm$  error estándar;  $p < 0.05$ .

n GC= 6; n GD= 6

GC, grupo control; GD, grupo desnutrido.

**A**, DEM GC cocoa vs DEM GC canela  $p = 0.045$ ; **B**, DEM GC canela vs OBS GC canela  $p = 0.044$ .

El consumo de alimentos es una conducta que requiere de la retroalimentación de los cambios ocurridos en el cuerpo, y el sistema interoceptivo es un componente indispensable durante la alimentación para procesar la información homeostática y su impacto emocional. Consumir alimentos a primera vista podría parecer un acto simple en respuesta a una necesidad básica del cuerpo sin embargo, esta conducta recluta funciones corporales y su regulación incluye procesos de equilibrio no sólo homeostático y metabólico, sino también procesos conscientes y de respuesta emocional, que envuelven propiedades cognitivas como la memoria y la toma de decisiones, entre otras (Miranda, 2012).

El comer resulta una actividad placentera; normalmente se busca el placer derivado del consumo de alimentos sabrosos y “recompensantes” (Miranda, 2012). Sin embargo, factores relacionados con la motivación, el reconocimiento de premios y castigos, así como la disponibilidad y la carencia, física o emocional, de determinados componentes de la dieta, influyen significativamente en la conducta alimenticia (Volkow et al., 2012).

El presente estudio tiene la limitante que no se conoce si a las ratas les agradó el sabor de la canela (porque fue la dieta de mayor consumo) o simplemente lo prefirieron sobre el de cocoa porque no tuvieron otra opción disponible. Al respecto, probablemente la liberación de dopamina podría dar información, ya que se ha demostrado que las experiencias placenteras ocasionadas por alimentos sabrosos se correlacionan con la cantidad de dopamina liberada (Volkow et al., 2012). Las proyecciones del sistema mesolímbico dopaminérgico surgen de neuronas en el área ventral tegmental que proyectan hasta el NAcc; la liberación de dopamina se asocia con los alimentos agradables y otras recompensas placenteras; a su vez las neuronas dopaminérgicas llevan a un mayor consumo de alimentos palatables (especialmente cuando la recompensa que se recibe es repentina e inesperada) y liberación de más señales (Berridge, 2009).

Se requieren estudios adicionales que permitan conocer y especificar si la DPN afecta la transferencia de información de discriminación a dos sabores entre congéneres o si lo que se afecta es la recepción de dicha información. El estudio de vocalizaciones ultrasónicas está en sus inicios, hasta ahora solamente se conocen pocas vocales por las cuales se comunican las ratas (Tonkiss et al., 2003). La emisión de vocalizaciones en las ratas DPN puede estar afectada y equivocada, por lo que el estudio y análisis de éstas puede dar más información de cómo la transferencia de información podría verse afectada.

## DISCUSIÓN GENERAL

Los hallazgos más relevantes del presente estudio mostraron durante la respuesta anticipatoria de la preferencia por las dietas de cocoa y canela, que los sujetos OBS del GD de las pruebas conductuales se acercaron y husmearon más frecuentemente a la cocoa respecto a la canela; mientras que las ratas OBS del GC tuvieron un acercamiento y husmeo similar a ambas dietas y a sus DEM. Los resultados sugieren que la capacidad discriminadora de los sujetos del GD muestra en el largo plazo alteraciones en sus mecanismos cerebrales para la discriminación del sabor de las dietas que aquí se analizaron. Por otra parte, que de la evaluación del comportamiento de los sujetos OBS durante las pruebas de preferencia gustativa de los animales DEM, fue evidente que las ratas del GC observaron más a las DEM, siendo la inversa cierta para el caso de los sujetos del GD. En paralelo, durante el encuentro entre los sujetos DEM y los OBS de ambos tratamientos dietéticos, las ratas del GD tuvieron más contactos con la cabeza de los animales DEM que el GC probablemente en busca de fragmentos de alimento. Por otro lado, en la frecuencia de husmeo de hocico se observó lo contrario, el GC husmea más el hocico de los DEM en comparación con el GD. Asimismo, que los sujetos OBS del GC y GD ingirieron más fragmentos de alimento de la cara y cuello de sus DEM que de otras zonas del cuerpo debido a que es la zona corporal que mantiene mayor contacto con el alimento. Los DEM de ambos grupos experimentales presentaron una preferencia por la dieta de canela sobre la de cocoa, siendo el GD el que más gramos ingirió de ambas dietas. Las OBS del GD también prefirieron la dieta de canela, teniendo un consumo similar en gramos al de sus DEM el tercer día de prueba y un menor consumo que las OBS del GC, situación que pudo deberse a posibles alteraciones en la transferencia de información. Mientras que el GC tuvo un consumo similar de ambos sabores, en cantidades menores que sus DEM.

Los datos obtenidos tienen sustento en estudios previos del grupo y otros donde se observa que los animales con DPN muestran hiperactividad, su capacidad para explorar es deficiente y son hiperemotivos, es decir, responden mucho al estrés, cuestión que se observa por el incremento en la orina y heces depositadas en el piso. Asimismo, muestran incrementos significativos en los niveles plasmáticos de glucocorticoides (Fraňková y Barnes, 1968; Bhatnagar et al., 2005). Por su misma hiperactividad durante la primera prueba de campo abierto, los sujetos exploran poco o se quedan inmóviles en los cuadros de la orilla del campo. Pero a partir de la segunda y hasta la cuarta sesión de las pruebas pasaron a los cuadros centrales del campo, sin ninguna precaución ni temor, comparados con sus testigos que son más cautos en sus movimientos (Salas y Cintra, 1979; Guzmán, 2011).

Como se observó en los resultados, inicialmente los animales mostraron su neofobia al ingerir con cautela los sabores novedosos y poco dañinos (cocoa y canela), probando e ingiriendo una pequeña cantidad de ambas dietas ofrecidas. En las siguientes exposiciones incrementaron su consumo, después de aprender que el alimento era seguro para consumirse. Así clasificaron las dietas novedosas como alimentos seguros y familiares. Cuando se ingiere un alimento novedoso neutro como la canela o medianamente aversivo como la cocoa se asocia con sensaciones orales preferentes que tienen consecuencias postingestivas positivas, el alimento se hace hedónicamente positivo y preferido (preferencia condicionada al sabor o preferencia condicionada al olor respectivamente).

Todos los patrones alimentarios están íntimamente controlados por mecanismos cerebrales de recompensa alimentaria, ya sea que estos mecanismos operen de forma normal o anormal. El “gusto” puede ser el principal determinante para el normal y el excesivo consumo de recompensas; los estímulos dulces (como la canela) generan placer que llega al cerebro y es transformado en sensaciones gustativas. El placer no está contenido en los

detalles intrínsecos de la sensación al consumir los alimentos, sino que depende de la capacidad que tienen de actuar como activadores de los sistemas gustativos cerebrales. Los sabores amargos (como la cocoa) activan sistemas de aversión y disgusto, pero hay alimentos o sabores que pueden volverse placenteros para muchos individuos cuando la experiencia los hace desencadenantes de los sistemas cerebrales hedónicos. El placer puede ser traducido a motivación o “querer” con el fin de obtener recompensas alimentarias, a una conducta apetitiva, aunque la motivación por alimentarse involucra mecanismos cerebrales propios (Peciña et al., 2006; Berridge, 2009).

Una característica fundamental del tejido cerebral es su capacidad para integrar las señales sensoriales que viajan codificadas como patrones específicos organizados en el espacio y tiempo a lo largo de las vías y los relevos sensoriales (Purves et al., 2006). De esta integración emergen los procesos neuronales plásticos que en ruta hacia la corteza cerebral, son la base funcional de fenómenos fisiológicos como las impresiones, sensaciones, percepciones y emociones (Houssay et al., 1974). La capacidad de integración del cerebro se fundamenta en procesos funcionales básicos que gradualmente van sucediéndose en los cúmulos neuronales a lo largo de vías sensoriales. Dentro de estos procesos destacan fenómenos como la convergencia y divergencia de las vías aferentes, la oclusión, facilitación, inhibición, potenciación y depresión post tetánicas, etc., (Houssay et al., 1974; Brodal, 2010). De esta forma, las neuronas sensoriales gustativas podrían estar “moduladas” específicamente para responder con un cambio máximo en los potenciales de acción provocados por un estímulo gustativo. Al parecer, esta modulación se establece sobre la especificidad en el nivel de activación de las células receptoras, y sobre la base estructural de rutas separadas para la transmisión de la información desde los receptores periféricos hasta el encéfalo (codificación de línea marcada) (Purves et al., 2006).

Una característica común de los estudios anatómicos de morfometría neuronal realizados en sujetos desnutridos o malnutridos por diferentes procedimientos, es el empobrecimiento neuronal (hipoplasia) en diferentes áreas de la esfera sensorial (Howard y Granoff, 1968; Cragg, 1972, Salas et al., 1974). De particular interés son los efectos de hipotrofia de las ramas de los árboles dendríticos y sus espinas, que afectan más a las dendritas distales comparadas con las proximales (Salas et al., 1974; Escobar y Salas, 1995; Rubio et al., 2004) Los estudios sobre los efectos neuronales durante el aprendizaje tanto en animales en desarrollo como en los adultos, o bien por la exposición a los ambientes enriquecidos en estímulos sensoriales, por el masaje corporal o el exceso de estimulación táctil han mostrado incrementos en el número de ramas distales y de las espinas dendríticas que son estructuras receptoras de mensajes sensoriales (Rosenzweigh et al., 1969; Schapiro y Vukovich, 1970; Rosenzweigh y Bennett, 1996). La conclusión de estos estudios es que los fenómenos de plasticidad neuronal con cambios estructurales en los árboles dendríticos, ocurren sobre todo en las partes distales de esas ramificaciones. El hecho de que la desnutrición temprana deteriore la región donde se dan los cambios estructurales de la plasticidad neuronal es significativo, ya que puede anticiparse un deterioro de la capacidad plástica para la integración aferente tanto en la corteza cerebral como en estructuras cerebrales subcorticales que empobrecen los fenómenos de integración neuronal en distintos niveles del SNC.

Por otra parte, estudios de electrofisiología recientes realizados en las dendritas apicales de neuronas piramidales de las capas 2 y 3 del hipocampo han mostrado que cuando se estimula eléctricamente la parte distal o la parte proximal, y se registra en el soma neuronal la amplitud de los potenciales promedio, éstos se reducen o se aumentan respectivamente. Esto indica que dependiendo del sitio de estimulación de los árboles dendríticos se modificará de manera diferente el potencial de acción generado en el soma neuronal. Por esta razón, si la desnutrición afecta las partes distales de las dendritas

entonces se tratará de dendritas pequeñas y el tipo de descargas transmitidas por los axones variarán, y con ello la calidad y el tipo de mensaje transmitido a las neuronas con las que se conectan (Sourd et al., 1999; Golding et al., 2002; Froemke et al., 2007). Sin embargo, será necesaria mayor investigación acerca de la interacción e integración neuronal en diferentes estructuras del SNC, para intentar analizar los procesos de la comunicación neuronal de tipo cognitiva bajo diferentes condiciones fisiológicas, edades y estados nutricionales.

Este estudio tuvo la limitación de que las pruebas de preferencia al sabor se realizaron durante las mañanas (y las ratas son animales nocturnos), la introducción a cajas nuevas para experimentación genera estrés en los animales, no se realizaron pruebas cruzadas (CNT-DES, DES-CNT) y sólo se analizaron ratas macho en la etapa juvenil. Sin embargo, aún con estas limitantes el estudio aporta hallazgos relevantes, para tratar de entender los mecanismos que controlan la ingesta del alimento en las especies altriciales como es el caso del ser humano.

## VII. CONCLUSIONES

Los hallazgos sugieren que la DPN afectó el peso de las crías neonatas, y en la adolescencia a los distintos componentes de la conducta apetitiva. De acuerdo a los resultados del presente estudio, en cuanto a las variables medidas de conducta (acercamiento y husmeo de las dietas, y latencia de inicio de ingesta) en las ratas DEM no se encontraron diferencias significativas entre el GC y el GD.

En la prueba de observación de las ratas OBS sí se encontraron diferencias significativas entre el GC y el GD en dos de las tres variables que se evaluaron. Durante la interacción social el GD tuvo mayor contacto con cabezas e ingesta de fragmentos de alimento de sus DEM. Por lo tanto, se sugiere que la DPN interfiere con la capacidad social para transferir y recibir la información de preferencia al sabor de un congénere.

Los hallazgos de este estudio tienen sustento en estudios previos del grupo y de otros colegas en donde se observa que los animales con DPN tienden a ser hiperactivos, su capacidad para explorar es deficiente y además son hiperemotivos, es decir, tienen respuesta exageradas ante diferentes tipos de estrés, lo cual pudiera interferir con la ingesta de alimento.

Por lo tanto, la DPN afecta el funcionamiento y desarrollo cerebral, lo cual tiene efectos sobre los procesos cognitivos a largo plazo como en la etapa de la adolescencia.

Los resultados presentados en este trabajo corresponden a ratas jóvenes, quienes ya tuvieron una recuperación de la DPN pero sin llegar al 100%, por lo mismo, se esperaría que en la vida adulta estos resultados fueran similares ya que los procesos cognitivos relacionados con la ingesta de alimento también podrían estar dañados en esa etapa.

Se requieren estudios adicionales sobre conducta apetitiva y transferencia de información con sabores específicos en ratas desnutridas para obtener más resultados concluyentes. Esto permitirá identificar posibles mecanismos acerca de las repercusiones de la DPN en la función cerebral de los seres humanos.

## LITERATURA CITADA

- Abbasi, A. A. 1981. Diabetes: diagnostic and therapeutic significance of taste impairment. *Geriatrics*. 36: 73-78.
- Ables, E. M. Kay, L. M. Mateo, J. M. 2007. Rat assess degree of relatedness from human odors. *Physiol Behav*. 90: 667-680.
- Alsö, J. Olszewski, P. K. Levine, A. S. Schiöth, H. B. 2012. Feed-forward mechanisms: addiction-like behavioral and molecular adaptations in overeating. *Front Neuroendocrinol*. 33: 127-139.
- Andreollo, N. A. Dos Santos, E. F. Araújo, M. R. Lopes, L. R. 2012. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig*. 25: 49-51.
- Bahar, A. Dudai, Y. Ahissar, E. 2004. Neural signature of taste familiarity in the gustatory cortex of the freely behaving rat. *J Neurophysiol*. 92: 3298-3308.
- Barker, D. J. 2004. Developmental origins of adult health and disease. *J Epidemiol Community Health*. 58: 114-115.
- Barnett, S. A. (Ed.) 1963. Feeding behavior. *En: The Rat: a study in behaviour*. Aldine. p 34-53 y 67. Chicago, United States of America.
- Beard, J. L. Connor, J. R. 2003. Iron status and neural functioning. *Annu Rev Nutr*. 23: 41-58.
- Berridge, K. C. 2009. 'Liking' and 'wanting' food rewards: brain substrates and roles in eating disorders. *Physiol Behav*. 97: 537-550.
- Bhatnagar, S. Lee, T. M. Vining, C. 2005. Prenatal stress differentially affects habituation of corticosterone responses to repeated stress in adult male and female rats. *Horm Behav*. 47: 430-438.
- Brodal, P. (Ed.) 2010. Olfaction and Taste. *En: The central nervous system. Structure and function*. (4<sup>th</sup> Ed). Oxford University Press. p 266 y 267. New York, United States of America.
- Bures, J. Bermudez-Rattoni, F. Yamamoto, T. 1998. Conditioned taste aversion: memory of a special kind. New York: Oxford University Press.
- Carreón, M. Torrero, C. Rubio-Navarro, L. Guzmán, A. Salas, M. 2011. Efectos de la desnutrición perinatal sobre el desarrollo de las papilas gustativas de la rata Wistar. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. México.

- Carreón, M. G. Torrero, C. Regalado, M. Rubio, L. Salas, M. 2012. Olfactory discrimination in adult male rats undernourished during the pre- and neonatal period. *J Brain Behav Sci.* 2: 283-290.
- Conboy, V. Santer, R. Swift, L. 1986. Effects of prenatal undernutrition on prevertebral sympathetic neurons in the rat: a morphological and fluorescence histochemical study. *J Anat.* 154: 47-53.
- CONEVAL. 2010. Medición de pobreza 2010. Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social. Consultado en 2011. [http://internet.coneval.gob.mx/Informes/Interactivo/interactivo\\_nacional.swf](http://internet.coneval.gob.mx/Informes/Interactivo/interactivo_nacional.swf)
- Contreras, M. Ceric, F. Torrealba, F. 2008. El lado negativo de las emociones: La adicción a drogas de abuso. *Rev Neurol.* 47: 471-476.
- Cragg, B. G. 1972. The development of cortical synapses during starvation in the rat. *Brain.* 95: 143-150.
- Craig, A. D. 2002. How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nat Rev Neurosci.* 3: 655-666.
- Cravioto, J. Robles, B. 1965. Evolution of adaptive and motor behavior during rehabilitation from kwashiorkor. *Amer J Orthopsychiat.* 35: 449-464.
- Cromwell, H. C. Berridge, K. C. 1993. Where does damage lead to enhanced food aversion: the ventral pallidum/substantia innominata or lateral hypothalamus? *Brain Res.* 624: 1-10.
- Davidson, H. I. M. Pattison, R. M. Richardson, R. A. 1998. Clinical undernutrition states and their influence on taste. *Proc Nutr Soc.* 57: 633-638.
- Debassio, W. Kemper, T. Tonkis, J. Galler, J. 1996. Effect of prenatal protein deprivation on postnatal granule cell generation in the hippocampal dentate gyrus. *Brain Res Bull.* 41: 379-383.
- De Araujo, I. E. T. Rolls, E. T. Kringelbach, M. L. McGlone, F. Phillips, N. 2003. Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *Eur J Neurosci.* 18: 2059-2068.
- De Campos, K. E. Sinzato, Y. K. De Paula, P. W. Rudge, M. V. C. Damasceno, D. C. 2007. Effect of maternal obesity on diabetes development in adult rat offspring. *Life Sci.* 81: 1473-1478.

- De la Cruz, V. Rodriguez-Ortiz, C. J. Balderas, I. Bermudez-Rattoni, F. 2008. Medial temporal lobe structures participated differentially in consolidation of safe and aversive taste memories. *Eur J Neurosci.* 28: 1377-1381.
- Dobbing, J. 1972. Vulnerable period of brain development. *En: K. Elliott, J. Knight (Ed.) Lipids, malnutrition and the developing brain.* Elsevier/Excerpta Medica. p 9-29. Amsterdam, Holland.
- El-Sharaby, A. Ueda, K. Wakisaka, S. 2001. Development and maturation of taste buds of the palatal epithelium of the rat: histological and immunohistochemical study. *Anat Rec.* 263: 260-268.
- Escobar, C. Salas, M. 1993. Neonatal undernutrition and amygdaloid nuclear complex development. An experimental study in the rat. *Exp Neurol.* 122: 311-318.
- Escobar, C. Salas, M. 1995. Dendritic branching of claustral neurons in neonatally undernourished rats. *Biol Neonate.* 68: 47-54.
- Escobar, B. C. Aguilar, R. R. A. (Ed.) 2002. ¿Qué son las conductas motivadas? Una breve historia. *En: Motivación y conducta: sus bases biológicas. El Manual Moderno.* p 2. Distrito Federal, México.
- Frañková, S. Barnes, R. H. 1968. Influence of malnutrition in early life on exploratory behavior of rats. *J Nutr.* 96: 477-484.
- Frías, C. Torrero, C. Regalado, M. Salas, M. 2006. Organization of olfactory glomeruli in neonatally undernourished rats. *Nutr Neurosci.* 9: 49-55.
- Frías, C. Torrero, C. Regalado, M. Salas, M. 2009. Development of mitral cells and olfactory bulb layers in neonatally undernourished rats. *Nutr Neurosci.* 12: 96-104.
- Froemke, R. C. Merzenich, M. M. Schreiner, C. E. 2007. A synaptic memory trace for cortical receptive field plasticity. *Nature.* 450: 425-429.
- Fu, W. Sugai, T. Yoshimura, H. Onoda, N. 2004. Convergence of olfactory and gustatory connections onto the endopiriform nucleus in the rat. *Neuroscience.* 126: 1033-1041.
- Galef, B. G. Jr. 1981. Development of flavor preference in man and animals: the role of social and nonsocial factors. *Development of Perception.* 1: 411-431.
- Galef, B. G. Jr. 2001. Social influences on food choices of Norway rats and mate choices of Japanese quail. *Int J Comp Psychol.* 14: 1-24.

- Galef, B. G. Jr. 2002. Social learning of food preferences in rodents: rapid appetitive learning. *Curr Protocol Neurosci Suppl.* 21: 8.5 D.1-8.5 D.7.
- Galef, B. G. Jr. Clark, M. M. 1971. Parent-offspring interactions determine time and place of first ingestion of solid food by wild rat pups. *Psychonom Sci.* 25: 15-16.
- Galef, B. G. Jr. Clark, M. M. 1972. Mother's milk and adult presence: two factors determining initial dietary selection by weanling rats. *J Comp Physiol Psychol.* 78: 220-225.
- Galef, B. G. Jr. Dudley, K. E. Whiskin, E. E. 2007. Social learning of food preferences in "dissatisfied" an "uncertain" Norway rats. *Anim Behav.* 75: 631-637.
- Galef, B. G. Jr. Heiber, L. 1976. The role of residual olfactory cues in the determination of feeding site selection and exploration patterns of domestic rats. *J Comp Physiol Psychol.* 90: 727-739.
- Galef, B. G. Jr. Henderson, P. W. 1972. Mother's milk: a determinant of the feeding preferences of weaning rat pups. *J Comp Physiol Psychol.* 78: 213-219.
- Galef, B. G. Jr. Jeimy, S. 2004. Ultrasonic vocalizations and social learning of food preferences by female Norway rats. *Anim Behav.* 68: 483-487.
- Galef, B. G. Jr. Mason, J. R. Preti, G. Bean, N. J. 1988. Carbon disulfide: a semiochemical mediating socially-induced diet choice in rats. *Physiol Behav.* 42: 119-124.
- Galef, B. G. Jr. Stein, M. 1985. Demonstrator influence on observer diet preference: analysis of critical social interactions and olfactory signals. *Animal Learning & Behavior.* 13: 31-38.
- Galef, B. G. Jr. Wigmore, S. W. 1983. Transfer of information concerning distant foods: a laboratory investigation of the "information-centre" hypothesis. *Anim Behav.* 31: 748-758.
- Ganchrow, J.R. Steiner, J. E. Canetto, S. 1986. Behavioral displays to gustatory stimuli in newborn rat pups. *Dev Psychobiol.* 19: 163-174.
- García, J. Hankins, W.G. Rusiniak, K.W. 1974. Behavioral regulations of the milieu interne in man and rat. *Science.* 185: 824-831.
- Geisler, H. C. Westerga, A. Gramsbergen, A. 1996. The function of the long back muscles during postural development in the rat. *Behav Brain Res.* 80: 211-215.

- Golding, N. L. Staff, N. P. Spruston, N. 2002. Dendritic spikes as a mechanism for cooperative long-term potentiation. *Nature*. 418: 326-331.
- González, A. 2003. Efectos de la desnutrición prenatal y postnatal y de la estimulación sensorial temprana sobre el desarrollo de la conducta maternal de la rata. Tesis de Licenciatura UVM. Querétaro, México.
- Grundy, S. Brewer Jr, H. B. Cleeman, J. Smith Jr, S. Lenfant, C. 2004. Definition of metabolic syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation*. 109: 433-438.
- Gutiérrez, J. P. Rivera-Dommarco, J. Shamah-Levy, T. Rojas, R. Villalpando-Hernández, S. Franco, A. Cuevas-Nasu, L. Romero-Martínez, M. Hernández-Ávila, M. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Instituto Nacional de Salud Pública. Consultado en 2013. [http://ensanut.insp.mx/doctos/ENSANUT2012\\_PresentacionOficialCorta\\_09Nov2012.pdf](http://ensanut.insp.mx/doctos/ENSANUT2012_PresentacionOficialCorta_09Nov2012.pdf)
- Gutiérrez, R. Téllez, L. A. Bermudez-Rattoni, F. 2003. Blockade of cortical muscarinic but not NMDA receptors prevents a novel taste from becoming familiar. *Eur J Neurosci*. 17: 1556-1562.
- Guzmán, A. A. 2011. Efectos de la privación pre y neonatal de alimento en ratas juveniles sobre la expresión de la conducta exploratoria social. Tesis de Licenciatura UNIVA. Querétaro, México.
- Gwee, M. C. Sim, M. K. 1978. Free choline concentration and cephalin-N-methyltransferase activity in the maternal and foetal liver and placenta of pregnant rats. *Clin Exper Pharmacol Physiol*. 5: 649-653.
- Harada, S. Yamaguchi, K. Kanemaru, N. Kasahara, Y. 2000. Maturation of taste buds on the soft palate of the postnatal rat. *Physiol Behav*. 68: 333-339.
- Hepper, P. G. 1988. Adaptative fetal learning: prenatal exposure to garlic affects postnatal preference. *Anim Behav*. 36: 935-936.
- Hermann, G. E. Rogers, R. C. 1985. Convergence of vagal and gustatory afferent input within the parabrachial nucleus of the rat. *J Auton Nerv Syst*. 13: 1-17.
- Heyes, C. M. Durlach, P. J. 1990. "Social blockade" of taste aversion learning Norway rats (*R. norvegicus*): is it a social phenomenon?. *J Comp Psychol*. 104: 82-87.

- Houssay, B. A. Caldeyro-Barcia, R. Covian, M. R. Fasciolo, J. C. Foglia, V. G. Houssa, A. B. Hug, E. Leloir, L. F. Lewis, J. T. De Soldati, L. (Ed.) 1974. Sistema Nervioso. *En: Fisiología Humana*. El Ateneo. p 1185-1201. Buenos Aires, Argentina.
- Howard, E. Granoff, D. M. 1968. Effect of neonatal food restriction in mice on brain growth DNA and cholesterol and adult delayed response learning. *J Nutr.* 95: 111-121.
- Hudson, R. Distel, H. 1999. The flavor of life: perinatal development of odor and taste preferences. *Schweiz Med Wochenschr.* 129: 176-81.
- Jaenisch, R. Bird, A. 2003. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet.* 33: 245-254.
- Karmarkar, U. R. Dan, Y. 2006. Experience-dependent plasticity in adult visual cortex. *Neuron.* 52: 577-585.
- Khan, N. A. Besnard, P. 2009. Oro-sensory perception of dietary lipids: New insights into the fat taste transduction. *Biochim Biophys Acta.* 1791: 149-155.
- Koenig, J. L. Kirkpatrick, B. Lee, P. 2002. Glucocorticoid hormones and early brain development in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 27: 309-318.
- Laland, K. N. Plotkin, H. C. 1993. Social transmission of food preferences among Norway rats by marking of food sites and by gustatory contact. *Anim Learn Behav.* 21: 35-41.
- Lawson, W. B. Zeidler, A. Rubenstein, A. 1979. Taste detection and preference in diabetics and their relatives. *Psychosom Med.* 41: 219-227.
- Lester, B. M. Klein, R. E. Martinez, S. J. 1975. The use of habituation in the study of the effects on infantile malnutrition. *Dev Psychobiol.* 8: 541-546.
- Lemon, C. H. Smith, D. V. 2006. Influence of response variability on the coding performance of central gustatory neurons. *J Neurosci.* 26: 7433-7443.
- Lemon, C. H. Katz, D. B. 2007. The neural processing of taste. *BMC Neuroscience.* 8 (Suppl 3): S5.
- Levitsky, D. A. Barnes, R. H. 1970. Effect of early malnutrition on the reaction of adult rats to aversive stimuli. *Nature.* 225: 468-469.
- Lieber, C. S. Robins, S. J. Li, J. DeCarli L. M. Mak, K. M. Fasulo, J. M. Leo M. A. 1994. Phosphatidylcholine protects against fibrosis and cirrhosis in the baboon. *Gastroenterology.* 106: 152-159.

- Londei, T. Calci, M. Leone, V. G. 1988. First experiences with solid food by mouse pups: effects of age and the presence of the mother. *Boll Zool.* 55: 155-159.
- Loranca, A. Torrero, C. Salas, M. 1999. Development of play behavior in neonatally undernourished rats. *Physiol Behav.* 66: 3-10.
- Lozoff, B. Georgieff, M. K. 2006. Iron deficiency and brain development. *Semin Pediatr Neurol.* 13: 158-165.
- Lukowski, A. F. Koss, M. Burden, M. J. Jonides, J. Nelson, C. A. Kaciroti, N. Jimenez, E. Losoff, B. 2010. Iron deficiency in infancy and neurocognitive functioning at 19 years: evidence of long-term deficits in executive function and recognition memory. *Nutr Neurosci.* 13: 54-70.
- Lundy, Jr. R. E. 2008. Gustatory hedonic value: potential function for forebrain control of brainstem taste processing. *Neurosci Biobehav Rev.* 32: 1601-1606.
- Martin, L. T. Alberts, J. R. 1979. Taste aversions to mother's milk: the age-related role of nursing in acquisition and expression of a learned association. *J Comp Physiol Psychol.* 93: 430-445.
- Melgar, I. 2009. La crisis de los pobres. *Periódico Excelsior*. Consultado en 2011. <http://www.selecciondeprensa.com/print.php?session=0&module=ImprimirCompleto&titular=46810>
- Miranda, S. M. 2012. Comiendo compulsivamente: algunas teorías para explicar por qué “no puedes comer sólo una”. *Revista Digital Universitaria.* 13: 1-12.
- Moles, A. D'amato, F. R. 2000. Ultrasonic vocalization by female mice in the presence of a conspecific carrying food cues. *Anim Behav.* 60: 689-694.
- Morgane, P. J. Austin-La France, R. J. Bronzino, J. D. Tonkiss, J. Galler, J. R. 1993. Malnutrition and the developing central nervous system. *En: R. L. Issacson, K. F. Jensen (Ed.) The vulnerable brain and environmental risks.* Plenum Press. p 3-43. New York, United States of America.
- Morgane, P. J. Mokler, D. J. 2006. The limbic brain: continuing resolution. *Neurosci Biobehav Rev.* 30: 119-125.
- Moriceau, S. Sullivan, R. M. 2006. Maternal presence serves as a switch between learning fear and attraction in infancy. *Nat Neurosci.* 9: 1004–1006.
- Morrison, C. D. Berthoud, H. R. 2007. Neurobiology of nutrition and obesity. *Nutr Rev.* 65: 517-534.

- Nandy, S. Irving, M. Gordon, D. Subramanian, S. V. Davey Smith, G. 2005. Poverty, child undernutrition and morbidity: new evidence from India. *Bulletin of the World Health Organization*. 83: 210-216.
- Newberne, P. M. Rogers, A. E. 1986. Labile methyl groups and the promotion of cancer. *Ann Rev Nutr*. 6: 407-432.
- Nicolaous, L. K. Cassci, J. F. Carlson, B. Gustavson, C. R. 1983. Taste-aversion conditioning of crows to control predation on eggs. *Science*. 220: 212-214.
- Nieuwenhuys, R. Ten Donkelaar, H. J. Nicholson, C. (Ed.) 1998. *The central nervous system of vertebrates*. Springer. Vol 3 p 1896. Berlin, Germany.
- NIH. 2011. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. (8<sup>th</sup> Ed). National Institutes of Health. The National Academies Press. United States of America. Consultado en 2012. <http://grants.nih.gov/grants/olaw/Guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>
- Nishijo, H. Uwano, T. Tamura, R. Ono, T. 1998. Gustatory and multimodal neuronal responses in the amygdala during licking and discrimination of sensory stimuli in awake rats. *J Neurophysiol*. 79: 21-36.
- NOM-008. 2010. Norma oficial mexicana NOM-008-SSA3-2010, Para el manejo integral del sobrepeso y la obesidad. Definiciones. Secretaría de Salud. México. Consultado en 2011. [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5154226&fecha=04/08/2010](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5154226&fecha=04/08/2010)
- NOM-043. 2012. Norma oficial mexicana NOM-043-SSA2-2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. Definiciones. Secretaría de Salud. México. Consultado en 2013. [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5285372&fecha=22/01/2013](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5285372&fecha=22/01/2013)
- Nyakas, C. Endroczi, E. 1970. Olfaction-guided approaching behavior of infantile pups to the mother in a maze box. *Acta Physica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 38: 59-65.
- OECD. 2010. *La obesidad y la economía de la prevención*. Organization for Economic Co-operation and Development. Consultado en 2011. <http://www.oecd.org/dataoecd/49/29/46077041.pdf>
- Owens, S. Fall, C. H. 2008. Consequences of poor maternal micronutrition before and during early pregnancy. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 102: 103-104.

- Peciña, S. Smith, K. S. Berridge, K. C. 2006. Hedonic hot spots in the brain. *Neuroscientist*. 12: 500-511.
- Pérez-Torrero, E. Torrero, C. Salas, M. 2001. Effects of perinatal undernourishment on neuronal development of the facial motor nucleus in the rat. *Brain Res*. 905: 54-62.
- Pérez-Torrero, E. Torrero, C. Collado, P. Salas, M. 2003. A paradigm of undernourishing and neonatal rehabilitation in the newborn rat. *Nutr Neurosci*. 6: 113-115.
- Pletnicov, M. V. Storozheva, Z. I. Sherstnev, V. V. 1995. Developmental analysis of habituation of the acoustic startle response in the preweanling and adult rats. *Behavioural Processes*. 34: 269-278.
- Purina. 2012. Rodent Laboratory Chow 5001. Nutrimentos Purina. Consultado en 2012.  
[https://www.nutrimentospurina.com/archivos\\_aplicaciones/files\\_fkceditor/file/LabChows/5001.pdf](https://www.nutrimentospurina.com/archivos_aplicaciones/files_fkceditor/file/LabChows/5001.pdf).
- Purves, D. Augustine, G. J. Fitzpatrick, D. Hall, W. C. Lamantia, A. S. McNamara, J. O. Williams, S. M. (Ed.) 2006. *En: Neurociencia*. (3a Ed). Editorial Médica Panamericana. p 369. Buenos Aires, Argentina.
- Ricardo, J. Tongju-Koh, E. 1978. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Res*. 153: 1-26.
- Richardson, A. J. Ross, M. A. 2000. Fatty acid metabolism in neurodevelopmental disorder: a new perspective on associations between attention deficit/hyperactivity disorder, dyslexia, dyspraxia and the autistic spectrum. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 63: 1-9.
- Rodriguez-Ortiz, C. J. De la Cruz, V. Gutiérrez, R. Bermudez-Rattoni, F. 2005. Protein synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when update information is obtained. *Learn Mem*. 12: 533-537.
- Rolls, E. T. 2005. Taste, olfactory, and food texture processing in the brain, and the control of food intake. *Physiol Behav*. 85: 45-56.
- Rosenzweig, M. R. Bennett, E. L. 1996. Psychobiology of plasticity: Effects of training experience on brain and behavior. *Behav Brain Res*. 78: 57-65.
- Rosenzweig, M. R. Bennett, E. L. Diamond, M. C. Wu, S. Slage, R. W. Saffran, E. 1969. Influences on environment complexity and visual stimulation on development of occipital cortex. *Brain Res*. 14: 427-445.

- Roy, S. Kale, A. Dangat, K. Sable, P. Kulkarni, A. Joshi, S. 2012. Maternal micronutrients (folic acid and vitamin B12) and omega 3 fatty acids: implications for neurodevelopmental risk in the rat offspring. *Brain Dev.* 34: 64-71.
- Rubio, L. Torrero, C. Regalado, M. Salas, M. 2004. Alterations in the solitary tract nucleus of the rat following perinatal food restriction and subsequent nutritional rehabilitation. *Nutr Neurosci.* 7: 291-300.
- Rubio-Navarro, L. Torrero, C. Salas M. 2011. Basic brainstem taste responsivity: effects of perinatal influences. *E Neurobiología.* 2: 1-22.
- Ruiz-Díaz, M. Torrero, C. Regalado, M. Salas, M. 2010. Perinatal undernourishment and handling: effects on olfactory discrimination in the newborn rat. *Nutr Neurosci.* 13: 1-8.
- Salas, M. Cintra, L. 1979. Influence of early food restriction on the responsiveness to novel stimuli in adult rats. *Bol Estud Med Biol Méx.* 30: 201-204.
- Salas, M. Díaz, S. Nieto, A. 1974. Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res.* 73: 139-144.
- Salas, M. Pulido, S. Torrero, C. Regalado, M. Loranca A. 1995. Hair growth in neonatally undernourished rats. *Bol Estud Med Biol Méx.* 43: 13-18.
- Salas, A. M. Torrero, S. C. Regalado, O. M. El juego y otras conductas en la ontogenia temprana. *En: Motivación y conducta: sus bases biológicas.* (Escobar, B. C. Aguilar, R. R. A). *El Manual Moderno.* México. 2002: 363.
- Salas, M. Torrero, C. Regalado, M. Rubio, L. 2012a. Development of the gusto facial reflex in perinatally undernourished rats. *Journal of Behavioral and Brain Science.* 3: 308-314.
- Salas, M. Torrero, C. Rubio, L. Regalado, M. 2012b. Effects of perinatal undernutrition on the development of neurons in the rat insular cortex. *Nutr Neurosci.* 15: 20-25.
- Schapiro, S. Vukovich, K. 1970. Early experience effects upon cortical dendrites: a proposed model for development. *Science.* 167: 292-294.
- Schelling, J. L. Tetreault, L. Lasagna, L. Davis, M. 1965. Abnormal taste threshold in diabetes. *Lancet.* 1: 508-512.
- Sclafani, A. 1995. Basic mechanisms of food preference and liking. How food preferences are learned: laboratory animals. *Proc Nutr Soc.* 54: 419-427.

- Scott, T. R. Perrotto, R. S. 1980. Intensity coding in pontine taste area: gustatory information is processed similarly throughout rat's brain stem. *J Neurophysiol.* 44: 739-750.
- Settle, R. G. 1981. Suprathreshold glucose and fructose sensitivity in individuals with different family histories on non insuline-dependent diabetes mellitus. *Chem Senses.* 6: 435-443.
- Settle, R. G. 1991. The chemical senses in diabetes mellitus. *En: T. V. Getchell, L. M. Bartoshuk, R. L. Doty, J. B. Snow (Ed.) Smell and taste in health and disease.* Raven Press. p 829-844. New York, United States of America.
- Sewards, T. V. 2004. Dual separate pathways for sensory and hedonic aspects of taste. *Brain Res Bull.* 62: 271-283.
- Shimozuru, M. Kikusui, Y. Takeuchi, Y. Mori, Y. 2007. Discrimination of individuals by odor in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*. *Zoolog Sci.* 24: 427-433.
- Shimura, T. Imaoka, H. Okazaki, Y. Kanamori, Y. Fushiki, T. Yamamoto, T. 2005. Involvement of the mesolimbic system in palatability-induced ingestion. *Chem Senses.* 30: 188-189.
- Shipley, M. T. Geinisman, Y. 1984. Anatomical evidence for convergence of olfactory, gustatory, and visceral afferent pathways in mouse cerebral cortex. *Brain Res Bull.* 12: 221-226.
- Small, D. M. Prescott, J. 2005. Odor/taste integration and the perception of flavor. *Exp Brain Res.* 166: 345-357.
- Smith, K. S. Tindell, A. J. Aldridge, J. W. Berridge, K. C. 2009. Ventral pallidum roles in reward and motivation. *Behav Brain Res.* 196: 155-167.
- Sorensen, L. B. Moller, P. Flint, A. Martens, M. Raben, A. 2003. Effect of sensory perception of foods on appetite and food intake: a review of studies on humans. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 27: 1152-1166.
- Soriano, O. Regalado, M. Torrero, C. Salas, M. 2006. Contribution of undernutrition and handling to huddling development of rats. *Physiol Behav.* 89: 543-551.
- Sourdet, V. Debanne, D. 1999. The role of dendritic filtering in associative long-term synaptic plasticity. *Learn Mem.* 6: 422-447.
- Stapleton, J. R. Levine, M. L. Wolpert, R. L. Nicolelis, M. A. Simon, S. A. 2006. Rapid taste response in the gustatory cortex of the rat. *J Neurosci.* 26: 4126-4138.

- Steiner, J. E. Glaser, D. Hawilo, M. E. 2001. Comparative expression of hedonic impact: affective reactions to taste by human infants and other primates. *Neurosci Biobehav Rev.* 75: 53-74.
- Sugai, T. Yoshimura, H. Onoda, N. 2005. Functional reciprocal connections between olfactory and gustatory pathways. *Chem Senses.* 30: 166-167.
- Sullivan, R. M. Wilson, D. A. Wong, R. Correa, A. Leon, M. 1990. Modified behavioral and olfactory bulb responses to maternal odors in preweanling rats. *Brain Res.* 53: 243-247.
- Sullivan, R. M. 2005. Developmental changes in olfactory behavior and limbic circuitry. *Chem Senses.* 30: i152-i153.
- Teicher, M. H. Blass, E. M. 1977. First suckling response of the newborn albino rat: the roles of olfaction and amniotic fluid. *Science.* 198: 635-636.
- Téllez, C. 2010. México, primer lugar mundial en obesidad infantil; modificará el DIF dieta de desayunos; CCE se compromete a poner en letras grandes contenido nutrimental. *La Crónica de Hoy.* Consultado en 2011. [http://www.cronica.com.mx/nota.php?id\\_nota=483571](http://www.cronica.com.mx/nota.php?id_nota=483571)
- Thompson, R. F. 2005. In search of memory traces. *Annu Rev Psychol.* 56: 1-23.
- Tonkiss, J. Bonnie, K. E, Hudson, J. L. Shultz, P. L. Duran, P. Galler, J. R. 2003. Ultrasonic calls characteristics of rat pups are altered following prenatal malnutrition. *Dev Psychobiol.* 43: 90-101.
- Tokita, K. Inoue, T. Boughter, J. R. 2009. Afferent connections of the parabrachial nucleus in C57BL/6J mice. *Neuroscience.* 161: 475-488.
- Torrero, C. Regalado, M. Salas, M. 2008. Restricción pre y neonatal de alimento: efectos sobre el desarrollo neuronal del núcleo parabraquial en la rata. XV Jornadas del Instituto de Neurobiología.
- Turner, C. A. Lewis, M. H. King, M. A. 2003. Environmental enrichment: Effects on stereotyped behavior and dendritic morphology. *Dev Psychobiol.* 43: 20-27.
- USDA. 2012a. United States Department of Agriculture. Nutrient data for 02010, Spices, cinnamon, ground. National Nutrient Database for Standard Reference. Nutrient Data Laboratory. Consultado en 2012. <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/229>
- USDA. 2012b. United States Department of Agriculture. Nutrient data for 19171, dry power, unsweetened, HERSHEY'S European Style Cocoa. National Nutrient

Database for Standard Reference. Nutrient Data Laboratory. Consultado en 2012.  
<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/6044>

Vieau, D. Sebaai, N. Léonhardt, M. Dutriez-Casteloot, I. Molendi-Coste, O. Laborie, C. Breton, C. Deloof, S. Lesage, J. 2007. HPA axis programming by maternal undernutrition in the male rat offspring. *Psychoneuroendocrinology*. 32: S16-S20.

Volkow, N. D. Wang, G. J. Fowler, J. S. Tomasi, D. Baler, R. 2012. Food and drug reward: overlapping circuits in human obesity and addiction. *Curr Top Behav Neurosci*. 11: 1-24.

Waterland, R. A. Jirtle, R. L. 2004. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition*. 20: 63-68.

Watson, C. Kirkcaldie, M. Paxinos, G. 2010. Gathering information-the sensory systems. In: C. Watson, M. Kirkcaldie, G. Paxinos (Ed.) *En: The brain, an introduction to functional neuroanatomy*. Elsevier Inc. p 93 y 94. Beijing, China.

Wells, J. C. 2003. The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother?. *J Theor Biol*. 221: 143-161.

WHO. 2012. Water sanitation health, water-related diseases. World Health Organization. Consultado en 2012.  
[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/diseases/malnutrition/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/malnutrition/en/)

Wlodek, M. E. Westcott, K. Siebel, A. L. Owens, J. A. Moritz, K. M. 2008. Growth restriction before or after birth reduces nephron number and increases blood pressure in male rats. *Kidney Int*. 74: 187-195.

Wong-Goodrich, S. J. Glenn, M. J. Mellott, T. J. Blusztajn, J. K. Meck, W. H. Williams, C. L. 2008. Spatial memory and hippocampal plasticity are differentially sensitive to the availability of choline in adulthood as a function of choline supply in utero. *Brain Res*. 1237: 153-166.

Yajnik, C. S. 2002. The lifecycle effects of nutrition and body size on adult adiposity, diabetes and cardiovascular disease. *Obes Rev*. 3: 217-224.

Yajnik, C. S. 2004. Early life origins of insuline resistance and type 2 diabetes in India and other Asian countries. *J Nutr*. 134: 205-210.

Yajnik, C. S. Deshmukh, U. S. 2008. Maternal nutrition, intrauterine programming and consequential risk in the offspring. *Rev Endocr Metab Disord*. 9: 203-211.

- Yamamoto, T. 2003. Brain mechanisms of sweetness and palatability of sugars. *Nutr Rev.* 61: S5-S9.
- Yamamoto, T. 2006. Neural substrates for the processing of cognitive and affective aspects of taste in the brain. *Arch Histol Cytol.* 69: 243-255.
- Yamamoto, T. Nagai, T. Shimura, T. Yasochima, Y. 1998. Roles of chemical mediators in the taste system. *Jpn J Pharmacol.* 76: 325-348.
- Yamamoto, T. Ueji, K. 2011. Brain mechanisms of flavor learning. *Front Syst Neurosci.* 5: 1-7.
- Yamamoto, T. Yuyama, N. 1987. On a neural mechanism for cortical processing of taste quality in the rat. *Brain Res.* 400: 312-320.
- Zeisel, S. H. 1992. Choline: an important nutrient in brain development, liver function and carcinogenesis. *J Am Coll Nutr.* 11: 473-481.
- Zeisel, S. H. Blusztajn, J. K. 1994. Choline and human nutrition. *Ann Rev Nutr.* 14: 269-296.
- Zeisel, S. H. Mar, M. H. Zhou, Z. W. DaCosta, K. A. 1995. Pregnancy and lactation are associated with diminished concentrations of choline and its metabolites in rat liver. *J Nutr.* 125: 3049-3054.
- Zieve, D. Eltz, D. 2011. Diabetes. A. D. A. M. Medical Encyclopedia. Consultado en 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0002194/>
- Zhou L. Liu, X. Feng, X. Han, L. Liu, G. 2009. Expression of  $\alpha$ -gustducin in the circumvallate papillae of taste buds of diabetic rats. *Acta Histochem.* 111: 145-149.