



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN  
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

**POSGRADO EN CIENCIAS EN BIOLOGIA MOLECULAR**

**Efecto de la proteína de amaranto en ratones con  
obesidad inducida por dieta: Explorando el mecanismo  
de acción en tejido adiposo y glicoproteínas de plasma**

Tesis que presenta

**Abraham Escobedo Moratilla**

Para obtener el grado de

**Doctor en Ciencias en Biología Molecular**

**Director de la Tesis:**

**Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa**

San Luis Potosí, S.L.P., Abril de 2018



## Constancia de aprobación de la tesis

La tesis "***Efecto de la proteína de amaranto en ratones con obesidad inducida por dieta: Explorando el mecanismo de acción en tejido adiposo y glicoproteínas de plasma***" presentada para obtener el Grado de Doctor en Ciencias en Biología Molecular fue elaborada por **Abraham Escobedo Moratilla** y aprobada el seis de abril del dos mil dieciocho por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Biología Molecular del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

**Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa**  
Directora de la tesis

**Dr. Francisco Kuri Breña Romero de Terreros**  
Miembro del Comité Tutorial

**Dr. José Trinidad Pérez Urizar**  
Miembro del Comité Tutorial

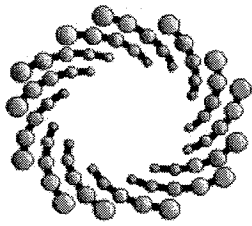
**Dr. Antonio De León Rodríguez**  
Miembro del Comité Tutorial



## **Créditos Institucionales**

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Proteómica y Biomedicina Experimental de la División de Biología Molecular del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección de la Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No. 265987) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.



**IPICYT**

# Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

## Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 098 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Doctorado en Ciencias en Biología Molecular está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 6 días del mes de abril del año 2018, se reunió a las 16:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

<b>Dr. Antonio De León Rodríguez</b>	<b>Presidente</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. Francisco Kuri Breña Romero de Terreros</b>	<b>Secretario</b>	<b>Landsteiner Scientific</b>
<b>Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa</b>	<b>Sinodal</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. José Trinidad Pérez Urizar</b>	<b>Sinodal externo</b>	<b>DIXPERTIA</b>

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA MOLECULAR**

sustentó el C.

**Abraham Escobedo Moratilla**

sobre la Tesis intitulada:

*Efecto de la proteína de amaranto en ratones con obesidad inducida por dieta: Explorando el mecanismo de acción en tejido adiposo y glicoproteínas de plasma*

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa**

El Jurado, después de deliberar, determinó

**APROBARLO**

Dándose por terminado el acto a las 17:50 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición del interesado y para los fines que al mismo convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 6 días del mes de abril de 2018.

**Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez**  
Jefa del Departamento del Posgrado

**Dr. Horacio Flores Zúñiga**  
Secretario Académico



Este trabajo de tesis está dirigido a todas las personas que me apoyaron durante el tiempo que estuve como estudiante de doctorado, las cuales colaboraron en mi formación para poder convertirme en un profesional científico.

## **Agradecimientos**

A mi Familia

Al IPICYT

Al CONACYT

A mi Comité Tutorial

A mis amigos del Laboratorio de Proteómica y Biomedicina Molecular

A mis amigos de todas las Divisiones del IPICYT

A Javier Cabrero Arzave de la División de Vinculación del IPICYT

# Contenido

	Página
Constancia de aprobación de la tesis	ii
Créditos institucionales	iii
Acta de examen	iv
Dedicatorias	v
Agradecimientos	vi
Lista de tablas	ix
Lista de figuras	x
Anexos	xi
Resumen	xii
Abstract	xiii
Introducción	1
Obesidad	1
Obesidad en México	2
Enfermedades asociadas a la obesidad	3
Diabetes mellitus tipo 2	4
Dislipidemia	5
Modelos animales para estudiar la obesidad	5
Alimentos funcionales	7
El amaranto y sus propiedades nutricionales y nutracéuticas	8
Propiedades nutricionales del grano de amaranto	9
Propiedades nutricionales de la hoja de amaranto	10
Propiedades nutracéuticas del grano y hojas de amaranto	10
Métodos de extracción de proteína de semilla de amaranto	11
Justificación	12
Objetivo General	13
Objetivos Particulares	13
Hipótesis	14
Materiales y Métodos	15
Reactivos	15
Materiales y Equipo	15
Aislados de proteína	15
Métodos para caracterización de los aislados de proteína	16
Animales y dietas	16
Diseño experimental	17
Métodos para determinaciones bioquímicas	18
Análisis de expresión génica en tejido adiposo	19
Análisis glicoproteómico	20
Análisis Estadístico	23
Resultados y Discusión	24
Método para la obtención del aislado proteínico y su caracterización	24

Peso corporal y tejido adiposo	26
Perfiles de lípidos y de resistencia a la insulina	27
Perfiles de expresión génica	28
Análisis glicoproteómico	30
Conclusiones	35
Referencias	36
Anexos	40



## Lista de tablas

	Página
1. Clasificación de la obesidad de acuerdo al índice de masa corporal	1
2. Ejemplos de alimentos funcionales, componente activo y función.	7
3. Comparación de la composición proximal del grano de amaranto con otros cereales.	9
4. Secuencias de oligonucleótidos y condiciones de amplificación de los genes analizados.	20
5. Análisis proximal de los aislados de proteína de amaranto y soya. Los resultados se expresan en base seca.	25
6. Perfiles de lípidos, área bajo la curva de glucosa e insulina después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya	27
7. Localización o vía en la que se encuentran las glicoproteínas detectadas mediante la base de datos STRING	33

## Lista de figuras

	Página
1. Prevalencia de adultos con sobrepeso y obesidad en el 2014	2
2. Mapa de las zonas de adaptación y distribución de <i>A. hypochondriacus</i>	8
3. Diseño experimental del estudio	18
4. Perfil electroforético de los aislados de proteína de amaranto y soya	25
5. Resultados de la medición de parámetros fisiológicos incluidos en el estudio después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ).	26
6. Perfil de expresión génica en 7 genes relacionados con el metabolismo de lípidos obtenido después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ).	29
7. <i>Heat map</i> obtenido con los perfiles de expresión génica analizados	30
8. Red de interacciones entre glicoproteínas detectadas en cada grupo analizado mediante la base datos STRING.	32

## Anexos

	Página
1. Autorización de la Comisión de Bioética y Manejo de Animales IPICYT	40
2a. Información de la dieta 2018s (Harlan México)	41
2b. Información de dieta TD 06414 (Harlan México)	42
3. Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.	60
4. Lista de artículos publicados	88

## Resumen

### Efecto de la proteína de amaranto en ratones con obesidad inducida por dieta: Explorando el mecanismo de acción en tejido adiposo y glicoproteínas de plasma

El amaranto ha sido propuesto como un alimento nutracéutico, pero su función en enfermedades relacionadas con la obesidad no ha sido comprendida del todo; además la mayoría de los estudios *in vivo* que se encuentran en la literatura evalúan el efecto del aceite de amaranto en enfermedades cardiovasculares. Por otro lado, la proteína del grano de amaranto, de acuerdo a estudios previos, ha demostrado tener *in vitro* otra clase de efectos terapéuticos relacionados con el metabolismo de carbohidratos. El objetivo de este trabajo fue producir un aislado proteínico de amaranto de bajo costo y analizar su efecto en los perfiles lipídicos y de resistencia a la insulina en ratones con obesidad inducida por dieta, utilizando proteína de soya como referencia, se exploró el mecanismo de acción en tejido adiposo utilizando la medición de expresión génica y un análisis glicoproteómico de plasma sanguíneo.

Ratones C57BL/6 fueron alimentados durante 8 semanas con una dieta regular o una dieta hipercalórica, además de consumir aislado de proteína de amaranto o soya por vía oral a una dosis de 10 mg/Kg. Las variables que se evaluaron fueron los cambios en el peso corporal, tejido adiposo, colesterol total, triglicéridos, insulina, una curva de tolerancia a la glucosa, expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos y el estado inflamatorio, así como del glicoproteoma de plasma de cada grupo.

Los resultados demostraron que la proteína de amaranto induce un decremento de la insulina plasmática en los ratones que fueron alimentados con una dieta regular (0.09 ng/ml vs. 0.39 ng/ml), además de que en ratones con dieta hipercalórica induce un descenso de los triglicéridos (144 mg/dl vs. 125.1 mg/dl). En adición, se encontró una expresión menor de los genes *Res*, *Tnf- $\alpha$* , *Fasn*, *Lep* y *Fabp4* en este grupo, demostrando una inhibición del estado inflamatorio y de la hidrólisis de lípidos. El análisis glicoproteómico confirmó el involucramiento de lipoproteínas como parte del efecto y mostró otras proteínas afectadas por los tratamientos incluyendo glicoproteínas Hb y serpinas. Estos resultados podrían conducir a nuevos mecanismos de acción mediante los cuales el amaranto ejerce su acción biológica. La proteína de amaranto fue capaz de mejorar la hiperlipidemia e hiperinsulinemia producida por la obesidad inducida por dieta.

#### PALABRAS CLAVE

Alimento funcional, modelo preclínico, glicoproteoma, expresión génica.

## Abstract

### Effect of amaranth protein in mice with diet-induced obesity: Exploring the mechanism of action in adipose tissue and plasma glycoproteins

Amaranth has been claimed as nutraceutical food, but its function on obesity-related disorder is still not fully understood; in addition, most *in vivo* studies in literature evaluate the effect of amaranth oil on cardiovascular disease. On the other hand, amaranth seed protein, according to previous studies, has been demonstrated to have other therapeutic effects related to the carbohydrates metabolism. The aim of this work was to produce a cost-effective amaranth protein isolate and analyze its effect on lipid and insulin resistance profiles in diet-induced obese mice, using soybean protein as the reference, the mechanism of action in adipose tissue was explored using gene expression assessment and blood plasma glycoproteomic analysis.

C57BL-6 mice were fed for 8 weeks with regular or high-fat diet along with amaranth or soybean protein isolates at 10 mg/Kg. Changes in body weight, adipose tissue, total cholesterol, triglycerides, insulin, glucose tolerance test, expression of lipid metabolism-related and inflammation-state genes, and the differences on the plasma glycoproteome of each group were measured as variable of response. Results demonstrated that amaranth protein induced a decrease in plasma insulin in mice fed with a regular diet (0.09 ng/ml vs. 0.39 ng/ml), whereas a decrease in triglycerides was observed in mice fed with high-fat diet (144 mg/dl vs. 125.1 mg/dl); furthermore lower expression of *Res*, *Tnf- $\alpha$* , *Fasn*, *Lep* and *Fabp4* genes in this group, demonstrated inhibition of inflammation state and lipids hydrolysis. The glycoproteomic analysis confirmed the inclusion of lipoproteins as part of the effect and showed other proteins affected by the treatments involving Hb and serpin proteins. These results could lead to new possible mechanisms of action by which amaranth exert their biological function. Amaranth protein consumption was able to improve the hyperlipidemia and hyperinsulinemia produced by the diet-induced obesity. The present study has demonstrated that amaranth protein, but not soybean protein, improved the obesity condition in mice.

#### KEYWORDS

Functional food preclinical obesity model, glycoproteome, gene expression.

# INTRODUCCIÓN

## Obesidad

La obesidad se define como una enfermedad caracterizada por la acumulación excesiva de tejido adiposo en el organismo, acompañada de alteraciones metabólicas que predisponen a la presentación de trastornos que deterioran el estado de salud [OMS, 2015; SSA, 2012]. La obesidad se asocia en la mayoría de los casos a alguna patología endocrina, cardiovascular y ortopédica y relacionada a factores biológicos, socioculturales y psicológicos [OMS, 2015; SSA, 2012].

La causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y las gastadas. Este desequilibrio generalmente, es consecuencia de un aumento en la ingesta de alimentos hipercalóricos que son ricos en grasa, sal y azúcares pero pobres en vitaminas, minerales y otros micronutrientes, así como de una disminución en la actividad física (un estilo de vida más sedentario), nuevos modos de desplazamiento y de una creciente urbanización [OMS, 2015].

La obesidad se puede determinar en las personas adultas de acuerdo al índice de masa corporal (IMC). El IMC es un parámetro que establece la condición física saludable de una persona en relación a su peso y estatura (**Tabla 1**) el cual se calcula con la siguiente fórmula:  $IMC = \text{Peso (Kg)} / \text{Talla (m}^2\text{)}$ .

**Tabla 1. Clasificación de la obesidad de acuerdo al índice de masa corporal.**

Valor IMC	Clasificación	Riesgo de complicaciones
20-24.9	Normal	-
25-26.9	Sobrepeso	Incrementado
27-29.9	Preobesidad	
30-34.9	Obesidad-Grado I	Moderado
35-39.9	Obesidad-Grado II	Severo
40-49.9	Obesidad-Grado III (mórbida)	Muy Severo
≥50	Obesidad-Grado IV (extrema)	

Tomado de OMS, 2015.

Se han propuesto diversas explicaciones sobre el incremento en la incidencia de la obesidad entre las que destacan:

- El equilibrio de saturación, ya que existe un porcentaje de población con alta susceptibilidad a desarrollar peso excesivo (por razones genéticas o de otra índole)
- Los factores de riesgo inmediatos (ingestión de energía o actividad física), los cuales se han intentado modificar con acciones gubernamentales de regulación o de educación, formando conciencia colectiva sobre los efectos

adversos de la obesidad mediante medios masivos de difusión o de campañas colectivas de concientización y educación [INSP, 2012].

En el 2014, más de 1900 millones de adultos (39%) de 18 o más años tenían sobrepeso (un 38% de los hombres y un 40% de las mujeres), de los cuales, más de 600 millones eran obesos. Alrededor del 13% de la población adulta mundial (un 11% de los hombres y un 15% de las mujeres) eran obesos. La prevalencia mundial de la obesidad se multiplicó por más de dos entre 1980 y 2014 como se puede apreciar en la **Figura 1** [OMS, 2015].

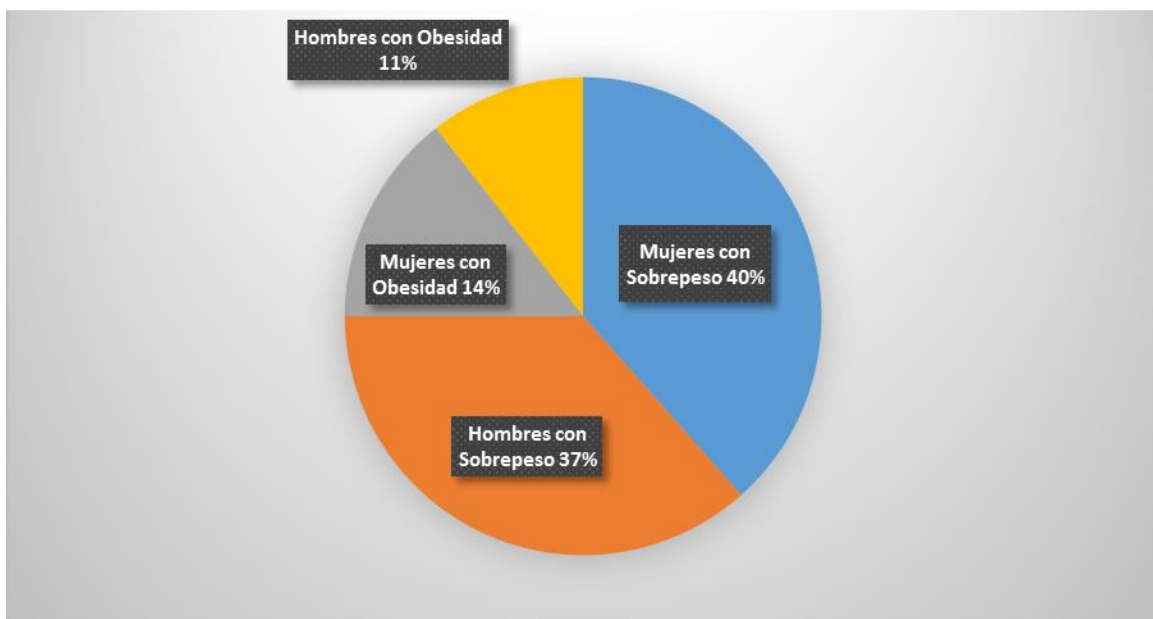


Figura 1. Prevalencia de adultos con sobrepeso y obesidad en el 2014 [Figura propia realizada a partir de datos de OMS, 2015]

## La Obesidad en México

El sobrepeso y la obesidad son el principal problema de Salud Pública en México, ya que ocupa el primer lugar mundial de obesidad en niños y el segundo en adultos. En nuestro país, el 72% de las mujeres mayores de 20 años (20.52 millones de personas) tienen sobrepeso u obesidad, 66% de los hombres mayores de 20 años (16.96 millones de personas) y el 26% de niños en edad escolar (5.54 millones de personas) ya presentan un cierto grado de sobrepeso u obesidad [SSA-DF, 2015].

En México la prevalencia de sobrepeso en adulto es de 38.8%, la segunda más alta de la Organización para la Cooperación y El Desarrollo Económicos (OCDE) después de Chile y la prevalencia de obesidad es de 32.4%, la segunda más alta después de Estados Unidos [OCDE, 2015].

El aumento en la prevalencia de obesidad en México se encuentra entre los más rápidos documentados en el plano mundial. De 1988 a 2012, el sobrepeso en mujeres de 20 a 49 años de edad se incrementó de 25 a 35.3% y la obesidad de 9.5 a 35.2%. En el caso de los hombres, en el periodo de 2000 a 2012 la prevalencia de sobrepeso aumentó 3.1% y la de obesidad incrementó 38.1%. Al agrupar el sobrepeso y la obesidad, la prevalencia incrementó 14.3% entre la encuesta del año 2000 y la de 2012 [INSP, 2012].

## **Enfermedades asociadas a la obesidad**

Las consecuencias más comunes debido al sobrepeso y obesidad son las enfermedades cardiovasculares (principalmente cardiopatía y accidente cerebrovascular) las cuales tanto en el 2008 como en 2012 fueron la causa principal de defunción. Otras consecuencias que se desarrollan debido al sobre peso y obesidad son la diabetes, los trastornos del aparato locomotor (en especial la osteoartritis) y algunos cánceres (de endometrio, mama y colon), Las cuales se corre el riesgo de desarrollarse mientras más se aumenta el IMC [OMS, 2015].

Se sabe que la obesidad está relacionada con un número considerable de padecimientos como enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2 e incluso cáncer [Han y Lean, 2016]. Incluso, se ha propuesto un estado denominado síndrome metabólico que incluye como diagnóstico: colesterol HDL disminuido, triglicéridos, glucosa y presión arterial aumentados, así como incremento de peso con acumulación de tejido adiposo en la región abdominal [Han y Lean, 2016]. Por otro lado, la enfermedad cardiovascular incluye a la aterosclerosis de las arterias coronarias epicárdicas y/o la disfunción microvascular coronaria. Se sabe que durante la obesidad la disfunción microvascular está medida por adipocinas/citosinas que causan inflamación crónica con: a) dilatación mediada por una disminución en la síntesis de NO, b) mecanismos alterados de vasoregulación en endotelios y músculo liso, c) control vasomotor alterado con actividad simpática aumentada y d) hipertensión con hipertrofia en cardiomiocitos y adaptación cardiovascular alterada [Selthofer-Relatić *et al*, 2016]. En efecto, la inflamación crónica de bajo grado produce a su vez la infiltración de leucocitos a los tejidos blanco de la insulina como son: el adiposo, el músculo esquelético y el hígado, sin embargo, no se sabe completamente el mecanismo [Keane *et al*, 2017]. Un avance significativo en éste sentido es que se ha descubierto que la polarización inflamatoria de las células del sistema inmune está fuertemente relacionada con el perfil metabólico ,por lo que se hipotetiza que el metabolismo disfuncional de éstas células es el mecanismo celular central que previene la resolución de la



inflamación metabólica crónica como se observa en la obesidad y en la diabetes tipo 2 [Keane *et al*, 2017].

Aunque la obesidad también induce la resistencia a la insulina e implica moléculas que predisponen a un estado de inflamación y complicaciones metabólicas, la resistencia a la insulina es además determinada por factores genéticos, por factores ambientales como una dieta hipercalórica alta en grasas, obesidad, envejecimiento y sedentarismo [Riobó, 2013].

## **Diabetes mellitus tipo 2**

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) también llamada no insulino dependiente, se debe a una utilización ineficaz de la insulina. Este tipo representa el 90% de los casos mundiales y se debe en gran medida a un peso corporal excesivo y a la inactividad física [OMS, 2015].

Se ha demostrado que en la DMT2 hay 2 factores involucrados:

- a) Una disfunción de las células beta con falta de respuesta secretoria al estímulo de la glucosa sanguínea.
- b) Una resistencia periférica a los efectos biológicos de la insulina, tanto por disminución del número de los receptores insulínicos de la membrana celular, como de los receptores post-membrana, todo lo cual conduce a una excesiva producción de glucosa por el hígado y dificultades en la captación de ésta por el músculo y por los adipocitos.

Sus manifestaciones clínicas son hiperglucemia (glucemia > 110 mg/dL en ayunas), polidipsia, polifagia, poliuria y pérdida de peso [DGE, 2012].

Se calcula que en 2012 fallecieron 1,5 millones de personas como consecuencia directa de la diabetes y en el 2014, la prevalencia mundial de la diabetes fue del 9% entre los adultos mayores de 18 años [OMS, 2015].

En nuestro país, tanto en hombres como en mujeres se observó un incremento importante en la proporción de adultos que refirieron haber sido diagnosticados con diabetes en el grupo de 50 a 59 años de edad, similar en mujeres (19.4%) y en hombres (19.1%). Para los grupos de 60 a 69 años se observó una prevalencia ligeramente mayor en mujeres que en hombres (26.3 y 24.1%, respectivamente) que se acentuó en el grupo de 70 a 79 años (27.4 y 21.5%, respectivamente) como se observa en la [INSP, 2012].

## Dislipidemia

Las dislipidemias e hipercolesterolemia son factores de riesgo importantes en el desarrollo de aterosclerosis y de enfermedad cardiovascular. Las dislipidemias son los trastornos que afectan la estructura, composición y metabolismo de las lipoproteínas [Araujo-Herrera, 2015].

Las lipoproteínas están compuestas por una fracción llamada apolipoproteínas (Apo) y una fracción lipídica conformada por colesterol, triglicéridos y fosfolípidos, la cual se encarga de solubilizar y transportar los lípidos en el plasma. Las cinco lipoproteínas básicas del organismo son: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Las dislipidemias se clasifican en primarias que son alteraciones en una lipoproteína (genéticos o hereditarios) y secundarias que se atribuyen a otra patología, por ejemplo, diabetes y obesidad [SSA, 2014].

La obesidad favorece el aumento del flujo de ácidos grasos al hígado, lo que produce aumento de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) ricas en triglicéridos, aumento de la producción de ApoB y disminución del HDL-colesterol, debido a un incremento del aclaramiento de las HDL en la circulación; por lo tanto en un estado de obesidad se puede producir hipertrigliceridemia, aumento de VLDL y LDL, así como disminución de HDL [Araujo-Herrera, 2015].

## Modelos animales para estudiar la obesidad

Se han utilizado roedores como modelo experimental durante los últimos años para investigación de las enfermedades humanas en especial para la obesidad, diabetes e hipertensión [Panchal y Brown, 2011]. Los roedores como las ratas (*Rattus sp.*) y los ratones (*Mus musculus*) son organismos modelo que ofrecen muchas ventajas [Benavides y Guénet, 2003 como]:

- Al tratarse de mamíferos, gran parte de sus procesos bioquímicos son similares al hombre.
- Tienen un tiempo generacional muy corto, son muy prolíficos y se adaptan fácilmente a la vida en los bioterios, lo que permite controlar las variables ambientales en las experimentaciones.
- Comparten con el hombre el privilegio de ser una de la especie de mamífero mejor estudiada desde el punto de vista genético ya que tienen gran cantidad de líneas genéticamente definidas, como las consanguíneas y congénitas, además de cientos de mutaciones y un gran número de rearreglos cromosómicos disponibles.

También, para estudiar la obesidad se han utilizado otros modelos animales como primates, canes y felinos, entre otros, ya que es necesario estudiar todos los aspectos de esta enfermedad para proponer soluciones de tratamiento y prevención. Los primates no humanos son un modelo de referencia ya que tienen una relación estrecha a los humanos a nivel genético, conductual y metabólico. Los primates pueden proporcionar un modelo más apropiado para el estudio de la obesidad humana y co-morbilidades relacionadas [Speakman, 2008]. Otro modelos a mencionar son los perros domésticos ya que su obesidad es incluso más extrema que la humana, [Speakman, 2008]. Sin embargo, debido a consideraciones económicas, de respeto animal y de tiempo predomina el uso de roedores.

Entre los modelos más utilizados de roedores están, por ejemplo, las ratas Zucker que son un modelo experimental para el estudio de la obesidad producida por influencia genética, ya que la obesidad en estos animales se hereda como carácter autosómico recesivo. Estas ratas presentan una mutación en el receptor de leptina, la cual es una adipocina relacionada con el equilibrio del hambre y la saciedad causando hiperfagia y otras alteraciones semejantes a las que aparecen en el síndrome metabólico humano. Estos animales presentan hiperinsulinemia, por lo que se le puede considerar también un modelo de resistencia a la insulina [Aleixandre *et al*, 2008].

Otro modelo también utilizado es el ratón cepa CD-1 con obesidad inducida con glutamato monosódico, a la cual se le trata mediante la administración de glutamato monosódico con 5 administraciones posnatales a los días 2, 4 con 2 mg/kg de peso y los días 6, 8 y 10 con 4 mg/kg de peso. Estos ratones alcanzan obesidad severa y un estado de pérdida a la sensibilidad de insulina y de tolerancia a la glucosa, además de hipertrofia en severa en las isletas pancreáticas debido a la proliferación de células B, por lo que se ha propuesto como un modelo de diabetes tipo 2 [Almanza-Pérez *et al*, 2006].

También se utiliza la cepa C57BL/6 como modelo para inducción de obesidad por dieta hipercalórica, descrita por primera vez en 1988 [Surwit *et al.*, 1988]. Ésta cepa conducía a la obesidad, la hiperinsulinemia y la glucosa alterada, además de dislipidemia. Esto es importante ya que se asemeja a las situaciones humanas. Dado que la obesidad está inducida por la manipulación ambiental en lugar de genes estos modelos resultan más útiles para entender los desórdenes humanos [King, 2012].

## Alimentos funcionales

Se ha sugerido que uno de los factores de riesgo que ha detonado los incrementos en sobrepeso y obesidad son los cambios en la alimentación. En efecto la OMS, lo clasifica como uno de los principales factores [OMS, 2017]. La especie humana ha pasado de comer frutas y verduras a consumir papas fritas y bebidas edulcoradas [Siró *et al*, 2008]. Médicos, nutriólogos y consumidores han comenzado a aceptar que existe una conexión muy cercana entre nutrición y estado de salud.

Los alimentos funcionales son aquellos alimentos que se consumen como parte de una dieta normal y contienen componentes biológicamente activos, que ofrecen beneficios para la salud y reducen el riesgo de sufrir enfermedades [EUFIC, 2006]. Con estos alimentos no solamente se pretende satisfacer el apetito y brindar los nutrientes necesarios, sino también se pretende prevenir enfermedades relacionadas con la nutrición y mejorar el bienestar físico y mental de los consumidores. En este sentido, los alimentos funcionales juegan un papel sobresaliente [Siró. *et al*, 2008]. Debido a esto, muchas empresas del ramo alimenticio y laboratorios farmacéuticos han lanzado al mercado diversos productos hechos a base de extractos de frutas, verduras, cereales, lácteos, etc. los cuales están diseñados para ayudar en el tratamiento de diversos desordenes crónico-degenerativos o para prevenir la aparición de dichas patologías [EUFIC, 2006; Siró. *et al*, 2008]. En la **Tabla 2** se presentan algunos ejemplos alimentos funcionales reconocidos por el Consejo Europeo de Información Alimentaria, así como su función y el principio activo (EUFIC, por sus siglas en inglés).

**Tabla 2. Ejemplos de alimentos funcionales, componente activo y función.**

<b>Alimento funcional</b>	<b>Componente activo</b>	<b>Función</b>
Yoghurts	Probióticos, Prebióticos	Función intestinal óptima y balance microbial
Margarinas	Esteroles vegetales añadidos y ésteres de estanol	Disminución de colesterol LDL y disminución de riesgo de enfermedad coronaria
Huevos enriquecidos con Omega-3	Ácidos grasos Omega-3	Control de hipertensión y metabolismo de lípidos

Tabla modificada a partir de EUFIC, 2006

## El amaranto y sus propiedades nutricionales y nutracéuticas

El amaranto es una planta nativa del continente americano que tiene prevalencia en todo el mundo. El género *Amaranthus* abarca más de 50 especies e incluye plantas con un potencial prometedor como cultivos alimenticios debido a su resistencia a plagas y estrés abiótico como sequía, calor y salinidad. Las especies comerciales cultivadas para la producción de grano (*A. hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. caudatus*) son nativas de América, pero también están distribuidas en Asia y África [de la O Olán *et al*, 2012; Rastogui y Shukla, 2013]. El amaranto es una planta de rápido crecimiento, se cultiva durante el verano cuando no hay otros vegetales verdes disponibles y puede crecer en diferentes tipos de suelo y condiciones climatológicas. Además de su adaptabilidad climatológica, la planta del amaranto también tiene propiedades nutricionales y medicinales [Huerta-Ocampo y Barba de la Rosa 2011; de la O Olán *et al*, 2012; Rastogui y Shukla, 2013]. En México, se ha demostrado que una gran zona del país posee las condiciones óptimas de crecimiento para el cultivo del amaranto, de acuerdo a estudios de adaptación que señalan en particular que por ejemplo *A. hypochondriacus* está distribuido en mayor proporción en la zona centro, como se muestra en la **Figura 2** [de la O Olán *et al*, 2012].

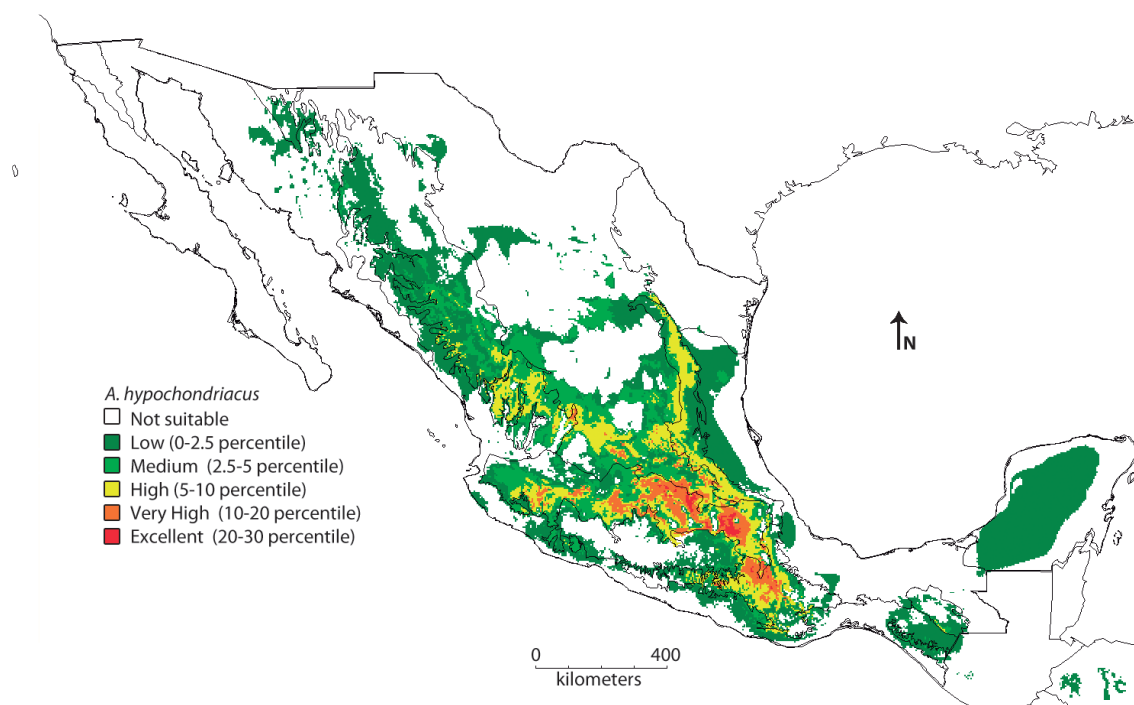


Figura 2. Mapa de las zonas de adaptación y distribución de *A. hypochondriacus* [Tomado de de la O Olán *et al*, 2012].

## Propiedades nutricionales del grano de amaranto

En la **Tabla 3** se aprecia la composición proximal de maíz, trigo, sorgo y amaranto de manera comparativa. El grano del amaranto tiene más proteína que el maíz y otros cereales, el porcentaje varía entre el 14.5 y 15.1%, dependiendo de la especie, además su contenido de almidón (62.7 %) es más bajo que el de los otros granos de la Tabla.

Tabla 3. Comparación de la composición proximal del grano de amaranto con otros cereales.

Componente (%)	Grano			
	Maíz	Trigo	Sorgo	Amaranto
Cenizas	1.2	1.7	1.7	2.5
Proteína*	10.0	13.2	12.6	14.5
Grasa	5.2	2.7	4.0	10.2
Carbohidratos	3.2	4.2	2.0	3.1
Almidón	72.8	65.7	70.1	62.7
Fibra dietética	9.3	12.1	8.5	8.8

\*(% en peso seco).<sup>b</sup> (N x 6.25)

Tabla modificada a partir de Rastogui y Shukla, 2013

La composición de aminoácidos de la proteína de amaranto es cercana al óptimo recomendado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) para una dieta balanceada en humanos [FAO, 2017]. La lisina es el principal aminoácido en el amaranto y éste es el limitante de los cereales como el maíz, trigo y arroz. Se ha descrito que la proteína de la semilla de amaranto es comparable a la proteína del huevo y puede suplir a este último en un alimento [de la O Olán *et al*, 2012; Rastogui y Shukla, 2013]. Además, se ha demostrado que el contenido de prolaminas en semillas de amaranto es muy bajo o casi nulo [Huerta-Ocampo y Barba de la Rosa, 2011], por lo que puede usarse como un sustituto de trigo en pacientes con intolerancia al gluten o enfermedad celiaca, ya que éste componente está ausente en el grano, a diferencia de cereales como el trigo, sorgo y cebada [de la O Olán *et al*, 2012; Rastogui y Shukla, 2013].

Otra característica que se muestra en la **Tabla 3**, es que el amaranto posee un contenido superior de lípidos. Referente al aceite del amaranto éste, es más estable y soluble que el aceite de girasol y tiene un color medio a claro con un delicado y agradable olor y sabor. Contiene aproximadamente el 80% de triglicéridos y baja cantidad de fosfolípidos. El aceite de amaranto es una excelente fuente de ácidos grasos del tipo omega-3 y contiene mayor cantidad de tocoferoles y escualeno (hasta el 6.8%) que el aceite de germen de trigo. Los ácidos grasos predominantes son el ácido oleico, linoléico y linolénico. El

aceite de amaranto puede aumentar el colesterol HDL en sangre y disminuir considerablemente el colesterol LDL (del 21 al 50%) [de la O Olán *et al*, 2012; Rastogui y Shukla, 2013].

### **Propiedades nutricionales de la hoja del amaranto**

Se han reportado que las hojas del amaranto contienen una gran cantidad de minerales; como el potasio, calcio, magnesio, zinc, hierro y manganeso. En las especies usadas para la producción del grano, el contenido de minerales es el doble que el presente en los cereales, con un alto contenido de calcio, magnesio, hierro, potasio y zinc [Rastogui y Shukla, 2013].

### **Propiedades nutraceuticas del grano y hojas de amaranto**

En la medicina tradicional el amaranto ha sido utilizado ampliamente; en específico la parte vegetal, a la cual se le ha usado como diurético, para tratar los resfriados, problemas urinarios y gástricos, como antiinflamatorio y analgésico, diarrea, para el tratamiento de algunos envenenamientos y enfermedades infecciosas. Las semillas se usan para tratar la hipertensión, las enfermedades cardiovasculares y para reducir el colesterol [de la O Olán *et al*, 2012; Rastogui y Shukla, 2013]. Con respecto a las propiedades nutraceuticas de la semilla, se han reportado ampliamente los efectos benéficos que el amaranto aporta a la salud. Los efectos más estudiados son atribuidos a la parte oleosa de la semilla, debido a la gran cantidad de escualeno y ácidos grasos insaturados que contiene, así como también a la fracción proteínica [He y Corke, 2003; Maldonado-Cervantes *et al*, 2010; Martirosyan *et al*, 2007; Velarde-Salcedo *et al*, 2013]

En las proteínas de la semilla de amaranto se han encontrado péptidos encriptados con actividad antihipertensiva, cuyo efecto ha sido probado en cultivos celulares y animales de laboratorio [Barba de la Rosa, 2010; de la O Olán *et al*, 2012; Maldonado-Cervantes *et al*, 2010; Rastogui y Shukla, 2013; Velarde-Salcedo *et al*, 2013]. Uno de los estudios que se hizo fue para caracterizar la actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ACEi) de las glutelinas de amaranto digeridas con tripsina (TDGs) y su capacidad para inducir la producción endotelial de óxido nítrico. Los resultados de este estudio sugieren que las TDGs inducen la producción endotelial de óxido nítrico y la vasodilatación a través de la actividad de ACEi. [Barba de la Rosa, 2010]. También se ha reportado la presencia de un péptido lunasín (similar al reportado en soya) con propiedades anticancerígenas, péptidos antioxidantes y antiinflamatorios. [Maldonado-Cervantes *et al*, 2010]. Se ha descrito que las glutelinas constituyen la fracción principal de proteínas de la semilla de amaranto y que esta fracción contiene péptidos con potencial

inhibitorio en contra de la actividad de la enzima Dipeptidil Peptidasa IV (DPPIV), una enzima que se utiliza como blanco terapéutico en terapias para la diabetes tipo 2; esta inhibición de la DPPIV fue observada con péptidos de amaranto después de realizar una simulación de digestión gastrointestinal [Velarde-Salcedo *et al*, 2013].

### **Métodos de extracción de proteína de semilla de amaranto**

Para la caracterización fisicoquímica, estudio de la composición de aminoácidos y otras propiedades funcionales de las semillas de granos como el amaranto, es necesario realizar una extracción de proteínas en la cual se eliminen otros compuestos como ADN, carbohidratos o lípidos y que conserve íntegras las proteínas y péptidos del tejido. Para este fin se han desarrollado una diversidad de métodos que tienen que ver con tres procesos: rompimiento o lisis celular, solubilización/precipitación y enriquecimiento de las proteínas [Martínez-Maqueda *et al*, 2013].

La lisis celular es necesaria puesto que las proteínas en vegetales están contenidas en cuerpos proteínicos adentro de las paredes celulares, por lo que antes de la extracción es vital éste proceso. Existen en general cinco categorías de lisis celular: homogenización mecánica, homogenización por ultrasonido, homogenización por presión, tratamientos con temperatura y lisis osmótica o química. Todas ellas pueden incluso combinarse [Martínez-Maqueda *et al*, 2013]. Por otro lado, el proceso de solubilización/precipitación se utiliza una vez que el tejido está homogenizado y las proteínas han salido del interior celular. Se basa en separar proteínas de la muestra de una manera selectiva para evitar que se mezclen compuestos que puedan interferir en el análisis. Existen dos técnicas generalizadas: la extracción con solventes orgánicos y la extracción acuosa. En la primera, los solventes orgánicos apolares como el hexano, acetato de metilo o cloroformo se usan para extraer compuestos liposolubles y para precipitar la proteína se usa acetona o ácido tricloroacético (TCA), donde se agrega al homogenizado una mezcla de estos dos compuestos y ocurre la precipitación selectiva de las proteínas, separando después por centrifugación/sedimentación el precipitado y redisolviéndolo con detergentes y/o agentes reductores [Martínez-Maqueda *et al*, 2013].



## JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que una de las principales causas de la obesidad es la mala alimentación; no obstante, el consumo de alimentos funcionales, tales como el amaranto, es de gran importancia para combatir o reducir el desarrollo de esta enfermedad, por lo que el conocer el mecanismo de acción que el amaranto ejerce en ésta enfermedad resulta importante.

Adicionalmente, aunque existen estudios *in vivo* e *in vitro* que demuestran la actividad del consumo de aceite de y/o harina de semilla de amaranto en modelos de enfermedad cardiovascular, sólo unos cuantos estudios han evaluado el efecto del consumo de la proteína aislada y aún no se encuentran dilucidados los mecanismos mediante los cuales ejercen dicha acción en cada tipo de tejido; en efecto, uno de los tejidos que arrojaría más información es el adiposo.

## **OBJETIVO GENERAL**

Obtener un aislado de proteínas de la semilla de amaranto, evaluando su efecto en el perfil lipídico y de resistencia a la insulina en un modelo de obesidad inducida por dieta en ratones C57BL/6, dilucidando el probable mecanismo por el cual las proteínas de amaranto ejercen su acción benéfica a la salud.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- a) Desarrollar un método con potencial escalabilidad para la obtención de un aislado de proteína de semilla de amaranto.
- b) Evaluar el perfil de resistencia a la insulina y cardiovascular, así como la expresión génica de genes relacionados con la inflamación y el metabolismo de lípidos de ratones C57BL/6 de 4-6 semanas de edad con un estado de obesidad inducido por dieta.
- c) Evaluar el glicoproteoma y el proteoma de plasma de ratones C57BL/6 de 4-6 semanas de edad con un estado de obesidad inducido por dieta.
- d) Analizar estadísticamente los resultados entre los grupos de tratamiento y sus respectivos controles para buscar posibles diferencias o asociaciones entre variables de los tratamientos.

## **HIPÓTESIS**

La administración de un aislado de proteína de amaranto tiene la capacidad de mejorar el perfil lipídico y de resistencia a la insulina afectando la expresión génica y proteómica en un modelo de obesidad inducida por dieta en ratones C57BL/6.

## MATERIALES Y METODOS

### Reactivos

El agua utilizada para todos los ensayos fue: agua ultra pura obtenida con el sistema de filtración Elix 5 y Sistema Milli Q Academic (EMD Millipore Corporation, Darmstadt, DE).

Para los análisis de expresión génica se utilizó dietil pirocarbonato (DPCE) de Sigma-Aldrich Co. LLC., St. Louis, Missouri, USA

### Materiales y Equipo

Para el pesaje de los reactivos y sustancias, así como de tejidos biológicos se utilizó una balanza semianalítica MProve AY-212 (Sartorius, Gotinga, DE) y/o una balanza analítica Discovery (Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA). Las centrifugas utilizadas fueron: centrífuga Avanti J-26S XPI (Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA) y una centrífuga Fisher Scientific accuSpin Micro 17R (Fisher Scientific Company LLC, Industry Drive, Pittsburgh, PA, USA).

### Aislados de proteína

El aislado de proteínas de semilla de amaranto se preparó a partir de semillas de *Amaranthus hypochondriacus* cv. Nutrisol obtenidas de la colección de germoplasma de amaranto de INIFAP (Campo Experimental Valle de Mexico, Texcoco Estado de Mexico). El aislado de soya fue preparado a partir de semillas de *Glycine Max*, adquiridas de un mercado local (San Luis Potosi, México).

Tanto para amaranto como para soya el procedimiento para la obtención del aislado proteínico fue el siguiente: Se realizó la molienda de las semillas en molino eléctrico controlando la temperatura de molienda entre 15-35 °C, después se desengrasó la harina mediante agitación constante durante 1-8 h con hexano absoluto en proporción 1:20 (g de harina : ml de hexano). Posteriormente, se centrifugó la mezcla resultante a 17,000 X g durante 30 min. La mezcla obtenida se decantó para descartar el líquido y secar la harina obtenida a 25°C durante 12 h. Se extrajo la proteína de la harina desengrasada mediante extracción con agitación constante durante 6 h y buffer de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10 mM pH 10 en proporción 1:20 (g de harina desengrasada : ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10 mM pH 10). La mezcla resultante fue decantada después de centrifugar a 17,000 X g durante 30 min la mezcla para recuperar el líquido y descartar el sedimento. A la solución resultante, se le añadió citrato de sodio para llegar a

una concentración de 10 mM y fue ajustada con HCl a pH 4 y se puso en agitación constante durante 30 min. Nuevamente, la mezcla resultante fue decantada después de centrifugar a 17,000 X g durante 30 min la mezcla para recuperar el líquido y descartar el sedimento; el polvo obtenido fue secado a 25 °C durante 12 h.

## **Métodos para caracterización de los aislados de proteína**

**Análisis proximal:** Se realizó de acuerdo a la Asociación de Químicos Oficiales Agrícolas (AOAC, por sus siglas en inglés) [AOAC, 2007] para determinar el contenido de carbohidratos, grasas y proteína en cada uno de los extractos. El contenido de proteína fue calculado a partir de la concentración de nitrógeno obtenida multiplicado por 5.85 para el amaranto y 5.77 para la soya.

**Análisis in silico del contenido de aminoácidos:** Se usaron las secuencias de Uniprot para las globulinas de soya y amaranto: Q38712\_AMAHP (amaranto 11S), Q4LER6\_SOYBN (soya 7S) and Q7GC77\_SOYBN (soya 11S) en el software MEGA vs 7.0 y la herramienta ClustalW [Kumar *et al*, 2016] para determinar los porcentajes de identidad del contenido de aminoácidos.

**Electroforesis en gel de poliacrilamida:** Se corrieron geles de poliacrilamida para obtener perfiles de los aislados en condiciones nativas, no reductoras y reductoras. En todos los casos, se cargaron 10 µg de proteína total previamente cuantificados mediante el kit de determinación de proteína Pierce BCA protein assay (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) de acuerdo a las indicaciones del fabricante. La reducción de puentes disulfuro se realizó agregando 2-mercaptoetanol (5% v/v) y calentando a 100°C durante 2 min. La electroforesis se corrió en el sistema mini-Protean III (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Posteriormente, los geles fueron teñidos con Coomassie R-250 al 0.1 % p/v y fotodocumentados en un sistema Gel Logic 100 (Eastman Kodak Co., Rochester, NY, USA).

## **Animales y Dietas**

Todos los procedimientos que involucraron animales fueron previamente evaluados y autorizados por la Comisión de Bioética y Manejo de Animales del IPICYT con el código de autorización: LPBM-AMA-C57/002 **Anexo 1**. Se utilizaron ratones machos C57 LB/6 de 4 a 6 semanas de edad, provenientes de la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de laboratorio UPEAL (Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco); los certificados de los animales se encuentran en el **Anexo 2**. Los animales se mantuvieron en cajas de acrílico transparente (4-5 ratones/caja) en un ciclo de

luz-oscuridad de 12 h, con una temperatura de 21-23°C y 40-70% de humedad relativa.

El alimento utilizado para cada una de las dietas fue adquirido de Harlan S.A de C.V., DF, México. En el caso de la dieta normocalórica se usó la dieta Teklad 2018s (porcentaje calórico: proteína 18.6 %, grasas 6.2 %, carbohidratos 44.2 %), y en el caso de la dieta hipercalórica se usó la dieta Teklad 06414 (porcentaje calórico: proteína 18.4 %, grasas 60.3 %, carbohidratos 21.3 %). La composición detallada de la dietas se encuentra en el **Anexo 3**.

## Diseño Experimental

Para determinar si la proteína de amaranto tiene un efecto en los parámetros fisiológicos y bioquímicos inducidos por una dieta hipercalórica se trabajaron seis grupos con las características siguientes:

- Grupo Ctrl-RD: dieta normocalórica + vehículo (PBS pH 7.5).
- Grupo Ctrl-HF: dieta hipercalórica + vehículo (PBS pH 7.5).
- Grupo AMA-RD: dieta normocalórica + aislado de proteína de amaranto.
- Grupo AMA-HF: dieta hipercalórica + aislado de proteína de amaranto.
- Grupo SOY-RD: dieta normocalórica + aislado de proteína de soya.
- Grupo SOY-HF: dieta hipercalórica + aislado de proteína de soya.

El tratamiento duró 8 semanas durante las cuales se les administró diariamente el vehículo (PBS) o proteína de amaranto por vía oral mediante una cánula de acero inoxidable 20 x 1 1/2" W/2 1/4 (Cadence, Inc., Cranston, RI, USA). La disposición del alimento y agua fue *ad libitum* durante todo el experimento. Al término del experimento se realizó una curva de tolerancia a la glucosa a cada unidad experimental. Además, se llevó un registro del consumo de alimento y peso de cada ratón. Un esquema del diseño experimental se puede apreciar en la **Figura 3**.

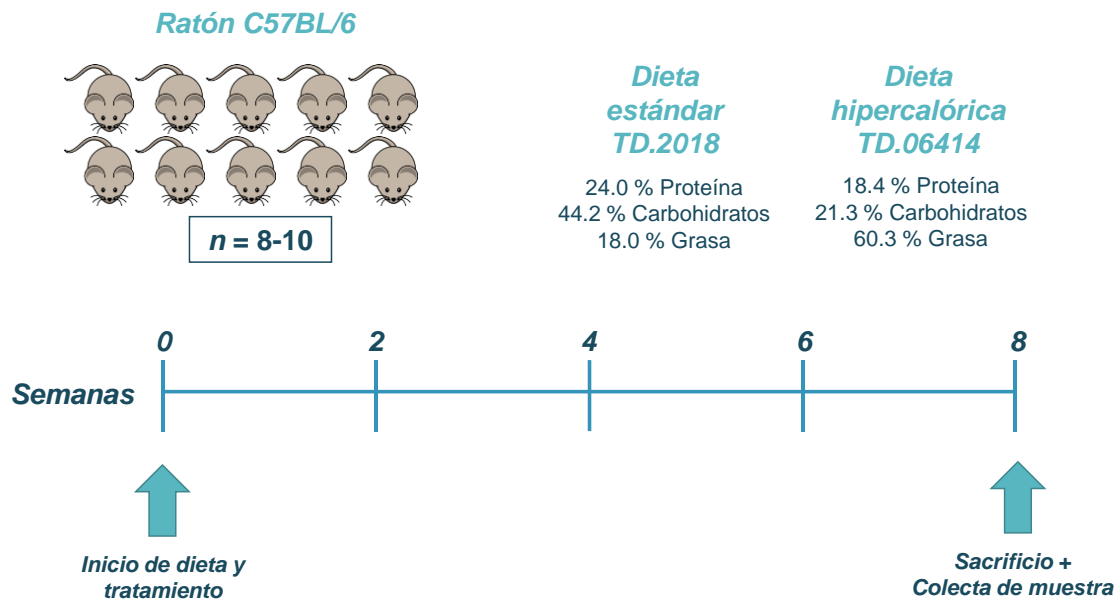


Figura 3. Diseño experimental del estudio.

Terminadas las 8 semanas de tratamiento se tomó una muestra sanguínea por punción intraorbital de acuerdo al procedimiento descrito por Parasuraman *et al.* [2010] después de un ayuno de 12 h. La extracción de sangre de los animales se realizó con tubos capilares (Corning Mexicana S.A de C.V., N.L., México) colectando la muestra en tubos Microtainer con EDTA potásico (Becton Dickinson Cribre LTD, San Lorenzo, USA) y manteniendo las muestras en hielo inmediatamente después de la colecta. Para la separación de plasma de las muestras sanguíneas se centrifugó a 3000 X g durante 3 min. Posteriormente el sobrenadante fue separado y almacenado a -80°C hasta su análisis.

Después de la extracción sanguínea se realizó la eutanasia mediante dislocación cervical de cada ratón de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999 [DOF, 2001] y se colectó el tejido adiposo del epidídimo testicular.

### Métodos para determinaciones bioquímicas

La determinación de todos los valores se realizó con métodos comerciales con validación reportada por el fabricante haciendo una sola réplica técnica por muestra y 8-10 réplicas biológicas por grupo, correspondientes al número de ratones de cada grupo.

**Curva de tolerancia la glucosa:** Se realizó de acuerdo al método reportado por Andrikopoulos *et al* [2008] utilizando sangre completa obtenida mediante punción de vena caudal de la cola de cada ratón con lancetas comerciales (Abbott Diabetes Care, Almeda, CA, USA) antes (tiempo 0) y después (15, 30,

60 y 120 min) de la administración de 2 g/kg de dextrosa comercial preparada a partir de solución inyectable esterilizada de dextrosa al 5% (Baxter México, S. de R.L. de C.V.) utilizando un factor de administración 1 ml/kg. Para medir los niveles de glucosa se utilizó un glucómetro FreeStyle (Abbott Diabetes Care, Alameda, CA, USA), usando tiras de prueba para glucosa en sangre FreeStyle Optimus (Range Road, Witney, UK).

***Determinación de colesterol y triglicéridos:*** Las determinaciones se realizaron en sangre completa. Se usó un equipo portátil automatizado Accutrend Plus (Roche Diagnostics GMBH, Mannheim, DE), utilizando tiras Accutrend Triglycerides/Cholesterol (Productos Roche S.A. de C.V., Toluca, Edo. de México) se siguieron las instrucciones especificadas por el fabricante (**Anexo 4**).

***Determinación de insulina:*** Las determinaciones se realizaron utilizando plasma. Se utilizó el kit comercial de ELISA Insulin Mouse Plate (ALPCO, Salem, MA, USA), el cual es un método de ELISA con la modalidad de sándwich que contiene un anticuerpo monoclonal anti-insulina de roedor. Las determinaciones se realizaron de acuerdo a las instrucciones especificadas por el fabricante y que se encuentran en el **Anexo 5**.

## **Análisis de expresión génica en tejido adiposo**

La expresión génica de genes relacionados con el metabolismo, así como adipocinas del tejido graso se determinó por reacción en cadena de polimerasa cuantitativa (por sus siglas en inglés, qRT-PCR). Para éste procedimiento se utilizaron 200 mg de tejido adiposo para hacer una extracción total de ARN utilizando TRIzol (Life Technologies Corp., Carlsbad, CA, USA) de acuerdo a las indicaciones del fabricante. El ARN obtenido se disolvió en agua libre de ARN-asas con DEPC y cuantificado en un sistema NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). El ARN (1500 ng) fue desnaturalizado a 65°C por 5 min, a 4°C durante 5 min y después retrotranscrito para obtener ADN de cadena complementaria (cDNA, por sus siglas en inglés) utilizando transcriptasa reversa RevertAid (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) y CDs Primer y SMART II-A del kit SMART PCR cDNA synthesis (Clontech Laboratories Inc., Mountain View, CA, USA). La reacción de síntesis del cDNA fue realizada a 42°C por 120 min con un paso final de 10 min a 70°C en un termociclador T100 (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA). Se realizaron qRT-PCR individuales de cada ratón usando 50 ng de cDNA así como el kit RNA-to-CT 1-step (Applied Bio-Systems, Foster City, CA, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante en un sistema de detección de tiempo real CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA). Los oligonucleótidos utilizados para la amplificación de Lipoprotein



Lipasa (*Lpl*), Leptina (*Lep*), Resistina (*Res*) y Factor de Necrosis Tumoral-alfa (*Tnf- $\alpha$* ) fueron adquiridos de T4Oligo (ADN Sintético S.A.P.I. de C.V, Irapuato, Gto, México), mientras que los oligonucleótidos para Adiponectina (*Adpn*), Proteína de Unión a Ácidos Grasos 4 (*Fabp4*), Ácido Graso Sintasa (*Fasn*) y gen ribosomal 18S (18s) fueron adquiridos de Sigma-Aldrich Química, S. de RL. de CV., Toluca, Méx, México. Las secuencias de los oligonucleótidos y las condiciones de amplificación para cada gen se enlistan en la **Tabla 4**. El gen ribosomal 18S fue seleccionado como gen constitutivo y los valores resultantes de la expresión génica fueron normalizados respecto a dicho gen, posteriormente el grupo Ctrl-RD fue considerado como 100% de la respuesta.

## Análisis glicoproteómico

A partir del plasma obtenido como se describió anteriormente, se realizó un análisis proteómico y glicoproteómico. Para este análisis se siguió el procedimiento reportado por Zielinska et al [2010] con algunas modificaciones como se describe a continuación:

**Extracción de proteína:** 250  $\mu$ l de plasma de cada grupo fueron diluidos con 500  $\mu$ l buffer de lisis (SDS al 4%, DTT 0.1 M en Tris 0.1 M pH 7.6) e incubados 3 min a 95°C en un Thermomixer (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania). Posteriormente, la mezcla fue centrifugada a 16,000 x g a temperatura ambiente por 10 min. El contenido de proteína fue cuantificado mediante absorbancia total a 280 nm utilizando albúmina de suero bovino (BSA) fracción V libre de proteasas (Gold Biotechnology, Inc., Olivette, MO, USA) disuelta en buffer de lisis para calibrar.

**Tabla 4. Secuencias de oligonucleótidos y condiciones de amplificación de los genes analizados.**

Oligonucleótido	Secuencia (5' – 3')	Tamaño (pb)	Alineamiento (°C)	Ciclos
<i>Lep</i> F	ACATTTACACACGCAGTCGG	371	58.3	30
<i>Lep</i> R	GCATTCAGGGCTAACATCCAAC			
<i>Res</i> F	CCCTCCTTTTCCTTTTCTTCCTTG	251	56.8	30
<i>Res</i> R	TTCTTCACGAATGTCCCACGAG			
<i>Tnf-<math>\alpha</math></i> F	AAAGATGGGGGGCTTCCAGAACTC	434	58.9	30
<i>Tnf-<math>\alpha</math></i> R	AGATAGCAAATCGGCTGACGG			
<i>Lpl</i> F	CCACTTCAACCACAGCAGCAAG	412	57.8	30
<i>Lpl</i> R	ATCAGCGTCATCAGGAGAAAGGCG			
<i>Fasn</i> F	CCAATACAGATGGCAGCAAGGAG	744	60	32
<i>Fasn</i> R	TCCCTGAGCAGATGAACCAGAGTG			
<i>Fabp4</i> F	CAAGCCCAACATGATCATCAGC	97	58.1	30
<i>Fabp4</i> R	CACGCCAGTTTGAAGGAAATC			
<i>Adpn</i> F	AAGGACAAGGCCGTTCTCT	219	60	30
<i>Adpn</i> R	TATGGGTAGTTGCAGTCAGTTGG			
*18s F	GATCCATTGGAGGGCAAGTCT	79	52	30

Oligonucleótido	Secuencia (5' – 3')	Tamaño (pb)	Alineamiento (°C)	Ciclos
*18s R	AACTGCAGCAACTTTAATATACGC TATT			

F=forward, R=reverse, *Lep*=leptina, *Res*=resistina, *Tnf-α*=factor de necrosis tumoral alfa, *Lpl*=lipoprotein lipasa, *Fabp4*=proteína de unión a ácidos grasos 4, *Fasn*=ácido graso sintasa, *Adpn*=adiponectina, 18S=ribosomal18S.

\*Gen constitutivo.

**Digestión de proteína:** 0.2 mg de proteína de cada muestra se diluyeron con 200 µl de buffer de desnaturalización (Urea 8 M en Tris pH 8.5) y la solución se transfirió a un filtro Amicon Ultracel 3K (Millipore Ltd., Carrigtwohill, County Cork, IRL), para después ser centrifugada a 14,000 xg a temperatura ambiente por 15 min; otros 200 µl de buffer de desnaturalización fueron añadidos y se centrifugó otros 15 min a las mismas condiciones dos veces. Posteriormente, se añadió 100 µl de buffer de alquilación (Iodoacetamida 0.05 M, urea 8 M en Tris 0.1 M pH 8.5) y las muestras fueron incubadas durante 20 min en oscuridad a temperatura ambiente. Inmediatamente después, se realizó una centrifugación durante 10 min bajo las condiciones previas y se hicieron 3 lavados con 100 µl de buffer de desnaturalización. Enseguida, se añadieron 100 µl de buffer de digestión (carbonato de amonio [NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>] 40 mM) y las muestras fueron centrifugadas 10 min bajo las condiciones previas; este paso se repitió dos veces más. Finalmente, 4 µg de tripsina Pierce modificada grado MS (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL, USA) disueltos en 40 µl de buffer de digestión fueron mezclados con las muestras y se incubaron a 37°C durante una noche (~14 h). Los péptidos resultantes fueron colectados por centrifugación y los filtros lavados dos veces con 40 µl de buffer de unión (CaCl<sub>2</sub> 1 mM, MnCl<sub>2</sub> 1 mM, NaCl 0.5 M en Tris 20 mM, pH 7.3).

**Enriquecimiento con lectinas y desglicosilación:** Los péptidos resultantes fueron cuantificados mediante el método de O-ftalaldehído (OPA, por sus siglas en inglés) [Kaji *et al*, 2006]. Posteriormente, 100 µg de péptidos fueron mezclados con 210 µg de concanavalina A de *Canavalia ensiformis* tipo VI (ConA) disueltos en 36 µl de buffer de unión 2X; las mezclas fueron transferidas a filtros Amicon Ultracel 3K nuevos. Después de incubar durante 1 h a temperatura ambiente, los péptidos que no fueron unidos se eluyeron por centrifugación a 14,000 x g a 18°C por 10 min. Los péptidos que si fueron capturados se lavaron 4 veces con 200 µl de buffer de unión y 2 veces con 50 µl de buffer de digestión en agua <sup>18</sup>O 97% átomo (Sigma-Aldrich Co. LLC., St. Louis, Missouri, USA). Por último, 2 µl de PNGasa F (Promega Corp., Madison, WI, USA) a concentración 1 U/ml agua <sup>18</sup>O en 40 µl de buffer de digestión en agua <sup>18</sup>O fueron añadidos a los filtros y estos incubados durate 3 h a 37 °C. Los péptidos desglicosilados fueron eluidos con 100 µl de buffer de digestión.

**Fraccionamiento por cromatografía de fase reversa:** Tanto los péptidos desglicosilados como los no glicosilados fueron fraccionados mediante el kit Pierce High pH Reversed-Phase Peptide Fractionation (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL, USA) de acuerdo a las indicaciones del fabricante (**Anexo 6**).

**Análisis por espectrometría de masas:** Cada fracción obtenida de péptidos se resuspendió en 25 µl ácido fórmico al 0.1 %. De las 10 fracciones obtenidas (con lavados incluidos), algunas de ellas fueron mezcladas para obtener un total de 5 fracciones enriquecidas, las cuales fueron inyectadas en un sistema de espectrometría de masas (MS) Synapt HDMS (Waters Corp., Manchester, UK) acoplado a un cromatógrafo nanoUPLC nanoAcquity (Waters Corp., Milford, MA, USA) mediante fuente de ionización nanoES, precolumna Symmetry C<sub>18</sub> 5 µm, 20 mm × 180 µm, (Waters Corp., Milford, MA, USA) y una columna analítica BEH130 C<sub>18</sub> 1.7 µm, 100 mm × 100 µm (Waters Corp., Milford, MA, USA). El análisis se realizó en modo V positivo, utilizando [Glu]-Fibrinopeptide B (200 fmol/µL) para la corrección de masas intracorrida, en un intervalo de 50-2500 m/z en modo MS<sup>e</sup>. El gradiente de fase móvil que utilizó fue:

Tiempo (min)	Flujo (µL/min)	%A	%B
0	0.6	97	3
2	0.6	95	5
50	0.6	20	80
55	0.6	90	10
60	0.6	95	5

**Búsqueda en base de datos:** Los datos fueron procesados en el software Masslynx 2.1 (Waters Corp., Milford, MA, USA) para generar archivos \*.PKL, e introducirse en el motor de búsqueda MASCOT 2.5 (Matrix Science, London, UK) e identificar las proteínas. Dichas búsquedas se realizaron contra la base de datos de *Mus musculus* (C57 BL/6) de UniProt la cual consta de 51,949 proteínas (<http://www.uniprot.org/proteomes/UP000000589>). Se eligió la carbamidometilación de cisteínas como modificación fija y la oxidación de metioninas, acetilación de N-terminal, así como deamidación de asparagina e incorporación de <sup>18</sup>O (en el caso de los péptidos desglicosilados) como modificaciones variables. Se permitió la omisión de hasta dos cortes de proteasas y una tolerancia de MS de 100 ppm y de MS/MS de 0.5 Da. El FDR permitido fue de 0.1.

**Análisis de redes de interacción proteína-proteína:** Con los datos obtenidos del análisis de MS se prosiguió a realizar un análisis de redes de interacción proteína-proteína mediante la base datos STRING 10.5 [Szklarczyk *et al*, 2015] para crear un esquema de interacción por cada grupo experimental.

## **Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron con el módulo de análisis del programa Sigma-Plot Versión 12.3 (Systat Software Inc., San José, CA, USA). Se determinó si los datos provenían de una distribución normal por medio de una prueba de Shapiro-Wilk [Ghasemi y Zahedias, 2012]. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía, así como una prueba posthoc de Holm-Sidak para valorar las diferencias entre tratamientos. Se consideró que existían diferencias significativas cuando  $p < 0.05$ . Los valores graficados corresponden a la media aritmética de cada grupo y la barra de error al error estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Método para la obtención del aislado proteínico y su caracterización

El método desarrollado para la obtención del aislado proteínico, se basó en lo reportado previamente en dos estudios [Escudero *et al*, 2004; Mendonça *et al*, 2009], en los cuales la proteína es extraída a partir de la harina de la semilla en pH básico (11) con hidróxido de sodio y después precipitada con HCl a pH 7 o 4.5. Por otro lado, Salcedo-Chávez *et al*, [2002] reportaron el perfil completo de la solubilidad de la proteína de semilla de amaranto, concluyendo que el pH de máxima solubilidad está entre 10 y 11, mientras que el de mínima solubilidad es 4; por lo que para el método desarrollado se eligieron pH 10 y 4 como los parámetros óptimos.

En los métodos descritos previamente [Escudero *et al*, 2004; Mendonça *et al*, 2009], el medio se alcalinizó con NaOH 1.0-5.0 M y se acidificó con HCl 1.0 M, teniendo como resultado una concentración alta de NaCl debido a la concentración de ácido y base, además de que por no contener pares ácido/base para amortiguar el cambio de pH, el método a nivel escalado podría volverse poco reproducible. Estas cuestiones fueron mejoradas en el método utilizado ya que se utilizaron concentraciones de amortiguadores de pH (Ca<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y citrato de sodio) a una concentración de 10 mM. En la **Figura 4** se puede apreciar el patrón electroforético de cada aislado en condiciones nativas, no reductoras y reductoras de electroforesis.

En condiciones nativas se aprecia un oligómero mayor a 440 kDa en ambos aislados; en el caso de la proteína de amaranto se aprecia también una banda visible de aproximadamente 140 kDa y en el caso de soya una mayor a 669 kDa. En condiciones no reductoras se aprecian bandas predominantes en el aislado de amaranto en el intervalo de 35 a 80 kDa y una banda con peso mayor a 220 kDa, mientras que en la soya se aprecian en un intervalo de 50 a 220 kDa y algunas bandas menores a 20 kDa.

En condiciones reductoras se aprecian las bandas características de las globulinas 11S en el caso del amaranto (20-23 y 30-40 kDa) [Barba de la Rosa *et al*, 1992], y de las globulinas 7S (55 y 80 kDa) y 11S (18-21 y 30-40 kDa) [Catsimpoolas *et al*, 1967; Catsimpoolas y Ekenstam, 1969]. Estos perfiles electroforéticos indican que los componentes mayoritarios obtenidos mediante el proceso de extracción son las globulinas 11S en el caso del amaranto y de 7S y 11S en el caso de la soya, los cuales son los componentes principales de las proteínas de reserva de ambas semillas.

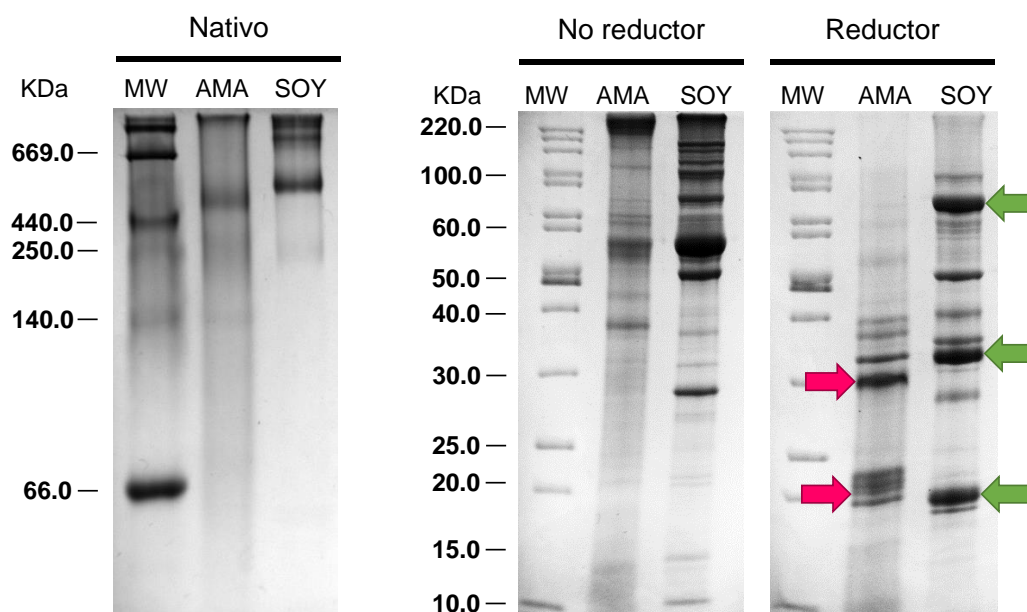


Figura 4. Perfil electroforético de los aislados de proteína de amaranto y soya. Se marcan con flechas rosas las bandas correspondientes a globulinas 11S de amaranto y en verde las correspondientes a globulinas 7S y 11S de soya.

Posteriormente, se realizó un análisis proximal de los aislados para confirmar que el contenido mayoritario fuera proteína. Los resultados se muestran en la **Tabla 5**. Dichos resultados demuestran que los compuestos aislados durante el proceso de extracción son mayoritariamente proteínas.

Tabla 5. Análisis proximal de los aislados de proteína de amaranto y soya. Los resultados se expresan en base seca.

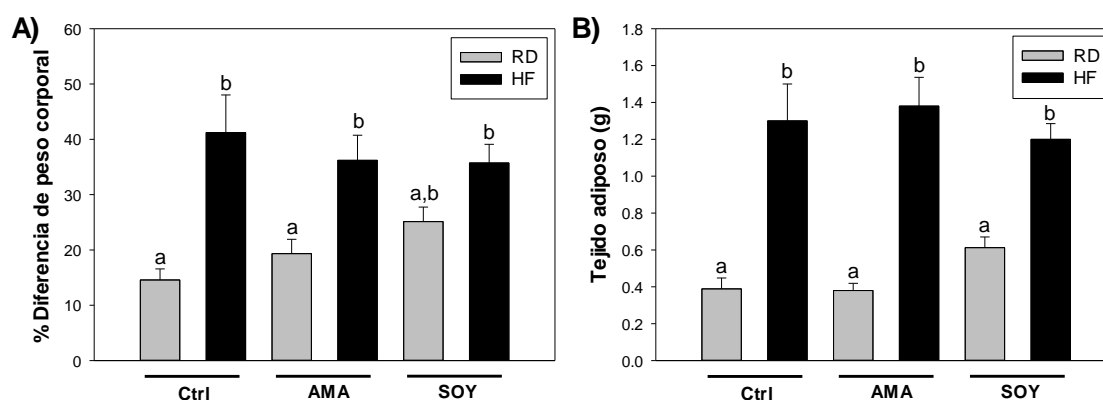
Contenido (g/100 g)	Amaranto	Soya
Lípidos	0.94	1.11
Proteína	76.54	85.50
Carbohidratos*	22.52	13.39

\*Determinado por diferencia

En comparación con el aislado proteínico de amaranto obtenido por Escudero *et al*, [2004], el aislado del presente estudio presenta una menor cantidad de lípidos (0.94 vs. 5.9 g/100 g) y de carbohidratos (22.52 g vs. 33.59 g/100 g), así como un aumento del contenido de proteína (76.54 vs. 52.56 g/100 g). En contraste, cuando se compara con el análisis obtenido por Mendonça *et al*, [2009] se encontró que el contenido de proteína del aislado del presente estudio fue menor (76.54 vs. 96 g/100 g), y los de carbohidratos (22.52 g vs. 2.1 g/100 g) y lípidos fueron mayores (0.94 vs. 0.7 g/100g); sin embargo, debido a que el aislado proteínico en dicho estudio se administró junto con la dieta, los contenidos nutrimentales son diferentes.

## Peso corporal y tejido adiposo

El porcentaje de diferencia de peso de los ratones entre el inicio y el final del experimento fue tomado como una de las variables secundarias del estudio; la diferencia entre los grupos Ctrl-RD y Ctrl-HF fue de alrededor del 25% confirmando con ello que el modelo indujo un estado de obesidad como se ha reportado previamente [Andrikopoulos *et al.* 2008]. Los resultados de éstas mediciones se muestran en la **Figura 5A**, apreciándose una tendencia del grupo SOY-RD a incrementar en comparación con el grupo control de RD y el de AMA-RD, mientras que los demás grupos (AMA y Ctrl) resultaron en una respuesta homogénea de incremento con HF en comparación con los grupos RD. Para comprobar si el aumento de peso fue producido por un incremento de tejido adiposo, se obtuvo el peso fresco del epidídimo testicular, arrojando los resultados que se muestran en la **Figura 5B**. En éste caso el tejido adiposo parece mantener la tendencia en el caso del grupo de SOY-RD, no obstante no se presentó diferencia estadísticamente significativa.



**Figura 5. Resultados de la medición de parámetros fisiológicos incluidos en el estudio después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). A) Porcentaje de diferencia de peso. B) Cantidad de tejido adiposo del epidídimo testicular. Diferentes letras entre grupos indican diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).**

Aunque se ha sugerido en estudios previos que el consumo de amaranto en modelos *in vivo* podría prevenir el aumento de peso corporal generado por una dieta hipercalórica [Mithila y Khanum, 2015; Tang y Tsao, 2017], durante el presente estudio no se encontró este efecto probablemente porque sólo se evaluó la proteína, descartando con ello los lípidos y los carbohidratos de la semilla; sin embargo, la dosis utilizada (10 mg/kg) podría ser también un factor en éste aspecto.

## Perfiles de lípidos y de resistencia a la insulina

Se realizó la medición de niveles de colesterol total y triglicéridos en sangre, así como insulina y una curva de tolerancia a la glucosa al final del experimento. Los resultados se pueden apreciar en la **Tabla 6**.

En lo que respecta al colesterol, tanto el grupo de amaranto como el de soya con dieta regular presentaron un aumento significativo en comparación con el grupo Ctrl-RD, pero estos niveles no llegaron al valor del Ctrl-HF. En adición, el grupo de AMA-HF presentó una concentración de colesterol significativamente menor a las de los grupos de Ctrl-HF y SOY-HF, incluso la de éste último rebasó a todos los grupos evaluados. Por otro lado, el comportamiento de los niveles de triglicéridos en los grupos fue similar al que se obtuvo con el de colesterol.

En la **Tabla 6**, también se incluyen los valores del área bajo la curva y la insulina plasmática. Las áreas bajo la curva de glucosa, al igual que en el porcentaje de diferencia de peso, presentan un aumento en todos los tratamientos cuando se administró una dieta hipercalórica con respecto a los grupos con dieta normocalórica, por lo que se confirmó que el modelo es adecuado para mostrar la disminución de la eficiencia del metabolismo de carbohidratos y ningún aislado proteínico revierte dicho efecto. Sin embargo, al analizar la concentración plasmática de insulina, se muestra que los grupos tratados con proteína de amaranto (tanto RD como HF) tuvieron los menores niveles en comparación con los grupos Ctrl y SOY, por lo que se puede asumir que existe una mejora en la eficiencia del metabolismo en los grupos de amaranto, pues se alcanzan los mismos niveles de glucosa con una cantidad menor de insulina.

**Tabla 6. Perfiles de lípidos, área bajo la curva de glucosa e insulina después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya**

Grupo	Colesterol (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)	AUC de glucosa (mg/dl)	Insulina (ng/ml)
Ctrl-RD	162.9 <sup>a</sup> ±1.60	102.4 <sup>a</sup> ±3.68	22005 <sup>a</sup> ± 417.1	0.39 <sup>a</sup> ±0.03
Ctrl-HF	168.5 <sup>b</sup> ±0.94	144.0 <sup>b</sup> ±4.60	29943 <sup>b</sup> ±1514.0	0.42 <sup>a</sup> ±0.07
AMA-RD	167.2 <sup>a,b</sup> ±1.24	116.0 <sup>a,b</sup> ±5.61	20826 <sup>a</sup> ± 346.4	0.09 <sup>b</sup> ±0.01
AMA-HF	167.4 <sup>a,b</sup> ±0.73	125.1 <sup>a,b</sup> ±4.82	29728 <sup>b</sup> ±1507.6	0.32 <sup>a</sup> ±0.07
SOY-RD	166.0 <sup>a,b</sup> ±1.59	158.2 <sup>b,c</sup> ±14.5	21495 <sup>a</sup> ± 800.1	0.95 <sup>c</sup> ±0.19
SOY-HF	172.9 <sup>c</sup> ±0.95	178.3 <sup>c</sup> ±11.0	27437 <sup>b</sup> ±1752.7	0.61 <sup>a,c</sup> ±0.08

Promedio de repeticiones ( $n = 8-10$ ) ± error estándar (ES). Diferentes letras superscripts entre grupos indican diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).



## Perfiles de expresión génica

En la **Figura 6** se encuentran las gráficas correspondientes a dichos perfiles. Como se esperaba, el sólo efecto de la dieta marcó diferencias, por ejemplo, *Lep*, *Res*, *Tnf- $\alpha$* , *Fabp4* y *Fasn* resultaron en un aumento de expresión con diferencia estadísticamente significativa por parte del grupo Ctrl-HF en comparación con Ctrl-RD. Sin embargo, en los genes *Adpn* y *Lpl* aunque se aprecia un aumento discreto, la diferencia no fue significativa.

Por otro lado, al comparar algunos genes como *Res*, *Tnf- $\alpha$* , *Fabp4* y *Fasn* de los distintos tipos de dieta entre tratamientos se demostró que el consumo de proteína en los tratamientos de HF disminuyó la expresión de dichos genes retornando dichos valores hasta a un nivel similar al Ctrl-RD como es el caso del grupo AMA-HF en los genes *Res*, *Tnf- $\alpha$*  y *Fasn*. No obstante, el grupo de SOY-HF obtuvo la mayor expresión, incluso por arriba del grupo Ctrl-HF en los genes *Res*, *Adpn* y *Lpl*, de manera inesperada. Otro aspecto notable, fue en el grupo de SOY-RD, en el que la expresión relativa de los genes *Lep*, *Res*, *Adpn*, *Fabp4* y *Lpl* fue cercana a cero.

Adicionalmente, se obtuvo a partir de este análisis un *heat map* mediante el cual la expresión relativa de los ARNm estudiados pudo ser agrupada de acuerdo a cada grupo de tratamiento. El *heat map* se muestra en la **Figura 7** y en él se pueden distinguir dos clústeres de genes: uno de ellos incluyendo a *Res*, *Lpl* y *Adpn*, y otro de ellos englobado a *Tnf- $\alpha$* , *Fasn*, *Lep* y *Fabp4*. En el caso del primer clúster se confirma que el grupo de SOY-HF es el que posee los mayores niveles de expresión y que el grupo AMA-HF tiene abatida la expresión, mientras que los grupos de RD no poseen diferencias. En el segundo clúster se aprecian dos subclústeres en el que uno de ellos corresponde a *Tnf- $\alpha$*  y el otro a *Fasn*, *Lep* y *Fabp4*, esto se debe a que el perfil de *Tnf- $\alpha$*  refleja diferencias como los niveles de AMA-RD y Ctrl-RD que son más bajos que en otros grupos; otra diferencia notable es la AMA-RD y SOY-RD en el gen de *Fasn*, ya que los niveles son mayores que en otros genes.

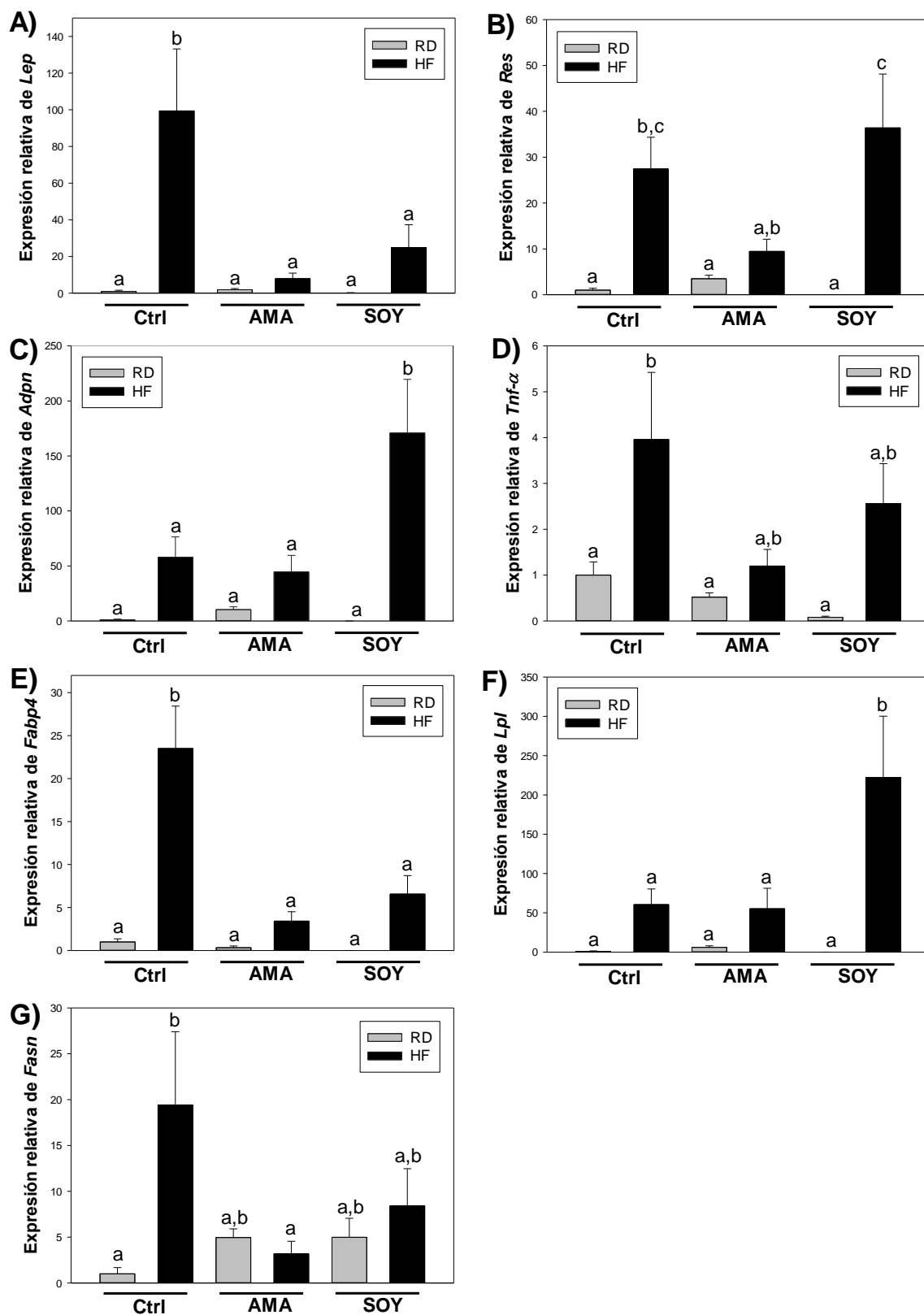


Figura 6. Perfil de expresión génica en 7 genes relacionados con el metabolismo de lípidos obtenido después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Diferentes letras entre grupos indican diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

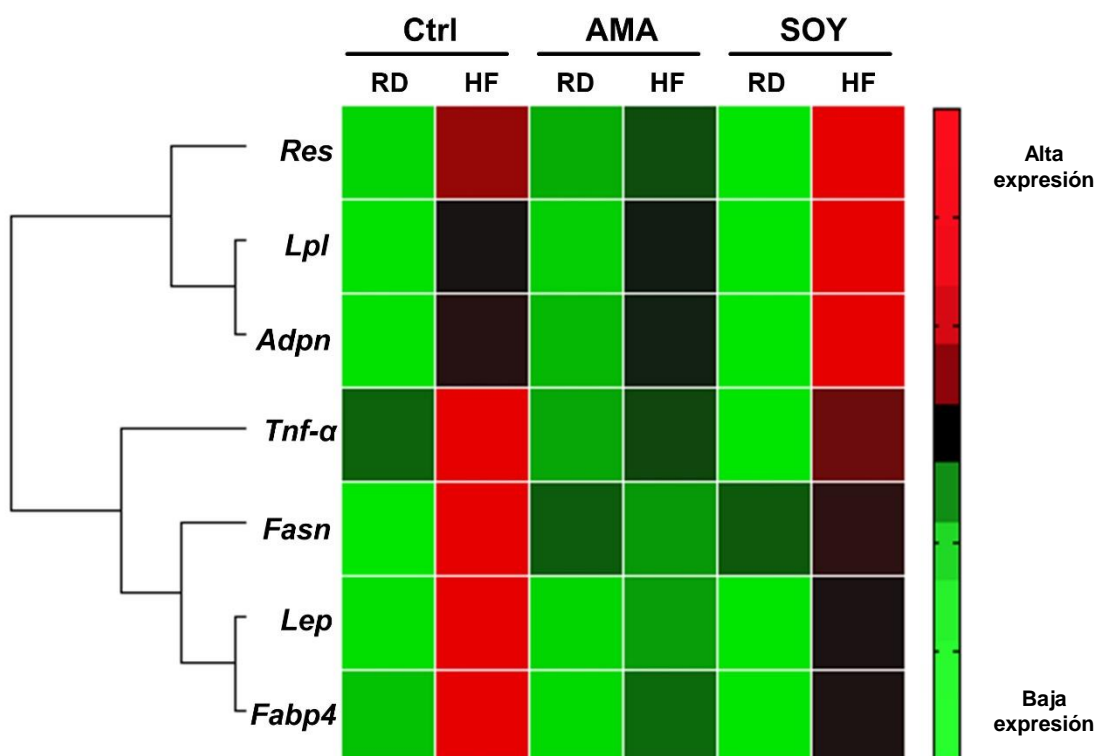


Figura 7. Heat map obtenido con los perfiles de expresión génica analizados. En rojo se señala una alta expresión, mientras que en verde se señala una expresión disminuida y en negro una expresión nula.

### Análisis glicoproteómico

Los datos generados en el análisis glicoproteómico se encuentran resumidos en la **Tabla 7**. En dicha Tabla, se especifica la localización o ruta en la que se han reportado las proteínas detectadas en el análisis, destacando en la misma la presencia de las proteínas Apo, las cuales están ubicadas en los quilomicrones, lipoproteínas de alta densidad y de baja densidad, de acuerdo a lo marcado por la base de datos STRING. El resto de las proteínas resultantes del análisis de MS fueron localizadas en el espacio extracelular, exosoma extracelular y región extracelular como se puede apreciar en cada uno de los grupos. En el **Anexo 3** se puede consultar la Tabla de proteínas glicosiladas, donde se visualizan los péptidos obtenidos para cada grupo experimental, así como su secuencia y la proteína identificada.

Respecto al glicoproteoma, una de las proteínas que con mayor frecuencia se encontró en los grupos de tratamiento fue la albúmina, teniendo ésta a su vez relación con diversas proteínas dentro de cada red y estando ubicada en la parte central de cada una de las redes. En la **Figura 8** se muestra la red de interacción proteína-proteína de cada grupo; como se puede apreciar, la

mayoría de las interacciones poseen un efecto sin especificación; es decir, no se conoce si es un efecto de inhibición o de agonismo.

Una de las diferencias más notables en las redes de interacción, es la presencia de las proteínas Hb, las cuales aparecen solo en los grupos Ctrl-RD, AMA-RD y SOY-RD, disminuyendo en éste orden el número de las mismas (3 en Ctrl-RD, 2 en AMA-RD y 1 en SOY-RD). Las proteínas Hba-a2 están relacionadas con la unión a metales como el hierro y regulación procesos celulares aún no establecidos con detalle [UNIPROT, 2017a], mientras que las Hbb-b2 están relacionadas con el transporte de oxígeno [UNIPROT, 2017b].

Por otro lado, en la parte derecha de cada red se aprecia la interacción con proteínas de la familia Serpina; dichas proteínas aparecen con mayor frecuencia en los grupos de tratamiento de AMA-HF y SOY-RD, sugiriendo con ello un aumento en la expresión de estas proteínas. Las Serpinas son proteínas que han sido relacionadas con la inflamación y la coagulación, actuando además mediante un mecanismo de acción inusual, el cual consiste en inhibir de manera irreversible su objetivo por medio de un cambio conformacional [Heit *et al*, 2013].

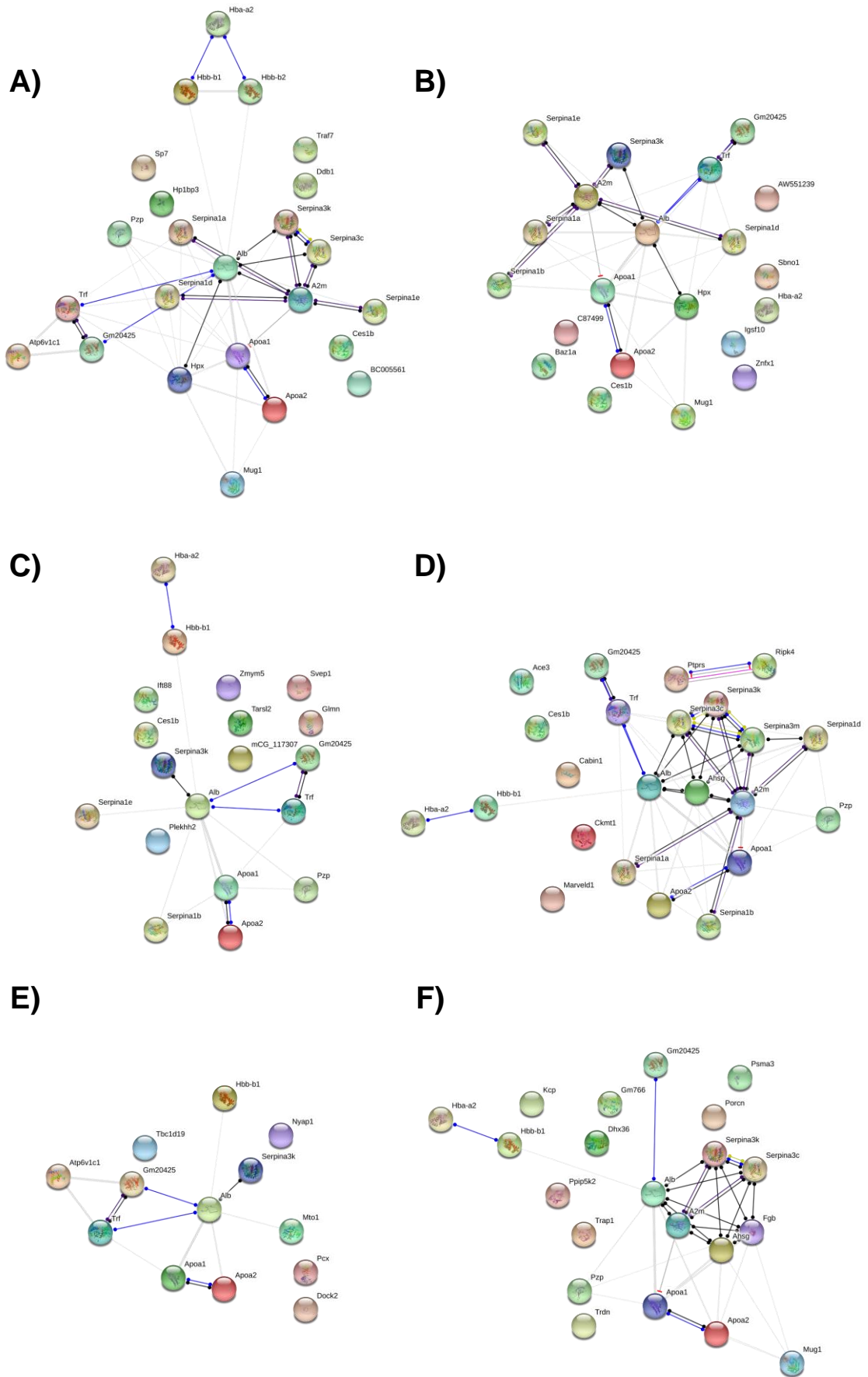


Figura 8. Red de interacciones entre glicoproteínas detectadas en cada grupo analizado mediante la base datos STRING. A = Ctrl-RD, B = Ctrl-HF, C = AMA-RD, D = AMA-HF, E = SOY-RD, F = SOY-HF.

Tabla 7. Localización o vía en la que se encuentran las glicoproteínas detectadas mediante la base de datos STRING.

Grupo	Localización o vía	Cuenta de genes	FDR	Proteínas relacionadas
Ctrl-RD	Vesícula delimitada por membrana	14	5.60E-05	A2m,Alb,Apoa1,Apoa2,Atp6v1c1,Ddb1,Hpx,Serpina1a,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3c,Serpina3k,Traf7,Trf
	Parte de la región extracelular	14	0.000126	A2m,Alb,Apoa2,Atp6v1c1,Ddb1,Hpx,Mug1,Pzp,Serpina1a,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3c,Serpina3k,Trf
	Espacio extracelular	13	7.87E-09	A2m,Alb,Apoa2,Ddb1,Hpx,Mug1,Pzp,Serpina1a,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3c,Serpina3k,Trf
	Exosoma extracelular	13	4.76E-05	A2m,Alb,Apoa1,Apoa2,Atp6v1c1,Ddb1,Hpx,Serpina1a,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3c,Serpina3k,Trf
	Vesícula	13	0.000562	A2m,Alb,Apoa1,Apoa2,Ddb1,Hpx,Serpina1a,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3c,Serpina3k,Traf7,Trf
	Región extracelular	12	0.0184	A2m,Alb,Apoa2,Atp6v1c1,Ddb1,Hpx,Serpina1a,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3c,Serpina3k,Trf
	Microparticulas sanguíneas	8	4.12E-11	A2m,Alb,Apoa1,Apoa2,Hpx,Serpina3c,Serpina3k,Trf
	Lipoproteína de alta densidad	2	0.00254	Apoa1,Apoa2
	Quilomicrón	2	0.0101	Apoa1,Apoa2
	Lipoproteína de muy baja densidad	2	0.0184	Apoa1,Apoa2
Ctrl-HF	Espacio extracelular	11	5.20E-07	A2m,Alb,Apoa2,Hpx,Mug1,Serpina1a,Serpina1b,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3k,Trf
	Exosoma extracelular	11	0.00067	A2m,Alb,Apoa1,Apoa2,Hpx,Serpina1a,Serpina1b,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3k,Trf
	Región extracelular	11	0.0187	A2m,Alb,Apoa2,Hpx,Igsf10,Serpina1a,Serpina1b,Serpina1d,Serpina1e,Serpina3k,Trf
	Microparticulas sanguíneas	7	1.83E-09	A2m,Alb,Apoa1,Apoa2,Hpx,Serpina3k,Trf
	Lipoproteína de alta densidad	2	0.00276	Apoa1,Apoa2
	Quilomicrón	2	0.00771	Apoa1,Apoa2
	Lipoproteína de muy baja densidad	2	0.0151	Apoa1,Apoa2
AMA-RD	Espacio extracelular	7	0.00908	Alb,Apoa2,Pzp,Serpina1b,Serpina1e,Serpina3k,Trf
	Microparticulas sanguíneas	5	1.38E-05	Alb,Apoa1,Apoa2,Serpina3k,Trf
	Lipoproteína de alta densidad	2	0.00788	Apoa1,Apoa2
	Quilomicrón	2	0.0173	Apoa1,Apoa2
	Lipoproteína de muy baja densidad	2	0.0266	Apoa1,Apoa2
AMA-HF	Exosoma extracelular	14	2.03E-06	A2m,Ahsg,Alb,Apoa1,Apoa2,Ckmt1,Ptprs,Serpina1a,Serpina1b,Serpina1d,Serpina3c,Serpina3k,Serpina3m,Trf

Grupo	Localización o vía	Cuenta de genes	FDR	Proteínas relacionadas
	Parte de la región extracelular	14	5.35E-05	A2m,Ahsg,Alb,Apoa2,Ckmt1,Ptprs,Pzp,Serpina1a,Serpina1b,Serpina1d,Serpina3c,Serpina3k,Serpina3m,Trf
	Región extracelular	13	0.00212	A2m,Ahsg,Alb,Apoa2,Ckmt1,Ptprs,Serpina1a,Serpina1b,Serpina1d,Serpina3c,Serpina3k,Serpina3m,Trf
	Espacio extracelular	12	9.02E-08	A2m,Ahsg,Alb,Apoa2,Pzp,Serpina1a,Serpina1b,Serpina1d,Serpina3c,Serpina3k,Serpina3m,Trf
	Microparticulas sanguíneas	9	1.62E-13	A2m,Ahsg,Alb,Apoa1,Apoa2,Serpina3c,Serpina3k,Serpina3m,Trf
	Lipoproteína de alta densidad	2	0.00212	Apoa1,Apoa2
	Quilomicrón	2	0.00851	Apoa1,Apoa2
	Lipoproteína de muy baja densidad	2	0.0168	Apoa1,Apoa2
SOY-RD	Exosoma extracelular	7	0.0263	Alb,Apoa1,Apoa2,Atp6v1c1,Dock2,Serpina3k,Trf
	Microparticulas sanguíneas	5	1.56E-06	Alb,Apoa1,Apoa2,Serpina3k,Trf
	Lipoproteína de alta densidad	2	0.0036	Apoa1,Apoa2
	Quilomicrón	2	0.0105	Apoa1,Apoa2
	Lipoproteína de muy baja densidad	2	0.0146	Apoa1,Apoa2
SOY-HF	Parte de la región extracelular	13	0.000327	A2m,Ahsg,Alb,Apoa2,Dhx36,Fgb,Kcp,Mug1,Psma3,Pzp,Serpina3c,Serpina3k,Trap1
	Exosoma extracelular	11	0.000574	A2m,Ahsg,Alb,Apoa1,Apoa2,Dhx36,Fgb,Psma3,Serpina3c,Serpina3k,Trap1
	Región extracelular	11	0.0187	A2m,Ahsg,Alb,Apoa2,Dhx36,Fgb,Kcp,Psma3,Serpina3c,Serpina3k,Trap1
	Espacio extracelular	10	1.05E-05	A2m,Ahsg,Alb,Apoa2,Fgb,Kcp,Mug1,Pzp,Serpina3c,Serpina3k
	Microparticulas sanguíneas	8	1.15E-11	A2m,Ahsg,Alb,Apoa1,Apoa2,Fgb,Serpina3c,Serpina3k
	Lipoproteína de alta densidad	2	0.00242	Apoa1,Apoa2
	Quilomicrón	2	0.00771	Apoa1,Apoa2
	Lipoproteína de muy baja densidad	2	0.0151	Apoa1,Apoa2

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos sugieren, en el modelo evaluado, que el consumo de 10 mg/kg de proteína de amaranto provee de un aumento de la eficiencia en el metabolismo de los carbohidratos y grasas cuando hay un estado de obesidad, así como una disminución de ~13% en los niveles de triglicéridos y ~24% en los niveles de insulina. Dicha acción, de acuerdo a los perfiles de expresión génica y el análisis glicoproteómico, está relacionada con la sensibilización de la insulina mediada por la reducción en los niveles de expresión de *Lep*, una afectación en el equilibrio de síntesis/metabolismo de ácidos grasos por la reducción de *Fabp4* y *Fasn*, así como una reversión del estado inflamatorio producida probablemente por el descenso de la expresión de *Tnf- $\alpha$*  y *Res*.

Adicionalmente, el análisis glicoproteómico indica algunas diferencias cualitativas en la expresión entre los grupos de estudio, destacando la presencia de proteínas Hb en los grupos con RD y su ausencia en los grupos con HF, así como la alta frecuencia de proteínas de la familia Serpina en los grupos AMA-HF y SOY-HF y su frecuencia menor en los demás grupos, sugiriendo con ello un posible papel de la proteína de AMA y SOY.

En conclusión, el presente estudio demuestra por primera vez que un aislado de proteína de AMA puede modificar la expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos y de inflamación, explicando con ello el efecto a nivel de triglicéridos plasmáticos y producción de insulina en un modelo de obesidad inducida por dieta. Estos hallazgos pueden contribuir al desarrollo de estrategias terapéuticas para la obesidad y sus padecimientos asociados tomando como base las proteínas de granos funcionales como el AMA.



## REFERENCIAS

1. Aleixandre A, Miguel M. Zucker rats as an experimental model for the study of various diseases. *Endocrinol Nutr.* 2008 May;55(5):217-22. Epub 2008 Oct 15.[Article in English, Spanish].
2. Almanza-Pérez J, Blancas-Flores G, Vázquez-Carrillo L, Ángeles-Mejía S, García-Macedo R, Cruz-López M, Román-Ramos R y Alarcón-Aguilar F. Modelo Experimental de Ratones con Obesidad, Resistencia a la Insulina y Diabetes. 2° Congreso Nacional de Química Médica, Querétaro, México. 4-8 Septiembre del 2006. Disponible en: [http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2007/ee-07-2007/documentos/trabajos\\_libres/04\\_almanza-perez\\_y\\_col.\(a\).pdf](http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2007/ee-07-2007/documentos/trabajos_libres/04_almanza-perez_y_col.(a).pdf) (Consultado: 25 de mayo de 2017).
3. Andrikopoulos S, Blair AR, Deluca N, Fam BC, Proietto J. Evaluating the glucose tolerance test in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;295:E1323-32.
4. AOAC, Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 18th edn., 2007.
5. Barba de la Rosa AP, Gueguen J, Paredes-Lopez O, Viroben G. Fractionation procedures, electrophoretic characterization, and amino acid composition of amaranth seed proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 1992, 40 (6), pp 931–936. DOI: 10.1021/jf00018a002
6. Benavides F, Guénet J. Manual de Genética de Roedores de Laboratorio, Principios Básicos y Aplicaciones. Universidad de Alcalá de Henares, 2003. Disponible en: [http://www.transtechsociety.org/benavides\\_guenet\\_2003.php](http://www.transtechsociety.org/benavides_guenet_2003.php). (Consultado: 25 de mayo de 2017).
7. Catsimpoolas N, Ekenstam C. 1969. Isolation of alpha, beta, and gamma conglycinins. *Arch. Biochem. Biophys.* 129: 490-497.
8. Catsimpoolas N, Rogers DA, Circle SJ, Meyer EW. 1967. Purification and structural studies of the 11S component of soybean proteins. *Cereal Chem.* 44: 631-637.
9. de la O Olán M, Espitia Rangel E, Ayala Garay AV, Hernández Casillas JM, Arellano Vázquez JL, Ruiz Hernández VC. 2012. Caracterización morfológica de germoplasma para grano de amaranto (*Amaranthus* spp.) en: Espitia Rangel E. (ed). *Amaranto: Ciencia y Tecnología. Libro Científico No. 2. INIFAP/SINAREFI.* México, pp (165-181).
10. DGE (Dirección General de Epidemiología). Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Septiembre 2012. Disponible en: [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig\\_epid\\_manuales/10\\_2012\\_Manual\\_DM2\\_vFinal\\_31oct12.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig_epid_manuales/10_2012_Manual_DM2_vFinal_31oct12.pdf). (Consultado: 25 de mayo de 2017).

11. DOF (Diario Oficial de la Federación). NOM-062-ZOO-1999 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, 2001. Disponible en: [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=762506&fecha=22/08/2001](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=762506&fecha=22/08/2001) (Consultado: 5 de junio de 2017).
12. Escudero NL, de Arellano ML, Luco JM, Gimenez MS, Mucciarelli SI. Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. *Plant Foods Hum Nutr* 2004 59:15–21.
13. EUFIC (European Food Information Council). Functional foods, 2006. Disponible en: <http://www.eufic.org/en/food-production/article/functional-foods> (Consultado: 25 de mayo de 2017).
14. FAO (Food and Agriculture Organization). Nutritional Requirements, 2017. Disponible en: <http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/common-carp/nutritional-requirements/en/> (Consultado: 25 de mayo de 2017).
15. Ghasemi A, Zahediasl S. Normality tests for statistical analysis: a guide for non-statisticians. *Int J Endocrinol Metab*. 2012 Spring;10(2):486-9. doi: 10.5812/ijem.3505. Epub 2012 Apr 20.
16. Han TS, Lean ME. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM Cardiovasc Dis*. 2016 Feb 25;5:2048004016633371. doi: 10.1177/2048004016633371. eCollection 2016 Jan-Dec.
17. Heit C, Jackson BC, McAndrews M, Wright MW, Thompson DC, Silverman GA, Nebert DW, Vasiliou V. Update of the human and mouse SERPIN gene superfamily. *Hum Genomics*. 2013 Oct 30;7:22. doi: 10.1186/1479-7364-7-22.
18. Huerta-Ocampo JA, Barba de la Rosa AP. Amaranth: A pseudo-cereal with nutraceutical properties. *Current Nutrition and Food Science*. 2011, 7: 1-9
19. INSP (Instituto Nacional de Salud Pública). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Disponible en: <http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf> (Consultado: 25 de mayo de 2017).
20. Kaji H, Yamauchi Y, Takahashi N, Isobe T. Mass spectrometric identification of N-linked glycopeptides using lectin-mediated affinity capture and glycosylation site-specific stable isotope tagging. *Nat Protoc*. 2006;1(6):3019-27.
21. Keane KN, Calton EK, Carlessi R, Hart PH, Newsholme P. The bioenergetics of inflammation: insights into obesity and type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr*. 2017 Apr 12. doi: 10.1038/ejcn.2017.45.
22. King AJ. The use of animal models in diabetes research. *Br J Pharmacol*. 2012 Jun;166(3):877-94. doi: 10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x.
23. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol*. 2016 Jul;33(7):1870-4. doi: 10.1093/molbev/msw054. Epub 2016 Mar 22.

24. Martínez-Maqueda D, Hernández-Ledesma B, Amigo L, Miralles B, Gómez-Ruiz JA. (2013) Extraction/Fractionation Techniques for Proteins and Peptides and Protein Digestion in Toldrá F, Nollet LML (Eds.), *Proteomics in Foods, Principles and Applications* (pp. 21-42) New York, NY: Springer Science+Business Media.
25. Mendonça S, Saldiva PH, Cruz RJ, Arêas JAG. Amaranth protein presents cholesterol lowering effect. *Food Chem* 2009 116:738–42.
26. Mithila MV, Khanum F. Effectual comparison of quinoa and amaranth supplemented diets in controlling appetite; a biochemical study in rats. *J Food Sci Technol*. 2015 Oct;52(10):6735-41. doi: 10.1007/s13197-014-1691-1. Epub 2015 Jan 16.
27. OCDE (Organización para la cooperación y desarrollo económico). *Cardiovascular Disease and Diabetes: Policies for Better Health and Quality of Care* Junio 2015. Disponible en: <http://www.oecd.org/mexico/Cardiovascular-Disease-and-Diabetes-Policies-for-Better-Health-and-Quality-of-Care-Mexico-In-Spanish.pdf> (Consultado: 25 de mayo de 2017).
28. OMS (Organización Mundial de la Salud). *Obesidad y sobrepeso, Nota descriptiva N°311*. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/> (Consultado: 25 de mayo de 2017).
29. Panchal SK, Brown L. Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:351982. doi: 10.1155/2011/351982. Epub 2010 Dec 30.
30. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*. 2010;1(2):87-93. doi:10.4103/0976-500X.72350.
31. Rastogui A, Shukla S. Amaranth: A new millennium crop of nutraceutical values. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2013, 53:109-125
32. Riobó P. Obesity and Diabetes. *Nutrición Hospitalaria*. 2013. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v28s5/16articulo16.pdf>. (Consultado: 15 de Abril de 2016).
33. Romero-Zepeda H, Paredes-Lopez O. (1995), Isolation And Characterization Of Amarantin, The 11s Amaranth Seed Globulin. *Journal of Food Biochemistry*, 19: 329–339. doi:10.1111/j.1745-4514.1995.tb00538.x
34. Salcedo-Chávez B, Osuna-Castro JA, Guevara-Lara F, Domínguez-Domínguez J, Paredes-López O. Optimization of the isoelectric precipitation method to obtain protein isolates from amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds. *J Agric Food Chem*. 2002 Oct 23;50(22):6515-20.
35. Selthofer-Relatić K, Bošnjak I, Kibel A. Obesity Related Coronary Microvascular Dysfunction: From Basic to Clinical Practice. *Cardiol Res Pract*. 2016;2016:8173816. doi: 10.1155/2016/8173816. Epub 2016 Mar 22.

36. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance--a review. Siró I, Kápolna E, Kápolna B, Lugasi A. *Appetite*. 2008 Nov;51(3):456-67. doi: 10.1016/j.appet.2008.05.060. Epub 2008 Jun 4.
37. Speakman J, Hambly C, Mitchell S, Król E. Contribución de los modelos Animales a la Obesidad. *Laboratory Animal* (2008) 42, 413-432.
38. SSA (Secretaria de Salud). Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012. Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Noviembre 2013. Disponible en: <http://educacion.tamaulipas.gob.mx/wp-content/uploads/2014/06/NOM-043-2012.pdf> (Consultado: 25 de mayo de 2017).
39. SSA-DF (Secretaria de Salud del Distrito Federal). Sobrepeso y Obesidad.No a la Obesidad. Disponible en: [http://www.noalaobesidad.df.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=44&Itemid=59](http://www.noalaobesidad.df.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=44&Itemid=59) (Consultado: 25 de mayo de 2017).
40. Stojek MMK, MacKillop J. Relative reinforcing value of food and delayed reward discounting in obesity and disordered eating: A systematic review. *Clin Psychol Rev*. 2017 Apr 21;55:1-11. doi: 10.1016/j.cpr.2017.04.007.
41. Study.com. What Are Lipoproteins? - Definition, Functions & Types. 2017. Disponible en: <http://study.com/academy/lesson/what-are-lipoproteins-definition-functions-types.html> (Consultado: 25 de mayo de 2017).
42. Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes*. 1988 Sep;37(9):1163-7.
43. Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, Forslund K, Heller D, Huerta-Cepas J, Simonovic M, Roth A, Santos A, Tsafou KP, Kuhn M, Bork P, Jensen LJ, von Mering C. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic Acids Res*. 2015 Jan;43(Database issue):D447-52. doi: 10.1093/nar/gku1003. Epub 2014 Oct 28.
44. UNIPROT. UniProtKB - Q91VB8 (Q91VB8\_MOUSE). Disponible en: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q91VB8> (Consultado 18 de diciembre de 2017).
45. UNIPROT. UniProtKB - Q549D9 (Q549D9\_MOUSE). Disponible en: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q549D9> (Consultado 18 de diciembre de 2017).
46. Velarde-Salcedo AJ, Barrera-Pacheco A, Lara-González S, Montero-Morán GM, Díaz-Gois A, González de Mejia E, Barba de la Rosa AP. In vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) proteins. *Food Chem*. 2013 Jan 15;136(2):758-64. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.08.032. Epub 2012 Aug 25.
47. Zielinska DF, Gnad F, Wiśniewski JR, Mann M. Precision mapping of an in vivo N-glycoproteome reveals rigid topological and sequence constraints. *Cell*. 2010 May 28;141(5):897-907. doi: 10.1016/j.cell.2010.04.012.



División de Biología Molecular

Camino a la Presa San José 2055 Lomas 4ª Sección 78216 San Luis Potosí, S.L.P.  
Tel. +52(444)834-2000 Fax +52(444)834-2010 [www.ipicyt.edu.mx](http://www.ipicyt.edu.mx)

San Luis Potosí a 04 junio de 2016  
Protocolo Num.: LPBM-AMA-C57/002

Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa  
Investigador Titular "C"  
Presente

**Asunto: Carta de aprobación de la Comisión de bioética y manejo de animales**

Por este conducto manifestamos que la Comisión de Seguridad e Higiene y Medio Ambiente en el Trabajo del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (CSHyMA-IPICYT), a través del Comisión de bioética y manejo de animales (CBMA), integrada por: Dr. Carlos Barajas-López, Enfermera Rosa Espinoza Luna, Dra. Irene Beatriz Castaño Navarro y Dr. Ángel Gabriel Alpuche Solís, tiene como una de sus funciones supervisar el manejo adecuado de animales en experimentación con apego a la **Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999**, para aplicar los principios de las 3Rs: **Reemplazar** (utilización de alternativas que produzcan los mismos resultados, tales como experimentos *in vitro*, cultivos celulares, modelos inanimados, modelos por computadora), **Reducir** (utilizar un número mínimo de animales), **Refinar** (utilizar técnicas adecuadas para evitar al máximo el sufrimiento); así mismo, los cadáveres de animales sacrificados deberán disponerse de acuerdo a las medidas de seguridad para agentes biológicos (**NOM-087-ECOL-1995**). Los materiales de desecho, cadáveres o partes de los animales deberán manejarse de acuerdo al procedimiento de Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos conforme la norma **NOM-087-ECOL-SSA1-2002**.

Con base en lo anteriormente mencionado y después de haber revisado la propuesta de investigación "**EFECTO DE UNA FORMULACIÓN ORAL DE PROTEÍNA DE AMARANTO EN EL PERFIL LIPÍDICO Y DE RESISTENCIA A LA INSULINA EN RATONES CON OBESIDAD INDUCIDA POR DIETA**", presentada por la **Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa**, la CMBA manifiesta no tuvo inconveniente con la propuesta citada.

Por otra parte, la CBMA monitorearán que desde el inicio del proyecto se cubra la normatividad requerida por el propio subcomité y por la Secretaría del Trabajo y Previsión Social, y se apege al reglamento interno de bioseguridad del Instituto, mediante las verificaciones trimestrales realizadas por los miembros de la Comisión.

Atentamente,



---

Dr. Carlos Barajas López  
Coordinador de la CBMA  
del IPICYT



---

M.C. Beatriz Adriana Rivera Escoto  
Coordinadora de la CSHyMA del  
del IPICYT

# Teklad Global 18% Protein Rodent Diet (Sterilizable)

**Product Description-** 2018S is a fixed formula, autoclavable diet manufactured with high quality ingredients and designed to support gestation, lactation, and growth of rodents. 2018S does not contain alfalfa, thus lowering the occurrence of natural phytoestrogens. Typical isoflavone concentrations (daidzein + genistein aglycone equivalents) range from 150 to 250 mg/kg. Exclusion of alfalfa reduces chlorophyll, improving optical imaging clarity. Absence of animal protein and fish meal minimizes the presence of nitrosamines. 2018S is supplemented with additional vitamins to ensure nutritional adequacy after autoclaving. **Also available certified (2018SC), the diet most commonly fed in Harlan Laboratories' Rodent Colonies.**

## Macronutrients

Crude Protein	%	18.6
Fat (ether extract) <sup>a</sup>	%	6.2
Carbohydrate (available) <sup>b</sup>	%	44.2
Crude Fiber	%	3.5
Neutral Detergent Fiber <sup>c</sup>	%	14.7
Ash	%	5.3
Energy Density <sup>d</sup>	kcal/g (kJ/g)	3.1 (13.0)
Calories from Protein	%	24
Calories from Fat	%	18
Calories from Carbohydrate	%	58

## Minerals

Calcium	%	1.0
Phosphorus	%	0.7
Non-Phytate Phosphorus	%	0.4
Sodium	%	0.2
Potassium	%	0.6
Chloride	%	0.4
Magnesium	%	0.2
Zinc	mg/kg	70
Manganese	mg/kg	100
Copper	mg/kg	15
Iodine	mg/kg	6
Iron	mg/kg	200
Selenium	mg/kg	0.23

## Amino Acids

Aspartic Acid	%	1.4
Glutamic Acid	%	3.4
Alanine	%	1.1
Glycine	%	0.8
Threonine	%	0.7
Proline	%	1.6
Serine	%	1.1
Leucine	%	1.8
Isoleucine	%	0.8
Valine	%	0.9
Phenylalanine	%	1.0
Tyrosine	%	0.6
Methionine	%	0.6
Cystine	%	0.3
Lysine	%	1.1
Histidine	%	0.4
Arginine	%	1.0
Tryptophan	%	0.2

**Ingredients** (in descending order of inclusion)- Ground wheat, ground corn, wheat middlings, dehulled soybean meal, corn gluten meal, soybean oil, calcium carbonate, dicalcium phosphate, brewers dried yeast, iodized salt, L-lysine, DL-methionine, choline chloride, kaolin, menadione sodium bisulfite complex (source of vitamin K activity), magnesium oxide, vitamin E acetate, calcium pantothenate, thiamin mononitrate, manganese oxide, niacin, ferrous sulfate, zinc oxide, riboflavin, vitamin A acetate, pyridoxine hydrochloride, copper sulfate, vitamin B<sub>12</sub> supplement, folic acid, calcium iodate, biotin, vitamin D<sub>3</sub> supplement, cobalt carbonate.

Standard Product Form: **Pellet**

## Vitamins

Vitamin A <sup>e, f</sup>	IU/g	30.0
Vitamin D <sub>3</sub> <sup>e, g</sup>	IU/g	2.0
Vitamin E	IU/kg	135
Vitamin K <sub>3</sub> (menadione)	mg/kg	100
Vitamin B <sub>1</sub> (thiamin)	mg/kg	117
Vitamin B <sub>2</sub> (riboflavin)	mg/kg	27
Niacin (nicotinic acid)	mg/kg	115
Vitamin B <sub>6</sub> (pyridoxine)	mg/kg	26
Pantothenic Acid	mg/kg	140
Vitamin B <sub>12</sub> (cyanocobalamin)	mg/kg	0.15
Biotin	mg/kg	0.90
Folate	mg/kg	9
Choline	mg/kg	1200

## Fatty Acids

C16:0 Palmitic	%	0.7
C18:0 Stearic	%	0.2
C18:1ω9 Oleic	%	1.2
C18:2ω6 Linoleic	%	3.1
C18:3ω3 Linolenic	%	0.3
Total Saturated	%	0.9
Total Monounsaturated	%	1.3
Total Polyunsaturated	%	3.4

## Other

Cholesterol	mg/kg	--
-------------	-------	----

<sup>a</sup> Ether extract is used to measure fat in pelleted diets, while an acid hydrolysis method is required to recover fat in extruded diets. Compared to ether extract, the fat value for acid hydrolysis will be approximately 1% point higher.

<sup>b</sup> Carbohydrate (available) is calculated by subtracting neutral detergent fiber from total carbohydrates.

<sup>c</sup> Neutral detergent fiber is an estimate of insoluble fiber, including cellulose, hemicellulose, and lignin. Crude fiber methodology underestimates total fiber.

<sup>d</sup> Energy density is a calculated estimate of *metabolizable energy* based on the Atwater factors assigning 4 kcal/g to protein, 9 kcal/g to fat, and 4 kcal/g to available carbohydrate.

<sup>e</sup> Indicates added amount but does not account for contribution from other ingredients.

<sup>f</sup> 1 IU vitamin A = 0.3 μg retinol

<sup>g</sup> 1 IU vitamin D = 25 ng cholecalciferol

For nutrients not listed, insufficient data is available to quantify.

Nutrient data represent the best information available, calculated from published values and direct analytical testing of raw materials and finished product. Nutrient values may vary due to the natural variations in the ingredients, analysis, and effects of processing.

**Teklad Diets are designed and manufactured for research purposes only.**

Harlan, Harlan Laboratories, Helping you do research better, and the Harlan logo are trademarks and trade names of Harlan Laboratories, Inc. © 2008 Harlan Laboratories, Inc.

# TD.06414 Adjusted Calories Diet (60/Fat)

## Formula

Formula	g/Kg
Casein	265.0
L-Cystine	4.0
Maltodextrin	160.0
Sucrose	90.0
Lard	310.0
Soybean Oil	30.0
Cellulose	65.5
Mineral Mix, AIN-93G-MX (94046)	48.0
Calcium Phosphate, dibasic	3.4
Vitamin Mix, AIN-93-VX (94047)	21.0
Choline Bitartrate	3.0
Blue Food Color	0.1

## Footnote

Approx. 60% of total calories come from fat. Designed with similarities to Research Diets, Inc. formula D12492. For the series TD 06414-TD 06416. Approximate fatty acid profile (% of total fat): 37% saturated, 47% monounsaturated, 16% polyunsaturated.

## Selected Nutrient Information<sup>1</sup>

	% by weight	% kcal from
Protein	23.5	18.4
Carbohydrate	27.3	21.3
Fat	34.3	60.3

**Kcal/g 5.1**

<sup>1</sup> Values are calculated from ingredient analysis or manufacturer data

*Teklad Diets are designed & manufactured for research purposes only.*

## Speak With A Nutritionist

- (800) 483-5523
- askanutritionist@harlan.com



Harlan Laboratories · PO Box 44220 · Madison, WI 53744-4220

[www.harlan.com](http://www.harlan.com)

## Key Features

- Purified Diet
- Diet Induced Obesity
- High Fat

## Key Planning Information

- Products are made fresh to order
- Store product at 4°C or lower
- Use within 6 months (applicable to most diets)
- Box labeled with product name, manufacturing date, and lot number
- Replace diet at minimum once per week  
*More frequent replacement may be advised*
- Lead time:
  - 2 weeks non-irradiated
  - 4 weeks irradiated



## Product Specific Information

- 1/2" Pellet or Powder (free flowing)
- Minimum order 3 Kg
- Irradiation available upon request

## Options (Fees Will Apply)

- Rush order (pending availability)
- Irradiation (see Product Specific Information)
- Vacuum packaging (1 and 2 Kg)

## International Inquiry

- Outside U.S.A. or Canada ·
- askanutritionist@harlan.com

## Place Your Order (U.S.A. & Canada)

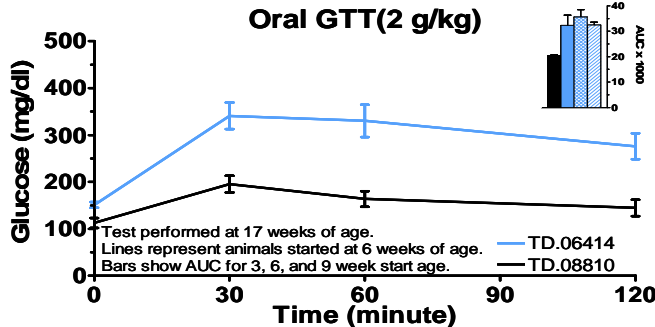
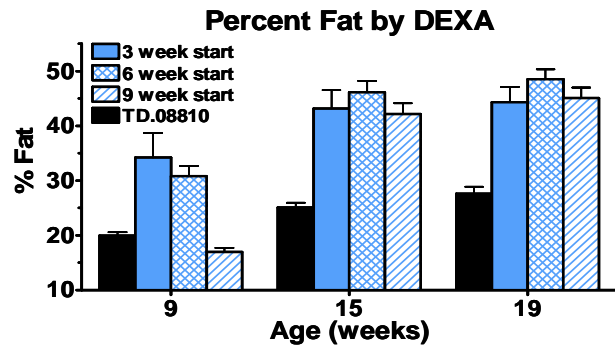
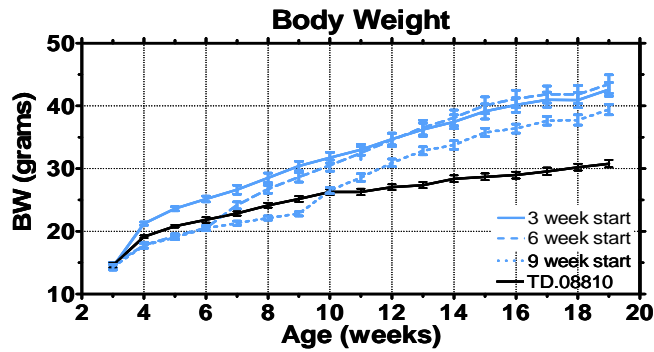
- Place Order · Obtain Pricing ·
- Check Order Status ·

- (800) 483-5523
- (608) 277-2066 *facsimile*
- tekladinfo@harlan.com



*Helping you do research better*

# Phenotype of C57BL/6NHsd Male Mice Fed TD.06414 or TD.08810



## Key Findings

Male C57BL/6N mice started on TD.06414 at 3, 6, or 9 weeks of age develop similar degrees of obesity shown by rapid increase in body weight and percent fat mass.

Mice started on TD.06414 between 3-9 weeks of age develop impaired glucose tolerance by 17 weeks of age.

Mice fed TD.06414 develop hyperinsulinemia, hyperleptinemia, and exhibit increased liver accumulation of lipids.

The graphs **above** represent data obtained from male C57BL/6NHsd mice started on irradiated TD.06414 at 3, 6, or 9 weeks of age (16 mice/start age). Control animals were fed an irradiated purified diet TD.08810, or autoclaved natural ingredient diet 2018S. The data in the tables **below** is from a second cohort of mice started on the diets at 3 weeks of age. Prior to oral glucose tolerance test and collection of fasting values, mice were fasted for 6 hours (6am-12pm). Data are shown as mean  $\pm$  SEM.

### Additional Phenotype Data

11-12 weeks of age	TD.06414	TD.08810	2018S
Body Weight (g, n=20)	32.1 $\pm$ 0.5	25.6 $\pm$ 0.3	25.0 $\pm$ 0.3
Percent Fat by NMR (n=20)	33.7 $\pm$ 1.1	19.2 $\pm$ 0.6	17.7 $\pm$ 0.4
Liver Triglyceride (mg/g liver, n=5)	75.5 $\pm$ 7.1	27.2 $\pm$ 3.9	34.9 $\pm$ 2.4
Fasted Total Cholesterol (mg/dl, n=20)	193 $\pm$ 7	119 $\pm$ 3	141 $\pm$ 3
Fasted Glucose (mg/dl, n=20)	166 $\pm$ 4	113 $\pm$ 2	120 $\pm$ 2
Fasted Insulin (ng/ml, n=20)	2.5 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1
Non-fasted Leptin (ng/ml, n=20)	37.2 $\pm$ 3.9	3.0 $\pm$ 0.6	2.5 $\pm$ 0.2
19-20 weeks of age	TD.06414	TD.08810	2018S
Body Weight (g, n=14-20)	43.1 $\pm$ 0.9	29.4 $\pm$ 0.5	28.1 $\pm$ 0.5
Percent Fat by NMR (n=14-20)	45.2 $\pm$ 1.1	24.1 $\pm$ 0.7	21.8 $\pm$ 1.2
Liver Triglyceride (mg/g liver, n=5)	162.9 $\pm$ 46.3	40.6 $\pm$ 7.1	47.5 $\pm$ 4.8
Fasted Total Cholesterol (mg/dl, n=14-20)	253 $\pm$ 11	107 $\pm$ 3	142 $\pm$ 4
Fasted Glucose (mg/dl, n=14-20)	146 $\pm$ 5	115 $\pm$ 3	116 $\pm$ 5
Fasted Insulin (ng/ml, n=14-20)	5.0 $\pm$ 0.6	0.9 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.1
Non-fasted Leptin (ng/ml, n=14-20)	*86.9 $\pm$ 6.1	5.2 $\pm$ 0.8	5.4 $\pm$ 0.9

\*11 of 16 mice had values greater than the detection limit and were set to 100 ng/ml.

For additional study details, please refer to the [posters on our website](#)  
or contact a nutritionist at [askanutritionist@harlan.com](mailto:askanutritionist@harlan.com)



**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

Grupo	Clave de acceso	Descripción	Score de proteína	Masa de la proteína (Da)	Cobertura (%)	Masa experimental (Da)	Masa teórica (Da)	Score de péptido	Secuencia del péptido	Modificaciones
Ctrl-RD	sp P02088 HBB1_MOUSE	Hemoglobin subunit beta-1 OS=Mus musculus GN=Hbb-b1 PE=1 SV=2	22	15944	6.1	1125.5746	1125.5567	22.5	LHVDPENFR	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	1900.9646	1900.889	22.14	ENPTTFMGHYLHEVAR	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	897.4845	897.4742	23.81	VCLLHEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	852.4197	852.4229	24.39	YEATLEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1249.5779	1249.5727	27.66	YNDLGEQHFK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1462.5899	1462.6318	28.1	YMCENQATISSK	Label:18O(1) (Y); Oxidation (M); Propionamide (C)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	955.5102	955.5273	28.63	LCAIPNLR	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	996.5247	996.524	30.67	TPVSEHVTK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1016.5194	1016.5291	30.98	SLHTLFGDK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	2949.3717	2949.3347	32.48	CCAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	2152.0989	2152.0147	40.84	AETFTFHSDICTLPEKEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	1916.9557	1916.8839	42.16	ENPTTFMGHYLHEVAR	Oxidation (M)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	953	70700	40	1894.8722	1894.8771	47.37	AETFTFHSDICTLPEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	980.5169	980.5178	47.7	KYEATLEK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1177.492	1177.4 856	49.31	CCTLPEDQR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1374.6857	1374.6 999	51.53	LQTCCDKPLLK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	953	70700	40	1041.4459	1041.4 437	52.04	TNCDLYEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1148.5974	1148.6 077	54.01	LVQEVTDFAK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	760.4162	760.43 31	55.63	LATDLTK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1099.6452	1099.6 601	57.21	KQTALAEVVK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	1882.0045	1881.9 295	57.68	RPCFSALTVDE TYVPK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	953	70700	40	971.5238	971.56 51	62.39	QTALAEVVK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	953	70700	40	1458.5398	1458.5 755	64.21	ENYGELADCCT K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	953	70700	40	1680.7986	1680.8 359	65.53	LSQTFPNADFA EITK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1865.7519	1865.7 634	74.97	TVMDDFAQFLD TCKK	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	1455.5667	1455.5 856	76.03	TCVADESAANC DK	Label:18O(1) (T); Propionamide (C)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	1849.8152	1849.7 685	76.07	TVMDDFAQFLD TCKK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	1446.6431	1446.6 119	76.69	YMCENQATISS K	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	953	70700	40	1430.5796	1430.6 17	86	YMCENQATISS K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1446.6013	1446.6 119	89.66	YMCENQATISS K	Oxidation (M)

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1088	70700	40	1439.5718	1439.5 657	96.46	TCVADESAANC DK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1478.7729	1478.7 881	107.1	LGEYGFQNAILV R	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1289	70700	47.2	1438.771	1438.7 78	111.96	APQVSTPTLVE AAR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	953	70700	40	1980.9145	1980.9 211	125.8	AADKDTCFSTE GPNLVTR	
sp P07758 A1 AT1_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=4	40	46145	4.4	1103.5619	1103.6 009	25.36	TLMSPGLITR	Oxidation (M)
sp P07758 A1 AT1_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=4	40	46145	4.4	962.4657	962.50 73	38.47	VINDFVEK	
sp P07759 S PA3K_MOUS E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	20	47021	9.3	1689.8355	1689.8 936	15.92	YTGNASALLILP DQGR	Label:18O(1) (T)
sp P07759 S PA3K_MOUS E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	49	47021	13.4	1644.7953	1644.8 141	16.31	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
sp P07759 S PA3K_MOUS E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	40	47021	13.4	1644.846	1644.8 141	21.19	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
sp P07759 S PA3K_MOUS E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	40	47021	13.4	2158.0791	2158.0 219	32.54	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
sp P07759 S PA3K_MOUS E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	49	47021	13.4	2141.1531	2141.1 328	45.68	AVLDVAETGTE AAAATGVIGGIR	
sp P09813 A POA2_MOUS E	Apolipoprotein A-II OS=Mus musculus GN=Apoa2 PE=1 SV=2	38	11359	9.8	1192.6763	1192.6 564	38.22	THEQLTPLVR	
sp P28665 M UG1_MOUSE	Murinoglobulin-1 OS=Mus musculus GN=Mug1 PE=1 SV=3	28	166618	0.7	1095.64	1095.6 539	27.81	VLIVEPEGIK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P29621 S PA3C_MOUSE	Serine protease inhibitor A3C OS=Mus musculus GN=Serpina3c PE=2 SV=1	21	46908	3.4	1644.846	1644.8 141	21.19	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
sp Q00623 A POA1_MOUSE	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	77	30597	12.5	1236.6371	1236.6 139	33.81	WKEDVELYR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	72	30597	12.5	1330.6135	1330.6 266	43.96	SNPTLNEYHTR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	58	30597	4.9	1339.6739	1339.7 095	53.22	VAPLGAELQES AR	
sp Q00897 A 1AT4_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-4 OS=Mus musculus GN=Serpina1d PE=1 SV=1	45	46140	6.5	1035.5067	1035.5 461	22.96	SDAQIHIPR	
sp Q00897 A 1AT4_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-4 OS=Mus musculus GN=Serpina1d PE=1 SV=1	45	46140	6.5	1103.5619	1103.6 009	25.36	TLMSPLGITR	Oxidation (M)
sp Q00897 A 1AT4_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-4 OS=Mus musculus GN=Serpina1d PE=1 SV=1	45	46140	6.5	962.4657	962.50 73	38.47	VINDFVEK	
sp Q00898 A 1AT5_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-5 OS=Mus musculus GN=Serpina1e PE=1 SV=1	38	46091	1.9	962.4657	962.50 73	38.47	VINDFVEK	
sp Q00898 A 1AT5_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-5 OS=Mus musculus GN=Serpina1e PE=1 SV=1	43	46091	1.9	946.5547	946.57 12	42.83	LAQIHIPR	
sp Q3U1J4 D DB1_MOUSE	DNA damage-binding protein 1 OS=Mus musculus GN=Ddb1 PE=1 SV=2	22	128027	1	1265.6147	1265.5 809	21.76	EEQMDGTVTLK	Oxidation (M)
sp Q61838 P ZP_MOUSE	Pregnancy zone protein OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3	46	167116	2	1105.6367	1105.6 495	16.75	LTEVPALVHK	
sp Q61838 P ZP_MOUSE	Pregnancy zone protein OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3	46	167116	2	885.4199	885.43 45	30.09	YGAATFTR	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp Q61838 PZP_MOUSE	Pregnancy zone protein OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3	46	167116	2	1209.5567	1209.5725	38	DLSSSDLSTASK	
sp Q6GQT1 A2MG_MOUSE	Alpha-2-macroglobulin-P OS=Mus musculus GN=A2m PE=2 SV=2	30	165674	0.5	885.4199	885.4345	30.09	YGAATFTR	
sp Q8VI67 SP7_MOUSE	Transcription factor Sp7 OS=Mus musculus GN=Sp7 PE=1 SV=1	17	45317	2.3	1090.5882	1090.5908	16.74	KPYADLSAPK	Label:18O(1) (S)
sp Q91X72 HEMO_MOUSE	Hemopexin OS=Mus musculus GN=Hpx PE=1 SV=2	21	52026	2	989.4966	989.4852	20.77	VDGALCLDK	
sp Q92111 TRFE_MOUSE	Serotransferrin OS=Mus musculus GN=Tf PE=1 SV=1	27	78841	3.9	1617.7715	1617.7279	14.04	YLGAEYMQSVGNMR	
sp Q92111 TRFE_MOUSE	Serotransferrin OS=Mus musculus GN=Tf PE=1 SV=1	27	78841	3.9	1655.8198	1655.7613	30.82	KPVDQYEDCYLAR	
sp Q9Z1G3 VATC1_MOUSE	V-type proton ATPase subunit C 1 OS=Mus musculus GN=Atp6v1c1 PE=1 SV=4	33	44031	1.8	758.43	758.4538	33.17	SLAEIVK	
tr A0A0A6YY53 A0A0A6YY53_MOUSE	Protein Ighg2c (Fragment) OS=Mus musculus GN=Ighg2c PE=1 SV=1	40	37066	3.6	1362.7185	1362.733	40.43	VPITQNPCPPLK	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	29	46871	12.7	1689.8355	1689.8936	15.92	YTGNASALLILPDQGR	Label:18O(1) (T)
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	82	46871	20.6	1736.8338	1736.8468	18.29	EVFTEQADLSGITTEAK	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	62	46871	16.7	1644.846	1644.8141	21.19	MQQVEASLQPELTR	Oxidation (M)
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	62	46871	16.7	2158.0791	2158.0219	32.54	ALYQTEAFTADFAQPTTEAK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	82	46871	20.6	2141.1531	2141.1328	45.68	AVLDVAETGTE AAAATGVIGGIR	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	82	46871	20.6	1617.8476	1617.8614	50.1	TLFSSQIEELNL PK	
tr A0A1B0GS57 A0A1B0GS57_MOUSE	Hemopexin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Hpx PE=1 SV=1	24	21714	5.8	1211.5947	1211.6299	23.96	FNPVTGEVPPR	
tr A2AM63 A2AM63_MOUSE	Heterochromatin protein 1-binding protein 3 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Hp1bp3 PE=1 SV=1	17	23033	6.3	1264.586	1264.7025	16.68	GKGASGSFVVV QK	Label:18O(1) (S)
tr A8DUK4 A8DUK4_MOUSE	Beta-globin OS=Mus musculus GN=Hbht1 PE=1 SV=1	53	15795	8.8	1285.5901	1285.6262	52.98	VNADEVGGEAL GR	
tr D3YYR8 D3YYR8_MOUSE	Serotransferrin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Trf PE=1 SV=1	33	26457	3.8	950.4962	950.5185	32.69	TVLPPDGPR	
tr D3Z5G7 D3Z5G7_MOUSE	Carboxylic ester hydrolase OS=Mus musculus GN=Ces1b PE=1 SV=1	34	62500	1.6	998.5288	998.5284	33.53	APEEILAEK	
tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	32	109894	4.1	1780.7075	1780.7403	17.54	FDEFFSQGCAP GYEK	
tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	32	109894	4.1	1348.6283	1348.6623	20.5	ASDTSITWNNLK	
tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	32	109894	4.1	1655.7412	1655.7613	28.47	KPVDQYEDCYL AR	
tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	34	109894	2.2	950.4962	950.5185	32.69	TVLPPDGPR	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

	tr E9Q223 E9Q223_MOUSE	Protein Hbb-bs (Fragment) OS=Mus musculus GN=Hbb-bs PE=1 SV=1	36	11134	12.6	1285.65	1285.6262	33.16	VNADEVGGEALGR	
	tr E9Q5E2 E9Q5E2_MOUSE	Protein BC005561 OS=Mus musculus GN=BC005561 PE=1 SV=1	23	184494	0.6	1311.6392	1311.5979	23.09	WHSDRSTYEK	2 Label:18O(1) (S)
	tr F7BAE9 F7BAE9_MOUSE	Serotransferrin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Trf PE=4 SV=1	24	31423	9.7	1780.7075	1780.7403	17.54	FDEFFSQGCAPGYEK	
	tr F7BAE9 F7BAE9_MOUSE	Serotransferrin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Trf PE=4 SV=1	24	31423	9.7	1348.6283	1348.6623	20.5	ASDTSITWNNLK	
	tr H3BJD9 H3BJD9_MOUSE	E3 ubiquitin-protein ligase TRAF7 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Traf7 PE=1 SV=1	38	31041	3	954.5401	954.4957	37.54	MNLEAHLK	
	tr Q91VB8 Q91VB8_MOUSE	Alpha globin 1 OS=Mus musculus GN=Hba-a1 PE=1 SV=1	55	15160	10.6	1528.7124	1528.727	60.62	IGGHGAEYGAERALER	
Ctrl-HF	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1016.5019	1016.5291	24.82	SLHTLFGDK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	2152.0081	2152.0147	30	AETFTFHSDICTLPEKEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	1916.8729	1916.8839	30.04	ENPTTFMGHYLHEVAR	Oxidation (M)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	955.4996	955.5273	32.46	LCAIPNLR	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	897.446	897.4742	38.43	VCLLHEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1462.572	1462.6318	43.66	YMCENQATISSK	Label:18O(1) (Y); Oxidation (M); Propionamide (C)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	980.484	980.5178	44	KYEATLEK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	960	70700	39.8	1894.9315	1894.8 771	45.23	AETFTFHSDICT LPEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1148.5792	1148.6 077	46.77	LVQEVTDFAK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	996.4973	996.52 4	48.77	TPVSEHVTK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1374.6668	1374.6 999	48.97	LQTCCDKPLLK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	1041.4149	1041.4 437	49.22	TNCDLYEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	960	70700	39.8	1099.6602	1099.6 601	50.06	KQTALAEVLK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1455.5124	1455.5 856	50.73	TCVADESAANC DK	Label:18O(1) (T); Propionamide (C)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	1177.4582	1177.4 856	50.97	CCTLPEDQR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	1458.5342	1458.5 755	54.26	ENYGELADCCT K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	760.4076	760.43 31	54.97	LATDLTK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	960	70700	39.8	1900.943	1900.8 89	55.69	ENPTTFMGHYL HEVAR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1249.5427	1249.5 727	56.9	YNDLGEQHFK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	960	70700	39.8	971.5653	971.56 51	57.62	QTALAEVLK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1865.7309	1865.7 634	57.96	TVMDDFAQFLD TCKK	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1680.8019	1680.8 359	64.61	LSQTFPNADFA EITK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	1446.5722	1446.6 119	72.67	YMCENQATISS K	Oxidation (M)



**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1881.9302	1881.9 295	78.64	RPCFSALTVDE TYVPK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1849.732	1849.7 685	85.16	TVMDDDFAQFLD TCCK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	960	70700	39.8	1430.6243	1430.6 17	86.21	YMCENQATISS K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	1438.7443	1438.7 78	93.13	APQVSTPTLVE AAR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1478.7572	1478.7 881	97.34	LGEYGFQNAILV R	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1141	70700	42.6	1980.9149	1980.9 211	100.23	AADKDTCFSTE GPNLVTR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1019	70700	38.3	1439.5344	1439.5 657	104.62	TCVADESAANC DK	
sp P07758 A1 AT1_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=4	31	46145	6.8	1122.5607	1122.5 921	20.81	LSISGEYNLK	
sp P07758 A1 AT1_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=4	31	46145	6.8	1103.5706	1103.6 009	21.16	TLMSPLGITR	Oxidation (M)
sp P07758 A1 AT1_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=4	31	46145	6.8	962.4734	962.50 73	22.24	VINDFVEK	
sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	30	47021	10	2141.1367	2141.1 328	20.01	AVLDVAETGTE AAAATGVIGGIR	
sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	34	47021	4.5	2157.9707	2158.0 219	33.72	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
sp P09813 A POA2_MOUSE E	Apolipoprotein A-II OS=Mus musculus GN=Apoa2 PE=1 SV=2	48	11359	9.8	1192.6193	1192.6 564	48.36	THEQLTPLVR	
sp P22599 A1 AT2_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-2 OS=Mus musculus GN=Serpina1b PE=1 SV=2	32	46117	6.8	1103.5706	1103.6 009	21.16	TLMSPLGITR	Oxidation (M)
sp P22599 A1 AT2_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-2 OS=Mus musculus GN=Serpina1b PE=1 SV=2	32	46117	6.8	962.4734	962.50 73	22.24	VINDFVEK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P22599 A1 AT2_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-2 OS=Mus musculus GN=Serpina1b PE=1 SV=2	32	46117	6.8	1108.5456	1108.5764	24.07	LSISGDYNLK	
sp P28665 M UG1_MOUSE	Murinoglobulin-1 OS=Mus musculus GN=Mug1 PE=1 SV=3	15	166618	0.7	1095.6546	1095.6539	15.04	VLIVEPEGIK	
sp P28665 M UG1_MOUSE	Murinoglobulin-1 OS=Mus musculus GN=Mug1 PE=1 SV=3	25	166618	0.9	1408.6617	1408.6947	25.23	FSTSQSLPASQ TR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	98	30597	15.9	1046.5087	1046.5396	15.39	LSPVAEEFR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	98	30597	15.9	1330.5947	1330.6266	48.75	SNPTLNEYHTR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	98	30597	15.9	1236.5823	1236.6139	51.86	WKEDVELYR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	74	30597	12.5	1339.7146	1339.7095	68.34	VAPLGAEQES AR	
sp Q00897 A 1AT4_MOUSE E	Alpha-1-antitrypsin 1-4 OS=Mus musculus GN=Serpina1d PE=1 SV=1	27	46140	4.4	1103.5706	1103.6009	21.16	TLMSPLGITR	Oxidation (M)
sp Q00897 A 1AT4_MOUSE E	Alpha-1-antitrypsin 1-4 OS=Mus musculus GN=Serpina1d PE=1 SV=1	27	46140	4.4	962.4734	962.5073	22.24	VINDFVEK	
sp Q00898 A 1AT5_MOUSE E	Alpha-1-antitrypsin 1-5 OS=Mus musculus GN=Serpina1e PE=1 SV=1	22	46091	1.9	962.4734	962.5073	22.24	VINDFVEK	
sp Q3V1M1 I GS10_MOUSE E	Immunoglobulin superfamily member 10 OS=Mus musculus GN=Igsf10 PE=2 SV=2	16	287757	0.5	1537.6945	1537.7567	15.97	KWTMILMMNNT R	
sp Q689Z5 S BNO1_MOUSE E	Protein strawberry notch homolog 1 OS=Mus musculus GN=Sbno1 PE=1 SV=2	17	154326	0.9	1393.6236	1393.7426	17.32	RLEGLGALTHG DR	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp Q6GQT1 A2MG_MOUSE	Alpha-2-macroglobulin-P OS=Mus musculus GN=A2m PE=2 SV=2	18	165674	0.5	885.405	885.4345	18.44	YGAATFTR	
sp Q8BHN7 CL029_MOUSE	Uncharacterized protein C12orf29 homolog OS=Mus musculus PE=2 SV=1	23	37964	1.8	758.3767	758.4439	22.68	KFLHSK	
sp Q91X72 HEMO_MOUSE	Hemopexin OS=Mus musculus GN=Hpx PE=1 SV=2	14	52026	2	989.461	989.4852	14.33	VDGALCLDK	
tr A0A087WQE1 A0A087WQE1_MOUSE	Calcium-activated potassium channel subunit alpha-1 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Kcnma1 PE=1 SV=1	14	74700	2.5	1639.6947	1639.7466	14.21	FSSSSSSSSSSS VHEPK	7 Label:18O(1) (S)
tr A0A0A0MQF0 A0A0A0MQF0_MOUSE	Cytoplasmic protein NCK2 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Nck2 PE=1 SV=1	22	9114	14.3	1285.5967	1285.6189	22.46	TGYVPSNYVER	Label:18O(1) (Y)
tr A0A0J9YUT8 A0A0J9YUT8_MOUSE	Probable RNA-binding protein 19 OS=Mus musculus GN=Rbm19 PE=1 SV=1	26	97051	1	1002.4643	1002.5595	26.4	KKGPSDLEK	Label:18O(1) (S)
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	44	46871	13.4	2141.1367	2141.1328	20.01	AVLDVAETGTE AAAATGVIGGIR	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	48	46871	7.9	1617.8148	1617.8614	29.16	TLFSSQIEELNL PK	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	48	46871	7.9	2157.9707	2158.0219	33.72	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
tr A2A5R6 A2A5R6_MOUSE	NFX1-type zinc finger-containing protein 1 OS=Mus musculus GN=Znfx1 PE=1 SV=1	15	123693	0.7	869.5093	869.4793	15.16	LLICSHK	
tr B1AWY9 B1AWY9_MOUSE	Protein C87499 OS=Mus musculus GN=C87499 PE=4 SV=1	14	22497	6.2	1330.6308	1330.6073	14.21	QPVENSPDCGV K	Label:18O(1) (S)

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

	tr D3YYR8 D3YYR8_MOUSE	Serotransferrin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Trf PE=1 SV=1	32	26457	4.2	963.4535	963.4662	32.11	DGGGDVAFVK	
	tr D3Z5G7 D3Z5G7_MOUSE	Carboxylic ester hydrolase OS=Mus musculus GN=Ces1b PE=1 SV=1	41	62500	1.6	998.4981	998.5284	40.92	APEEILAEK	
	tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	50	109894	2.2	970.4629	970.4971	34.54	LPEGTTPEK	
	tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	50	109894	2.2	1655.7493	1655.7613	39.21	KPVDQYEDCYLAR	
	tr G3UWZ0 G3UWZ0_MOUSE	Bromodomain adjacent to zinc finger domain protein 1A OS=Mus musculus GN=Baz1a PE=1 SV=1	16	179654	0.5	886.5188	886.474	16.25	VSTSRSSR	3 Label:18O(1) (S); Label:18O(1) (T)
	tr Q91VB8 Q91VB8_MOUSE	Alpha globin 1 OS=Mus musculus GN=Hba-a1 PE=1 SV=1	29	15160	10.6	1528.7655	1528.727	29.03	IGGHGAEYGAERALER	
AMA-RD	sp A2AVA0 SVEP1_MOUSE	Sushi, von Willebrand factor type A, EGF and pentraxin domain-containing protein 1 OS=Mus musculus GN=Svep1 PE=1 SV=1	15	401914	0.3	1211.6269	1211.5524	15.09	SVSECKAQCK	Label:18O(1) (S); Propionamide (C)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	2152.0664	2152.0147	23.49	AETFTFHSDICTLPEKEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	807	70700	33.4	1016.5307	1016.5291	24.91	SLHTLFGDK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1894.918	1894.8771	26.57	AETFTFHSDICTLPEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	807	70700	33.4	1249.5711	1249.5727	28.36	YNDLGEQHFK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	519	70700	28.5	955.5425	955.5273	29.54	LCAIPNLR	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1900.921	1900.889	29.56	ENPTTFMGHYLHEVAR	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	519	70700	28.5	897.4908	897.47 42	30.3	VCLLHEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1916.922	1916.8 839	33.59	ENPTTFMGHYL HEVAR	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	807	70700	33.4	1462.6164	1462.6 318	34.24	YMCENQATISS K	Label:18O(1) (Y); Oxidation (M); Propionamide (C)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	996.5092	996.52 4	39.98	TPVSEHVTK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	980.5037	980.51 78	40.29	KYEATLEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1374.6999	1374.6 999	44.32	LQTCCDKPLLK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1849.7763	1849.7 685	44.59	TVMDDFAQFLD TCKK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	519	70700	28.5	1177.5226	1177.4 856	49.22	CCTLPEDQR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	807	70700	33.4	971.5577	971.56 51	49.93	QTALAEVVK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	519	70700	28.5	1041.4727	1041.4 437	52.35	TNCDLYEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	519	70700	28.5	1099.6829	1099.6 601	53.89	KQTALAEVVK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	807	70700	33.4	1148.6115	1148.6 077	57.3	LVQEVTDFAK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1478.7932	1478.7 881	57.85	LGEYGFQNAILV R	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1865.7693	1865.7 634	61.8	TVMDDFAQFLD TCKK	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1455.5465	1455.5 856	62.36	TCVADESAANC DK	Label:18O(1) (T); Propionamide (C)

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	519	70700	28.5	1458.6272	1458.5 755	64.62	ENYGELADCCT K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1680.8406	1680.8 359	65.26	LSQTFPNADFA EITK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1446.6118	1446.6 119	70.76	YMCENQATISS K	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1430.6177	1430.6 17	72.39	YMCENQATISS K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1881.9683	1881.9 295	75.12	RPCFSALTVDE TYVPK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1438.7809	1438.7 78	98.27	APQVSTPTLVE AAR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1439.5568	1439.5 657	101.48	TCVADESAANC DK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	990	70700	37.3	1980.9658	1980.9 211	110.36	AADKDTCFSTE GPNLVTR	
sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	27	47021	3.3	1644.8208	1644.8 141	27.09	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
sp P09813 A POA2_MOUSE E	Apolipoprotein A-II OS=Mus musculus GN=Apoa2 PE=1 SV=2	40	11359	9.8	1192.654	1192.6 564	39.8	THEQLTPLVR	
sp P22599 A1 AT2_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-2 OS=Mus musculus GN=Serpina1b PE=1 SV=2	34	46117	2.4	1108.5736	1108.5 764	34.04	LSISGDYNLK	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	63	30597	8.3	1236.6128	1236.6 139	32.53	WKEDVELYR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	63	30597	8.3	1339.7133	1339.7 095	48.25	VAPLGAELQES AR	
sp Q00898 A 1AT5_MOUSE E	Alpha-1-antitrypsin 1-5 OS=Mus musculus GN=Serpina1e PE=1 SV=1	28	46091	1.9	962.5074	962.50 73	28.15	VINDFVEK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp Q3U2E2 Z MYM5_MOUSE SE	Zinc finger MYM-type protein 5 OS=Mus musculus GN=Zmym5 PE=2 SV=2	14	71395	2.2	1464.6685	1464.8 07	14.44	SKTKTAVGPFN PGR	Label:18O(1) (S); 2 Label:18O(1) (T)
sp Q61838 P ZP_MOUSE	Pregnancy zone protein OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3	23	167116	0.6	1087.5524	1087.5 55	22.92	VPDTITEWK	
sp Q8BLY2 S YTC2_MOUSE E	Probable threonine--tRNA ligase 2, cytoplasmic OS=Mus musculus GN=Tarsl2 PE=1 SV=1	15	92173	1.8	1373.7075	1373.7 085	15.23	MAAQALAAQAV ASR	Oxidation (M)
sp Q8C115 P KHH2_MOUSE E	Pleckstrin homology domain- containing family H member 2 OS=Mus musculus GN=Plekhh2 PE=1 SV=3	22	169851	0.7	1177.491	1177.5 835	22.2	CVALEAQLMK	Oxidation (M)
tr A0A087WP 13 A0A087W P13_MOUSE	Pleckstrin homology domain- containing family A member 6 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Plekha6 PE=1 SV=1	17	100828	1.7	1667.8054	1667.8 728	16.85	SIHEVDISNLEA ALR	Label:18O(1) (S)
tr A0A0R4J0I 1 A0A0R4J0I 1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	47	46871	6.7	1644.8208	1644.8 141	27.09	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
tr A0A0R4J0I 1 A0A0R4J0I 1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	47	46871	6.7	1617.8659	1617.8 614	35.41	TLFSSQIEELNL PK	
tr A0A0R4J0 X5 A0A0R4J0 X5_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-3 OS=Mus musculus GN=Serpina1c PE=1 SV=1	29	45996	4.4	1103.596	1103.6 009	21.68	TLMSPLGITR	Oxidation (M)
tr A0A0R4J0 X5 A0A0R4J0 X5_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-3 OS=Mus musculus GN=Serpina1c PE=1 SV=1	29	45996	4.4	962.5074	962.50 73	28.15	VINDFVEK	
tr A0A1L1SS X7 A0A1L1S SX7_MOUSE	Leucine zipper transcription factor-like protein 1 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Lztf1 PE=4 SV=1	30	33796	3.4	1177.5185	1177.5 649	29.84	VQEQLSMAEK	Oxidation (M)
tr A8DUK4 A8 DUK4_MOUSE E	Beta-globin OS=Mus musculus GN=Hbht1 PE=1 SV=1	17	15795	6.1	1125.5537	1125.5 567	16.81	LHVDPENFR	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

	tr D3YYR8 D3YYR8_MOUSE	Serotransferrin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Trf PE=1 SV=1	27	26457	3.8	950.504	950.5185	26.96	TVLPPDGPR	
	tr D3Z5G7 D3Z5G7_MOUSE	Carboxylic ester hydrolase OS=Mus musculus GN=Ces1b PE=1 SV=1	17	62500	1.6	998.557	998.5284	17.35	APEEILAEK	
	tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	47	109894	3.2	950.504	950.5185	26.96	TVLPPDGPR	
	tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	47	109894	3.2	970.4838	970.4971	34.46	LPEGTTPEK	
	tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	47	109894	3.2	1655.7917	1655.7613	34.99	KPVDQYEDCYLAR	
	tr G3X9Z7 G3X9Z7_MOUSE	Intraflagellar transport 88 homolog (Chlamydomonas) OS=Mus musculus GN=Ift88 PE=1 SV=1	19	93637	2.1	1591.7135	1591.6715	18.7	EGSAGSDSGQ NNSASSK	5 Label:18O(1) (S)
	tr Q3T9A5 Q3T9A5_MOUSE	Glomulin OS=Mus musculus GN=Glmn PE=1 SV=1	16	61454	3.6	2190.1482	2190.3601	15.72	QISQIILLLLQPL QTVIQK	Label:18O(1) (S)
	tr Q91VB8 Q91VB8_MOUSE	Alpha globin 1 OS=Mus musculus GN=Hba-a1 PE=1 SV=1	61	15160	10.6	1528.7505	1528.727	60.77	IGGHGAEYGAE ALER	
	tr Q9D3T1 Q9D3T1_MOUSE	Protein 4933436I01Rik OS=Mus musculus GN=4933436I01Rik PE=2 SV=1	20	51894	2.3	1360.6281	1360.6353	20.32	CNHHKNRMHK	
AMA-HF	sp B0V2N1 PTPRS_MOUSE	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S OS=Mus musculus GN=Ptprs PE=1 SV=1	15	212968	0.3	546.3257	546.3627	14.89	VVVTK	Label:18O(1) (T)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	1441.5865	1441.5699	15.75	TCVADESAANC DK	Label:18O(1) (T)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1016.5341	1016.5291	28.13	SLHTLFGDK	



**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	835	70700	38.5	1249.5813	1249.5 727	28.94	YNDLGEQHFK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	1462.6215	1462.6 318	38.08	YMCENQATISS K	Label:18O(1) (Y); Oxidation (M); Propionamide (C)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	955.5296	955.52 73	38.34	LCAIPNLR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	897.4848	897.47 42	44.77	VCLLHEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	971.5681	971.56 51	46.24	QTALAELVK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	996.5399	996.52 4	46.45	TPVSEHVTK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	980.5308	980.51 78	48.78	KYEATLEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1894.934	1894.8 771	49.71	AETFTFHSDICT LPEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	835	70700	38.5	760.4289	760.43 31	51.73	LATDLTK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1148.6229	1148.6 077	52.79	LVQEVTDFAK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	1099.6732	1099.6 601	53.07	KQTALAELVK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1041.4551	1041.4 437	53.63	TNCDLYEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	1458.5991	1458.5 755	54.53	ENYGELADCCT K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1177.5043	1177.4 856	56.11	CCTLPEDQR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1680.857	1680.8 359	61.17	LSQTFPNADFA EITK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	1446.6357	1446.6 119	62.05	YMCENQATISS K	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	835	70700	38.5	1374.7058	1374.6 999	65.28	LQTCCDKPLLK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1916.9405	1916.8 839	70.15	ENPTTFMGHYL HEVAR	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	2152.084	2152.0 147	73.49	AETFTFHSIDICT LPEKEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	1882.0016	1881.9 295	74.08	RPCFSALTVDE TYVPK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	835	70700	38.5	1430.6262	1430.6 17	77.27	YMCENQATISS K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1865.7899	1865.7 634	83.68	TVMDDFAQFLD TCCK	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1849.7958	1849.7 685	94.31	TVMDDFAQFLD TCCK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1061	70700	40.1	1439.5972	1439.5 657	96.21	TCVADESAANC DK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1900.9446	1900.8 89	99.27	ENPTTFMGHYL HEVAR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1438.796	1438.7 78	106.02	APQVSTPTLVE AAR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1478.8064	1478.7 881	115.85	LGEYGFQNAILV R	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1179	70700	39	1980.9839	1980.9 211	121.57	AADKDTCFSTE GPNLVTR	
sp P07758 A1 AT1_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=4	46	46145	7.3	1122.6012	1122.5 921	29.07	LSISGEYNLK	
sp P07758 A1 AT1_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=4	46	46145	7.3	2198.0587	2197.9 916	33.61	NHYQAEVFSVN FAESEEA	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	101	47021	20.6	2158.0577	2158.0 219	18.36	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	101	47021	20.6	1644.8349	1644.8 141	24.85	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	101	47021	20.6	2141.2014	2141.1 328	26.15	AVLDVAETGTE AAAATGVIGGIR	
sp P09813 A POA2_MOUSE E	Apolipoprotein A-II OS=Mus musculus GN=Apoa2 PE=1 SV=2	41	11359	9.8	1192.6727	1192.6 564	44.09	THEQLTPLVR	
sp P22599 A1 AT2_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-2 OS=Mus musculus GN=Serpina1b PE=1 SV=2	48	46117	7.3	1108.5843	1108.5 764	31.2	LSISGDYNLK	
sp P22599 A1 AT2_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-2 OS=Mus musculus GN=Serpina1b PE=1 SV=2	48	46117	7.3	2198.0587	2197.9 916	33.61	NHYQAEVFSVN FAESEEAk	
sp P29621 S PA3C_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3C OS=Mus musculus GN=Serpina3c PE=2 SV=1	25	46908	3.4	1644.8349	1644.8 141	24.85	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
sp P29699 F ETUA_MOUSE E	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Mus musculus GN=Ahsg PE=1 SV=1	15	38100	4.9	1636.792	1636.7 814	15.36	VGQPGAAGPVS PMCPGR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	60	30597	12.5	1330.6363	1330.6 266	22.92	SNPTLNEYHTR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	60	30597	12.5	1339.7154	1339.7 095	52.08	VAPLGAELQES AR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	87	30597	8.3	1236.6251	1236.6 139	64.43	WKEDVELYR	
sp Q00897 A 1AT4_MOUSE E	Alpha-1-antitrypsin 1-4 OS=Mus musculus GN=Serpina1d PE=1 SV=1	33	46140	4.8	2198.0587	2197.9 916	33.61	NHYQAEVFSVN FAESEEAk	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp Q03734 S PA3M_MOUSE	Serine protease inhibitor A3M OS=Mus musculus GN=Serpina3m PE=1 SV=2	86	47205	10.5	1644.8349	1644.8 141	24.85	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
sp Q03734 S PA3M_MOUSE	Serine protease inhibitor A3M OS=Mus musculus GN=Serpina3m PE=1 SV=2	86	47205	10.5	1341.7016	1341.6 928	30.89	DLQILAEFHEK	
sp Q03734 S PA3M_MOUSE	Serine protease inhibitor A3M OS=Mus musculus GN=Serpina3m PE=1 SV=2	86	47205	10.5	2365.1475	2365.0 75	31.94	ISFDPQDTFESE FYLDEKR	
sp Q03734 S PA3M_MOUSE	Serine protease inhibitor A3M OS=Mus musculus GN=Serpina3m PE=1 SV=2	86	47205	10.5	2209.0073	2208.9 739	58.55	ISFDPQDTFESE FYLDEK	
sp Q61838 P ZP_MOUSE	Pregnancy zone protein OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3	19	167116	0.7	1105.6608	1105.6 495	18.84	LTEVPALVHK	
sp Q6GQT1  A2MG_MOUSE	Alpha-2-macroglobulin-P OS=Mus musculus GN=A2m PE=2 SV=2	18	165674	0.5	885.4326	885.43 45	18.2	YGAATFTR	
sp Q7TQJ1 M ALD1_MOUSE	MARVEL domain-containing protein 1 OS=Mus musculus GN=Marvel1 PE=2 SV=1	18	19416	4.6	950.4487	950.47 09	17.96	YQGKEEVV	
tr A0A0A0MQ F0 A0A0A0M QF0_MOUSE	Cytoplasmic protein NCK2 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Nck2 PE=1 SV=1	22	9114	14.3	1285.6358	1285.6 189	22.1	TGYVPSNYVER	Label:18O(1) (Y)
tr A0A0N4SV U1 A0A0N4S VU1_MOUSE	Protein Gm7298 OS=Mus musculus GN=Gm7298 PE=4 SV=1	32	166665	0.9	1528.8189	1528.8 032	31.52	LQVTASPQSLC GLR	
tr A0A0R4J0I 1 A0A0R4J0I 1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	157	46871	27.8	2158.0577	2158.0 219	18.36	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
tr A0A0R4J0I 1 A0A0R4J0I 1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	157	46871	27.8	1644.8349	1644.8 141	24.85	MQQVEASLQPE TLR	Oxidation (M)
tr A0A0R4J0I 1 A0A0R4J0I 1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	157	46871	27.8	1617.8812	1617.8 614	25.17	TLFSSQIEELNL PK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	157	46871	27.8	2141.2014	2141.1328	26.15	AVLDVAETGTE AAAATGVIGGIR	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	157	46871	27.8	1341.7016	1341.6928	30.89	DLQILAEFHEK	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	157	46871	27.8	2365.1475	2365.075	31.94	ISFDPQDTFESE FYLDEKR	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	157	46871	27.8	2209.0073	2208.9739	58.55	ISFDPQDTFESE FYLDEK	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	157	46871	27.8	1736.8679	1736.8468	68.41	EVFTEQADLSGI TEAK	
tr A8DUK4 A8DUK4_MOUSE	Beta-globin OS=Mus musculus GN=Hbht1 PE=1 SV=1	14	15795	6.1	1125.5637	1125.5567	14.42	LHVDPENFR	
tr A8DUK4 A8DUK4_MOUSE	Beta-globin OS=Mus musculus GN=Hbht1 PE=1 SV=1	26	15795	8.8	1285.6436	1285.6262	26.14	VNADEVGGREAL GR	
tr B0R0E9 B0R0E9_MOUSE	Creatine kinase U-type, mitochondrial (Fragment) OS=Mus musculus GN=Ckmt1 PE=1 SV=1	17	16396	6	990.52	990.4754	16.57	HTTDL DASK	Label:18O(1) (S); Label:18O(1) (T)
tr D0G895 D0G895_MOUSE	Angiotensin converting enzyme-like 3 OS=Mus musculus GN=Ace3 PE=2 SV=1	19	86503	0.7	535.1706	535.2124	19.22	NEGQS	Label:18O(1) (S)
tr D3YXY4 D3YXY4_MOUSE	Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 4 OS=Mus musculus GN=Ripk4 PE=4 SV=1	15	80150	1.1	767.4756	767.4046	14.69	LPSSSSGK	3 Label:18O(1) (S)
tr D3YYR8 D3YYR8_MOUSE	Serotransferrin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Trf PE=1 SV=1	20	26457	4.6	1312.7155	1312.7027	20.33	HTTIFEVLPEK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

	tr D3Z5G7 D3Z5G7_MOUSE	Carboxylic ester hydrolase OS=Mus musculus GN=Ces1b PE=1 SV=1	31	62500	1.6	998.5425	998.5284	30.85	APEEILAEK	
	tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	29	109894	4	1780.7659	1780.7403	14.81	FDEFFSQGCAPGYEK	
	tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	29	109894	4	1312.7155	1312.7027	20.33	HTTIFEVLPEK	
	tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	42	109894	1.3	1655.8078	1655.7613	42.07	KPVDQYEDCYLAR	
	tr F6SQH7 F6SQH7_MOUSE	Polymerase delta-interacting protein 2 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Poldip2 PE=1 SV=1	21	32865	2.8	1028.4591	1028.5428	20.78	FLLYDQTK	Label:18O(1) (Y)
	tr F7BAE9 F7BAE9_MOUSE	Serotransferrin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Trf PE=4 SV=1	15	31423	5.4	1780.7659	1780.7403	14.81	FDEFFSQGCAPGYEK	
	tr G3X8Q1 G3X8Q1_MOUSE	Calcineurin binding protein 1, isoform CRA_a OS=Mus musculus GN=Cabin1 PE=1 SV=1	35	245584	0.3	854.507	854.545	35.38	RQALIVR	
	tr M0QWH2 M0QWH2_MOUSE	Torsin-3A OS=Mus musculus GN=Tor3a PE=1 SV=1	14	27722	2.4	584.3787	584.3394	13.87	APGGKR	
	tr Q91VB8 Q91VB8_MOUSE	Alpha globin 1 OS=Mus musculus GN=Hba-a1 PE=1 SV=1	35	15160	10.6	1528.7798	1528.727	34.88	IGGHGAEYGAERALER	
SOY-RD	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	1016.5243	1016.5291	20.97	SLHTLFGDK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	1249.5677	1249.5727	22.64	YNDLGEQHFK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	707	70700	32.9	955.5257	955.5273	28.55	LCAIPNLR	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	707	70700	32.9	1865.7752	1865.7 634	30.06	TVMDDFAQFLD TCCK	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	897.4719	897.47 42	30.16	VCLLHEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	791	70700	28.9	1462.6264	1462.6 318	31.69	YMCENQATISS K	Label:18O(1) (Y); Oxidation (M); Propionamide (C)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	2152.0655	2152.0 147	31.9	AETFTFHSDICT LPEKEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	1916.9264	1916.8 839	35.5	ENPTTFMGHYL HEVAR	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	730.4403	730.43 37	38.07	ALVSSVR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	791	70700	28.9	1148.619	1148.6 077	41.7	LVQEVTDFAK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	707	70700	32.9	1894.9214	1894.8 771	43.44	AETFTFHSDICT LPEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	760.422	760.43 31	44.02	LATDLTK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	791	70700	28.9	1374.7161	1374.6 999	45.63	LQTCCDKPLLK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	791	70700	28.9	971.5703	971.56 51	46.6	QTALAEVVK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	707	70700	32.9	1881.9746	1881.9 295	50.78	RPCFSALTVDE TYVPK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	707	70700	32.9	1458.5811	1458.5 755	54.02	ENYGELADCCT K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	1177.4916	1177.4 856	54.48	CCTLPEDQR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	1849.7763	1849.7 685	60.25	TVMDDFAQFLD TCCK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	1041.4466	1041.4 437	61.73	TNCDLYEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	791	70700	28.9	1446.6281	1446.6 119	68.39	YMCENQATISS K	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	1478.7895	1478.7 881	69.1	LGEYGFQNAILV R	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	791	70700	28.9	1680.8633	1680.8 359	69.39	LSQTFPNADFA EITK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1043	70700	41.1	1438.7777	1438.7 78	91.97	APQVSTPTLVE AAR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	791	70700	28.9	1439.5803	1439.5 657	95.34	TCVADESAANC DK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	791	70700	28.9	1980.991	1980.9 211	96.7	AADKDTCFSTE GPNLVTR	
sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	30	47021	4.5	2158.0315	2158.0 219	29.87	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
sp P09813 A POA2_MOUSE E	Apolipoprotein A-II OS=Mus musculus GN=Apoa2 PE=1 SV=2	44	11359	9.8	1192.6522	1192.6 564	44.22	THEQLTPLVR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	69	30597	12.5	1236.6105	1236.6 139	22.61	WKEDVELYR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	69	30597	12.5	1330.6193	1330.6 266	34.96	SNPTLNEYHTR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	42	30597	4.9	1339.7125	1339.7 095	41.57	VAPLGAELQES AR	
sp Q6PFX7 N YAP1_MOUSE E	Neuronal tyrosine-phosphorylated phosphoinositide-3-kinase adapter 1 OS=Mus musculus GN=Nyap1 PE=1 SV=1	20	88640	0.8	787.3267	787.36 47	20.1	SGTPPCR	Propionamide (C)



**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp Q9Z1G3 V ATC1_MOUSE E	V-type proton ATPase subunit C 1 OS=Mus musculus GN=Atp6v1c1 PE=1 SV=4	24	44031	1.8	758.4373	758.45 38	24.47	SLAEIVK	
tr A0A0A0MQ A3 A0A0A0M QA3_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=1	21	48993	2.3	1122.5861	1122.5 921	21.09	LSISGEYNLK	
tr A0A0R4J0I 1 A0A0R4J0I 1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	41	46871	7.9	1617.8642	1617.8 614	28.78	TLFSSQIEELNL PK	
tr A0A0R4J0I 1 A0A0R4J0I 1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	41	46871	7.9	2158.0315	2158.0 219	29.87	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
tr A0A1B0GS 57 A0A1B0G S57_MOUSE	Hemopexin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Hpx PE=1 SV=1	18	21714	4.7	1099.4689	1099.4 757	18.03	DYFVSCPGR	
tr A8DUK4 A8 DUK4_MOUSE E	Beta-globin OS=Mus musculus GN=Hbht1 PE=1 SV=1	18	15795	8.8	1285.6337	1285.6 262	17.55	VNADEVGGEAL GR	
tr D3YYR8 D 3YYR8_MOU SE	Serotransferrin (Fragment) OS=Mus musculus GN=Trf PE=1 SV=1	24	26457	3.8	950.4988	950.51 85	23.8	TVLPPDGPR	
tr E9Q035 E9 Q035_MOUSE E	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	42	109894	1.3	1655.7962	1655.7 613	41.9	KPVDQYEDCYL AR	
tr G5E889 G5 E889_MOUSE E	Mitochondrial translation optimization 1 homolog ( <i>S. cerevisiae</i> ), isoform CRA_b OS=Mus musculus GN=Mto1 PE=1 SV=1	17	74869	1.2	886.5484	886.48 95	16.74	SIKFSSSK	2 Label:18O(1) (S)
tr G5E8R3 G 5E8R3_MOU SE	Pyruvate carboxylase OS=Mus musculus GN=Pcx PE=1 SV=1	19	130360	1.1	1471.6891	1471.8 293	19.32	KVMVANRGEIAI R	Oxidation (M)
tr Q5SRI3 Q5 SRI3_MOUSE E	Dedicator of cytokinesis protein 2 OS=Mus musculus GN=Dock2 PE=1 SV=2	19	136586	1.3	1772.9674	1772.9 592	18.81	KLMTVLKTYLDT SSR	Label:18O(1) (S); Oxidation (M)

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

	tr Q8VDV7 Q8VDV7_MOUSE	Protein Tbc1d19 OS=Mus musculus GN=Tbc1d19 PE=1 SV=1	17	60708	3.2	1795.8684	1795.8762	16.8	DTSVLGHFAYN SASPPK	3 Label:18O(1) (S)
SOY-HF	sp E9Q9K5 TRDN_MOUSE	Triadin OS=Mus musculus GN=Trdn PE=1 SV=1	18	77967	1.4	1095.5865	1095.6288	18.15	AKETPKTPPK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	2949.2937	2949.3347	27.49	CCAEANPPACY GTVLAEFQPLV EEPK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	962	70700	33.7	897.4476	897.4742	28.75	VCLLHEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1249.5545	1249.5727	29.42	YNDLGEQHFK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	962	70700	33.7	1462.5713	1462.6318	35.01	YMCENQATISS K	Label:18O(1) (Y); Oxidation (M); Propionamide (C)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1900.9033	1900.889	41.56	ENPTTFMGHYL HEVAR	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	2152.0337	2152.0147	44.8	AETFTFHSDICT LPEKEK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	854	70700	34.7	1099.6225	1099.6601	48.08	KQTALAEVLK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1374.6839	1374.6999	48.61	LQTCCDKPLK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	760.412	760.4331	50.37	LATDLTK	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1916.8985	1916.8839	52.67	ENPTTFMGHYL HEVAR	Oxidation (M)
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1177.4752	1177.4856	52.84	CCTLPEDQR	
	sp P07724 ALBU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	854	70700	34.7	971.5278	971.5651	53.11	QTALAEVLK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1894.8887	1894.8 771	56.33	AETFTFHSDICT LPEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	854	70700	34.7	1148.5722	1148.6 077	56.77	LVQEVTDFAK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1458.5634	1458.5 755	57.52	ENYGELADCCT K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	962	70700	33.7	1041.421	1041.4 437	64.87	TNCDLYEK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1680.8201	1680.8 359	68.36	LSQTFPNADFA EITK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1881.9444	1881.9 295	71.89	RPCFSALTVDE TYVPK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1865.7486	1865.7 634	74.59	TVMDDFAQFLD TCCK	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	854	70700	34.7	1446.5648	1446.6 119	76.08	YMCENQATISS K	Oxidation (M)
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	962	70700	33.7	1430.5845	1430.6 17	81.36	YMCENQATISS K	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1849.7526	1849.7 685	83.51	TVMDDFAQFLD TCCK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	854	70700	34.7	1438.7333	1438.7 78	94.1	APQVSTPTLVE AAR	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	854	70700	34.7	1439.5283	1439.5 657	96.47	TCVADESAANC DK	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	1351	70700	42.8	1478.7721	1478.7 881	112.61	LGEYGFQNAILV R	
sp P07724 AL BU_MOUSE	Serum albumin OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3	962	70700	33.7	1980.9114	1980.9 211	116.98	AADKDTCFSTE GPNLVTR	
sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	39	47021	10	2141.1485	2141.1 328	22.72	AVLDVAETGTE AAAATGVIGGIR	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	25	47021	7.9	1628.7825	1628.8 192	24.63	MQQVEASLQPE TLR	
sp P07759 S PA3K_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2	39	47021	10	2158.0078	2158.0 219	33.44	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
sp P09813 A POA2_MOUSE E	Apolipoprotein A-II OS=Mus musculus GN=Apoa2 PE=1 SV=2	47	11359	9.8	1192.6297	1192.6 564	46.81	THEQLTPLVR	
sp P28665 M UG1_MOUSE	Murinoglobulin-1 OS=Mus musculus GN=Mug1 PE=1 SV=3	30	166618	0.9	1408.6576	1408.6 947	30.11	FSTSQSLPASQ TR	
sp P29621 S PA3C_MOUSE E	Serine protease inhibitor A3C OS=Mus musculus GN=Serpina3c PE=2 SV=1	25	46908	3.4	1628.7825	1628.8 192	24.63	MQQVEASLQPE TLR	
sp P29699 F ETUA_MOUSE E	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Mus musculus GN=Ahsg PE=1 SV=1	15	38100	4.9	1636.7639	1636.7 814	15.04	VGQPGAAGPVS PMCPGR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	84	30597	8.3	1236.5947	1236.6 139	26.76	WKEDVELYR	
sp Q00623 A POA1_MOUSE E	Apolipoprotein A-I OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2	84	30597	8.3	1339.6968	1339.7 095	49.28	VAPLGAELQES AR	
sp Q61838 P ZP_MOUSE	Pregnancy zone protein OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3	40	167116	1.5	1209.5561	1209.5 725	17.47	DLSSSDLSTASK	
sp Q61838 P ZP_MOUSE	Pregnancy zone protein OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3	40	167116	1.5	1105.6307	1105.6 495	39.34	LTEVPALVHK	
sp Q6GQT1  A2MG_MOUSE SE	Alpha-2-macroglobulin-P OS=Mus musculus GN=A2m PE=2 SV=2	29	165674	0.5	885.3963	885.43 45	28.91	YGAATFTR	
sp Q6ZQB6 V IP2_MOUSE	Inositol hexakisphosphate and diphosphoinositol-pentakisphosphate kinase 2 OS=Mus musculus GN=Ppip5k2 PE=1 SV=3	35	129486	0.7	982.5415	982.50 42	34.95	GYCTPLVR	Label:18O(1) (T); Label:18O(1) (Y); Propionamide (C)

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

sp Q8K0E8 FIBB_MOUSE	Fibrinogen beta chain OS=Mus musculus GN=Fgb PE=1 SV=1	19	55402	2.9	1507.6691	1507.7056	19.12	AHYGGFTVQNE ASK	
sp Q8VHK9 DXH36_MOUSEE	ATP-dependent RNA helicase DHX36 OS=Mus musculus GN=Dhx36 PE=1 SV=2	19	114667	2.4	1811.8227	1811.7877	19.41	GSGQGSSGGG GGGSRGSSGGG GGGR	3 Label:18O(1) (S)
sp Q9CQN1 TRAP1_MOUSESE	Heat shock protein 75 kDa, mitochondrial OS=Mus musculus GN=Trap1 PE=1 SV=1	18	80501	1.3	909.5217	909.5508	18	APALAGVRR	
sp Q9JJJ7 PORCN_MOUSESE	Protein-serine O-palmitoleoyltransferase porcupine OS=Mus musculus GN=Porcn PE=1 SV=1	16	53101	2.4	1494.7495	1494.6931	15.61	RCLPDCSHRHR	Label:18O(1) (S)
tr A0A0A0MQA3 A0A0A0MQA3_MOUSE	Alpha-1-antitrypsin 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=1	40	48993	2.3	1122.5618	1122.5921	40.34	LSISGEYNLK	
tr A0A0A0MQF0 A0A0A0MQF0_MOUSE	Cytoplasmic protein NCK2 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Nck2 PE=1 SV=1	22	9114	14.3	1285.5845	1285.6189	22.01	TGYVPSNYVER	Label:18O(1) (Y)
tr A0A0J9YS5 A0A0J9YS5_MOUSE	T-box transcription factor TBX5 (Fragment) OS=Mus musculus GN=Tbx5 PE=1 SV=1	17	24573	3.7	887.4582	887.4486	16.66	TPLEPSDK	Label:18O(1) (S)
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	60	46871	17.2	2141.1485	2141.1328	22.72	AVLDVAETGTE AAAATGVIGGIR	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	26	46871	11.2	1628.7825	1628.8192	24.63	MQQVEASLQPE TLR	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	60	46871	17.2	1736.8295	1736.8468	26.35	EVFTEQADLSGI TEAK	
tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	27	46871	3.3	1617.8102	1617.8614	27.27	TLFSSQIEELNL PK	

**Anexo 6.** Tabla S1. Glicopéptidos detectados en plasma de los grupos de ratones analizados después de ocho semanas de tratamiento con proteína de amaranto o soya ( $n = 8-10$ ). Se hicieron 3 pools de plasma por cada grupo.

tr A0A0R4J0I1 A0A0R4J0I1_MOUSE	MCG1051009 OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=1	60	46871	17.2	2158.0078	2158.0 219	33.44	ALYQTEAFTADF QQPTEAK	
tr A8DUK4 A8DUK4_MOUSE	Beta-globin OS=Mus musculus GN=Hbht1 PE=1 SV=1	59	15795	8.8	1285.6157	1285.6 262	54.77	VNADEVGGEAL GR	
tr B7ZWN4 B7ZWN4_MOUSE	Sulfotransferase OS=Mus musculus GN=Sult6b2 PE=1 SV=1	18	33761	3.8	1271.6555	1271.6 18	17.77	IARSTSFSEMK	Oxidation (M)
tr E0CYL6 E0CYL6_MOUSE	Proteasome subunit alpha type-3 OS=Mus musculus GN=Psma3 PE=1 SV=1	22	5687	36.5	1924.916	1924.8 922	21.86	SSIGTGYDLSAS TFSPDGR	3 Label:18O(1) (S); Label:18O(1) (T)
tr E9Q035 E9Q035_MOUSE	Protein Gm20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1	51	109894	1.3	1655.7484	1655.7 613	51.38	KPVDQYEDCYL AR	
tr F6UH68 F6UH68_MOUSE	Kielin/chordin-like protein (Fragment) OS=Mus musculus GN=Kcp PE=4 SV=1	14	41655	2.5	979.509	979.47 23	14.49	GKEFASGER	
tr Q3UER8 Q3UER8_MOUSE	Fibrinogen gamma chain OS=Mus musculus GN=Fgg PE=1 SV=1	16	51002	2.3	1161.4747	1161.5 125	16.08	TSTADYAMFR	
tr Q91VB8 Q91VB8_MOUSE	Alpha globin 1 OS=Mus musculus GN=Hba-a1 PE=1 SV=1	60	15160	10.6	1528.7128	1528.7 27	59.8	IGGHGAEYGAE ALER	

## Anexo 4. Lista de artículos publicados

1. Abraham Escobedo-Moratilla A, Aída Jimena Velarde-Salcedo, Cynthia Victoria Magaña-Hernández, Alberto Barrera-Pacheco, Eduardo Espitia-Rangel, Alfredo Herrera-Estrella, Ana Paulina Barba de la Rosa AP. 2017. **“Amaranth Protein Improves Lipid Profile and Insulin Resistance in a Diet-Induced Obese Mice Model”**. Journal of Food and Nutrition Research Vol. 5, no. 12: 914-924. DOI: 10.12691/jfnr-5-12-6

DOI: 10.12691/jfnr-5-12-6