



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS-ICUAP

POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ÁREA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

**EFFECTO DEL TRASTORNO DE ATRACÓN  
DIRIGIDO SOBRE LOS SENSORES  
ENERGÉTICOS DEL SISTEMA MESOLÍMBICO  
DE RATAS WISTAR CON SÍNDROME  
METABÓLICO**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRA  
EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA:

**QFB. CLAUDIA IVONNE DE LA CRUZ AMADOR**

DIRECTOR DE TESIS:

**D.C. SAMUEL TREVIÑO MORA**

OCTUBRE 2025





# Ciencia y Tecnología

Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación

Este proyecto fue realizado gracias al apoyo de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca nacional otorgada a la estudiante Claudia Ivonne de la Cruz Amador (CVU 1295110)



**SECTEI**

Se agradece a la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación (SECTEI) por el apoyo otorgado para la realización del presente trabajo a la estudiante Claudia Ivonne de la Cruz Amador (Proyecto SECTEI/165/2023)



**BUAP**

Oficio No. PCQ/299/2025

**Mtro. Alfredo Avendaño Arenaza**  
**Director General de Bibliotecas**  
**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**  
**Presente**

A través de este medio me dirijo a usted para informarle que la tesis con título **Efecto del trastorno de atracón dirigido sobre los sensores energéticos del sistema mesolímbico de ratas Wistar con síndrome metabólico**, ha sido avalada bajo los preceptos de integridad académica; por tanto, se autoriza la impresión de tesis de la alumna:

Nombre de la alumna: **Claudia Ivonne de la Cruz Amador**

Matrícula: **223470212**

Facultad: **Facultad de Ciencias Químicas – Instituto de Ciencias**

Programa Educativo: **Maestría en Ciencias Químicas**

Licenciatura o Posgrado: **Posgrado**

Sin más por el momento, agradezco la atención al presente.

**ATENTAMENTE**  
**“Pensar bien, para vivir mejor”**  
**H. Puebla de Z., a 27 de octubre de 2025**

  
**D.C. Juan Manuel Soriano Altamirano**  
**Secretario Académico**



  
**D.C. Samuel Treviño Mora**  
**Director de Tesis**

Posgrado en Ciencias Químicas  
FCQ - ICUAP

Edif. FCQ10, Ciudad Universitaria,  
Col. San Manuel, Puebla, Pue.  
C.P. 72570  
22-22-29-55-00 Ext. 7397

*“No se puede enseñar nada a un hombre, sólo se le puede ayudar a descubrirse a sí mismo”*

Galileo Galilei

*“Me parece haber sido sólo un niño jugando en la orilla del mar, divirtiéndose y buscando una piedra más lisa o una concha más bonita de lo normal, mientras el gran océano de la verdad yacía ante mis ojos con todo por descubrir”*

Isaac Newton



Sociedad Mexicana  
de Ciencias Fisiológicas A.C.

El presente proyecto fue presentado en el **LXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas** celebrado del 2 al 5 de septiembre de 2025 en la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Qro., mediante un trabajo en modalidad cartel.

## Agradecimientos

### **A Dios**

Por permitirme esta oportunidad, por acercarme a todas las personas que me apoyaron y ayudaron a realizar este proyecto. Por estar para mí siempre y hacerme creer en los momentos de oscuridad.

### **A mi hermana Itzel**

Por ser mi hermanita y mi mejor amiga, por todas las risas, grandes momentos, bromas, consejos y toda tu ayuda. Por creer en mí, en que soy buena en lo que hago y siempre alentarme. Gracias por seguir conmigo en esta vida y estar a mi lado siempre aunque a veces estemos lejitos. ¡Te amo mucho!

### **A mi Fer**

Por ser mi pilar, mi compañero de vida y estar a mi lado siempre, por creer en mí cuando yo no podía hacerlo más, por alentarme en cada paso que di en este viaje y siempre animarme cuando quería rendirme. Gracias por todo tu amorcito, tu cariño y apoyo, ¡te amo muchísimo!

### **A mis papás Claudia y Gilberto**

Por creer que puedo lograr cualquier objetivo que me proponga, por todas sus enseñanzas, apoyo, consejos, sus abrazos y cariños. Gracias a ustedes me convertí en lo que soy ahora. Los amo mucho.

### **A mi tía Paty**

Por siempre apoyarme y alentarme a ser una gran profesional, por tu inspiración, amor, cariño y apoyo incondicional.

### **A mis suegros y cuñados**

Por sus consejos, sus bromas, su apoyo y por creer en mí. Gracias por ser mi segunda familia.

### **A Gus y Lia**

Por haber sido parte de mi vida y alegrarme los días difíciles con solo su mirada, por su amor y cariño incondicional.

### **A mis ratitas**

Por dar su vida para poder generar conocimiento nuevo, por su calma al manipularlas y por el tiempo compartido juntas durante la realización de mi maestría

### **Al DC. Samuel Treviño Mora**

Por ser mi director de tesis, guiarme y enseñarme a través de la realización de este proyecto

### **A los integrantes de mi comisión revisora: DC. Alfonso Daniel Díaz Fonseca, DC. Erika Monserrat Estrada Camarena, DC. Victorino Gilberto Serafín Alatraste Bueno y DC Antony Boucard Jr.**

Por su tiempo dedicado a este proyecto, por sus aportaciones, comentarios y observaciones que permitieron mejorar el trabajo

### **A Karen y Alfredo**

Por su amistad, por las risas y pláticas en el laboratorio, por su disposición a ayudarme y enseñarme cuando lo necesité

### **A Minuet y Julián**

Por su amistad y apoyo durante la maestría, gracias por estar durante los momentos difíciles

### **A Vane**

Por su amistad, su apoyo incondicional durante la maestría, los momentos y risas compartidas.

### **A Getse, Lupita, Hugo, Citlali, Azalia, Fernando, Luis Fernando**

Por convivir a mi lado durante mi estancia en laboratorio, por las risas, consejos, por su apoyo y sus enseñanzas.

## Resumen

El síndrome metabólico y la conducta de atracón coexisten con gran frecuencia y comparten alteraciones metabólicas y emocionales que favorecen hábitos alimentarios similares, como consumir grandes cantidades de alimentos con un alto contenido calórico. Esta interacción puede generar cambios en los sistemas de regulación central alimentaria y en los sensores energéticos para cubrir la demanda del gran aporte calórico consumido. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue analizar la expresión de los sensores energéticos en el sistema mesolímbico en ratas macho Wistar con atracones y síndrome metabólico.

Para ello, se utilizaron 80 ratas macho Wistar, las cuales se dividieron en 4 grupos (n = 20). 2 grupos fueron designados como controles normocalóricos y se alimentaron con una dieta a base de pellet balanceada (LabDiet 5001) y agua *ad libitum*. Los 2 grupos restantes conformaron los grupos hipercalóricos y fueron alimentados con una dieta alta en carbohidratos (MX/E/2013/047377) y agua *ad libitum* para inducir SMet durante 3 meses. Durante el cuarto mes se indujo la conducta de atracón mediante una solución preparada a base de leche en polvo Nido® y Choco Milk® disueltas en agua purificada. Los grupos normocalóricos e hipercalóricos se dividieron en aquellos con un consumo alimenticio forzado y aquellos que no. Posteriormente se caracterizaron los modelos, se evaluó la ingesta de alimentos y los parámetros zoométricos; se llevaron a cabo pruebas conductuales para evaluar los indicadores de emocionalidad de los animales. Además, se evaluó el fenotipo metabólico mediante la curva de tolerancia oral a glucosa, respuesta a insulina, perfil lipídico, índices HOMA-IR, VAI y DAI, así como la determinación hormonal de glucagón, leptina, adiponectina, cortisol, corticoesterona y ACTH. Se determinó la expresión de los sensores energéticos AMPK, SIRT1 y FOXO1 a través de ensayos de Western Blot y se cuantificó la síntesis de ATP mitocondrial. Los resultados muestran que la dieta alta en carbohidratos y la conducta de atracón generaron SMet en los animales con un desbalance hormonal en el eje adrenal. A su vez, se dio una alteración en la homeostasis energética, ya que existió una sobreactivación de AMPK y un aumento relativo de FOXO1 nuclear. Se redujo la síntesis de ATP, sobre todo en el

modelo de atracón. La baja disponibilidad energética amplificó la búsqueda de alimento palatable como mecanismo compensatorio. Además, existe una preferencia mayoritaria por el metabolismo de carbohidratos y aminoácidos. Finalmente, el atracón generó una conducta similar a la ansiedad y se presentó un mayor impulso/deseo por el consumo de la solución láctea, lo cual coincide con la desregulación mesolímbica. El síndrome metabólico y la conducta tipo atracón desregulan los sensores energéticos de las regiones cerebrales mesolímbicas.

## Abstract

Metabolic syndrome and binge eating behavior frequently coexist and share metabolic and emotional alterations that favor similar eating habits, such as consuming large amounts of high-calorie foods. This interaction should generate changes in central food regulation systems and energy sensors to meet the demands of the large caloric intake consumed. Therefore, the objective of this study was to analyze the expression of energy sensors in the mesolimbic system in male Wistar rats with binge eating and metabolic syndrome.

To this end, 80 male Wistar rats were divided into 4 groups (n = 20). Two groups were designated as normocaloric controls and were fed a balanced pellet-based diet (LabDiet 5001) and water *ad libitum*. The remaining two groups formed hypercaloric groups and were fed a high-carbohydrate diet (MX/E/2013/047377) with water *ad libitum* to induce MetS for 3 months. During the fourth month, binge eating behavior was induced using a solution prepared with Nido® powdered milk and Choco Milk® chocolate drink dissolved in purified water. The normocaloric and hypercaloric groups were divided into those with forced feeding and those without. The models were subsequently characterized, and food intake and zoometric parameters were evaluated. Additionally, behavioral tests were conducted to assess the animals' emotionality. In addition, the metabolic phenotype was evaluated using the oral glucose tolerance test, insulin response, lipid profile, HOMA-IR, VAI, and DAI indices, as well as hormonal determinations of glucagon, leptin, adiponectin, cortisol, corticosteroids, and ACTH. The expressions of AMPK, SIRT1, and FOXO1 were determined through Western blotting assays, and mitochondrial ATP synthesis was quantified. The results show that the high-carbohydrate diet and binge eating behavior generated MetS in animals with a hormonal imbalance in the adrenal axis. In turn, there was an alteration in energy homeostasis, since there was an overactivation of AMPK and a relative increase in nuclear FOXO1. ATP synthesis was reduced, especially in the binge eating model, suggesting mitochondrial dysfunction. The low energy availability amplified the search for palatable food as a compensatory mechanism. Furthermore, there was a greater preference for carbohydrate and amino acid metabolism. Finally, binge eating generated anxiety-

like behaviors and a greater drive/desire to consume the milk solution, consistent with mesolimbic dysregulation. In conclusion, metabolic syndrome and binge eating behavior dysregulate energy sensors in mesolimbic brain regions.

## Contenido

Agradecimientos .....	7
Resumen.....	9
Abstract.....	11
Lista de abreviaturas.....	16
Índice de figuras.....	20
Índice de tablas.....	22
Marco teórico .....	23
Alimentación y metabolismo celular.....	23
Desregulación metabólica y conductas alimentarias .....	31
Regulación central de la alimentación: Sistema mesolímbico .....	37
Modelos animales.....	41
Planteamiento del problema .....	44
Justificación .....	46
Objetivos .....	48
Objetivo general.....	48
Objetivos específicos.....	48
Hipótesis .....	48
Hipótesis nula .....	48
Hipótesis alternativa .....	48
Diagramas de trabajo.....	49
Metodología .....	51
Animales .....	51
Parámetros zoométricos e ingesta de alimentos .....	54
Pruebas conductuales .....	54

Sacrificio .....	56
Caracterización metabólica.....	57
Determinación de cortisol/corticoesterona/ACTH .....	58
Ensayos de Western Blot.....	58
Aislamiento de mitocondrias .....	59
Síntesis de ATP .....	59
Análisis estadístico .....	60
Resultados .....	61
Consumo alimenticio y parámetros zoométricos de los modelos animales ....	61
Caracterización metabólica y hormonal de los grupos experimentales .....	62
Conducta de atracón.....	66
Efecto del síndrome metabólico y el atracón sobre la conducta de los modelos animales .....	69
Efecto del síndrome metabólico y la conducta de atracón sobre la expresión de los sensores energéticos .....	73
Efecto del síndrome metabólico y la conducta de atracón sobre la bioenergética mitocondrial .....	77
Discusión .....	79
Consumo alimenticio y parámetros zoométricos de los modelos animales ....	79
Caracterización metabólica y hormonal de los grupos experimentales .....	83
Modelo animal de la conducta de atracón .....	87
Efecto del síndrome metabólico y el atracón sobre la conducta de los modelos animales .....	95
Efecto del síndrome metabólico y la conducta de atracón sobre la expresión de los sensores energéticos .....	98

Efecto del síndrome metabólico y la conducta de atracón sobre la bioenergética mitocondrial .....	104
Conclusiones .....	112
Referencias bibliográficas .....	112
Anexos .....	135
Anexo 1. Prueba del laberinto en cruz elevado .....	135
Anexo 2. Prueba de enterramiento de canicas modificado .....	136
Anexo 3. Prueba de preferencia a la sacarosa .....	137
Anexo 4. Prueba de alimentación con supresión por novedad (Novelty-suppressed feeding test).....	137
Anexo 5. Determinación de la concentración de glucosa sérica .....	138
Anexo 6. Determinación de la concentración de insulina sérica .....	139
Anexo 7. Determinación de la concentración de adiponectina .....	140
Anexo 8. Determinación de la concentración de leptina .....	141
Anexo 9. Determinación de la concentración de glucagón .....	143
Anexo 10. Determinación de la concentración de colesterol total sérico .....	144
Anexo 11. Determinación de la concentración de triglicéridos séricos .....	145
Anexo 12. Determinación de la concentración de colesterol HDL reactivo precipitante .....	147
Anexo 13. Determinación de la concentración de colesterol LDL reactivo precipitante .....	148
Anexo 14. Cuantificación de proteínas totales .....	149
Anexo 15. Western Blot .....	150
Anexo 16. Aislamiento de mitocondrias .....	153
Anexo 17. Determinación de la síntesis de ATP .....	153

## Lista de abreviaturas

<b>ACC1</b>	Acetil-CoA carboxilasa 1
<b>ACC2</b>	Acetil-CoA carboxilasa 2
<b>ACTH</b>	Hormona adrenocorticotrópica
<b>ADP</b>	Adenosín difosfato
<b>AF</b>	Adicción a la comida
<b>AgRP</b>	Agouti
<b>AHA</b>	Asociación Americana del Corazón
<b>Akt</b>	Proteína cinasa B
<b>AMP</b>	Adenosín monofosfato
<b>AMPK</b>	Proteína cinasa activada por 5' adenosina monofosfato
<b>AMY</b>	Amígdala
<b>Arc</b>	Núcleo arqueado
<b>ATP</b>	Adenosín trifosfato
<b>BED</b>	Trastorno por atracón
<b>BLA</b>	Núcleo basolateral de la amígdala
<b>BN</b>	Bulimia nerviosa
<b>CA</b>	Circunferencia abdominal
<b>CAMKK2</b>	Proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina 2
<b>CART</b>	Transcrito relacionado a la cocaína y anfetamina
<b>CDK</b>	Cinasa dependiente de ciclinas
<b>CeA</b>	Amígdala central
<b>CI</b>	Complejo I
<b>CII</b>	Complejo II
<b>CPT1</b>	Carnitina palmitoiltransferasa 1
<b>CREB</b>	Proteína de unión a elementos de respuesta Camp
<b>CRH</b>	Hormona liberadora de corticotropina
<b>CRTC<sub>2</sub></b>	Coactivador 2 de la transcripción regulada por CREB
<b>CTE</b>	Cadena transportadora de electrones

<b>DAI</b>	Índice de adiposidad disfuncional
<b>DSM-5</b>	Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales
<b>DT2</b>	Diabetes tipo 2
<b>EEM</b>	Error estándar de la media
<b>ERK</b>	Cinasa regulada por señal extracelular
<b>ERR</b>	Receptores relacionados con el estrógeno
<b>FAO</b>	Oxidación de ácidos grasos
<b>FOXO1</b>	Factor de transcripción de cabeza de horquilla de clase O tipo 1
<b>G6PC</b>	Glucosa-6-fosfato
<b>GABA</b>	Ácido gamma-aminobutírico
<b>GLP-1</b>	Péptido similar al glucagón
<b>GLUT1</b>	Transportador de glucosa 1
<b>GLUT4</b>	Transportador de glucosa 4
<b>GRB14</b>	Proteína 14 unida al receptor del factor de crecimiento
<b>HCD</b>	Hipercalórica
<b>HDL</b>	Lipoproteína de alta densidad
<b>HT</b>	Hipotálamo
<b>IDF</b>	Federación Internacional de Diabetes
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>IRS1</b>	Sustrato 1 del receptor de insulina
<b>JNK</b>	Cinasa c-Jun-N terminal
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad
<b>LH</b>	Hipotálamo lateral
<b>LKB1</b>	Hígado-quinasa B1
<b>LYPLAL1</b>	Proteína similar a lisofosfolipasa 1
<b>MAPK</b>	Proteína quinasa activada por mitógenos
<b>MAS</b>	Lanzadera malato-aspartato
<b>MCR</b>	Receptor de la melanocortina
<b>MHNO</b>	Individuos con IMC normal metabólicamente sanos
<b>MHO</b>	Individuos con IMC alto (obeso) metabólicamente sanos

<b>MST1</b>	Cinasa similar S Ste20
<b>mTORC1</b>	Objetivo mamífero del complejo de rapamicina 1
<b>MUNO</b>	Individuos con IMC normal metabólicamente enfermos
<b>MUO</b>	Individuos con IMC alto (obeso) metabólicamente enfermos
<b>NAc</b>	Núcleo accumbens
<b>NAD<sup>+</sup></b>	Nicotinamida adenina dinucleótido oxidado
<b>NCD</b>	Normocalórica
<b>NPY</b>	Neuropéptido Y
<b>NRF</b>	Factor respiratorio nuclear
<b>NSFT</b>	Prueba de alimentación con supresión de novedad
<b>NTS</b>	Núcleo del tracto solitario
<b>OFC</b>	Corteza orbitofrontal medial
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>OxPhos</b>	Fosforilación oxidativa
<b>p300</b>	Proteína de unión a EP300
<b>PDH</b>	Piruvato deshidrogenasa
<b>PEPCK</b>	Fosfoenolpiruvato carboxicinas
<b>PFC</b>	Corteza prefrontal
<b>PFK-2</b>	Fosfofructocinasa-2
<b>PGC-1<math>\alpha</math></b>	Coactivador del receptor gamma 1-alfa activado por el proliferador de peroxisomas
<b>PI3K</b>	Fosfoinositol 3-cinasa
<b>PIB</b>	Producto Interno Bruto
<b>PIP3</b>	Fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato
<b>POMC</b>	Proopiomelanocortina
<b>PPAR<math>\alpha</math></b>	Receptor alfa activado por proliferador de peroxisoma
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma
<b>PVN</b>	Núcleo paraventricular
<b>RFU</b>	Unidades fluorescentes relativas
<b>RI</b>	Resistencia a insulina
<b>ROS</b>	Especies reactivas de oxígeno

<b>SAT</b>	Tejido adiposo subcutáneo
<b>SDH</b>	Succinato deshidrogenasa
<b>SDS-PAGE</b>	Electroforesis desnaturalizante
<b>SF1</b>	Factor esteroideogénico 1
<b>SIRT1</b>	Sirtuina 1
<b>SMet</b>	Síndrome metabólico
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SPT</b>	Prueba de preferencia a la sacarosa
<b>SRAD</b>	Trastornos relacionados con sustancias y adictivos
<b>SREBP1c</b>	Proteína de unión a los elementos regulatorios de esteroides
<b>TAG</b>	Triglicéridos
<b>TBC1D1</b>	Miembro 1 de la familia del dominio TBC
<b>TCA</b>	Ácido tricarboxílico
<b>TDA</b>	Trastorno por déficit de atención
<b>TDAH</b>	Trastorno por déficit de atención e hiperactividad
<b>TXNIP</b>	Proteína que interactúa con la tiorredoxina
<b>UCP2</b>	Proteína 2 de desacoplamiento mitocondrial
<b>VAI</b>	Índice de adiposidad visceral
<b>VAT</b>	Tejido adiposo visceral
<b>VMH</b>	Hipotálamo ventromedial
<b>VTA</b>	Área tegmental ventral
<b>WAT</b>	Tejido adiposo blanco
<b>WB</b>	Western blot
<b><math>\alpha</math>-MSH</b>	Hormona estimulante de melanocitos alfa

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Principales rutas metabólicas de producción de energía y su regulación molecular. ....	23
<b>Figura 2.</b> Vías moleculares involucradas en el desarrollo de SMet. ....	31
<b>Figura 3.</b> Caracterización metabólica tras 4 meses de inducción.....	63
<b>Figura 4. A.</b> Índice de adiposidad visceral (VAI). <b>B.</b> Índice de adiposidad disfuncional (DAI).....	64
<b>Figura 5.</b> Determinación hormonal. ....	64
<b>Figura 6.</b> Determinación del eje adrenal.....	65
<b>Figura 7.</b> Consumo de líquidos en el cuarto mes del experimento .....	66
<b>Figura 8.</b> Monitoreo de leche y de la “microestructura” del lamido. ....	67
<b>Figura 9.</b> Prueba del laberinto elevado en cruz. ....	69
<b>Figura 10.</b> Canicas enterradas por cada animal en la prueba de enterramiento de mármol modificado. ....	70
<b>Figura 11.</b> Parámetros evaluados en la prueba de alimentación con supresión de novedad. ....	70
<b>Figura 12.</b> Parámetros obtenidos por la prueba de preferencia a la sacarosa .....	72
<b>Figura 13. A.</b> Imágenes representativas de WB que muestran la modulación en la expresión de los sensores energéticos SIRT1, AMPK y FOXO1 (a nivel citoplasmático y nuclear) en el núcleo accumbens (NAc). <b>B.</b> Cuantificación de la expresión relativa de las proteínas.....	74
<b>Figura 14. A.</b> Imágenes representativas de WB que muestran la modulación en la expresión de los sensores energéticos SIRT1, AMPK y FOXO1 (a nivel citoplasmático y nuclear) en la amígdala (AMY). <b>B.</b> Cuantificación de la expresión relativa de las proteínas. ....	75

<b>Figura 15. A.</b> Imágenes representativas de WB que muestran la modulación en la expresión de los sensores energéticos SIRT1, AMPK y FOXO1 (a nivel citoplasmático y nuclear) en el hipotálamo (HT). <b>B.</b> Cuantificación de la expresión relativa de las proteínas. ....	76
<b>Figura 16.</b> Síntesis de ATP mitocondrial. ....	78
<b>Figura 17.</b> Fenotipos metabólicos sanos y enfermos. ....	79
<b>Figura 18.</b> Efecto del consumo de una dieta hipercalórica hiperglúcida y una solución láctea achocolatada en ratas macho Wistar. ....	84
<b>Figura 19.</b> Circuito principal encargado de la regulación de la ingesta de alimentos. ....	90
<b>Figura 20.</b> Desbalance cerebral causado por la desregulación metabólica periférica. ....	95
<b>Figura 21.</b> Cadena transportadora de electrones (CTE) presente en la fosforilación oxidativa (OxPhos). ....	104
<b>Figura 22.</b> Vías metabólicas clave de las principales fuentes de energía cerebral, su regulación y cooperación metabólica entre la neurona y el astrocito. ....	105
<b>Figura 23.</b> Vínculo entre el ciclo de vida mitocondrial y PGC-1 $\alpha$ . ....	110

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Composición porcentual de las dietas sólidas utilizadas.....	51
<b>Tabla 2.</b> Composición nutrimental de Choco Milk® expresada en gramos y calorías (kcal). .....	52
<b>Tabla 3.</b> Composición nutrimental de leche en polvo Nido® expresada en gramos y calorías (kcal). .....	52
<b>Tabla 4.</b> A. Composición nutrimental de la solución láctea preparada a partir de 25 g de Choco Milk® y 15 g de leche en polvo Nido® expresada en calorías (kcal) y en porcentaje. ....	52
<b>Tabla 5.</b> Mediciones del consumo alimentario y parámetros zoométricos tras 4 meses de inducción.....	61
<b>Tabla 6.</b> . Expresión de los sensores energéticos en el sistema mesolímbico.....	98
<b>Tabla 7.</b> Diferencias clave en el metabolismo entre neuronas y astrocitos. ....	106

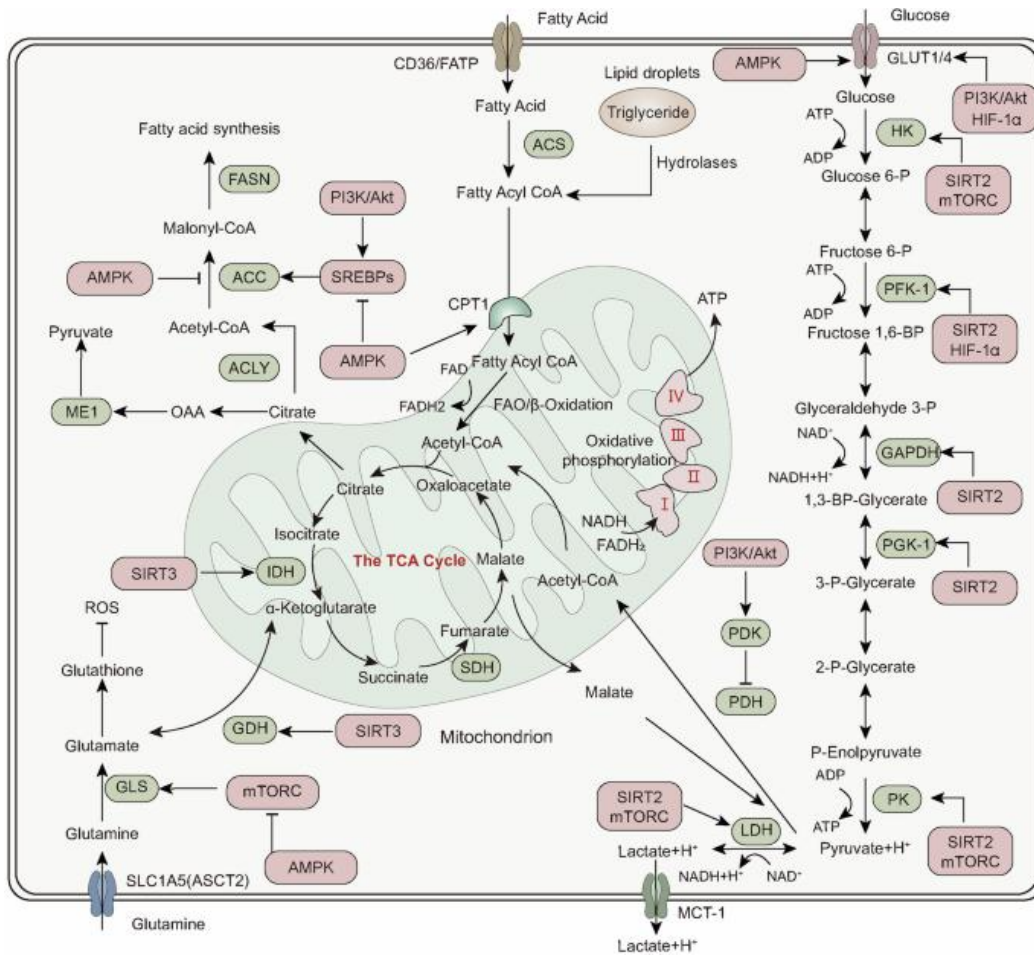
## Marco teórico

### Alimentación y metabolismo celular

La alimentación es una necesidad primaria para los seres vivos, ya que permite obtener la energía necesaria para el crecimiento, desarrollo y sobrevivencia. Una vez ingeridos los alimentos, transformados a moléculas más simples y absorbidos por el sistema gastrointestinal, son distribuidos a los diferentes tejidos, donde llegarán a las células para su resguardo o metabolismo correspondiente [McQuilken S.A, 2021 y de Sousa A.F, 2023]. El metabolismo celular consiste en un sistema finamente regulado donde coexisten diversos procesos bioquímicos complejos que implican la liberación, transferencia, almacenamiento y utilización de energía [Spinelli JB, 2018 y Liu, H. et al., 2025].

Las rutas metabólicas principales corresponden a procesos interconectados (Fig. 1), como la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs) y la fosforilación oxidativa. Adicionalmente, existen rutas como la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos, la gluconeogénesis, la cetogénesis, etc. Cabe resaltar que, el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos representa más del 90% de las necesidades energéticas del cuerpo [Liu, H. et al., 2025].

Un gran número de moléculas participan en la regulación del metabolismo en los mamíferos, ya que censan el estado de los nutrientes para mantener la demanda energética y el estrés celular, generando modificaciones postraduccionales de proteínas clave que participan en el metabolismo, cambios en la dinámica mitocondrial y respuesta nuclear. De esta manera se potencian o inhiben rutas metabólicas específicas [Yuan H.X., 2013 y Maissan P., 2021]. La regulación de estas vías es fundamental para mantener la homeostasis celular y garantizar el funcionamiento óptimo de órganos y tejidos. La desregulación del metabolismo energético se encuentra estrechamente relacionada con la patogénesis de diversos trastornos, como enfermedades neurológicas, afecciones renales y cardiovasculares, diabetes y sus comorbilidades, las cuales convergen en una de las mayores problemáticas en salud, el síndrome metabólico (SMet) [Liu H et al., 2025].



**Figura 1.** Principales rutas metabólicas de producción de energía y su regulación molecular. Tomado de Liu, H. et al., 2025.

### Sensores energéticos metabólicos

Dentro de estas moléculas, se encuentran tres sensores energéticos importantes: la proteína cinasa activada por 5' adenosina monofosfato (AMPK), una proteína reguladora maestra del metabolismo de la glucosa [Yuan H. X, 2013]; sirtuina 1 (SIRT1) una desacetilasa dependiente de nicotinamida adenina dinucleótido oxidado  $NAD^+$ , que juega un papel crucial en el metabolismo energético y la función mitocondrial [Guarente L, 2011]. El factor de transcripción de cabeza de horquilla de clase O tipo 1 (FOXO1) es un factor de transcripción involucrado en la regulación del metabolismo energético, especialmente en respuesta a señales de insulina [Teaney N.A., 2023].

## AMPK

La proteína cinasa activada por 5' adenosina monofosfato (AMPK) es una enzima clave en el control de la energía celular y un regulador maestro del metabolismo de la glucosa y los lípidos. Se encuentra en diversos tejidos como hígado, tejido adiposo, cerebro y páncreas. AMPK existe como un complejo heterotrimérico compuesto por una subunidad catalítica alfa y dos subunidades reguladoras, beta y gama. Censa los niveles de energía a través de una unión directa de adenosín monofosfato (AMP), adenosín difosfato (ADP) o adenosín trifosfato (ATP) en sitios específicos de la subunidad gamma. Al unírsele una de estas moléculas, sufre un cambio conformacional, promoviendo una fosforilación o desfosforilación (en el caso de ATP) en el residuo de treonina 172 del dominio Ser/Thr de la subunidad alfa [Yuan H. X, 2013]. Existen diversas moléculas que fosforilan este residuo, destacando la hígado-quinasa B1 (LKB1), una serina/treonina quinasa, y la proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina 2 (CAMKK2) [Liu H et al., 2025].

La AMPK se activa cuando los niveles de ATP disminuyen y los de AMP aumentan; esto promueve vías catabólicas para producir ATP, específicamente a partir de glucosa y ácidos grasos. Por lo tanto, AMPK es activada durante el ayuno y suprimida durante la realimentación. Respecto a la homeostasis de glucosa, fomenta su recaptura al aumentar la expresión y función de transportadores de glucosa de manera indirecta, a través de la fosforilación del miembro 1 de la familia del dominio TBC (TBC1D1) y la proteína que interactúa con la tiorredoxina (TXNIP), que regulan el movimiento y la expresión superficial de los transportadores de glucosa 4 y 1 (GLUT4 y GLUT1) [Liu H et al., 2025]. Al mismo tiempo, impulsa la glucólisis a través de la fosforilación de fosfofructocinasa-2 (PFK-2) e inhibe procesos anabólicos como la gluconeogénesis y la glucogénesis en el hígado, al inhibir múltiples isoformas de la glucógeno sintasa. Además, influye en la homeostasis de glucosa al suprimir la síntesis proteica, inhibiendo el objetivo mamífero del complejo de rapamicina 1 (mTORC1) [Yuan H. X, 2013].

AMPK regula el catabolismo de los ácidos grasos disminuyendo su síntesis, al fosforilar e inhibir la acetil-CoA carboxilasa 1 (ACC1). También regula negativamente

la expresión de las enzimas implicadas en la síntesis de ácidos grasos a nivel transcripcional, posiblemente mediante la fosforilación e inhibición de la proteína de unión a los elementos regulatorios de esteroides (SREBP1c). AMPK promueve la absorción y beta-oxidación de ácidos grasos mitocondriales a través de la inhibición de ACC2, enzima responsable de la síntesis de malonil-CoA, que inhibe la carnitina palmitoiltransferasa I (CPT1), y, al mismo tiempo, disminuye la entrada de ácidos grasos a las mitocondrias. Estas funciones en conjunto dan como resultado la inhibición de la lipogénesis y fomentan la oxidación de ácidos grasos. Cabe mencionar que AMPK promueve la biogénesis mitocondrial al fosforilar el coactivador del receptor gamma 1-alfa activado por el proliferador de peroxisomas (PGC-1 $\alpha$ ), regulando negativamente la autofagia y mitofagia [Yuan H. X, 2013], así como también está implicado en la regulación de la forma de la red mitocondrial en las células (fusión y fisión) [Herzig, S. et al., 2018].

A nivel cerebral, se conoce que la glucosa es uno de los sustratos principales para el desarrollo de las funciones metabólicas (producción de ATP) y no metabólicas de las células (estructuras celulares). Por lo tanto, ante condiciones de ayuno, la expresión de AMPK permite la recaptura de glucosa a través de la expresión de GLUT1 en los astrocitos y GLUT4 en las neuronas primordialmente hipotalámicas, además de promover la glucólisis, tal y como lo hace en los tejidos periféricos, mediante la fosforilación de PFK-2 [Muraleedharan, R. et al., 2022].

Por otra parte, estudios de Barbara Kahn y Caroline Small han demostrado que AMPK está implicado en el control hipotalámico de la ingesta alimentaria. Su actividad es inhibida en el núcleo arqueado (Arc) y paraventricular (PVN) por leptina, insulina, glucosa alta y la realimentación [Andersson, U. et al., 2004, Minokoshi, Y. et al., 2004, Muraleedharan, R. et al., 2022 y Lim C., 2010]. Se ha demostrado que a través de la administración intracerebroventricular de grelina en ratas, aumenta la fosforilación de AMPK, incrementando el consumo alimenticio [López M, 2008]. Por lo tanto, AMPK es activada durante el ayuno y suprimida durante la alimentación.

Aunado a ello, estudios genéticos de ratones deficientes en AMPK han establecido que la presencia de esta cinasa genera efectos diversos en diferentes poblaciones

neuronales del núcleo arcuato. La eliminación de AMPK en neuronas de proopiomelanocortina (POMC) disminuye la producción de energía y consecuentemente aumenta la adiposidad. Mientras que la eliminación en las neuronas Agouti (AgRP) previene la obesidad al promover el efecto anorexigénico de la melanocortina [Min, S.H. et al., 2024 y Claret, M. et al., 2007].

### Sirtuina 1

Las sirtuinas son proteínas desacetilasas dependientes de NAD<sup>+</sup> [Guarente L, 2011 y Mei Z, 2016]. Los mamíferos poseen 7 sirtuinas denominadas SIRT1 - SIRT7, que varían en especificidad tisular, localización subcelular, actividad enzimática y objetivos moleculares. En cuanto a su localización subcelular, SIRT1 se encuentra principalmente en el núcleo, pero también se encuentra en el citosol; SIRT2 se considera citosólico; en cambio, SIRT3, SIRT4 y SIRT5 se encuentran dentro de la mitocondria. SIRT6 es predominantemente nuclear y se ha informado que SIRT7 reside en el nucléolo [Duan W, 2013]. Respecto a su distribución anatómica, las sirtuinas se encuentran en diversos tejidos tales como el hígado, el tejido adiposo, el cerebro, el páncreas, el corazón, el riñón, por mencionar los más estudiados.

Las sirtuinas desacetilan una gran variedad de proteínas, como histonas, factores de transcripción y enzimas metabólicas. Por lo tanto, están implicadas en numerosos procesos celulares, como el metabolismo energético, la respuesta al estrés, la reparación del ADN y la tumorigénesis. SIRT1 es la sirtuina más estudiada debido a su papel en el metabolismo celular [Duan W, 2013].

La disponibilidad celular de NAD<sup>+</sup>, que regula SIRT1, se encuentra influenciada por diversas señales ambientales. Por ejemplo, los niveles celulares de NAD<sup>+</sup> se elevan cuando existe un estado energético disminuido, en situaciones como el ayuno, la restricción calórica y el ejercicio físico. Por el contrario, los niveles de NAD<sup>+</sup> disminuyen en estados de alta energía, como durante el consumo de una dieta rica en grasas/carbohidratos o en la respuesta inflamatoria aguda [Liu H et al., 2025].

A nivel periférico, en condiciones de ayuno temprano, SIRT1 induce una disminución de la síntesis de glucosa hepática al suprimir el coactivador 2 de la transcripción regulada por CREB (CRTC<sub>2</sub>); en un ayuno prolongado, activa FOXO1,

reforzando la gluconeogénesis. También atenúa la transcripción de genes glucolíticos y mejora la sensibilización a la insulina al reprimir la proteína 2 de desacoplamiento mitocondrial (UCP2) [Duan W, 2013]. La UCP2 es una proteína de la membrana mitocondrial interna que puede desacoplar la fosforilación oxidativa de la producción de ATP, a través de la disipación del gradiente de protones; por lo tanto, al inhibirla, en las células  $\beta$ -pancreáticas potencia la secreción de insulina en respuesta a la glucosa y en tejidos periféricos, favorece una respuesta más eficiente a la insulina, mejorando la captación de glucosa [Xu, J. et al., 2018].

Al mismo tiempo, SIRT1 regula la homeostasis de los lípidos: durante el ayuno, desacetila e inhibe SREBP1c; además, reduce la actividad del receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPAR $\gamma$ ), inhibiendo la adipogénesis *de novo* en el hígado y el tejido adiposo blanco (WAT). SIRT1 mejora la oxidación de los lípidos al activar el receptor alfa activado por proliferador de peroxisoma (PPAR $\alpha$ ) y PGC-1 $\alpha$  [Duan W, 2013].

Además de sus funciones periféricas, diversos estudios mencionan que SIRT1 se relaciona con el envejecimiento cerebral, la neuroprotección contra el estrés oxidativo, la neuroinflamación, la modulación del reloj circadiano, las funciones neuroendocrinas y el control central de la homeostasis energética [D'Angelo, S. et al., 2021]. Esto último, debido a que se encuentra en diferentes núcleos del hipotálamo, como el núcleo arqueado, ventromedial (VMH), dorsomedial y paraventricular [Xu, J. et al., 2018 y D'Angelo, S. et al., 2021]. SIRT1 se expresa en las neuronas POMC y neuronas del neuropéptido Y relacionado con agouti (AgRP/NPY) del núcleo arqueado y en las neuronas del factor esteroideogénico 1 (SF1) del VMH [Toorie, A.M. et al., 2014], y su actividad está involucrada en la producción de péptidos hipotalámicos que inhiben o inducen el apetito, mediante una regulación transcripcional directa (a través de la activación de FOXO1) o por desacetilaciones a enzimas encargadas de convertir péptidos como la POMC en su forma activa  $\alpha$ -MSH (hormona estimulante de melanocitos alfa) [D'Angelo, S. et al., 2021]. Aunado a ello, se ha observado en modelos animales que SIRT1 mejora la sensibilidad a la leptina en el núcleo arcuato [Sasaki, T. et al., 2014]. Pero, por otra

parte, la delección panneuronal de SIRT1 se asoció sorprendentemente con la sensibilización a la insulina en las neuronas hipotalámicas y sistémicamente [Chang H.C. et al., 2014].

## FOXO1

FOXO es una subfamilia de factores de transcripción nuclear de mamíferos pertenecientes a la clase O. Se caracterizan por un motivo de unión a ADN altamente conservado, una caja de cabeza de horquilla de 100 aminoácidos [Sparks J.D., 2009]. Esta subfamilia consta de cuatro factores de transcripción (FOXO1, FOXO3, FOXO4 y FOXO6) que participan en la respuesta de reparación del daño del ADN, la apoptosis, el metabolismo, la proliferación celular, la tolerancia al estrés y la longevidad. FOXO se expresa en diversos tejidos [Cheng Z, 2011]. Estas proteínas se localizan principalmente en el núcleo y ejercen sus acciones a través de su capacidad para regular la transcripción de genes específicos. Sin embargo, también pueden encontrarse en el citoplasma, donde son inactivos [Teaney N.A., 2023].

FOXO1 es un factor clave en el metabolismo de la glucosa y los lípidos, regulado principalmente por la señalización de insulina. Su actividad depende de modificaciones postraduccionales como fosforilaciones, acetilaciones, metilaciones, glicosilaciones y ubiquitinaciones; estas modificaciones alteran las interacciones proteína-proteína y proteína-ADN. Dentro de los reguladores que inactivan FOXO1 se encuentran: proteína cinasa B (también conocida como Akt), cinasa regulada por señal extracelular (ERK), la cinasa dependiente de ciclinas (CDK), la proteína de unión a elementos de respuesta cAMP (conocida como CREB o CBP) y la proteína de unión a EP300 (p300). En cambio, los reguladores positivos son AMPK, cinasa c-Jun-N terminal (JNK), la cinasa similar S Ste20 (MST1), la fosfoenolpiruvato carboxicinas (PEPK) y SIRT1. Una fosforilación muy importante es aquella mediada por la cinasa serina-treonina Akt, regulada por la insulina. La secreción de insulina estimulada por glucosa genera una activación de su receptor al unírsele, lo que conduce a la activación de fosfoinositol 3-cinasa (PI3K), que a su vez produce fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PIP3) y activa Akt. Una vez activado, fosforila a FOXO1, excluyéndolo del núcleo e inactivándolo [Cheng Z, 2011].

Por lo que FOXO1 es activado en condiciones de ayuno, donde se tienen bajos niveles de insulina. Dentro de sus funciones periféricas, como es el caso del hígado, FOXO1 aumenta la expresión de glucosa-6-fosfato (G6PC) y fosfoenolpiruvato carboxicinasa (PEPCK), enzimas involucradas en la gluconeogénesis, que traerán consigo un aumento de los niveles de glucosa. A su vez, aumenta la lipogénesis, la producción de lipoproteínas VLDL y la inhibición de la  $\beta$ -oxidación. Sin embargo, los efectos de FOXO1 dependen del tejido donde se encuentre, ya que en otros tejidos como el músculo esquelético, reduce la captación y oxidación de glucosa, promoviendo la captación y oxidación de lípidos [Teaney N.A., 2023 y Cheng Z., 2011].

Dentro del estudio de este factor de transcripción en el cerebro, se ha encontrado que FOXO1 es expresado en neuronas POMC y AgRP y su distribución subcelular depende de la ingesta de alimentos; durante la privación de alimentos se localiza en el núcleo y es biológicamente activo, mientras que en condiciones de alimentación se inhiben sus funciones al ser expulsados hacia el citoplasma. Este factor de transcripción regula la ingesta de alimentos cuando se encuentra inactiva la vía AKT, permitiendo la señalización de FOXO y la posterior inhibición de las neuronas POMC, causando un aumento en la hiperfagia. Además, inhibe la señalización de insulina y leptina. En cambio, cuando es inhibido, se genera un aumento de POMC y una disminución de la expresión de AgRP, lo que conlleva una disminución de la ingesta de alimentos y del aumento de peso [Maissan P, 2021].

### Vía AMPK-SIRT1-FOXO1 y su importancia en la homeostasis energética

La interacción entre los sensores energéticos previamente mencionados constituye una vía de señalización fundamental para mantener la homeostasis energética, sobre todo en condiciones de estrés metabólico como la restricción calórica, el ayuno o el aumento de la demanda energética. Como se mencionó previamente, el AMPK es un sensor que se activa en respuesta a bajos niveles de ATP, promoviendo procesos catabólicos que generan energía (glucólisis, oxidación lipídica). Esto genera un aumento en los niveles de  $\text{NAD}^+$ , que a su vez activa a SIRT1. Una vez activada, SIRT1 interactúa estrechamente con AMPK, formando un ciclo de

retroalimentación positiva, ya que desacetila y activa LKB1, una quinasa responsable de la activación de AMPK, amplificando así los mecanismos de detección de energía. Al mismo tiempo, junto con AMPK, SIRT1 modula aún más el metabolismo a través de desacetilaciones de factores de transcripción como PGC-1 $\alpha$ . FOXO1 es activado mediante la desacetilación de SIRT1; al ser un factor de transcripción, modula la expresión de genes involucrados en rutas como la gluconeogénesis y la oxidación de lípidos. Esta cascada de señalización permite a las células adaptarse a estados de déficit energético, favoreciendo la producción de energía, además de mejorar la función mitocondrial y la reducción del estrés oxidativo [Guan, G. et al., 2025].

### Desregulación metabólica y conductas alimentarias

La alimentación y el estilo de vida de los seres humanos han ido cambiando a lo largo del tiempo. En los últimos años, las enfermedades no transmisibles, como las cardiopatías, diabetes, SMet, accidentes cerebrovasculares y algunos tipos de cáncer, representan el 63% de las muertes a nivel mundial. Además, se ha estimado que para el 2030 este tipo de enfermedades serán responsables de 52 millones de muertes anuales en todo el mundo [Santos, L. 2022]. A pesar de que existen factores genéticos asociados al desarrollo de dichas enfermedades, el estilo de vida (actividad física, alimentación saludable, consumo de tabaco y alcohol) influye negativamente.

Los patrones alimenticios han experimentado una transición hacia dietas cada vez más occidentalizadas y menos saludables. Es decir, dietas ricas en calorías, donde se tiene un consumo excesivo de proteínas de origen animal, alimentos procesados, grasas saturadas y azúcares refinados, junto con un consumo escaso de fibra, verduras y semillas. Esta tendencia está relacionada con un aumento exponencial de la prevalencia de enfermedades no transmisibles y conductas alimenticias tipo atracón [García FJ, 2020].

### Síndrome metabólico

El SMet corresponde a una condición patológica caracterizada por un conjunto de factores fisiológicos, bioquímicos y metabólicos [Giangregorio F. et al., 2024].

Diversas organizaciones internacionales, como la Organización Mundial de la Salud, la Federación Internacional de Diabetes (IDF) o la Asociación Americana del Corazón (AHA), han establecido criterios específicos para identificarlo y diagnosticarlo en la práctica clínica. Dentro de ellos destacan la resistencia a la insulina, la obesidad abdominal (causada por un aumento del tejido adiposo visceral), dislipidemia metabólica (triglicéridos elevados y colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) disminuido), hiperglicemia, albuminuria y presión arterial alta. Tomando en cuenta esto, se puede diagnosticar SMet con la presencia de al menos 3 de 5 criterios [Neeland, I. J. et al., 2024].

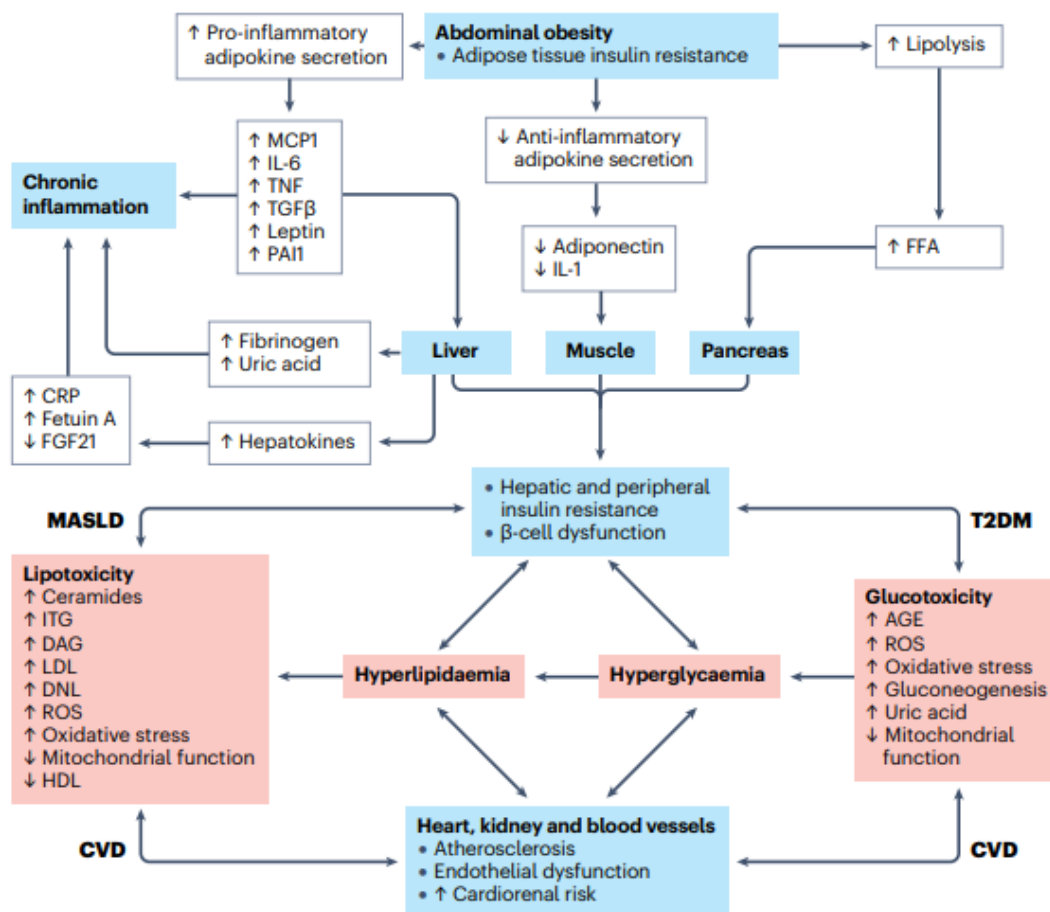


Figura 2. Vías moleculares involucradas en el desarrollo de SMet. Tomado de Neeland, I. J. et al., 2024.

El SMet representa un problema de salud pública, asociado con una carga social, personal y económica. Actualmente, afecta al 25% de la población mundial y la incidencia a menudo es paralela a la incidencia de la obesidad y diabetes tipo 2 (DT2) [García FJ, 2020 y Saklayen M.G, 2018]. A su vez, la presencia de las

alteraciones metabólicas presentadas puede aumentar el riesgo de desarrollar patologías cardiovasculares, renales y comorbilidades asociadas con DT2.

Como se mencionó, su fisiopatología es multifactorial e involucra factores genéticos, epigenéticos, ambientales y de estilo de vida. Sin embargo, dentro de los mecanismos que subyacen al desarrollo de SMet, convergen los eventos presentes en la Figura 2.

### Resistencia a la Insulina

La insulina es una hormona peptídica sintetizada por las células  $\beta$  pancreáticas y secretada después de ingerir glucosa. Este proceso trae consigo la unión de insulina a sus receptores en las membranas de las células diana y la activación de dos vías de señalización principales: la vía del PI3K/Akt y la vía de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) [Rahman, M. S. et al., 2021]. La primera vía ejerce un control sobre el metabolismo, mientras que la segunda (mitogénica) promueve la división celular, síntesis de proteínas y crecimiento celular [Norton L. et al., 2022].

La alteración de la vía metabólica induce estados de disglucemia, en donde se observa un aumento gradual en la concentración de insulina, como respuesta adaptativa del páncreas para compensar la sobrecarga glicémica dada por los alimentos. Sin embargo, esto trae consigo la resistencia a la insulina (RI), definida como la alteración en la secuencia de fosforilaciones fisiológicas que redundan en el mal control de la glucosa y el desarrollo de dislipidemia metabólica [Freeman A.M. et al., 2023; Rahman, M.S. et al., 2021].

### Conducta de atracón

Por otra parte, derivado del estilo de vida actual, se han desarrollado conductas alimentarias determinadas, como el atracón. Según el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM-5), un atracón se define como un episodio (en un periodo de tiempo determinado) incontrolable y compulsivo de consumo excesivo de alimentos altamente palatables, acompañado de una fuerte sensación de pérdida de control [American Psychiatric Association, 2013]. Esta conducta puede presentarse de manera cotidiana en la actualidad, debido a los patrones de alimentación y los hábitos. Sin embargo, también puede presentarse en una

condición patológica, el trastorno por atracón (BED), que corresponde al trastorno alimentario más frecuente [Qian, J. et al., 2013 y Mitchison, D. et al., 2015].

Los atracones pueden presentarse desde etapas tempranas como la infancia y la adolescencia hasta la población adulta [Romano A., 2020]. Por otra parte, los episodios de atracones se asocian a tres (o más) de los hechos siguientes [American Psychiatric Association, 2013]:

- Comer mucho más rápidamente de lo normal.
- Comer hasta sentirse desagradablemente lleno.
- Comer grandes cantidades de alimentos cuando no se siente hambre físicamente.
- Comer solo debido a la vergüenza que se siente por la cantidad de alimentos que se ingiere.
- Sentirse luego a disgusto con uno mismo, deprimido o muy avergonzado.

Los episodios pueden estar precedidos por angustia emocional y podrían ser una estrategia para evitar pensamientos y emociones perturbadoras. Algunas personas describen los atracones alimentarios como una forma de adicción a la comida (AF). La AF se define como una mayor ingesta compulsiva de alimentos, que a su vez puede conducir a la pérdida de su valor hedónico: una reducción en el disfrute o placer derivado de comer. De manera similar a otros tipos de adicción, las personas con AF a menudo consumen mayores cantidades de alimentos de lo previsto y experimentan antojos, impulsos o un fuerte deseo de comer. Los pacientes con AF a menudo informan que pasan grandes cantidades de tiempo obteniendo alimentos, comiendo o recuperándose de comer [Różycka, J. et al., 2025].

Las similitudes conductuales y clínicas entre el trastorno por atracón y AF pueden reflejarse en mecanismos neuronales compartidos. La activación de la dopamina (DA) está implicada en la motivación para consumir drogas y alimentos. Estudios recientes en animales han identificado patrones similares de actividad dopaminérgica en respuesta tanto a los atracones como a la dependencia a drogas de abuso. En respuesta a nuevos alimentos palatables, las ratas muestran una mayor respuesta de DA, que generalmente disminuye con el consumo repetido de

la comida. Sin embargo, en ratas que presentan atracones, la actividad de DA no disminuye con la exposición repetida, es decir, las oportunidades de generarse atracones de alimentos familiares continúan dando como resultado respuestas de DA elevadas; esto es paralelo al patrón de respuesta sostenido encontrado durante la administración repetida de la nicotina [Gearhardt, A. N. et al., 2011]. Además, se ha encontrado que el BED y la dependencia de sustancias también comparten patrones similares de activación neuronal en respuesta a señales, ya que Schienle y colaboradores encontraron que los individuos con BED exhibieron una activación elevada en la corteza orbitofrontal medial (OFC) en respuesta a imágenes de alimentos en relación con sujetos de control sanos con sobrepeso y con peso normal [Schienle, A. et al., 2009]. La activación elevada de la OFC se ha relacionado con los “antojos” relacionados con las drogas de abuso.

A pesar de las similitudes, el BED y la AF difieren en aspectos importantes: en el BED, un atracón ocurre cuando se consume una cantidad objetivamente grande de alimentos durante un período discreto de tiempo, mientras que en la AF, se come en exceso durante el transcurso de un día [Gearhardt, A. N. et al., 2011].

Por otra parte, la conducta de atracón y el BED se ha asociado comúnmente con la obesidad y trastornos metabólicos ya que, a diferencia de otros trastornos como la bulimia nerviosa, BED no presenta conductas compensatorias (como la purga y el ejercicio excesivo) para eliminar las calorías consumidas [Romano A, 2020], por lo tanto, los episodios repetidos de sobreconsumo pueden inducir picos de glucosa e insulina, lo que a la larga promueve el desarrollo de RI. Conti y colaboradores mencionan que los atracones son un comportamiento clínicamente relevante para el desarrollo de obesidad y SMet [Conti C, 2021]. De hecho, un estudio longitudinal realizado en 2002 demostró que los sujetos con atracones tenían un mayor riesgo de sufrir componentes del SMet en comparación con sujetos que no presentaban atracones [Bulik C.M., 2002].

La asociación entre los atracones y la obesidad tiene consecuencias directas para la salud física y emocional de los individuos, pues se presentan comorbilidades como trastornos de bipolaridad, trastornos del estado de ánimo en el 46.1% de

pacientes, siendo el trastorno depresivo mayor el más común, trastorno de ansiedad (presente en el 56.1%), trastorno por consumo de sustancias en un 23.7%, etc. [American Psychiatric Association, 2013 y Mars, J.A. et al., 2024].

### **Desregulación de sensores energéticos**

La desregulación de los sensores energéticos metabólicos juega un papel importante en la patogénesis de la RI y las enfermedades asociadas como el SMet y la conducta de atracón. Ke y colaboradores mencionan que en el músculo esquelético la RI va acompañada de una desregulación de AMPK, potenciando la oxidación de ácidos grasos [Ke R, 2018]. Esta potenciación del metabolismo lipídico podría deberse a que en la RI existe una disminución de la absorción tisular de glucosa [Freeman AM, 2023], teniendo como sustrato mayoritario los ácidos grasos. Por otra parte, se ha observado una actividad disminuida de AMPK en modelos genéticos de roedores con un fenotipo de SMet, incluidos ratones ob/ob (deficientes en leptina), ratas fa/fa (deficientes en receptores de leptina) y ratas macho ZDF (deficientes en receptores de leptina con una mutación en el promotor de insulina). En cada caso, la terapia con el activador de AMPK AICAR mejoró la homeostasis de la RI y la glucosa [López M, 2016].

Por otra parte, se ha demostrado que SIRT1 posee funciones predominantemente neuroprotectoras en el sistema nervioso central (SNC), pero en modelos animales con una dieta alta en grasas disminuye su expresión en el hipocampo y la corteza prefrontal, asociada a un estrés oxidativo y deterioro de la cognición [Chandramowlishwaran P, 2020].

La RI genera una menor activación de la vía PI3K/Akt, afectando a muchos tejidos a través de la retención nuclear y potenciación de la actividad de FOXO1, generando mayores estados de hiperglicemia y acumulación lipídica a nivel periférico. En el cerebro, genera un aumento de la ingesta de alimentos, alterando la tolerancia a la glucosa y la secreción de insulina [Teaney N.A., 2023].

Como consecuencia de estas alteraciones en cada sensor mencionado generadas por la RI, se produce un desequilibrio energético, reduciendo el metabolismo catabólico, es decir, una menor oxidación de sustratos como la glucosa o ácidos

grasos; así como una reducción de la termogénesis y del gasto energético basal y un aumento en la lipogénesis y gluconeogénesis [Cantó, C. et al., 2009]. De manera que este fenotipo metabólico puede exacerbar aún más la RI y la aparición de comorbilidades.

Por otra parte, la desregulación de sensores energéticos no solo altera el metabolismo celular, sino que genera un mayor desequilibrio en los diferentes sistemas periféricos, tal y como la producción hormonal de leptina [Kumar R. et al., 2020], grelina y GLP-1, entre otras [Radziszewska M. et al., 2024]; la generación de inflamación crónica de bajo grado y un aumento en el estrés oxidativo [Guan G. et al., 2025]. Esto, a su vez, puede influir indirectamente y/o directamente en la conducta alimentaria, ya que, aunque esta se regula por circuitos centrales, los cambios periféricos pueden ser detectados por diversas áreas cerebrales, alterando el contexto hormonal-neuronal-metabólico, que modula la motivación y saciedad [Obradovic M. et al., 2021].

### Regulación central de la alimentación: Sistema mesolímbico

El control de la alimentación, del apetito y de la saciedad está controlado por el SNC a través de sistemas que integran señales externas e internas para modular la homeostasis energética. Estos sistemas incluyen aquellos al centro cerebral homeostático (hipotálamo), los sistemas de emoción y memoria (como la amígdala y el hipocampo), el sistema de recompensa (incluidos el núcleo accumbens, VTA (área tegmental ventral) y el cuerpo estriado, que forman parte del control hedónico); los sistemas de atención (incluidas las cortezas parietal y visual) y el control cognitivo (incluido el sistema prefrontal) [Farr O.M, 2016]. Además, existen factores ambientales, sociales y psicológicos que influyen en qué, cuándo y cuánto comemos [Chae Y, 2023].

El sistema mesolímbico está compuesto por diversas áreas cerebrales que controlan la ingesta de alimentos a través de la cooperación complementaria entre el sistema de control homeostático, el sistema emocional y el de recompensa alimentaria. Cabe resaltar que estos sistemas neuronales se encuentran en

estrecho contacto y juntos median las señales externas e internas para llevar a cabo una conducta alimentaria específica.

### **Hipotálamo: integración de señales periféricas**

El hipotálamo es una estructura cerebral con una anatomía muy conservada en todas las especies de vertebrados, debido a su función esencial en la homeostasis fisiológica y del comportamiento. Se encuentra ubicado en la posición más ventral del prosencéfalo [Shahid Z. et al., 2023]. Está compuesto por núcleos celulares divididos en 3 zonas que rodean el tercer ventrículo y los cuerpos mamilares. Los núcleos en la zona periventricular usualmente se encargan de regular el sistema endocrino, mientras que los núcleos en las zonas medial y lateral regulan el comportamiento autónomo y somático [Bear M.H. et al., 2022]. El hipotálamo juega un papel importante en el control homeostático, participando en la regulación de la alimentación, como el hipotálamo ventromedial y lateral, el núcleo paraventricular (PVN) y el núcleo arqueado.

El núcleo arcuato recibe señales periféricas como hormonas gastrointestinales (péptido YY, grelina, leptina, insulina, péptido similar al glucagon-1[GLP-1]) y nutrientes como la glucosa [Chae Y, 2023]. Además, contiene neuronas anorexigénicas POMC y el transcrito relacionado a la cocaína y anfetamina (CART), que disminuyen el apetito y aumentan el gasto energético; y neuronas orexigénicas que liberan neuropéptido Y (NPY) y AgRP, que aumentan el apetito y disminuyen el gasto de energía [Farr O.M., 2016].

### **Núcleo Accumbens: Motivación y placer alimentario**

Se ha planteado la hipótesis de que la señalización de recompensa alterada en el cerebro es la causa fundamental de la obesidad, ya que la comida es naturalmente gratificante y actúa sobre las vías de recompensa del cerebro, que son las mismas vías implicadas cuando se tiene una adicción por abuso de sustancias. El núcleo accumbens (NAc) es uno de los centros principales del sistema de recompensa, que media la recepción e integración de diferentes señales en respuesta a estímulos alimenticios [Farr O.M., 2016]. Estas señales corresponden a proyecciones dopaminérgicas del VTA y la sustancia negra, así como proyecciones

glutamatérgicas desde la amígdala, hipocampo, tálamo, prelímbico y corteza prefrontal. A su vez, las neuronas eferentes del NAc se proyectan a diversas áreas como la región preóptica, el núcleo paratenial, el hipotálamo, la sustancia negra y la amígdala [Salgado S, 2015].

Se ha propuesto el papel de NAc en el comportamiento (particularmente en la motivación, refuerzo y toma de decisiones orientada a recompensas), debido a su entrada desde el sistema límbico, así como a su salida con los núcleos motores de los ganglios basales. Esto sugiere que forma parte del control de los impulsos biológicos, desempeñando funciones cruciales en la locomoción, la evitación, la impulsividad, los comportamientos alimentarios, la recompensa y la motivación [Salgado S, 2015].

En las alteraciones de la conducta alimentaria, como es el caso de la obesidad, se han planteado dos teorías en las que se ve afectada la capacidad de respuesta a la recompensa. Una de ellas es la de hiporesponsividad, que nos habla de una menor sensibilidad a la recompensa, ya que el individuo necesita un mayor consumo de alimentos, sobre todo alimentos ricos en calorías o grasas y azúcares para lograr el mismo nivel de recompensa [Farr O.M., 2016].

El NAc se divide en dos regiones principales, la corteza (o shell en inglés) y el centro (core), ambas involucradas en los procesos relacionados con la ingesta de alimentos de diferentes maneras:

- La corteza está implicada en la integración de señales relacionadas con la recompensa y la motivación; puede influir en la motivación para buscar alimentos.
- El centro está involucrado en la toma de decisiones relacionadas con la anticipación y la búsqueda de recompensas (como los alimentos). Puede estar implicada en la formación de hábitos alimentarios y en la regulación del comportamiento alimentario en respuesta a señales de recompensa [Ambroggi F, 2011 y Mendoza J, 2005].

## **Amígdala: Emoción y aprendizaje en la ingesta**

Las emociones son importantes moduladoras del apetito. La amígdala es el área principal encargada de su regulación. Las emociones a corto plazo como la alegría e ira generan una menor activación de la amígdala, exhibiendo conductas alimentarias menores y dietas de mayor calidad en comparación con lo sucedido con emociones como el miedo y la tristeza. Es por ello, que el estado de ánimo deprimido de individuos con depresión y ansiedad genera emociones constantes negativas que provocan una mayor activación de la amígdala, llevando a un aumento del apetito (deseo de comer por placer), aunque fisiológicamente no se presente el hambre (señal homeostática); de hecho, está relacionado con la obesidad central y una peor calidad de la dieta, ya que la amígdala también predice el consumo de alimentos ricos en grasas, carbohidratos y calorías [Farr O.M., 2016].

La amígdala tiene una estructura diversa y comprende aproximadamente 13 núcleos organizados en cinco grupos principales: núcleos basolaterales, núcleos de tipo cortical, núcleos centrales, otros núcleos amigdalinos y amígdala extendida [AbuHasan Q, 2023]. En relación con la alimentación, las subregiones involucradas incluyen el núcleo central (CeA) y el núcleo basolateral (BLA):

- CeA: Esta subregión está involucrada en la regulación de respuestas emocionales, que pueden influir en el comportamiento alimentario
- BLA: Aunque el BLA se asocia comúnmente con el aprendizaje emocional y la formación de asociaciones emocionales positivas, también puede tener un papel en la integración de señales sensoriales y emocionales relacionadas con la alimentación. Por ejemplo, puede estar involucrado en el condicionamiento asociado con recompensas alimentarias y en la toma de decisiones relacionadas con la búsqueda y el consumo de alimentos.

Además, ambas subregiones de la amígdala reciben entradas que incluyen la corteza prefrontal y gustativa, mientras que la CeA recibe información gustativa ascendente adicional a través del núcleo parabraquial y el núcleo del tracto solitario. Tanto el CeA como el BLA tienen proyecciones directas sobre los circuitos de

alimentación hipotalámicos y las vías de salida motoras involucradas en provocar la conducta alimentaria [Will M. J., 2009 y McLaughlin R.J., 2007].

### Modelos animales

El desarrollo de modelos animales es de vital importancia, ya que nos permite investigar los mecanismos neurobiológicos y metabólicos que subyacen a la conducta del atracón y al SMet. A pesar de que los modelos animales no pueden explicar ni reproducir todos los factores internos y externos que influyen en la conducta alimentaria de los seres humanos, permite a los investigadores identificar y controlar variables dietarias, genéticas y ambientales de manera que no es posible en humanos, posibilitando la investigación de cómo patrones de alimentación conducen a cambios en los mecanismos conductuales, fisiológicos, neuronales [Di Segni M, 2014] y parámetros metabólicos que subyacen al atracón y SMet.

A lo largo de los años, se han desarrollado diversos modelos animales para el estudio de atracones. Los modelos abarcan desde aspectos sencillos como la disponibilidad de alimentos palatables en el ambiente, la restricción alimentaria a esos alimentos, el incremento de los niveles de estrés (ya que se ha visto que el estrés es un factor de riesgo asociado al desarrollo de atracones) y comportamientos para obtener el acceso a alimentos palatables [Avena N, 2021]. Además, debido a que una característica importante es la falta de control por la comida, similar al comportamiento asociado al consumo de drogas, existen modelos que complementan cambios en el comportamiento y en la señalización de la dopamina asociados con los atracones por el consumo de azúcar, la relación entre la preferencia por la sacarosa y la vulnerabilidad a las drogas, y la persistencia de la búsqueda de alimentos a pesar de las consecuencias aversivas [Avena N, 2021].

En cambio, para modelar el SMet, usualmente se emplean dietas ricas en grasas, azúcares o una combinación de ambos; soluciones de fructosa o sacarosa en agua y modelos genéticos o farmacológicos que inducen RI y disfunción metabólica. Estas dietas son ampliamente validadas para estudiar interacciones entre dieta, metabolismo y conducta [Wong, S.K. et al., 2016].

Las pruebas conductuales consisten en herramientas experimentales diseñadas para evaluar de manera sistémica el comportamiento animal en condiciones controladas. Permiten observar y cuantificar diferentes dimensiones de la conducta, tales como la exploración, coordinación motora, alimentación, cognición, aprendizaje y memoria, motivación, ansiedad y depresión, anhedonia, impulsividad, excavación, agresión, etc.

La principal ventaja del uso de pruebas conductuales radica en que ofrecen un puente entre las alteraciones moleculares o fisiológicas y su manifestación en la conducta observable. De esta manera, permite comprender cómo los cambios neuronales, hormonales o metabólicos influyen en la manera en que los animales interactúan con su entorno, se alimentan o desarrollan patrones de conducta repetitiva o desregulada. A su vez, permiten validar si un modelo reproduce conductas comparables a las observadas en humanos y proporcionan información valiosa para evaluar la eficacia de posibles intervenciones terapéuticas, ya sean farmacológicas o dietarias.

La evaluación del comportamiento consiste en un enfoque científico que se basa en la capacidad de los observadores humanos para integrar detalles observados del comportamiento, la postura y el contexto para poder resumir los patrones de comportamiento de los animales. Los observadores usan descriptores como “ansioso/tenso”, “relajado” o “estresado”, para evaluar los estados emocionales de los animales. Por ello, se recomienda el uso de indicadores factibles y estandarizados para evaluar el estado emocional en las pruebas conductuales [KSV, A. et al., 2023].

Estos comportamientos pueden medirse en términos de intervalo (latencia), frecuencia y duración, y pueden medirse en segundos, minutos u horas. El primero mide el tiempo que tarda en ocurrir un comportamiento específico; la frecuencia se refiere al número de veces que ocurre un comportamiento durante un periodo de observación [KSV, A. et al., 2023].

Existen diversas pruebas conductuales que permiten evaluar uno o varios comportamientos. Las pruebas conductuales usadas en la investigación de la

farmacodependencia en roedores se centran en medir la motivación (que en este caso puede ser el miedo, como el miedo al sonido de un depredador, o el hambre, utilizando la tendencia natural de los animales a buscar comida y acumularla en sus nidos), para realizar una acción seleccionada. Sin embargo, varias pruebas se basan en el comportamiento espontáneo de los roedores, como la exploración de un entorno nuevo en campo abierto. La interpretación de los resultados de las pruebas conductuales requiere comprender la causa del comportamiento observado, evaluar la validez etológica de la prueba y conocer la capacidad sensorial de los roedores sobre la prueba [Belovicova, K. et al., 2017]. Por otra parte, para el estudio de la depresión se emplean modelos animales válidos donde sus manifestaciones o sintomatologías sean razonablemente análogas al trastorno humano y que provoquen un cambio de comportamiento que pueda monitorearse objetivamente y ser reproducible entre investigadores [Cryan J.F. et al., 2005]. Se han desarrollado diversas pruebas que buscan mostrar la incapacidad para afrontar el estrés a través de la exposición a situaciones estresantes; a su vez, buscan medir anhedonia, la pérdida de interés en actividades normalmente placenteras y gratificantes. Ambos corresponden a síntomas de la depresión en humanos. Mientras que para el caso de la ansiedad se recurre a pruebas de conflicto de evitación basadas en un enfoque exploratorio, con tareas exploratorias de “aproximación-evitación”, debido a la presión selectiva para defenderse del depredador, los roedores tienen una aversión innata a los espacios expuestos y bien iluminados. Además, los roedores son una especie exploradora y buscadora de alimento por naturaleza y las tareas basadas en la exploración buscan las tendencias contradictorias de acercarse o evitar una zona potencialmente peligrosa [Cryan J.F. et al., 2005].

La selección de pruebas conductuales depende del modelo animal y de las características del experimento; sin embargo, es vital asegurar el bienestar animal. El estrés animal no es solo una cuestión ética *per se*, sino que también es un factor importante que pone en riesgo la fiabilidad y reproducibilidad de los resultados científicos [d'Isa, R. et al., 2024].

## Planteamiento del problema

El SMet es una condición patológica caracterizada por obesidad abdominal, RI, hiperglicemia, hipertensión y dislipidemia metabólica. Constituye un problema de salud pública a nivel global y en México, ya que actualmente nuestro país tiene una de las tasas más altas de este síndrome, oscilando entre el 41 y 54% para los adultos mayores de 40 años [Secretaría de Salud, 2016 y Bustamante-Villagómez, S.K. et al., 2021]

Además, la presencia del SMet aumenta significativamente el riesgo de desarrollar comorbilidades y otras enfermedades crónicas como lo son la obesidad, DT2, enfermedades cardiovasculares, accidentes cerebrovasculares, enfermedades renales, etc. [Saklayen MG, 2018]. Entre los mexicanos que viven con DT2, se producen casi 20,000 amputaciones cada año. Además, más de 80,000 pacientes progresaron a insuficiencia renal y dependen de terapias de reemplazo para mantenerse con vida [Hernández-Jiménez S, 2021]. Datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) mencionan que hoy en día las principales causas de mortalidad están asociadas con este desbalance metabólico, incluidas las enfermedades cardiovasculares (20.1%), la DT2 (15.2%), los tumores malignos (10.8%) y las enfermedades hepáticas (7.6%) [Barquera S et al., 2020]. Además, la pandemia de COVID-19 también reveló que el SMet y sus comorbilidades corresponden a un factor significativo en la morbilidad y la mortalidad por enfermedades infecciosas [Okunogbe A. et al., 2021].

Este panorama se traduce en un fuerte impacto económico, ya que las enfermedades relacionadas con el SMet generan costos directos e indirectos

significativos en los sistemas de salud al aumentar la demanda de los servicios y medicamentos afectando una proporción importante del gasto sanitario total; además afecta en la productividad de los pacientes, lo que repercute en el ingreso familiar. Diversas investigaciones mencionan que, para el caso, por ejemplo, de diabetes tipo 2, en 2013 en México se estimó una utilización de recursos de salud de 1.1 % del producto interno bruto (PIB), aproximadamente 14,056 mil millones de dólares. Además, los costos indirectos, aquellos relacionados con la mortalidad prematura y la discapacidad o impedimento para contribuir al mercado laboral, se estimaron en 1.1% adicional al PIB, aproximadamente 14,359 mil millones de dólares [Hernández-Jiménez S, 2021]. Estas cifras justifican intervenciones orientadas al entendimiento, prevención y tratamiento para reducir los factores de riesgo dietario y promover estilos de vida saludables.

En paralelo, la conducta de atracón y los trastornos alimentarios relacionados (trastorno de atracón) han mostrado asociaciones clínicamente relevantes con componentes del SMet, ya que estas dos condiciones comparten hábitos alimentarios similares, como consumir grandes cantidades de alimentos con un alto contenido calórico. Este hábito se ha asociado con una menor tolerancia a la glucosa, así como niveles más altos de glucosa en ayunas y producción de insulina; se ha relacionado el atracón con el desarrollo de obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial. Estudios longitudinales recientes han indicado que las personas con BED y atracones presentan una mayor probabilidad de desarrollar SMet con el tiempo [Alagha M. et al., 2025 y Solmi F. et al., 2021].

Además, el atracón suele coexistir con comorbilidades psiquiátricas, como depresión, ansiedad, trastorno por déficit de atención (TDA), trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), trastornos relacionados con sustancias y adictivos (SRAD) [Bray B. et al., 2022], que incrementan la complejidad clínica y dificultan el manejo integral del paciente. La presencia de estas comorbilidades no solo afecta la calidad de vida y el pronóstico mental, sino que también puede perpetuar conductas de sobreconsumo, comprometiendo la salud de los pacientes.

Por lo tanto, al existir una asociación entre los atracones y el SMet, donde se presenta una convergencia en la alteración de la conducta alimentaria, ambos pueden generar cambios en los sistemas de regulación central alimentaria (como el hipotálamo, amígdala y NAc) y en los sensores energéticos metabólicos de las células presentes en estos sistemas para cubrir la demanda del gran aporte calórico consumido. Es por ello que, se plantea la siguiente pregunta científica:

***¿Los atracones modifican la expresión de los sensores energéticos en el sistema mesolímbico de ratas macho Wistar con síndrome metabólico?***

### Justificación

Si bien el papel de los sensores energéticos metabólicos ha sido estudiado a nivel periférico y escasamente en el hipotálamo durante condiciones de resistencia de insulina asociadas al SMet y a la DT2, aún no se han determinado las modificaciones en la expresión que sufren estos sensores en el sistema mesolímbico, específicamente en el hipotálamo, núcleo accumbens y la amígdala, zonas vitales para la regulación de la ingesta de alimentos desde el punto de vista hedónico, donde tiene un impacto importante el sistema de recompensa ante estímulos alimenticios y la regulación de emociones como la ansiedad, el estrés y miedo.

Los trastornos alimentarios, la obesidad y el SMet son afecciones con alta morbilidad. Sin embargo, no se ha investigado lo suficiente para comprender los diversos mecanismos que subyacen a estas condiciones. Además, aquellos pacientes con conductas alimentarias irregulares experimentan graves trastornos psiquiátricos, distorsiones psicológicas y condiciones somáticas que afectan negativamente su vida [Chae Y, 2023]. El comprender cómo se modifican los sensores energéticos metabólicos dentro de las poblaciones cerebrales ayudaría a conocer el comportamiento y la respuesta celular asociados al origen de las conductas alimentarias nocivas, lo que podría abrir el panorama a nuevas ventanas terapéuticas.

La conducta de atracón se presenta desde la infancia y adolescencia hasta la adultez. Sin embargo, aún existe un gran desconocimiento de esta conducta, ya que recientemente, en el 2013, fue catalogada en el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales como parte fundamental del BED.

Estudiar el sistema mesolímbico (hipotálamo, NAc y amígdala), ya que en las conductas de atracón, no solo se encuentra una desregulación de alimentos homeostática por parte del hipotálamo, sino también una hedónica y emocional, pues en este trastorno se presenta una adicción a los alimentos y enfermedades psiquiátricas como lo son la depresión y la ansiedad. Actualmente no existen estudios sobre la evaluación de los sensores energéticos metabólicos en estas zonas cerebrales cuando existen atracones.

El uso de ratas Wistar como biomodelos permite estudiar integralmente el metabolismo en un sistema biológico complejo, generando respuestas y cambios metabólicos basados en la demanda energética de células, tejidos y órganos. La combinación de una dieta alta en carbohidratos simples junto con alimentos palatables de acceso libre posibilita reproducir la coexistencia del SMet y la conducta del atracón, permitiendo estudiar mecanismos bidireccionales de desregulación metabólica, sensores energéticos y motivación hedónica. Los modelos animales ofrecen una vía valiosa para poder proponer intervenciones terapéuticas y tener una mayor comprensión de la comorbilidad entre SMet y el atracón.

## Objetivos

### Objetivo general

Analizar la expresión de los sensores energéticos metabólicos en el sistema mesolímbico en ratas macho Wistar con atracones y síndrome metabólico.

### Objetivos específicos

En regiones mesolímbicas, tales como el hipotálamo, amígdala y núcleo accumbens de animales con y sin síndrome metabólico, evaluar la dinámica de atracones respecto a:

1. Cuantificar la expresión de sensores energéticos citoplasmáticos, nucleares y mitocondriales implicados en la biogénesis mitocondrial.
2. Analizar las rutas metabólicas implicadas en la generación de ATP.
3. Evaluar los cambios conductuales de ansiedad asociados al sobreconsumo alimenticio forzado.

## Hipótesis

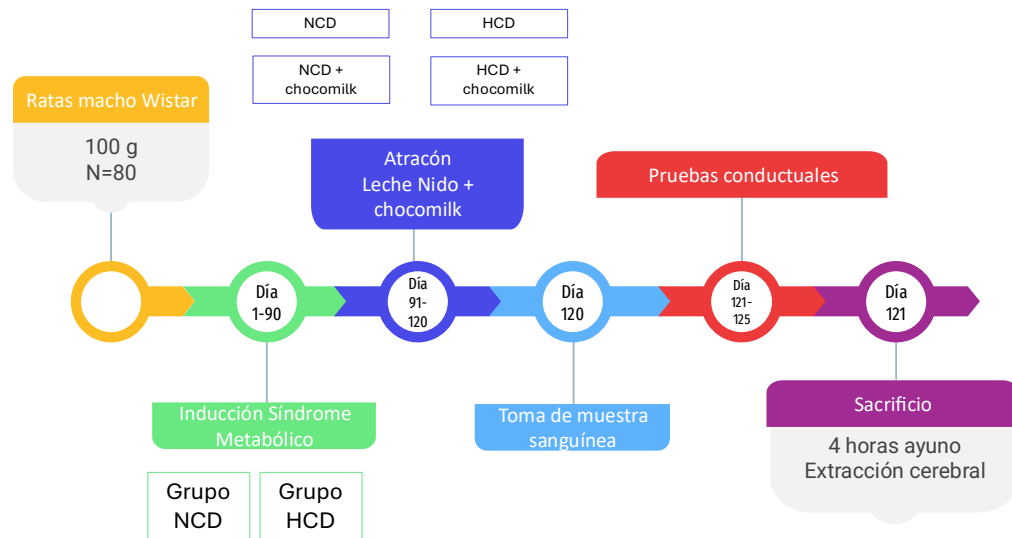
### Hipótesis nula

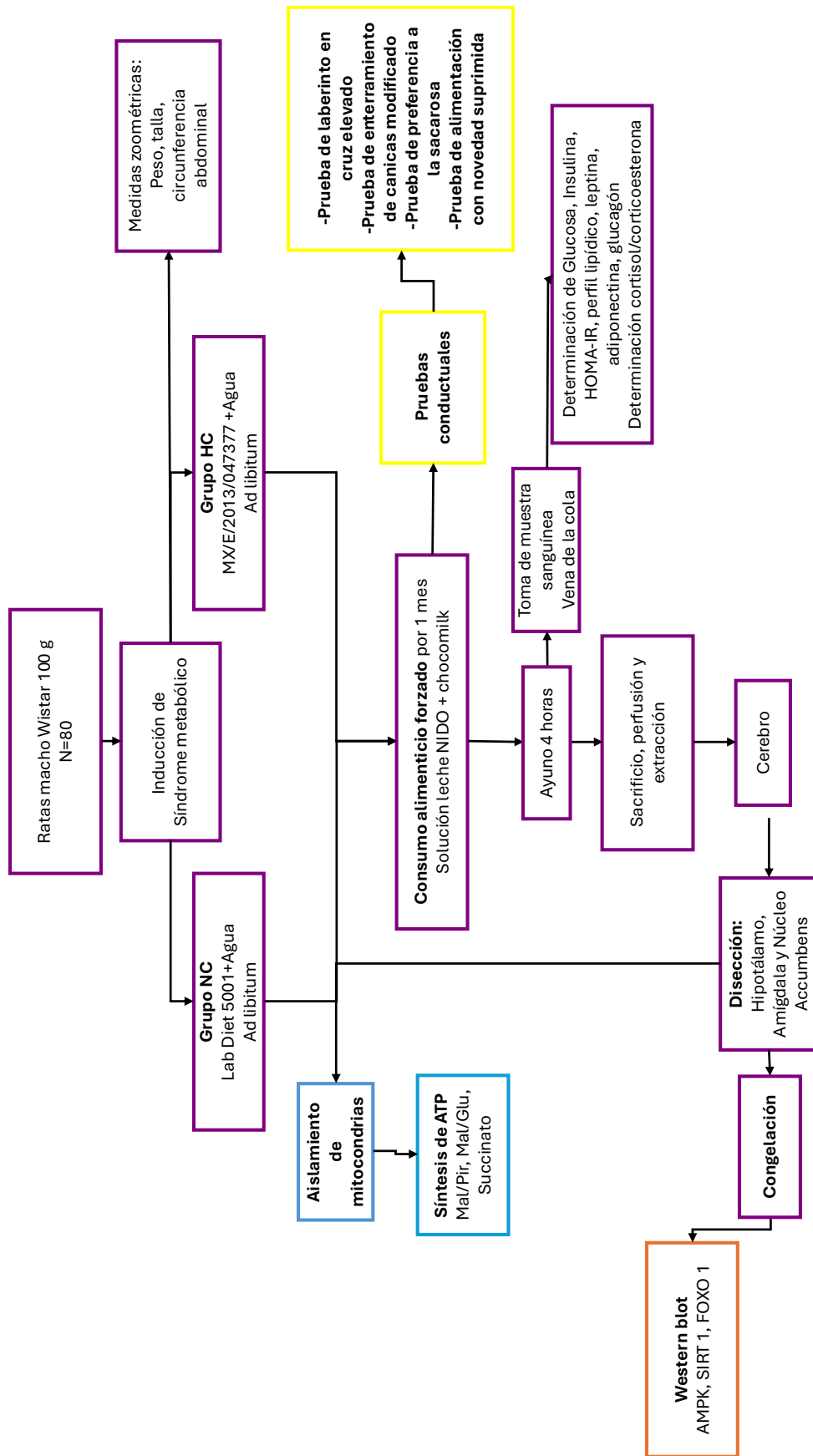
Los atracones no alteran la expresión de los sensores energéticos metabólicos del hipotálamo, amígdala y núcleo accumbens en ratas macho Wistar con síndrome metabólico.

### Hipótesis alternativa

Los atracones alteran la expresión de los sensores energéticos metabólicos del hipotálamo, amígdala y núcleo accumbens en ratas macho Wistar con síndrome metabólico.

## Diagramas de trabajo





## Metodología

### Animales

En este estudio se utilizaron 80 ratas macho Wistar con un peso inicial de 70-80 g, equivalentes a 3-4 semanas de vida; fueron obtenidas del Bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los animales se alojaron en cajas de policarbonato con serrín y fueron mantenidos bajo condiciones controladas de temperatura (19-26 °C), humedad y ciclos de luz-oscuridad de 12 horas, con acceso a comida y agua *ad libitum*. Se pesaron cada tercer día hasta alcanzar un peso de 100 g, que equivale a 15 días de acondicionamiento. Posteriormente, se realizó la conformación de grupos. Cabe resaltar que todos los procesos descritos se hicieron siguiendo los lineamientos de la “Guía para el Cuidado y uso de Animales de Laboratorio” en concordancia con la Norma Oficial Mexicana “Especificaciones técnicas para la producción, uso y cuidado de animales de laboratorio, NOM-062-ZOO-1999” y la aprobación del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales. Cada protocolo experimental se realizó pensando en minimizar el número de animales utilizados y asegurar el mínimo dolor y/o malestar del biomodelo.

Los animales se dividieron aleatoriamente en 4 grupos con  $n = 20$ . De los cuales 2 grupos fueron designados como controles normocalóricos y se alimentaron durante todo el tiempo del experimento con una dieta a base de pellet balanceada (LabDiet 5001) y agua *ad libitum*. Los 2 grupos restantes conformaron los grupos hipercalóricos y fueron alimentados con una dieta alta en carbohidratos (MX/E/2013/047377) y agua *ad libitum* para inducir SMet durante 3 meses. En la tabla 1, se muestra la composición porcentual de las dietas previamente mencionadas.

Composición porcentual	Dieta normocalórica (NCD) LabDiet 5001 (%)	Dieta hipercalórica (HCD) (MX/E/2013/047377) (%)
Carbohidratos	48.7	71.4
Proteínas	23.9	7.3
Grasas	5.0	5.8
Fibra (Cruda)	5.1	0.0
Cenizas	7.0	3.5
Total	90.4	88.0

**Tabla 1.** Composición porcentual de las dietas sólidas utilizadas.

Posteriormente, durante el cuarto mes (días 91-120), se llevó a cabo la inducción de la conducta de tipo atracón, que consiste en la administración de una solución preparada a base de leche en polvo Nido® y Choco Milk®, ambas disueltas en agua purificada. De esta manera, los grupos normocalóricos e hipercalóricos se dividieron en aquellos con un consumo alimenticio forzado y aquellos que no, siendo estos los grupos control; por lo tanto, se tuvieron 4 grupos:

1. Dieta normocalórica + solución láctea (NCD + cho)
2. Dieta normocalórica (NCD)
3. Dieta hipercalórica + solución láctea (HCD + cho)
4. Dieta hipercalórica HCD

La solución láctea fue ofrecida en bebederos, reemplazando el bebedero de agua habitual, y se encontró disponible ad libitum durante las 24 horas del día. Cabe resaltar que, con el objetivo de evitar un posible hostigamiento o rechazo hacia la solución, al día siguiente se retiraba la mezcla y se ofrecía agua durante una hora en un bebedero. De esta forma, se buscó preservar el bienestar de los animales. La formulación de la solución fue diseñada con base en la composición nutrimental de ambos productos comerciales, aproximándose al valor calórico de la dieta hipercalórica hiperglúcida utilizada en dos de los grupos experimentales. A

continuación, se presenta la composición de macronutrientes de la leche Nido®, de Choco Milk® y de la mezcla utilizada.

**Composición nutrimental de Choco Milk®**

	Gramos	Calorías (kcal) por cada 100 g
<i>Carbohidratos</i>	89.5	358
<i>Proteínas</i>	2.2	8.8
<i>Grasas</i>	2	18
<b>Total</b>		<b>384.8</b>

**Tabla 2.** Composición nutrimental de Choco Milk® expresada en gramos y calorías (kcal). Obtenido de Nestlé México. (2025) Nido Fortificada: información nutrimental.

**Composición nutrimental de leche en polvo Nido®**

	Gramos	Calorías (kcal) por cada 100 g
<i>Carbohidratos</i>	59	236
<i>Proteínas</i>	12	47.6
<i>Grasas</i>	19.5	175.5
<b>Total</b>		<b>459.1</b>

**Tabla 3.** Composición nutrimental de leche en polvo Nido® expresada en gramos y calorías (kcal). Obtenido de Nestlé México. (2025) Choco Milk: información nutrimental

**Composición nutrimental de solución láctea (25 g de Choco Milk y 15 g de Nido disueltos en 200 mL de agua)**

	Calorías (kcal)	Composición (%)
<b>Carbohidratos</b>	124.9	75.66
<b>Proteínas</b>	9.35	5.66
<b>Grasas</b>	30.83	18.67

**Tabla 4.** Composición nutrimental de la solución láctea preparada a partir de 25 g de Choco Milk® y 15 g de leche en polvo Nido® expresada en calorías (kcal) y en porcentaje.

## Parámetros zoométricos e ingesta de alimentos

Se llevó un control diario de los gramos de alimento, calorías consumidas, cantidad de agua y leche consumida al día por cada jaula. A su vez, se llevó a cabo la medición del peso, la talla y la circunferencia abdominal semanalmente durante todo el estudio. De esta manera, se obtuvieron las diferencias entre los grupos. Se determinaron los siguientes parámetros:

- Índice de masa corporal (IMC)= peso (g) / longitud<sup>2</sup> (cm<sup>2</sup>)
- Índice de Lee (% de grasa corporal) = [(peso en g<sup>(0,33)</sup>)/tamaño en mm] x 100
- Ingesta de agua = volumen inicial del agua – volumen del agua sobrante
- Ingesta de dieta = Peso inicial del alimento – peso del alimento sobrante
- Ingesta de energía (kcal/día) = Ingesta de dieta X energía contenida (kcal) por gramo de alimento. La energía total (kcal/g) de LabDiet 5001 es de 3,36 kcal/g y 3,67 kcal/g en la dieta HCD.
- Ingesta calórica de la solución achocolatada = Ingesta de la solución (mL) X energía contenida (kcal) de solución láctea / 200 mL

## Pruebas conductuales

En los días 120-125 los animales realizaron las siguientes pruebas conductuales:

### **Prueba del laberinto elevado en cruz**

El laberinto elevado consta de 4 brazos en forma de cruz con una zona central, donde dos brazos opuestos sin paredes y dos brazos cerrados (con paredes). Los animales fueron colocados en el centro y se grabó la conducta presentada durante 5 minutos, registrando el número de entradas a los brazos abiertos y cerrados, y el tiempo de permanencia en cada uno de ellos.

Esta prueba permite evaluar un comportamiento similar a la ansiedad, ya que, por una parte, los roedores suelen evitar los lugares abiertos y fuertemente iluminados, pero al mismo tiempo suelen explorar nuevos espacios. Así se evalúa la proporción

de estos estímulos opuestos, donde un mayor tiempo pasado en brazos abiertos indica un menor grado de ansiedad [Belovicova K, 2017].

### **Prueba de enterramiento de canicas modificado**

La prueba de enterramiento de canicas modificada fue descrita por Rodríguez-Rangel y colaboradores. [Rodríguez-Rangel D.S. et al., 2024]. El procedimiento consiste en colocar a las ratas individualmente en una jaula de acrílico transparente (43 × 53 × 21 cm) con cama de virutas de madera fresca (5 cm de profundidad) y 20 canicas de vidrio (1,5 cm de diámetro) en una disposición de 4 × 5 en la parte superior. Durante 5 minutos se realizó una videograbación del comportamiento del animal, en la que se reportó el tiempo que pasó la rata enterrando y realizando un aseo rostral repetitivo, además de cuantificar la cantidad de canicas enterradas. Debido a que estas conductas compulsivas se describen como una estrategia de afrontamiento para reducir la ansiedad y el estrés, mayor tiempo de estas conductas se asocia con comportamientos similares a la ansiedad.

### **Prueba de preferencia a la sacarosa**

La prueba de preferencia de sacarosa (SPT) se origina de la observación de que las ratas crónicamente estresadas reducen significativamente su consumo de soluciones que contienen sacarosa y sacarina en comparación con los animales control [de Oliveira-Júnior et al., 2024; Gencturk et al., 2024; y Katz, 1982], ya que constituyen estímulos naturalmente gratificantes. La prueba está asociada tanto con la anhedonia consumatoria (gusto) como con la anhedonia motivacional (deseo). El SPT se utiliza como un indicador de anhedonia, uno de los dos síntomas decisivos para diagnosticar el trastorno depresivo mayor [American Psychiatric Association, 2013].

Para ello, los animales fueron alojados individualmente en aisladores durante 72 h. Se colocaron dos botellas en la jaula. Durante los días 1 y 2, ambas botellas contenían agua potable. Cabe resaltar que diariamente se cambiaban de lugar las botellas para evitar la preferencia por lado. En el tercer día, una de ellas fue reemplazada por una botella con solución de sacarosa al 1%. Tras 24 horas de experimento, se midieron los volúmenes de cada botella.

La preferencia a la sacarosa se dio por la fórmula:

$$Preferencia = \frac{Vol. solución sacarosa 1\%}{(Vol. solución sacarosa 1\% + Vol. agua sin sacarosa)} \times 100$$

### **Prueba de alimentación con supresión de novedad (Novelty-suppressed feeding test)**

La prueba de alimentación con supresión de novedad (NSFT) evalúa comportamientos de roedores similares a la ansiedad examinando el conflicto entre el estrés por novedad y el impulso instintivo de alimentación [Gencturk et al., 2024]. Además, recientemente esta prueba se ha utilizado para estudiar tratamientos antidepressivos crónicos y subcrónicos en modelos de roedores [Belovicova et al., 2017 y Gencturk et al., 2024].

La hiponeofagia, definida como una reducción en el comportamiento de alimentación en respuesta a la novedad, puede inducirse introduciendo novedad en varios aspectos del comportamiento alimentario, como el alimento en sí [Gencturk et al., 2024].

Previo al ensayo, los animales fueron sometidos a una restricción alimentaria de 24 horas. Posteriormente, fueron colocados en una caja abierta (con la que previamente se familiarizaron) donde en el centro se encontraba una caja Petri y el alimento novedoso apetecible (una galleta María® azucarada partida en trozos). Se midió el tiempo de latencia (en segundos) del acercamiento al alimento, la toma del alimento y la alimentación en un tiempo de experimentación de 15 minutos. Una mayor latencia se interpreta como indicador de ansiedad.

### **Sacrificio**

Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico por vía intraperitoneal con dosis de 150 mg/kg de peso. Se realizó una incisión, se dejó expuesto el corazón y, a través de punción cardíaca, se obtuvieron 5 mL de sangre, los cuales fueron recolectados en tubos BD Vacutainer con gel separador; fueron centrifugados a 3,500 rpm durante 10 minutos. El suero fue separado y almacenado a -80 °C hasta

su análisis. Al término de la punción cardíaca, se perfundió utilizando PBS 1X (solución salina tamponada con fosfatos) para posteriormente extraer el cerebro.

Cada cerebro fue almacenado inmediatamente; para el caso de los estudios histológicos, se almacenaron en frascos de plástico con paraformaldehído al 4%; aquellos para los ensayos de Western Blot y análisis de rutas metabólicas se diseccionaron en las regiones de interés y se congelaron a -80 °C. Para el caso de la síntesis de ATP, aquellos cerebros extraídos fueron trabajados inmediatamente utilizando cubetas de hielo para evitar la degradación mitocondrial.

### Caracterización metabólica

En el día 120, se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa y curvas de insulina en grupos de animales a partir de un ayuno previo de 4 horas y la posterior administración vía oral de una solución de dextrosol 75 g (dosis de 1.75 g/kg de peso). Se obtuvieron muestras sanguíneas a partir de la vena de la cola del animal en los tiempos 0, 30', 60' y 90' para construir las curvas.

Por otra parte, a partir de la muestra sanguínea obtenida por punción cardíaca, se determinaron pruebas séricas como glucosa, perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total y sus fracciones) e insulina.

La glucosa y el perfil lipídico se determinaron por espectrofotometría con kits comerciales de Spinreact. La determinación de insulina, leptina, adiponectina y glucagón se realizó mediante un inmunoensayo ELISA tipo sándwich (Diagnostica Internacional Company), con el complejo anticuerpo-antígeno resultante evaluado a 415 nm en un lector de placas Stat Fax 2600. La concentración de insulina se obtuvo a partir de una curva estándar con un rango de 0 a 20  $\mu$ U/mL. El índice HOMA-IR fue calculado con las determinaciones de glucosa basal e insulina, siguiendo la fórmula matemática  $HOMA-IR = (Glucosa\ basal) (Insulina\ basal) / 2430$  [Cacho J, 2008].

Por otra parte, se determinó el índice de adiposidad visceral (VAI) calculado mediante una fórmula matemática (mostrada a continuación) que incorpora la circunferencia abdominal (CA), el índice de masa corporal (IMC), los triglicéridos

(TAG) y la concentración de colesterol en lipoproteínas de alta densidad (HDL) [Amato M 2014 y Amato, M, 2010].

$$VAI = \left( \frac{CA}{39.68 + (1.88 \times IMC)} \right) \times \left( \frac{TAG}{1.03} \right) \times \left( \frac{1.31}{HDL} \right)$$

De igual manera, el índice de adiposidad disfuncional (DAI) se determinó, ya que es un marcador temprano de anomalías morfofuncionales de los adipocitos [Reyes-Barrera J, 2021].

$$DAI = \left( \frac{CA}{22.79 + (2.68 \times IMC)} \right) \times \left( \frac{TAG}{1.37} \right) \times \left( \frac{1.19}{HDL} \right)$$

#### Determinación de cortisol/corticoesterona/ACTH

Se realizó la cuantificación de cortisol, corticoesterona y ACTH en suero a través de un método de quimioluminiscencia usando kits comerciales.

#### Ensayos de Western Blot

Los cerebros congelados a -20 °C fueron diseccionados para obtener hipotálamo, amígdala y núcleo accumbens; fueron homogenizados y centrifugados a 10 000 × g por 10 minutos a 4 °C; se tomó el sobrenadante y se cuantificaron las proteínas usando el método de Bradford.

Para realizar la técnica de Western Blot (WB), se realizó una electroforesis desnaturizante (SDS-PAGE); para ello, se prepararon geles de acrilamida/bisacrilamida con un porcentaje específico según la proteína a detectar. Se cargaron las proteínas con el buffer de carga correspondiente y se llevó a cabo la electroforesis; posteriormente, se realizó la transferencia húmeda a una membrana de PVDF de 0.45 µm. Después se bloqueó la membrana con caseína por 2 horas. Se incubaron los anticuerpos primarios de AMPK (SinoBiological Cat: 102146-T10, dilución 1:700), SIRT1 (SinoBiological Cat: 11748-R032, dilución 1:1000) y FOXO1 (SinoBiological Cat: 200239-T32, dilución 1:500) durante toda la noche. Al día siguiente se realizaron 3 lavados de 10 minutos con TBS-T y se incubó el anticuerpo secundario correspondiente acoplado a peroxidasa de rábano durante

1 h a temperatura ambiente, seguido de 3 lavados de 10 min con TBS-T y un lavado de 10 min con TBS. La membrana fue revelada a través de luminol en el fotodocumentador UVITEC Nine Alliance. Se obtuvieron las imágenes digitales y se analizaron utilizando el software "Fiji". El análisis se llevó a cabo empleando  $\beta$ -actina (Cell Signaling, 4970L, dilución 1:1000) y Lamina A (Santa Cruz Biotechnology, sc-20680, dilución 1:500), proteínas constitutivas del citoplasma y del núcleo, respectivamente, para normalizar y ajustar a 1 vs el control NCD la expresión relativa de cada proteína.

### Aislamiento de mitocondrias

Para aislar mitocondrias de tejido cerebral, se realizó la disección de las zonas correspondientes y se realizaron pequeños cortes para fraccionar el tejido. A 50-200 mg de tejido se le agregaron 800-1500  $\mu$ L de medio A. Posteriormente, se utilizó un homogeneizador para obtener una suspensión homogénea sin lisar las células. Se centrifugaron a 4 °C y 2000 rpm durante 10 minutos. Después, se recuperó el sobrenadante (el pellet contiene los núcleos celulares) en otro tubo Eppendorf y se llevó a centrifugar a 4 °C y 10 000 rpm durante 10 minutos. Se conservó el pellet y se homogeneizó con 500  $\mu$ l de medio A. Se realizaron dos lavados, centrifugando 10 minutos a 10 000 rpm; se conservó el pellet y se volvió a homogeneizar con medio A; se repitió el proceso una vez más. Finalmente, el pellet final es resuspendido en medio A y se realiza la cuantificación de proteínas o se congela a -80 °C. Cabe resaltar que durante todo el procedimiento se trabajó el tejido en hielo para mantener la integridad de las mitocondrias.

### Síntesis de ATP

Para medir la síntesis de ATP de mitocondrias de cerebros recién extraídos se utilizó el método de Vives-Bauza (2007), donde se utiliza la enzima luciferasa y el acople de ATP. Esta enzima convierte la luciferina en oxiluciferina; la luz emitida será leída a través de un luminómetro en unidades fluorescentes relativas (RFU). Se aislaron mitocondrias de tejido cerebral recién extraídos y se resuspendieron en Buffer A (150 mM KCl, 25 mM Tris-HCl pH 7.4, 2 mM EDTA, 0.1% BSA, 10 mM KHPO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub> 0.1 mM). Después se colocaron 10  $\mu$ g de proteínas de cada muestra en

micropozos blancos junto con 160  $\mu\text{L}$  de Buffer A, diadenosin pentafofato 6 mM y los sustratos: Piruvato/Malato, Malato/Glutamato o succinato, ADP 6 mM y 20  $\mu\text{L}$  de Buffer B (Tris-Acetato pH 7.75, 0.8 mM luciferina, 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  luciferasa). Inmediatamente después de la adición del Buffer B, se siguió la síntesis de ATP durante 3 minutos en un luminómetro (Lumistat 4900), se calculó la  $\Delta\text{RFU}$  y se extrapó el valor contra una curva de concentración estándar de ATP para obtener las concentraciones de las muestras que posteriormente fueron normalizadas contra la concentración de proteínas y el tiempo de reacción. La tasa de producción de ATP fue normalizada a la actividad de citrato sintasa descrita por Birch-Machin y Turnbull en 2001 (Birch-Machin & Turnbull, 2001; Vives-Bauza et al., 2007).

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron representados en gráficas mostrando el promedio  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). Se realizaron las siguientes pruebas estadísticas empleando el software GraphPad Prism versión 8.0:

- Test de normalidad Shapiro-Wilk para verificar que los datos siguen una distribución normal.
- ANOVA de 2 vías, tomando como factores la dieta y el sobreconsumo de la preparación láctea, seguido de pruebas post hoc de Bonferroni, considerando un nivel de significancia del 95% (con una  $P < 0.05$  para determinar diferencias estadísticamente significativas).
- t de Student para evaluar el monitoreo de la leche y de la “microestructura” del lamido entre los dos grupos expuestos a la solución láctea, considerando un nivel de significancia del 95% (con una  $P < 0.05$  para determinar diferencias estadísticamente significativas).

## Resultados

### Consumo alimenticio y parámetros zométricos de los modelos animales

Siguiendo el monitoreo del consumo alimenticio que se realizó diariamente, en el cuarto mes (que corresponde al periodo donde se dio la solución láctea) se observan cambios significativos (tabla 5). El consumo de sólidos disminuyó significativamente para los grupos que estuvieron expuestos a la solución láctea debido al sobreconsumo de esta, obteniendo una  $F(1, 16) = 0.5163$  y una  $P = 0.04828$ . No se observaron interacciones significativas entre la dieta y la solución láctea, sugiriendo que cada factor contribuye de manera independiente pero significativa.

Por lo tanto, la ingesta de calorías ( $F(1, 16) = 0.0012$  y  $P = 0.9720$ ) y la ingesta de carbohidratos ( $F(1, 16) = 4.630$  y  $P = 0.0470$ ) fueron menores para NCD + cho y HCD + cho con respecto a los demás grupos. Sin embargo, la sumatoria de las calorías ingeridas por la leche con los sólidos consumidos indicó que el aporte calórico fue significativamente mayor.

Por otro lado, no se observaron ni diferencias ni interacciones significativas en ninguno de los parámetros zométricos medidos (Tabla 5), con excepción del índice de Lee, en el que el grupo HCD + cho presenta un menor porcentaje de grasa corporal a diferencia del grupo NCD + cho. Cabe mencionar que el análisis de dos vías no mostró un efecto de interacción significativo entre la dieta y la solución láctea,  $F(1, 16) = 3.297$  y  $P = 0.0757$ .

#### Grupo Experimental

Parámetros	NCD	HCD	NCD + cho	HCD + cho
Consumo de sólidos (g)	23.47 ± 0.53	21.01 ± 0.79	11.01 ± 1.26↓↓	9.82 ± 0.78↓↓
Ingesta calórica por sólidos (kcal)	75.28 ± 2.21	73.35 ± 4.35	34.84 ± 3.41↓↓	33.13 ± 2.25↓↓
Ingesta calórica (sólidos + solución láctea) (kcal)	75.28 ± 2.21	73.35 ± 4.35	96.41 ± 3.12↑↑	98.07 ± 5.92↑↑

<b>Ingesta calórica por carbohidratos sólidos (kcal)</b>	43.11 ± 1.38	55.48 ± 2.37 ↑	20.55 ± 1.84 ↓↓	24.79 ± 1.83 ↓↓
<b>Ingesta calórica carbohidratos (sólidos + solución láctea) (kcal)</b>	43.11 ± 1.38	55.48 ± 2.37 ↑	67.14 ± 2.40 ↑	73.93 ± 4.52 ↑↑
<b>Peso (g)</b>	400.8 ± 8.79	393.3 ± 9.27	415.3 ± 16.50	385.3 ± 14.45
<b>Perímetro abdominal (cm)</b>	17.13 ± 0.21	17.23 ± 0.38	17.97 ± 0.39	17.14 ± 0.34
<b>Talla (cm)</b>	23.00 ± 0.25	22.77 ± 0.17	22.72 ± 0.22	22.50 ± 0.32
<b>IMC</b>	0.77 ± .02	0.76 ± 0.02	0.80 ± 0.02	0.68 ± 0.06
<b>Índice de Lee</b>	56.94 ± 1.20	57.10 ± 1.60	60.37 ± 2.07	50.69 ± 4.15 ↓

**Tabla 5.** Mediciones del consumo alimentario y parámetros zoométricos tras 4 meses de inducción. ↑ y ↓ indican diferencia estadística con  $p \leq 0.05$  (En color azul, diferencia significativa con respecto al grupo control NCD, en color morado con respecto al grupo HCD y en color verde, con respecto al grupo NCD + cho

### Caracterización metabólica y hormonal de los grupos experimentales

Con el objetivo de evaluar el impacto metabólico de la dieta hipercalórica y del consumo de una solución láctea achocolatada, se realizó un análisis bioquímico al término del periodo experimental (cuatro meses). Esta comparación nos permitió observar no solo si el atracón sobre una dieta normocalórica puede inducir características del SMet, sino también si su efecto combinado con la dieta HCD agrava el desbalance metabólico. En los resultados de la prueba de tolerancia oral a la glucosa (Fig. 3A) se obtuvo una  $F(1, 20) = 10.67$  y una  $P = 0.0039$  para el tiempo 0,  $F(1, 20) = 1.422$  y una  $P = 0.2471$  para el tiempo 30,  $F(1, 20) = 1.216$  y una  $P = 0.2832$  para el minuto 60 y  $F(1, 20) = 5.615$  y una  $P = 0.0280$  para el minuto 90, lo que sugiere que la dieta y la solución láctea interactúan de manera importante en la respuesta en lo basal y en el postprandio (tiempo 0 y 90). En condiciones basales se observó un incremento significativo en los tres grupos con respecto al control, la media del grupo NCD fue de 95.7 mg/dL, del grupo HCD fue de 122.2 mg/dL, de NCD + cho de 123.9 mg/dL y HCD + cho de 127.4 mg/dL; a los 30 minutos se obtuvo una disminución significativa por parte de los grupos HCD (media de 83 mg/dL) y HCD + cho (media de 66.4 mg/dL) con respecto al grupo

control (media de 145 mg/dL) y aumento significativo a los 90 minutos por parte del grupo HCD con respecto al NCD, con medias de 130 mg/dL y 110 mg/dL, respectivamente.

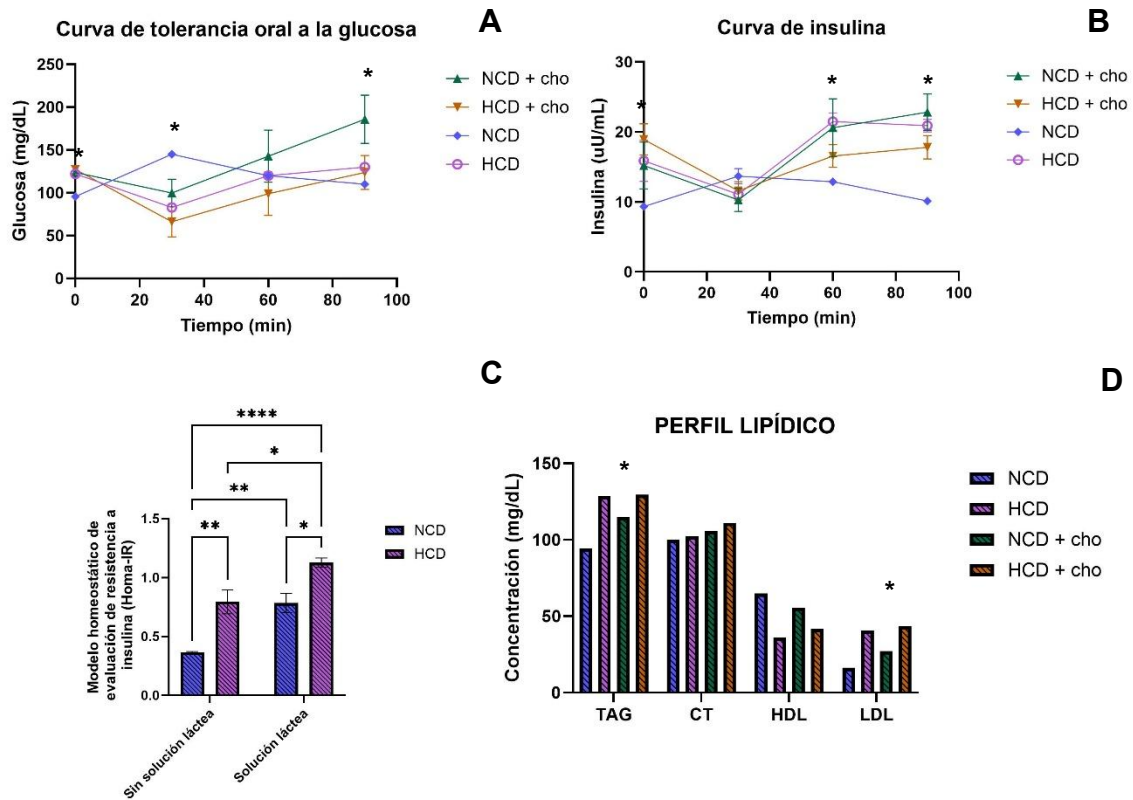
De igual manera se cuantificó su respuesta insulínica (Fig. 3B), se obtuvo una  $F(1, 18) = 0.2943$  y una  $P = 0.5941$  para el tiempo 0,  $F(1, 18) = 2.376$  y una  $P = 0.1406$  para el tiempo 30,  $F(1, 16) = 6.916$  y una  $P = 0.0182$  para el minuto 60 y  $F(1, 16) = 20.3$  y una  $P = 0.0004$  para el minuto 90, lo que sugiere que la dieta y la solución láctea interactúan de manera importante en la respuesta postprandial de recaptura muscular y adipocitaria (60 y 90 minutos). Se observó un aumento significativo de insulina basal en el grupo HCD + cho (19  $\mu\text{U/mL}$ ) con respecto al NCD (9.4  $\mu\text{U/mL}$ ), un aumento en el tiempo 60 por parte del grupo hipercalórico (21.5  $\mu\text{U/mL}$ ) con respecto al NCD (12.9  $\mu\text{U/mL}$ ) y finalmente en el tiempo 90.

Se evidenció el incremento de insulina en los tres grupos HCD (20.9  $\mu\text{U/mL}$ ), NCD + cho (22.9  $\mu\text{U/mL}$ ) y HCD + cho (17.8  $\mu\text{U/mL}$ ) con respecto al control (10.1  $\mu\text{U/mL}$ ). Para confirmar RI se utilizó el índice HOMA-IR,  $F(1, 20) = 0.3894$  y una  $P = 0.5397$ , observando un aumento significativo de los tres grupos con respecto a su control (Fig. 3C), con una media de 0.4 para el grupo NCD, 0.8 para HCD, 0.8 para NCD + cho y 1.1 para HCD + cho. Además, el grupo HCD + cho presentó mayor insulinoresistencia en comparación con el grupo HCD y el grupo NCD + cho.

Por otra parte, como la RI provoca dislipidemia característica en el SMet, se evaluó un perfil lipídico, donde se obtuvo una  $F(1, 34) = 1.7$  y  $P = 0.2011$  para triglicéridos, para colesterol  $F(1, 29) = 0.2259$  y  $P = 0.6382$ , para colesterol en las lipoproteínas de baja densidad (LDL)  $F(1, 12) = 1.538$  y  $P = 0.2386$  y para colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL)  $F(1, 12) = 0.4730$  y  $P = 0.5047$ . Nuestros resultados indican que no existe interacción entre la dieta y el consumo de solución láctea, lo que sugiere que cada factor contribuye de manera independiente.

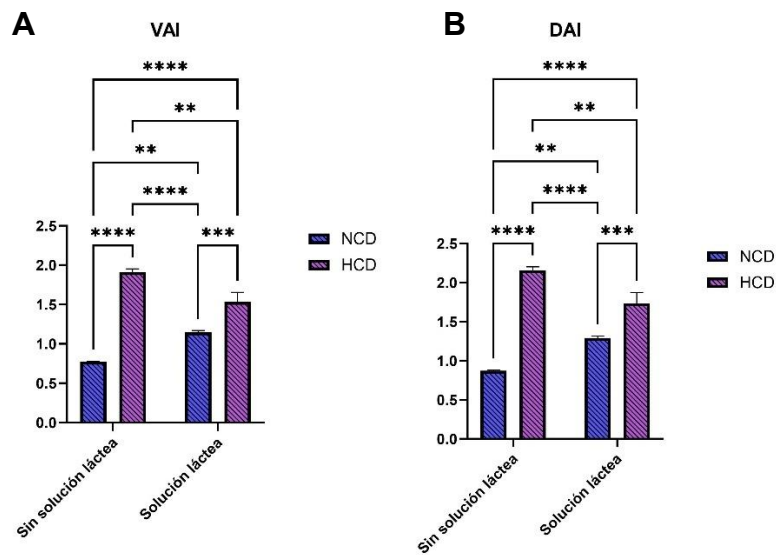
Los grupos HCD (128.7 mg/dL) y HCD + cho (129.6 mg/dL) presentaron un aumento de triglicéridos (TAG) significativo con respecto al grupo control (94.4 mg/dL), además un aumento de colesterol LDL para el grupo HCD + cho (70.2 mg/dL) con

respecto al control (41.6 mg/dL) y una tendencia a la disminución del colesterol HDL para los tres grupos con respecto al control (Fig. 3D).



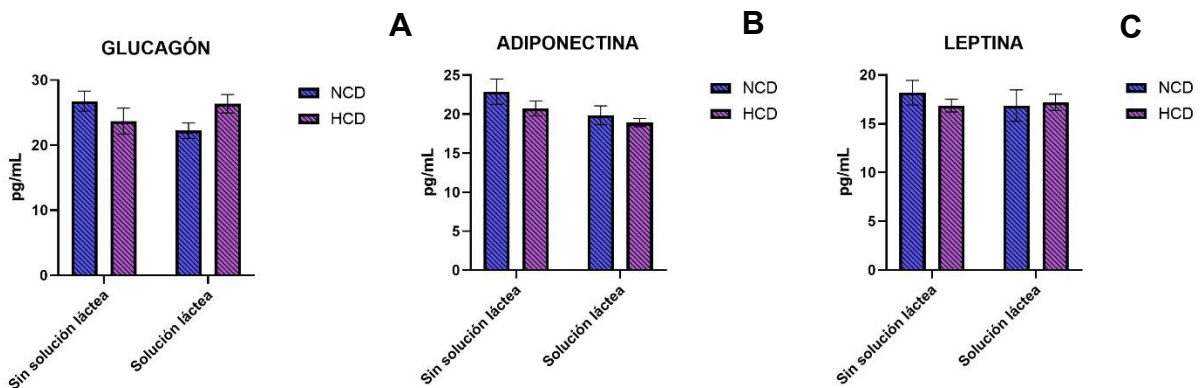
**Figura 3.** Caracterización metabólica tras 4 meses de inducción. **A.** Prueba de tolerancia oral a la glucosa. **B.** Insulina a los tiempos 0, 30, 60 y 90 minutos tras la carga oral de glucosa. **C.** Índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR). **D.** Panel lipídico. \* indica diferencia estadística con  $p \leq 0.05$  por ANOVA de dos vías *post hoc* Bonferroni. **TAG.** Triglicéridos, **CT.** Colesterol, **HDL.** Lipoproteína de alta densidad, **LDL.** Lipoproteína de baja densidad.

Adicionalmente, se determinó el índice de adiposidad visceral (VAI) y el índice de adiposidad disfuncional (DAI). Para VAI se obtuvo una  $F(1, 48) = 28.86$  y  $P < 0.0001$  y para DAI una  $F(1, 48) = 28.43$  y  $P < 0.0001$ , lo que nos indica que la dieta y la solución láctea interactúan fuertemente para inducir disfunción del tejido adiposo visceral. En la figura 4 se muestran los resultados de VAI y DAI con un aumento significativo en el grupo HCD (1.9 de VAI y 2.2 de DAI), HCD + cho (1.5 de VAI y 1.7 de DAI) y NCD + cho (1.1 de VAI y 1.3 de DAI), con respecto al NCD (0.77 de VAI y 0.87 de DAI). Además, dentro de estos tres grupos, el que presenta una mayor afección y disfunción corresponde al grupo HCD, seguido del grupo HCD + cho y, finalmente, del grupo NCD + cho.



**Figura 4. A.** Índice de adiposidad visceral (VAI). **B.** Índice de adiposidad disfuncional (DAI). \* Indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$  por ANOVA de dos vías *post hoc* Bonferroni.

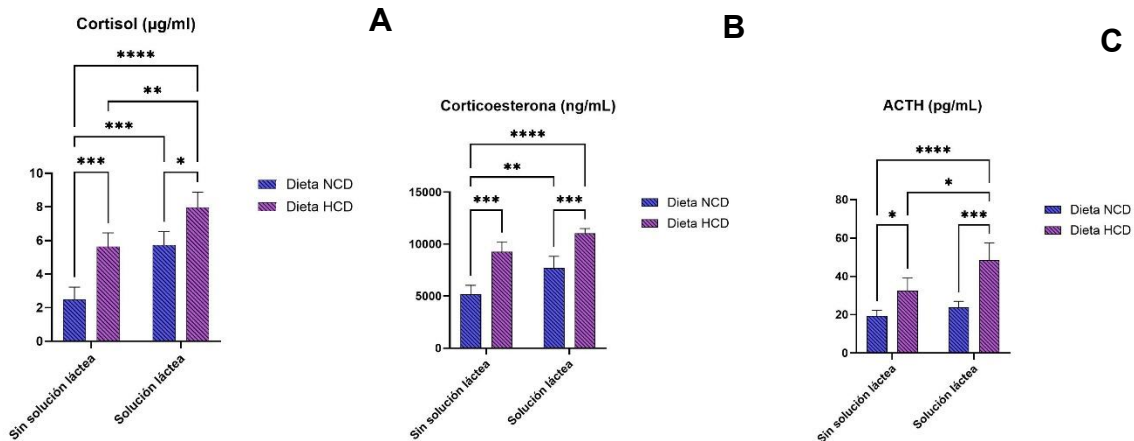
Se realizó también la cuantificación de glucagón (Fig. 5A), adiponectina (Fig. 5B) y leptina (Fig. 5C) para evaluar el estado hormonal periférico influenciado directamente por el consumo alimenticio. El análisis estadístico mostró una  $F(1, 50) = 5.597$  y  $P = 0.0219$  para glucagón, una  $F(1, 50) = 0.2821$  y  $P = 0.5977$  para adiponectina y una  $F(1, 50) = 0.4730$  y  $P = 0.4948$  para leptina. Únicamente se obtuvo una interacción significativa para glucagón. Además, no se observaron diferencias significativas entre los grupos; sin embargo, se observa una tendencia a la disminución por parte de adiponectina en los tres grupos con respecto al control.



**Figura 5.** Determinación hormonal **A.** Glucagón. **B.** Adiponectina. **C.** Leptina. \* indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$  por ANOVA de dos vías *post hoc* Bonferroni.

Se realizó la determinación hormonal del eje HPA (hipotálamo-pituitaria-adrenal) para evaluar si la exposición prolongada a una dieta hipercalórica, así como la conducta de atracón, generaban un estrés fisiológico como resultado del desequilibrio metabólico inducido. Para la determinación de cortisol, se obtuvo una  $F(1,12) = 1.235$  y  $P = 0.2882$ , mientras que para corticoesterona se tuvo una  $F(1,12) = 0.7608$  y  $P = 0.4002$ , y para la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) una  $F(1,12) = 3.711$  y  $P = 0.0781$ , por lo que no se encuentran interacciones significativas entre las variables.

En la figura 6 se puede observar un aumento significativo de las tres hormonas en el grupo HCD + cho (7.95  $\mu\text{g/mL}$  de cortisol, 11050  $\text{ng/mL}$  de corticoesterona y 48.5  $\text{pg/mL}$  de ACTH), HCD (5.63  $\mu\text{g/mL}$  de cortisol, 9265  $\text{ng/mL}$  de corticoesterona y 32.6  $\text{pg/mL}$  de ACTH) y NCD + cho (5.72  $\mu\text{g/mL}$  de cortisol, 7729  $\text{ng/mL}$  de corticoesterona y 23.9  $\text{pg/mL}$  de ACTH) con respecto al grupo control (2.48  $\mu\text{g/mL}$  de cortisol, 5175  $\text{ng/mL}$  de corticoesterona y 19.4  $\text{pg/mL}$  de ACTH). Además, el grupo HCD + cho fue el que generó la mayor actividad del eje HPA.



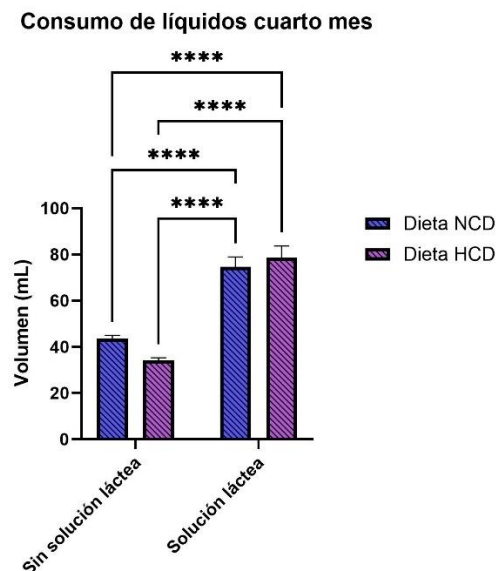
**Figura 6.** Determinación del eje adrenal. **A.** Cortisol. **B.** Corticoesterona. **C.** ACTH. \* indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$  por ANOVA de dos vías *post hoc* Bonferroni.

### Conducta de atracón

Para confirmar el modelo propuesto de atracón, el cual difiere en varios aspectos de los protocolos comúnmente establecidos en el gremio científico, se monitoreó

diariamente el consumo voluntario de la solución achocolatada y se comparó con el consumo diario de agua.

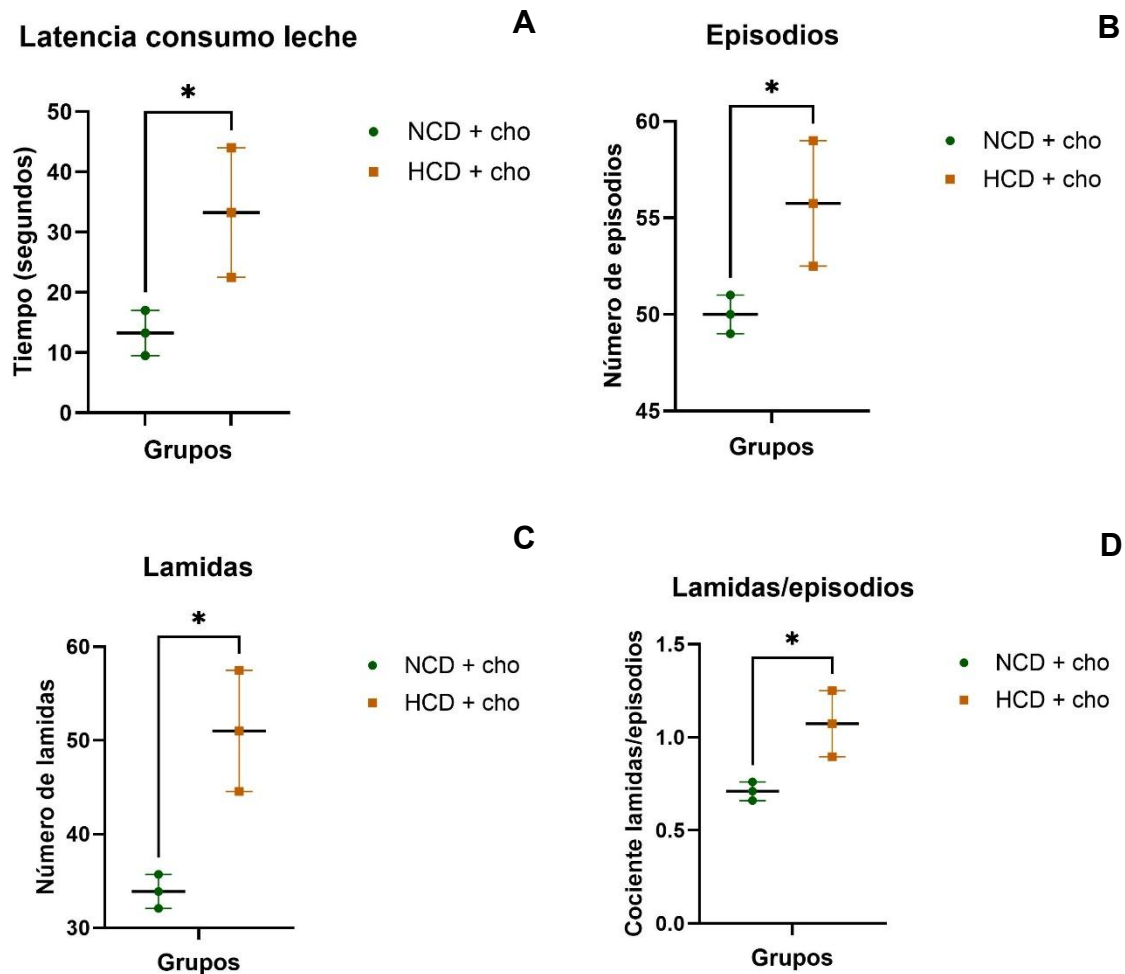
Como se puede observar en la figura 7, el consumo de líquidos para el grupo NCD fue de 43.7 mL, para el grupo HCD fue de 34.1 mL, mientras que el grupo NCD + cho y HCD + cho consumieron 74.6 y 78.7 mL de solución láctea, respectivamente. Se obtuvo una  $F(1,16) = 3.917$  y  $P = 0.0653$ , lo que nos indica que el consumo de líquido no se ve influenciado por el tipo de dieta que consumen. Los animales de ambos tipos de dieta que consumieron la solución láctea presentaron un consumo significativamente mayor de mililitros en comparación con el consumo de agua, lo que enfatiza el consumo exacerbado de la solución achocolatada.



**Figura 7.** Consumo de líquidos en el cuarto mes del experimento \* indica diferencia estadística con  $p \leq 0.05$  por ANOVA de dos vías *post hoc* Bonferroni.

Posteriormente, en el día 160, un grupo de animales fueron colocados en cajas individuales para monitorear el consumo de la leche y la “microestructura” del lamido en un periodo de 2 horas, teniendo énfasis en los primeros 30 minutos de exposición a la botella, ya que se propone que en este periodo se da la conducta de atracción voluntaria. Con la premisa de que la exposición intermitente a la solución láctea (altamente palatable) pueda generar una mayor recompensa, que a su vez resulta en que los animales ingieran cantidades desproporcionadas de solución; se

determinó la latencia (tiempo que tarda el animal a consumir la leche) (Fig. 8A), el número de episodios (periodo en el tiempo donde el animal consume la leche sin interrupción alguna) (Fig. 8B), las lamidas realizadas por cada episodio (Fig. 8C) y el cociente entre lamidas/episodios (Fig. 8D). Nos basamos en los experimentos propuestos por Guillaumin, M. y colaboradores en el 2023 para poder analizar si el consumo de la solución láctea se asociaba a conductas de “deseo” y/o “motivación”.



**Figura 8.** Monitoreo de leche y de la “microestructura” del lamido. **A.** Latencia en consumir la solución láctea. **B.** Número de episodios durante el consumo. **C.** Número de lamidas. **D** Cociente lamidas/episodios. \* indica diferencia estadística con  $p \leq 0.05$  por t de student *post hoc* Bonferroni.

Como se observa en la figura 8, el grupo NCD + cho presentó una menor latencia para acercarse y consumir la solución láctea que el grupo HCD + cho (13.3 y 33.3 segundos, y una  $P = 0.0383$ ). A su vez, el número de episodios, las lamidas y el

cociente de lamidas/episodios fueron mayores para el grupo HCD + cho. El grupo NCD + cho tuvo 50.0 episodios, mientras que el grupo HCD + cho tuvo 55.8 con una  $P = 0.0429$ . En cuanto a las lamidas, fueron 33.9 y 51.0 para los grupos NCD + cho y HCD + cho, con una  $P = 0.0115$ . Para el cociente lamidas/episodios, el grupo NCD + cho tuvo 0.71 y el grupo HCD + cho 1.07 con una  $P = 0.0272$ .

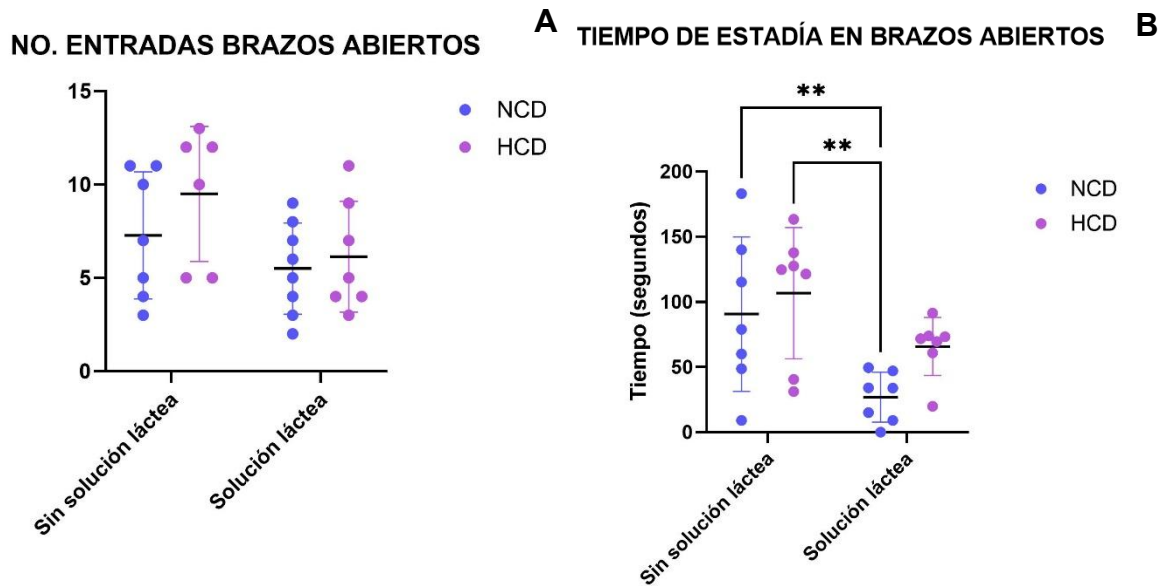
Los resultados muestran un gran número de episodios para ambos grupos en un periodo de tiempo corto, correspondiente a la conducta de atracón, ya que se tuvo un consumo excesivo de un alimento altamente palatable.

### Efecto del síndrome metabólico y el atracón sobre la conducta de los modelos animales

Las pruebas conductuales aplicadas en el presente estudio permitieron explorar de manera integral los efectos del SMet y del sobreconsumo de una solución láctea que derivó en la conducta de atracón y su relación con la ansiedad, la motivación, la anhedonia y la respuesta a estímulos novedosos.

En la prueba de laberinto elevado en cruz se evaluó el número de entradas a los brazos abiertos (Fig. 9A) y el tiempo de estadía en ellos (Fig.9B). El análisis estadístico reveló para cada uno de ellos una  $F(1, 24) = 0.4074$  con  $P = 0.5293$  y una  $F(1, 23) = 3.546$  con  $P = 0.0724$ , sin interacción significativa.

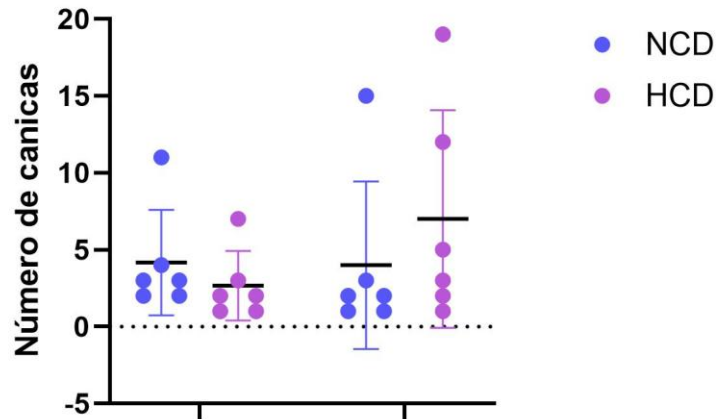
A su vez, no se observaron diferencias en el número de entradas a los brazos abiertos. Sin embargo, el grupo normocalórico expuesto a la solución láctea pasó un menor tiempo en los brazos abiertos (26.97 segundos) en comparación con el grupo NCD (104.3 seg) y HCD (87.20 seg), lo que se interpretaría como la presencia de una conducta tipo ansiosa.



**Figura 9.** Prueba del laberinto elevado en cruz. **A.** Número de entradas a brazos abiertos. **B.** Tiempo de estadía en brazos abiertos \* indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$  por ANOVA de dos vías *post hoc* Bonferroni.

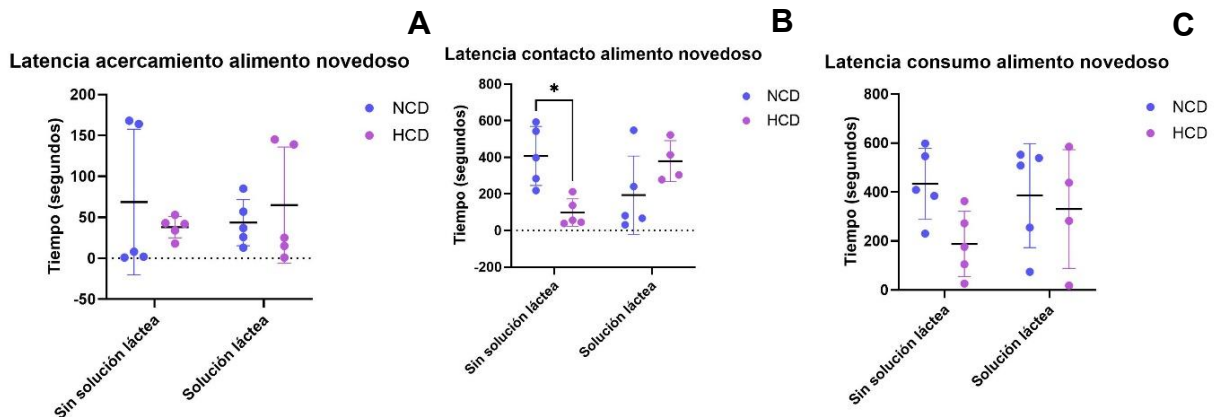
Con respecto a la prueba de enterramiento de canicas modificado, se registró el número de canicas enterradas por cada animal, considerando como enterradas aquellas que estuvieron completamente cubiertas por aserrín o al menos en tres cuartas partes de su volumen. Se obtuvo una  $F(1,21) = 1.091$  y  $P = 0.3082$ , con un promedio de 3.7 canicas para el grupo NCD, 2.7 para HCD, 4 para NCD + cho y 7 para HCD + cho. A pesar de que el grupo HCD + solución achocolatada presentó una tendencia mayor de canicas enterradas (Fig. 10), no fue significativa, por lo que ninguno de los grupos experimentales presentó un comportamiento de ansiedad asociado a un tipo obsesivo-compulsivo.

## Canicas enterradas completamente



**Figura 10.** Canicas enterradas por cada animal en la prueba de enterramiento de mármol modificado por ANOVA de dos vías *post hoc* Bonferroni.

La prueba de alimentación con supresión de novedad (NSFT) se realizó con el objetivo de evaluar el comportamiento de ansiedad y anhedonia (Fig. 11). Se determinó la latencia del acercamiento al alimento novedoso, la latencia al contacto y la latencia al consumo del alimento. Únicamente se obtuvieron interacciones significativas en la latencia al contacto, con una  $F(1, 15) = 14.99$  y  $P = 0.0015$ . El grupo HCD presentó una latencia menor significativa al primer contacto con el alimento novedoso, es decir, requirió menos tiempo para acercarse y tomar la galleta azucarada. Esto puede interpretarse como una mayor motivación hacia recompensas alimentarias (por la exposición a una dieta sólida alta en carbohidratos) y una desensibilización al estrés de la novedad.

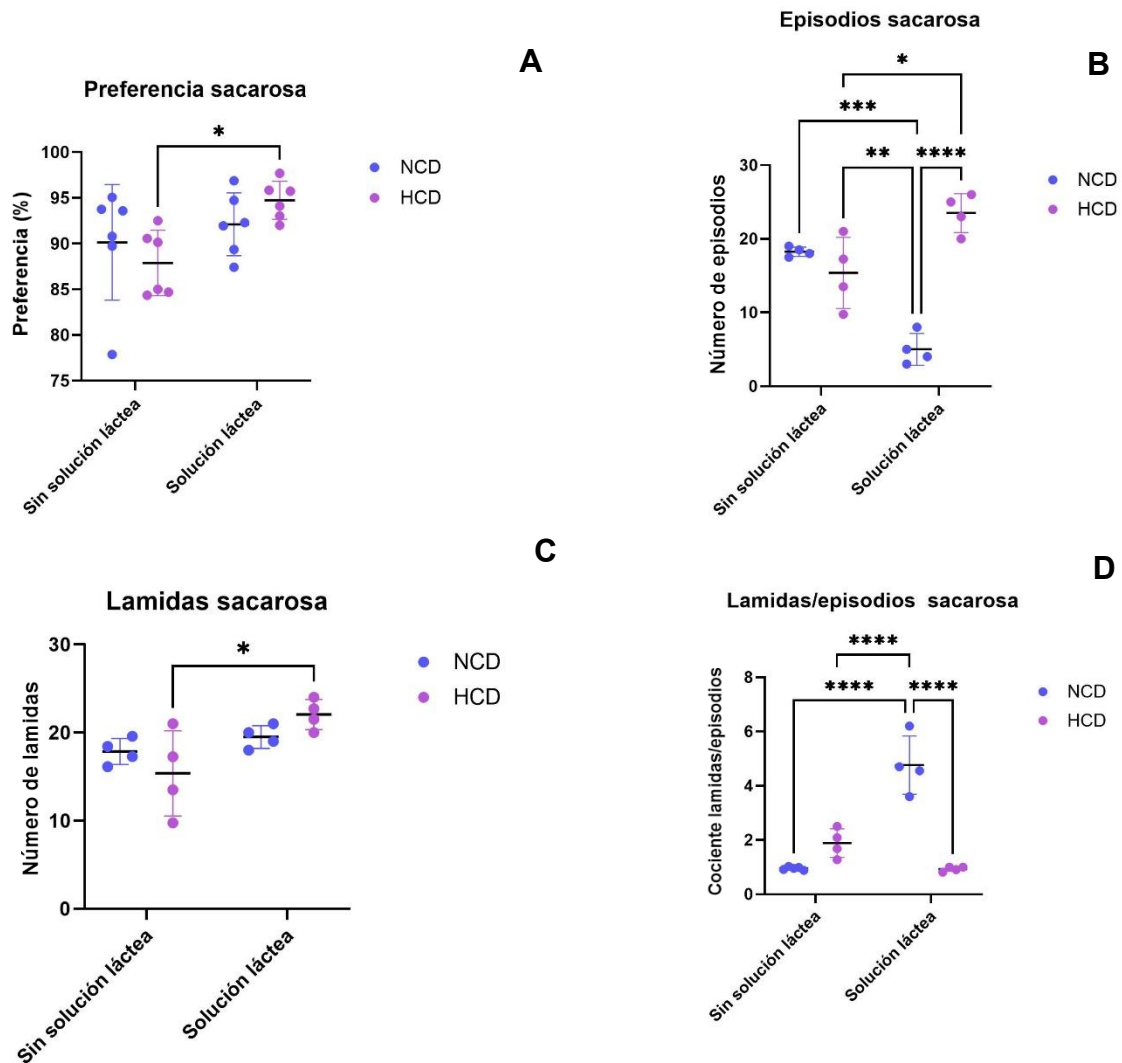


**Figura 11.** Parámetros evaluados en la prueba de alimentación con supresión de novedad. **A.** Latencia acercamiento al alimento novedoso. **B.** Latencia del contacto con alimento novedoso. **C.** Latencia del consumo de alimento novedoso. \* indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$  por ANOVA de dos vías *post hoc* Bonferroni.

Finalmente, en la prueba de preferencia de sacarosa (Fig. 12A) se determinó el nivel de preferencia, dado por la fórmula mencionada previamente en la metodología. No se observaron interacciones significativas ( $F(1, 20) = 2.071$  y  $P = 0.1655$ ). Sin embargo, hubo un aumento significativo en el grupo HCD + cho (94.7%) con respecto al grupo HCD (87.9%).

Al monitorear el consumo y la microestructura del lamido durante el consumo de la solución de sacarosa al 1%, se observaron interacciones y diferencias significativas en los grupos expuestos a la solución láctea. La información estadística obtenida fue una  $F(1, 12) = 37.23$  y  $P < 0.0001$  para los episodios, con un promedio de 18.5 episodios para el grupo control, 13.3 para el HCD, 4.3 para NCD + cho y 22 para el grupo HCD + cho. Como se observa en la figura 12B, hubo una disminución significativa de los episodios para el grupo NCD + cho con respecto a los grupos NCD y HCD, mientras que se observó un aumento significativo del grupo HCD + cho con respecto a los grupos HCD y NCD + cho.

Siguiendo el monitoreo de las lamidas, se encontró un aumento significativo del grupo HCD + cho (22 lamidas) con respecto al grupo hipercalórico (15.4 lamidas). Finalmente, se encontraron interacciones significativas para el cociente lamidas/episodios, con una  $F(1, 12) = 27.37$  y  $P = 0.0002$ ; así como un aumento significativo para el grupo NCD + cho (4.5) con respecto a los grupos NCD (1.2) y HCD (1.6) y una disminución significativa del grupo HCD + cho (0.9) con respecto al grupo NCD + cho.



**Figura 12.** Parámetros obtenidos por la prueba de preferencia a la sacarosa. **A.** Preferencia por la solución de sacarosa. **B.** Número de episodios durante el consumo de sacarosa. **C.** Número de lamidas durante el consumo de sacarosa. **D.** Cociente lamidas/episodios. \* indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$ .

### Efecto del síndrome metabólico y la conducta de atracón sobre la expresión de los sensores energéticos

El estudio de los sensores energéticos resulta fundamental para comprender cómo el cerebro integra las señales metabólicas y regula tanto el balance energético como la conducta alimentaria. Proteínas como AMPK, SIRT1 y FOXO1 actúan como nodos centrales en la detección del estado nutricional y de la demanda energética,

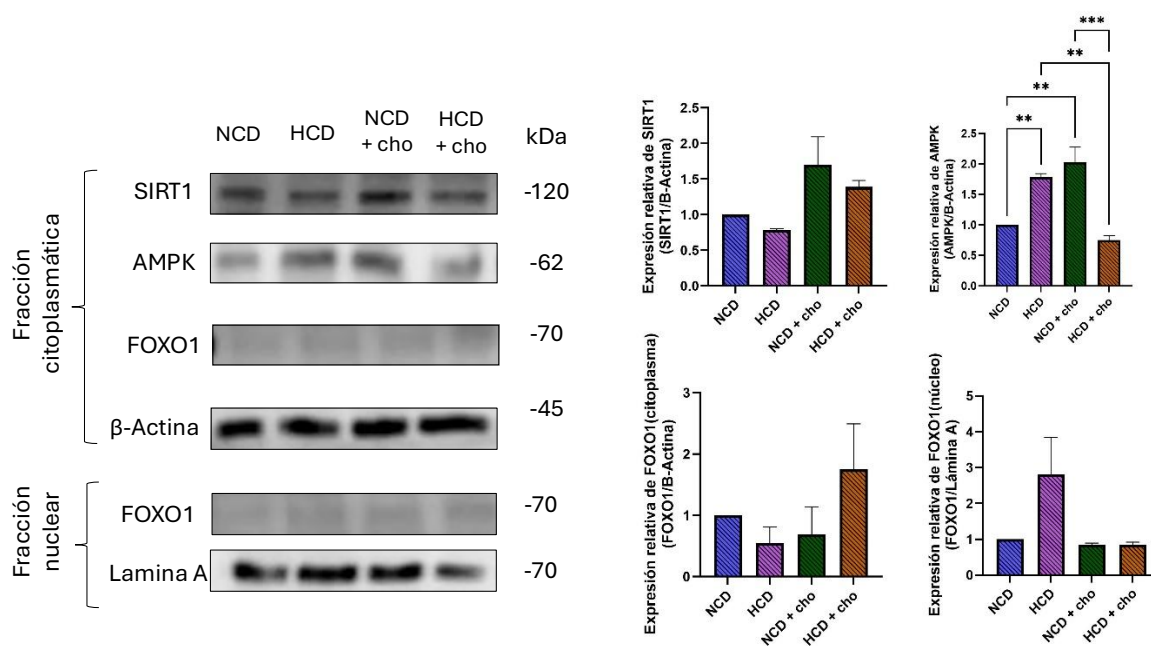
y en la adaptación de las células a condiciones de exceso o déficit energético. A continuación, se presentan los resultados obtenidos sobre la expresión de dichos sensores en el NAc, amígdala e hipotálamo (regiones centrales primordiales para la regulación homeostática, emocional y de recompensa), con el fin de evaluar cómo el SMet y la conducta de atracón modifican sus niveles y, en consecuencia, cómo influyen en la regulación del consumo de alimentos, la conducta animal y la homeostasis metabólica.

En el núcleo accumbens (Fig. 13), no se encontraron interacciones significativas en la expresión citoplasmática de SIRT1 ( $F(1, 8) = 0.0537$  y  $P = 0.8226$ ), de igual manera, no hubo cambios significativos de los 3 grupos con respecto al control, sin embargo, se observa una tendencia a la alta para los grupos expuestos a la solución láctea NCD + cho (1.7 veces) y HCD + cho (1.4 veces) en comparación del grupo NCD, lo que sugiere un posible efecto de la conducta tipo atracón sobre la regulación citoplasmática de esta proteína.

En cuanto a la expresión de AMPK, el análisis con ANOVA de dos vías mostró interacciones significativas entre la dieta hipercalórica y la solución láctea ( $F(1,8) = 59.24$  y  $P < 0.0001$ ) y se encontraron aumentos significativos de los grupos HCD (1.8 veces) y NCD + cho (2.0 veces) con respecto al control, así como una disminución significativa de AMPK en el grupo HCD + cho (0.75) con respecto a HCD y NCD + cho. Estos hallazgos sugieren que tanto la exposición crónica a la dieta hipercalórica como a la solución láctea inducen una activación diferencial de AMPK en esta región, mientras que la exposición a ambas variables genera una disminución.

Para FOXO1, se analizó la fracción nuclear y la fracción citoplasmática por separado; esto se debió a que, al ser un factor de transcripción, su localización nuclear nos hablaría del sensor activado, mientras que una mayor expresión en el citoplasma correspondería a la proteína inactiva. A nivel citoplasmático, no existe interacción ( $F(1,8) = 2.767$  y  $P = 0.1348$ ) ni diferencia en su expresión. Sin embargo, el grupo HCD + cho mostró una tendencia al incremento (1.8 veces). De igual manera, a nivel nuclear no se demostró interacción ( $F(1,8) = 3.155$  y  $P = 0.1136$ ) ni

diferencia entre grupos; únicamente se observó una tendencia al aumento en el grupo HCD (2.8 veces).

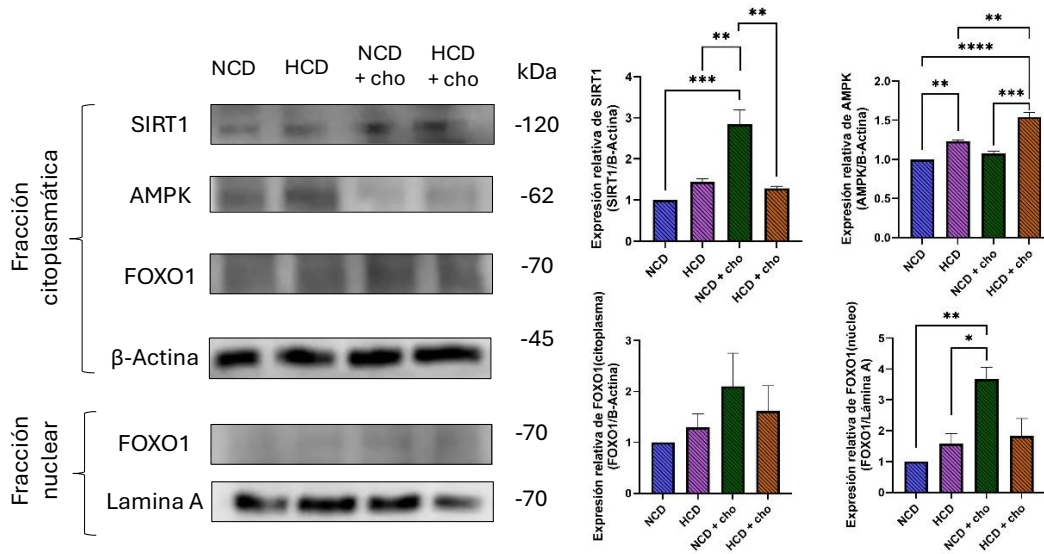


**Figura 13. A.** Imágenes representativas de WB que muestran la modulación en la expresión de los sensores energéticos SIRT1, AMPK y FOXO1 (a nivel citoplasmático y nuclear) en el núcleo accumbens (NAc). **B.** Cuantificación de la expresión relativa de las proteínas. Los datos se presentan como la media de 3 mediciones individuales  $\pm$  EEM. \* indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$ .

En la amígdala (Fig. 14), la cuantificación de SIRT1 mostró una interacción significativa  $F(1, 8) = 31.12$  y  $P = 0.0005$ ; además, se evidenciaron cambios significativos en su expresión, particularmente en el grupo NCD + cho, en el cual existió un aumento (2.8 veces) con respecto a los otros tres grupos (NCD; HCD, 1.5 veces; y HCD + cho 1.3 veces).

El análisis de AMPK evidenció una interacción significativa ( $F(1, 8) = 12.32$  y  $P = 0.008$ ), así como un aumento en la expresión de AMPK del grupo sometido a dieta hipercalórica (HCD, 1.2 veces) con respecto al control, así como también el grupo expuesto a ambas variables (HCD + cho, 1.5 veces) mostró un aumento significativo a comparación de los 3 grupos restantes.

Respecto a FOXO1, en la fracción citoplasmática no se demostró interacción entre las variables ( $F(1, 8) = 0.8176$  y  $P = 0.3923$ ) ni se observaron cambios con significancia estadística. Únicamente se observa una tendencia al incremento en la expresión para los tres grupos con respecto al control, sobre todo para el caso de NCD + cho (2.1 veces). En la fracción nuclear sí se obtuvo una interacción significativa ( $F(1, 8) = 10.27$  y  $P = 0.0125$ ), así como un aumento de su expresión en el grupo NCD + cho (3.7) con respecto a los grupos NCD y HCD (1.6 veces).



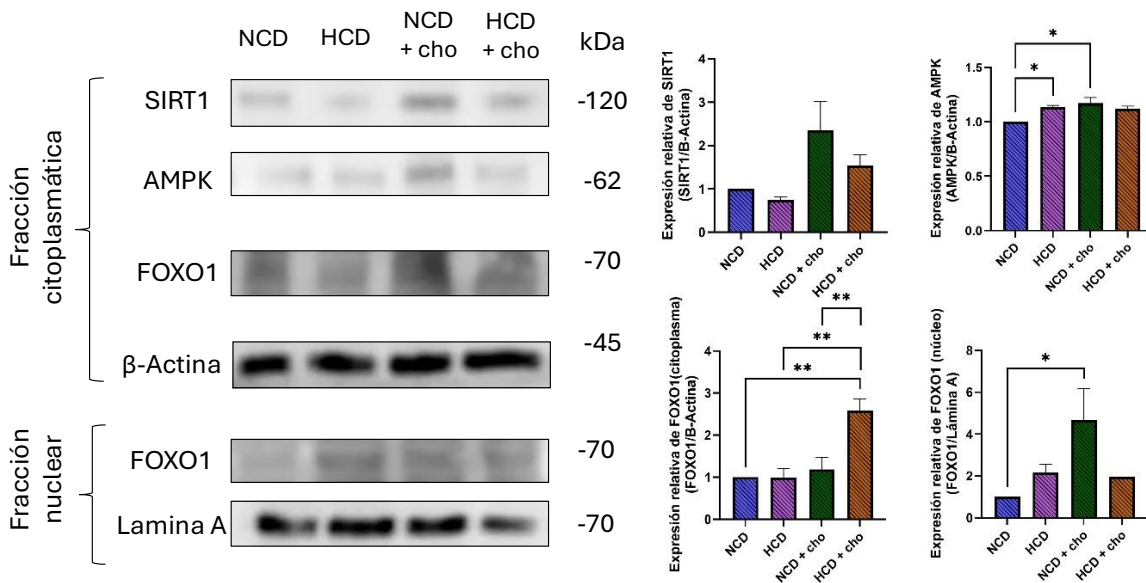
**Figura 14. A.** Imágenes representativas de WB que muestran la modulación en la expresión de los sensores energéticos SIRT1, AMPK y FOXO1 (a nivel citoplasmático y nuclear) en la amígdala (AMY). **B.** Cuantificación de la expresión relativa de las proteínas. Los datos se presentan como la media de 3 mediciones individuales  $\pm$  EEM. \* indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$ .

Finalmente, en el caso del hipotálamo (Fig. 15), la evaluación de SIRT1 evidenció un aumento sin significancia estadística para los grupos expuestos a solución láctea, NCD + cho (2.4 veces) y HCD + cho (1.5 veces). Además, el análisis indicó que no existieron interacciones significativas entre los factores de dieta y consumo de solución láctea, con una  $F(1, 8) = 0.6378$  y una  $P = 0.4476$ .

Para AMPK, existió una interacción significativa entre los factores evaluados, con una  $F(1, 8) = 9.254$  y una  $P = 0.016$ . A su vez, el análisis reveló aumentos

significativos en su expresión tanto en el grupo HCD (1.1 veces) como en el grupo NCD + cho (1.2 veces) frente al control.

En relación con FOXO1, se encontró una interacción significativa para ambas fracciones, teniendo una  $F(1, 8) = 9.732$  y  $P = 0.0142$  para la fracción citoplasmática y una  $F(1, 8) = 6.225$  y  $P = 0.0372$  para la nuclear. A su vez, a nivel citoplasmático se obtuvo un aumento en la expresión de FOXO1 para el grupo HCD + cho (2.6 veces). De manera similar a lo observado en regiones como la amígdala, a nivel nuclear se observó un aumento con significancia estadística para el grupo NCD + cho (4.7) con respecto al control.



**Figura 15. A.** Imágenes representativas de WB que muestran la modulación en la expresión de los sensores energéticos SIRT1, AMPK y FOXO1 (a nivel citoplasmático y nuclear) en el hipotálamo (HT). **B.** Cuantificación de la expresión relativa de las proteínas. Los datos se presentan como la media de 3 mediciones individuales  $\pm$  EEM. \* indica diferencias entre grupos con  $p \leq 0.05$ .

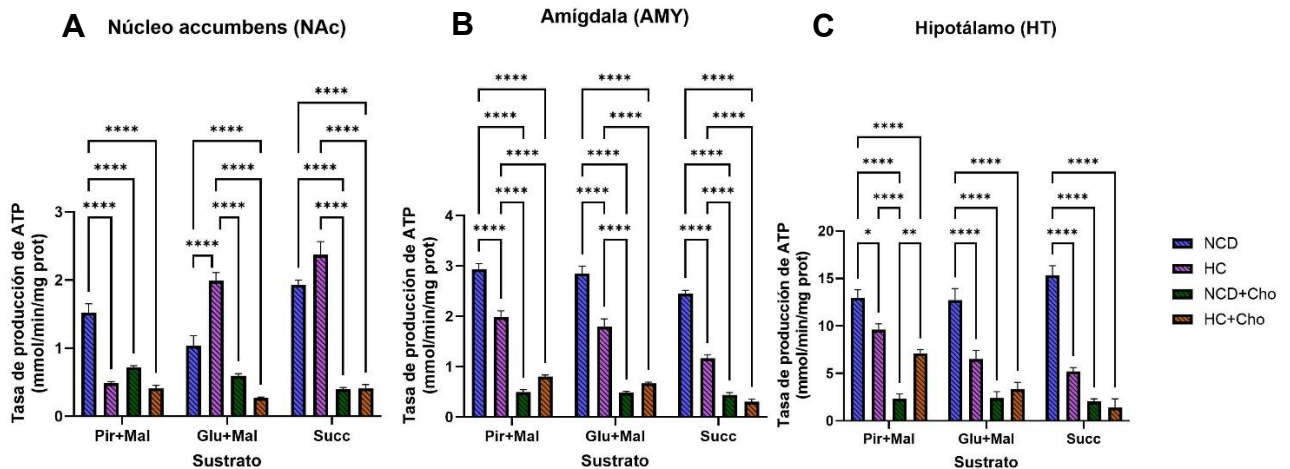
### Efecto del síndrome metabólico y la conducta de atracón sobre la bioenergética mitocondrial

La variación en las rutas metabólicas puede impactar a la mitocondria debido a un mayor flujo de sustratos hacia la cadena transportadora de electrones (CTE) para la síntesis de ATP. Evaluamos la síntesis de ATP proveniente de diferentes sustratos energéticos (Fig. 16) para posteriormente vincularla con la expresión de los sensores energéticos, el SMet y la conducta de atracón. Para el caso del núcleo

accumbens (NAc), nuestro análisis por ANOVA de dos vías nos permitió obtener los valores de F y P para cada sustrato. Para la ruta metabólica de Piruvato + Malato (Pir + Mal) se observó una  $F(1,8) = 25.19$ ,  $P = 0.0010$ , para la vía del Glutamato + Malato (Glu + Mal) una  $F(1,8) = 44.38$ ,  $P = 0.0002$  y para Succinato (Succ) una  $F(1,8) = 3.955$ ,  $P = 0.0820$ . Por lo tanto, existen interacciones significativas entre la solución láctea y la dieta hipercalórica para las primeras dos rutas metabólicas. Adicionalmente, se encontraron diferencias significativas: para el sustrato Pir + Mal, los tres grupos presentan una menor síntesis de ATP con respecto al control (NCD: 1.52, HCD: 0.49, NCD + cho: 0.72 y HCD + cho: 0.41). Para el sustrato Glu + Mal, se encontró un aumento significativo en el grupo HCD (1.99) con respecto al NCD (1.038) y una disminución en los grupos NCD + cho y HCD + cho. Finalmente, para el caso del succinato, existió una disminución significativa de ATP en los grupos expuestos a la solución láctea, pero un incremento en el grupo HCD (Fig. 16A).

En cuanto a la amígdala, para el sustrato Pir + Mal se obtuvo una  $F(1,8) = 49.35$ ,  $P = 0.0001$ , para Glu + Mal una  $F(1,8) = 34.24$ ,  $P = 0.0004$  y para Succinato una  $F(1,8) = 97.92$ ,  $P < 0.0001$ , lo que nos permite establecer una interacción significativa entre las variables evaluadas para los tres sustratos. Se encontraron diferencias significativas entre grupos; para los sustratos Pir + Mal, Glu + Mal y succinato, los tres grupos presentan una menor síntesis de ATP con respecto al control.

En el hipotálamo, se obtuvieron interacciones significativas entre las dos variables para cada sustrato, obteniendo estadísticos de  $F(1,8) = 41.98$ ,  $P = 0.0002$  para Pir + Mal, para Glu + Mal una  $F(1,8) = 15.22$ ,  $P = 0.0045$  y para Succinato una  $F(1,8) = 41.6$ ,  $P = 0.0002$ . Observándose una menor síntesis de ATP a partir de las 3 rutas metabólicas. Siendo los grupos expuestos a la bebida achocolatada los más afectados.



**Figura 16.** Síntesis de ATP mitocondrial. Se muestra el análisis de síntesis de ATP mitocondrial con diferentes sustratos: piruvato + malato, glutamato + malato y succinato. **A.** Núcleo accumbens, **B.** Amígdala y **C.** Hipotálamo. Los datos se presentan como la media de 3 mediciones individuales  $\pm$  EEM. \* Representa una diferencia estadísticamente significativa.

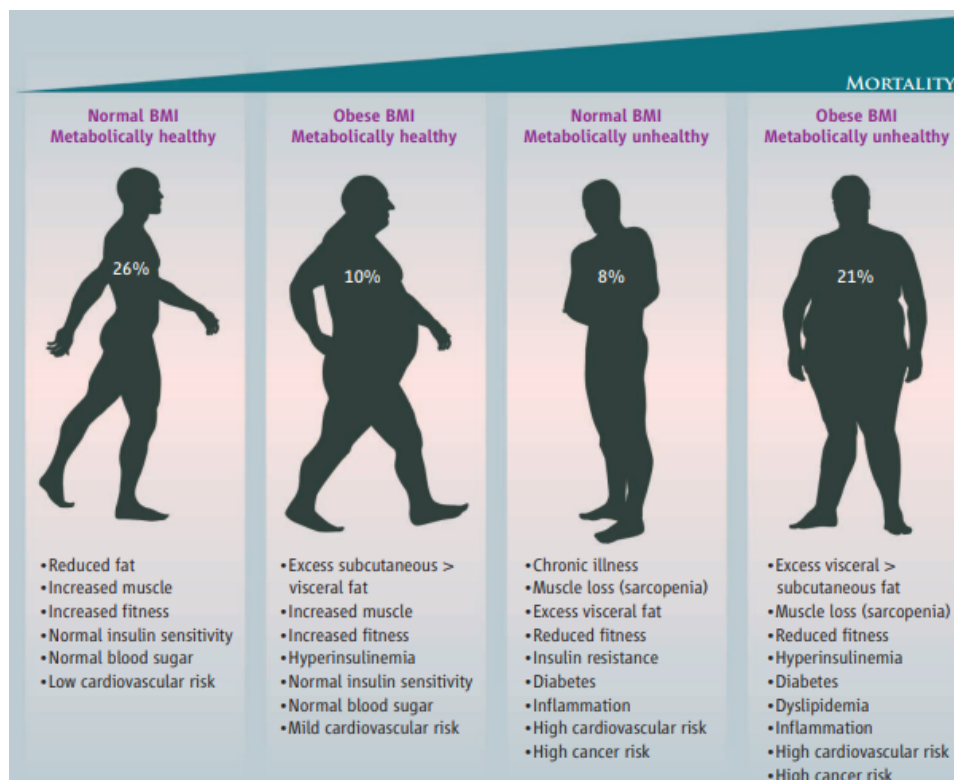
## Discusión

### Consumo alimenticio y parámetros zoométricos de los modelos animales

A pesar de que el consumo alimenticio, la ingesta de calorías y carbohidratos fueron mayores en los grupos expuestos a la solución láctea, los resultados muestran que los animales no tuvieron cambios estadísticamente significativos en su peso, perímetro abdominal, talla e IMC. Se esperaría que las medidas corporales fueran mayores por el exceso de calorías consumidas y el crecimiento del tejido adiposo blanco, además de que el aumento de la obesidad abdominal corresponde a uno de los criterios diagnósticos del SMet. Sin embargo, diversos estudios sugieren que la obesidad no siempre conlleva anomalías metabólicas ni un mayor riesgo de complicaciones cardiometabólicas; de hecho, una masa grasa muy baja puede asociarse con dicho aumento de riesgos [Iacobini, C. et al., 2019; Stefan N., 2020; y Mathew, H. et al., 2016]. Esto se debe a que existe una variación interindividual considerable en la respuesta al consumo excesivo de energía. La cantidad y el lugar donde se almacena la grasa están bajo el control de varios factores, como la genética, la edad, el sexo y el contenido total de grasa corporal. [Iacobini, C. et al., 2019]. Nuestro modelo animal emula el fenotipo de sujetos no obesos metabólicamente no saludables, como se menciona a continuación.

El diagnóstico de obesidad a menudo se basa en el IMC, calculado como el peso en kilogramos dividido por la altura en metros al cuadrado ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Para humanos, las personas con un IMC de 18.5 a 24.9 se consideran con peso normal, aquellas con un IMC de 25 a 29.9 se consideran con sobrepeso y aquellas con un IMC  $> 30$  se consideran obesas [Anand, S. et al., 2025 y Ahima, R.S. et al., 2013]. Además, se ha generado una paradoja obesidad-diabetes-mortalidad, con la idea incorrecta de que todos los pacientes que tienen obesidad son metabólicamente enfermos, mientras que todos los pacientes con un peso o IMC normal son sanos. En realidad, existen cuatro fenotipos metabólicos, tal como lo muestra la figura 19:

1. Individuos con IMC normal metabólicamente sanos (MHNO)
2. Individuos con IMC alto (obeso) metabólicamente sanos (MHO)
3. Individuos con IMC normal metabólicamente enfermos (MUNO)
4. Individuos con IMC alto (obeso) metabólicamente enfermos (MUO)



**Figura 17.** Fenotipos metabólicos sanos y enfermos. Tomado de Ahima, R.S. et al., 2013.

Los fenotipos 1 y 4 corresponden a los fenotipos más comunes, mientras que el fenotipo 2 caracteriza a pacientes obesos sin alteraciones metabólicas asociadas a

su peso, con un menor riesgo cardiovascular. Particularmente, el fenotipo 3 corresponde a individuos que, a pesar de tener un peso “normal”, soportan una mayor carga de riesgos cardiometabólicos [Mathew, H. et al., 2016].

Para el caso de los sujetos MUNO (fenotipo 3), la ingesta calórica alta y el bajo gasto energético no pueden ser cubiertos por el tejido adiposo blanco, ya que su capacidad para almacenar lípidos se ve afectada. Este fenotipo se caracteriza fuertemente por la variabilidad en los genes que regulan la distribución de la grasa corporal, el metabolismo de la grasa específica de depósito, la plasticidad del tejido adiposo [Iacobini, C. et al., 2019], la diferenciación de los adipocitos, la lipogénesis y la lipólisis. Dentro de los genes más estudiados se encuentran el sustrato 1 del receptor de insulina (IRS1), la proteína 14 unida al receptor del factor de crecimiento (GRB14), el receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR $\gamma$ ) y la proteína similar a lisofosfolipasa 1 (LYPLAL1). Además, los genes que regulan la lipogénesis hepática *de novo*, la liberación de lípidos del hígado y los parámetros del estilo de vida del individuo y sus padres, los cuales impactan en la patogénesis del hígado graso [Stefan N., 2020, Iacobini, C. et al., 2019 y Mathew, H. et al., 2016], que a su vez, se asocia a la generación de RI y, posteriormente SMet, dislipidemia, diabetes y enfermedades cardiovasculares.

El tejido adiposo blanco desempeña un papel en la regulación de lípidos y glucosa, almacenando y metabolizando estos nutrientes cuando se tiene un aporte hipercalórico y un menor gasto energético. No todos los depósitos de grasa son igualmente peligrosos para la salud. Una ubicación anatómica diferente (es decir, visceral versus subcutánea) y un tipo de grasa (es decir, blanca versus marrón) marcan la diferencia. El tejido adiposo subcutáneo (SAT) puede no ser un factor de riesgo para enfermedades metabólicas, mientras que la acumulación de tejido adiposo visceral (VAT) y grasa ectópica en o alrededor del hígado, del corazón y de los músculos está causalmente relacionada con la RI, la homeostasis de la glucosa deteriorada y la ECV. Con respecto al tipo de grasa, mientras que el tejido adiposo blanco está involucrado en la patogénesis de los trastornos metabólicos relacionados con la obesidad, el potencial de quema de energía del tejido adiposo

marrón le confiere a este tipo de grasa un papel protector para la salud metabólica y cardiovascular. Los individuos con MHO se caracterizan por más SAT y menos VAT, así como una menor acumulación de grasa en el hígado y el músculo esquelético en comparación con los sujetos MUO emparejados por IMC y masa grasa. Además, estudios epidemiológicos han demostrado que, para una cantidad dada de grasa total, una mayor acumulación de grasa en el SAT del cuerpo inferior (es decir, grasa corporal glúteofemoral) es un determinante de MHO y se asocia con un menor riesgo de ECV incidente. Por el contrario, en individuos igualmente obesos, la acumulación de grasa prevalente en VAT se asocia con un fenotipo MUO, caracterizado por hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y dislipidemia aterogénica [Iacobini, C. et al., 2019]. Se ha visto que la distribución de grasa corporal en sujetos MHO es diferente, ya que se caracteriza por una cantidad baja de masa grasa glúteofemoral y visceral [Stefan N., 2020].

Se ha demostrado que el almacenamiento masivo de grasa en el tejido adiposo periférico es metabólicamente inerte en ciertos modelos de ratón [Unger, R.H. et al., 2010]. De igual manera, es posible que en los individuos MHO, este aumento en el tejido adiposo (sobre todo en los depósitos subcutáneos) proporcione un puerto seguro para lípidos potencialmente tóxicos en individuos obesos, mejorando así la salud metabólica, con situaciones de hiperinsulinemia pero con una sensibilidad normal a la insulina, ausencia de diabetes y menor riesgo de enfermedades cardiovasculares. También es posible que el tejido adiposo proporcione reservas energéticas cruciales para satisfacer las demandas metabólicas durante enfermedades crónicas, lo que podría disminuir la mortalidad en pacientes obesos [Ahima, R.S. et al., 2013]. Sin embargo, la MHO puede corresponder a un estado intermedio y transitorio de bajo riesgo metabólico. Con el envejecimiento, la prevalencia disminuye y puede evolucionar a MUO [Guzmán-García, J. et al., 2024].

En los fenotipos no saludables (MHO y MUO) prevalece la disfunción del tejido adiposo o la adiposopatía [Richard A.J. et al., 2020]. Fisiológicamente, este tejido ejerce funciones endocrinas importantes, ya que produce diversas adipocinas, de las cuales la leptina y la adiponectina son clínicamente relevantes. Ambas hormonas

actúan a nivel autocrino, paracrino y endocrino, con diversos efectos relacionados con el apetito, el equilibrio energético, la inflamación/antiinflamación, la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de los lípidos [Ronti T. et al., 2006]. En el contexto de la RI, se observa una hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos en compensación del incremento en el aporte calórico y la síntesis de lípidos. Sin embargo, en condiciones crónicas el tejido adiposo puede perder su capacidad compensatoria y empezar a generar un estado proinflamatorio de bajo grado, liberando citocinas proinflamatorias como IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y MCP-1, que reclutan macrófagos de fenotipo M1 (proinflamatorios) al tejido adiposo y perpetúan la síntesis de la leptina, disminuyendo la producción de adiponectina [Ronti T. et al., 2006 y Neeland, I. J. et al., 2024].

Los índices VAI y DAI son un reflejo de la disfunción adipocitaria y, por ende, del desarrollo del fenotipo metabólicamente no saludable. Estos índices incorporan en su modelo matemático: la circunferencia abdominal, el IMC, además de parámetros bioquímicos como TAG y HDL [Amato M, 2014 y Amato M, 2010], lo que permite tomarlos como marcadores tempranos de anomalías morfofuncionales de adipocitos que contribuyen al desarrollo de SMet [Reyes-Barrera J, 2021]. Como se observa en los resultados, hubo un aumento significativo de ambos índices por parte de los grupos HCD, NCD + cho y HCD + cho con respecto al control, lo que nos permite inferir de manera indirecta que la adiposidad visceral de nuestros modelos animales expuestos a la dieta hipercalórica o/y a la solución láctea presenta un compromiso en su funcionalidad. Por lo tanto, estos grupos experimentales se clasificarían como un fenotipo 3; es por ello que, aunque no observamos alteraciones en los parámetros zoométricos, sí existe una alteración metabólica.

### Caracterización metabólica y hormonal de los grupos experimentales

La disponibilidad de nutrientes juega un papel importante en la secreción y regulación funcional de la insulina [Rahman, M. S. et al., 2021]. En el presente trabajo, el consumo crónico de una dieta alta en carbohidratos (MX/E/2013/047377; 71.4% de carbohidratos simples, de los cuales el 80% corresponde a glucosa y el 20% restante a fructosa); así como la exposición a una solución láctea achocolatada

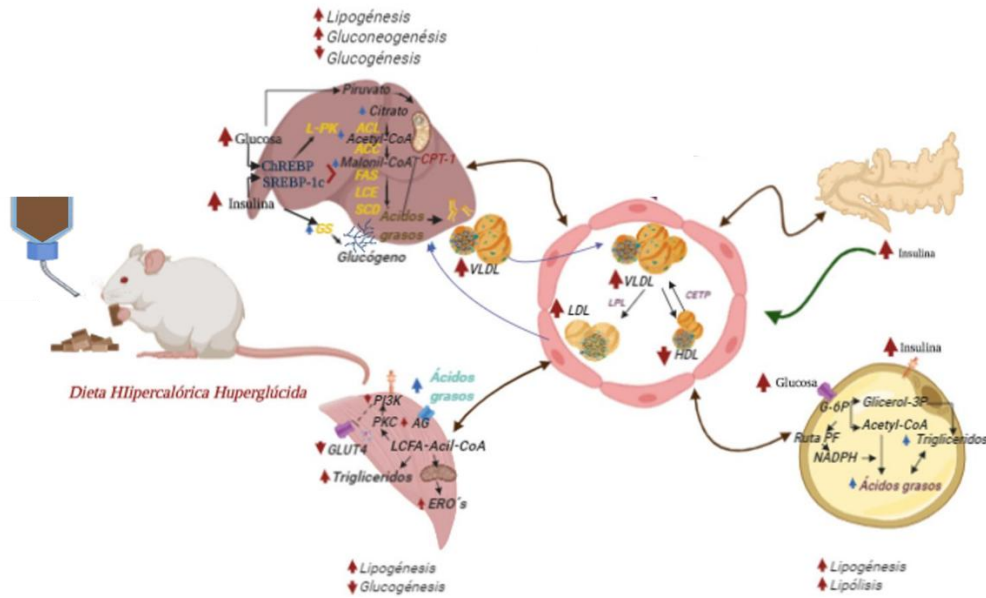
con una composición de 75.7% de carbohidratos, generó en los modelos animales un balance energético positivo, es decir, la ingesta de energía excedió el gasto de energía [Hill J.O. et al., 2012]. Este consumo excesivo de azúcares altera el metabolismo, generando estados de disglucemia. Como se observa en la figura 6, nuestros resultados muestran hiperglucemias dadas en el tiempo 0' de la curva de tolerancia oral a la glucosa para los grupos HCD (así como hiperglucemia en el tiempo 90') NCD + cho y HCD + cho.

Como respuesta a la sobreingesta de azúcares simples, existe un aumento gradual en la concentración de insulina, llamado hiperinsulinemia compensatoria, que se da como respuesta adaptativa del páncreas. Con el tiempo, la alta concentración de insulina promueve el desarrollo de RI. La RI es definida como la alteración en la secuencia de fosforilaciones fisiológicas que redundan en el mal control de la glucosa y el desarrollo de dislipidemia metabólica [Freeman A.M. et al., 2023; Rahman, M. S. et al., 2021]. Es por ello que al evaluar la respuesta insulínica, se observó una mayor liberación de insulina y valores mayores en el índice HOMA-IR en nuestros grupos experimentales (Fig. 3B y 3C).

En un individuo metabólicamente sano, las acciones de la insulina se pueden resumir con base en sus tres principales órganos diana. En el hígado, la insulina promueve la generación de glucógeno, ácidos grasos y triglicéridos. En el músculo esquelético, la insulina facilita la captación de glucosa y aminoácidos del torrente sanguíneo para la producción de ATP y la síntesis de proteínas [Rahman, M. S. et al., 2021]. Mientras que la principal acción de la insulina en los adipocitos es la estimulación de la adipogénesis, al promover la síntesis de triglicéridos y la supresión de la lipólisis [Norton L. et al., 2022].

Sin embargo, en individuos o modelos experimentales con RI se aumentan la lipogénesis, la gluconeogénesis y la lipólisis, y disminuye la glucogénesis, tal como se muestra en la figura 18. Es por ello que en nuestros resultados se muestra un aumento en los triglicéridos para los grupos HCD y HCD + cho. En lo que respecta a las fracciones de colesterol, existió un aumento de colesterol LDL para el grupo

HCD + cho y una tendencia a la disminución del colesterol HDL para los tres grupos con respecto al control.



**Figura 18.** Efecto del consumo de una dieta hipercalórica hiperglúcida y una solución láctea achocolatada en ratas machos Wistar. Tomado y modificado de tesis de maestría de M.C. Hernández, H.

La caracterización metabólica muestra que, si bien el grupo HCD continuó desarrollando características compatibles con el SMet tras 4 meses de dieta alta en carbohidratos, se presentó una desregulación metabólica aún mayor tras el consumo de la solución láctea. Este incremento en la carga de carbohidratos simples parece haber intensificado la RI (Fig. 3C), lo que sugiere un efecto sinérgico entre la dieta hipercalórica crónica y el consumo agudo de alimentos altamente palatables. Por otra parte, los animales que recibieron una dieta normocalórica durante tres meses pero que fueron expuestos agudamente a la solución achocolatada en el último mes también desarrollaron alteraciones metabólicas significativas, como hiperglucemia basal, hiperinsulinemia y RI. Estos hallazgos refuerzan la noción de que la conducta de atracón (y a su vez el sobreconsumo de alimentos altamente palatables) es suficiente para desencadenar un estado metabólicamente desequilibrado, incluso en ausencia de una dieta hipercalórica

sostenida, subrayando la relevancia del comportamiento alimentario en el desarrollo del SMet [Hudson, J. I. et al., 2020 y Alagha, M. et al., 2025].

Por otro lado, la respuesta a estresores metabólicos que generan inflamación no resolutive de bajo grado se da por ejes hormonales específicos, como es el caso del HPA. Existen diversos mecanismos propuestos por los cuales las características típicas del SMet y la conducta del atracón pueden generar una sobreactivación del eje HPA mostrada en los resultados previos. Uno de ellos corresponde a la inflamación de bajo grado y al estrés oxidativo generados por la disfunción adipositaria [Neeland, I.J. et al., 2024].

Se propone que las citocinas y diversos factores inflamatorios generados en el tejido adiposo visceral y perirrenal podrían llegar de manera paracrina hacia otros tejidos cercanos [Hammoud, S.H. et al., 2021], como las glándulas suprarrenales, alterando el eje adrenal. Por otra parte, nuestro grupo de investigación ha demostrado la presencia de un estado inflamatorio en diversas áreas cerebrales [Treviño, S. et al., 2022], por lo que, si esta inflamación también se encontrara en el hipotálamo, específicamente en el PVN, podría verse afectada la síntesis de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y, por ende, las hormonas de este eje endocrino como se observaron en nuestros resultados (Fig. 6).

La inflamación en regiones hipotalámicas y la hiperactividad del eje HPA en el trastorno por atracón pueden provocar cambios desadaptativos en la función de dicho eje, observándose un exceso de glucocorticoides [Ring M., 2025 y Rosenberg, N. et al., 2013]. Estos cambios, a su vez, pueden contribuir a problemas metabólicos como el aumento de la glucosa y la RI, que se asocian frecuentemente con el trastorno por atracón. Adicionalmente, el incremento de citocinas inflamatorias como la IL-6 y el TNF- $\alpha$  [Lei, A. A. et al., 2025], que están elevados en el trastorno por atracón, podría ser mediadores clave en la disfunción o hiperreactividad del eje HPA asociada a cambios en la conducta emocional y motivacional de los individuos; se ha observado que la amígdala es particularmente sensible a la señalización de los glucocorticoides [Mbiydzennyuy, N. E. et al., 2024].

## Modelo animal de la conducta de atracón

El trastorno de atracón es definido en el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM-5) como un episodio (en un periodo de tiempo determinado) incontrolable y compulsivo de consumo excesivo de alimentos altamente palatables, acompañado de una fuerte sensación de pérdida de control, sentimientos de culpa, vergüenza, ansiedad y depresión [American Psychiatric Association, 2013]. Corresponde a uno de los trastornos alimentarios con mayor relevancia e impacto en la salud pública y puede converger con otros trastornos como la bulimia nerviosa (BN), ya que en este se presenta la conducta del atracón. De igual manera, aunque la AF aún no es reconocida como un trastorno en el DSM-5 ni forma parte de la Clasificación Internacional de Enfermedades, comparte ciertas características afines al atracón, sobre todo por el consumo excesivo de alimentos altamente calóricos, la presencia de impulsos y un fuerte deseo de comer esos alimentos, así como intentos fallidos de reducir la ingesta, necesidad de comer más para reducir emociones negativas o aumentar el placer y síntomas de abstinencia [Kehan, B. et al., 2022].

A menudo se encuentran altas tasas de AF autoinformada en BED y BN; existen correlaciones positivas entre la AF y el número de síntomas de atracones [Gearhardt et al., 2014; Granero et al., 2014; Peng-Li et al., 2020; y Rodrigue et al., 2019]. En el presente trabajo se buscó generar un modelo animal que desarrollara la conducta de tipo atracón, ya que esta se puede presentar de manera cotidiana debido al estilo de vida actual. Cabe resaltar que es imprescindible reconocer que los modelos animales poseen la limitante de no poder reproducir en su totalidad las complejidades del BED humano, específicamente factores cognitivos, emocionales o culturales. Resulta complejo saber si un animal presenta un deseo incontrolable, sentimientos de culpa, vergüenza, ansiedad y depresión, ya que no posee el mismo desarrollo cognitivo que los humanos y que estos estén involucrados en modificaciones en la expresión de sensores metabólicos. Sin embargo, empleamos criterios mínimos para validar nuestro modelo de atracón [Rehn, S. et al., 2022]:

1. Consumo excesivo de alimento altamente palatable en un periodo de tiempo corto (habitualmente entre 1 y 2 horas).
2. Alto consumo por episodio comparado con el grupo control.
3. Latencia corta al inicio del episodio.
4. Preferencia marcada hacia el alimento más palatable frente al alimento estándar.
5. Aplicación de pruebas conductuales para evaluar conductas similares a la ansiedad y la depresión.

Existen numerosos modelos animales de atracones que difieren ampliamente en sus definiciones operativas, características en los biomodelos y parámetros metodológicos [Di Segni M. et al., 2014 y Rehn, S. et al., 2022]. Para generar la conducta deseada, se han empleado alimentos como solución de sacarosa al 10% o glucosa al 25%, galletas, manteca vegetal, dieta tipo cafetería, alimentos sólidos o líquidos con alto contenido en carbohidratos y/o lípidos. Asimismo, en las diferentes metodologías se encuentran el consumo intermitente del alimento, restricción calórica, generación de estrés o privación previa para intensificar la conducta de ingesta palatable [Rehn, S. et al., 2022 y Hildebrandt, B. A. et al., 2021]. Como se mencionó anteriormente, en el presente trabajo se empleó una solución láctea achocolatada elaborada a partir de leche Nido®, Choco Milk® y agua, alimentos que son altamente palatables y con alto contenido calórico.

En la figura 7 observamos que los grupos expuestos a la solución láctea (NCD + cho y HCD + cho) presentaron un mayor volumen de consumo en comparación con los animales expuestos al agua de consumo, lo que confirma el primer y segundo criterio para validar el modelo de atracón. Además, con el monitoreo del consumo alimenticio realizado diariamente, observamos que los animales prefieren la solución láctea al alimento estándar (LabDiet 5001) e incluso a la dieta hipercalórica (MX/E/2013/047377), ya que ambos grupos disminuyeron significativamente el consumo de sólidos (Tabla 5); de esta manera podemos confirmar la presencia del criterio 4. En segundo lugar, al determinar la ingesta calórica total y la ingesta de carbohidratos total (sólidos + solución láctea), observamos aumentos significativos

para dichos grupos, lo que confirma nuevamente el consumo excesivo de alimentos en comparación con nuestro grupo control.

Por otra parte, para confirmar el punto 3 y evaluar si el consumo excesivo se presentaba durante un periodo de tiempo determinado (punto 1), así como para analizar de manera más detallada los episodios de atracón, se llevó a cabo el monitoreo del consumo de la leche y la “microestructura” del lamido, basándonos en el trabajo propuesto por Guillaumin, M. y colaboradores en el 2023. Nuestros resultados muestran que la latencia al consumo de la leche (Fig. 8A) es muy corta, ya que se genera en menos de 40 segundos, sobre todo para el grupo NCD + cho, lo que confirma el criterio 3.

Cabe resaltar que, esta diferencia significativa entre el grupo con dieta estándar y el grupo con dieta hipercalórica puede deberse a que existe una mayor motivación hedónica o “urgencia” por consumir el alimento, en el grupo NCD + cho, en el cual el sistema de recompensa podría estar más sensible, y con ello más motivado, al generarse un “choque palatable” entre la solución láctea y el alimento estándar. En cambio, el grupo HCD + cho, al estar acondicionado a una dieta rica en calorías y carbohidratos, puede percibir de manera limitada o en menor medida la solución láctea como un estímulo particularmente valioso, alargando así la latencia en su consumo. Sin embargo, es de resaltar que ambos grupos presentan la conducta de atracón.

Tomando en cuenta la “Teoría de la prominencia de los incentivos” (Incentive Salience Theory), que explica como ciertos estímulos asociados con recompensas (como alimentos palatables) pueden adquirir un valor motivacional excesivo y volverse altamente “deseables” [Berridge, K.C. et al., 2016], la recompensa no es un proceso unitario, sino que comprende un componente de placer afectivo denominado “gusto” y un componente motivacional no afectivo denominado “deseo”. Es decir, “gustar” corresponde al componente hedónico que refleja la experiencia inmediata de comer un alimento placentero, mientras que “deseo” es la motivación de incentivo que puede conducir a un consumo excesivo de alimentos [Guillaumin, M. et al., 2023].

Dichos estímulos corresponden a procesos psicológicos diferentes con mecanismos neuronales distintos, incluso cuando ambos procesos ocurren simultáneamente [Robinson, M. et al., 2013]. Para poder diferenciar entre el “deseo” y “gusto” frente a un alimento palatable, Guillaumin y colaboradores analizaron la microestructura del lamido, concluyendo que un aumento en el número de episodios y una disminución en el intervalo entre episodios representan una mayor relevancia del “deseo”, mientras que un aumento en la duración de las lamidas individuales y la duración de los episodios de lamidas (dada por el cociente lamidas/episodio) se asocia al “gusto” [Guillaumin, M. et al., 2023].

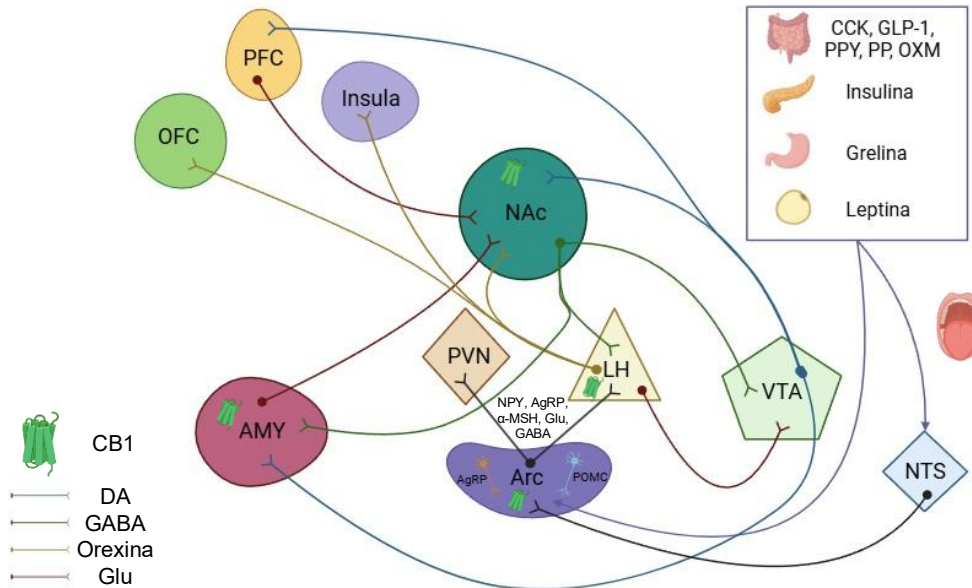
Esto sugiere que nuestros animales están más motivados (presentan un mayor “deseo”) para consumir la solución láctea, ya que presentaron una gran cantidad de episodios en un periodo de tiempo corto (30 minutos), lo que también nos habla de una disminución en el intervalo entre episodios. Es probable que los estímulos sensoriales (olor, sabor y textura) vinculados al consumo hayan adquirido un valor motivacional desproporcionado, impulsando su ingesta a pesar de la ausencia de una necesidad energética real, desencadenando la conducta de atracón.

Al comparar los resultados ya mencionados con los obtenidos en la prueba de preferencia a la sacarosa (Fig. 12), podemos observar una situación interesante. Primero, el monitoreo de dicha prueba se realizó en un periodo de 6 horas mientras que el monitoreo del consumo de la solución láctea solo duró 2 horas, a pesar de que se obtuvieron datos por más tiempo en el monitoreo de sacarosa, los episodios fueron menores, teniendo un máximo de 22 para el grupo HCD + cho, mientras que para la solución láctea se tuvieron más de 50 episodios para ambos grupos, lo que nos habla de una conducta establecida de deseo para la solución láctea.

### **Neurobiología del atracón**

Es por demás importante analizar por qué los modelos animales (y humanos) prefieren alimentos ricos en azúcares/grasa al alimento estándar y cómo esto puede conducir a episodios de atracón. Al respecto, se puede discutir cómo participa la activación de los circuitos cerebrales asociados a los procesos homeostáticos/apetitivos, emocionales y hedónicos/basados en la recompensa.

Múltiples neurotransmisores, neuropéptidos y metabolitos periféricos pueden influir en estos procesos, incluidos la dopamina, los opioides, los péptidos orexigénicos, el glutamato, el ácido gamma-aminobutírico (GABA), los endocannabinoides, la leptina, insulina, grelina y GLP-1 [Boswell, R. G. et al., 2021]. En el siguiente esquema se muestran las principales áreas cerebrales implicadas en la regulación de la alimentación junto con los neurotransmisores participantes.



28

**Figura 19.** Circuito principal encargado de la regulación de la ingesta de alimentos. Para simplificar, la ilustración no muestra todas las interconexiones y excluye algunas regiones adicionales. **Arc**, núcleo arqueado; **NTS**, núcleo del tracto solitario; **VTA**, área tegmental ventral; **LH**, hipotálamo lateral; **PVN**, núcleo paraventricular; **NAc**, núcleo accumbens; **AMY**, amígdala; **PFC**, corteza prefrontal; **OFC**, corteza orbitofrontal. Elaboración propia.

La información sensorial del gusto de la boca se transmite a las áreas corticales que reciben señales de saciedad del intestino a través de mecanismos subcorticales. El núcleo del tracto solitario (NTS) y el tálamo transmiten información de los sistemas de control de energía en el hipotálamo [Avena, N.M. et al., 2012]. El núcleo arcuato recibe señales periféricas como hormonas gastrointestinales (péptido YY, grelina, leptina, insulina, péptido similar al glucagon-1[GLP-1]) y nutrientes como la glucosa [Chae Y, 2023]. Además, contiene neuronas anorexigénicas POMC y el transcrito relacionado con la cocaína y la anfetamina (CART); sus proyecciones se dirigen principalmente al PVN y al hipotálamo lateral (LH), donde liberan hormona

estimulante de melanocitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH), inhibiendo la ingesta y aumentando el gasto energético. En contraste, también contiene neuronas orexigénicas que liberan neuropéptido Y (NPY) y AgRP, ambos potentes estimuladores del consumo alimenticio. Estas neuronas también proyectan hacia el PVN y LH, donde promueven la liberación de hormonas como la orexina, que aumenta el apetito y disminuye el gasto de energía [Farr O.M., 2016]. Sin embargo, este sistema no opera de manera aislada; existen conexiones indirectas hacia la amígdala, el NAc y la corteza prefrontal a través de proyecciones directas de PVN y LH, por lo que existe un puente funcional entre los circuitos homeostáticos y hedónicos del consumo alimenticio. Estudios recientes han encontrado que las neuronas LH que proyectan al VTA codifican acciones de búsqueda de recompensa y están involucradas en la búsqueda compulsiva de sacarosa. Asimismo, las neuronas LH glutamatérgicas se han visto involucradas en la supresión de la alimentación [Bourdy, R. et al., 2023].

La desregulación del sistema homeostático (causada por la RI, resistencia a la leptina y diferentes alteraciones metabólicas) puede desregular las señales de saciedad y hambre, favoreciendo la dominancia de las vías orexigénicas y generando un mayor peso al sistema de recompensa para regular la conducta alimentaria [Avena, N.M. et al., 2012].

Las emociones son importantes moduladoras del apetito. La amígdala participa no solo en la regulación emocional, sino también en el procesamiento de señales sensoriales y motivacionales asociadas al alimento [Farr O.M., 2016], ya que vincula los aspectos hedónicos, emocionales y de aprendizaje del acto de comer, modulando la decisión de inhibir o iniciar la ingesta en base a la experiencia previa, el contexto y el valor emocional del estímulo alimentario. La amígdala mantiene una estrecha comunicación con el VTA y el NAc, por lo que, a través de estas condiciones, mediadas por glutamato, GABA y dopamina (Fig. 19), permite que las experiencias previas con alimentos altamente palatables generen una memoria emocional positiva que potencia el deseo por su consumo futuro.

Su disfunción, especialmente en estados metabólicos alterados, como el SMet o la conducta de atracón, podría explicar la dificultad para resistir alimentos ricos en azúcar o grasa, incluso cuando las demandas energéticas del organismo ya han sido cubiertas. De hecho, la reactividad emocional, definida como la intensidad y duración de las emociones en respuesta a estímulos, está involucrada en la psicopatología relacionada con la alimentación. Una mayor emoción negativa reportada se ha asociado con atracones posteriores en individuos con BED [Haedt-Matt, A.A. et al., 2011], además de que se relaciona con una mayor impulsividad. Las personas que padecen BED muestran mayor reactividad al estrés, con síntomas de depresión y ansiedad graves. La angustia emocional puede sensibilizar el sistema de recompensa del cerebro a los alimentos y sus señales predictivas; en consecuencia, los atracones pueden ser precipitados por los efectos de la reactividad emocional [Boswell, R. G. et al., 2021].

Además, la amígdala está involucrada en la impulsividad asociada a los alimentos palatables y en la tendencia a comer en exceso alimentos palatables en respuesta a estados emocionales negativos, promoviendo así el comportamiento de aproximación a estos alimentos a través de la activación estriatal y la supresión del control inhibitorio descendente de PFC [Bourdy R. et al., 2023].

El núcleo accumbens constituye una pieza central del sistema de recompensa y cumple un papel vital en la motivación, el placer y el control del comportamiento alimentario. Actúa como un centro integrador de señales provenientes de diversas regiones cerebrales, recibiendo señales dopaminérgicas del VTA, glutamatérgicas de la amígdala y PFC, así como orexigénicas desde el LH donde convergen las señales homeostáticas del hambre y la saciedad (Fig. 19). Desde una perspectiva funcional, participa en la evaluación del valor hedónico y motivacional de los estímulos alimentarios. Como se mencionó, su activación se asocia al deseo y gusto, que son modulados principalmente por la liberación de dopamina, la cual puede aumentar en respuesta a alimentos ricos en azúcares o grasas, reforzando así la conducta de búsqueda y consumo [Guillaumin, M. et al., 2023].

En la conducta de atracón, estudios recientes mencionan que existe una sensibilización elevada a la recompensa de comida junto con una mayor impulsividad y compulsividad [Boswell, R. G. et al., 2021]. La impulsividad corresponde a un constructo multifacético caracterizado por “acciones que están mal concebidas, se expresan prematuramente, son excesivamente arriesgadas o inapropiadas para la situación y que a menudo resultan en consecuencias indeseables”, es decir, implica actuar precipitadamente, tener mayores impulsos relacionados con la recompensa y una toma de decisiones desventajosa [Kessler, R.M. et al., 2016]. Por el contrario, la compulsividad se caracteriza por “comportamientos perseverantes y repetitivos que no tienen una relación obvia con un objetivo general y que a menudo resultan en consecuencias indeseables” [Dalley, J.W. et al., 2011]. Estas conductas pueden reflejar fallas del control cognitivo, posiblemente mediadas en parte por interacciones entre los circuitos prefrontales (sistema ejecutivo) y los que promueven la participación conductual, como el sistema mesocorticolímbico. Se ha planteado la hipótesis de que una transición de conductas impulsivas, impulsadas por la recompensa, a conductas compulsivas, impulsadas por el hábito, puede ser un indicador de una mayor gravedad del BED [Boswell, R. G. et al., 2021].

También hay evidencia de una teoría de sensibilización a incentivos en los atracones, que sugiere que los episodios repetidos de atracones de comida sensibilizan al cerebro, lo que conduce a una mayor saliencia de incentivos, o "deseo" de comida, pero no en la anticipación de otros elementos potencialmente gratificantes [Donnelly B. et al., 2024; Leenaerts, N. et al., 2022; Bourdy R. et al., 2023].

En modelos animales con BED, los episodios repetidos de atracones son responsables de una sobreactivación del sistema mesocorticolímbico que podría explicar la desensibilización hedónica, lo que conlleva una mayor búsqueda de alimentos apetecibles, mayor frecuencia de atracones y mayores niveles de consumo de alimentos. Esto contribuiría al mantenimiento de los atracones, involucrando a los individuos en un círculo vicioso de ingesta desadaptativa de

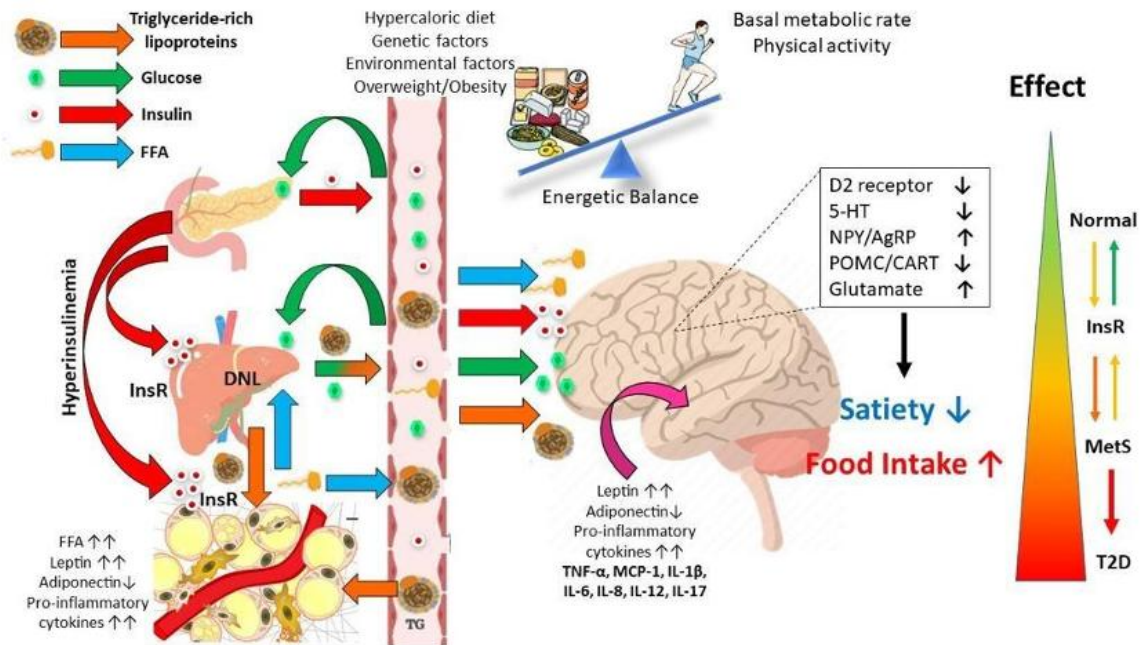
alimentos. Por otro lado, la perpetuación de los atracones podría reflejar una mayor sensibilidad a la recompensa de las señales relacionadas con los alimentos apetecibles, lo que potencia el aprendizaje de refuerzo para la comida y, a su vez, conduce a un comportamiento impulsivo [Bourdy R. et al., 2023].

### Efecto del síndrome metabólico y el atracón sobre la conducta de los modelos animales

Las pruebas conductuales aplicadas en el presente estudio permitieron explorar de manera integral los efectos del SMet y del sobreconsumo de una solución láctea que derivó en la conducta de atracón y en su efecto sobre la conducta emocional y motivacional de nuestros modelos. A través de la prueba de laberinto elevado en cruz, se establece que el grupo normocalórico expuesto a la solución láctea presenta una conducta similar a la ansiedad, ya que pasó un menor tiempo en los brazos abiertos en comparación con el grupo NCD. Esta prueba se basa en el conflicto entre la tendencia exploratoria natural del animal y su aversión innata a los espacios abiertos y elevados. Los roedores prefieren ambientes cerrados y protegidos (que ofrecen una seguridad contra los depredadores), por lo que evitan espacios abiertos donde se sienten vulnerables; es por ello que una reducción en el tiempo pasado o en las entradas a los brazos abiertos se interpreta como un aumento en la conducta tipo ansiosa [Carobrez, A.P. et al., 2005]. Debido a que se generó una condición de SMet, se encuentra presente un estado de neuroinflamación y estrés oxidativo de bajo grado a nivel central [Treviño, S. et al., 2022], comprometiendo la funcionalidad celular.

La inflamación crónica de bajo grado y el estrés oxidativo no se limitan a tejidos periféricos. Pueden inducir disfunción endotelial, contribuyendo a la aparición de las demás condiciones clínicas que caracterizan al SMet [Neeland, I. J. et al., 2024]. A mismo tiempo, puede alterarse la barrera hematoencefálica y producir neuroinflamación, tal como se muestra en la figura 20 [Treviño, S. et al., 2022], generando un mayor riesgo de deterioro cognitivo y enfermedades neurodegenerativas (como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, depresión, trastornos de ansiedad, etc.), mediante mecanismos que incluyen estrés

oxidativo, disfunción mitocondrial, inflamación microglial y RI a nivel central [Sălcudean, A. et al., 2025 y Ezkurdia, A. et al., 2023].



**Figura 20.** Desbalance cerebral causado por la desregulación metabólica periférica. Tomado de Treviño, S. et al., 2022.

En nuestro grupo de trabajo es bien sabido el impacto de la neuroinflamación en las áreas cerebrales encargadas del aprendizaje y la memoria. Sin embargo, se pueden generar cambios en otras áreas, tales como las involucradas en estados de ansiedad, donde destaca la amígdala [Fuentes E. et al., 2023 y Cen, M. et al., 2024]. Aunado a ello, la posible alteración en el sistema de recompensa dada por los patrones de “deseo” ante el consumo de la solución láctea descritos previamente podría asociarse a la ansiedad.

Por otra parte, si bien en la prueba de enterramiento de mármol no se hallaron diferencias significativas y se podría creer que existen resultados contradictorios, la conducta de enterrar objetos no solo se asocia a una ansiedad frente a un estímulo nuevo, sino también puede interpretarse como un comportamiento repetitivo y de compulsividad, que en este caso no es presentada por los animales [Angoa-Perez, M. et al., 2013]. La ausencia de este comportamiento radica nuevamente en las

áreas cerebrales con mayor afectación respecto al consumo de alimentos altamente palatables y a la gravedad de la conducta del atracón. Como se describió anteriormente, en el atracón existen conductas de impulsividad y compulsividad, y la transición de una conducta impulsiva hacia una compulsiva, la cual es un indicador de mayor gravedad en pacientes con BED [Boswell, R. G. et al., 2021].

La prueba de alimentación con supresión de novedad (NSFT) permite detectar patrones de ansiedad (debido al conflicto entre el estrés por novedad y el impulso instintivo de alimentación [Gencturk et al., 2024]) y, sobre todo, anhedonia, que se define como la incapacidad o disminución para experimentar placer en actividades que normalmente resultan gratificantes o placenteras [Gorwood P., 2008]. A pesar de no encontrar diferencias significativas (con excepción del grupo HCD en la latencia a acercarse al alimento con respecto al control), esto no necesariamente significa una alteración en la anhedonia o falta de placer. Debido a que los animales previamente estuvieron expuestos de manera continua a una solución láctea, al ser altamente palatable generó un mayor “deseo” al estímulo [Guillaumin, M.C.C., et al., 2023], y esta información fue memorizada, ya que al presentarse un alimento nuevo con características sensoriales y organolépticas diferentes (olor, textura, presentación, composición), pero con la misma carga calórica, no se asoció el mismo “deseo”, y por lo tanto, el sistema de recompensa no fue activado con la misma intensidad. Cabe resaltar que, estos resultados apoyarían la teoría de sensibilización de incentivos de los atracones, ya que los atracones sensibilizaron al cerebro (por ello presentan un mayor deseo) y generan una mayor actividad o liberación dopaminérgica en las regiones asociadas con la recompensa cuando se anticipa la solución láctea; mientras que la exposición a un alimento novedoso posiblemente no generó la misma sensibilización y liberación del neurotransmisor.

Es por ello que, en la prueba de preferencia a una solución de sacarosa al 1%, que evalúa la anhedonia consumatoria (gusto) y la anhedonia motivacional (deseo) y se utiliza como un indicador de la conducta similar a la depresión [American Psychiatric Association, 2013], no hubo cambios significativos en la preferencia. Debido a que nuestros animales no presentan anhedonia y, que la sacarosa también

correspondería a un alimento novedoso con características organolépticas diferentes a la solución láctea. Además, al analizar la microestructura del lamido, vemos que el comportamiento no se asocia a un “deseo” tal como ocurre con la solución láctea, debido a que los grupos expuestos a la solución presentan un menor número de episodios a diferencia de cuando se da el atracón y para el caso del grupo NCD + cho, el número de episodios es mucho menor al del grupo control en el consumo de sacarosa, por lo que se asociaría a una conducta de “gusto”.

### Efecto del síndrome metabólico y la conducta de atracón sobre la expresión de los sensores energéticos

Los sensores energéticos, AMPK, SIRT1 y FOXO1, permiten regular el metabolismo censando el estado de los nutrientes para mantener la demanda energética celular. Como se describió previamente, AMPK censa directamente los niveles bajos de ATP, promoviendo vías catabólicas para generar energía, como la glucólisis [Liu H. et al., 2025] y la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos [Yuan H. X., 2013]. Para el caso de SIRT1, se promueve la  $\beta$ -oxidación, activa FOXO1 y, junto con AMPK, la biogénesis mitocondrial al fosforilar PGC-1 $\alpha$  [Duan W, 2013]. Finalmente, FOXO1 es un factor de transcripción que puede activarse cuando existen niveles bajos de insulina o presencia de RI; promueve la transcripción de genes asociados a la gluconeogénesis y lipogénesis y, dependiendo del tejido, puede inhibir o promover la  $\beta$ -oxidación [Teaney N.A., 2023 y Cheng Z., 2011]. Asimismo, debido a que estos sensores energéticos se encuentran en las áreas centrales de regulación de la alimentación (homeostático/metabólico y motivacional/emocional), su activación o inhibición modula y responde a cambios en la conducta alimentaria, generando un mayor o menor consumo de alimentos [Maissan P., 2021, D'Angelo, S. et al., 2021 y Muraleedharan, R. et al., 2022].

La actividad de los sensores energéticos se ve aumentada en condiciones de ayuno, ya que la disponibilidad de los nutrientes es baja y se requiere mantener la demanda energética celular. En nuestros experimentos, los modelos animales se encontraban con 4 horas de ayuno al momento del sacrificio; se esperaría que estuvieran activos los sensores debido a la restricción de alimento. Cabe mencionar que este

correspondería a un comportamiento fisiológicamente normal. Ahora bien, la RI periférica fue confirmada en los grupos HCD, NCD + cho y HCD + cho; si esta también se encuentra en las regiones cerebrales analizadas, para el caso específico de FOXO1, sus niveles de expresión deberían ser mucho mayores en comparación con el grupo control y su localización debería predominar a nivel nuclear.

A continuación, se resumen los resultados obtenidos de la cuantificación de los sensores energéticos en la siguiente tabla para una mayor facilidad en su interpretación. Se agruparon las diferencias estadísticamente significativas y no significativas con respecto al grupo control.

Grupo	Núcleo accumbens (NAc)	Amígdala (AMY)	Hipotálamo (HT)
<b>HCD</b>	SIRT1: ↓ AMPK: ↑ FOXO1 (citoplasmático): ↓ FOXO1 (nuclear): ↑	SIRT1: ↑ AMPK: ↑ FOXO1 (citoplasmático): ↑ FOXO1 (nuclear): ↑	SIRT1: ↓ AMPK: ↑ FOXO1 (citoplasmático): sc FOXO1 (nuclear): ↑
<b>NCD + cho</b>	SIRT1: ↑ AMPK: ↑ FOXO1 (citoplasmático): ↓ FOXO1 (nuclear): ↓	SIRT1: ↑ AMPK: ↑ FOXO1 (citoplasmático): ↑ FOXO1 (nuclear): ↑	SIRT1: ↑ AMPK: ↑ FOXO1 (citoplasmático): ↑ FOXO1 (nuclear): ↑
<b>HCD + cho</b>	SIRT1: ↑ AMPK: ↓ FOXO1 (citoplasmático): ↑ FOXO1 (nuclear): ↓	SIRT1: ↑ AMPK: ↑ FOXO1 (citoplasmático): ↑ FOXO1 (nuclear): ↑	SIRT1: ↑ AMPK: ↑ FOXO1 (citoplasmático): ↑ FOXO1 (nuclear): ↑

**Tabla 6.** Expresión de los sensores energéticos en el sistema mesolímbico. Las flechas rojas indican diferencias estadísticamente significativas, mientras que las flechas negras representan tendencias observadas en los gráficos.

En este sentido, iniciando con el hipotálamo, para el caso del grupo expuesto a la dieta hipercalórica (HCD) únicamente existió un aumento significativo de AMPK con ligeras tendencias a cambios en los demás sensores, lo que nos habla de una desregulación de AMPK; la tendencia a la baja de SIRT1 podría deberse a niveles más bajos de NAD<sup>+</sup> o un evento inicial de disfunción mitocondrial. El grupo normocalórico expuesto a la solución láctea (NCD + cho) también tuvo un aumento significativo de AMPK y de FOXO1 a nivel nuclear, lo que nos indicaría que existe RI en el hipotálamo y este grupo presentaría la mayor desregulación. Mientras que para el caso de SIRT1 y FOXO1 citoplasmáticos se observan tendencias al alza. Para el grupo expuesto a las dos variables (HCD + cho), solo existió un aumento en la fracción citoplasmática de FOXO1 y tendencias al alza en los demás sensores, por lo que el sobreconsumo de calorías podría compensar la desregulación de los sensores, causando la mayor expresión de FOXO1 en el citoplasma. Este comportamiento podría asociarse a una adaptación del sistema ante la exposición crónica a diferentes alimentos altamente palatables.

La activación de AMPK llevaría consigo el aumento de procesos catabólicos y autofagia mitocondrial, así como una estimulación del apetito (por incremento de AgRP/NPY y disminución de POMC [Min, S.H. et al., 2024 y Claret, M. et al., 2007]). Asimismo, la mayor expresión de FOXO1 nuclear promovería la transcripción de genes asociados a la gluconeogénesis y genes orexigénicos.

La disrupción de los sensores energéticos es multifactorial; en el hipotálamo, cobran gran importancia las hormonas periféricas y las hormonas del eje adrenal. La leptina puede aumentar la expresión de los genes POMC y regular la excitación de las neuronas POMC, cuyo producto ( $\alpha$ -estimulante de los melanocitos o  $\alpha$ -MSH) se libera en la sinapsis para activar las neuronas mediante la unión al receptor de la melanocortina (MCR); además inhibe la síntesis de NPY/AgRP en las neuronas, inhibe la actividad de FOXO1 a través de la vía PI3K en el hipotálamo y promueve la unión de STAT3 al promotor POMC, teniendo un efecto final la reducción en la ingesta de alimentos y la generación de señales de saciedad.

La insulina y la adiponectina también cuentan con receptores en las neuronas POMC, por lo que modulan la excitabilidad y expresión proteica de estas células y participan en las señales de saciedad. Las hormonas endocrinas de origen intestinal, GLP-1 y GLP-2, regulan el apetito y el metabolismo de la glucosa, ya que poseen receptores en las neuronas POMC y NPY [Yang, D. et al., 2022]. A su vez, las neuronas POMC reciben señales neuronales centrales, como la  $\alpha$ -MSH, la  $\beta$ -endorfina y la hormona adrenocorticotrópica (ACTH). La activación del eje adrenal inhibe el apetito; sin embargo, se ha observado que en condiciones crónicas, los glucocorticoides actúan en el hipotálamo y la amígdala para estimular el apetito, aumentan la señalización de AMPK en el núcleo arqueado para regular positivamente la expresión de NPY y AGRP y estimular las acciones de estos péptidos orexigénicos [Sominisky, L. et al., 2014, Scerif, M. et al., 2013 y Rosenberg, N. et al., 2013].

Por lo tanto, en situaciones de hiperinsulinemia, RI, resistencia a la leptina y disrupciones en las hormonas previamente mencionadas impedirían la correcta supresión de la alimentación y el aumento del gasto energético [Liu, J. et al., 2022 y Obradovic, M. et al., 2021]. Respecto a nuestros modelos animales, a nivel periférico solo encontramos RI y una activación del eje adrenal; esto explicaría por qué solo el sensor AMPK presenta una desregulación (a excepción del caso de NCD + cho, que tiene dos sensores desregulados). Es probable que, en un tiempo mayor de exposición a la dieta hipercalórica y a la solución láctea, se genere una disfunción adipositaria franca, generando una disrupción total de los sensores energéticos.

Con respecto al NAc y la amígdala, que corresponden al cerebro hedónico/emocional, debemos recordar que no se encuentran aislados del sistema homeostático. Como lo muestra la Fig. 19, las proyecciones del núcleo arqueado llegan hacia el PVN y LH, núcleos del hipotálamo que tienen proyecciones directas al VTA y a su vez conexiones con la amígdala; aunque no se muestra en el esquema, diversos estudios mencionan proyecciones directas del núcleo arqueado hacia el NAc [Eliason, N.L. et al., 2023 y Song, J. et al., 2023] y amígdala [Song, J. et al., 2023]. Por lo que la desregulación mostrada en el hipotálamo de AMPK y

FOXO1 puede generar señales que se proyecten a estas dos áreas cerebrales, afectando sus acciones y la expresión de sus propios sensores energéticos.

Como se muestra en los resultados (Fig. 13 y tabla 6), en el NAc el grupo sometido a dieta hipercalórica mostró una desregulación de AMPK al tener un aumento significativo; los demás sensores solo muestran ligeras tendencias a una menor actividad de SIRT1 y una mayor actividad de FOXO1 que estaría asociada a la RI en esta área cerebral. En cuanto al grupo NCD + cho, también se observa la misma desregulación de AMPK, mientras que se observa una tendencia al alza de SIRT1 y una tendencia a una menor actividad de FOXO1. La desregulación de AMPK para ambos grupos se interpreta como una deficiencia energética que las células están reconociendo y puede deberse no solo a las proyecciones del hipotálamo [Xu, Y., et al., 2024], sino también a las de la amígdala.

La amígdala basolateral (BLA) es crucial para las conductas de recompensa a través de una proyección al NAc. Las proyecciones glutamatérgicas están involucradas en el aprendizaje por refuerzo, la búsqueda de recompensa, la respuesta instrumental sostenida y las conductas de riesgo al facilitar la activación de NAc en respuesta a señales predictivas de recompensa. Diversos estudios mencionan que los subconjuntos de neuronas en BLA se activan selectivamente en respuesta a estímulos gratificantes y condicionados predecibles, como una solución de sacarosa gratificante [Dieterich, A. et al., 2021]. Por lo tanto, al estar alterados los sensores energéticos en la amígdala, estas señales de motivación y consumo de la solución láctea y la dieta hipercalórica pueden proyectarse hacia el NAc.

A su vez, puede generarse una activación del sistema de recompensa con la participación de diversos neurotransmisores y sistemas. Primeramente, se verían involucradas la hiperactividad de DA liberada por VTA y la menor expresión de D2R [Alagha M. et al., 2025 y Donnelly B. et al., 2024]. En segundo lugar, el sistema endocannabinoide cobra importancia para modular las conductas de alimentación hedónica; a nivel molecular, CB1 puede modular directamente la señalización de la DA en la vía VTA-NAc, la activación del receptor aumenta la liberación de dopamina en NAc, amplificando la sensibilidad a la recompensa. Además, la activación del

receptor CB1 en las entradas GABAérgicas puede reducir la liberación de GABA en las neuronas dopaminérgicas; esta desinhibición aumenta la activación dopaminérgica, lo que lleva a una mayor liberación [Zhang, M. et al., 2025].

De esta manera, planteamos la hipótesis de que la activación de CB1 y la liberación de neurotransmisores traen consigo la activación del sensor AMPK, posiblemente por la vía LKB1 [Ku-Lung, H. et al., 2024]; a pesar de que actualmente no existen estudios que demuestren la hipótesis en el NAc, en otras áreas cerebrales y a nivel periférico se ha encontrado que por ejemplo, la activación del sistema endocannabinoide contribuye a la activación de AMPK [King-Himmelreich, T. S. et al., 2017]. Conductualmente, la desregulación de AMPK se traduciría en un aumento del valor de recompensa de los alimentos palatables, fomentando conductas de alimentación hedónicas.

Finalmente, para el grupo expuesto a ambas variables (HCD + cho), no se muestran cambios significativos, únicamente tendencias a una mayor activación por parte de SIRT1 y una menor actividad de AMPK y FOXO1, lo cual es sugerente de una adaptación compensatoria del NAc. Las tendencias a una mayor activación de SIRT1 en el grupo NCD + cho y HCD + cho potencian los efectos gratificantes de la solución láctea [Ferguson, D. et al., 2013].

En cuanto a la amígdala (Fig. 14 y tabla 6), así como en las demás áreas estudiadas, el grupo HCD mostró una activación significativa de AMPK, con tendencias a una mayor activación de SIRT1 y FOXO1. Para el grupo NCD + cho se observa una desregulación significativa de SIRT1 y FOXO1, teniendo una mayor actividad, así como una tendencia al alza de AMPK, por lo que nuevamente este grupo posee la mayor desregulación de los sensores energéticos (es por ello que en la prueba de laberinto en cruz elevado este grupo presenta ansiedad). Finalmente, el grupo expuesto a la solución láctea y la dieta hipercalórica (HCD + cho) mostraron una mayor expresión significativa de AMPK y tendencias al alza de SIRT1 y FOXO1.

En todos los grupos, la amígdala observa un aumento en la expresión de los sensores energéticos, lo que nos habla de que esta área cerebral es más susceptible a la desregulación energética, se plantea que el efecto del consumo de

alimentos con alto contenido de carbohidratos simples ejerce un impacto en la emocionalidad (como la conducta similar a la ansiedad) y memoria asociativa de los animales, generando una mayor motivación hacia ir por el alimento y reforzando recuerdos hedónicos. Los mecanismos celulares implicados en la desregulación energética pueden estar asociados a neurotransmisores que aumenten la reactividad emocional ante estímulos alimentarios, como las proyecciones del hipotálamo (Arc), el VTA (dopaminérgicas) y el NAc (GABAérgicas). Además, cabe mencionar que el sistema endocannabinoide, mediante su receptor CB1, se encuentra expresado en la amígdala [Navarrete, F. et al., 2020].

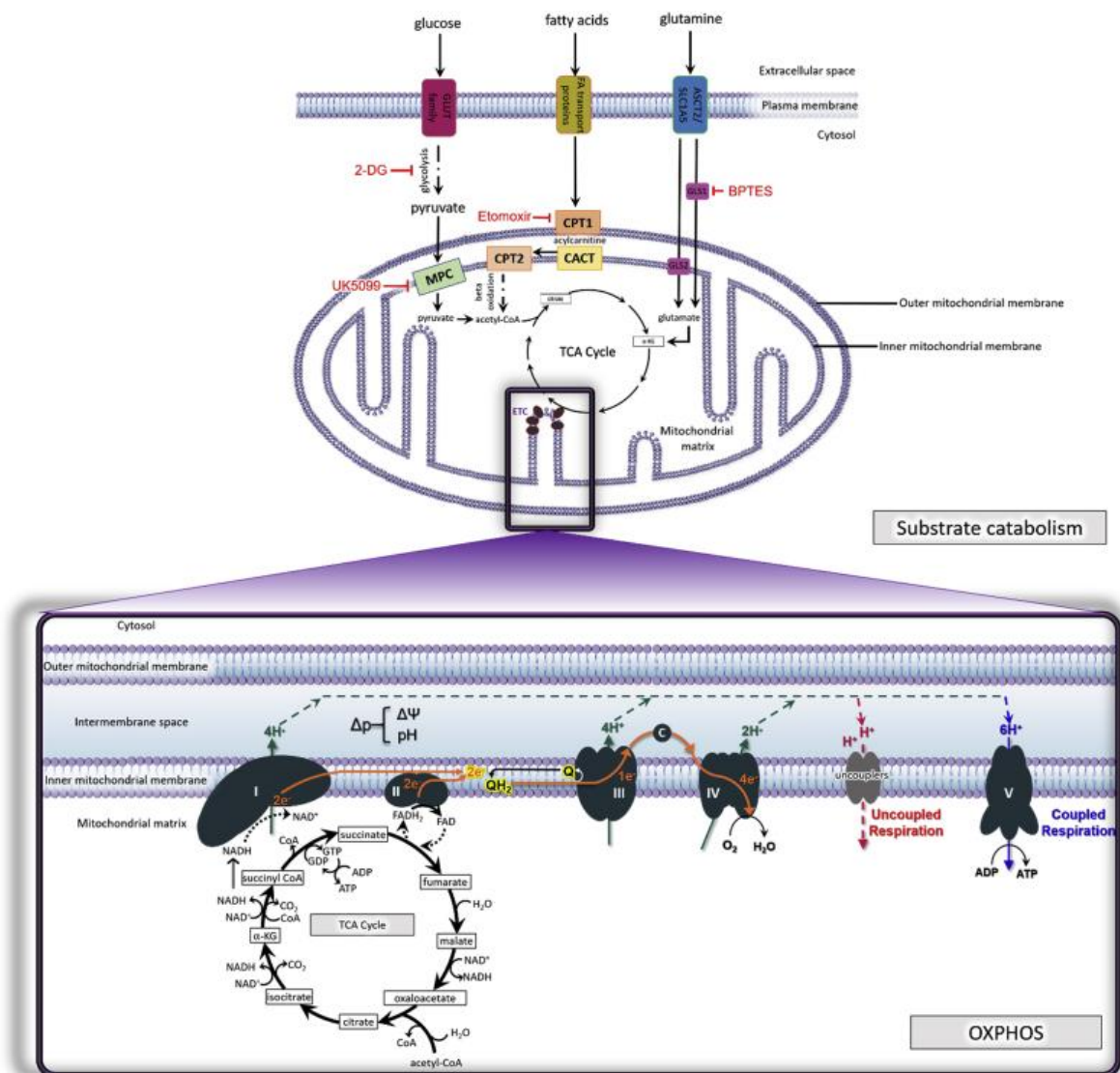
### Efecto del síndrome metabólico y la conducta de atracción sobre la bioenergética mitocondrial

Las mitocondrias son la fuente de producción de energía en forma de ATP a través de la fosforilación oxidativa y la cadena de transporte de electrones (CTE) [Yusri, K. et al., 2025]. Mediante la cuantificación de la síntesis de ATP evaluamos la capacidad y funcionalidad mitocondrial para producir energía, así como la desviación de rutas metabólicas y los sensores energéticos implicados por cambios en la síntesis. Se empleó una serie de sustratos y combinaciones para evaluar la activación de rutas metabólicas y los distintos puntos de entrada de electrones en la CTE, (tal como se observa en la Fig. 21):

- Piruvato + malato (Pir + Mal): El piruvato es un metabolito producido por la glucólisis; al entrar en la mitocondria, se convierte en acetil-CoA (a través de la piruvato deshidrogenasa (PDH)) y participa en el ciclo de Krebs o ciclo del ácido tricarboxílico (TCA). En cambio, el malato es transformado en oxalacetato (por malato deshidrogenasa), que también se incorpora al TCA y promueve la generación de NADH, que posteriormente libera electrones al Complejo I (CI) de la CTE. Por lo tanto, el uso de esta combinación de sustratos permite evaluar el flujo por el CI y la oxidación derivada de carbohidratos.
- Glutamato + malato (Glu + Mal): Glutamato puede convertirse en  $\alpha$ -cetoglutarato por transaminación o por acción de la glutamato

deshidrogenasa, incorporándose al ciclo TCA y generando, a su vez, NADH. Esta combinación también permite evaluar el flujo por el CI, pero también evaluar rutas que reflejan el metabolismo de aminoácidos.

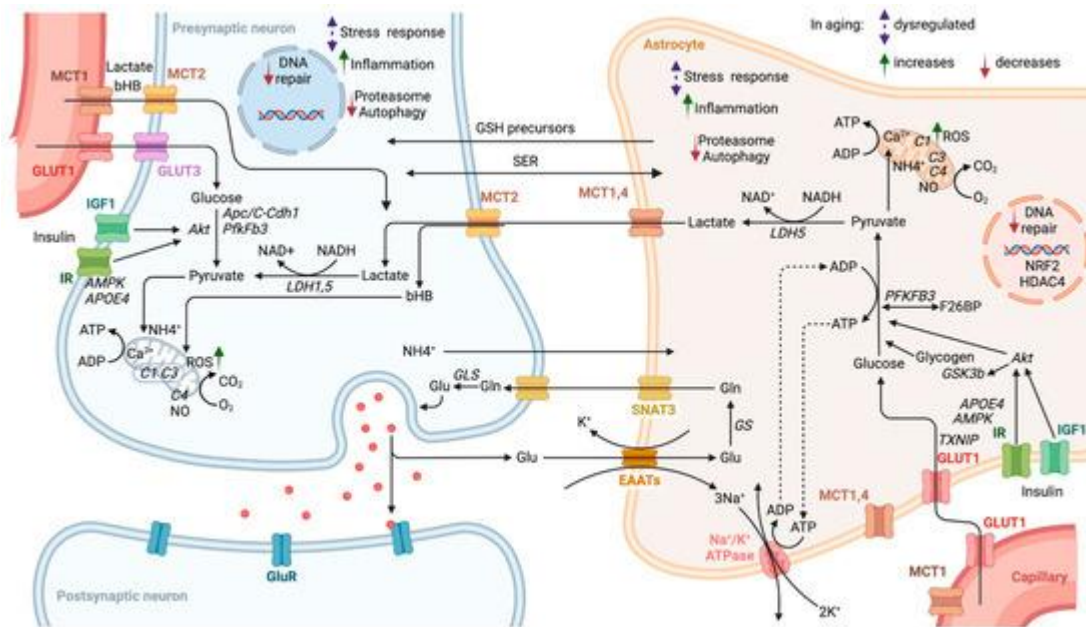
- Succinato (Succ): El succinato es oxidado a fumarato por la succinato deshidrogenasa (SDH) en el TCA; esto trae consigo la reducción de FAD a FADH<sub>2</sub> y la entrega de electrones a ubiquinona sin pasar por el CI. El uso de este sustrato permite evaluar la capacidad de la SDH o del Complejo II (CII), que forma parte tanto del ciclo TCA como de CTE [Gnaiger, E. 2024 y Rutter, J. et al., 2010].



**Figura 21.** Cadena transportadora de electrones (CTE) presente en la fosforilación oxidativa (OxPhos). Tomado de Nolfi-Donagan, D. et al., 2020.

La capacidad de la célula y sus mitocondrias para elegir el mejor sustrato energético (carbohidratos, lípidos, aminoácidos) en dependencia de las necesidades de ATP, las condiciones fisiológicas y la disponibilidad de sustratos se conoce como flexibilidad metabólica y es determinante en la funcionalidad de la célula para el correcto acople del metabolismo de los nutrientes [Moroni, D. 2023, tesis de doctorado].

Sin embargo, esta capacidad se ve limitada en función del tejido, ya que no todos los tejidos utilizan los sustratos en igual medida. Para el caso del cerebro, se debe recordar que su metabolismo es multicelular y cooperativo; no solo cobran importancia las neuronas, sino que los astrocitos, oligodendrocitos y otras células gliales desempeñan un papel activo proporcionando lactato, soporte antioxidante y transporte de sustratos que impulsan la función neuronal y la memoria [Bolaños, J.P. et al., 2025].



**Figura 22.** Vías metabólicas clave de las principales fuentes de energía cerebral, su regulación y cooperación metabólica entre la neurona y el astrocito. Tomado de Shichkova, P. et al., 2024.

Existen diferencias importantes en las características metabólicas entre astrocitos y neuronas (que se resumen en la tabla 7) que probablemente influyan en la gestión

conjunta de la energía. Las neuronas representan la mayor parte del gasto de ATP en el cerebro y esta energía proviene principalmente del catabolismo de la glucosa y la fosforilación oxidativa [Shichkova, P. et al., 2024]; en cambio, los astrocitos metabolizan predominantemente la glucosa a través de la glucólisis [Watts, M.E. et al., 2018]. Otros sustratos usados por las diferentes células son el lactato o los cuerpos cetónicos (que pueden oxidarse como fuente de energía en el cerebro); ambos pueden ser suministrados por la circulación sanguínea o ser sintetizados por los astrocitos y liberados o metabolizados. Como se mencionó anteriormente, el glutamato es un aminoácido que puede oxidarse a  $\alpha$ -cetoglutarato y puede generar hasta 20 moléculas de ATP; sus niveles en el cerebro son cinco veces más altos que los de glucosa, por lo que también puede ser un sustrato importante para la obtención energética [Rae, C.D. et al., 2024]. En los astrocitos se da la oxidación de ácidos grasos, en comparación con las neuronas, cuya ruta es desfavorecida y generaría una menor tasa de producción de ATP; los lípidos proporcionan una de las principales fuentes de energía para los astrocitos.

Característica	Neurona	Astrocito
Transportadores de glucosa	GLUT3, GLUT4 (terminales presinápticas)	GLUT1
Almacenamiento y metabolismo del glucógeno	No presente o baja, expresión dependiente de edad	Presente
Vía bioenergética predominante	OxPhos	Glucólisis
Hexoquinasa	Mayor expresión	Menor expresión
TCA	Más activo	Menos activo
Piruvato deshidrogenasa	Más activo	Menos activo
Complejo I de CTE	En su mayoría se ensamblan en supercomplejos (menor generación de especies reactivas de oxígeno (ROS))	Alta proporción de complejo I libre (mayor generación de ROS)

MAS (lanzadera malato-aspartato)	Particularmente importante	Actividad extremadamente baja
Oxidación de ácidos grasos (FAO)	Casi no presente	Presentes (alrededor del 20% de las necesidades astrocíticas), enzimas FAO enriquecidas

**Tabla 7.** Diferencias clave en el metabolismo entre neuronas y astrocitos. La columna de características incluye las vías, enzimas y transportadores en los que se han demostrado diferencias entre neuronas y astrocitos. Tomado y modificado de Shichkova, P. et al., 2024.

En nuestros resultados puede observarse que, para el caso de la amígdala y el hipotálamo, independientemente del sustrato y del grupo a estudiar, la síntesis de ATP es menor para los tres grupos HCD, NCD+ cho y HCD + cho con respecto al grupo control, siendo los grupos expuestos a la solución láctea los que presentan una disminución aún mayor. Cabe mencionar que, los niveles bajos de ATP concuerdan con los niveles aumentados de AMPK observados en ambos tejidos, en condiciones fisiológicamente normales, AMPK activaría la producción de energía y la biogénesis mitocondrial por parte de PGC-1 $\alpha$ , sin embargo, al observar que no existe una mayor síntesis de ATP, se plantea la hipótesis de que existe un compromiso en la función mitocondrial, ya que se tiene un balance energético positivo y la biodisponibilidad de la glucosa es adecuada. En el caso de SIRT1, recordemos que es una proteína que se activa cuando existen niveles elevados de NAD<sup>+</sup>. Al tener una baja en la síntesis de ATP empleando Pir + Mal y Glu + Mal, se infiere que la relación NAD<sup>+</sup>/NADH es mayor y activaría a este sensor, lo que coincide con los aumentos y tendencias obtenidos en nuestros resultados (a excepción del grupo HCD en el hipotálamo).

Hablando específicamente de cada grupo y la preferencia por sustratos, en la amígdala se observa que el grupo HCD muestra mayor actividad al usar Pir + Mal y Glu + Mal que Succinato, lo que nos hablaría de una mayor actividad del complejo I y del uso de sustratos como glucosa y aminoácidos. Para NCD + cho, los resultados son similares para cada sustrato y para HCD + cho se sigue el mismo comportamiento de una mayor actividad del CI y la preferencia por glucosa y aminoácidos. Acerca del hipotálamo, el grupo HCD y HCD cho poseen una mayor

síntesis a través de Pir + Mal, lo que nos habla de una preferencia por la oxidación de carbohidratos y mayor actividad de CI. En cambio, para NCD + cho, no hay preferencia en cuanto a sustratos.

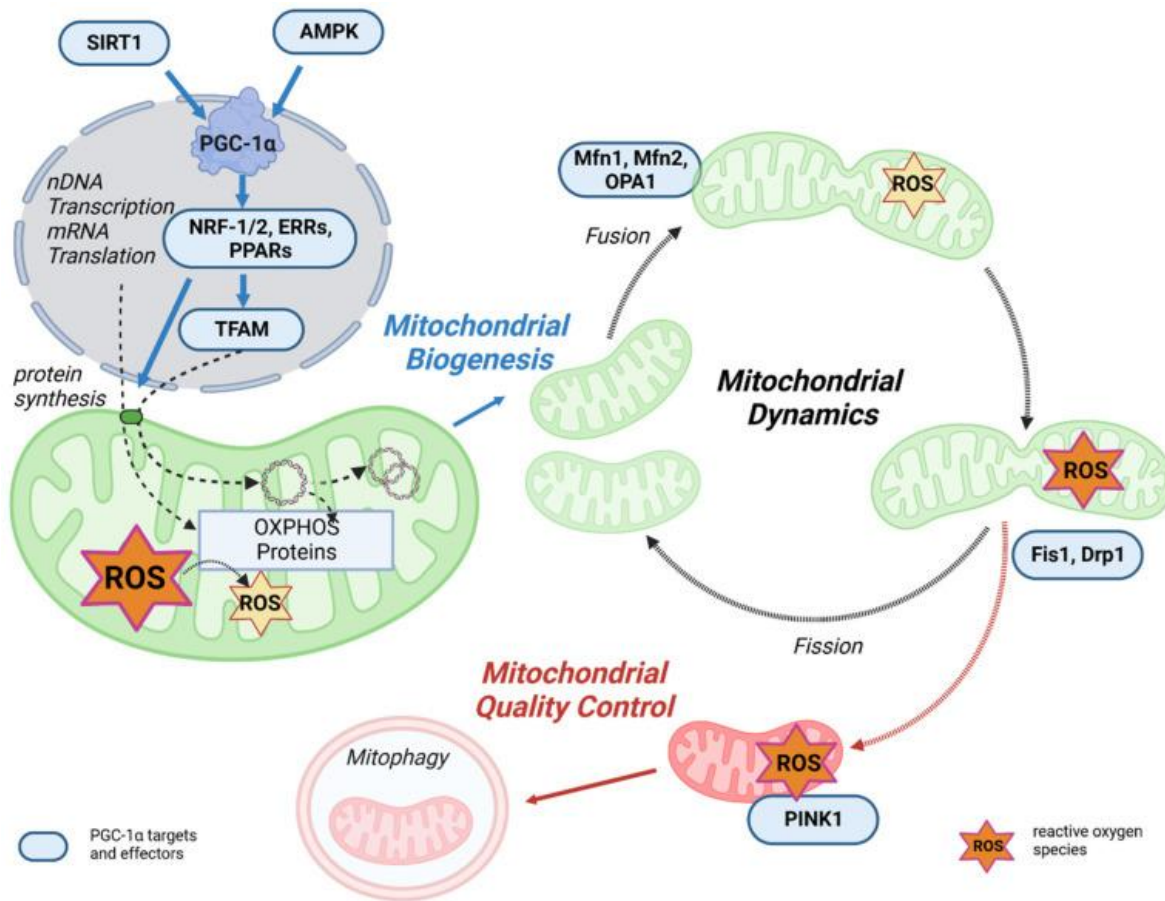
Respecto al núcleo accumbens, se observa nuevamente una menor síntesis de ATP en los grupos NCD + cho y HCD + cho con respecto al control, independientemente de qué sustrato se ocupe, lo que también nos sugiere un compromiso mitocondrial. Al observar la Fig. 16, se tiene que, dentro de esa menor síntesis de ATP, NCD + cho preferiría los sustratos Pir + Mal y Glu + Mal, lo que se traduce en una mayor actividad del complejo I y el uso de sustratos como glucosa y aminoácidos. En cambio, el grupo HCD + cho preferiría Pir + Mal y Succinato para producir ATP, hablando de un metabolismo favorecido hacia aminoácidos y una actividad en ambos complejos mitocondriales. Respecto a los sensores, coincide su activación debido a la falta de producción de energía (con excepción de AMPK para HCD + cho, ya que se observa una tendencia a la baja).

En cambio, el grupo HCD genera una mayor síntesis de ATP al emplear Glu + Mal, lo que nos habla de una activación del Complejo I y un metabolismo asociado a aminoácidos. A su vez, se observa una tendencia al alza al emplear el succinato, lo que nos hablaría de una activación mayor del CII. Relacionándolo con los sensores energéticos, se tiene una mayor expresión de AMPK y una tendencia a la baja de SIRT1, probablemente por su menor capacidad de producir energía a partir de carbohidratos y por la disminución del cociente  $NAD^+/NADH$ .

Diversos estudios han vinculado que existe una función mitocondrial reducida en la patogénesis de la diabetes y sus complicaciones [Jenkins, Y. et al., 2013 y Bikman, B. T. et al., 2022]. El compromiso en la función mitocondrial implica diversos mecanismos y se necesitan mayores estudios y evaluaciones para confirmar la presencia de alguno de ellos. Dentro de las múltiples causas, puede existir una menor expresión o función de complejos respiratorios [Sivitz, W. I. et al., 2010; Haythorne, E. et al., 2019 y Vazquez, E. J. et al., 2015], una disminución en la eficiencia de la enzima ATP sintasa o alteración en el acoplamiento de OxPhos [Ni, R. et al., 2016 y Sivitz, W. I. et al., 2010], una disminución en la capacidad de generar

o regenerar cofactores (NAD<sup>+</sup>/FAD) [Wu, J. et al., 2016 y Elhassan, Y. S. et al., 2017], un mayor estrés oxidativo [Victor, V. M. et al., 2011 y Zhang, Z. et al., 2023], inflamación local [Hamzeh, O. et al., 2023 y Prasun P., 2020], enzimopatías (como menor actividad de PDH, SDH, etc.) [Lee, S. et al., 2022; Vadvalkar, S. et al., 2017 y Tabatabaei-Dakhili, S. A. et al., 2023] o una reducción de la biogénesis mitocondrial mediada por PGC-1 $\alpha$  (que a su vez puede ser afectada por el estrés oxidativo y la inflamación) [Singh, S. P. et al., 2016 y Wu, H. et al., 2016].

PGC-1 $\alpha$  es un regulador maestro de la biogénesis mitocondrial y dirige diversos factores de transcripción, como los receptores relacionados con el estrógeno (ERR), los factores respiratorios nucleares (NRF) 1 y 2 o PPAR para inducir la expresión génica mitocondrial. Su desacetilación por SIRT1 y su fosforilación por AMPK (en los residuos Thr177 y Ser538 [Abu Shelbayeh, O. et al., 2023]) son eventos claves para su activación [Cantó, C. et al., 2012]. PGC-1 $\alpha$  también está involucrado en la dinámica mitocondrial (eventos de fisión y fusión) y la mitofagia, como se observa en la figura 23 [Abu Shelbayeh, O. et al., 2023].



**Figura 23.** Vínculo entre el ciclo de vida mitocondrial y PGC-1 $\alpha$ . La biogénesis mitocondrial se inicia por un desequilibrio energético detectado por dos vías: AMPK y SIRT1. El aumento de PGC-1 $\alpha$  activa la expresión de NRF-1/2, que induce la expresión de TFAM. Un aumento en las proteínas OXPHOS reduce la generación de ROS en las mitocondrias. La dinámica de fusión y fisión mitocondrial también se ve afectada por ROS. Las mitocondrias disfuncionales pueden eliminarse mediante un proceso conocido como mitofagia. Tomado de Abu Shelbyh, O. et al., 2023.

Las mitocondrias son orgánulos altamente móviles que experimentan constantemente eventos de fusión y división para generar una red dinámica interconectada. Se ha hipotetizado que las mitocondrias alargadas sostienen la producción de ATP durante el estrés, protegen a las mitocondrias de la mitofagia y distribuyen biomateriales durante la carencia de nutrientes. Por el contrario, en respuesta a otras agresiones celulares (incluida la despolarización mitocondrial, la inhibición de la síntesis de ATP y los inhibidores de la cadena respiratoria mitocondrial), las mitocondrias experimentan fragmentación al aumentar las tasas de fisión y/o disminuir las tasas de fusión, lo que se cree que facilita la mitofagia de los fragmentos mitocondriales que carecen del potencial de membrana adecuado, así como para permitir una apoptosis eficiente y oportuna [Herzig, S. et al., 2018].

Otro mecanismo relacionado con la menor síntesis de ATP consiste en la degeneración vascular de vasos sanguíneos y de la barrera hematoencefálica. Diversos estudios asociados al envejecimiento hablan de que la degeneración vascular reduce el suministro de glucosa e induce hipometabolismo de la glucosa, lo que resulta en la activación de AMPK, como se observa en nuestros resultados. A largo plazo, esto lleva a una posterior desregulación del ciclo celular que promueve la neurodegeneración en el envejecimiento [Shichkova, P. et al., 2024].

## Conclusiones

El SMet y la conducta de tipo atracón alteran la expresión de sensores energéticos en el sistema mesolímbico, promoviendo una mayor señalización orexigénica y hedónica.

En ambos modelos se reduce la síntesis de ATP, agravada en la conducta tipo atracón, generando una baja disponibilidad energética que amplifica la búsqueda de alimento palatable como mecanismo compensatorio.

En ambos modelos existen adecuaciones de las rutas metabólicas de obtención energética diferentes en cada región cerebral mesolímbica.

El modelo animal de tipo atracón genera una conducta similar a la ansiedad.

## Referencias bibliográficas

- Abu Shelbayeh, O., Arroum, T., Morris, S., & Busch, K. B. (2023). PGC-1 $\alpha$  Is a Master Regulator of Mitochondrial Lifecycle and ROS Stress Response. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(5), 1075. <https://doi.org/10.3390/antiox12051075>
- AbuHasan Q, Reddy V, Siddiqui W. Neuroanatomy, Amygdala. [Updated 2023 Jul 17]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537102/>
- Ahima, R. S., & Lazar, M. A. (2013). Physiology. The health risk of obesity--better metrics imperative. *Science (New York, N.Y.)*, 341(6148), 856–858. <https://doi.org/10.1126/science.1241244>

- Alagha, M., Al-Alam, F., Saroufine, K., Elias, L., Klaimi, M., Nabbout, G., Harb, F., Azar, S., Nahas, N., & Ghadieh, H. E. (2025). Binge Eating Disorder and Metabolic Syndrome: Shared Mechanisms and Clinical Implications. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, 13(5), 482. <https://doi.org/10.3390/healthcare13050482>
- Ambroggi, F., Ghazizadeh, A., Nicola, S. M., & Fields, H. L. (2011). Roles of nucleus accumbens core and shell in incentive-cue responding and behavioral inhibition. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(18), 6820–6830. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6491-10.2011>
- American Psychiatric Association. (2013). *Manual Diagnóstico y Estadístico de los trastornos mentales DSM-5*. Quinta edición. Estados Unidos: Editorial Médica Panoamericana
- Anand, S., Pasupneti, T., Pak, Y., Kalangi, S. T., & Garg, R. (2025). Differences in fat distribution between metabolically unhealthy people with normal weight versus obesity, NHANES 2011-2018. *BMJ open diabetes research & care*, 13(3), e005118. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2025-005118>
- Andersson, U., Filipsson, K., Abbott, C. R., Woods, A., Smith, K., Bloom, S. R., Carling, D., & Small, C. J. (2004). AMP-activated protein kinase plays a role in the control of food intake. *The Journal of biological chemistry*, 279(13), 12005–12008. <https://doi.org/10.1074/jbc.C300557200>
- Avena, N. (2021). *Animal Models of Eating Disorders*. Neuromethods 161. Springer Protocols
- Avena, N. M., & Bocarsly, M. E. (2012). Dysregulation of brain reward systems in eating disorders: neurochemical information from animal models of binge eating, bulimia nervosa, and anorexia nervosa. *Neuropharmacology*, 63(1), 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.11.010>
- Barquera, S., & Rivera, J. A. (2020). Obesity in Mexico: rapid epidemiological transition and food industry interference in health policies. *The lancet*.

*Diabetes & endocrinology*, 8(9), 746–747. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30269-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30269-2)

- Bear MH, Reddy V, Bollu PC. Neuroanatomía del hipotálamo. [Actualizado el 10 de octubre de 2022]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; enero de 2025. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525993/>
- Belovicova, K., Bogi, E., Csatlosova, K., & Dubovicky, M. (2017). Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdisciplinary toxicology*, 10(1), 40–43. <https://doi.org/10.1515/intox-2017-0006>
- Bikman, B. T., Shimy, K. J., Apovian, C. M., Yu, S., Saito, E. R., Walton, C. M., Ebbeling, C. B., & Ludwig, D. S. (2022). A high-carbohydrate diet lowers the rate of adipose tissue mitochondrial respiration. *European journal of clinical nutrition*, 76(9), 1339–1342. <https://doi.org/10.1038/s41430-022-01097-3>
- Bolaños, J. P., Alberini, C. M., Almeida, A., Barros, L. F., Bonvento, G., Bouzier-Sore, A. K., Dringen, R., Hardingham, G. E., Hirrlinger, J., Magistretti, P. J., Marsicano, G., Nave, K. A., Paolicelli, R. C., Pellerin, L., Plaçais, P. Y., Preat, T., Rouach, N., Ruminot, I., Saab, A. S., Sandi, C., ... Zimmer, E. R. (2025). Embracing the Modern Biochemistry of Brain Metabolism. *Journal of neurochemistry*, 169(7), e70166. <https://doi.org/10.1111/jnc.70166>
- Boswell, R. G., Potenza, M. N., & Grilo, C. M. (2021). The Neurobiology of Binge-eating Disorder Compared with Obesity: Implications for Differential Therapeutics. *Clinical therapeutics*, 43(1), 50–69. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.10.014>
- Bourdy, R., & Befort, K. (2023). The Role of the Endocannabinoid System in Binge Eating Disorder. *International journal of molecular sciences*, 24(11), 9574. <https://doi.org/10.3390/ijms24119574>
- Bray, B., Bray, C., Bradley, R., & Zwickey, H. (2022). Mental health aspects of binge eating disorder: A cross-sectional mixed-methods study of binge eating disorder experts' perspectives. *Frontiers in psychiatry*, 13, 953203. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2022.953203>

- Bulik, C. M., Sullivan, P. F., & Kendler, K. S. (2002). Medical and psychiatric morbidity in obese women with and without binge eating. *The International journal of eating disorders*, 32(1), 72–78. <https://doi.org/10.1002/eat.10072>
- Cacho, J., Sevillano, J., de Castro, J., Herrera, E., & Ramos, M. P. (2008). Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in Wistar and Sprague-Dawley rats. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 295(5), E1269–E1276. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90207.2008>
- Cantó, C., & Auwerx, J. (2009). PGC-1alpha, SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Current opinion in lipidology*, 20(2), 98–105. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328328d0a4>
- Cantó, C., & Auwerx, J. (2012). Targeting sirtuin 1 to improve metabolism: all you need is NAD(+)? *Pharmacological reviews*, 64(1), 166–187. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003905>
- Cardinal, P., Bellocchio, L., Clark, S., Cannich, A., Klugmann, M., Lutz, B., Marsicano, G., & Cota, D. (2012). Hypothalamic CB1 cannabinoid receptors regulate energy balance in mice. *Endocrinology*, 153(9), 4136–4143. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1405>
- Carobrez, A. P., & Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 29(8), 1193–1205. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.04.017>
- Chae, Y., & Lee, I. S. (2023). Central Regulation of Eating Behaviors in Humans: Evidence from Functional Neuroimaging Studies. *Nutrients*, 15(13), 3010. <https://doi.org/10.3390/nu15133010>
- Chandramowliswaran, P., Vijay, A., Abraham, D., Li, G., Mwangi, S. M., & Srinivasan, S. (2020). Role of Sirtuins in Modulating Neurodegeneration of the Enteric Nervous System and Central Nervous System. *Frontiers in neuroscience*, 14, 614331. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.614331>

- Chang, H. C., & Guarente, L. (2014). SIRT1 and other sirtuins in metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 25(3), 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.12.001>
- Cheng, Z., & White, M. F. (2011). Targeting Forkhead box O1 from the concept to metabolic diseases: lessons from mouse models. *Antioxidants & redox signaling*, 14(4), 649–661. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3370>
- Claret, M., Smith, M. A., Batterham, R. L., Selman, C., Choudhury, A. I., Fryer, L. G., Clements, M., Al-Qassab, H., Heffron, H., Xu, A. W., Speakman, J. R., Barsh, G. S., Viollet, B., Vaulont, S., Ashford, M. L., Carling, D., & Withers, D. J. (2007). AMPK is essential for energy homeostasis regulation and glucose sensing by POMC and AgRP neurons. *The Journal of clinical investigation*, 117(8), 2325–2336. <https://doi.org/10.1172/JCI31516>
- Conti, C., Di Francesco, G., Severo, M., Lanzara, R., Richards, K., Guagnano, M. T., & Porcelli, P. (2021). Alexithymia and metabolic syndrome: the mediating role of binge eating. *Eating and weight disorders: EWD*, 26(6), 1813–1823. <https://doi.org/10.1007/s40519-020-00964-x>
- Cryan, J. F., & Holmes, A. (2005). The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature reviews. Drug discovery*, 4(9), 775–790. <https://doi.org/10.1038/nrd1825>
- Dalley, J. W., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2011). Impulsivity, compulsivity, and top-down cognitive control. *Neuron*, 69(4), 680–694. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.01.020>
- D'Angelo, S., Mele, E., Di Filippo, F., Viggiano, A., & Meccariello, R. (2021). Sirt1 Activity in the Brain: Simultaneous Effects on Energy Homeostasis and Reproduction. *International journal of environmental research and public health*, 18(3), 1243. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031243>
- de Oliveira Alvares, L., de Oliveira, L. F., Camboim, C., Diehl, F., Genro, B. P., Lanzotti, V. B., & Quillfeldt, J. A. (2005). Amnestic effect of intrahippocampal AM251, a CB1-selective blocker, in the inhibitory avoidance, but not in the open field habituation task, in rats. *Neurobiology of learning and memory*, 83(2), 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.10.002>

- de Oliveira-Júnior, B. A., Marques, D. B., Rossignoli, M. T., Prizon, T., Leite, J. P., & Ruggiero, R. N. (2024). Multidimensional behavioral profiles associated with resilience and susceptibility after inescapable stress. *Scientific reports*, 14(1), 9699. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59984-7>
- de Sa Nogueira, D., Bourdy, R., Filliol, D., Awad, G., Andry, V., Goumon, Y., Olmstead, M. C., & Befort, K. (2021). Binge sucrose-induced neuroadaptations: A focus on the endocannabinoid system. *Appetite*, 164, 105258. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105258>
- de Sousa, A. F. L., & Paim, R. T. T. (2023). Food habits of different worker categories: an integrative review. *Revista brasileira de medicina do trabalho : publicacao oficial da Associacao Nacional de Medicina do Trabalho-ANAMT*, 20(4), 624–632. <https://doi.org/10.47626/1679-4435-2022-703>
- Di Segni, M., Patrono, E., Patella, L., Puglisi-Allegra, S., & Ventura, R. (2014). Animal models of compulsive eating behavior. *Nutrients*, 6(10), 4591–4609. <https://doi.org/10.3390/nu6104591>
- Dieterich, A., Floeder, J., Stech, K., Lee, J., Srivastava, P., Barker, D. J., & Samuels, B. A. (2021). Activation of Basolateral Amygdala to Nucleus Accumbens Projection Neurons Attenuates Chronic Corticosterone-Induced Behavioral Deficits in Male Mice. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 15, 643272. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.643272>
- d'Isa, R., Fasano, S., & Brambilla, R. (2024). Editorial: Animal-friendly methods for rodent behavioral testing in neuroscience research. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 18, 1431310. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2024.1431310>
- Domingo-Rodriguez, L., Ruiz de Azua, I., Dominguez, E., Senabre, E., Serra, I., Kummer, S., Navandar, M., Baddenhausen, S., Hofmann, C., Andero, R., Gerber, S., Navarrete, M., Dierssen, M., Lutz, B., Martín-García, E., & Maldonado, R. (2020). A specific prelimbic-nucleus accumbens pathway controls resilience versus vulnerability to food addiction. *Nature communications*, 11(1), 782. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14458-y>

- Donnelly, B., & Hay, P. (2024). Mapping Treatment Advances in the Neurobiology of Binge Eating Disorder: A Concept Paper. *Nutrients*, 16(7), 1081. <https://doi.org/10.3390/nu16071081>
- Duan W. (2013). Sirtuins: from metabolic regulation to brain aging. *Frontiers in aging neuroscience*, 5, 36. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00036>
- Elhassan, Y. S., Philp, A. A., & Lavery, G. G. (2017). Targeting NAD<sup>+</sup> in Metabolic Disease: New Insights Into an Old Molecule. *Journal of the Endocrine Society*, 1(7), 816–835. <https://doi.org/10.1210/js.2017-00092>
- Eliason, N. L., & Sharpe, A. L. (2023). Proopiomelanocortin projections to the nucleus accumbens modulate acquisition and maintenance of operant palatable pellet administration in mice. *Physiology & behavior*, 265, 114176. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2023.114176>
- Farr, O. M., Li, C. R., & Mantzoros, C. S. (2016). Central nervous system regulation of eating: Insights from human brain imaging. *Metabolism: clinical and experimental*, 65(5), 699–713. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.02.002>
- Ferguson, D., Koo, J. W., Feng, J., Heller, E., Rabkin, J., Heshmati, M., Renthal, W., Neve, R., Liu, X., Shao, N., Sartorelli, V., Shen, L., & Nestler, E. J. (2013). Essential role of SIRT1 signaling in the nucleus accumbens in cocaine and morphine action. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(41), 16088–16098. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1284-13.2013>
- Freeman AM, Acevedo LA, Pennings N. Resistencia a la insulina. [Actualizado el 17 de agosto de 2023]. En: StatPearls [Internet]. Isla del Tesoro (FL): StatPearls Publishing; 2024 enero-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507839/>
- Fuentes, E., Venegas, B., Muñoz-Arenas, G., Moran, C., Vazquez-Roque, R. A., Flores, G., Treviño, S., Diaz, A., & Guevara, J. (2023). High-carbohydrate and fat diet consumption causes metabolic deterioration, neuronal damage, and loss of recognition memory in rats. *Journal of chemical*

<https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2023.102237>

- García-García, F. J., Monistrol-Mula, A., Cardellach, F., & Garrabou, G. (2020). Nutrition, Bioenergetics, and Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 12(9), 2785. <https://doi.org/10.3390/nu12092785>
- Gearhardt, A. N., Boswell, R. G., & White, M. A. (2014). The association of "food addiction" with disordered eating and body mass index. *Eating behaviors*, 15(3), 427–433. <https://doi.org/10.1016/j.eatbeh.2014.05.001>
- Gearhardt, A. N., White, M. A., & Potenza, M. N. (2011). Binge eating disorder and food addiction. *Current drug abuse reviews*, 4(3), 201–207. <https://doi.org/10.2174/1874473711104030201>
- Gencturk, S., & Unal, G. (2024). Rodent tests of depression and anxiety: Construct validity and translational relevance. *Cognitive, affective & behavioral neuroscience*, 24(2), 191–224. <https://doi.org/10.3758/s13415-024-01171-2>
- Giangregorio, F., Mosconi, E., Debellis, M. G., Provini, S., Esposito, C., Garolfi, M., Oraka, S., Kaloudi, O., Mustafazade, G., Marín-Baselga, R., & Tung-Chen, Y. (2024). A Systematic Review of Metabolic Syndrome: Key Correlated Pathologies and Non-Invasive Diagnostic Approaches. *Journal of Clinical Medicine*, 13(19), 5880. <https://doi.org/10.3390/jcm13195880>
- Giel, K. E., Bulik, C. M., Fernandez-Aranda, F., Hay, P., Keski-Rahkonen, A., Schag, K., Schmidt, U., & Zipfel, S. (2022). Binge eating disorder. *Nature reviews. Disease primers*, 8(1), 16. <https://doi.org/10.1038/s41572-022-00344-y>
- Gnaiger E. (2024). Complex II ambiguities-FADH<sub>2</sub> in the electron transfer system. *The Journal of biological chemistry*, 300(1), 105470. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105470>
- Guan, G., Chen, Y., & Dong, Y. (2025). Unraveling the AMPK-SIRT1-FOXO Pathway: The In-Depth Analysis and Breakthrough Prospects of Oxidative Stress-Induced Diseases. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 14(1), 70. <https://doi.org/10.3390/antiox14010070>

- Guarente L. (2011). Sirtuins, aging, and metabolism. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, 76, 81–90. <https://doi.org/10.1101/sqb.2011.76.010629>
- Guillaumin, M. C. C., Viskaitis, P., Bracey, E., Burdakov, D., & Peleg-Raibstein, D. (2023). Disentangling the role of NAc D1 and D2 cells in hedonic eating. *Molecular psychiatry*, 28(8), 3531–3547. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02131-x>
- Guzmán-García, J. M., Romero-Saldaña, M., Molina-Recio, G., Álvarez-Fernández, C., Jiménez-Mérida, M. D. R., & Molina-Luque, R. (2024). Relationship between commonly defined metabolic health phenotypes and obesity with lung function in a working population: A cross-sectional study. *Heart & lung : the journal of critical care*, 67, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2024.04.017>
- Haedt-Matt, A. A., & Keel, P. K. (2011). Revisiting the affect regulation model of binge eating: a meta-analysis of studies using ecological momentary assessment. *Psychological bulletin*, 137(4), 660–681. <https://doi.org/10.1037/a0023660>
- Hamzeh, O., Rabiei, F., Shakeri, M., Parsian, H., Saadat, P., & Rostami-Mansoor, S. (2023). Mitochondrial dysfunction and inflammasome activation in neurodegenerative diseases: Mechanisms and therapeutic implications. *Mitochondrion*, S1567-7249(23)00087-9. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2023.10.003>
- Haythorne, E., Rohm, M., van de Bunt, M., Breerton, M. F., Tarasov, A. I., Blacker, T. S., Sachse, G., Silva Dos Santos, M., Terron Exposito, R., Davis, S., Baba, O., Fischer, R., Duchon, M. R., Rorsman, P., MacRae, J. I., & Ashcroft, F. M. (2019). Diabetes causes marked inhibition of mitochondrial metabolism in pancreatic  $\beta$ -cells. *Nature communications*, 10(1), 2474. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10189-x>
- Hernández-Jiménez, S., García-Ulloa, A. C., Anaya, P., Gasca-Pineda, R., Sánchez-Trujillo, L. A., Peña Baca, H., González-Pier, E., Graue-Hernández, E. O., Aguilar-Salinas, C. A., Gómez-Pérez, F. J., Kershenobich-Stalnikowitz,

- D., & Group of Study CAIPaDi (2021). Cost-effectiveness of a self-management and comprehensive training intervention in patients with type 2 diabetes up to 5 years of diagnosis in a specialized hospital in Mexico City. *BMJ open diabetes research & care*, 9(1), e002097. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2020-002097>
- Herzig, S., & Shaw, R. J. (2018). AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 19(2), 121–135. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.95>
  - Herzig, S., & Shaw, R. J. (2018). AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 19(2), 121–135. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.95>
  - Hildebrandt, B. A., & Ahmari, S. E. (2021). Breaking It Down: Investigation of Binge Eating Components in Animal Models to Enhance Translation. *Frontiers in psychiatry*, 12, 728535. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.728535>
  - Hill, J. O., Wyatt, H. R., & Peters, J. C. (2012). Energy balance and obesity. *Circulation*, 126(1), 126–132. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.087213>
  - Iacobini, C., Pugliese, G., Blasetti Fantauzzi, C., Federici, M., & Menini, S. (2019). Metabolically healthy versus metabolically unhealthy obesity. *Metabolism: clinical and experimental*, 92, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.009>
  - Iacobini, C., Pugliese, G., Blasetti Fantauzzi, C., Federici, M., & Menini, S. (2019). Metabolically healthy versus metabolically unhealthy obesity. *Metabolism: clinical and experimental*, 92, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.009>
  - Ismaylova, E., Nemoda, Z., & Booij, L. (2025). Brain serotonin, oxytocin, and their interaction: Relevance for eating disorders. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 39(3), 187–200. <https://doi.org/10.1177/02698811241309617>

- Jamshidi, N., & Taylor, D. A. (2001). Anandamide administration into the ventromedial hypothalamus stimulates appetite in rats. *British journal of pharmacology*, 134(6), 1151–1154. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704379>
- Jenkins, Y., Sun, T. Q., Markovtsov, V., Foretz, M., Li, W., Nguyen, H., Li, Y., Pan, A., Uy, G., Gross, L., Baltgalvis, K., Yung, S. L., Gururaja, T., Kinoshita, T., Owyang, A., Smith, I. J., McCaughey, K., White, K., Godinez, G., Alcantara, R., ... Hitoshi, Y. (2013). AMPK activation through mitochondrial regulation results in increased substrate oxidation and improved metabolic parameters in models of diabetes. *PLoS one*, 8(12), e81870. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081870>
- Jorge Mendoza; Manuel Angeles-Castellanos; Carolina Escobar. (2005). Differential role of the accumbens Shell and Core subterritories in food-entrained rhythms of rats. , 158(1), 0–142. doi:10.1016/j.bbr.2004.08.016
- K S V, A. B. G., Dissanayake, D., Gunatilake, M., Kuzhandai Velu, V., & Paranthaman, M. (2023). A short review on behavioural assessment methods in rodents. *Bioinformation*, 19(8), 866–870. <https://doi.org/10.6026/97320630019866>
- Katz, R. J. (1982). Animal Model of Depression: Pharmacological Sensitivity of a Hedonic Deficit. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 16, 965–968.
- Kayser, B., & Verges, S. (2021). Hypoxia, energy balance, and obesity: An update. *Obesity Reviews*, 22(S2). doi:10.1111/obr.13192
- Ke, R., Xu, Q., Li, C., Luo, L., & Huang, D. (2018). Mechanisms of AMPK in the maintenance of ATP balance during energy metabolism. *Cell biology international*, 42(4), 384–392. <https://doi.org/10.1002/cbin.10915>
- Kehan B., Elan N. F., Brooke S., Shely K. & Eunice Y. C.(2022). Food addiction is associated with greater objective binge eating and eating disorder psychopathology, and higher body mass index in youth, a meta-analysis. *Psychiatry Research Communications*. Volume 2, Issue 3. <https://doi.org/10.1016/j.psycom.2022.100067>.

- Kessler, R. M., Hutson, P. H., Herman, B. K., & Potenza, M. N. (2016). The neurobiological basis of binge-eating disorder. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 63, 223–238. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.01.013>
- King-Himmelreich, T. S., Möser, C. V., Wolters, M. C., Schmetzer, J., Möller, M., Schreiber, Y., Ferreirós, N., Geisslinger, G., & Niederberger, E. (2017). AMP-activated kinase and the endogenous endocannabinoid system might contribute to antinociceptive effects of prolonged moderate caloric restriction in mice. *Molecular pain*, 13, 1744806917703111. <https://doi.org/10.1177/1744806917703111>
- Ku-Lung, H., Miaomiao, C., Myungsun, S., Norbert, L. Hamid, A., Aron, L. et al. (2024). Abstract 1579 Endocannabinoid biosynthetic enzymes signal through LKB1-AMPK in macrophage inflammation and pain response. *Journal of Biological Chemistry*, Volume 300, Issue 3, 106356
- Kumar, R., Mal, K., Razaq, M. K., Magsi, M., Memon, M. K., Memon, S., Afroz, M. N., Siddiqui, H. F., & Rizwan, A. (2020). Association of Leptin With Obesity and Insulin Resistance. *Cureus*, 12(12), e12178. <https://doi.org/10.7759/cureus.12178>
- Lee, S., Xu, H., Van Vleck, A., Mawla, A. M., Li, A. M., Ye, J., Huising, M. O., & Annes, J. P. (2022).  $\beta$ -Cell Succinate Dehydrogenase Deficiency Triggers Metabolic Dysfunction and Insulinopenic Diabetes. *Diabetes*, 71(7), 1439–1453. <https://doi.org/10.2337/db21-0834>
- Leenaerts, N., Jongen, D., Ceccarini, J., Van Oudenhove, L., & Vrieze, E. (2022). The neurobiological reward system and binge eating: A critical systematic review of neuroimaging studies. *The International journal of eating disorders*, 55(11), 1421–1458. <https://doi.org/10.1002/eat.23776>
- Lei, A. A., Phang, V. W. X., Lee, Y. Z., Kow, A. S. F., Tham, C. L., Ho, Y. C., & Lee, M. T. (2025). Chronic Stress-Associated Depressive Disorders: The Impact of HPA Axis Dysregulation and Neuroinflammation on the Hippocampus-A Mini Review. *International journal of molecular sciences*, 26(7), 2940. <https://doi.org/10.3390/ijms26072940>

- Lemos, C., Rial, D., Gonçalves, F. Q., Pires, J., Silva, H. B., Matheus, F. C., da Silva, A. C., Marques, J. M., Rodrigues, R. J., Jarak, I., Prediger, R. D., Reis, F., Carvalho, R. A., Pereira, F. C., & Cunha, R. A. (2016). High sucrose consumption induces memory impairment in rats associated with electrophysiological modifications but not with metabolic changes in the hippocampus. *Neuroscience*, *315*, 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.018>
- Lim, C. T., Kola, B., & Korbonits, M. (2010). AMPK as a mediator of hormonal signalling. *Journal of molecular endocrinology*, *44*(2), 87–97. <https://doi.org/10.1677/JME-09-0063>
- Liu, H., Wang, S., Wang, J., Guo, X., Song, Y., Fu, K., Gao, Z., Liu, D., He, W., & Yang, L. L. (2025). Energy metabolism in health and diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, *10*(1), 69. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02141-x>
- Liu, J., Lai, F., Hou, Y., & Zheng, R. (2022). Leptin signaling and leptin resistance. *Medical review (2021)*, *2*(4), 363–384. <https://doi.org/10.1515/mr-2022-0017>
- López, M., Lage, R., Saha, A. K., Pérez-Tilve, D., Vázquez, M. J., Varela, L., Sangiao-Alvarellos, S., Tovar, S., Raghay, K., Rodríguez-Cuenca, S., Deoliveira, R. M., Castañeda, T., Datta, R., Dong, J. Z., Culler, M., Sleeman, M. W., Alvarez, C. V., Gallego, R., Lelliott, C. J., Carling, D., ... Vidal-Puig, A. (2008). Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin. *Cell metabolism*, *7*(5), 389–399. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.03.006>
- López, M., Nogueiras, R., Tena-Sempere, M., & Diéguez, C. (2016). Hypothalamic AMPK: a canonical regulator of whole-body energy balance. *Nature reviews. Endocrinology*, *12*(7), 421–432. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.67>
- Maissan, P., Mooij, E. J., & Barberis, M. (2021). Sirtuins-Mediated System-Level Regulation of Mammalian Tissues at the Interface between Metabolism

and Cell Cycle: A Systematic Review. *Biology*, 10(3), 194.  
<https://doi.org/10.3390/biology10030194>

- Mars, J. A., Iqbal, A., & Rehman, A. (2024, 11 agosto). *Binge eating disorder*. StatPearls - NCBI Bookshelf.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551700/>
- Masenga, S. K., Kabwe, L. S., Chakulya, M., & Kirabo, A. (2023). Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *International journal of molecular sciences*, 24(9), 7898. <https://doi.org/10.3390/ijms24097898>
- Mathew, H., Farr, O. M., & Mantzoros, C. S. (2016). Metabolic health and weight: Understanding metabolically unhealthy normal weight or metabolically healthy obese patients. *Metabolism: clinical and experimental*, 65(1), 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.10.019>
- Mbiydzenyuy, N. E., & Qulu, L. A. (2024). Stress, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, hypothalamic-pituitary-gonadal axis, and aggression. *Metabolic brain disease*, 39(8), 1613–1636. <https://doi.org/10.1007/s11011-024-01393-w>
- McQuilken, S. A. (2021). Digestion and absorption. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 22(5), 336–338. doi:10.1016/j.mpaic.2020.12.009
- Meadows, A., Nolan, L. J., & Higgs, S. (2017). Self-perceived food addiction: Prevalence, predictors, and prognosis. *Appetite*, 114, 282–298. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.03.051>
- Mei, Z., Zhang, X., Yi, J., Huang, J., He, J., & Tao, Y. (2016). Sirtuins in metabolism, DNA repair and cancer. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 35(1), 182. <https://doi.org/10.1186/s13046-016-0461-5>
- Min, S. H., Song, D. K., Lee, C. H., Roh, E., & Kim, M. S. (2024). Hypothalamic AMP-Activated Protein Kinase as a Whole-Body Energy Sensor and Regulator. *Endocrinology and metabolism (Seoul, Korea)*, 39(1), 1–11. <https://doi.org/10.3803/EnM.2024.1922>
- Minokoshi, Y., Alquier, T., Furukawa, N., Kim, Y. B., Lee, A., Xue, B., Mu, J., Fofelle, F., Ferré, P., Birnbaum, M. J., Stuck, B. J., & Kahn, B. B. (2004).

AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature*, 428(6982), 569–574. <https://doi.org/10.1038/nature02440>

- Mitchison, D., & Mond, J. (2015). Epidemiology of eating disorders, eating disordered behaviour, and body image disturbance in males: a narrative review. *Journal of eating disorders*, 3, 20. <https://doi.org/10.1186/s40337-015-0058-y>
- Muraleedharan, R., & Dasgupta, B. (2022). AMPK in the brain: its roles in glucose and neural metabolism. *The FEBS journal*, 289(8), 2247–2262. <https://doi.org/10.1111/febs.16151>
- Navarrete, F., García-Gutiérrez, M. S., Jurado-Barba, R., Rubio, G., Gasparyan, A., Austrich-Olivares, A., & Manzanares, J. (2020). Endocannabinoid System Components as Potential Biomarkers in Psychiatry. *Frontiers in psychiatry*, 11, 315. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00315>
- Neeland, I. J., Lim, S., Tchernof, A., Gastaldelli, A., Rangaswami, J., Ndumele, C. E., Powell-Wiley, T. M., & Després, J. P. (2024). Metabolic syndrome. *Nature reviews. Disease primers*, 10(1), 77. <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00563-5>
- Ni, R., Zheng, D., Xiong, S., Hill, D. J., Sun, T., Gardiner, R. B., Fan, G. C., Lu, Y., Abel, E. D., Greer, P. A., & Peng, T. (2016). Mitochondrial Calpain-1 Disrupts ATP Synthase and Induces Superoxide Generation in Type 1 Diabetic Hearts: A Novel Mechanism Contributing to Diabetic Cardiomyopathy. *Diabetes*, 65(1), 255–268. <https://doi.org/10.2337/db15-0963>
- Nolfi-Donagan, D., Braganza, A., & Shiva, S. (2020). Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox biology*, 37, 101674. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101674>

- Norton, L., Shannon, C., Gastaldelli, A., & DeFronzo, R. A. (2022). Insulin: The master regulator of glucose metabolism. *Metabolism: clinical and experimental*, 129, 155142. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2022.155142>
- Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T., & Isenovic, E. R. (2021). Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Frontiers in endocrinology*, 12, 585887. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.585887>
- Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T., & Isenovic, E. R. (2021). Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Frontiers in endocrinology*, 12, 585887. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.585887>
- Okunogbe, A., Nugent, R., Spencer, G., Ralston, J., & Wilding, J. (2021). Economic impacts of overweight and obesity: current and future estimates for eight countries. *BMJ global health*, 6(10), e006351. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2021-006351>
- Peng-Li, D., Sørensen, T. A., Li, Y., & He, Q. (2020). Systematically lower structural brain connectivity in individuals with elevated food addiction symptoms. *Appetite*, 155, 104850. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2020.104850>
- Qian, J., Hu, Q., Wan, Y., Li, T., Wu, M., Ren, Z., & Yu, D. (2013). Prevalence of eating disorders in the general population: a systematic review. *Shanghai archives of psychiatry*, 25(4), 212–223. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-0829.2013.04.003>
- R.J. McLaughlin; S.B. Floresco. (2007). The role of different subregions of the basolateral amygdala in cue-induced reinstatement and extinction of food-seeking behavior. *Neuroscience*, 146(4), 1490–1494. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.03.025
- Rada, P., Avena, N. M., & Hoebel, B. G. (2005). Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell. *Neuroscience*, 134(3), 737–744. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.04.043>

- Radziszewska, M., Ostrowska, L., & Smarkusz-Zarzecka, J. (2024). The Impact of Gastrointestinal Hormones on Human Adipose Tissue Function. *Nutrients*, 16(19), 3245. <https://doi.org/10.3390/nu16193245>
- Rae, C. D., Baur, J. A., Borges, K., Diemel, G., Díaz-García, C. M., Douglass, S. R., Drew, K., Duarte, J. M. N., Duran, J., Kann, O., Kristian, T., Lee-Liu, D., Lindquist, B. E., McNay, E. C., Robinson, M. B., Rothman, D. L., Rowlands, B. D., Ryan, T. A., Scafidi, J., Scafidi, S., ... McKenna, M. C. (2024). Brain energy metabolism: A roadmap for future research. *Journal of neurochemistry*, 168(5), 910–954. <https://doi.org/10.1111/jnc.16032>
- Rahman, M. S., Hossain, K. S., Das, S., Kundu, S., Adegoke, E. O., Rahman, M. A., Hannan, M. A., Uddin, M. J., & Pang, M. G. (2021). Role of Insulin in Health and Disease: An Update. *International journal of molecular sciences*, 22(12), 6403. <https://doi.org/10.3390/ijms22126403>
- Rehn, S., Raymond, J. S., Boakes, R. A., & Leenaars, C. H. C. (2022). A systematic review and meta-analysis of animal models of binge eating - Part 1: Definitions and food/drink intake outcomes. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 132, 1137–1156. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.10.036>
- Richard AJ, White U, Elks CM, et al. Tejido adiposo: Fisiología de la disfunción metabólica. [Actualizado el 4 de abril de 2020]. En: Feingold KR, Ahmed SF, Anawalt B, et al., editores. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555602/>
- Ring M. (2025). An Integrative Approach to HPA Axis Dysfunction: From Recognition to Recovery. *The American journal of medicine*, 138(10), 1451–1463. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2025.05.044>
- Rodrigue, C., Gearhardt, A. N., & Bégin, C. (2019). Food Addiction in Adolescents: Exploration of psychological symptoms and executive functioning difficulties in a non-clinical sample. *Appetite*, 141, 104303. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2019.05.034>

- Rodríguez-Rangel, D. S., Estrada-Camarena, E., & López-Rubalcava, C. (2024). Stress hyper-reactivity increases vulnerability to developing binge-type eating and associated anxiety-like behavior; comparison between Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley rats. *Frontiers in nutrition*, 11, 1368111. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1368111>
- Romano, A., Micioni Di Bonaventura, M. V., Gallelli, C. A., Koczwara, J. B., Smeets, D., Giusepponi, M. E., De Ceglia, M., Friuli, M., Micioni Di Bonaventura, E., Scuderi, C., Vitalone, A., Tramutola, A., Altieri, F., Lutz, T. A., Giudetti, A. M., Cassano, T., Cifani, C., & Gaetani, S. (2020). Oleoylethanolamide decreases frustration stress-induced binge-like eating in female rats: a novel potential treatment for binge eating disorder. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 45(11), 1931–1941. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-0686-z>
- Ronti, T., Lupattelli, G., & Mannarino, E. (2006). The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clinical endocrinology*, 64(4), 355–365. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2006.02474.x>
- Rosenberg, N., Bloch, M., Ben Avi, I., Rouach, V., Schreiber, S., Stern, N., & Greenman, Y. (2013). Cortisol response and desire to binge following psychological stress: comparison between obese subjects with and without binge eating disorder. *Psychiatry research*, 208(2), 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.09.050>
- Różycka, J., Nowacki, A., Łukowska, M., Sokołowska, M., Zielińska, J., Duszkiewicz, R., & Stojek, M. M. (2025). Psychological differences in food addiction and binge eating in a general Polish population. *Scientific reports*, 15(1), 3919. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87057-w>
- Ruderman, N. B., Carling, D., Prentki, M., & Cacicedo, J. M. (2013). AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 123(7), 2764–2772. <https://doi.org/10.1172/JCI67227>

- Rutter, J., Winge, D. R., & Schiffman, J. D. (2010). Succinate dehydrogenase - Assembly, regulation and role in human disease. *Mitochondrion*, 10(4), 393–401. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2010.03.001>
- Saklayen M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current hypertension reports*, 20(2), 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
- Sălcudean, A., Bodo, C. R., Popovici, R. A., Cozma, M. M., Păcurar, M., Crăciun, R. E., Crisan, A. I., Enatescu, V. R., Marinescu, I., Cimpian, D. M., Nan, A. G., Sasu, A. B., Anculia, R. C., & Strete, E. G. (2025). Neuroinflammation-A Crucial Factor in the Pathophysiology of Depression-A Comprehensive Review. *Biomolecules*, 15(4), 502. <https://doi.org/10.3390/biom15040502>
- Salgado, S., & Kaplitt, M. G. (2015). The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotactic and functional neurosurgery*, 93(2), 75–93. <https://doi.org/10.1159/000368279>
- Santos L. (2022). The impact of nutrition and lifestyle modification on health. *European journal of internal medicine*, 97, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2021.09.020>
- Sasaki, T., Kikuchi, O., Shimpuku, M., Susanti, V. Y., Yokota-Hashimoto, H., Taguchi, R., Shibusawa, N., Sato, T., Tang, L., Amano, K., Kitazumi, T., Kuroko, M., Fujita, Y., Maruyama, J., Lee, Y. S., Kobayashi, M., Nakagawa, T., Minokoshi, Y., Harada, A., Yamada, M., ... Kitamura, T. (2014). Hypothalamic SIRT1 prevents age-associated weight gain by improving leptin sensitivity in mice. *Diabetologia*, 57(4), 819–831. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3140-5>
- Scerif, M., Fűzesi, T., Thomas, J. D., Kola, B., Grossman, A. B., Fekete, C., & Korbonits, M. (2013). CB1 receptor mediates the effects of glucocorticoids on AMPK activity in the hypothalamus. *The Journal of endocrinology*, 219(1), 79–88. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0192>

- Schienle, A., Schäfer, A., Hermann, A., & Vaitl, D. (2009). Binge-eating disorder: reward sensitivity and brain activation to images of food. *Biological psychiatry*, 65(8), 654–661. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.09.028>
- Schug, T. T., & Li, X. (2011). Sirtuin 1 in lipid metabolism and obesity. *Annals of medicine*, 43(3), 198–211. <https://doi.org/10.3109/07853890.2010.547211>
- Secretaría de salud (2016). <https://www.gob.mx/salud/articulos/sabes-como-prevenir-el-sindrome-metabolico>
- Secretaría de Salud. (2023). 004. Trastornos de la conducta alimentaria afectan a 25% de adolescentes. gob.mx. Recuperado el 8 de mayo de 2024, de <https://www.gob.mx/salud/prensa/004-trastornos-de-la-conducta-alimentaria-afectan-a-25-de-adolescentes>
- Şengör, G., & Gezer, C. (2019). Food addiction and its relationship with disordered eating behaviours and obesity. *Eating and weight disorders : EWD*, 24(6), 1031–1039. <https://doi.org/10.1007/s40519-019-00662-3>
- Sestakova, N., Puzserova, A., Kluknavsky, M., & Bernatova, I. (2013). Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdisciplinary toxicology*, 6(3), 126–135. <https://doi.org/10.2478/intox-2013-0020>
- Shahid Z, Asuka E, Singh G. Fisiología del hipotálamo. [Actualizado el 1 de mayo de 2023]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; enero de 2025. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535380/>
- Shichkova, P., Coggan, J. S., Markram, H., & Keller, D. (2024). Brain Metabolism in Health and Neurodegeneration: The Interplay Among Neurons and Astrocytes. *Cells*, 13(20), 1714. <https://doi.org/10.3390/cells13201714>
- Singh, S. P., Schragenheim, J., Cao, J., Falck, J. R., Abraham, N. G., & Bellner, L. (2016). PGC-1 alpha regulates HO-1 expression, mitochondrial dynamics and biogenesis: Role of epoxyeicosatrienoic acid. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 125, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2016.07.004>

- Sivitz, W. I., & Yorek, M. A. (2010). Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*, 12(4), 537–577. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2531>
- Solmi, F., Moreno, A. B., Lewis, G., Angélica Nunes, M., de Jesus Mendes da Fonseca, M., & Harter Griep, R. (2021). Longitudinal association between binge eating and metabolic syndrome in adults: Findings from the ELSA-Brasil cohort. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 144(5), 464–474. <https://doi.org/10.1111/acps.13356>
- Sominsky, L., & Spencer, S. J. (2014). Eating behavior and stress: a pathway to obesity. *Frontiers in psychology*, 5, 434. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00434>
- Song, J., & Choi, S. Y. (2023). Arcuate Nucleus of the Hypothalamus: Anatomy, Physiology, and Diseases. *Experimental neurobiology*, 32(6), 371–386. <https://doi.org/10.5607/en23040>
- Song, J., & Kim, J. (2016). Role of Sirtuins in Linking Metabolic Syndrome with Depression. *Frontiers in cellular neuroscience*, 10, 86. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00086>
- Soria-Gómez, E., Massa, F., Bellocchio, L., Rueda-Orozco, P. E., Ciofi, P., Cota, D., Oliet, S. H., Prospéro-García, O., & Marsicano, G. (2014). Cannabinoid type-1 receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus inhibit stimulated food intake. *Neuroscience*, 263, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.01.005>
- Sparks, J. D., & Dong, H. H. (2009). FoxO1 and hepatic lipid metabolism. *Current opinion in lipidology*, 20(3), 217–226. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e32832b3f4c>
- Spinelli, J. B., & Haigis, M. C. (2018). The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. *Nature cell biology*, 20(7), 745–754. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0124-1>
- Srivastava, R. A., Pinkosky, S. L., Filippov, S., Hanselman, J. C., Cramer, C. T., & Newton, R. S. (2012). AMP-activated protein kinase: an emerging drug

target to regulate imbalances in lipid and carbohydrate metabolism to treat cardio-metabolic diseases. *Journal of lipid research*, 53(12), 2490–2514.

<https://doi.org/10.1194/jlr.R025882>

- Stefan N. (2020). Metabolically Healthy and Unhealthy Normal Weight and Obesity. *Endocrinology and metabolism (Seoul, Korea)*, 35(3), 487–493. <https://doi.org/10.3803/EnM.2020.301>
- Tabatabaei Dakhili, S. A., Greenwell, A. A., & Ussher, J. R. (2023). Pyruvate Dehydrogenase Complex and Glucose Oxidation as a Therapeutic Target in Diabetic Heart Disease. *Journal of lipid and atherosclerosis*, 12(1), 47–57. <https://doi.org/10.12997/jla.2023.12.1.47>
- Teaney, N. A., & Cyr, N. E. (2023). FoxO1 as a tissue-specific therapeutic target for type 2 diabetes. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1286838. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1286838>
- Toorie, A. M., & Nillni, E. A. (2014). Minireview: Central Sirt1 regulates energy balance via the melanocortin system and alternate pathways. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 28(9), 1423–1434. <https://doi.org/10.1210/me.2014-1115>
- Unger, R. H., & Scherer, P. E. (2010). Gluttony, sloth and the metabolic syndrome: a roadmap to lipotoxicity. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 21(6), 345–352. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.01.009>
- Vadvalkar, S. S., Matsuzaki, S., Eyster, C. A., Giorgione, J. R., Bockus, L. B., Kinter, C. S., Kinter, M., & Humphries, K. M. (2017). Decreased Mitochondrial Pyruvate Transport Activity in the Diabetic Heart: ROLE OF MITOCHONDRIAL PYRUVATE CARRIER 2 (MPC2) ACETYLATION. *The Journal of biological chemistry*, 292(11), 4423–4433. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.753509>
- Vazquez, E. J., Berthiaume, J. M., Kamath, V., Achike, O., Buchanan, E., Montano, M. M., Chandler, M. P., Miyagi, M., & Rosca, M. G. (2015). Mitochondrial complex I defect and increased fatty acid oxidation enhance protein lysine acetylation in the diabetic heart. *Cardiovascular research*, 107(4), 453–465. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv183>

- Victor, V. M., Rocha, M., Herance, R., & Hernandez-Mijares, A. (2011). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes. *Current pharmaceutical design*, 17(36), 3947–3958. <https://doi.org/10.2174/138161211798764915>
- Watts, M. E., Pocock, R., & Claudianos, C. (2018). Brain Energy and Oxygen Metabolism: Emerging Role in Normal Function and Disease. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 216. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00216>
- Weinberg Sibony, R., Segev, O., Dor, S., & Raz, I. (2024). Overview of oxidative stress and inflammation in diabetes. *Journal of diabetes*, 16(10), e70014. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.70014>
- Will, M. J., Pritchett, C. E., Parker, K. E., Sawani, A. M., Ma, H., & Lai, A. Y. (2009). Behavioral characterization of amygdala involvement in mediating intra-accumbens opioid-driven feeding behavior. *Behavioral neuroscience*, 123(4), 781–793. <https://doi.org/10.1037/a0016060>
- Wong, S. K., Chin, K. Y., Suhaimi, F. H., Fairus, A., & Ima-Nirwana, S. (2016). Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & metabolism*, 13, 65. <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0123-9>
- Wu, H., Deng, X., Shi, Y., Su, Y., Wei, J., & Duan, H. (2016). PGC-1 $\alpha$ , glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus. *The Journal of endocrinology*, 229(3), R99–R115. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0021>
- Wu, J., Jin, Z., Zheng, H., & Yan, L. J. (2016). Sources and implications of NADH/NAD(+) redox imbalance in diabetes and its complications. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, 9, 145–153. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S106087>
- Xu, J., Jackson, C. W., Khoury, N., Escobar, I., & Perez-Pinzon, M. A. (2018). Brain SIRT1 Mediates Metabolic Homeostasis and Neuroprotection. *Frontiers in endocrinology*, 9, 702. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00702>
- Xu, Y., Lin, Y., Yu, M., & Zhou, K. (2024). The nucleus accumbens in reward and aversion processing: insights and implications. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 18, 1420028. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2024.1420028>

- Yang, D., Hou, X., Yang, G., Li, M., Zhang, J., Han, M., Zhang, Y., & Liu, Y. (2022). Effects of the POMC System on Glucose Homeostasis and Potential Therapeutic Targets for Obesity and Diabetes. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, 15, 2939–2950. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S380577>
- Yuan, H. X., Xiong, Y., & Guan, K. L. (2013). Nutrient sensing, metabolism, and cell growth control. *Molecular cell*, 49(3), 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.01.019>
- Yuan, H. X., Xiong, Y., & Guan, K. L. (2013). Nutrient sensing, metabolism, and cell growth control. *Molecular cell*, 49(3), 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.01.019>
- Yusri, K., Jose, S., Vermeulen, K. S., Tan, T. C. M., & Sorrentino, V. (2025). The role of NAD<sup>+</sup> metabolism and its modulation of mitochondria in aging and disease. *npj metabolic health and disease*, 3(1), 26. <https://doi.org/10.1038/s44324-025-00067-0>
- Zhang, M., Wang, Q., & Wang, Y. (2025). Brain endocannabinoid control of metabolic and non-metabolic feeding behaviors. *Neurochemistry international*, 183, 105921. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2024.105921>
- Zhang, Z., Huang, Q., Zhao, D., Lian, F., Li, X., & Qi, W. (2023). The impact of oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction on diabetic microvascular complications. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1112363. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1112363>

## Anexos

### Anexo 1. Prueba del laberinto elevado en cruz

El laberinto elevado consta de 4 brazos en forma de cruz con una zona central, donde dos brazos opuestos sin paredes y dos brazos cerrados (con paredes). Se coloca a 30 cm de las paredes de la habitación y situado 50 cm por encima del suelo

### Procedimiento

1. Previo al inicio, colocar adecuadamente el aparato y limpiar muy bien utilizando etanol al 70% y sanitas
2. Colocar a los animales en la misma habitación de la realización de la prueba por un período mínimo de 30 minutos, esto para habituar el animal al nuevo ambiente
3. Colocar al roedor en el centro del laberinto, dejando que recorra libremente los cuatro brazos durante 5 minutos. Grabar sesión
4. Una vez terminado el tiempo, regresar al animal a su caja de aserrín y limpiar muy bien el aparato con etanol al 70%

### **Análisis**

Cuantificar número de entradas a los brazos abiertos y cerrados, así como el tiempo que pasó en cada brazo. Los resultados se muestran como porcentaje de entradas a los brazos abiertos, calculado en relación con el total de entradas (brazos abierto + cerrados) y el porcentaje del tiempo total pasado por los brazos abiertos.

### **Anexo 2. Prueba de enterramiento de canicas modificado**

La prueba de enterramiento de canicas se utilizó para evaluar conductas compulsivas y de afrontamiento relacionadas con ansiedad y estrés. Se realizó de acuerdo con el protocolo descrito por Rodríguez-Rangel et al.. [Rodríguez-Rangel D.S, 2024].

### **Procedimiento**

1. Colocar individualmente a la rata en una caja de acrílico transparente (43 × 53 × 21 cm) con 5 cm de profundidad de aserrín
2. Disponer 20 canicas de vidrio 1,5 cm de diámetro) sobre el sustrato en una cuadrícula de 4 × 5
3. Permitir al animal explorar durante 5 minutos
4. Videografiar la sesión para análisis posterior

### **Análisis**

Cuantificar el número de canicas enterradas (considerando “enterrada” cuando al menos dos tercios de la canica estén cubiertos por el sustrato), el tiempo total de enterramiento y tiempo dedicado al aseo rostral repetitivo.

### Anexo 3. Prueba de preferencia a la sacarosa

#### Procedimiento

1. Alojjar individualmente a los animales durante 72 h
2. Colocar dos botellas en la jaula. Durante los días 1 y 2, ambas botellas contendrán agua potable. En el tercer día, una de ellas será reemplazada con una botella con solución de sacarosa al 1%
3. Diariamente se cambiará la posición de las botellas
4. Medir diariamente el consumo de cada botella
5. Calcular:

$$Preferencia = \frac{Vol. solución sacarosa 1\%}{(Vol. solución sacarosa 1\% + Vol. agua sin sacarosa)} \times 100$$

### Anexo 4. Prueba de alimentación con supresión por novedad (Novelty-suppressed feeding test)

Esta prueba se utilizó para evaluar ansiedad inducida por un alimento novedoso y la presencia de conflicto entre la motivación por la alimentación y el miedo a la novedad.

Previo al ensayo, los animales fueron sometidos a una restricción alimentaria de 24 horas. Posteriormente, fueron colocados en una caja abierta (con la que previamente se familiarizaron) donde en el centro se encontraba una caja Petri y el alimento novedoso apetecible (una galleta María® azucarada partida en trozos).

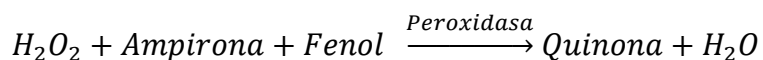
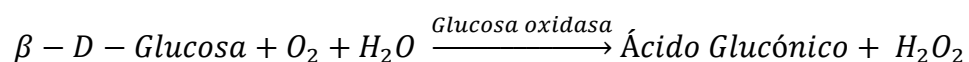
Se midió el tiempo de latencia (en segundos) del acercamiento al alimento, la toma del alimento y la alimentación en un tiempo de experimentación de 15 minutos. Una mayor latencia se interpreta como indicador de ansiedad.

## Anexo 5. Determinación de la concentración de glucosa sérica

**Método:** De Trinder, Glucosa oxidasa- Peroxidasa. Semi- Automatizado

### Fundamento:

La glucosa presente en la muestra forma un complejo coloreado que se cuantifica mediante espectrofotometría.



### Condiciones de reacción:

Longitud de onda: 505 nm

Temperatura: 37 °C

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando agua destilada como blanco.
3. Medir y dispensar en una microplaca:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (μL)	300	300	300
Patrón (μL)	-	3	-
Muestra (μL)	-	-	3

4. Agitar cuidadosamente e incubar los durante 10 minutos a 37 °C.
5. Medir la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm, utilizando el blanco de reactivo como referencia. El color desarrollado es estable durante al menos 30 minutos.

## Cálculos

$$\frac{\text{Abs Muestra}}{\text{Abs patrón}} \times 100 (\text{Concentración Patrón}) = \text{mg/dL de glucosa}$$

## Anexo 6. Determinación de la concentración de insulina sérica

**Método:** Ensayo Inmunoenzimométrico

### Fundamento:

En un ensayo inmunoenzimométrico se utilizan anticuerpos de alta afinidad y especificidad (Ab) y antígeno nativo. Durante el ensayo, un anticuerpo de insulina monoclonal biotilado se une a la estreptavidina en los pozos de una microplaca, permitiendo la inmovilización. Al mezclarse con el anticuerpo marcado con enzima y el suero con antígeno, se forma un complejo sándwich soluble sin interferencias estéricas. Este complejo se fija al pozo, y tras separar el antígeno libre, la actividad enzimática medida es proporcional a la concentración del antígeno en la muestra.

### Procedimiento:

1. Seleccione la cantidad necesaria de micropozos para los sueros de referencia, controles y muestras.
2. Dispense 50 µL de cada suero de referencia, control y muestra en sus respectivos pozos.
3. Añada 100 µL del reactivo enzimático de insulina a todos los pozos. Mezcle golpeando suavemente un extremo de la microplaca durante 20 a 30 segundos. Cubrir con plástico.
4. Incube durante 120 minutos a temperatura ambiente (20-27 °C).
5. Elimine el contenido de los pozos mediante decantación o aspiración.
6. Lave tres veces los pozos con 300 µL de solución de lavado.
7. Añada 100 µL de la solución de sustrato a cada pozo.

8. Incube durante 15 minutos a temperatura ambiente.
9. Agregue 50  $\mu\text{L}$  de la solución de paro en cada pozo y mezcle suavemente durante 15 a 20 segundos.
10. Mida la absorbancia de cada pozo a 450 nm, utilizando una longitud de onda de referencia entre 620-630 nm para corregir posibles imperfecciones. Realice la lectura dentro de los 30 minutos posteriores a la adición del reactivo de paro.

### **Cálculos**

Se utiliza una curva de reacción para determinar la concentración de insulina en muestras desconocidas. Registre los valores de absorbancia proporcionados por el lector de microplacas. Grafique la absorbancia de cada referencia de suero (por duplicado) contra la concentración de insulina expresada en  $\mu\text{IU/mL}$ . Luego, calcule la ecuación de la recta correspondiente a la curva de calibración.

### [Anexo 7. Determinación de la concentración de adiponectina](#)

**Método:** ELISA

#### **Fundamento:**

Se utilizan anticuerpos de alta afinidad y especificidad (Ab) y antígeno nativo. Durante el ensayo, un anticuerpo de insulina monoclonal biotinilado se une a la estreptavidina en los pozos de una microplaca, permitiendo la inmovilización. Al mezclarse con el anticuerpo marcado con enzima y el suero con antígeno, se forma un complejo sándwich soluble sin interferencias estéricas. Este complejo se fija al pozo, y tras separar el antígeno libre, la actividad enzimática medida es proporcional a la concentración del antígeno en la muestra.

#### **Procedimiento**

1. Incubar la muestra (20 uL) con 100 uL de buffer de carbonatos en la microplaca a 4 °C durante 24 horas.
2. Realizar 3 lavados con PBS-T.
3. Bloquear con 50 uL de albúmina al 2% durante 2 horas a 4 °C.
4. Realizar 3 lavados con PBS-T.
5. Incubar el Anticuerpo primario (dilución 1:500) por 2 horas a 4 °C.
6. Realizar 3 lavados con PBS-T.
7. Incubar anticuerpo secundario (dilución 1:1000) por 2 horas a temperatura ambiente.
8. Realizar 3 lavados con PBS-T.
9. Añadir 50 uL de TMB durante 10 minutos
10. Agregar 50 uL de solución de paro
11. Leer a 450 nm

## **Cálculos**

Se utiliza una curva de reacción para determinar la concentración de insulina en muestras desconocidas. Registre los valores de absorbancia proporcionados por el lector de microplacas. Grafique la absorbancia de cada referencia de suero (por duplicado) contra la concentración de insulina expresada en  $\mu\text{IU/mL}$ . Luego, calcule la ecuación de la recta correspondiente a la curva de calibración.

## [Anexo 8. Determinación de la concentración de leptina](#)

**Método:** ELISA

### **Fundamento:**

Se utilizan anticuerpos de alta afinidad y especificidad (Ab) y antígeno nativo. Durante el ensayo, un anticuerpo de insulina monoclonal biotinilado se une a la

estreptavidina en los pozos de una microplaca, permitiendo la inmovilización. Al mezclarse con el anticuerpo marcado con enzima y el suero con antígeno, se forma un complejo sándwich soluble sin interferencias estéricas. Este complejo se fija al pozo, y tras separar el antígeno libre, la actividad enzimática medida es proporcional a la concentración del antígeno en la muestra.

### **Procedimiento**

1. Incubar la muestra (20 uL) con 100 uL de buffer de carbonatos en la microplaca a 4 °C durante 24 horas.
2. Realizar 3 lavados con PBS-T.
3. Bloquear con 50 uL de albúmina al 2% durante 2 horas a 4 °C.
4. Realizar 3 lavados con PBS-T.
5. Incubar el Anticuerpo primario (dilución 1:500) por 2 horas a 4 °C.
6. Realizar 3 lavados con PBS-T.
7. Incubar anticuerpo secundario (dilución 1:1000) por 2 horas a temperatura ambiente.
8. Realizar 3 lavados con PBS-T.
9. Añadir 50 uL de TMB durante 10 minutos
10. Agregar 50 uL de solución de paro
11. Leer a 450 nm

### **Cálculos**

Se utiliza una curva de reacción para determinar la concentración de insulina en muestras desconocidas. Registre los valores de absorbancia proporcionados por el lector de microplacas. Grafique la absorbancia de cada referencia de suero (por duplicado) contra la concentración de insulina expresada en  $\mu\text{IU/mL}$ . Luego, calcule la ecuación de la recta correspondiente a la curva de calibración.

## Anexo 9. Determinación de la concentración de glucagón

**Método:** ELISA

### **Fundamento:**

Se utilizan anticuerpos de alta afinidad y especificidad (Ab) y antígeno nativo. Durante el ensayo, un anticuerpo de insulina monoclonal biotinilado se une a la estreptavidina en los pozos de una microplaca, permitiendo la inmovilización. Al mezclarse con el anticuerpo marcado con enzima y el suero con antígeno, se forma un complejo sándwich soluble sin interferencias estéricas. Este complejo se fija al pozo, y tras separar el antígeno libre, la actividad enzimática medida es proporcional a la concentración del antígeno en la muestra.

### **Procedimiento**

1. Incubar la muestra (20 uL) con 100 uL de buffer de carbonatos en la microplaca a 4 °C durante 24 horas.
2. Realizar 3 lavados con PBS-T.
3. Bloquear con 50 uL de albúmina al 2% durante 2 horas a 4 °C.
4. Realizar 3 lavados con PBS-T.
5. Incubar el Anticuerpo primario (dilución 1:500) por 2 horas a 4 °C.
6. Realizar 3 lavados con PBS-T.
7. Incubar anticuerpo secundario (dilución 1:1000) por 2 horas a temperatura ambiente.
8. Realizar 3 lavados con PBS-T.
9. Añadir 50 uL de TMB durante 10 minutos
10. Agregar 50 uL de solución de paro
11. Leer a 450 nm

### **Cálculos**

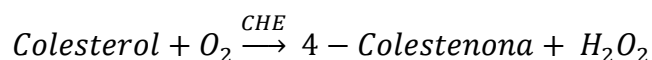
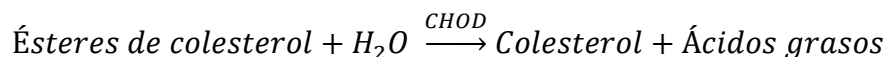
Se utiliza una curva de reacción para determinar la concentración de insulina en muestras desconocidas. Registre los valores de absorbancia proporcionados por el lector de microplacas. Grafique la absorbancia de cada referencia de suero (por duplicado) contra la concentración de insulina expresada en  $\mu\text{IU/mL}$ . Luego, calcule la ecuación de la recta correspondiente a la curva de calibración.

#### Anexo 10. Determinación de la concentración de colesterol total sérico

Método: CHOD-POD , líquido. Semi-Automatizado

##### Fundamento:

El colesterol presente en la muestra forma un compuesto coloreado que se cuantifica mediante espectrofotometría, basado en la siguiente reacción:



##### Condiciones de reacción:

Longitud de onda: 505 nm

Temperatura: 37 °C

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando agua destilada como blanco.

3. Medir y dispensar en una microplaca:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (μL)	300	300	300
Patrón (μL)	-	3	-
Muestra (μL)	-	-	3

4. Agitar cuidadosamente e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.

5. Medir la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm, utilizando el blanco de reactivo como referencia. El color desarrollado es estable durante al menos 60 minutos.

### Cálculos

$$\frac{Abs \text{ Muestra}}{Abs \text{ patrón}} \times 100 (\text{Concentración Patrón}) = \text{mg/dL de colesterol}$$

### Anexo 11. Determinación de la concentración de triglicéridos séricos

**Método:** GPO-POD , líquido. Semi-Automatizado

### Fundamento:

La concentración sérica de triglicéridos se determinó mediante química líquida a través de reacciones acopladas que generan un compuesto coloreado, el cual se analiza por espectrofotometría. En el proceso, los triglicéridos son hidrolizados por la acción de una lipasa, produciendo glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol reacciona con ATP presente en el reactivo gracias a la enzima glicerol cinasa,

formando glicerol-3-fosfato y ADP. Posteriormente, el glicerol-3-fosfato se oxida mediante la acción de la enzima glicerol-3-fosfato oxidasa, generando dihidroxiacetona fosfato y peróxido de hidrógeno. Este último reacciona con 4-aminoantipirina y 4-clorofenol en presencia de una peroxidasa, dando lugar a un compuesto coloreado (quinonaimina), cuya absorbancia se mide a una longitud de onda de 505 nm.

### Condiciones de reacción:

Longitud de onda: 505 nm

Temperatura: 37 °C

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando agua destilada como blanco.
3. Medir y dispensar en una microplaca:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (µL)	300	300	300
Patrón (µL)	-	3	-
Muestra (µL)	-	-	3

4. Agitar cuidadosamente e incubar durante 5 minutos a 37 °C.
5. Medir la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm, utilizando el blanco de reactivo como referencia. El color desarrollado es estable durante al menos 60 minutos.

### Cálculos

$$\frac{\text{Abs Muestra}}{\text{Abs patrón}} \times 100 (\text{Concentración Patrón}) = \text{mg/dL de colesterol}$$

## Anexo 12. Determinación de la concentración de colesterol HDL reactivo precipitante

**Método:** Precipitación

### **Fundamento:**

Las lipoproteínas VLDL y LDL se precipitan del suero o plasma usando fosfotungstato con magnesio. Luego de centrifugar, el sobrenadante contiene las HDL, cuya fracción se determina mediante el reactivo enzimático para colesterol total.

Procedimiento:

### **Condiciones de reacción:**

Longitud de onda: 505 nm

Temperatura: 37 °C

1. Medir y dispensar en un tubo de ensayo:

Reactivo: 25 µL

Suero: 250 µL

2. Agitar cuidadosamente e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar 2 min a 12 rpm

4. Recoger el sobrenadante y procesar como muestra en la determinación de colesterol total.

**NOTA: Es muy importante formar el sobrenadante del menisco formado en el tubo, para ello no introducir demasiado la punta y no arrastrar las fracciones VLDL y LDL.**

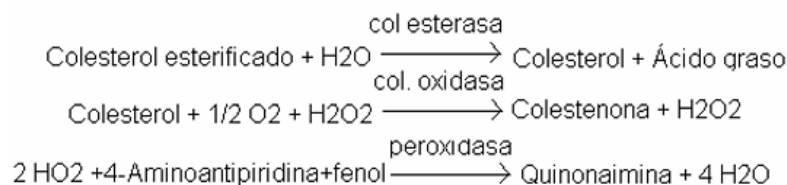
### Cálculos

$$\frac{\text{Abs Muestra}}{\text{Abs patrón}} \times 100 (\text{Concentración Patrón}) = \text{mg/dL de colesterol}$$

### Anexo 13. Determinación de la concentración de colesterol LDL reactivo precipitante

#### Fundamento

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) presentes en la muestra precipitan en presencia de polivinil. La concentración de colesterol LDL se calcula por diferencia entre los valores de colesterol en el suero y el sobrenadante obtenido tras la precipitación. El colesterol se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación.



#### Procedimiento

1. Pipetear en un tubo: 0.4ml de muestra + 0.2 ml de reactivo
2. Agitar bien y dejar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar durante 15 min. a 4,000 r.p.m.
4. Recoger con cuidado el sobrenadante
5. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.

6. Pipetear en una microplaca:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT ( $\mu\text{L}$ )	300	300	300
Patrón ( $\mu\text{L}$ )	-	3	-
Muestra ( $\mu\text{L}$ )	-	-	3

7. Agitar cuidadosamente e incubar durante 5 minutos a 37 °C.

8. Medir la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm, utilizando el blanco de reactivo como referencia. El color desarrollado es estable durante al menos 30 minutos.

#### Anexo 14. Cuantificación de proteínas totales

##### Fundamento

El método de Bradford es un ensayo colorimétrico de cuantificación de proteínas. El colorante azul brillante de Coomassie G-250 posee una forma libre, en el que presenta un color marrón rojizo y una absorción de la luz a 465 nm. Tiene la propiedad de unirse a proteínas, específicamente mediante residuos de arginina y lisina. Al hacerlo, sufre un cambio conformacional, con un cambio de color a azul y una absorbancia máxima en los 595 nm. Este cambio es directamente proporcional a la concentración de la proteína.

##### Reactivos y materiales

- Bradford: 100 mg de Coomassie Brilliant G250 en 50 mL de etanol al 95%, añadir 100 mL de ácido fosfórico al 85% y aforar a 1L con agua desmineralizada
- Albúmina sérica bovina (BSA)
- Tubos eppendorf

##### Procedimiento

##### Preparación de la muestra

- El tejido cerebral previamente disectado y congelado a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  se debe cortar en finos pedazos.
  - Homogenizar utilizando un homogenizador y una solución de lisis celular (RIPA), manteniendo la temperatura a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$
  - Centrifugar a  $10,000\times g$  por 10 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$
1. Pesar un estándar de albúmina a una concentración de  $100\text{ mg/mL}$  y a partir de él preparar los siguientes estándares:
    - a.  $10\text{ mg/mL} = 90\text{ }\mu\text{L}$  de agua +  $10\text{ }\mu\text{L}$  de albúmina
    - b.  $5\text{ mg/mL} = 50\text{ }\mu\text{L}$  agua +  $50\text{ }\mu\text{L}$  de albúmina
    - c.  $2\text{ mg/mL} = 80\text{ }\mu\text{L}$  agua +  $20\text{ }\mu\text{L}$  de albúmina
    - d.  $1\text{ mg/mL} = 50\text{ }\mu\text{L}$  agua +  $50\text{ }\mu\text{L}$  de albúmina
    - e.  $0.5\text{ mg/mL} = 50\text{ }\mu\text{L}$  agua +  $50\text{ }\mu\text{L}$  de albúmina
  2. Tanto para las muestras como para los estándares colocar en un eppendorf 2-5ul de muestra o estándar + 1mL de reactivo de Bradford, agitar con un vortex e incubar por 10 minutos a temperatura ambiente
  3. Leer la absorbancia de cada estándar y cada muestra a  $595\text{ nm}$  en un espectrofotómetro
  4. Graficar los valores de absorbancia frente a las concentraciones de proteína conocidas para generar una curva estándar
  5. Calcular la cantidad de proteínas por extrapolación con la curva estándar

## Anexo 15. Western Blot

### Fundamento

Es una técnica utilizada para la identificación de proteínas en una determinada muestra. Para ello se emplea electroforesis en gel donde las proteínas serán separadas en base a su peso molecular. Posteriormente, utilizando anticuerpos específicos se podrá detectar la proteína de interés. Consiste en una técnica semicuantitativa.

## Reactivos y Materiales

- Buffer de carga Laemmli 2X
- Marcador de Peso Molecular
- Buffer de corrimiento (Tris-Glicina 1X)
- Metanol
- Buffer de transferencia
- PBS 1X
- Metanol
- Membrana PVDF
- Leche en polvo sin grasa
- PBS-T
- Albúmina sérica bovina (BSA) 5%
- Luminol
- Celda de transferencia de geles BIORAD
- Cámara de electroforesis BIORAD

## Procedimiento

### Electroforesis SDS-PAGE

1. Preparar un gel de acrilamida al porcentaje indicado (según el peso molecular de las proteínas a detectar) en vidrios de 1.5 cm con un peine de 10 pocillos
2. Para desnaturalizar la muestra, colocar en un eppendorf 35 µg de proteína y adicionar el volumen correspondiente (1:1) de buffer de carga Laemmli 2X.
3. Colocar en el termoblock a 95 °C durante 5 minutos
4. Cargar muestras en los pocillos correspondientes del gel
5. Cargar 3 µL de marcador de peso molecular
6. Correr el gel durante 30 min a 90V y 2 h a 100V
7. Sacar el gel con cuidado y prepararlo para la transferencia húmeda en membrana de PVDF (previamente se activa la membrana sumergiéndola en metanol)

8. Transferir durante 60 min a 100V (no olvidar que la transferencia se realiza en frío)
9. Una vez concluida, retirar la membrana y lavarla 5 min con TBS-T 1X
10. Bloquear la membrana con caseína (proteína de leche 5%) durante toda la noche.
11. Lavar 3 veces con TBS-T, 10 minutos por cada lavado
12. Incubar Anticuerpo primario (dilución correspondiente) toda la noche a 4°C (o 2h a T ambiente)
13. Lavar 3 veces con TBS-T, 10 minutos por cada lavado
14. Incubar Anticuerpo secundario (dilución correspondiente) por 1 hora a temperatura ambiente
15. Lavar 3 veces con TBS-T, 10 minutos por cada lavado
16. Lavar 1 vez con TBS durante 10 minutos
17. Retirar membrana de buffer, quitar el exceso. Colocar en el fotodocumentador UVITEC Cambridge  
NOTA: No dejar secar membrana
18. Colocar 250 µL de Luminol reconstituido y cerrar la cámara.
19. Obtener la imagen correspondiente empleando el software Nine Alliance de UVITEC.

Se tomaron en cuenta las siguientes condiciones por anticuerpo:

Anticuerpo	#Catálogo	Marca	PM proteína (kDa)	%Gel	[µg proteínas]	Dilución anticuerpo
AMPKα1/2 (rabbit)	102146-T10	SinoBiological	63	10	35	1:700
SIRT1 (rabbit)	11748-R032	SinoBiological	120	8	35	1:1000
FOXO1 (rabbit)	200239-T32	SinoBiological	70-82	10	35	1:500

Lamina A (rabbit)	sc-20680	Santa Cruz Bicycles	70	10	35	1:500
$\beta$ -Actina (rabbit)	4970L	Cell signaling	45	10	35	1:1000

## Anexo 16. Aislamiento de mitocondrias

### Procedimiento

- Realizar la disección de las zonas correspondientes y realizar pequeños cortes para fraccionar el tejido.
- A 30-50 mg de tejido agregar 800  $\mu$ l de medio A.
- Utilizar un homogeneizador para obtener una suspensión homogénea sin lisar las células.
- Centrifugar a 4 °C y 2000 rpm durante 10 minutos.
- Recuperar el sobrenadante (el pellet contiene los núcleos celulares) en otro tubo eppendorf y centrifugar a 4 °C y 10,000 rpm durante 10 minutos.
- Conservar el pellet y homogenizar con 500  $\mu$ l de medio A.
- Realizar dos lavados, centrifugando 10 minutos a 10,000 rpm, conservar el pellet y volver a homogenizar con medio A, repetir proceso una vez más.
- Finalmente, resuspender el pellet en medio A y cuantificar proteínas totales.

## Anexo 17. Determinación de la síntesis de ATP

Método reportado por Vives, Bauza 2007.

### Reactivos:

Buffer A

- 150 mM KCl
- 25 mM Tris-HCl
- 2mM EDTA
- 0.1% BSA
- 10 mM KHPO<sub>4</sub>

- 0.1 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.4

#### Buffer B

- Tris Acetato 0.5 M, pH 7.75
- Luciferina 0.8mM
- Luciferasa 20 ug/mL (preparar en fresco)
  
- ATP 10 mM
- ADP 6mM
- Diadenosin pentafosfato 6mM en agua
- Malato / Piruvato
- Malato/Glutamato
- Succinato 100mM

#### Procedimiento:

1. Curva con estándares de 10, 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05 mM ATP (preparar por separado y tomar 10 ul de cada estándar)
2. Colocar 160 uL de Buffer A en el fondo del pozo o Poner 10 uL de muestra de mitocondrias aisladas o estándar de ATP en el buffer A
3. Colocar 15 uL de mix de sustratos (ADP 6mM, Diadenosin pentafosfato 6mM, sustrato 100mM) en la pared
4. Adicionar 20 uL de Buffer B u homogeneizar rápido.
5. Medir la RFU cada 15 seg durante 2 minutos en el luminómetro (Lumistat)

#### Cálculo

- Valor 2 minutos – valor inicial
- Calcular concentración de curva estándar (nmol/ATP/min)
- Dividir / ug proteínas
- Reportar como nom ATP/min/ug proteínas