



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Químicas – Instituto de Ciencias
Posgrado en Ciencias Químicas
Área de Bioquímica y Biología Molecular

Efecto del Síndrome Metabólico sobre las subpoblaciones de neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens y la respuesta hedónica en rata macho Wistar

Tesis presentada para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas en el área de Bioquímica y Biología Molecular

Presenta:

Q.F.B. Alfredo Olid Yáñez Rocha

Director de Tesis:

D.C. Alfonso Daniel Díaz Fonseca

Codirector de Tesis:

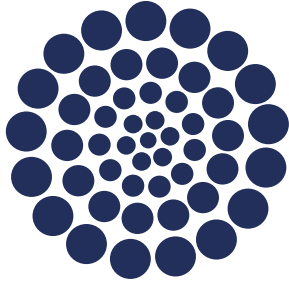
D.C. Samuel Treviño Mora



Noviembre 2025

*«¿No te lo he ordenado Yo? ¡Sé fuerte y valiente! No temas ni te acobardes, porque el Señor
tu Dios estará contigo dondequiera que vayas»*

Josué 1:9 NBLA



CONAHCYT

CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



Ciencia y Tecnología

Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación



CIUDAD DE MÉXICO
CAPITAL DE LA TRANSFORMACIÓN

SECTEI

Este trabajo de investigación fue realizado con el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), actual Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), mediante la beca nacional para estudios de posgrado concedida a Alfredo Olid Yáñez Rocha (CVU 1274224); y con el apoyo de la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México (SECTEI), a través del proyecto SECTEI/165/2023.

«La mente del hombre planea su camino, pero el Señor dirige sus pasos»

Proverbios 16:9 NBLA

Este trabajo fue presentado en el LXVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas celebrado en Querétaro el 02 de septiembre de 2025, en las instalaciones de la Universidad Nacional Autónoma de México Campus Juriquilla.



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C.
Otorga la presente



LXVIII

CONSTANCIA

a

Alfredo Olid Yáñez Rocha

por

asistir al LXVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas

**Congreso Nacional de la
Sociedad Mexicana de
Ciencias Fisiológicas, A.C.**

celebrado en Juriquilla, Querétaro, Qro., del 2 al 5 de septiembre de 2025

Dra. Margarita Martínez Gómez
Presidenta



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C.
Otorga la presente



LXVIII

CONSTANCIA

a

**Yañez Rocha AO, Treviño Mora S, Díaz Fonseca AD, Vázquez
Roque RA, Boucard A Jr**

por la presentación del cartel titulado:

**EFFECTO DEL SÍNDROME METABÓLICO SOBRE EL NÚCLEO ACCUMBENS
Y LA RESPUESTA HEDÓNICA EN RATA WISTAR MACHO**

**Congreso Nacional de la
Sociedad Mexicana de
Ciencias Fisiológicas, A.C.**

incluida en el programa académico del LXVIII Congreso Nacional, celebrado en Juriquilla,
Querétaro, Qro., 2 de septiembre de 2025

Dra. Margarita Martínez Gómez
Presidenta

«A su debido tiempo, yo, el Señor, haré que esto suceda»

Isaías 60:22 NTV



BUAP

Oficio No. PCQ/297/2025

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 síndrome metabólico sobre las subpoblaciones de neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens y la respuesta hedónica en rata macho Wistar*, ha sido avalada bajo los preceptos de integridad académica; por tanto, se autoriza la impresión de tesis del alumno:

Nombre del alumno: **Alfredo Olid Yáñez Rocha**
Matrícula: **223470211**
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 Solano Altamirano
Secretario Académico


D.C. Alfonso Daniel Díaz Fonseca
Director de Tesis


D.C. Samuel Treviño Mora
Codirector 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

GRACIAS

A Dios

Por siempre haber estado tras mí, mis pasos, que a pesar de los momentos donde parecía que soltaba las riendas, nunca me desamparó. Por darme la valentía de cruzar una etapa más que ahora concluye. Por iluminarme y otorgarme la consciencia para observar lo afortunado y bendecido que soy al haber nacido hijo suyo.

A mis padres

Ma. Estela Rocha Fernández y Alfredo Tangaxhuan Yáñez González, quienes nunca perdieron la paciencia en ayudar a aquél pequeño risueño que desde la primaria mostraba ser aguerrido, o tal vez un poco distraído. Que gracias a todos sus esfuerzos y enseñanzas, ha logrado trazar y perseguir su camino de vida.

A mis colaboradoras

Claudia y Karen, por haber otorgado su apoyo en los experimentos y las eventualidades lo largo del posgrado, tanto en las clases, como en el laboratorio. A Lupita, quién también me otorgó su ayuda, extendió su mano en experimentos, el laboratorio y al compartirme su tiempo escuchándome.

A mis directores de tesis

Alfonso Daniel Díaz Fonseca y Samuel Treviño Mora, por brindar a un estudiante la oportunidad de cumplir uno de sus sueños, que resurgió en el último momento de su paso por la licenciatura, para por fin comprender lo gigante y sorprendente que puede ser el mundo de la ciencia.

RESUMEN

El consumo crónico de alimentos altamente palatables, como las dietas altas en carbohidratos (HCD) se asocia al desarrollo de síndrome metabólico (SMet). El SMet es una condición sistémica caracterizada por resistencia a la insulina (RI), con una posible influencia en la respuesta hedónica y motivacional. Estas dietas palatables suponen un estímulo constante al núcleo accumbens (NAc), por lo que se desconoce cómo estas dietas impactan la conducta hedónica y las neuronas espinosas medianas (MSN). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del SMet, inducido por una HCD sobre las subpoblaciones de MSN del NAc que expresan receptores DIR o D2R, y la respuesta hedónica en ratas Wistar macho. Se utilizaron 30 ratas macho Wistar divididas en dos grupos: grupo de dieta estándar (NCD) y grupo HCD durante 90 días. Se realizaron análisis zoométricos, seguimiento del consumo alimentario, pruebas conductuales, determinaciones bioquímicas basales y tras una prueba de tolerancia oral a la glucosa. A nivel cerebral, se analizó la histología del NAc y se evaluó la expresión de receptores dopaminérgicos y el marcador neuronal c-Fos. Los resultados bioquímicos mostraron que el grupo HCD desarrolló SMet, caracterizado por hiperglicemia, RI y dislipidemia. El grupo HCD mostró alteraciones en la homeostasis de carbohidratos tras una carga de glucosa mostrando hiperinsulinemia, hiper glucagonemia e hipertrigliceridemia; además de alteraciones en la liberación de adipocinas. A nivel conductual, el grupo HCD presentó mayor tiempo de inmovilidad, alteraciones en la microestructura de lamidas en el consumo de sacarosa, con menor cantidad de episodios y de lamidas. Mayor consumo en una prueba de alimentación novedosa, y déficits en el aprendizaje asociativo en el laberinto de Barnes durante el primer día de entrenamiento. Histológicamente, se observó un aumento de núcleos picnóticos en el NAc del grupo HCD, sin alteraciones en la mielinización. El análisis morfológico por Golgi-Cox reveló menor longitud dendrítica y menor densidad de espinas dendríticas en las MSN del grupo HCD, pero con viabilidad. A nivel molecular, el grupo HCD mostró una disminución en la cantidad de DIR y un aumento de D2R presentes en el NAc, tanto en Core como en Shell, junto con una reducción en el número de núcleos c-Fos positivos sugiriendo menor activación celular. En conclusión, este trabajo muestra que el SMet altera la conducta hedónica y motivacional, asociándose a cambios sugerentes de adaptación, mas no degenerativos, en la morfología neuronal y una modulación diferencial de los receptores dopaminérgicos en el NAc.

ABSTRACT

Chronic consumption of highly palatable foods, such as high-carbohydrate diets (HCD), is associated with the development of metabolic syndrome (MetS). MetS is a systemic condition characterized by insulin resistance (IR) and may influence hedonic and motivational responses. These palatable diets provide a constant stimulus to the nucleus accumbens (NAc); thus, it is unknown how they affect hedonic behavior and medium spiny neurons (MSNs). The work aimed to evaluate the effect of MetS induced by an HCD on subpopulations of NAc MSNs expressing D1R or D2R receptors and on the hedonic response in male Wistar rats. Thirty male Wistar rats were used, divided into two groups: a standard diet group (NCD) and an HCD group, for 90 days. Zoometric analyses, monitoring of food consumption, behavioral tests, and biochemical determinations (basal and oral glucose tolerance test) were performed. At the brain level, NAc histology was analyzed, and the expression of dopaminergic receptors and the neuronal marker c-Fos was evaluated. The HCD group developed MetS, characterized by hyperglycemia, IR, and dyslipidemia. This group also showed alterations in hormones metabolically associated with it. The HCD group increased immobility time, altered licking microstructure during sucrose consumption (fewer episodes and licks), increased consumption in a novel feeding test, and showed deficits in associative learning in the Barnes maze on the first day of training. Histologically, pyknotic nuclei in the NAc were augmented in the HCD group, without alterations in myelination. Morphological analysis by Golgi-Cox revealed shorter dendritic length and lower dendritic spine density in the MSNs of the HCD group, yet cell viability was preserved. At the molecular level, the HCD group showed decreased D1R expression and increased D2R expression in the NAc, in both the Core and the Shell, along with a reduction in the number of c-Fos-positive nuclei, suggesting lower cellular activation. In conclusion, this work shows that MetS alters hedonic and motivational behavior, and that these changes are associated with adaptive adaptations without neuronal morphological degeneration and differential modulation of dopaminergic receptors expression in the NAc.

Índice general

Índice de Figuras	15
Índice de Ilustraciones	16
Abreviaturas.....	17
1. Marco Teórico	20
1.1. Síndrome Metabólico.	20
1.1.1. Factores de riesgo.	20
1.1.2. Efectos fisiológicos de la insulina.	20
1.1.3. Vías de señalización celular de la insulina.	22
1.1.4. Alteraciones fisiopatológicas.....	23
1.1.5. Dieta y SMet.....	25
1.1.6. Efectos del SMet en el SNC.	25
1.2. Consumo de alimentos, liberación de insulina y el cerebro.	25
1.2.1. El síndrome metabólico y el efecto de la insulina en el cerebro	26
1.2.2. Efectos de la insulina en el cerebro.	26
1.3. Sistema Hedónico.	27
1.3.1. Regulación del placer y la recompensa.	28
1.3.2. Disfunción del sistema hedónico.....	29
1.3.3. Paradigmas en la evaluación conductual hedónica y motivacional.....	29
1.4. Neurobiología del Núcleo Accumbens.....	31
1.4.1. Neuroanatomía del NAc.	31
1.4.2. Conectividad aferente y eferente.	32
1.4.3. Neuronas Espinosas Medianas.	33
1.4.4. Vía directa e indirecta.....	33
1.4.5. Neuroquímica del NAc.....	33
1.4.6. Plasticidad sináptica y remodelamiento dendrítico	35
1.4.7. Integración NAc – MSN – Conducta.	36
1.5. Receptores dopaminérgicos.....	37
1.5.1. Biología del receptor D1.....	38
1.5.2. Biología del receptor D2.....	38

1.5.3.	Regulación de la actividad y disponibilidad.....	39
2.	Planteamiento del problema	40
3.	Justificación	41
4.	Hipótesis	42
4.1.	Hipótesis nula	42
4.2.	Hipótesis alternativa	42
5.	Objetivos.....	42
5.1.	Objetivo general.	42
5.1.1.	Objetivos específicos.....	42
6.	Metodología.....	43
6.1.	Animales.....	43
6.2.	Dieta	43
6.3.	Conformación de los grupos.....	44
6.4.	Análisis zoométricos.	44
6.5.	Consumo de alimentos.	44
6.6.	Pruebas conductuales.....	45
6.6.1.	Prueba de preferencia a la sacarosa (SPT).....	45
6.6.2.	Prueba de suspensión de cola (TST).....	46
6.6.3.	Prueba de alimentación novedosa en ayuno (NSFT).....	46
6.6.4.	Laberinto de Barnes.....	46
6.7.	Muestras sanguíneas.	47
6.8.	Eutanasia y obtención de suero.	47
6.9.	Determinaciones séricas.	48
6.9.1.	Pruebas bioquímicas.	48
6.9.2.	Insulina y glucagón.....	49
6.9.3.	Índices de resistencia y adiposidad.....	49
6.10.	Procesamiento del tejido.....	50
6.10.1.	Tinción Hematoxilina & Eosina.	50
6.10.2.	Tinción de Azul de Luxol.....	50
6.10.3.	Tinción de Golgi-Cox.....	50
6.10.4.	Inmunofluorescencias.....	51

6.11.	Análisis de imágenes.	52
6.12.	Análisis estadístico.	53
6.13.	Diagrama de Trabajo	53
7.	Resultados.....	54
7.1.	Efecto del consumo de una dieta alta en carbohidratos sobre el consumo alimentario y los parámetros zoométricos.	54
7.2.	Caracterización de los cambios bioquímicos metabólicos de los individuos de experimentación.....	56
7.3.	Valoración de las alteraciones de la conducta hedónica y de motivación de los grupos experimentales.	60
7.4.	Análisis histológico del núcleo accumbens en los animales con síndrome metabólico. 62	
7.5.	Evaluación de la funcionalidad dopaminérgica y de activación en el núcleo accumbens.	66
8.	Discusión.	69
8.1.	Cambios zoométricos en respuesta al consumo de una dieta alta en carbohidratos. .	69
8.2.	Impacto de la dieta en el metabolismo basal y dinámico de carbohidratos y lípidos y su modulación endócrina.	76
8.3.	Alteraciones en la conducta hedónica y motivacional.....	82
8.4.	Alteraciones histológicas y celulares en el núcleo accumbens producto del síndrome metabólico.	92
8.5.	Modulación de la señalización dopaminérgica y la activación neuronal en el núcleo accumbens.	101
9.	Conclusión.....	111
10.	Referencias.	111
11.	Anexos.....	160
11.1.	Inmunofluorescencia para D1R.....	160
11.2.	Inmunofluorescencia para D2R.....	162
11.3.	Inmunofluorescencia para c-Fos.....	164
11.4.	Brightfield correction para imágenes de inmunofluorescencia.	166
11.5.	Umbralización para análisis cuantitativo de imágenes de fluorescencia.....	168

11.6.	Eliminación de artefactos de iluminación mediante recorte manual en ImageJ..	170
11.7.	Aplicación de LUT para visualización de imágenes de fluorescencia.	172
11.8.	Procesamiento en línea de un canal de fluorescencia para su análisis cuantitativo. 173	
11.9.	Establecimiento de un rango de visualización uniforme para imágenes de fluorescencia.	177
11.10.	Alineación de canales de fluorescencia empleando la herramienta StackReg en ImageJ.	179

Índice de Figuras

Figura 1. Panorama general de los efectos fisiológicos en órganos periféricos por acción de la insulina..	21
Figura 2. Alteraciones multiorgánicas observadas en el desarrollo del síndrome metabólico (SMet).....	24
Figura 3. Efectos de la insulina en el cerebro.....	27
Figura 4. Matriz traduccional de la depresión en humanos a modelos murinos.	30
Figura 5. Principales aferentes del núcleo accumbens (NAc).....	32
Figura 6. Señalización de la dopamina a través de sus distintos receptores modulando la excitabilidad neuronal.....	37
Figura 7. Evaluación de la ingesta de alimentos y el consumo energético tras 90 días de inducción en ratas NCD y HCD	55
Figura 8. Comparación de parámetros zoométricos en ratas NCD y HCD al final del periodo experimental	56
Figura 9. Comparación de los parámetros metabólicos basales en ratas NCD y HCD a la fecha de corte	57
Figura 10. Curvas de respuesta metabólica tras una carga oral de glucosa en los grupos NCD y HCD.....	59
Figura 11. Evaluación de la conducta hedónica en ratas NCD y HCD.....	60
Figura 12. Desempeño de los grupos experimentales NCD y HCD en el laberinto de Barnes.	62
Figura 13. Histología del núcleo accumbens.....	63
Figura 14. Análisis morfológico de neuronas del núcleo accumbens mediante tinción de Golgi-Cox.	64
Figura 15. Análisis de la intensidad fluorescente en células del NAc teñidas con naranja de acridina.	65
Figura 16. Expresión de los receptores dopaminérgicos en el NAc Core.	67
Figura 17. Expresión de los receptores dopaminérgicos en el NAc Shell.....	68
Figura 18. Evaluación de la activación neuronal en el NAc mediante inmunofluorescencia para cFos.....	69

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1. Los distintos tipos de estímulos pueden ser integrados de forma positiva (recompensa) o negativa (aversión), conforme a la señalización que recibe de múltiples regiones, y como es que se integran en el NAc	84
Ilustración 2. Eventos intracelulares implicados en la regulación de CREB. Neurotrofinas y receptores de neurotransmisores como TrkB, AMPA y NMDA, además de GPCRs, desencadenan señales de señalización celular que culminan en la fosforilación de CREB en Ser133, permitiendo su activación	98
Ilustración 3. Las MSN del NAc tienen efectos opuestos: la activación de las D1-MSN en la vía directa resulta en la desinhibición del tálamo, favoreciendo las aferencias corticales. En contraste, las D2-MSN favorecen señales proinhibitorias en el tálamo, lo que aminora la llegada de señales a nivel cortical.	102
Ilustración 4. Vías de señalización de los receptores dopaminérgicos D1 o D2, responsables de regular la fosforilación de sustratos dependiente de la activación de la PKA. Las flechas negras y rojas representan activación e inhibición, respectivamente.....	106

Abreviaturas

AC	Adenilato Ciclasa
AGL	Ácidos Grasos Libres
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
AUP	Alimentos Ultraprocesados
Camp	Proteína Cinasa dependiente de Calcio Calmodulina
cAMP	Adenosín Monofosfato cíclico
ChR	Canal de Rodopsina
CBP	Proteína de Unión a CREB
CRE	Elementos de Respuesta de Ca^{2+} /cAMP
CREB	Proteína de Unión a los CRE
CRP	Proteína C Reactiva
DAI	Índice de Disfunción Adipocitario
D1R	Receptor de Dopamina 1
D2R	Receptor de Dopamina 2
D1-MSN	Neurona Espinosa Mediana D1
D2-MSN	Neurona Espinosa Mediana D2
DLS	Estriado Dorsolateral
DSM-V	Manual Estadístico y Diagnóstico de los Desórdenes Mentales – V
FoxO	Proteína caja de horquilla O
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GPCR	Receptor Acoplado a Proteína G
GPe	Globo Pálido externo
GPI	Globo Pálido interno

IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
LHb	Habénula Lateral
MAPK	Proteínas Cinasas Asociadas a Mitógeno
MSN	Neurona Espinosa Mediana
mTOR	Objetivo Mamífero de Rapamicina
NAc	Núcleo Accumbens
NIMH	Instituto Nacional de Salud Mental
NMDA	N-metil-D-aspartato
NSFT	Prueba de Alimentación Novedosa en Ayuno
NTS	Núcleo del Tracto Solitario
PDK	Cinasa Dependiente de Fosfoinosítido
PGH	Producción de Glucosa Hepática
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato
PKA	Proteína Cinasa A
PKC	Proteína Cinasa C
PTOG	Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa
RAS	Sistema Renina Angiotensina
RDoC	Criterios de Dominio de Investigación
RI	Resistencia a la Insulina
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
SAT	Tejido Adiposo Subcutáneo
SMet	Síndrome Metabólico
SNC	Sistema Nervioso Central

SNr	Substancia Nigra pars reticulata
SPT	Prueba de Preferencia a la Sacarosa
TGI	Tracto Gastrointestinal
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral alfa
TST	Prueba de Suspensi3n de Cola
VAT	Tejido Adiposo Visceral

1. Marco Teórico

1.1. Síndrome Metabólico.

El síndrome metabólico (SMet) es un grupo de alteraciones metabólicas que en conjunto aumentan el riesgo de que un individuo padezca enfermedades cardiovasculares y diabetes (Treviño & Diaz, 2023). Desde la propuesta de la OMS en 1998 (K. G. Alberti & Zimmet, 1998) el SMet ha tenido distintas definiciones, la más actual fue propuesta en 2009 por un grupo de trabajo internacional conformado por diferentes organizaciones (K. G. M. M. Alberti et al., 2009), definiendo al SMet como la presencia de al menos tres de los siguientes factores: (1) aumento de la circunferencia abdominal, (2) triglicéridos en ayuno ≥ 150 mg/dL o en tratamiento, (3) Colesterol de Alta Densidad (HDL-C) en ayuno < 40 mg/dL hombres o < 50 mg/dL en mujeres, (4) tensión arterial sistólica ≥ 130 y/o diastólica ≥ 85 mmHg o en tratamiento y (5) glucosa en ayuno ≥ 100 mg/dL o en tratamiento.

1.1.1. Factores de riesgo.

Existen múltiples factores de riesgo para desarrollar SMet, tales como lo son: edad, sexo, raza, índice de masa corporal elevado, sedentarismo, alto consumo de alcohol, deficientes hábitos alimentarios tales como el bajo consumo de fibra alimentaria y un aumento del consumo de alimentos altos en grasa o en carbohidratos que son altamente palatables (Carnethon et al., 2004).

1.1.2. Efectos fisiológicos de la insulina.

En estados de ayuno (como en el ayuno matutino), la producción de glucosa endógena hepática y renal (principalmente hepática; $\approx 80\%$) es de 2.0 mg/kg/min debido a la acción de diversas hormonas (DeFronzo et al., 1989). Tras el consumo y catabolismo de carbohidratos y su posterior entrada al torrente sanguíneo, se estimula la secreción de insulina que favorece un amplio espectro de respuestas metabólicas de manera concertada (Figura 1): se inhibe la producción de glucagón (Cherrington, 1999) y se favorece la disminución de la producción de glucosa hepática (PGH), actúa sobre el receptor de insulina sobre miocitos promoviendo la externalización de transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) (DeFronzo, 1988), que favorece la captura de glucosa al músculo, al igual que en el tejido adiposo (DeFronzo et al., 1983). No obstante, en el tejido adiposo su función primordial es la disminución de la lipólisis, reduciendo

la concentración de ácidos grasos libres (AGL) en plasma (GROOP et al., 1991), que a su vez favorece el estado de sensibilidad del tejido muscular y hepático a la insulina (Bajaj et al., 2005; Moore et al., 2004). Todos estos efectos metabólicos se deben a su capacidad de integrar la cascada de señalización celular de la Fosfatidil Inositol 3-Cinasa – Proteína Cinasa B (Akt) PI3K/Akt que favorecen un acople de supervivencia, crecimiento y anabolismo debido a la integración de múltiples proteínas involucradas en el metabolismo celular (Isakoff et al., 1995; Jaiswal et al., 2019; Norton et al., 2022).

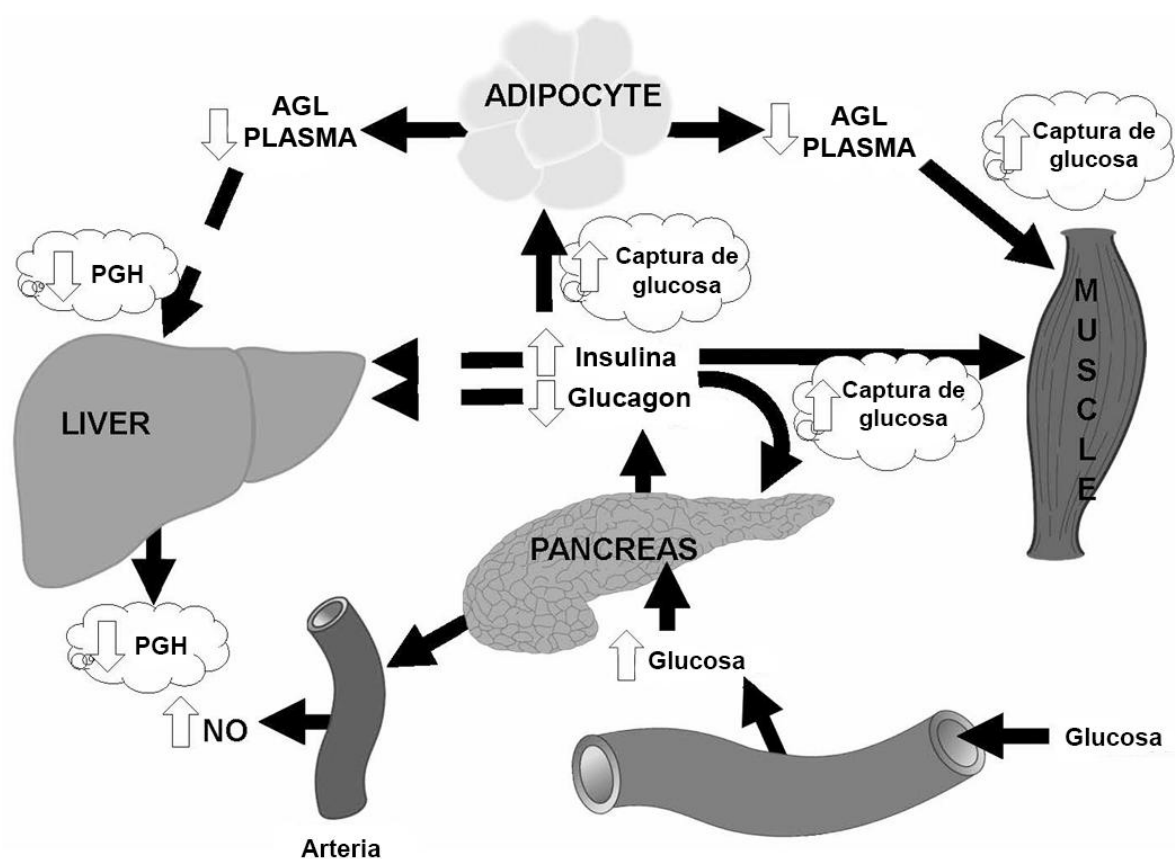


Figura 1. Panorama general de los efectos fisiológicos en órganos periféricos por acción de la insulina. Tras el ingreso de la glucosa al torrente sanguíneo, se desencadenan múltiples efectos sistémicos mediados por la liberación de insulina, como la disminución de la producción de glucosa hepática (PGH), la disminución de los ácidos grasos libres (AGL) y el aumento del óxido nítrico (NO). Esta insulina será la responsable de generar señales en los tres principales órganos sensibles a la insulina para su metabolismo y posterior almacenamiento (hígado, músculo y tejido adiposo). Adaptado de Norton et al., 2022.

Estos efectos de manera simultánea son los que permiten tener una regulación homeostática de la concentración de glucosa en sangre (Ferrannini & DeFronzo, 2015) y son una visión general de un proceso mucho más amplio y complejo involucrando el metabolismo de múltiples órganos de forma concertada (DeFronzo, 2009), como lo es el sistema nervioso central (SNC).

1.1.3. Vías de señalización celular de la insulina.

Como se ha descrito anteriormente, la insulina es la hormona que regula el metabolismo energético de la glucosa promoviendo su circulación a tejidos, el resguardo glucogénico, la lipólisis, la señalización asociada al anabolismo y la supervivencia celular (Norton et al., 2022). Todos los efectos previamente señalados se deben a la unión de la insulina con su receptor.

Al acoplarse la insulina con la subunidad α del receptor (extracelular), se favorece un cambio de conformación que permite la dimerización del receptor y la autofosforilación de las subunidades β (intracelulares) debido a su actividad intrínseca de tirosina cinasa (J. Lee et al., 2014). Esta autofosforilación de la subunidad β es la que permite el acople de proteínas adaptadoras como los sustratos del receptor de insulina (IRS) o las proteínas adaptadoras de homología Src y colágeno (Shc) (Taniguchi et al., 2006) que favorecen la integración de la señalización del brazo metabólico o el mitogénico: 1) la vía PI3K/Akt/mTOR (Shepherd et al., 1998) y 2) la vía de las proteínas cinasas asociadas a mitógeno (MAPK) Raf/Ras/MEK/MAPK (Avruch, 2007).

La activación de la vía PI3K se debe a la unión de las subunidades reguladoras p85 o p55 a los IRS que permiten la activación de la actividad catalítica p110, resultando en la formación de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), que permite la activación de la cinasa dependiente de fosfoinosítido (PDK) y la subsecuente fosforilación de la proteína Akt (Shepherd et al., 1998). Akt entonces fosforilará diferentes sustratos en cascada abajo como el objetivo mamífero de rapamicina (mTOR), la cinasa de la glucógeno sintasa 3 β (GSK-3 β) y la proteína caja de horquilla O1 (FoxO1), promoviendo la síntesis de proteínas, estado de supervivencia, glucogénesis y lipogénesis (Bastie et al., 2005; De Meyts, 2016; G. Y. Liu & Sabatini, 2020). Es debido a la integración de esta vía de señalización que observamos los efectos de la insulina en el organismo.

1.1.4. Alteraciones fisiopatológicas.

Tras el desarrollo de resistencia en la señalización de insulina en diversos tejidos, ocurre una variedad de alteraciones: disminuye la actividad inhibitoria de la lipólisis en el tejido adiposo, produciendo un aumento de AGL en plasma, empeorando el estado de resistencia en órganos periféricos (Boden & Shulman, 2002). Los AGL en conjunto con la baja sensibilidad muscular a la insulina generan un microambiente en donde disminuye la translocación de GLUT4, reduciendo la captación de glucosa (Griffin et al., 1999). Los AGL también tienen efectos en otros tejidos como el hígado, promoviendo gluconeogénesis y lipogénesis, que perpetúan el aumento y permanencia de la glucosa en sangre; lo cual favorece la hiperinsulinemia compensatoria que eventualmente provocará agotamiento pancreático, disminución en los niveles de insulina y favorecerá efectos lipotóxicos aditivos en las células β -pancreáticas (Unger & Zhou, 2001).

Los efectos fisiopatológicos producto de las alteraciones vistas en estados de resistencia a la insulina (RI) y de SMet son de amplio espectro (Figura 2). Los principales pilares de la enfermedad son la obesidad, disfunción del tejido adiposo, dislipidemia y RI. Adicionalmente, alteraciones como la disfunción endotelial, estrés oxidativo crónico, inflamación sistémica de bajo grado y eventos aterotrombóticos se han considerado factores patogénicos importantes en el desarrollo de alteraciones cardiovasculares y diabetes (Fahed et al., 2022; Samson & Garber, 2014). En los últimos años se ha reconocido la importancia del SMet en el deterioro cognitivo (Yates et al., 2012), demencia (Borshchev et al., 2019) y en enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson (Muddapu et al., 2020)

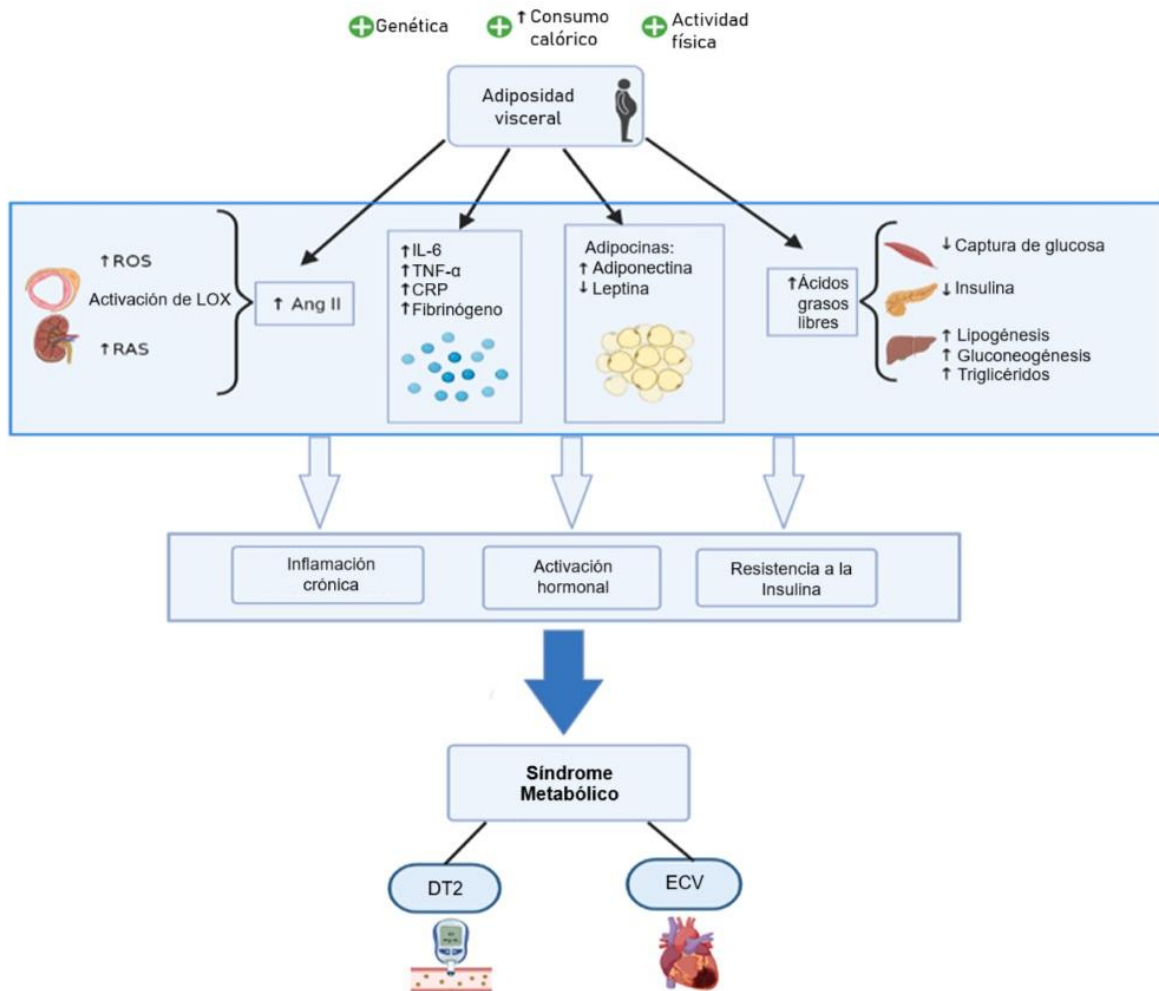


Figura 2. Alteraciones multiorgánicas observadas en el desarrollo del síndrome metabólico (SMet). Factores de riesgo (genética, consumo calórico, actividad física) promueven la adiposidad visceral. Este estado induce múltiples vías patológicas interconectadas: **(1)** un aumento en las especies reactivas de oxígeno (ROS) y la activación del sistema renina-angiotensina (RAS); **(2)** un estado proinflamatorio sistémico caracterizado por niveles elevados de interleucina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y proteína C-reactiva (CRP); **(3)** una desregulación de las adipocinas, con disminución de adiponectina y aumento de leptina; y **(4)** un incremento de ácidos grasos libres que afecta la homeostasis de la glucosa en tejidos periféricos. Estos procesos convergen en la inflamación crónica, la alteración hormonal y la resistencia a la insulina, pilares centrales del SMet, que a su vez predisponen al desarrollo de diabetes tipo 2 (DT2) y enfermedad cardiovascular (ECV). Adaptado de Fahed et al., 2022.

1.1.5. Dieta y SMet.

Se tiene ampliamente identificado que las dietas caracterizadas por el alto consumo de grasas saturadas, azúcares refinados, alimentos procesados y escasa ingesta de fibras son un factor de riesgo importante para el desarrollo de SMet (Angelico et al., 2023). Es así como las dietas que implican un consumo crónico elevado de carbohidratos desarrollan SMet (Y.-S. Liu et al., 2019; Rodríguez-Monforte et al., 2017).

Esta conducta alimentaria basada en alimentos palatables supone un estímulo constante al sistema hedónico, en donde alimentos con un índice glicémico elevado (Lennerz et al., 2013), altamente procesados (P. J. Rogers et al., 2024) o con alto contenido de carbohidratos (Holsen et al., 2021) estimulan fuertemente las regiones involucradas en el procesamiento hedónico.

1.1.6. Efectos del SMet en el SNC.

El SNC es también afectado producto de los estados de RI observados en órganos periféricos (Treviño et al., 2015, 2022) o inclusive en pacientes con enfermedades neurodegenerativas (Arnold et al., 2018). Deficiencias en la señalización (Talbot et al., 2012), acúmulos de β -amiloide (Moloney et al., 2010) y declive cognitivo son tan solo algunos de los rasgos observados en estados de SMet y RI (Grillo et al., 2019; Kang et al., 2023; Nguyen et al., 2020; Segura et al., 2009; Tsai et al., 2022).

1.2. Consumo de alimentos, liberación de insulina y el cerebro.

Durante el consumo de un alimento, múltiples señales a lo largo del tracto gastrointestinal (TGI) son capaces de activar células enteroendócrinas especializadas que detectan el tipo de macronutriente contenido en los alimentos (W. W. Liu & Bohórquez, 2022), enviando señales al sistema nervioso mediante el nervio vago que es capaz de discernir las señales provenientes de carbohidratos o lípidos (McDougale et al., 2024), produciendo el mayor estímulo central cuando dichos nutrientes son coadministrados. Es así como el consumo de alimentos con alto contenido lipídico o glucídico induce elevados estados de saciedad y/o recompensa tras su consumo (de Araujo et al., 2020; Kindleysides et al., 2017).

En estados postingesta, señales como insulina y leptina modulan la actividad de las neuronas liberadoras de péptido relacionado a agouti/neuropéptido Y (AGRP/NPY) – pro-opiomelanocortina/transcripto relacionado a cocaína-anfetamina (POMC/CART) (Myers et al.,

2021), que activan regiones hedónicas como el Núcleo Accumbens (NAc) y el Área Tegmental Ventral (VTA) (Tyree & de Lecea, 2017; Volkow et al., 2011). De este modo los alimentos con alta palatabilidad activan el sistema hedónico, responsable de la recompensa como respuesta a un alimento. Por lo que los alimentos independientemente de su valor nutricional producen una sensación de placer.

1.2.1. El síndrome metabólico y el efecto de la insulina en el cerebro

El conocimiento acerca de la insulina y el SNC ha cambiado en las últimas décadas: desde el hallazgo del receptor de insulina en el cerebro (B. J. Goldstein et al., 1987; Havrankova, Roth, et al., 1978), la presencia de la hormona en múltiples regiones cerebrales (Dorn et al., 1984; Havrankova, Schmechel, et al., 1978), su expresión *in situ* (Raizada, 1983; Weyhenmeyer & Fellows, 1983) y la caracterización de su transporte al parénquima (King & Johnson, 1985), hasta la consolidación de un vasto bagaje de investigación que propone al cerebro como un órgano sensible (de manera no ortodoxa) a insulina (Brüning et al., 2000; Dakic et al., 2023; DeFronzo, 2009; García-Cáceres et al., 2016; Kullmann et al., 2016; Milstein & Ferris, 2021).

1.2.2. Efectos de la insulina en el cerebro.

Una vez la insulina liberada a la sangre y transportada al cerebro, la unión de la hormona al RI juega un rol esencial en el funcionamiento sináptico (Figura 3): La insulina mejora la plasticidad sináptica y el crecimiento de las neuritas (Chiu et al., 2008), modula la liberación y recaptura de catecolaminas, la expresión y localización de receptores ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA), N-metil-D-aspartato (NMDA) y ácido γ -aminobutírico (GABA) (van der Heide et al., 2005), y promueve la supervivencia neuronal mediante la inhibición de la apoptosis (S.-J. Kim & Han, 2005). Mientras que en astrocitos favorece la captura y el metabolismo glucolítico. Si bien la insulina no ejerce efectos como la traslocación a la membrana plasmática de transportadores GLUT4 en el cerebro como en la periferia (salvo en regiones específicas; Leloup et al., 1996), en ratones knockout del receptor de insulina (IRKO) específico de astrocito se ha visto que existe una disminución de la captura de glucosa en el cerebro, así como una disminución en la expresión del mRNA de GLUT1 (García-Cáceres et al., 2016). Otros estudios han puesto en evidencia la translocación de GLUT3 en neuronas (Uemura & Greenlee, 2006) y GLUT1 en astrocitos (Fernandez et al., 2016) de forma dependiente de la insulina.

Más allá de su rol en la homeostasis de la glucosa y la plasticidad sináptica, la señalización de la insulina ejerce una influencia moduladora crítica sobre los circuitos neuronales que gobiernan la conducta alimentaria y la motivación. Se ha demostrado que existen receptores de insulina en regiones clave del sistema de recompensa, incluyendo el VTA y el NAc, de modo que la insulina actúa como una señal de saciedad a nivel central, capaz de modular la actividad de las neuronas dopaminérgicas y el valor hedónico de los alimentos (J. C. Patel et al., 2023).

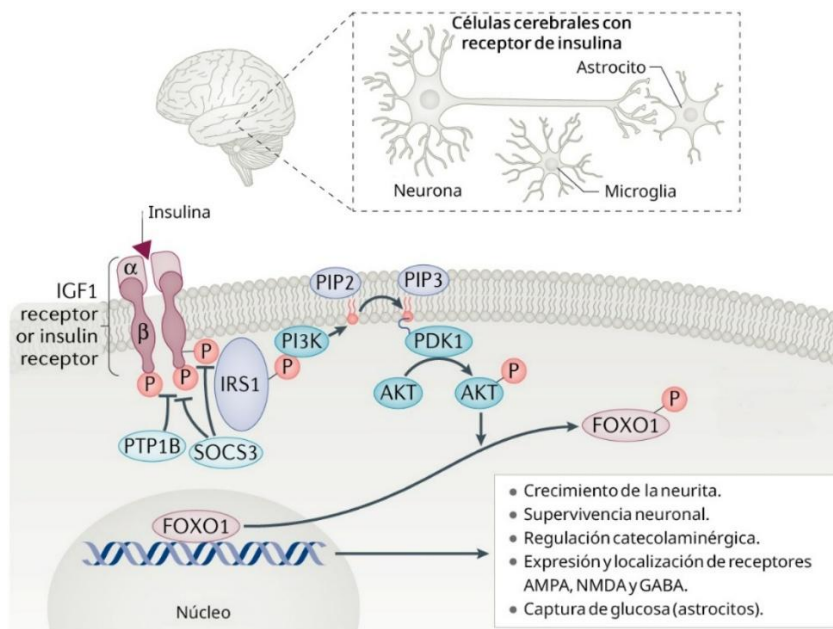


Figura 3. Efectos de la insulina en el cerebro. Los receptores de insulina se pueden encontrar en múltiples regiones del cerebro y realizan sus efectos a través de la unión con su ligando, autofosforilando residuos intracelulares de tirosina. Estos residuos fosforilados permiten el acople y la fosforilación de los IRS, favoreciendo la vía de señalización de la PI3K-Akt. Adaptado de Scherer et al., (2021)

1.3. Sistema Hedónico.

Como se ha mencionado, el consumo de alimentos puede activar regiones cerebrales que miden la respuesta hedónica o placentera de los alimentos. El placer por estímulos sensoriales positivos es un componente inherente del estado de recompensa. La preferencia por un estímulo placentero puede contribuir a su consumo excesivo y a trastornos como la adicción (Hyman

et al., 2006). Ejemplo de ello es su asociación al desarrollo de obesidad por el exceso de consumo de alimentos (Volkow & Baler, 2015). La constante búsqueda del placer se debe a la activación frecuente del sistema de recompensa, del cual se han reconocido dos principales núcleos que concentran la información sensorial hedónica (Lewis et al., 2021): El VTA, que es el principal núcleo dopaminérgico (ubicado anatómicamente en el mesencéfalo) y está asociado al sistema de recompensa debido a la proyección y liberación de dopamina sobre la región ventral del cuerpo estriado subcortical (Hou et al., 2024). Esta subregión del cuerpo estriado es conocida como el NAc, núcleo de proyección GABAérgica sobre distintas regiones de relevo que integran la información de diferentes regiones, responsables de señalar placer o aversión de acuerdo a la integración del estímulo recibido (Saunders et al., 2018).

1.3.1. Regulación del placer y la recompensa.

El sistema hedónico y el sistema límbico son esenciales para la modulación de varias actividades cerebrales, influenciando directamente el comportamiento motivado y el aprendizaje (Coimbra et al., 2019). El NAc, en particular, desempeña un papel crucial en el aprendizaje y los comportamientos guiados o relacionados con la búsqueda de recompensas (McDevitt & Graziane, 2018; K. N. Wright & Wesson, 2021). Lo cual puede estar asociado a la activación directa por aferentes glutamatérgicas o por la liberación de dopamina en concentraciones suficientes. Sin embargo, existen mecanismos para controlar estos estados de placer o incluso generar aversión.

Existen múltiples subpoblaciones neuronales en el VTA que permiten la neurotransmisión interregión o intrarregión (Oriol et al., 2025): se conoce que las neuronas glutamatérgicas del VTA pueden activar a la habénula lateral (LHb) y señalar aversión al estímulo generado (Root et al., 2014), así como neuronas GABAérgicas que señalizan de manera local inhibiendo a las neuronas dopaminérgicas del VTA (Omelchenko & Sesack, 2009). Dentro del estriado se conoce que entre el 5% – 10% de las neuronas son interneuronas GABAérgicas que regulan finamente el tono de activación de las diferentes subpoblaciones de neuronas de proyección (Oorschot, 2013), y un \approx 2% de interneuronas colinérgicas que regulan también la actividad neuronal; además, de que existe un mecanismo de inhibición lateral descrito entre las neuronas de proyección del NAc (Kohnomi et al., 2017).

1.3.2. Disfunción del sistema hedónico.

En estados de disfunción del sistema de recompensa, existen alteraciones en la conducta de los individuos que presentan cambios en la función del sistema de recompensa debido a una disminución del efecto de la dopamina, lo que conlleva estados de anhedonia (Volkow et al., 2019). La anhedonia es uno de los síntomas centrales de la depresión y está asociada con deficiencias en la actividad del NAc y de la corteza prefrontal, lo que sugiere un vínculo neurobiológico entre la anhedonia, la depresión y la disfunción del NAc (Gorwood, 2008).

1.3.3. Paradigmas en la evaluación conductual hedónica y motivacional.

La anhedonia forma parte de los criterios diagnósticos del Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales 5ª edición (DSM-V) y se define como “la disminución en la capacidad de experimentar placer ante estímulos positivos o el deterioro en la sensación de placer evocado por experiencias previas” (Scheggi et al., 2018). Además de la anhedonia, la pérdida del interés o sentimiento de insatisfacción forma parte de los síntomas descritos para el diagnóstico de trastornos depresivos (American Psychiatric Association, 2013). El término anhedonia solo denota la ausencia estricta de la percepción de placer, dejando de lado un complejo proceso de recompensa que involucra múltiples facetas como expectativa y evaluación de la recompensa, esfuerzo necesario para obtenerla, planeamiento y decisión de la estrategia pertinente para obtener y repetir la experiencia placentera (Der-Avakian & Markou, 2012; Scheggi et al., 2018).

Debido a la falta de consenso, existe una amplia divergencia entre estudios que evalúan fenotipos depresivos causando controversia y debate sobre la validez de los modelos animales para depresión (Gururajan et al., 2019; Harro, 2019; Kafkafi et al., 2018; Kalueff et al., 2007), no obstante en 2010 el Instituto Nacional de Salud Mental (NIMH) promovió los Criterios de Dominio de Investigación (RDoC) que permitieron la identificación y tratamiento de síntomas conductuales específicos en distintas patologías de origen psiquiátrico (Insel et al., 2010). En los RDoC se evalúan cinco principales dominios de funcionamiento (Cuthbert & Insel, 2013): 1) dominio de valencia negativa, 2) sistemas de valencia positiva, 3) sistemas cognitivos, 4) sistemas para procesos sociales y 5) sistemas de vigilia o de regulación; recientemente se ha añadido un sexto criterio (Salles et al., 2020) que es el 6) dominio de sistemas sensoriomotores (Figura 4). Es así como se empiezan a catalogar diferentes pruebas conductuales para la

evaluación de los dominios involucrados en la anhedonia o el síndrome de tipo depresivo (DLS) (Scheggi et al., 2018; Slattery & Cryan, 2017; von Mücke-Heim et al., 2023).

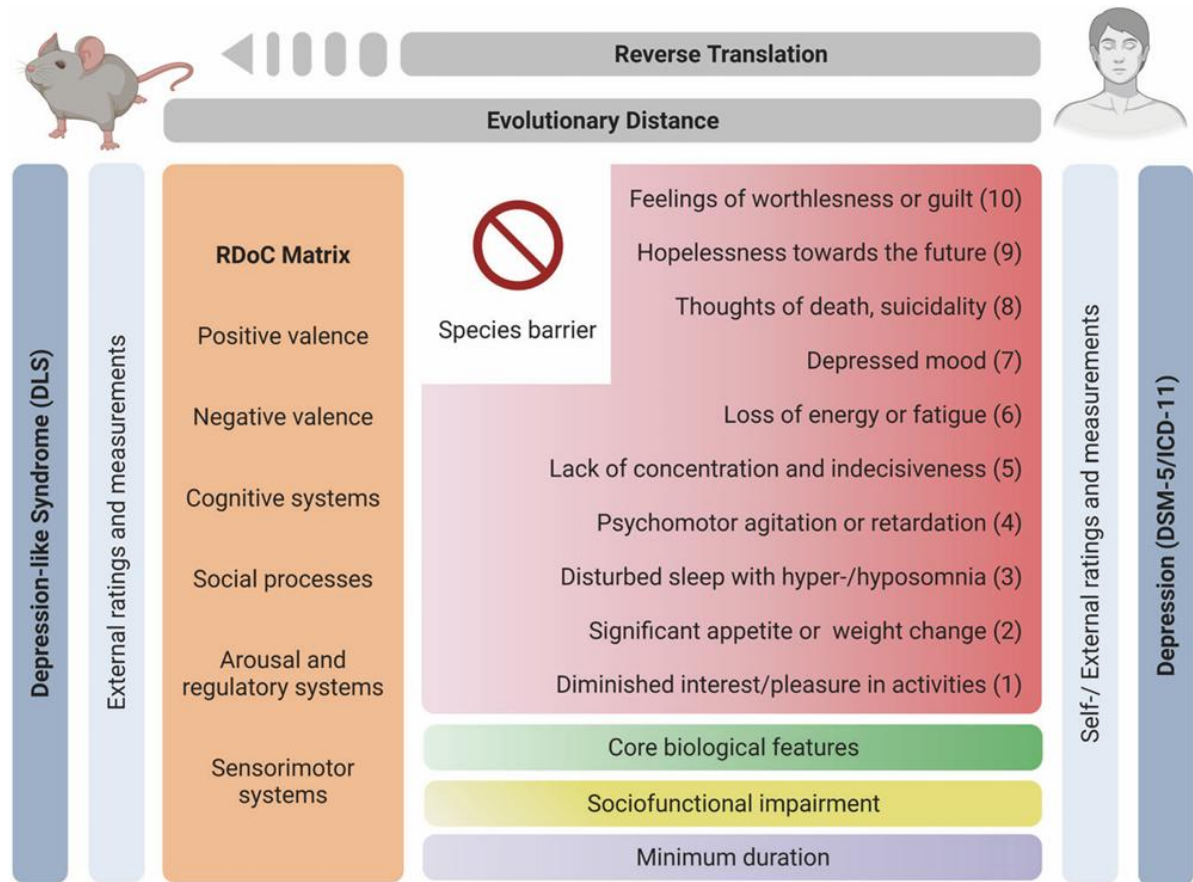


Figura 4. Matriz traduccional de la depresión en humanos a modelos murinos. Se muestran los procesos de traducción inversa desde el ámbito clínico (criterio en humanos) a ratones. Mientras que síntomas como la sensación de culpa no pueden determinarse en ratones, características como pérdida de peso o disminución del apetito pueden ser cuantificadas. Tomado de von Mücke-Heim et al. (2023).

En modelos animales se puede utilizar una gran variedad de pruebas conductuales que permiten evaluar estados de anhedonia, deficiencias cognitivas, disparidad emocional, indefensión, ansiedad o desesperanza (Scheggi et al., 2018; von Mücke-Heim et al., 2023). El empleo de la prueba de preferencia a la sacarosa (SPT) permite demostrar estados de anhedonia que es un síntoma clave del sistema de valencia positiva en el DLS (Bale et al., 2019; Gururajan

et al., 2019; Söderlund & Lindskog, 2018), la prueba de suspensión de cola evidencia disparidad emocional asociada a modificaciones en el dominio de valencia negativa (Bekoff, 2000; Boyko et al., 2019) y cambios cognitivos son patentes con una prueba de reconocimiento de objetos novedosos (Heisler et al., 2015; Planchez et al., 2019).

1.4. Neurobiología del Núcleo Accumbens

El primer uso de “Núcleo Accumbens” fue empleado en 1872; sin embargo, el término fue más ampliamente reconocido décadas después (Ziehen, 1908). Reconocido inicialmente como una extensión del núcleo caudado, distinguible del resto del estriado debido a su íntima conexión con el septo, fue denominado en un inicio *nucleus accumbens septi* (literalmente *núcleo que se recarga sobre el septo*) (Kappers & Theunissen, 1908). Sin embargo, dicho término fue controversial y causó rechazo durante un tiempo (J. Johnston, 1923). Actualmente, existe el consenso de que el NAc es una subregión especializada parte del más complejo cuerpo estriado, con funciones y composiciones específicas distintas al septo o al caudado-putamen (Heimer et al., 1991)

El NAc se encuentra en la porción ventral del cuerpo estriado y recibe proyecciones de dos tipos, aferentes indirectas por parte del VTA y aferentes directas glutamatérgicas de la amígdala, hipocampo, tálamo, entre otras (Salgado & Kaplitt, 2015). Las principales neuronas residentes son neuronas de soma mediano con proyección espinosa, mejor conocidas como neuronas espinosas medianas (MSN).

1.4.1. Neuroanatomía del NAc.

El NAc se encuentra adyacente al borde posterior de la porción anterior de la comisura anterior (J. B. Johnston, 1913; Salgado & Kaplitt, 2015). Es una estructura redonda, empero aplanada en la porción dorsal. Se extiende en sentido dorsolateral con el putamen y dorsomedial con el núcleo caudado. Sin embargo, carece de alguna demarcación fina que distinga ambas subáreas (Neto et al., 2008). De manera importante, a diferencia del resto del cuerpo estriado, el NAc se subdivide en un núcleo central (core) rodeado en todas las direcciones por una cubierta o shell (Zaborszky et al., 1985), con múltiples diferencias histoquímicas, electrofisiológicas, celulares y de conectividad (C. Wright & Groenewegen, 1996). Si bien dichas estructuras son difíciles de

discernir en el sentido anatómico estricto, pueden ser claramente observables a través de herramientas de microscopía.

1.4.2. Conectividad aferente y eferente.

El NAc es un área con prominente inervación de las neuronas dopaminérgicas desde el VTA y es, además, el principal mediador de la respuesta hedónica (de Araujo et al., 2020), debido a la amplia variedad de aferencias que recibe. Integra proyecciones de múltiples núcleos que se clasifican principalmente en dos tipos debido al tipo de neurotransmisión ejercida sobre el NAc (Figura 5): aferentes dopaminérgicas por parte del VTA y aferentes glutamatérgicas de la amígdala, hipocampo, tálamo, entre otras (Salgado & Kaplitt, 2015). Sus principales eferentes son el globo pálido interno y el globo pálido externo. Los efectos de activación sobre las diferentes porciones del globo pálido permiten la formación de un circuito dual conocido como la vía directa e indirecta que integra las señales del NAc y modula el estado de activación/inhibición sobre el tálamo mediodorsal (Kupchik & Kalivas, 2017).

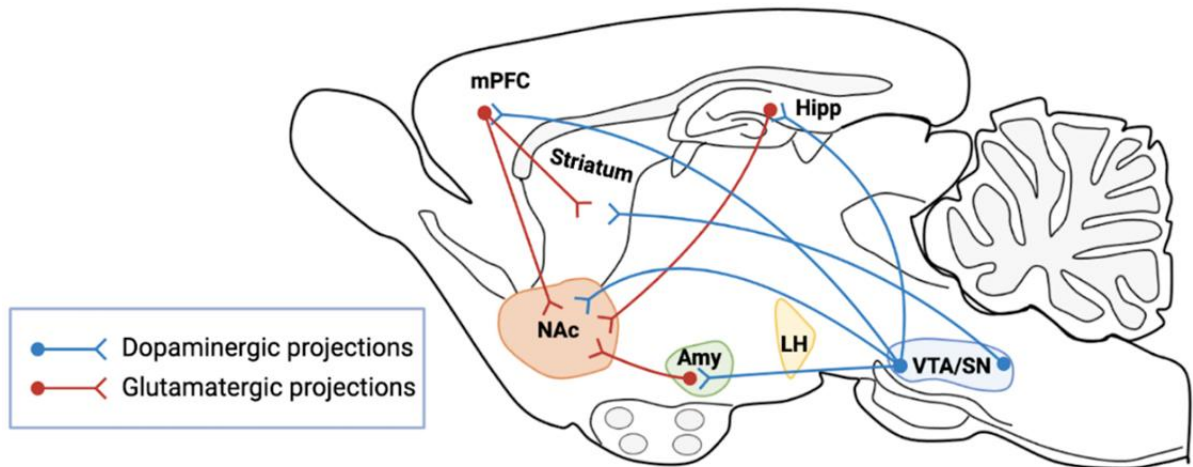


Figura 5. Principales aferentes del núcleo accumbens (NAc). Regiones como el hipocampo (Hipp), amígdala (Amy) y corteza prefrontal (mPFC) son responsables de la neurotransmisión glutamatérgica, mientras que el área tegmental ventral (VTA) es responsable de la inervación dopaminérgica. Tomado de Speranza et al. (2021). LH: Hipotálamo lateral. SN: Substancia nigra.

Si bien la conectividad entre estas regiones es la más estudiada, se han reportado múltiples aferencias de otras regiones como el tálamo, corteza prelímbica y prefrontal, así como eferencias sobre regiones no canónicas como el núcleo talámico mediodorsal, paratenial, hipotálamo lateral, cíngulo y el tálamo (Salgado & Kaplitt, 2015).

1.4.3. Neuronas Espinosas Medianas.

Las MSN son neuronas multipolares de proyección que forman hasta el 90% de toda la población celular del NAc (Lanciego et al., 2012). Cada neurona tiene un diámetro de 8–20 μm , un núcleo grande y redondo, escaso citoplasma y abundantes procesos dendríticos especializados denominados espinas dendríticas. Las MSN contienen el ácido γ -aminobutírico (GABA) como el principal neurotransmisor (Meredith, 1999) y se pueden dividir en dos grupos de acuerdo con el tipo de receptor dopaminérgico que expresan y la vía por la que actúan (Kravitz et al., 2012).

1.4.4. Vía directa e indirecta.

Aquellas MSN que proyectan al globo pálido interno (GPi) y a la sustancia nigra pars reticulata (SNr) expresan el receptor de dopamina D1 (D1-MSN), cuya vía de señalización es a través de una proteína Gs, aumentando la actividad de la adenilato ciclasa (AC). Estas neuronas activan la vía directa (NAcc-GPi/SNr) (Lanciego et al., 2012). Alternativamente, las MSN que inervan al Globo Pálido Externo (GPe) expresan el receptor de dopamina D2 (D2-MSN), que señala a través de una proteína Gi disminuyendo la actividad de la AC. Estas neuronas dan lugar a la vía indirecta, comunicándose con el Núcleo Subtalámico (STN), GPi y SNr, en el circuito NAcc-GPe-STN-GPi/SNr (Lanciego et al., 2012).

1.4.5. Neuroquímica del NAc.

El NAc es un núcleo que contiene de forma predominante neuronas de tipo GABAérgicas que convergen con densas neurotransmisiones de tipo glutamatérgicas y dopaminérgicas (Gangarossa et al., 2013). Se han descrito diferencias moleculares entre ambas subregiones, *core* y *shell*, así como diferencias en los neurotransmisores liberados y los receptores presentes. Entre otras neurotransmisiones descritas, están la noradrenérgica (McKittrick & Abercrombie, 2007), serotoninérgica (S. Patel et al., 1995) y la de tipo peptidérgica sobre receptores opioides (Spanagel et al., 1990).

Neurotransmisión dopaminérgica.

La principal fuente de proyección dopaminérgica sobre el core y shell del NAc es el VTA y, en mucho menor medida, la sustancia nigra (SN) (Han et al., 2017). Los niveles de este neurotransmisor en el NAc se incrementan conforme se está por obtener (o se obtiene) un estímulo placentero, así como se mejora el aprendizaje en paradigmas de predicción de errores, mostrando la importancia de este neurotransmisor en el aprendizaje dirigido a recompensas (Hart et al., 2014). Además, se ha demostrado la liberación de dopamina específica de conducta, como el aprendizaje y la motivación (Mohebi et al., 2019). La acción de la dopamina se ejerce sobre los receptores D1 y D2 ubicados en las MSN, produciendo estimulación e inhibición, respectivamente (Gerfen & Surmeier, 2011).

Neurotransmisión glutamatérgica.

El NAc contiene una gran cantidad de aferentes glutamatérgicas provenientes de múltiples regiones y se ha reportado la importancia de esta neurotransmisión en el sistema de recompensa. El correcto funcionamiento de la señalización por glutamato tiene sus efectos en la actividad locomotora (Mogenson & Nielsen, 1984) implicada en conductas de búsqueda de sustancias de abuso o recompensas (Cornish & Kalivas, 2000; Di Ciano & Everitt, 2001) y en el aprendizaje de tipo asociativo (Kelley et al., 1997). La acción del glutamato sobre el NAc es principalmente el desarrollo de la potenciación a largo plazo (LTP) y el correcto funcionamiento de las espinas dendríticas de las MSN (Schotanus & Chergui, 2008b; Wolf & Ferrario, 2010). Tanto los receptores ionotrópicos AMPA y NMDA como los receptores de glutamato metabotrópicos (mGluR) están involucrados en esta potenciación de la transmisión sináptica (Mishra et al., 2012; Schotanus & Chergui, 2008a).

Neuromodulación peptidérgica.

Ampliamente distribuida en el sistema de recompensa (NAc, VTA y GPi/GPe), las subpoblaciones de MSN del NAc han sido reconocidas por liberar neuropéptidos de manera específica (Rysztak & Jutkiewicz, 2022; Yager et al., 2015), las D1-MSN capaces de expresar y liberar dinorfina (al igual que sustancia P, sin embargo ha sido menos estudiado) como modulador de la excitabilidad neuronal (Gerfen & Surmeier, 2011; Wall et al., 2013). Su contraparte, las D2-MSN, libera encefalina sobre el GPe (Al-Hasani et al., 2018). En conjunto, estos neuropéptidos integran múltiples señales regulando las funciones motoras, el movimiento

y estímulo de recompensa, ya que alteraciones en su liberación y sus efectos a nivel de receptor son asociadas a la adicción o abstinencia (hipercatifeia) observadas en individuos con dependencia de sustancias de abuso (Marchette et al., 2025).

Otras neurotransmisiones

Aunque menos estudiadas, en las últimas décadas se han descrito roles importantes en la conducta por las señalizaciones de moléculas pequeñas poco ortodoxas. Tal es el caso de la neurotransmisión purinérgica. Sus efectos son mediados por dos tipos de receptor, los P1 (A1, A2A-B y A3) y los P2 (Fredholm et al., 2011). En el NAc se ha demostrado su importancia en la resiliencia a la adicción a sustancias (Z. Dong et al., 2021), debido a la activación específica del receptor A2A en las D2-MSN (O'Neill et al., 2012) y a su actividad de receptor acoplado a proteína G (GPCR) anclado a una subunidad $G\alpha_s$ de tipo s ($G\alpha_s$) que aumenta la excitabilidad neuronal y promueve el estado motivacional y de búsqueda de recompensas (Shoemaker et al., 2025). Por otra parte, tenemos el sistema endocannabinoide (Covey & Yocky, 2021), que consiste en moléculas de tipo ácido graso que controlan la transmisión sináptica en el cerebro mediante el receptor CB1 (Covey et al., 2017), inhibiendo el influjo de calcio y la actividad de la adenilato ciclasa (Katona & Freund, 2012). Se ha caracterizado su expresión (aunque escasa) en el NAc (Pickel et al., 2006; Winters et al., 2012). Los receptores CB1 son importantes en cualquier tipo de plasticidad sináptica, tanto a corto como a largo plazo (Grueter et al., 2010), controlando la conducta apetitiva (Covey et al., 2017), la motivación y el consumo de sustancias altamente estimulantes (Mateo et al., 2017).

1.4.6. Plasticidad sináptica y remodelamiento dendrítico

En los últimos años se ha fundamentado más la importancia de los cambios en la función de las sinapsis excitatorias y cómo la actividad deficiente de estas sinapsis puede impedir la correcta actividad del circuito de recompensa, conllevando cambios patológicos en el estado de ánimo, sobre el estado hedónico asociado a la depresión (Wolf, 2025). Se ha descrito que la activación de las aferentes hipocampales y de la corteza prefrontal sobre el NAc tiene un efecto de recompensa (Britt et al., 2012) y refuerza los estímulos placenteros (Otis et al., 2017), además de tener un posible efecto antidepresivo (LeGates et al., 2018).

Las sinapsis excitatorias en el estriado ventral muestran una plasticidad dependiente de actividad similar a la canónica LTP hipocampal (Thompson, 2023). La estimulación de amplia frecuencia de las aferentes sobre el NAc provocan un aumento en las respuestas del receptor AMPA en las neuronas D1-MSN y D2-MSN, dependiente de la actividad del receptor NMDA y de la Ca²⁺-cinasa dependiente de calmodulina (CaMK) (LeGates et al., 2018), y no requieren la activación mediada por el receptor de dopamina para ejercer estos efectos de potenciación (Yagishita et al., 2014). El silenciamiento de las aferentes hipocampales sobre el NAc previene la preferencia por socializar, sin prevenir la recompensa *per se* de la interacción social (LeGates et al., 2018). Similarmente, la preferencia por el lugar de administración de cocaína (*cocaine place preference*) es debida a la potenciación de las sinapsis hipocampo-NAc (Sjulson et al., 2018). De manera contrapuesta, la depresión de las sinapsis aferentes sobre el NAc puede revertir respuestas placenteras ya establecidas a sustancias que causan recompensa (Creed et al., 2015; Ma et al., 2014). Por otra parte, estudios que evalúan el consumo crónico de sustancias que causan recompensa como drogas de abuso o sacarosa han mostrado alteraciones en la ramificación de las dendritas y la densidad de las espinas en los distintos órdenes dendríticos (Crombag et al., 2005; Klenowski et al., 2016; Y. Li et al., 2003; Robinson & Kolb, 1999, 2004).

1.4.7. Integración NAc – MSN – Conducta.

Se ha demostrado que el NAc está implicado en la regulación de la respuesta pavloviana apetitiva y en el control motivacional del rendimiento instrumental, lo que resalta su importancia dentro de una red compleja, que va más allá de las funciones dopaminérgicas (Day & Carelli, 2007; Yin et al., 2008). Además, se han identificado aferencias desde la amígdala basolateral, capaz de mediar componentes de motivación e influir en la toma de decisiones en acciones instrumentales (Shiflett & Balleine, 2010). Harsay et al. (2011) demostraron que la anticipación de recompensas aumenta la activación de las regiones ventrales del NAc, destacando el sistema de recompensa, que se inicia cuando se obtiene un estímulo placentero. Sin embargo, una vez que existe una asociación aprendida, la activación de estas regiones se realiza de manera anticipada al estímulo (Y. Dong et al., 2006; H. J. Lee et al., 2016; Lobo et al., 2010).

En años recientes se ha dejado cada vez más en claro el rol de cada subpoblación en el consumo hedónico de alimentos. Las neuronas D1-MSN son responsables del estímulo placentero y del consecuente consumo hedónico de alimentos, mientras que las neuronas D2-

MSN causan la disminución del consumo de alimentos o retrasan el consumo de alimentos y/o generación de aversión ante un estímulo (Guillaumin et al., 2023; Sandoval-Rodríguez et al., 2023; B. Tan et al., 2022; Walle et al., 2024).

1.5. Receptores dopaminérgicos.

La dopamina fue descubierta en 1957 por el doctor Arvid Carlsson, quien demostró que, este neurotransmisor no solo funcionaba como precursor en la síntesis de noradrenalina, sino que además la mayor concentración de esta molécula estaba en los ganglios basales (Yeragani et al., 2010). Esta molécula es de suma importancia en funciones cerebrales diversas, como la motivación, aprendizaje, recompensa, así como la función motora fina, y efectúa sus acciones a través de los receptores de dopamina, los cuales son GPCRs que se clasifican en dos tipos según si están acoplados a proteínas Gs o de tipo Gi (Figura 6) (Missale et al., 1998; Surmeier et al., 2007).

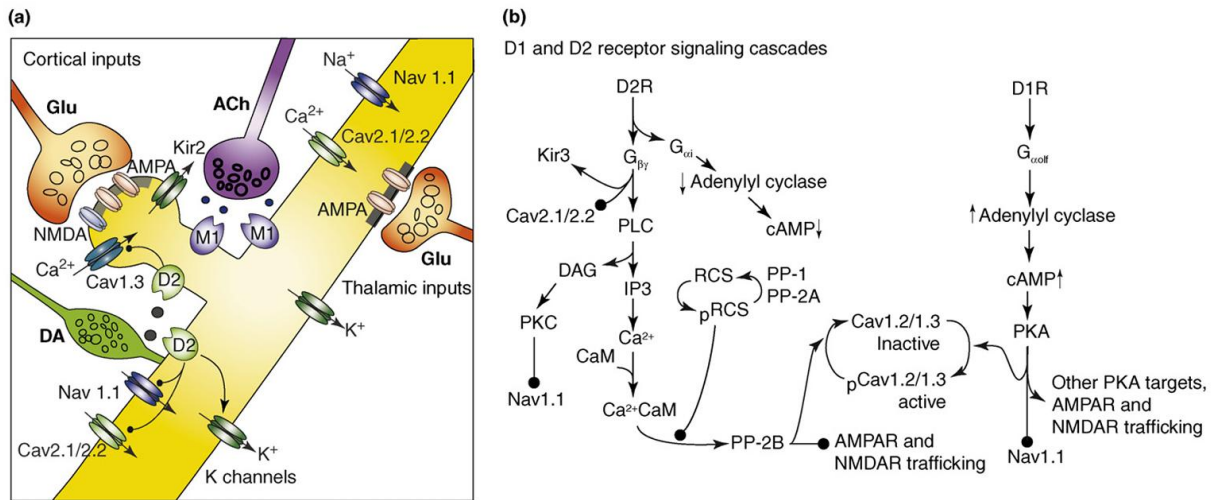


Figura 6. Señalización de la dopamina a través de sus distintos receptores modulando la excitabilidad neuronal. **a)** Representación de la sinapsis de una MSN. La activación de los receptores D1 regula la excitabilidad mediante cambios en la conductancia de canales de Ca²⁺, Na⁺ y K⁺. **b)** Vías de señalización celular que median los efectos finales de los receptores D1 y D2 en MSN. Tomado de Surmeier et al. (2007).

1.5.1. Biología del receptor D1.

El primer tipo son los receptores D1 que son GPCRs de tipo G_s; además, se encuentran los receptores de los subtipos D1 y D5. Los genes de los receptores D1 y D5 no contienen intrones en sus regiones codificantes y en humanos transcriben proteínas de 446 y 477 residuos de aminoácidos de longitud respectivamente (Civelli et al., 1993). Se han descrito también dos pseudógenos relacionados al receptor D5. Sin embargo, codifican proteínas truncadas y no funcionales del receptor D5 (Missale et al., 1998).

La activación de estos GPCR es a través de una proteína de tipo G_{α_s} que promueve la concentración intracelular del adenosín monofosfato cíclico (cAMP), por medio de la AC, subsecuentemente activando la proteína cinasa dependiente de cAMP (PKA) (X. Zhang et al., 2022). Los receptores D1 y D5 son llamados en conjunto “receptores de la familia de tipo D1”. Los receptores D1 son de menor afinidad a la dopamina con respecto a los D2 (Marcellino et al., 2012), con una constante de disociación (K_d) de aproximadamente 200 nM, ya que requieren una liberación de dopamina superior al nivel basal para ejercer su activación de la PKA y aumentar la excitabilidad de las D1-MSN a través de la regulación de canales iónicos (Surmeier et al., 2007). Estímulos placenteros (p.ej. el consumo de cocaína) pueden elevar las concentraciones de dopamina a niveles superiores a los 280 nM, activando tanto el receptor D2 como el D1 (con mayor importancia este último), mediando así la respuesta de recompensa ante estímulos placenteros (Yuen et al., 2021).

1.5.2. Biología del receptor D2.

De manera antagónica al receptor D1, existen los receptores de tipo D2 que son GPCR acoplados a proteínas G_{α_i}. Se encuentran los receptores D2, D3 y D4. Los genes que codifican estos receptores presentan interrupciones por múltiples intrones (Missale et al., 1998), dando cabida a la diversificación y especialización de los distintos subtipos (Vernier et al., 1995). El gen codificante del receptor D2 contiene seis intrones que permiten la transcripción de dos variantes del receptor conocidas como D2S (corto) y D2L (largo), generadas por splicing alternativo del exón ubicado entre los intrones 4 y 5 (Dal Toso et al., 1989). La diferencia en estas isoformas radica en la capacidad de inhibir la vía de señalización celular (Montmayeur & Borrelli, 1991), además de su localización celular: el D2L tiene función de heterorreceptor, mientras que la D2S

tiene función de autorreceptor. Isoformas de los receptores D3 y D4 han sido reportadas; sin embargo, se desconocen sus papeles específicos (Missale et al., 1998).

Estos receptores son los responsables de inhibir la vía de señalización del cAMP/PKA mediante la disminución de la actividad de la AC (K.-M. Kim, 2023). Estos tres receptores son generalmente conocidos como receptores de tipo D2. La afinidad de los receptores D2 por dopamina es mucho mayor que los D1, con una K_d de 10 nM (20 veces más afin) (Marcellino et al., 2012), por lo que a niveles basales de dopamina (≈ 10 nM) puede existir una activación del receptor D2 y una supresión de la actividad de las neuronas D2-MSN (Cadoni et al., 2000). Al contrario que los estímulos placenteros (como la cocaína, que eleva la concentración de dopamina), los estímulos aversivos (como un choque eléctrico) pueden disminuir los niveles de dopamina extracelular por debajo de los 10 nM, donde el receptor D2 se encontraría sin activar (Oleson et al., 2012).

1.5.3. Regulación de la actividad y disponibilidad.

Los receptores dopaminérgicos sufren procesos de desensibilización de manera canónica, con atenuación gradual de la respuesta intracelular debido a la continua y repetida exposición a agonistas (K. M. Kim et al., 2001; K.-M. Kim, 2023; Moritz et al., 2023), mediada por arrestinas o por cinasas reguladas por segundos mensajeros (E.-Y. Cho et al., 2007; N. Sun & Kim, 2021). Las arrestinas únicamente desactivan receptores activados por agonista/ligando; tras la unión del ligando al receptor, se produce un cambio conformacional que expone la hélice transmembrana VI permitiendo la unión de las proteínas $G\alpha$ y arrestinas a través del motivo (E/D)_x(I/L)_{xxx}GL causando la competencia por la unión al GPCR activado (Kumari et al., 2016), mecanismo que ha sido descrito en la desensibilización de receptores dopaminérgicos D3 (Min et al., 2013; Westrich & Kuzhikandathil, 2007) y en mucho menor medida para los receptores D1 (O.-J. Kim et al., 2004; Sedaghat & Tiberi, 2011) y D2 (D. Cho et al., 2010; Namkung et al., 2009). La desensibilización dependiente de PKC es el mecanismo principal por el cual se lleva a cabo la desensibilización de receptores D1 a través de residuos de serina ubicados en el tercer asa intracelular y el C terminal (Rankin & Sibley, 2010; Rex et al., 2008), y en el receptor D2 a través de residuos de serina ubicados en el tercer asa intracelular (E.-Y. Cho et al., 2007; Namkung & Sibley, 2004).

2. Planteamiento del problema

A nivel mundial se estima que la prevalencia del SMet es del 31% (Noubiap, 2022). De acuerdo con el perfil de ingresos, la prevalencia va desde el 11.2% (bajo) hasta 30.6% (alto), con el 34% en países de ingreso medio–alto (Noubiap, 2022). Según la región de la OMS, desde un 27% en Europa (EUR) hasta un 46% en la región de las Américas (AMR). En México, la prevalencia aumentó desde un 40% en 2006 hasta más del 50% en 2018 (Rojas-Martínez, 2021). Tan solo en 2008 las pérdidas económicas totales derivadas de las enfermedades no transmisibles se estimaron en un total de 7,28 billones de dólares a nivel global, y se proyecta un costo de hasta 30 billones de dólares para el 2030 si no se realizan estrategias que busquen disminuir el desarrollo de estas patologías (Bloom et al., 2012).

La obesidad y la diabetes son frecuentemente alteraciones que coexisten con alteraciones neuropsiquiátricas, como la depresión, la ansiedad y los trastornos de la conducta alimentaria (Nouwen et al., 2010). Esta disfunción hedónica apunta directamente al NAc, el principal centro integrador de la recompensa, el placer y la motivación. El consumo crónico de dietas palatables y altas en carbohidratos, un pilar en la etiología del SMet, impone una sobreestimulación constante y no fisiológica sobre este circuito. La obesidad se correlaciona con aberraciones morfométricas del NAc, disminución en la conectividad de la materia blanca NAc-tálamo, respuestas exacerbadas a estímulos palatables visuales y la disminución del receptor D2 en humanos, que puede asemejar estados de adicción (Gendelis et al., 2021). Esto conlleva una afectación bidireccional donde la conducta de alimentación altera el estado anímico o el estado anímico altera la conducta de alimentación.

Al ser reconocido este vínculo entre las alteraciones metabólicas y los trastornos depresivos, es necesario estudiar el impacto de las dietas que causan estas alteraciones metabólicas en la salud de los pacientes a nivel central, específicamente reconociendo cómo repercuten en el sistema hedónico (Wurtman & Wurtman, 2018). Se ha demostrado que el consumo crónico de alimentos palatables como lo son el consumo de carbohidratos está asociado al riesgo de padecer SMet, además de estimular constantemente al sistema de recompensa de modo que se plantea la siguiente pregunta científica: *¿El consumo de dietas altas en carbohidratos modifican las subpoblaciones de neuronas espinosas medianas y la respuesta hedónica del núcleo accumbens en modelos animales de rata Wistar con Síndrome metabólico?*

3. Justificación

El NAc es un núcleo cerebral perteneciente al cuerpo estriado involucrado en el circuito de recompensa; es el principal mediador de estímulos que inducen aprendizaje, placer y motivación. Frecuentemente el SMet y alteraciones comórbidas como la obesidad se han asociado a enfermedades psiquiátricas como trastornos anímicos, de ansiedad o de la conducta alimentaria (Deng & Yao, 2020; Leutner et al., 2023; Moulton et al., 2015; Penninx & Lange, 2018); de entre ellos el más destacado es la depresión, en donde se han observado una disminución de la respuesta a estímulos hedónicos y pérdida de la motivación (Admon & Pizzagalli, 2015; Berry et al., 2019; Frey et al., 2023). No obstante, se desconoce de manera certera cómo el consumo de dietas altas en carbohidratos influencia la actividad de las subpoblaciones neuronales del NAc, conllevando los fenotipos de tipo depresivo.

El presente trabajo contribuirá a dilucidar en el SMet los posibles cambios de las subpoblaciones neuronales de NAc que contribuyen al desequilibrio de los estados de placer/aversión. Se propone que los estímulos constantes al sistema hedónico por dietas altas en carbohidratos modifican la actividad de las subpoblaciones neuronales del NAc, cambiando las dinámicas de activación/inhibición de las diferentes regiones involucradas en la integración de la respuesta hedónica.

4. Hipótesis

4.1. Hipótesis nula

El consumo de dietas altas en carbohidratos no modifica las subpoblaciones de neuronas espinosas medianas que presentan el receptor D1 o D2 en el núcleo accumbens y la respuesta hedónica.

4.2. Hipótesis alternativa

El consumo de dietas altas en carbohidratos si modifica las subpoblaciones de neuronas espinosas medianas que presentan el receptor D1 o D2 en el núcleo accumbens y la respuesta hedónica.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general.

Evaluar las subpoblaciones de neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens y la respuesta hedónica en modelos de rata Wistar macho con y sin síndrome metabólico.

5.1.1. Objetivos específicos

1. Evaluar los cambios en la conducta hedónica y de motivación regulados por la función del núcleo accumbens en ratas con síndrome metabólico.
2. Examinar la histomorfología del núcleo accumbens en ratas con síndrome metabólico.
3. Caracterizar las subpoblaciones de neuronas espinosas medianas que presentan receptores D1 o D2 en el núcleo accumbens empleando una marca de activación neuronal en ratas con síndrome metabólico.

6. Metodología

6.1. Animales

Se emplearon 30 ratas macho de la cepa Wistar de 4 semanas de edad y aproximadamente 100 gramos de peso solicitadas al bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Todos los procedimientos de albergue, manejo y disección de los animales se realizarán acorde con la normatividad correspondiente (NOM-062-ZOO-1999), así como con comités nacionales (Guía para el Cuidado y uso de Animales de Laboratorio de la Academia Nacional de Medicina de México) y aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL). Los animales se mantuvieron en condiciones controladas de acondicionamiento con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas, temperatura de 19-26 °C, separados de ratas hembra y en un espacio común con un número no mayor a 4 animales con disponibilidad de alimento y agua "*ad libitum*". Fueron pesados cada tercer día hasta llegar al peso de 100 gramos para posteriormente realizar la conformación de los grupos.

6.2. Dieta

Se emplearán dos tipos de dieta: una dieta estándar para conformar al grupo control (LabDiet 5001) con aporte calórico de 3.35 kcal/g y una dieta alta en carbohidratos para el desarrollo del modelo animal con SMet (MX/E/2013/047377) que aporta 3.66 kcal/g. Las especificaciones de las dietas se muestran en la tabla 1.

Composición porcentual	Dieta Estándar (LabDiet 5001)	Dieta Alta en Carbohidratos (MX/E/2013/047377)	Porcentaje kcal/g (LabDiet 5001)	Porcentaje kcal/g (MX/E/2013/047377)
Carbohidratos	48.7	71.4	56.36	77.82
Proteínas	23.9	7.3	13.02	7.96
Lípidos	5.0	5.8	27.66	14.22
Fibra (cruda)	5.1	0.0	2.95	0.0
Cenizas	7.0	3.5	0.0	0.0
Total	90.4	88.0	99.99	99.99

Tabla 1. Contribución calórica porcentual entre una dieta estándar y una dieta alta en carbohidratos. Adaptado de Treviño et al. (2015).

6.3. Conformación de los grupos

Una vez los animales alcancen la edad y el peso, se conformaron dos grupos de manera aleatoria con una n = 15 de la siguiente manera:

1. Grupo Dieta Estándar (NCD, LabDiet 5001)
2. Grupo Dieta Alta en Carbohidratos (HCD, MX/E/2013/047377)

El grupo de Dieta LabDiet 5001 cumplirá la función de control respecto al grupo de dieta MX/E/2013/047377. El consumo de alimentos se monitoreará de manera diaria para ambos grupos.

6.4. Análisis zoométricos.

Se evaluaron los parámetros zoométricos individuales de manera semanal conforme a lo descrito por (Treviño et al., 2015). El peso corporal se determinó utilizando una balanza digital: se coloca un recipiente, se tara y se coloca al animal para anotar la lectura. La talla es la medición de la longitud desde la nariz hasta la base de la cola del animal. Se sostiene al animal con una mano, se coloca la cinta en la punta de la nariz y, sin estirar al animal, se mide hasta la base de la cola. Por último, la circunferencia abdominal se mide colocando la cinta métrica a la altura de las extremidades inferiores, empleando una cinta métrica para ambos parámetros. Una vez obtenidas las mediciones previas, se calcularon los siguientes índices:

El Índice de Masa Corporal (IMC) se calculó mediante la fórmula (Nuttall, 2015):

$$IMC = \frac{Masa (kg)}{Talla^2 (m)}$$

El porcentaje de grasa se cuantificó mediante el índice de Lee (P. Rogers & Webb, 1980):

$$\% Grasa Corporal = \frac{Peso^{0.33} (g)}{Talla (mm)} * 100$$

6.5. Consumo de alimentos.

El consumo de alimentos y líquidos de los animales fue monitoreado y cuantificado diariamente durante todo el periodo experimental. El consumo de alimento sólido se determinó por

gravimetría diferencial, registrando el peso del alimento colocado al inicio del día y pesando nuevamente el alimento remanente al día siguiente. El consumo de líquidos se midió volumétricamente con el mismo procedimiento, registrando el volumen inicial en los bebederos y el volumen final transcurridas 24 horas. Se tomaron precauciones para minimizar y contabilizar el desperdicio de alimento sólido para asegurar la precisión de las mediciones, como el manejo cuidadoso de las rejas para evitar la pérdida de pellets por las rendijas.

El consumo diario de alimento fue calculado empleando la siguiente fórmula:

$$C_s = P_i - P_f$$

Donde:

- C_s = Consumo de alimento sólido en 24 horas (g)
- P_i = Peso inicial del alimento ofrecido (g)
- P_f = Peso final del alimento remanente (g)

El consumo de líquidos se calculó siguiendo el mismo principio sustituyendo el peso (g) por el volumen (mL).

6.6. Pruebas conductuales.

6.6.1. Prueba de preferencia a la sacarosa (SPT).

Se tiene a los animales en ayunas. Con un animal por caja se colocan dos botellas con el mismo volumen: una botella con 1% de sacarosa y otra con agua sin sacarosa. Para evitar la preferencia por las botellas, se cambian de lugar a las 12 horas; tras 24 horas de experimento se miden los volúmenes de cada botella y el volumen ingerido se determina por las diferencias al inicio y al final del experimento.

La preferencia a la sacarosa se da por el consumo de las soluciones con respecto a la siguiente fórmula:

$$Preferencia = \frac{mL\ Sacarosa\ 1\%}{mL\ Sacarosa\ 1\% + mL\ Agua\ sin\ sacarosa} * 100$$

6.6.2. Prueba de suspensión de cola (TST).

Se encinta la cola a la mitad de su longitud, de modo que pueda sostener de manera segura el peso del animal. El otro extremo de la cinta se adhiere a una barra horizontal para permitir la suspensión del animal en el aire y el experimento comienza. Se realiza la grabación de la conducta del animal durante seis minutos y se analizan los tiempos de movilidad e inmovilidad del animal. La prueba se realiza durante 6 minutos; se deja transcurrir un minuto en donde no se contabiliza el tiempo de movimiento del animal, de modo que se cuantifica el tiempo que el animal permaneció inmóvil durante los 5 minutos restantes del desarrollo de la prueba.

6.6.3. Prueba de alimentación novedosa en ayuno (NSFT)

Previo al día de la prueba, los animales fueron sometidos a un periodo de 24 horas de ayuno, manteniendo el acceso a agua. La prueba se desarrolló en una arena de campo abierto, la cual constituía un ambiente novedoso para los animales, colocando en el centro de la arena una placa que contenía un pellet de sacarosa; el peso de dicho pellet se registró empleando una balanza antes de iniciar la prueba. La prueba inicia colocando a la rata dentro de la arena individualmente y se le permite explorar por un periodo de 10 minutos. Al concluir el periodo de exposición, el animal se retira y se devuelve a su caja, a lo que finalmente se pesa el alimento remanente en el receptáculo, cuantificando el consumo de alimento mediante la diferencia de pesos.

6.6.4. Laberinto de Barnes.

Se habitúa al animal al colocarlo en la caja de escape durante 1 minuto para habituarlo al ambiente y posteriormente se coloca durante 2 minutos sobre el campo del laberinto para permitir que el animal explore. Una vez transcurrido el tiempo de habituación, el animal se coloca en el centro y es cubierto por un recipiente; en la caja de escape se coloca un pellet de sacarosa que fungirá como un estímulo apetitivo para favorecer que el animal resuelva el laberinto de manera satisfactoria. Se descubre el animal y se comienza a cronometrar el tiempo que tarda el animal en encontrar el agujero que contiene la caja de escape. Una vez el animal resuelva el laberinto, se regresa a su jaula de alojamiento y se realiza el mismo procedimiento con el siguiente animal. Se realiza el mismo procedimiento para todos los animales, por triplicado y se realiza el entrenamiento durante cinco días consecutivos y se cuantifican y grafican los siguientes datos:

- Latencia primaria: tiempo que demora el animal en olfatear la caja de escape.
- Latencia total: tiempo que toma el animal para ingresar a la caja de escape.
- Errores: Veces que el animal olfatea los agujeros que no contienen la caja de escape.
- Estrategia: El orden en el que el animal explora los agujeros en búsqueda de la caja de escape puede ser de tipo directo, en serie o aleatorio.

6.7. Muestras sanguíneas.

Las muestras sanguíneas para la cuantificación de glucosa e insulina fueron obtenidas mediante punción de la vena de la cola 3 días antes de concluir el tiempo de corte de cada uno de los grupos. Para esto, los animales estuvieron en condiciones de ayuno por un periodo de entre 3 y 4 horas. La evaluación de la dinámica del metabolismo de carbohidratos se realizó mediante una prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) de la siguiente manera: se les administra a los animales una carga oral de glucosa equivalente a 1,75 g de glucosa/kg de peso. Para la toma de muestra, el animal es inmovilizado y se le realiza una incisión en la punta de la cola, extrayendo aproximadamente 200 μ L de sangre a los 0, 30, 60 y 90 minutos posteriores a la carga oral de glucosa. Las muestras obtenidas fueron centrifugadas a 10.000 rpm durante 10 minutos; el suero fue separado del paquete celular y almacenado a -70 °C hasta su análisis. Los animales se dejaron recuperar por dos días y después se realizó el sacrificio de acuerdo con los tiempos de corte establecidos para cada uno de los grupos.

6.8. Eutanasia y obtención de suero.

Una vez alcanzados los 3 meses de tratamiento, los animales son administrados con pentobarbital en una dosis de 200 mg/kg. Una vez alcanzado un estado de sedación profunda en los animales, dado por la pérdida de los reflejos de sus extremidades, se realizó la punción cardíaca, donde se obtuvieron 5 mL de sangre, los cuales fueron recolectados en tubos BD Vacutainer para suero con gel separador. Los tubos obtenidos fueron centrifugados a 3,500 rpm durante 10 minutos. El suero fue separado y almacenado a -86 °C hasta su análisis. Inmediatamente después de finalizada la punción cardíaca, se realizó la perfusión con solución buffer PBS 1X. Una vez se lleva a cabo el proceso de perfusión cardíaca y la exanguinación del animal, se realiza la decapitación y la extracción del tejido cerebral del animal. El cerebro se

colocó en una solución de paraformaldehído al 4% durante una semana para su posterior inclusión en bloques de parafina.

6.9. Determinaciones séricas.

6.9.1. Pruebas bioquímicas.

La cuantificación de los parámetros bioquímicos se llevó a cabo en las muestras de suero obtenidas de los animales en las etapas previas. Se emplearon kits colorimétricos de la casa comercial Spinreact, siguiendo los protocolos especificados por el fabricante en el inserto. Todas las mediciones de absorbancia se realizaron utilizando un espectrofotómetro.

La concentración de glucosa en suero fue determinada mediante el método de glucosa oxidasa-peroxidasa y la intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra, midiéndose a una longitud de onda de 505 nm. El procedimiento consistió en la incubación de 10 μ L de muestra de suero con 1 mL del reactivo de trabajo durante 10 minutos a temperatura ambiente (o 5 minutos a 37 °C). La concentración final se calcula con la absorbancia de un calibrador de concentración conocida.

Para la determinación del colesterol total, se utilizó el método enzimático de colesterol oxidasa-peroxidasa. Para la cuantificación se incuban 10 μ L de suero con 1 mL del reactivo enzimático durante 10 minutos a temperatura ambiente (o 5 minutos a 37 °C). La intensidad del color (proporcional a la concentración de colesterol total) se lee a 505 nm. La concentración final se calcula con la absorbancia de un calibrador de concentración conocida.

La determinación del colesterol HDL se realizó mediante un método de precipitación selectiva. Se mezclan 200 μ L de muestra con 20 μ L del reactivo precipitante, seguido de una incubación de 10 minutos a temperatura ambiente y posterior centrifugación. El sobrenadante resultante contiene exclusivamente la fracción de HDL y se cuantifica. Esta cuantificación se realizó utilizando el mismo método enzimático Colesterol Oxidasa-Peroxidasa descrito para el colesterol total.

La concentración de triglicéridos séricos fue medida por el método enzimático Glicerol-3-Fosfato Oxidasa-Peroxidasa. La absorbancia se determinó a 505 nm tras incubar 10 μ L de muestra con 1 mL de reactivo por 10 minutos a temperatura ambiente (o 5 minutos a 37 °C). La concentración final se calcula con la absorbancia de un calibrador de concentración conocida.

6.9.2. Insulina y glucagón.

La determinación de insulina y glucagón se realizó mediante la técnica ELISA. Para las determinaciones se empleó el anticuerpo antiinsulina #4590 de Cell Signaling y anti-glucagón sc-71152 de Santa Cruz Biotechnology. Inicialmente, se preparó una placa de 96 pocillos y se agregaron 20 microlitros de suero junto con 100 microlitros de buffer de carbonatos y se mantuvo la placa a 4 °C durante 24 horas. Posteriormente, se lava con PBS – Tween 20 0.2% y se bloquea con albúmina al 2% durante dos horas a 4 °C. Se lava nuevamente y se añade el anticuerpo primario disuelto en albúmina al 1% incubándolo durante dos horas. Se lava nuevamente y se agrega el anticuerpo secundario conjugado a la peroxidasa de rábano y se vuelve a incubar durante dos horas a temperatura ambiente. Tras un último lavado, se añaden 50 microlitros de sustrato TMB y se incuban durante 10 minutos para permitir la coloración suficiente de las muestras; luego se agregan 50 microlitros de solución de paro de ácido sulfúrico 2 M. La lectura se efectuó en un espectrofotómetro o lector de ELISA a 450 nanómetros.

6.9.3. Índices de resistencia y adiposidad.

El efecto del consumo de carbohidratos sobre el estado de resistencia a insulina periférico se cuantificó mediante el índice de resistencia a insulina HOMA validado para modelos animales (Cacho et al., 2008):

$$HOMA - IR = \frac{Glucosa\ basal \left(\frac{mg}{dL}\right) * Insulina\ basal \left(\frac{\mu U}{mL}\right)}{2430}$$

El Índice de Disfunción Adipocitaria (DAI) se obtuvo conforme a la fórmula descrita por Reyes-Barrera et al. (2021), empleando unidades mmol/L para triglicéridos y HDL:

$$DAI = \frac{WC}{22.79 + (2.68 * BMI)} * \frac{Trigliceridos}{1.37} * \frac{1.19}{HDL - C}$$

El Índice de Adiposidad Visceral (VAI) se determinó mediante la siguiente fórmula (Amato et al., 2010), empleando unidades mmol/L para triglicéridos y HDL:

$$VAI = \frac{WC}{39.68 + (1.88 * BMI)} * \left(\frac{TG}{1.03}\right) * \left(\frac{1.31}{HDL}\right)$$

6.10. Procesamiento del tejido.

Se llevó a cabo la obtención de secciones del cerebro con la región de interés con un espesor de 7 micrómetros. Para las técnicas histológicas descritas a continuación, brevemente se llevó a cabo el proceso de desparafinización de las secciones en soluciones de baja polaridad de xiloles hacia soluciones más polares de alcoholes y posteriormente la inclusión en PBS para su hidratación; para las técnicas de tinción una vez hecha la coloración se realizó el procedimiento inverso para su deshidratación y montaje en resina, mientras que para las técnicas de inmunofluorescencia una vez hecho el inmunomarcaje se mantuvieron hidratadas y se montaron en DAPI.

6.10.1. Tinción Hematoxilina & Eosina.

Una vez rehidratada la muestra, se coloca en una solución de hematoxilina de Harris durante 8 minutos; posteriormente, se lava la solución en agua destilada y se lleva a cabo la diferenciación en carbonato de litio para colocar los portaobjetos con los tejidos dentro de la solución de eosina durante 1 minuto con 30 segundos. Una vez hecha la tinción, se lleva a cabo el proceso de deshidratación y montaje en resina.

6.10.2. Tinción de Azul de Luxol.

La tinción se llevó a cabo con respecto al protocolo descrito por Kluver-Barrera en 1953 con modificaciones. Las secciones en parafina son rehidratadas y se colocan en la solución alcohólica de azul de Luxol durante 30 minutos en una estufa a 45 °C. Posteriormente se lleva a cabo el proceso de diferenciación embebiendo brevemente el portaobjetos una sola vez en la solución de carbonato de litio y posteriormente se coloca en el colorante de violeta de cresil durante 7 minutos. Una vez teñido, se lava embebiendo el portaobjetos una vez en agua destilada. Se lleva a cabo el proceso de deshidratación y el montaje en resina para su posterior observación.

6.10.3. Tinción de Golgi-Cox.

El tejido cerebral obtenido se coloca fresco en frascos pequeños con ≈ 20 mL de la solución Golgi-Cox durante 4 semanas en la oscuridad. Cada semana se hace un cambio de solución de Golgi-Cox desechando la solución en la que están embebidos los cerebros y colocando nueva solución hasta cubrir toda la superficie del cerebro. Una vez transcurridas 4 semanas, se colocan

los cerebros en solución de sacarosa al 30% durante 3 días a 1 semana para permitir que el tejido se endurezca. Se puede hacer un cambio de solución de sacarosa al tercer día si los tejidos aún no muestran la dureza necesaria.

Los cerebros se cortaron en un vibratomo en secciones coronales de 200 μm , empleando las coordenadas aproximadas del atlas (Paxinos & Watson, 2007) desde el bregma 5.16 mm. Las secciones empiezan a ser recuperadas y montadas en portaobjetos gelatinizados una vez se observa de manera morfológica bilateralmente el haz de la comisura anterior (bregma 3.24 mm), hasta que se identifica que la comisura anterior subyace justo debajo de los ventrículos laterales (bregma 0.36 mm); estas secciones contienen el NAc. Los portaobjetos se guardan en cámara húmeda y oscura para su posterior revelado. Los portaobjetos, una vez tratados con solución de hidróxido de amonio, solución Kodak, deshidratados y montados en resina, están listos para su observación al microscopio.

6.10.4. Inmunofluorescencias.

La detección de receptores dopaminérgicos D1, D2 y del marcador de activación neuronal c-Fos se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta. Tras la desparafinización, se realizó recuperación antigénica en buffer de citrato o Tris/EDTA. Posteriormente, los cortes fueron bloqueados con PBS 1X con albúmina de suero bovino y permeabilizados con Triton X-100 y luego incubados con los anticuerpos primarios durante la noche a 4 °C. Las incubaciones se realizaron con los siguientes anticuerpos:

- D1R: Anti-D1 Dopamine Receptor, Mouse monoclonal (Novusbio, Cat# NB110-60017).
- D2R: Anti-D2 Dopamine Receptor, Mouse monoclonal (Santa Cruz Biotechnology, Cat# sc 5303).
- c-Fos: c-Fos (9F6), Rabbit monoclonal (Cell Signaling Technology, Cat# 2250).

Al día siguiente, se realizaron lavados en PBS 1X y se incubó con el anticuerpo secundario correspondiente, conjugado con FITC o rodamina. Los cortes fueron montados con medio de montaje con DAPI (Santa Cruz Biotechnology) y curados durante la noche a temperatura ambiente, protegidos de la luz, para su posterior observación al microscopio de epifluorescencia.

6.11. Análisis de imágenes.

Las imágenes de inmunofluorescencia correspondientes a los marcadores D1R y D2R fueron procesadas y analizadas utilizando el software ImageJ (NIH). Se aplicó una corrección de iluminación no homogénea mediante normalización por campo plano (*flat-field correction*) y posteriormente se realizó la umbralización automática de la señal específica. El análisis cuantitativo se efectuó sobre las regiones umbralizadas, excluyendo el fondo.

Se extrajeron tres parámetros principales:

- **%Área:** proporción del área de la región de interés (ROI) ocupada por señal positiva. Un aumento en este parámetro indica una mayor distribución espacial del marcador, mientras que una disminución sugiere restricción o pérdida de distribución. Se expresa por la fórmula:

$$\%Area = \left(\frac{Pixeles\ Umbralizados}{Pixeles\ Totales\ ROI} \right) \times 100$$

- **Densidad integrada (IntDen):** suma total de la intensidad de los píxeles positivos. Un valor elevado implica un aumento global de la señal (expresión elevada del marcador), mientras que valores bajos se asocian con una disminución del marcador en la ROI. Se define de la siguiente manera:

$$Densidad\ Integrada = \sum Intensidad\ de\ Pixeles\ Umbralizados$$

- **Intensidad media (Mean):** valor promedio de intensidad en los píxeles detectados. Un incremento refleja una mayor densidad local de señal (por unidad de área), mientras que una disminución indica atenuación del marcador en las zonas activas. Se obtiene de la siguiente manera:

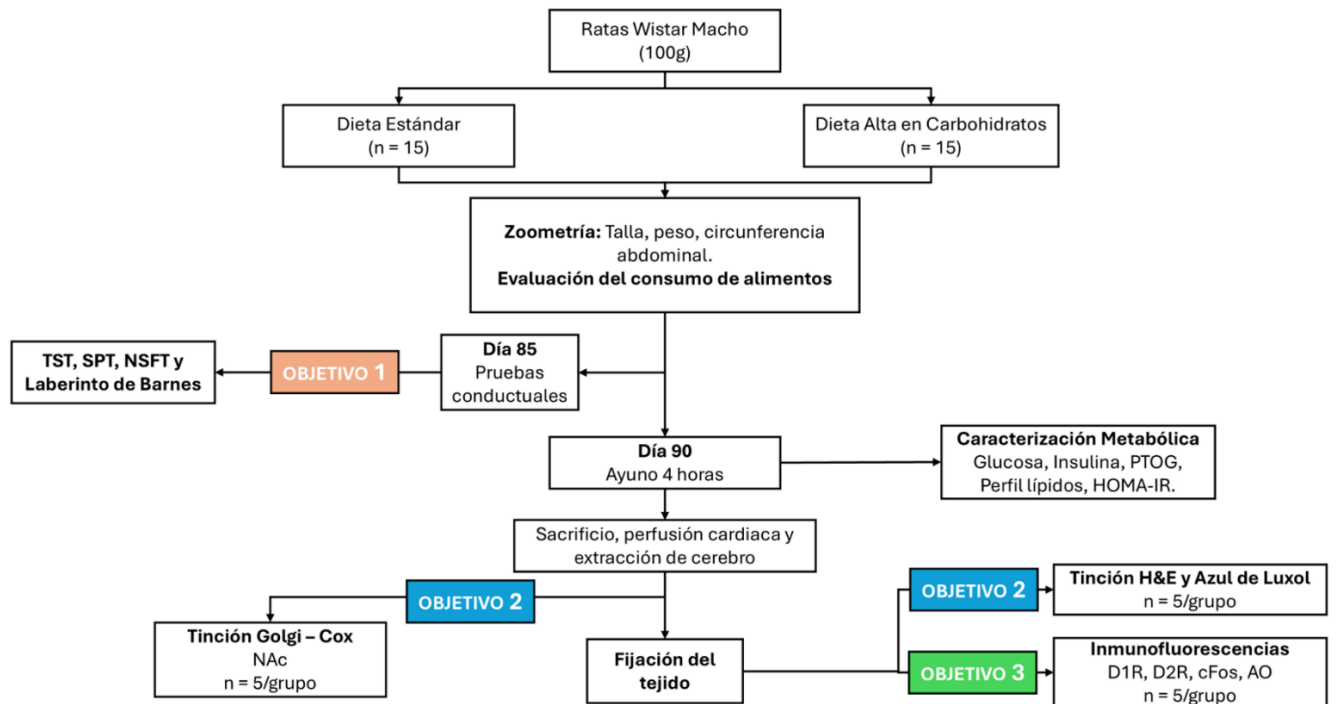
$$Intensidad\ Promedio = \frac{Densidad\ Integrada}{Pixeles\ Umbralizados}$$

Estas métricas permiten evaluar de forma integrada tanto la distribución como la intensidad de expresión de los receptores dopaminérgicos y la activación neuronal en las regiones de interés.

6.12. Análisis estadístico.

Los datos experimentales obtenidos se representarán como el promedio y el error estándar de la media. Para los análisis estadísticos se realizarán dóxicas bilaterales y se considerará un nivel de significancia del 95% ($p \leq 0.05$). Los datos del conteo de núcleos en la tinción H&E, % de área, intensidad de coloración promedio (ICP), intensidad de fluorescencia promedio (IFP) y núcleos c-Fos positivos se analizaron mediante una prueba de Mann-Whitney debido al tipo de variable cualitativa. Para los demás parámetros, se emplearán pruebas de bondad de ajuste para determinar la normalidad de los datos obtenidos; para aquellos datos que se ajusten a una distribución normal se emplearán pruebas t de Student para su análisis, y los datos que no se comportan de manera normal serán comparados mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney-Wilcoxon.

6.13. Diagrama de Trabajo



7. Resultados.

El consumo prolongado de carbohidratos simples puede producir cambios en la morfometría de los animales, así como aumentar el riesgo de desarrollo de SMet al estimular en cada comida la liberación de insulina, su señalización, el resguardo energético periférico. Además, se considera que el consumo a largo plazo de alimentos con nutrientes de este tipo puede favorecer un estado de habituación, conllevando una posible pérdida de la preferencia. Para este trabajo fue importante el seguimiento de la conducta de alimentación para que, además de guiarnos en la caracterización del modelo de SMet por el consumo de HCD, conociéramos los posibles cambios en la conducta de alimentación asociados a un virtual estado de anhedonia.

7.1. Efecto del consumo de una dieta alta en carbohidratos sobre el consumo alimentario y los parámetros zoométricos.

Tras la evaluación diaria del consumo alimentario sólido y líquido durante el periodo de desarrollo y establecimiento del modelo de SMet se obtuvieron los siguientes resultados (Figura 7a-c). Se observó que, al cabo de 90 días (tiempo de corte), el consumo promedio de sólidos en el grupo HCD fue de 130.8 g/semana/animal, lo que representa una disminución de 16.4% en comparación con el grupo control (NCD: 156.5 g/semana/animal, $p \leq 0.05$). Derivado de esto, al analizar el consumo energético, el grupo HCD consumió 462.6 kcal/semana/animal, lo que equivale a una reducción del 11.9% frente al grupo control (NCD: 524.9 kcal/semana/animal, $p \leq 0.05$). Por su parte, el consumo de líquidos del grupo HCD fue de 260.2 mL/semana/animal, con una disminución del 3.7% respecto al grupo control sin diferencia significativa (NCD: 270.2 mL/semana/animal, $p > 0.05$).

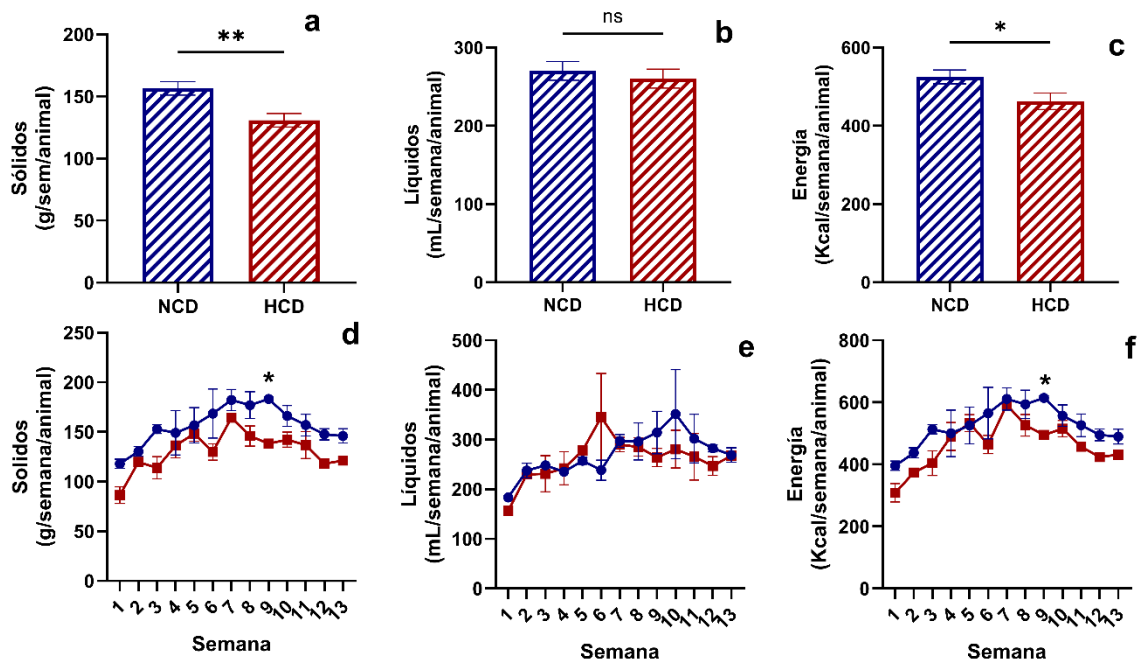


Figura 7. Evaluación de la ingesta de alimentos y el consumo energético tras 90 días de inducción en ratas NCD y HCD. **a)** Consumo promedio de sólidos. **b)** Consumo promedio de líquidos. **c)** Consumo promedio de energía. **d-f)** Evolución semanal de cada parámetro. Los valores corresponden a la media \pm EEM. (*) $p \leq 0.05$, (**) $p \leq 0.01$ en comparación con el grupo NCD.

Para tener un mejor discernimiento sobre la conducta de alimentación durante el desarrollo del modelo animal, realizamos el desglose semanal de los datos (Figura 7d-7e). Se encontró una sola diferencia significativa en las semanas evaluadas, siendo esta la semana 9 en la que el grupo HCD tuvo un consumo de 494.9 kcal/semana/animal, frente a 614.6 kcal/semana/animal del grupo NCD, equivalente a una reducción de 19.5% ($p \leq 0.05$).

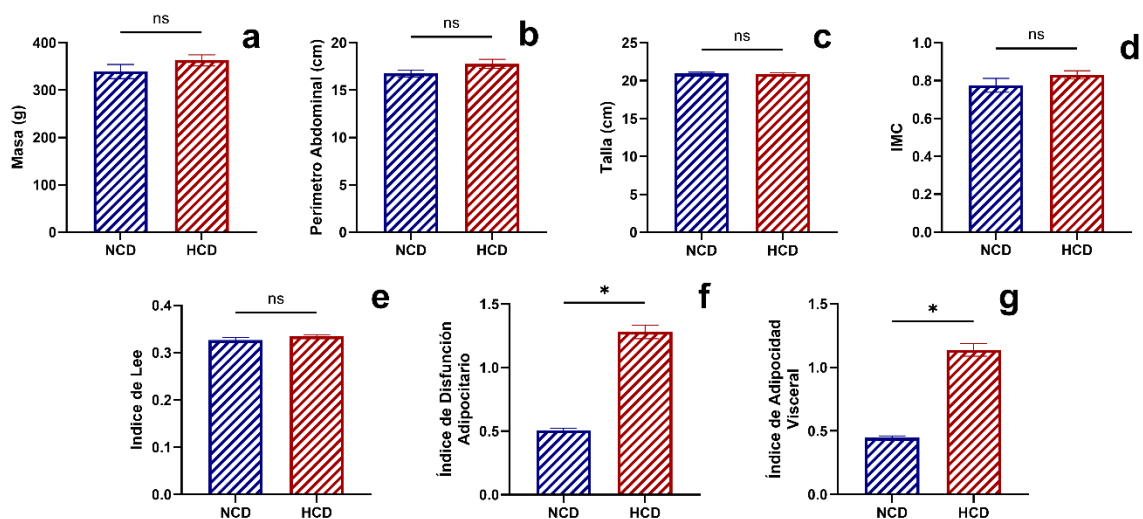


Figura 8. Comparación de parámetros zoométricos en ratas NCD y HCD al final del periodo experimental. **a)** Masa corporal. **b)** Perímetro abdominal. **c)** Talla. **d)** Índice de Masa Corporal (IMC). **e)** Índice de Lee. **f)** Índice de Disfunción Adipocitaria (DAI). **g)** Índice de Adipocidad Visceral (VAI). Datos expresados como la media \pm EEM. (*) $p \leq 0.05$ vs. grupo NCD.

También se cuantificaron parámetros zoométricos en los sujetos de estudio de ambos grupos (Figura 8). Se identificó un aumento de los siguientes parámetros sin diferencias significativas: peso corporal en un 6.8%, circunferencia abdominal en un 6.1%, IMC en un 7% e índice de Lee en un 2.5% (Figura 8a-b, d-e). La talla no fue diferente entre grupos (Figura 8f); no obstante, se encontró un aumento de los índices DAI en un 141.22% (NCD: 0.51, HCD: 1.23, $p \leq 0.05$) y VAI en 142.2% (NCD: 0.45, HCD: 1.09, $p \leq 0.05$) con respecto al grupo control. De este modo, a pesar de una disminución en el consumo de alimentos o del consumo de energía en los animales, se identificó un aumento de los parámetros que nos ayudan a conocer el estado de inducción del modelo de SMet. Para establecer formalmente el modelo animal, procedimos a realizar la determinación bioquímica-metabólica de los individuos de experimentación.

7.2. Caracterización de los cambios bioquímicos metabólicos de los individuos de experimentación.

Para conocer el estado metabólico del modelo animal, realizamos la cuantificación bioquímica de múltiples parámetros (Figura 9). El grupo HCD presentó un aumento de la glucosa e insulina

basal en un 32.1% y 8.1% respectivamente (Glucosa NCD: 116.9 mg/dL, HCD: 154.4 mg/dL, $p \leq 0.05$; Insulina NCD: 9.7 $\mu\text{U/mL}$, HCD: 10.5 $\mu\text{U/mL}$, $p > 0.05$). A partir de la cuantificación de estos parámetros, realizamos el cálculo del índice HOMA-IR como indicador del estado de resistencia a la insulina (Figura 9c). El índice HOMA-IR mostró un incremento del 161.4% en el grupo HCD (NCD: 0.31, HCD: 0.81, $p \leq 0.05$).

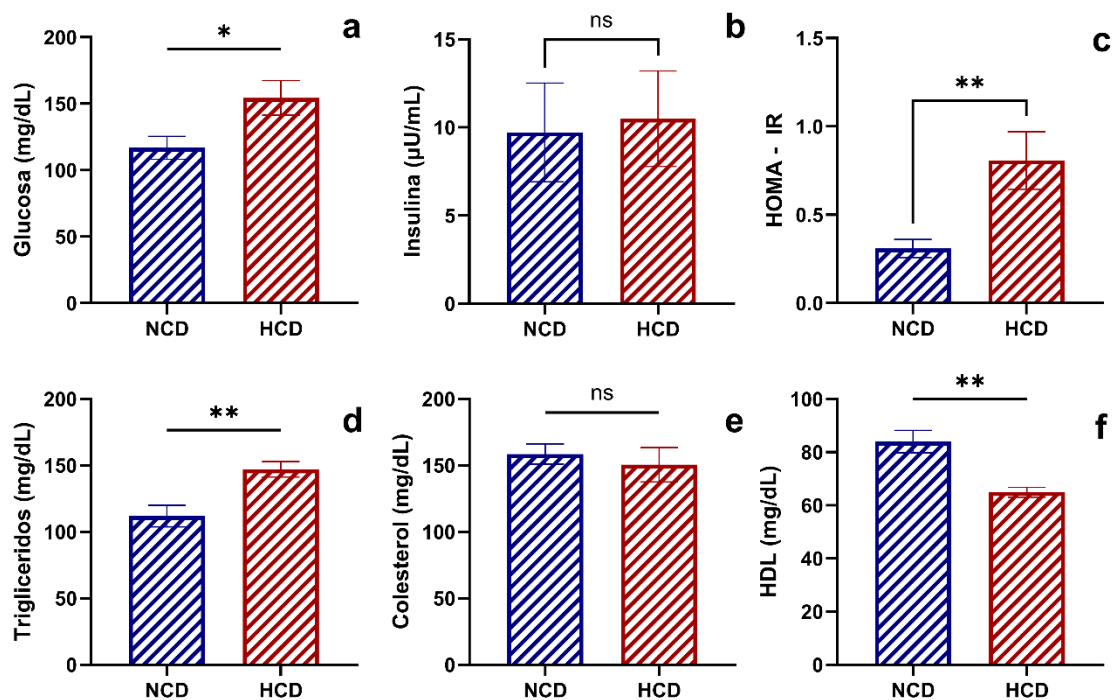


Figura 9. Comparación de los parámetros metabólicos basales en ratas NCD y HCD a la fecha de corte. Las gráficas representan los valores cuantificados para a) Glucosa. b) Insulina. c) Índice HOMA-IR. d) Triglicéridos. e) Colesterol total. f) HDL. Los valores corresponden a la media \pm EEM. (*) $p \leq 0.05$, (**) $p \leq 0.01$ en comparación con el grupo NCD.

Una vez evaluada la homeostasis basal de carbohidratos e insulina, evaluamos los posibles cambios en el metabolismo lipídico basal (Figura 9d-f). El perfil lipídico mostró al grupo HCD con un aumento de los triglicéridos en 31.47% (NCD: 111.9 mg/dL, HCD: 147.1 mg/dL, $p \leq 0.05$). Mientras que la concentración de HDL disminuyó en 22.70% (NCD: 84.0 mg/dL, HCD: 64.9 mg/dL, $p \leq 0.05$) en el grupo HCD.

Tras la caracterización del perfil metabólico de glucosa, insulina y lípidos, procedimos a evaluar la dinámica de respuesta de estos parámetros tras una carga oral de glucosa mediante

la PTOG realizada. Para ello, se cuantificaron las concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos, insulina, glucagón, leptina y adiponectina en intervalos de tiempo de 30 minutos tras la administración de la carga oral de glucosa (Figura 10). Los datos obtenidos son los siguientes:

Al evaluar la curva de glucosa (Figura 10a), el grupo HCD presentó valores basales más altos que el grupo NCD, siendo este cambio del 32.1% (NCD: 116.9 mg/dL, HCD: 154.4 mg/dL, $p \leq 0.05$), seguido de una disminución marcada del 45.9% a los 30 minutos (NCD: 149.7 mg/dL, HCD: 81.10 mg/dL, $p \leq 0.05$). Posteriormente, las concentraciones de ambos grupos se acercaron a valores similares en el tiempo 60 y hasta el minuto 90, periodo final del análisis. En la evaluación temporal del metabolismo de triglicéridos (Figura 10b), no se observaron diferencias basales significativas. Sin embargo, el grupo HCD presentó una disminución en el minuto 30 del 14.1% (NCD: 148.5 mg/dL, HCD: 127.6 mg/dL, $p \leq 0.05$) con un posterior incremento sobre el grupo NCD a los 90 minutos del 22.9% (NCD: 166.5 mg/dL, HCD: 204.6 mg/dL, $p \leq 0.05$). Con estos datos obtenidos de estas pequeñas moléculas, evaluamos posteriormente el comportamiento a lo largo del tiempo de las hormonas involucradas en la señalización de la disponibilidad y el resguardo energético.

Al observar el comportamiento temporal de la insulina (Figura 10c), esta mostró niveles similares en ambos grupos en el estado basal; sin embargo, tras el reto metabólico, el grupo HCD presentó una mayor concentración del 70.3% al 87.6% con respecto al grupo NCD en el tiempo 30 (NCD: 5.143 μ U/mL, HCD: 8.753 μ U/mL, $p \leq 0.05$) a los 90 minutos (NCD: 6.422 μ U/mL, HCD: 12.05 μ U/mL, $p \leq 0.05$). El glucagón (Figura 10d) disminuyó a lo largo del tiempo en un 20.7% (NCD: 10.9 – 6.5 pg/mL, HCD: 8.6 - 7.9 pg/mL, $p \leq 0.05$).

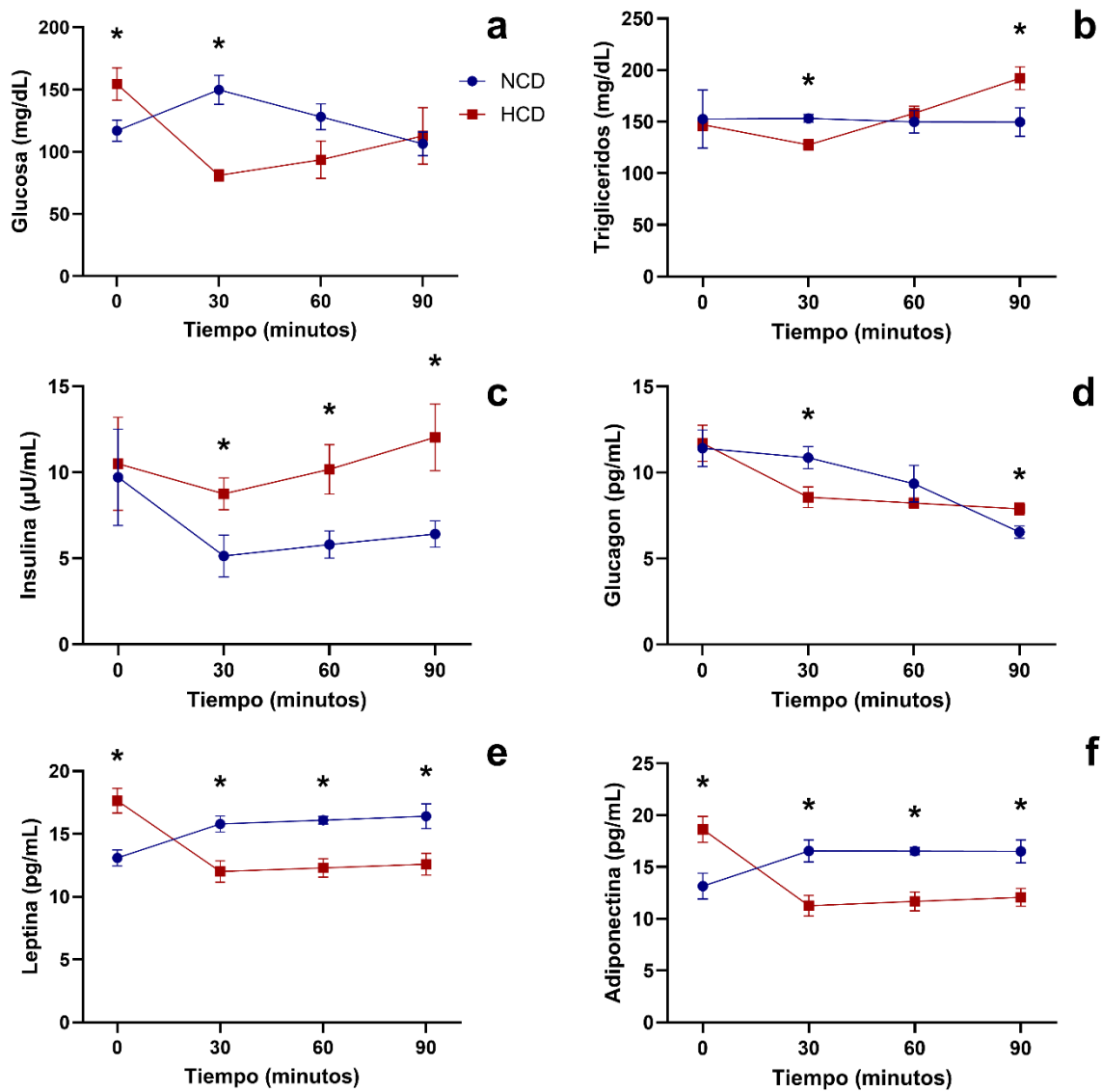


Figura 10. Curvas de respuesta metabólica tras una carga oral de glucosa en los grupos NCD y HCD. **a)** Glucosa. **b)** Triglicéridos. **c)** Insulina. **d)** glucagón. **e)** Leptina. **f)** Adiponectina. Todas las determinaciones séricas fueron determinadas en el estado basal y en los tiempos de 30, 60 y 90 minutos posteriores a la administración del estímulo. Los valores representan la media \pm EEM. Las diferencias significativas se indican con (*) $p \leq 0.05$ en comparación con el grupo NCD para el mismo tiempo.

Por otra parte, la leptina (Figura 10e) fue más elevada un 34.7% en el grupo HCD en el tiempo basal (NCD: 13.10 pg/mL, HCD: 17.64 pg/mL, $p \leq 0.05$), pero presentó valores inferiores en todos los tiempos posteriores (-24.1%, -23.6% y -23.3% en los minutos 30, 60 y 90, respectivamente; $p \leq 0.05$). Finalmente, la adiponectina (Figura 10f) mostró valores basales

41.6% mayores en el grupo HCD (NCD: 13.16 pg/mL, HCD: 18.63 pg/mL, $p \leq 0.05$), seguidos de reducciones significativas en los minutos 30, 60 y 90 (-31.9%, -29.3% y 26.9% respectivamente; $p \leq 0.05$) en comparación con el grupo NCD.

7.3. Valoración de las alteraciones de la conducta hedónica y de motivación de los grupos experimentales.

En la prueba de suspensión de cola (TST; Figura 11a), el grupo HCD presentó un incremento de la inmovilidad de 15.7% (NCD: 138.4 s, HCD: 160.1 s, $p \leq 0.05$). Al observar la preferencia por soluciones dulces en la SPT (Figura 11b), se observó una mayor preferencia en el grupo HCD (35.5%), no obstante, este dato no logró alcanzar significancia estadística ($p > 0.05$).

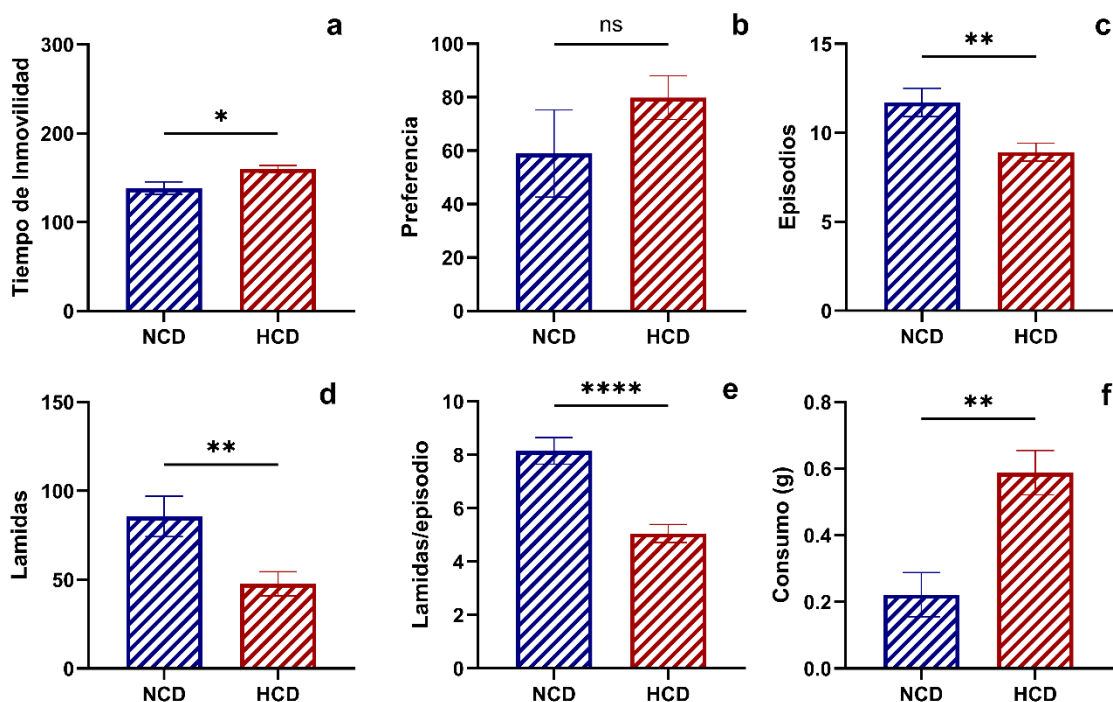


Figura 11. Evaluación de la conducta hedónica en ratas NCD y HCD. **a)** Tiempo de inmovilidad en la prueba de suspensión de cola. **b)** Preferencia tras una prueba de preferencia a la sacarosa. **c)** Cantidad de episodios. **d)** Cantidad de lamidas. **e)** Lamidas por episodio. **f)** Consumo de alimento en la prueba de alimentación novedosa en ayuno. Los valores corresponden a la media ± EEM o mediana (paneles c-e). (*) $p \leq 0.05$, (**) $p \leq 0.01$, (****) $p < 0.0001$ en comparación con el grupo NCD.

Sin embargo, nos dimos a la tarea de evaluar de forma más cercana la conducta de alimentación para complementar la SPT. Esto a través de una prueba denominada análisis de la microestructura de lengüeteo (*licking microstructure*). El análisis de la microestructura reveló que el grupo HCD presentó una disminución en el número de episodios de lengüeteo del 25.9% (NCD: 11.25, HCD: 8.330, $p \leq 0.01$; Figura 11c), así como en el número total de lamidas realizadas en un 61% (NCD: 82.00, HCD: 31.50, $p \leq 0.01$; Figura 11d), y en el número de lamidas realizadas por episodio (-33.8%; NCD: 7.480, HCD: 4.950, $p < 0.0001$; Figura 11e). Finalmente, en la NSFT (Figura 11f), el grupo HCD presentó un consumo del 165.1% mayor al control tras la exposición al nuevo entorno (NCD: 0.22 g, HCD: 0.59 g, $p \leq 0.01$).

Finalmente, en nuestra batería conductual, evaluamos la conducta de motivación empleando un pellet de sacarosa como reforzador positivo a través del laberinto de Barnes (Figura 12). Al analizar la latencia total (Figura 12a), el grupo HCD mostró en el día 1 un aumento del 74.7% en el tiempo de escape (NCD: 114.6 s, HCD: 200.2 s, $p \leq 0.001$), sin diferencias significativas en los días de prueba posteriores. Lo mismo sucede para la latencia primaria (Figura 12b) donde se observó un aumento del 80.5% en el día 1 (NCD: 83.75 s, HCD: 151.2 s, $p \leq 0.001$). En el caso de los errores, estos fueron mayores en el día 1 para el grupo HCD (Figura 12c), 84.4% (NCD: 8.792, HCD: 16.21, $p \leq 0.01$), y en el día 3 el grupo HCD presentó una reducción del 47.3% en la cantidad de errores cometidos al buscar el agujero de escape (NCD: 16.38, HCD: 8.625, $p \leq 0.01$). No se establecieron diferencias significativas en los días subsecuentes.

Por último, se analizaron las frecuencias del uso de estrategias de búsqueda: aleatorias, seriadas y directas (Figura 12d-e). El grupo NCD mostró un incremento progresivo del uso de estrategias directas desde el primer día de prueba (11.1%) hasta el día 5 (44.4%). A su vez, el grupo HCD presentó un aumento de estrategias directas, aunque menos marcado, desde un 4.5 % el primer día hasta alcanzar un máximo de 31.8 % en los días 3 y 4.

El uso de estrategias seriadas fue más marcado entre grupos, con el grupo NCD partiendo de un 11.1% el día 1 hasta alcanzar un máximo en el día 4 (25.9%), seguido de una caída en el día 5 (11.1%). Para el caso del grupo HCD, el empleo de estrategias seriadas fue constante entre sesiones, desde un 8.7 % en el primer día de sesión hasta un 21.7 % en el día 4 y con un pico del 30.4 % en el día 5. Por último, la estrategia directa en el grupo NCD aumentó de forma

constante a lo largo de los días de prueba, iniciando con 11.1% el día 1 hasta alcanzar un 44.4% el día 45. Por otro lado, el grupo HCD mostró un patrón más irregular en el empleo de este tipo de estrategia, con un 4.5% al inicio de los días de entrenamiento, aumentando hasta 31.8% los días 3 y 4, cayendo finalmente a un 18.2% en el día 5.

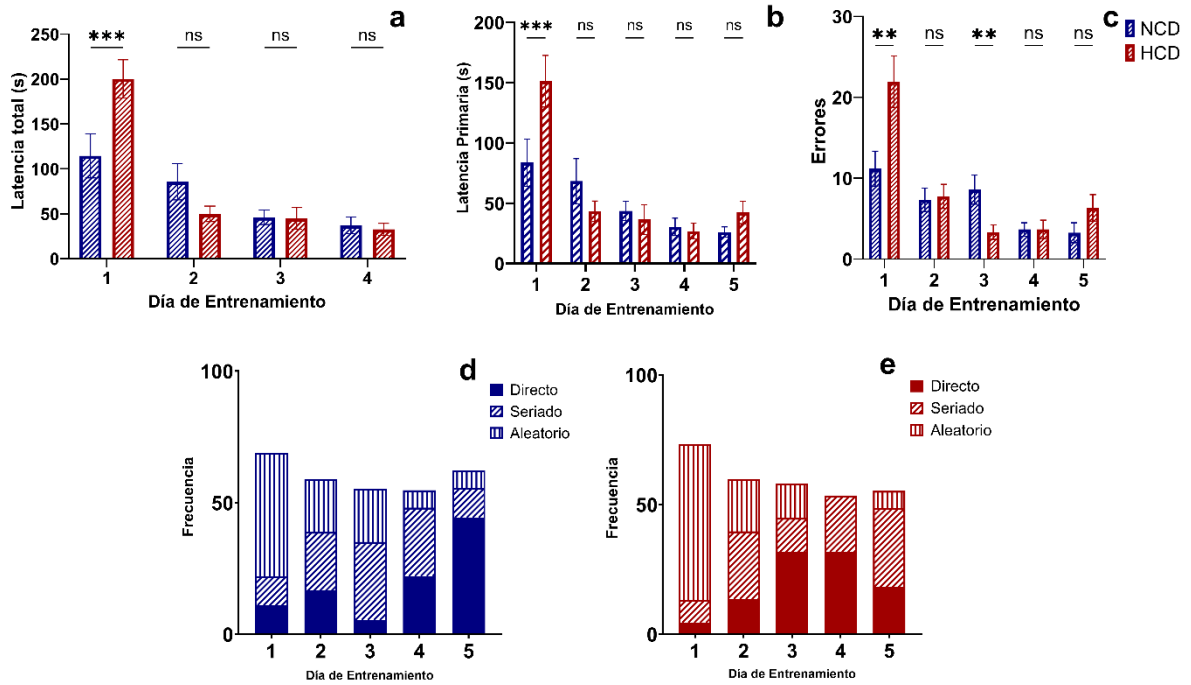


Figura 12. Desempeño de los grupos experimentales NCD y HCD en el laberinto de Barnes. **a)** Latencia total. **b)** Latencia primaria. **c)** Cantidad de errores. **d)** Estrategias de búsqueda en el grupo NCD y **e)** en el grupo HCD. Los paneles a–c muestran el rendimiento cuantitativo a lo largo de los días de entrenamiento, mientras que los paneles d–e muestran los cambios en el empleo de estrategias directas, seriadas y aleatorias. Los valores corresponden a la media \pm EEM o rango medio (panel c). (**) $p \leq 0.01$, (***) $p \leq 0.001$ en comparación con el grupo NCD.

7.4. Análisis histológico del núcleo accumbens en los animales con síndrome metabólico.

Al analizar las secciones coronales de H&E (**Figura 13a-c**) se encontró que el grupo HCD demostró un aumento del 771.3% en el porcentaje de núcleos picnóticos (NCD: 2.4%, HCD: 21.3%, $p \leq 0.05$). Por otra parte, el análisis con la tinción azul de Luxol no muestra diferencias

en el área mielinizada, ni en la densidad integrada, ni en la intensidad promedio de coloración (Figura 13f-h).

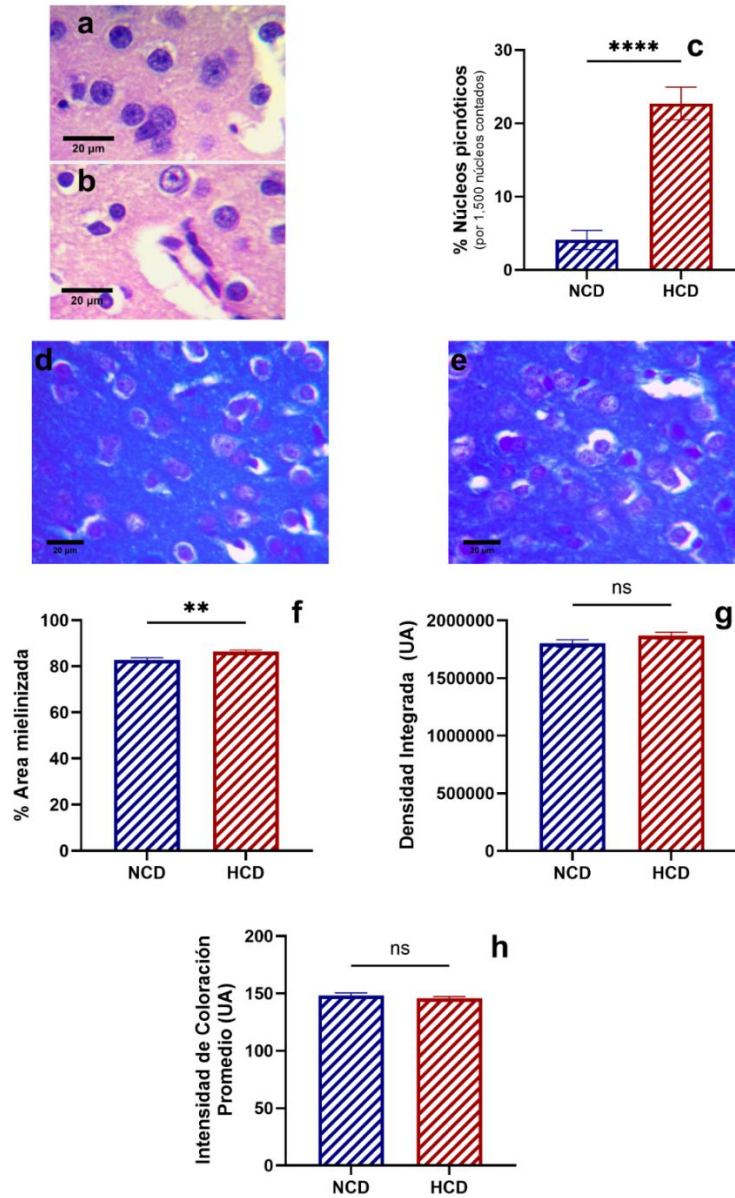


Figura 13. Histología del núcleo accumbens. **a-b)** Microfotografías representativas a 400x de cortes coronales teñidos con hematoxilina-eosina (H&E) en los grupos a. NCD y b. HCD. **c)** Porcentaje de núcleos picnóticos por 1,500 núcleos contados. **d-e)** Microfotografías representativas a 400x de cortes coronales teñidos con azul del grupo d. NCD y e. HCD. **f)** Porcentaje del área mielinizada. **g)** Densidad integrada de la tinción. **h)** Intensidad de coloración promedio. Los valores corresponden a la media ± EEM o mediana (paneles c y f). ** $p \leq 0.01$, **** $p < 0.0001$ en comparación con el grupo NCD.

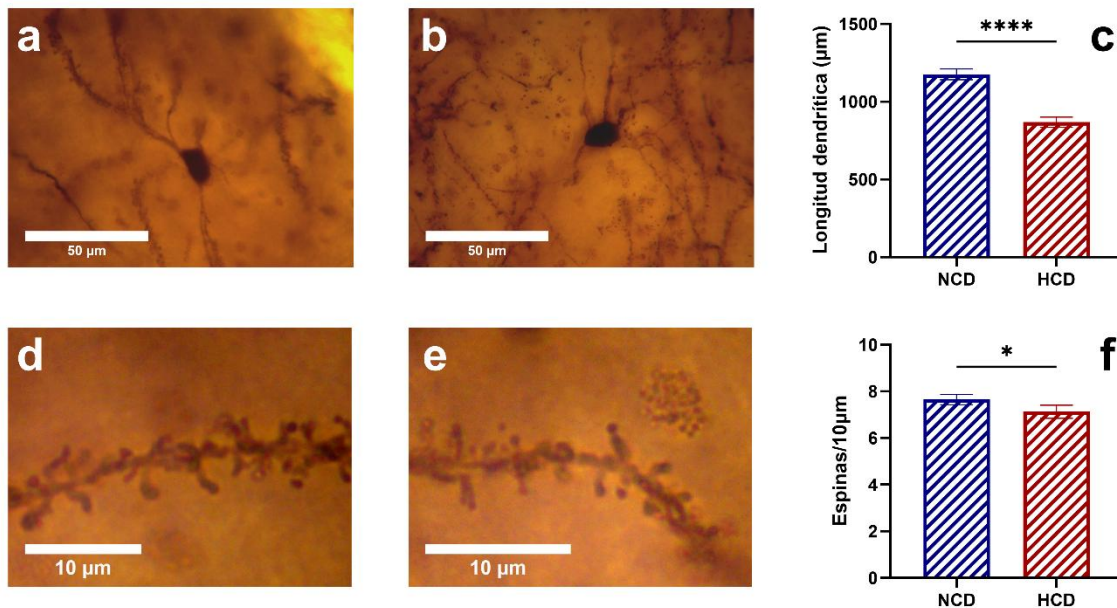


Figura 14. Análisis morfológico de neuronas del núcleo accumbens mediante tinción de Golgi-Cox. **a)** Microfotografía representativa de una neurona del grupo NCD. **b)** Microfotografía representativa de una neurona del grupo HCD. **c)** Longitud dendrítica promedio (μm). **d)** Dendrita a $100\times$ del grupo NCD. **e)** Dendrita a $100\times$ del grupo HCD. **f)** Número de espinas por $10\ \mu\text{m}$ de dendrita. Los valores corresponden a la media \pm EEM o mediana. (*) $p \leq 0.05$, (****) $p < 0.0001$ en comparación con el grupo NCD.

En el análisis de la morfología neuronal mediante la tinción de Golgi-Cox (Figura 14a-f), la longitud dendrítica promedio de las neuronas del NAc fue menor un 26.2% en el grupo HCD (NCD: $1176\ \mu\text{m}$, HCD: $868.0\ \mu\text{m}$, $p < 0.0001$; Figura 14c). Mientras que la densidad de espinas dendríticas mostró una reducción del 12.5% en el grupo HCD frente al control (NCD: 8.000 espinas/ $10\ \mu\text{m}$, HCD: 7.000 espinas/ $10\ \mu\text{m}$, $p \leq 0.05$; Figura 14f).

Tras una tinción de naranja de acridina (AO) en el NAc, los canales verde y rojo para ambos grupos experimentales fueron analizados (Figura 15a-f). El índice rojo/verde (Figura 15g) es reportado en estudios que buscan evaluar la viabilidad celular. Detectamos la disminución en un 14.7% en el grupo HCD (NCD: 1.221 , HCD: 1.042 , $p \leq 0.05$). Para determinar si este cambio era debido al incremento de la fluorescencia verde o a la disminución

de la señal fluorescente roja, evaluamos las densidades integradas de cada canal por separado. La densidad integrada en el canal verde presentó un aumento del 28.8% en el grupo HCD ($p \leq 0.05$), mientras que la densidad integrada en el canal rojo demostró una disminución de tan solo 1.1%.

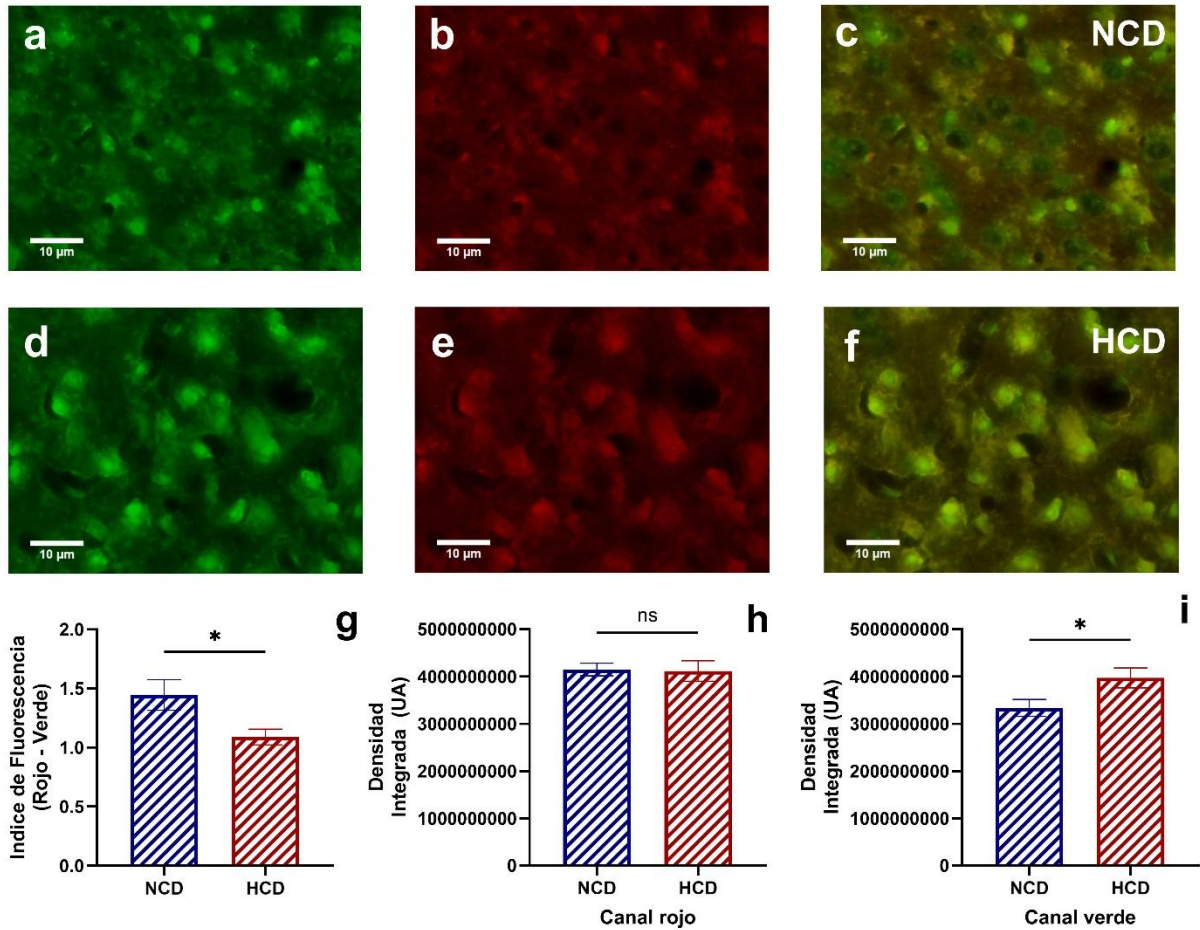


Figura 15. Análisis de la intensidad fluorescente en células del NAc teñidas con naranja de acridina. **a-c)** Microfotografías representativas del grupo NCD. **d-f)** Microfotografías representativas del grupo HCD. **g)** Índice de Fluorescencia (rojo/verde). **h)** Densidad integrada del canal rojo. **i)** Densidad integrada del canal verde. Los valores corresponden a la media \pm EEM o mediana. (*) $p \leq 0.05$ en comparación con el grupo NCD.

7.5. Evaluación de la funcionalidad dopaminérgica y de activación en el núcleo accumbens.

Para el receptor D1R en el NAc Core (Figura 16a-i), el área inmunorreactiva para D1R presentó un aumento del 9.2% (NCD: 49.6%, HCD: 54.1%, $p > 0.05$). La intensidad de fluorescencia promedio del D1R inmunorreactivo se redujo en un 7% (NCD: 27,161 UA, HCD: 25,264 UA, $p \leq 0.01$). Por su parte, el área inmunorreactiva para D2R (Figura 16j-r) aumentó 76.9% (NCD: 19%, HCD: 33.5%, $p \leq 0.05$), la densidad integrada incrementó 57.5% ($p \leq 0.01$) y la intensidad de fluorescencia promedio mostró un aumento del 4.4% en el grupo HCD ($p > 0.05$).

Posteriormente hicimos la misma evaluación de los receptores en la subregión del NAc Shell (Figura 17). Encontramos que para el D1R en el NAc Shell (Figura 17a-i), el % de área inmunorreactiva cayó un 8.9% (NCD: 59%, HCD: 53.7%, $p > 0.05$), la densidad integrada tuvo un decremento del 26.8% ($p \leq 0.001$) y la intensidad media disminuyó un 17.4% ($p \leq 0.001$). Sin embargo, observamos un comportamiento contrario en el D2R (Figura 17j-r), ya que el % de área inmunorreactiva aumentó un 8.1% (NCD: 31%, HCD: 33.5%, $p > 0.05$), la densidad integrada en 83.7% ($p \leq 0.01$) y la intensidad media en 32.1% ($p \leq 0.05$).

Finalmente, para complementar el análisis de la presencia de receptores dopaminérgicos en el NAc, se evaluó la activación neuronal mediante la cuantificación de núcleos positivos al marcador cFos en los grupos NCD y HCD (Figura 18a-f). El porcentaje de núcleos cFos positivos en el NAc disminuyó 36.7% en el grupo HCD en comparación con el grupo NCD (NCD: 8.5%, HCD: 5.4%, $p \leq 0.01$) (Figura 18g).

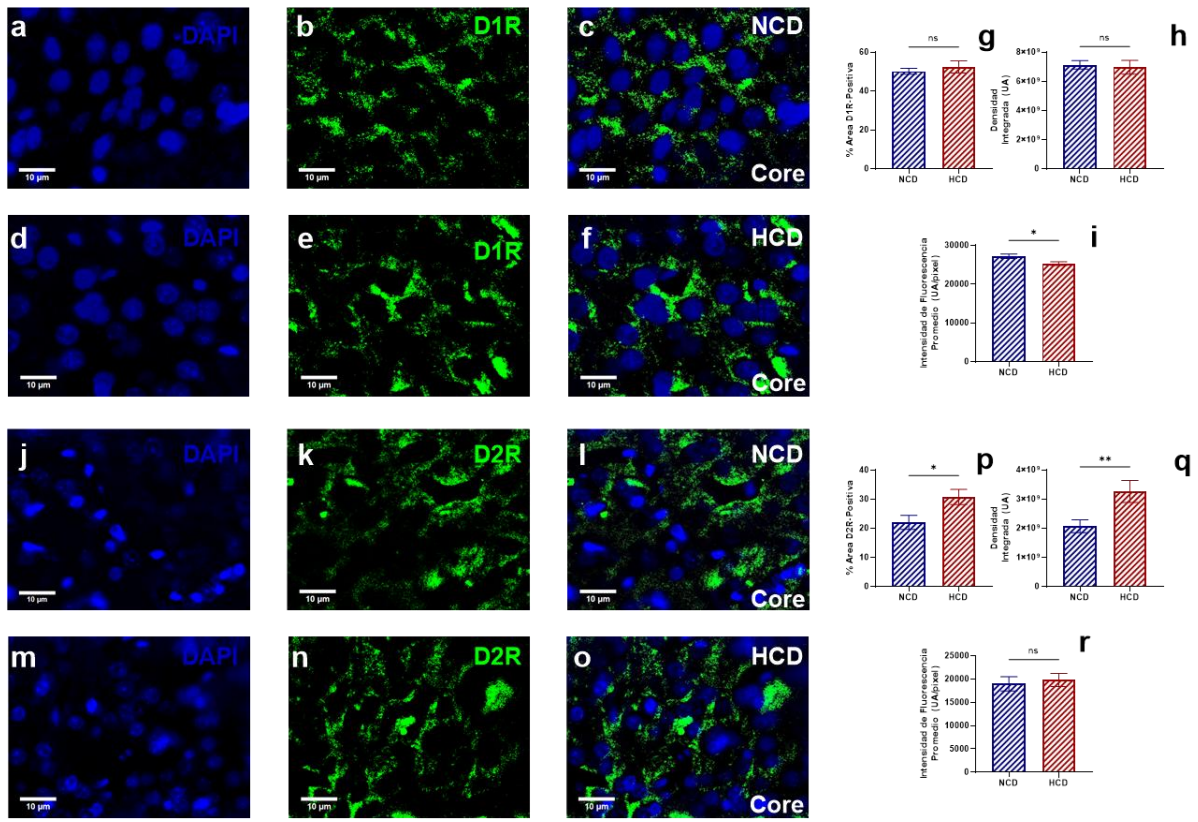


Figura 16. Expresión de los receptores dopaminérgicos en el NAc Core. **a-c)** Microfotografías representativas de D1R en NAc Core para el grupo NCD. **d-f)** Microfotografías representativas de D1R en NAc Core para el grupo HCD. **g)** % de área D1R. **h)** Densidad Integrada D1R. **i)** Intensidad de Fluorescencia Promedio D1R. **j-l)** Microfotografías representativas de D2R en NAc Core para el grupo NCD. **m-o)** Microfotografías representativas de D2R en NAc Core para el grupo HCD. **p)** % de área D2R. **q)** Densidad Integrada D2R. **r)** Intensidad de Fluorescencia Promedio D2R. Los valores corresponden a la media \pm EEM o mediana. (*) $p \leq 0.05$, (**) $p \leq 0.01$ en comparación con el grupo NCD.

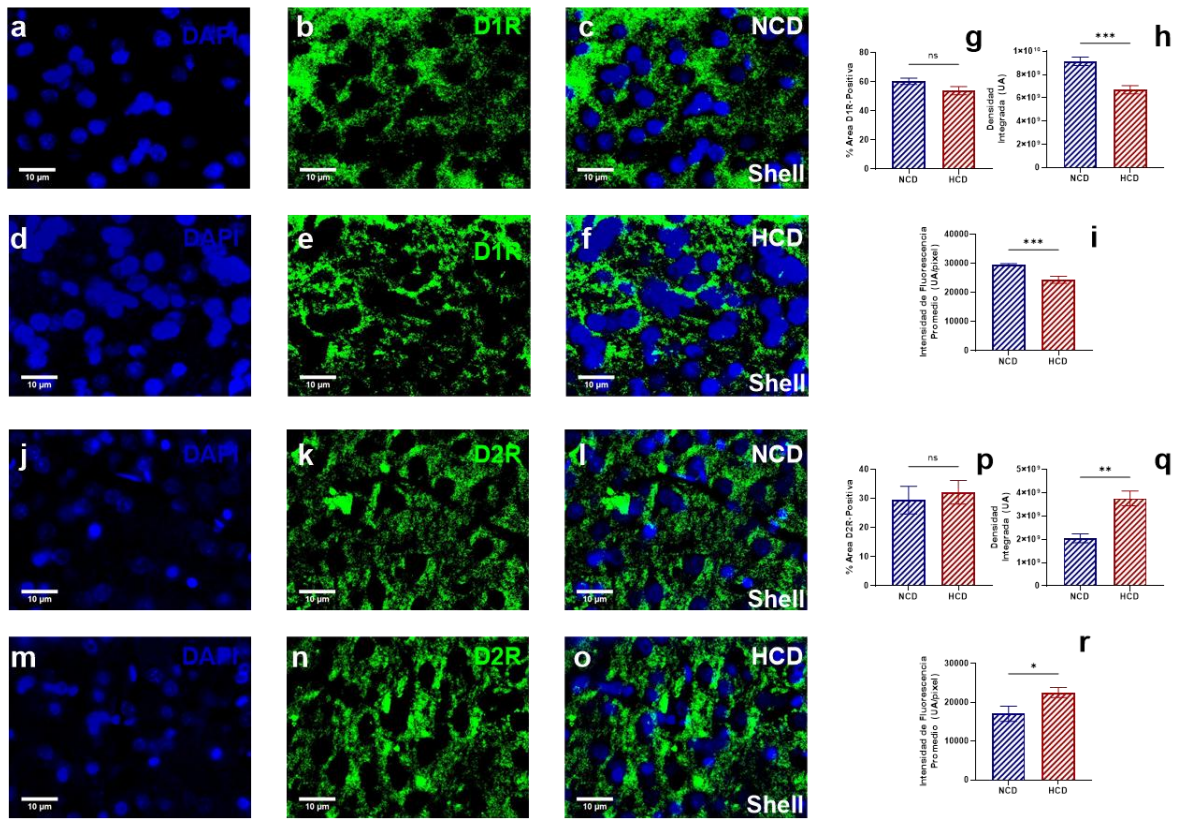


Figura 17. Expresión de los receptores dopaminérgicos en el NAc Shell. **a-c)** Microfotografías representativas de D1R en NAc Shell para el grupo NCD. **d-f)** Microfotografías representativas de D1R en NAc Shell para el grupo HCD. **g)** % de área D1R. **h)** Densidad Integrada D1R. **i)** Intensidad de Fluorescencia Promedio D1R. **j-l)** Microfotografías representativas de D2R en NAc Shell para el grupo NCD. **m-o)** Microfotografías representativas de D2R en NAc Shell para el grupo HCD. **p)** % de área D2R. **q)** Densidad Integrada D2R. **r)** Intensidad de Fluorescencia Promedio D2R. Los valores corresponden a la media \pm EEM o a la mediana. (*) $p \leq 0.05$, (**) $p \leq 0.01$, (***) $p \leq 0.001$ en comparación con el grupo NCD.

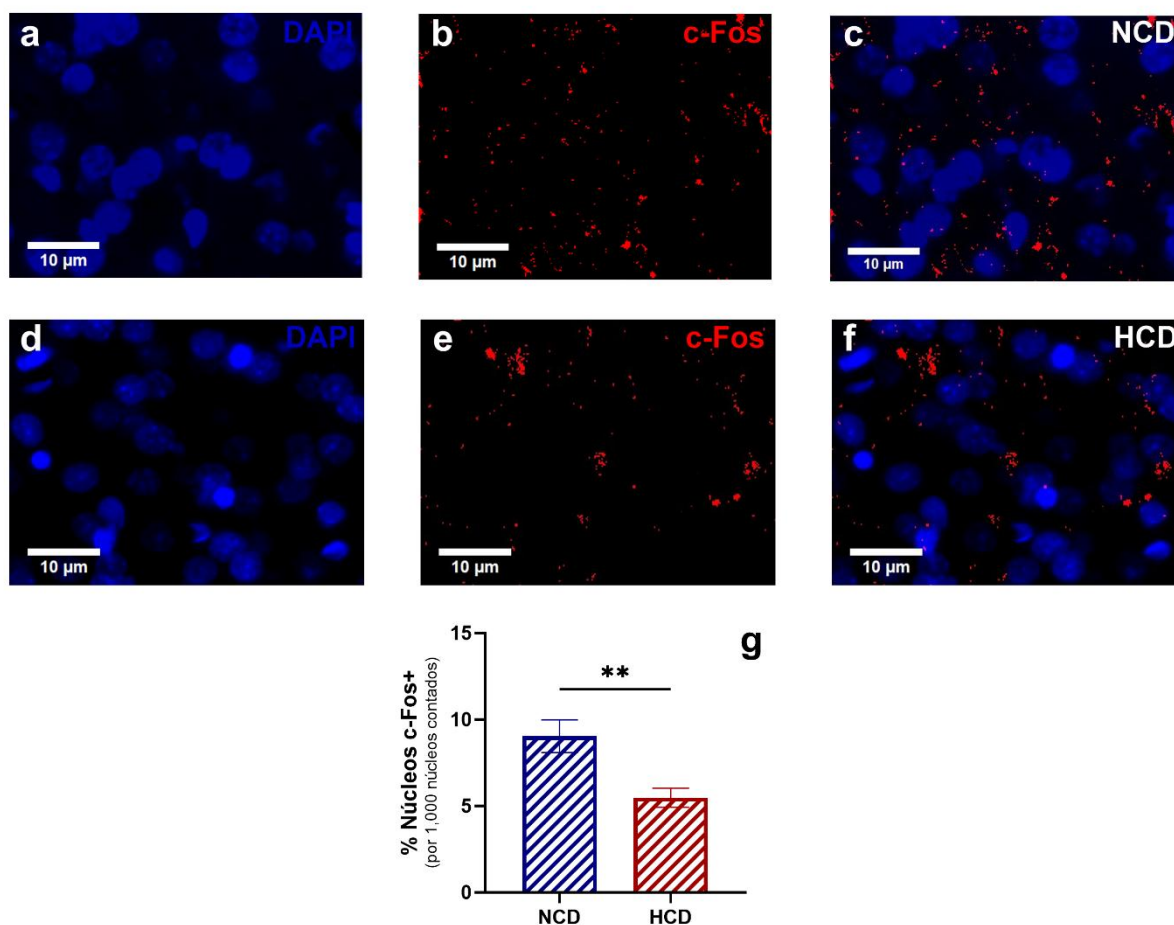


Figura 18. Evaluación de la activación neuronal en el NAc mediante inmunofluorescencia para cFos. **a-c)** Microfotografías representativas en NAc para el grupo NCD. **d-e)** Microfotografías representativas en NAc para el grupo HCD. **g)** Porcentaje de núcleos cFos+ por 1,000 núcleos contados. Los valores corresponden a la mediana. (**) $p \leq 0.01$ en comparación con el grupo NCD.

8. Discusión.

8.1. Cambios zoométricos en respuesta al consumo de una dieta alta en carbohidratos.

El SMet es un conjunto de alteraciones metabólicas y sistémicas como la hipertensión, RI, obesidad visceral, hígado graso, así como alteraciones cardiovasculares (Mohamed et al., 2023). Entre múltiples factores de riesgo, los más reconocidos son el sedentarismo (Neeland et al., 2024) y el consumo de dietas altas en calorías (Akter et al., 2022). El aumento de la ingesta de carbohidratos promueve su absorción, movilización, metabolismo y almacenamiento. Todo esto

controlado mediante la hormona insulina, donde los tejidos comienzan a demostrar una respuesta disminuida, a lo largo del tiempo que se consumen carbohidratos simples de manera sostenida (M. Li et al., 2022).

Uno de los principales factores de riesgo para desarrollar SMet es la sobrenutrición o sobrealimentación crónica (Bovolini et al., 2021). El patrón alimentario reconocido es el de tipo “*dieta occidental*”, caracterizado por un elevado consumo calórico y elevadas proporciones de alimentos ultraprocesados (AUP) (Rodríguez-Monforte et al., 2017). Es en estos AUP donde se encuentran principalmente carbohidratos refinados y azúcares simples (Martínez-González & Martín-Calvo, 2013), como es el caso de la dieta que empleamos. Esto es debido a que son producidos a través de técnicas de ultraprocesamiento como la extrusión de granos, degradación química o enzimática de almidones, lo que permite que sean fabricados principalmente con un estrecho rango de ingredientes: jarabe de maíz de alta fructosa, azúcar invertido o maltodextrinas (Scrinis & Monteiro, 2022). El sistema de clasificación NOVA agrupa todos los alimentos de acuerdo con la naturaleza, el alcance y los propósitos de los procesos industriales a los que son sometidos. Estos involucran técnicas físicas, biológicas y químicas utilizadas después de que los alimentos son separados de la naturaleza y antes de que sean consumidos, o bien, convertidos en alimentos (Machado, 2019). Así, la presencia de cualquiera de estos ingredientes es indicadora *per se* de un AUP conforme a la clasificación NOVA, ya que es responsable de ejercer un fuerte estímulo hedónico (Monteiro et al., 2019). Este procesamiento es el que además provoca la pérdida de la matriz alimentaria, importante para la liberación, accesibilidad, estabilidad y digestibilidad de los nutrientes en los alimentos (Aguilera, 2019). En conjunto, permite que los AUP tengan un perfil de ingredientes desbalanceado, y es debido a estas propiedades que los AUP suelen ser hiperpalatables, ricos en grasas, azúcares, carentes de fibra fermentable, con presencia de nutrientes acelulares que impactan en la conducta alimentaria y la homeostasis energética del individuo.

En el presente trabajo empleamos la HCD *MX/E/2013/047377* para nuestro grupo problema. Esta dieta contiene un 71.4% de carbohidratos simples, de los cuales el 80% son sacarosa y el 20% restante son fructosa, además de estar desprovista de fibra, por lo que podría ser considerada un AUP. Por otra parte, nuestro grupo de control recibió la dieta LabDiet 5001, donde el 48.7% son carbohidratos, principalmente almidones, además de contener un 5.1% de

fibra. Al evaluar el consumo de alimentos a lo largo de los tres meses de inducción del modelo, observamos una disminución global en cuanto al consumo de alimentos sólidos y el consumo energético (Figura 7a-c), que no es patente al desglosar el consumo alimentario de manera semanal (Figura 7d-f). Esto nos indica que existen procesos que alteran la conducta alimentaria de los sujetos de experimentación, ya que no existe un proceso de hiperconsumo de alimento de dieta palatable a lo largo del desarrollo del modelo experimental. Estos cambios de alimentación que no concuerdan con el aumento del consumo de dieta pueden deberse a posibles alteraciones en los sistemas encargados de la integración y modulación de estímulos en el corto y largo plazo.

En el corto plazo, la modulación del consumo de alimentos está dada por la experiencia sensorial de los carbohidratos, que comienza desde las señales visuales y olfatorias (Y. Chen et al., 2015), lo que permite preparar circuitos centrales de la alimentación. Los azúcares simples, especialmente la glucosa, son rápidamente detectados por mecanismos interoceptivos desde la lengua hasta el intestino a través de tres vías principales: 1) receptores del sabor (TR), 2) transportadores de glucosa (SGLT) y 3) canales de potasio dependientes de ATP (K_{ATP}). Son estos receptores en la periferia los que permiten relevar la información a nivel central. Todos estos componentes permiten llevar a cabo el sense energético y hedónico de los alimentos, de modo que el procesamiento de estas señales influencia la frecuencia de alimentación (saciación, frecuencia de consumo en la misma etapa de consumo; y saciedad, tiempo que transcurre entre una etapa de consumo y otra).

Una vez que el alimento se encuentra en la cavidad oral, los TR pueden señalar al Núcleo del Tracto Solitario rostral (rNTS) la presencia de carbohidratos promoviendo apetencia y saciación durante la misma comida. (Aklan et al., 2020). A la vez que los carbohidratos ingresan al estómago y duodeno proximal, transportadores SGLT1 favorecen la despolarización de células neuropodas, que señalarán a nivel central el cese del consumo de alimentos, así como el estado de apetencia (Ren et al., 2010; Scalfani et al., 2016), importante para reforzar la posterior conducta de ingesta del alimento altamente palatable. Por otro lado, a largo plazo, las hormonas supresoras del apetito son liberadas por células L o células K, en respuesta a nutrientes no absorbidos (Duca et al., 2021): el péptido YY (PYY), el péptido similar al glucagón (GLP) y el péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP). Esto mediante la despolarización de la membrana celular principalmente por SGLT, y canales K_{ATP} (Reimann & Gribble, 2016). Es

aquí donde estas moléculas toman importancia en la regulación del consumo alimentario como describiremos a continuación.

Se ha demostrado que, si bien los carbohidratos simples inducen poca saciedad en general debido al rápido paso de la luz intestinal al torrente sanguíneo (Duca et al., 2021), el trabajo de Almiron-Roig demostró que un alimento sólido con sacarosa induce la misma, o inclusive mayor saciedad que un alimento líquido isocalórico compuesto del mismo azúcar (Almiron-Roig et al., 2004), como ocurre con nuestra HCD, presentada en forma sólida, lo que puede reflejar el menor consumo de alimentos (Figura 7a,d). Esto se debe al mayor estímulo sensorial por la mayor estadía del alimento en la cavidad oral durante la masticación. Además, en el trabajo de Almiron-Roig se encontró que la ingesta de alimentos sólidos ricos en carbohidratos no impacta en la ingesta de líquidos (Figura 7b,e), a diferencia del consumo de líquidos ricos en carbohidratos, que sí disminuye la ingesta de líquidos. Esto es importante, ya que toda vez que los animales consumen la HCD, consumen agua para diluir el alimento, disminuyendo la osmolaridad y favoreciendo la disminución del efecto dulce (alta saciación) al disminuir su concentración. Además, la ingesta de agua no solo tiene un efecto de hidratación, sino que también brinda propiedades reológicas necesarias para la digestión de carbohidratos (J. Chen, 2009; C. Li et al., 2023). Por lo que el consumo normal de agua nos permitiría sustentar que la disminución de sólidos no se debería a una pérdida del consumo nutrimental y hedónico de la HCD, sino debido a sus efectos que movilizan fuertemente la dinámica de moléculas y señales anorexigénicas.

El consumo de AUP desfavorece la liberación de incretinas como PYY (Hall et al., 2019; Hamano et al., 2024). Debido al rápido paso de dietas con carbohidratos simples, en la porción proximal del intestino al torrente sanguíneo se desfavorece la llegada de nutrientes no absorbidos al íleon, disminuyendo la secreción de incretinas de corta duración como PYY-GLP (Wilbrink et al., 2021), conllevando posibles episodios de menor cantidad de consumo, pero mayor frecuencia. De igual forma, colecistocinina (CCK) puede tener un efecto que disminuye la cantidad de alimento consumido (West et al., 1984). Sin embargo, causa una compensación a través del aumento de la frecuencia de alimentación cuando existen alteraciones de otras hormonas, como es el caso de las adipocinas (Barrachina et al., 1997; Hulsey et al., 1998; Kahler

et al., 1998). Por lo que proponemos que esta disminución del consumo de HCD está dada por los fuertes efectos saciantes que ejerce, alterando la conducta de alimentación de los animales

Estos datos contrastan de forma coherente con el grupo control, donde los carbohidratos complejos de la dieta (almidones) pueden tener un menor estímulo gustativo, por ende, se puede consumir mayor cantidad de alimento en un mismo episodio. Este tipo de carbohidratos, aunado al contenido de fibra que retarda el vaciamiento gástrico (Ioniță-Mîndrican et al., 2022), permite una liberación gradual de monosacáridos, manteniendo estable la señalización de incretinas, insulina y adipocinas en el posprandio, que de forma sumatoria favorecen el estado de saciedad. Caso contrario en nuestros animales con HCD, donde la dieta está desprovista de fibra y carbohidratos complejos. El efecto de las incretinas es profundo, pero de vida corta. Los cambios observados en la conducta de alimentación del grupo HCD pudiesen ser reflejo de la inducción de un fuerte estado de saciación (poco consumo por episodio), a la vez de una incapacidad de los sistemas endócrinos involucrados en la modulación del estado de saciedad (aumento de episodios de consumo), derivado de la poca capacidad de liberación de incretinas por el alimento HCD. De este modo, el grupo HCD podría estar consumiendo menos alimento debido a la fuerte estimulación sensorial de los azúcares simples del alimento, conllevando la disminución global del consumo de alimentos. Cabe destacar que estas modificaciones en el consumo de alimentos no necesariamente reflejan que el estado metabólico se encuentre alterado en los animales, como describiremos a continuación.

El grupo HCD, de forma concomitante a la baja del consumo de alimentos, muestra una disminución del consumo energético (Figura 7). Cabe destacar que se evaluó el consumo alimentario – energético y no la absorción, cuya distinción es importante ya que el consumir un nutriente no garantiza su absorción, ya que esto depende de múltiples factores previamente descritos: molécula (carbohidratos simples o complejos), estructura (almidón, dextrinas), otras moléculas (fibras), estructura matriz del alimento, digestibilidad, capacidad de absorción, etc. (Juil et al., 2025). Estas variables nos permiten entender nuestros resultados morfométricos de los sujetos de experimentación, ya que cuando evaluamos la zoometría, no existen diferencias entre grupos (Figura 8a-e). Por lo que la disminución del consumo de sólidos no se asocia a un estado de pérdida de peso, ya que, aunque no significativo, nuestros animales incluso

presentaron un aumento del 7% en peso con respecto al control (Figura 8a), sin repercutir negativamente en el crecimiento del animal (Figura 8c).

Si bien existe una tendencia a la alta en el perímetro abdominal de los animales (Figura 8b), se ha descrito en humanos que el aumento de la adiposidad visceral no siempre se refleja en el aumento de la circunferencia abdominal (Harris et al., 2000), del cual se ha descrito la importancia de su expansión en el desarrollo de alteraciones metabólicas (Shah et al., 2014), que pueden presentarse inclusive en estados de un IMC < 25 (Karelis et al., 2004). Esto está en concordancia con nuestro modelo, ya que no presenta modificaciones en el IMC (Figura 8d) ni en el índice de Lee (Figura 8e), lo cual nos permite proponer la presencia de alteraciones metabólicas, sin la necesidad de presentar alteraciones en parámetros somatométricos clásicos, como ya se ha demostrado anteriormente (Y. Zhang et al., 2016).

El índice de Lee también nos permite estimar de forma general la cantidad de tejido adiposo presente en el animal (P. Rogers & Webb, 1980). Sin embargo, este parámetro es limitado debido a que, si bien se reconoce la importancia de la masa adipocitaria, es también importante reconocer los patrones de distribución del tejido adiposo y su repercusión metabólica (M. C. Petersen et al., 2024; Vague, 1947). Si bien nuestros resultados no muestran alteraciones clásicas asociadas a procesos de modificaciones metabólicas, al emplear índices matemáticos más sensibles descritos en años recientes, observamos que existen modificaciones que sugieren cambios metabólicos.

Históricamente, se han descrito personas sin obesidad con “alteraciones asociadas a la obesidad”, nombradas inicialmente como *sujetos normopeso metabólicamente obesos* (Ruderman et al., 1982). De forma contraria, surgió el término de obesidad “metabólicamente sano” en años más recientes (Sims, 2001) debido a una fase de elevada sensibilidad a la insulina (Stefan et al., 2008). Es por ello que pacientes con normopeso pueden presentar alteraciones cardiometabólicas (Schulze & Stefan, 2024), tales como aumento de triglicéridos, aumento de glucosa en ayuno e índice HOMA-IR, así como disminución de la concentración de HDL (Karelis et al., 2004), a pesar de presentar una somatometría aparentemente sana, como describiremos más adelante con nuestro modelo. De esta forma, se muestra el cuestionamiento hecho tradicionalmente, que sujetos deben de presentar forzosamente cambios morfométricos como obesidad o aumento del perímetro abdominal para presentar alteraciones bioquímicas

metabólicas. Los parámetros somatométricos en humanos no siempre son anormales en pacientes que presentan SMet y, en caso contrario, pacientes con obesidad que no necesariamente presentan cambios metabólicos.

Nuestros datos contrastan con la literatura modelos animales con SMet, donde suele existir un aumento en el consumo de energía (Alsiö et al., 2010; Sharma & Fulton, 2013) asociado al aumento de la masa corporal (Alsiö et al., 2010; Fordahl & Jones, 2017; Narayanaswami et al., 2013; Sharma & Fulton, 2013; Tsai et al., 2022). Sin embargo, cabe destacar que en muchos de estos trabajos se emplean dietas con alto contenido de grasa (HFD), que aportan más de 5 kcal/g. No obstante, algunos estudios presentan reportes en línea con nuestros resultados: menor consumo de alimentos con respecto a los controles (Moreno-Fernández et al., 2018), lo que posiblemente esté en función de la formulación dietética. Además, no solo importa la cantidad de alimento que es ingerido por los animales, sino también la cantidad de nutrientes que el sistema tiene capacidad de digerir y absorber. Estas dietas son mucho más absorbibles debido a que energéticamente son “más baratas”: las grasas de los alimentos son hidrolizadas en la luz intestinal y convertidas rápidamente en triglicéridos. Esto permite una rápida entrega al tejido adiposo, ya que a diferencia de los carbohidratos, donde su paso por el hígado implica una pérdida energética del 25% en el proceso de lipogénesis *de novo* (Solinas et al., 2015)

La ausencia de cambios significativos en los parámetros morfométricos tras 3 meses de consumo de HCD en nuestro grupo experimental, surge la necesidad de evaluar mediante índices más sensibles el estado de función y distribución adipocitaria como lo son los índices DAI y VAI para sustentar que, nuestro modelo a pesar de encontrarse en normopeso, puede presentar alteraciones adipocitarias que se vinculan con el SMet. Dichos parámetros permiten definir el estado de funcionamiento del tejido adiposo subcutáneo (SAT) (Reyes-Barrera et al., 2021), así como la expansión de la adiposidad visceral (Amato et al., 2010), y nos permiten establecer la salud adipocitaria. En nuestros sujetos experimentales, estos parámetros de disfunción y crecimiento adipocitario se encontraron aumentados (Figura 8f-g). Sin embargo, ya se ha mencionado que los cambios morfométricos no son indicativos infalibles de SMet, además de que la circunferencia abdominal se puede encontrar normal a pesar de aumentos en la misma adiposidad visceral.

Se ha descrito cómo el consumo de dietas que exceden el requerimiento calórico tras una semana puede inducir un estado de RI en el tejido adiposo de tipo fisiológico, que regresa a valores normales tras un mes (Nishimura et al., 2009). No obstante, esta sobrealimentación crónica puede conllevar remodelación o cambios permanentes del tejido adiposo observables tras 12 semanas de consumo: **1)** desarrollo de RI adipocitaria, **2)** incapacidad del tejido para resguardar lípidos, promoviendo lipólisis y su posterior almacenamiento ectópico, **3)** inflamación del tejido adiposo, **4)** infiltración de macrófagos e incluso, en estados más graves, **5)** muerte adipocitaria (Strissel et al., 2007). El aumento del índice DAI refleja esa capacidad de almacenamiento limitado, específicamente del SAT, lo que favorece el resguardo ectópico de lípidos en tejidos como el hígado o el músculo, estableciendo un ambiente de lipotoxicidad (Wernstedt Asterholm et al., 2014). De este modo es como el aumento de los índices VAI y DAI en nuestros animales nos permite identificar un estado de alteración adipocitaria, posiblemente repercutiendo en la homeostasis energética del sistema (Sección 8.2).

La hipótesis central de que la RI en sujetos normopeso no implica una asociación directa con la cantidad total de grasa, sino con la capacidad del SAT para expandirse y almacenar lípidos, aunada a la distribución o extensión de los distintos tipos de tejido adiposo (Lotta et al., 2017). De ellos destaca el tejido adiposo visceral (VAT), el cual se ha reconocido por su mayor tendencia a hipertrofiarse y a disminuir su capacidad adipogénica, además de su limitada capacidad de almacenamiento. El ambiente con exceso de nutrientes, la baja capacidad de resguardo y la liberación de AGL pueden conllevar la expansión, disfunción del tejido adiposo y RI en otros órganos, produciendo alteraciones metabólicas sistémicas en estados de cronicidad (Iacobini et al., 2024). Por lo que proponemos que los cambios metabólicos que surgen en el modelo son los responsables de los procesos de disfunción del SAT y del VAT. Ya que estos índices matemáticos presentan una relación inversamente proporcional con la disminución en la concentración de HDL, la cual favorece el aumento de estos índices, que reflejan la RI presente en el tejido o en el individuo.

8.2. Impacto de la dieta en el metabolismo basal y dinámico de carbohidratos y lípidos y su modulación endócrina.

Como ya se ha mencionado, un estado de disfunción del SAT favorece la deposición ectópica de lípidos, así como la expansión del VAT promueve RI en múltiples tejidos debido a su elevada

actividad lipolítica y liberación de AGL, así como su acumulación ectópica (Boden & Shulman, 2002). En el SMet todas estas entidades de disfunción metabólica convergen (Caprio et al., 2017; Polimeni et al., 2017). Considerando el patrón de ingesta alimentaria, parámetros zoométricos e índices adipocitarios, se realizó un perfil metabólico de los sujetos de experimentación a los 90 días, esto con el fin de corroborar el establecimiento del modelo animal con SMet (Figura 9). El desbalance en la glucemia basal se presenta de forma concomitante al incremento de insulina en sangre (Figura 9a-c), debido a que para mantener la euglicemia se requiere una mayor cantidad de insulina, lo cual en periodos prolongados tiene como consecuencia el desarrollo de RI (Jallut et al., 1990). Este periodo transicional se ha descrito como hiperinsulinemia compensadora, pérdida de la sensibilidad a la insulina y desarrollo de resistencia a la hormona (DeFronzo et al., 1989).

El aumento del índice HOMA-IR nos permite reconocer que el aumento de glucosa e insulina resulta en el desarrollo de SMet en nuestro modelo experimental. Por otro lado, en el posprandio, el hígado produce glucosa a través de glucogenólisis y, en menor medida, por gluconeogénesis. No obstante, en pacientes con SMet tras el estado de ayuno nocturno, el hígado se encuentra depletado de glucógeno (Shulman et al., 1990), promoviendo el desvío a la producción de glucosa hepática (PGH) mediante gluconeogénesis (Hatting et al., 2018). Ya que el aumento del índice HOMA-IR es indicativo de RI hepática (Abdul-Ghani et al., 2007) y se encuentra aumentado en el grupo HCD en el estado basal (Figura 9c). La elevada PGH promueve hiperglicemia, lo cual es redundante al mantener hiperinsulinemia, incrementando la resistencia periférica, traducida en la incapacidad de inhibir correctamente la gluconeogénesis hepática, como se observó en nuestro modelo en el estado basal.

Cuando analizamos el comportamiento dinámico de la homeostasis de glucosa tras una PTOG (Figura 10a), la respuesta de regulación glucosa-insulínica se encontró alterada con un estado de hiperinsulinemia en todos los tiempos analizados (Figura 10c). En el estado de ayuno prolongado, el hígado se encuentra con bajos niveles de glucógeno, sintetizando glucosa para otros órganos y generando energía a través de la oxidación de ácidos grasos (Ruppert & Kersten, 2024; X. Zhang et al., 2021). Tras un alimento o una carga de carbohidratos se ha estimado que la concentración de glucosa en la circulación portal puede alcanzar valores de hasta 200 mg/dL (Lema-Perez et al., 2023), lo que aunado a la elevada Km del Transportador de Glucosa (GLUT)

hepático GLUT2, permitiría un ingreso de una elevada cantidad de glucosa desde la circulación portal hacia el parénquima hepático (Dimitriadis et al., 2021) que favorecería el comportamiento de nuestra curva de glucosa de disminución de la glucosa sistémica al minuto 30 post carga.

Se ha descrito ampliamente que la RI muscular precede a la RI hepática, lo que desvía el almacenamiento de glucosa al hígado (K. F. Petersen et al., 2007). Esto estaría reforzando el exceso de captación de glucosa hepática en la primera fase de la PTOG. En consecuencia, dicho desvío resulta en un aumento de la lipogénesis *de novo* hepática, incrementando la síntesis de triglicéridos que por lo tanto, aumenta la concentración de triglicéridos y disminuye la concentración de HDL en el plasma (K. F. Petersen et al., 2007). Es posible, además, que el estado lipotóxico por deposición ectópica de lípidos, de manera sinérgica, aminore la capacidad de captura de glucosa periférica dependiente de GLUT4 debido a su capacidad de inhibición de la vía PI3K-AKT (Norton et al., 2022). Además de disminuir la síntesis de glucógeno hepático y la capacidad de inhibición de PGH, la RI podría conducir nuevamente al estado de hiperglicemia (Figura 10a) debido a la incapacidad de los tejidos de resguardar adecuadamente glucosa dependiente de la actividad de insulina, promoviendo una hiperinsulinemia de tipo compensatoria (Bovolini et al., 2021), como lo observamos en la curva correspondiente, con un aumento exacerbado con respecto al control en los tiempos 30, 60 y 90 (Figura 10c).

Adicionalmente, la RI adipocitaria incrementa la lipólisis en el SAT, favoreciendo el incremento en los niveles de glicerol y AGL circulantes en plasma (Strissel et al., 2007). El exceso de liberación de AGL amplía el pool hepático de acetil-coA, que es un activador alostérico de la piruvato carboxilasa (PC), enzima clave en la gluconeogénesis (Perry et al., 2015). Al mismo tiempo, la captación de glicerol permite aumentar el pool de triosas fosfatos, lo que refuerza la vía gluconeogénica y favorece entonces el estado de hiperglicemia (Rebrin et al., 1996; Y. Wang et al., 2020). La captación de AGL también favorece su reesterificación, permitiendo el acúmulo de intermediarios de síntesis de triglicéridos como el DAG o moléculas derivadas como ceramidas que permiten la activación de subtipos de la PKC de tipo δ , ϵ o θ (Bezy et al., 2011; Yu et al., 2002).

La PKC es una serina-treonina cinasa responsable de fosforilar al receptor de insulina, impidiendo su acople en cascada abajo (Postic et al., 2007). Se ha descrito cómo en pacientes con RI existen también alteraciones en la homeostasis de glucagón, un péptido importante, a la

par de la insulina, que permite regular el estado glicémico del sistema (Y. Lee et al., 2012). Observamos cómo tras la carga de glucosa, esta importante hormona pancreática cae por debajo del control al minuto 30; no obstante, se mantiene y en el minuto 90 se mantiene aumentada con respecto al control (Figura 10d). La presencia de hiperglucagonemia estaría siendo entonces un reflejo de la pérdida de la regulación por la secreción parácrina de insulina (Gaisano et al., 2012). De igual forma su aumento señala a nivel hepático la vía gluconeogénica (Massa et al., 2004) y la movilización de lípidos al hígado (Galsgaard et al., 2019), nuevamente alimenta el estado de resistencia y desorden metabólico, dado por el superávit calórico, el sobrerresguardo lipídico y el exceso de síntesis de lípidos, como observamos en el estado posprandial de los animales al minuto 90 (Figura 10b).

Aunque la insulina es reguladora de vías metabólicas como la gluconeogénesis o la síntesis de glucógeno, también activa vías accesorias como la vía SREBP1-c. Incluso los mismos sustratos pueden activar esta vía, como lo es el caso de la fructosa a través de *substrate push* (Herman & Samuel, 2016), o la glucosa que estimula la vía ChREBP (Postic et al., 2007). Estas vías promueven la transcripción de enzimas involucradas en la síntesis de lípidos *de novo*. Debido a que la RI frecuentemente es acompañada por el exceso de nutrientes, estas mismas vías son las principales responsables de la RI hepática y del aumento de la síntesis de triglicéridos (Samuel, 2011), lo cual explica la hipertrigliceridemia observada en nuestro modelo (Figura 9d). Este mismo mecanismo de *substrate push* que favorece la lipogénesis *de novo*, permite el aumento de los niveles de triglicéridos en el minuto 90 tras una carga de glucosa (Figura 10b).

Cabe destacar que el colesterol total no se encontró alterado, a pesar de la dislipidemia y la disminución del colesterol HDL (Figura 9d-f). Se ha descrito como a través de los procesos de lipogénesis *de novo* y reesterificación de AGL, existe una sobreproducción y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad VLDL (K. F. Petersen et al., 2007), responsables a su vez, de la caída de la fracción del colesterol HDL. Esta caída del colesterol HDL es una consecuencia directa del estado de hipertrigliceridemia y se encuentra bien descrita en la literatura (Feingold, 2022): el aumento de las VLDL acentúa la actividad de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP). Esta enzima es la responsable de permitir la transferencia de triglicéridos desde las VLDL a las HDL y ésteres de colesterol a lipoproteínas VLDL y LDL (Feingold,

2022). Ello secunda al aclaramiento de las HDL del plasma debido a su mayor preferencia de sustrato por las lipasas hepáticas (Kobayashi et al., 2015), por lo tanto reduciendo sus concentraciones en plasma (Figura 9f) (Murakami et al., 1995). Cabe destacar que, debido a las VLDL y posteriores LDL formadas ricas en ésteres de colesterol, una vez que regresan al hígado existe un proceso de feedback negativo: niveles normales de colesterol en el retículo endoplásmico del hepatocito permiten que el factor de transcripción SREBP2 se mantenga inactivo (J. L. Goldstein et al., 2006); esto explicaría el por qué no se producen cambios en la concentración de colesterol total (Figura 9e). Cuando existe un exceso de recaptación de LDL ricas en colesterol en el hígado, a su vez, disminuye la transcripción y síntesis del receptor de LDL, disminuyendo su captación y empeorando el estado de dislipidemia (Lagace, 2014).

Reconocemos entonces que en nuestro modelo existe una amplia variedad de alteraciones que favorecen la RI y las alteraciones metabólicas que hemos observado en estos experimentos; no obstante, nos dimos a la tarea de analizar las adipocinas responsables de la homeostasis energética para reforzar las alteraciones metabólicas del modelo: leptina y adiponectina. La leptina es una hormona peptídica secretada principalmente por el tejido adiposo blanco (WAT), en proporción a la cantidad de sus reservas de triglicéridos (Frederich et al., 1995) reflejando la proporción de reservas energéticas en el sistema. La leptina efectúa la mayoría de sus efectos a través de un mecanismo neuroendócrino al unirse a su principal receptor LEPRb en el núcleo arqueado hipotalámico (Chua et al., 1996). Regula la ingesta de alimentos mediante un efecto anorexigénico activando neuronas POMC/CART e inhibiendo a neuronas NPY/AGRP hipotalámicas (Buettner et al., 2006; Halaas et al., 1995; Vaisse et al., 1996), aumenta el gasto energético (Mistry et al., 1997; Singh et al., 2009), aumenta la termogénesis (Commins et al., 1999), promueve la lipólisis para el uso energético de lípidos, y la recaptura de carbohidratos (Hwa et al., 1997; Perakakis et al., 2021; Zeng et al., 2015). Por otro lado, adiponectina es una adipocina que correlaciona inversamente con los depósitos grasos del organismo (Z. V. Wang & Scherer, 2008). Modula aspectos metabólicos clave del metabolismo de la glucosa y la oxidación de ácidos grasos que son responsables de sus efectos antiinflamatorios y de sensibilización a la insulina. Estos efectos se producen a través de la alternancia de sustrato mediante la activación de la AMPK (Kubota et al., 2007; Yamauchi et al.,

2002), disminución de las moléculas de adhesión (Ouchi et al., 1999), inhibición del TNF- α y del factor de transcripción proinflamatorio NF- κ B (Ouchi et al., 2000).

En nuestro trabajo, los resultados obtenidos nos demuestran que en el estado basal los animales del grupo HCD tienen concentraciones de leptina elevadas (Figura 10e). En el organismo, la hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos se reflejan en la sobreexpresión y exceso de leptina sistémica (Farr et al., 2015). Los estados de hiperleptinemia indican resistencia a los efectos anorexigénicos de leptina, con aumentos en el apetito, disminución del gasto energético y modificaciones en la homeostasis energética (Jung & Kim, 2013), siendo un importante contribuyente patogénico al desarrollo de RI y SMet (Aslam & Madhu, 2017; Díez & Iglesias, 2003). Este aumento de leptina pudiese ser el reflejo del consumo crónico de carbohidratos y de los estados de hiperinsulinemia que favorecen de manera secundaria en el tejido adiposo la liberación de leptina, lo que acontecería a su vez al desarrollo de la hipertrigliceridemia encontrada en nuestro modelo y, al mismo tiempo, RI. Además, en nuestro modelo la adiponectina se encuentra aumentada con respecto al control (Figura 10f). Se han reconocido sus efectos antiinflamatorios, antiaterogénicos, y antidiabéticos debido a su inhibición de NF- κ B (Fantuzzi, 2005; Wulster-Radcliffe et al., 2004), aumentando la sensibilidad a la insulina (Yamauchi et al., 2001), e inhibiendo la proliferación del músculo liso vascular (Ouchi et al., 2001). Múltiples estudios en humanos muestran cómo pacientes con alteraciones metabólicas presentan niveles de adiponectina disminuidos (Chow et al., 2007; Hotta et al., 2000; Schillaci & Pirro, 2007), lo que favorece la progresión de RI (Fahed et al., 2022). Este aumento de adiponectina observado pudiese ser un mecanismo de compensación debido al estado metabólico alterado previamente descrito en los sujetos de experimentación como una forma de compensar el estado de RI y favorecer el resguardo lipídico, así como el de glucosa.

Este fenotipo de nuestro modelo animal, donde encontramos por lo menos 3 parámetros metabólicos alterados, corresponde a un estado de alteración metabólica compatible con los criterios para el diagnóstico del SMet, conforme al consenso internacional (JIS) publicado en 2009 (K. G. M. M. Alberti et al., 2009). Es así como los resultados obtenidos corresponden a lo ya descrito previamente en el grupo de investigación (Treviño et al., 2015, 2022), así como en la literatura (Fordahl & Jones, 2017; Tsai et al., 2022), en donde el consumo de una HCD, o HFD durante 12 semanas conllevan al desarrollo de alteraciones metabólicas como las

observadas en nuestro modelo, que concuerdan con el desarrollo de SMet. Múltiples hallazgos de nuestro modelo han sido ampliamente descritos en la literatura, como las alteraciones en los parámetros de glucosa, insulina y triglicéridos a lo largo de modelos de HCD, HFD o de ingesta de carbohidratos en forma líquida (Rodríguez-Correa et al., 2020; Wali et al., 2023).

De esta forma, todos nuestros datos en conjunto nos permiten declarar que nuestro modelo animal desarrolló SMet y establecer que un individuo no necesariamente debe ser obeso o presentar cambios morfométricos para presentar modificaciones sistémicas. Sino también sujetos normopeso pueden presentar alteraciones metabólicas como lo observamos en nuestro grupo experimental (Lavie et al., 2015). Una vez caracterizado el perfil dinámico de glucosa, lípidos y hormonas, así como las alteraciones en la respuesta adipocitaria, se procedió a evaluar el impacto funcional de estas adaptaciones metabólicas sobre la conducta.

8.3. Alteraciones en la conducta hedónica y motivacional.

Hasta el momento, sabemos que el consumo sostenido de una HCD puede inducir alteraciones sistémicas y metabólicas producto del SMet. No obstante, derivado del consumo de una dieta hiperpalatable que causa recompensa por la naturaleza de su composición, buscamos evaluar si el consumo de la HCD podría tener efectos conductuales en los animales, producto del desarrollo de SMet, y sus repercusiones en la disminución de la percepción del placer dado por el consumo de la dieta altamente palatable. Para esto realizamos pruebas conductuales que nos permitieran identificar si se producían cambios conductuales compatibles con estados de tipo depresivo, asociados con la disminución o pérdida del placer (Figura 11).

En animales que presentan alteraciones de tipo depresivo por aletargamiento, donde se pueden observar cambios en la conducta de escape ante estímulos estresores (Cryan et al., 2005; Ye et al., 2023). Esto es clásicamente denominado disparidad emocional (Thierry et al., 1984): Tras un intenso esfuerzo por escapar del ambiente aversivo, la pérdida progresiva de la actividad locomotora del individuo hace que el individuo se encuentre inmóvil durante la prueba (Unal & Canbeyli, 2019). Esto se debe a que el animal se rinde a luchar ante un estímulo que le causa estrés, como ocurre en la prueba de suspensión de cola (TST). Esta observación surge dado que en sus inicios, la TST fue implementada para evaluar la eficiencia de los fármacos antidepressivos (Porsolt et al., 1977), observando que la administración de estos fármacos

disminuía el tiempo que el animal yacía inmóvil durante el desempeño de la prueba (Steru et al., 1985).

De esta forma, al cuantificar el tiempo de inmovilidad en esta prueba, podemos conocer el estado de desesperanza o pasividad ante este tipo de estímulos aversivos. A la vez, la prueba de preferencia a la sacarosa nos ayudará a determinar la capacidad del individuo de preferir el consumo de una solución dulce debido a la experimentación placer. Esto en su conjunto nos permitiría conocer si existe alguna conducta de tipo depresivo o anhedónico en nuestros animales (Scheggi et al., 2018). Encontramos que para el grupo HCD, el tiempo de inmovilidad se encontró ligeramente incrementado con respecto al grupo control (Figura 11a) significativamente ($p \leq 0.05$). Esto nos estaría reflejando en un inicio una posible alteración en el núcleo de interés. Lo anterior, ya que el NAc, al ser un centro integrador que procesa una amplia gama de estímulos aferentes de múltiples regiones límbicas y asociativas (amígdala, hipocampo, corteza prefrontal, núcleo paraventricular talámico, etc.), es un sitio primario que puede tanto orquestar respuestas resultado de un estímulo de recompensa como de un estímulo aversivo (Zhu et al., 2016).

Estudios muestran cómo la proyección clásica de VTA – NAc juega también un rol importante en la mediación de estímulos aversivos y tiene un efecto directo sobre la conducta de las MSN (Ilustración 1) (Lammel et al., 2011, 2012). La integración de estos estímulos ayuda a que, si el estímulo causa placer, se favorezca repetir la búsqueda de la recompensa. Si el estímulo causa aversión, se evitará la reincidencia del estímulo, lo que permite eludir amenazas del ambiente y asegurar la supervivencia de los animales (Bromberg-Martin et al., 2010) por lo que este aumento en el tiempo de inmovilidad en la prueba nos estarían indicando alteraciones cognitivas asociadas al área de interés debido al fallo de la correcta interpretación central de los estímulos percibidos. Esto, ya que se ha descrito cómo la disfunción del NAc está directamente asociada con los síntomas de tipo depresivo (S. J. Russo & Nestler, 2013), donde el principal indicador son los aumentos de inmovilidad.

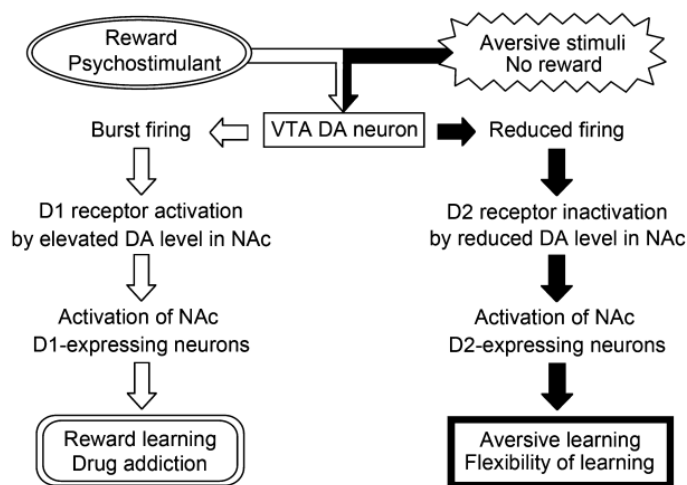


Ilustración 1. Los distintos tipos de estímulos pueden ser integrados de forma positiva (recompensa) o negativa (aversión), conforme a la señalización que recibe de múltiples regiones, y como es que se integran en el NAc. Tomado de Hikida et al. (2016).

Por otra parte, la SPT es una prueba que nos permite evaluar el deseo o la preferencia de consumir soluciones dulces sobre el agua pura (Hao et al., 2019). Esto se realiza en estado de ayuno para incentivar al animal al consumo de alimentos (líquidos). Esta prueba se acuñó por Katz (1982) al observar que animales expuestos a un estrés crónico perdían la capacidad de preferir el consumo de soluciones dulces con respecto a los controles, y que este efecto se revertía tras la administración de antidepresivos (Willner et al., 1987). Es así como esta prueba actualmente se emplea también de manera conjunta para poner en evidencia estados de anhedonia en modelos animales (Berrio & Kalliokoski, 2023) donde una disminución de la preferencia con respecto al control es clásicamente asociada a la pérdida del placer.

En otros paradigmas conductuales se ha puesto en evidencia cómo el estrés, que puede causar cambios en la conectividad del NAc (Francis et al., 2015) o sustancias que causan recompensa como las drogas de abuso (Pascoli et al., 2014; Zhu et al., 2023), las recompensas naturales también pueden ejercer estos mismos efectos, como lo es en el caso de consumo de alimentos (Alonso-Caraballo et al., 2021; Fetterly et al., 2024). No obstante, estos cambios mínimos en la inmovilidad, aunque significativos ($p > 0.05$), necesitan ser corroborados con otras pruebas para establecer firmemente el estado emocional/motivacional de nuestro modelo. Es importante conocer cómo es que la alimentación de sustancias altamente palatables durante

un periodo crónico podría estar afectando el manejo hedónico. Por lo anterior, surge la necesidad de evaluar la preferencia por soluciones dulces a través de la SPT. Observamos que el índice de preferencia por soluciones dulces se encuentra aumentado ($p > 0.05$), indicándonos que, la conducta hedónica no se estaría encontrando alterada. Frecuentemente en la literatura se observa que en estados depresivos existe la presencia conjunta de aumento de los tiempos de inmovilidad (TST) y disminución de la preferencia por la sacarosa (Tsai et al., 2022; Zhu et al., 2023). No obstante, este no parecería ser el caso de nuestro modelo.

Si bien la percepción hedónica de los alimentos juega un papel importante en el consumo de los alimentos, señales periféricas también tienen cabida en este proceso del consumo, cubriendo el componente relacionado a la necesidad homeostática (W. W. Liu & Bohórquez, 2022). Además, cabe destacar que la SPT es una prueba que se realiza tradicionalmente en ayuno (Primo et al., 2023), crucial para entender los procesos que subyacen al consumo de soluciones calóricas. Es en este proceso donde señales intestinales endócrinas como lo son las incretinas y señales nerviosas provenientes de nervios periféricos (ya descritos en la sección 8.1) son las responsables de señalar, integrar y relevar estímulos de nutrientes, entre ellos, moléculas dulces como la sacarosa (McDougle et al., 2024). Los cambios en la capacidad de integrar estos estímulos periféricos, desencadenan modificaciones que impactan negativamente su efecto central (Johnson, 2018) reflejándose en la preferencia. De igual forma, un trabajo reciente de Sandoval-Rodríguez et al. (2023) demostró la importancia de las MSN del NAc en la regulación del consumo de soluciones dulces y su preferencia. Al mismo tiempo que destaca cómo las incretinas tienen un papel de modulación hedónica directa sobre las MSN.

Estos reportes, aunados a nuestros resultados, nos permiten tener un primer acercamiento a las posibles alteraciones de las neuronas de interés en nuestro trabajo, ya que hemos observado hasta el momento cambios en la conducta de alimentación. En conjunto, estos datos nos estarían indicando que el posible desbalance de señalización de la saciedad, ligado al estado de ayuno en el que se tienen los animales para el desarrollo de la prueba, imperaría en la conducta de alimentación. Es decir: el animal, al tener que suplir la necesidad energética que demanda el organismo, aumenta su consumo del único nutriente disponible en las soluciones: la sacarosa. Reflejando así el aumento en la preferencia, posiblemente compensado a través de un aumento de la cantidad de visitas que hace al animal para consumir la solución dulce.

El grupo de investigación ya ha reportado modificaciones en la conducta de animales con SMet, como déficits en la memoria de reconocimiento (Diaz et al., 2018, 2021; Treviño et al., 2017); no obstante, este sería el primer estudio que vincularía el consumo de HCD con una tendencia al estado depresivo en los animales. Resultados similares se han descrito en otros grupos de investigación (Santos et al., 2018; Tsai et al., 2022), destacando el trabajo de Tsai y colaboradores, quienes reportaron que el tiempo de inmovilidad y la pérdida de preferencia por las soluciones dulces podían ser revertidos tras la administración de fluoxetina durante cuatro semanas. Estudios recientes han demostrado cómo las alteraciones de conectividad del NAc pueden llevar a los sujetos de experimentación a alteraciones que pueden cambiar completamente la percepción de recompensa por estímulos naturales, como lo es la comida o inclusive el agua (B. Tan et al., 2024).

De igual forma, otros grupos de investigación han reportado que la conducta de tipo depresivo en modelos de alteraciones metabólicas se asocia al aumento de los niveles de BDNF, al incremento de la activación de CREB y al aumento de los niveles de la proteína Δ FosB (Sharma & Fulton, 2013). En el caso de BDNF, se ha observado que niveles aumentados de este factor neurotrófico en el VTA producen un fenotipo depresivo, mientras que animales con knockout del gen BDNF en la región presentan protección ante la depresión (Berton et al., 2006). Es importante destacar el rol de estas proteínas en estas regiones, ya que en conjunto son responsables de cambios en la dinámica de señalización de múltiples vías de señalización celular que dictan la conducta de remodelación sináptica, como detallaremos más adelante (Sección 8.4). Estos cambios sinápticos dictaminan directamente cómo se integran distintos estímulos y determinan si la conducta del individuo se acoplará de forma bien-adaptativa o mal-adaptativa (Dingess et al., 2017; Shi et al., 2025).

Cabe destacar que, a su vez, la SPT si bien es una prueba clásicamente empleada en el ámbito de las neurociencias, su uso está ligado a la descripción de anhedonia franca (Scheggi et al., 2018). Sin embargo, esta prueba se apoya en el consumo acumulativo, careciendo de la resolución para distinguir distintos estados afectivos en los animales (Adolphs & Anderson, 2018). De ahí, en años recientes han surgido pruebas más sensibles que permiten clasificar ciertos patrones de alimentación con el estado emocional de los animales (Gero, 2020; Salalha et al., 2025), evaluando dos principales variables (Guillaumin et al., 2023): 1) los episodios de

consumo de soluciones dulces, que nos permite identificar el deseo de consumir una solución palatable, y 2) la cantidad de lamidas que realiza el animal cuando consume la solución. Esta técnica se conoce como microestructura de lamidas (Johnson, 2018).

Al evaluar los parámetros anteriores, observamos que el grupo con SMet realiza menos episodios de consumo (Figura 11c), menor cantidad de lamidas (Figura 11d) y menor cantidad de lamidas por episodio (Figura 11e). Al mismo tiempo, observamos que en la prueba de alimentación novedosa en ayuno (NSFT) existe un aumento del consumo de alimentos (Figura 11f). Esto es un fenómeno interesante, ya que el aumento del consumo de alimentos en estas pruebas está ampliamente relacionado con la ansiedad (Arandjelović et al., 2024), conducta reconocida en modelos animales que presentan obesidad por consumo de dietas hipercalóricas (Aslani et al., 2015).

La regulación en el consumo de alimentos dulces es producto de la capacidad interoceptiva del individuo, como lo es integrar estímulos periféricos de saciedad y recompensa, que se pueden encontrar tanto aumentados como disminuidos, repercutiendo en la conducta de alimentación (Herbert & Pollatos, 2018). Cuando un animal es expuesto a un alimento novedoso, muestra indecisión en su consumo (neofobia) como un mecanismo de supervivencia para evitar el consumo de sustancias nocivas (Reilly, 2018). De esta manera, tras experiencias repetidas de consumo, los animales muestran una mayor aceptación del alimento mientras este no les cause ningún componente aversivo (Rosenblum et al., 1993). Es así como los alimentos en general que no provoquen ningún daño al organismo, naturalmente, causan un componente asociativo que permite su ingesta y, según sea el caso, pueden favorecer su consumo si inducen un componente de placer (Dwyer, 2012). Por lo que se buscaría el alimento que causa placer en eventos subsecuentes. En este caso, la botella con sacarosa.

El lamido en los roedores es una conducta altamente estereotipada (Johnson, 2018), que involucra múltiples controles de neurotransmisores y hormonas en la periferia y a nivel central. Uno de ellos es la dopamina, cuya señalización se ha asociado principalmente a la conducta de consumo o deseo (Berridge & Robinson, 2003) y cuyo efecto dependerá del receptor al cuál se una (Missale et al., 1998): a los receptores activadores del circuito (tipo D1) o receptores inhibitorios (D2). Estudios demuestran cómo la interferencia de la señalización del receptor D1 conlleva disminuciones en la ingesta de sacarosa, debido a la disminución de lamidas (D'Aquila

et al., 2012). De forma similar, se ha establecido que la activación por agonistas del receptor D1 conlleva también una disminución del consumo de sacarosa (Bednar et al., 1995; Terry et al., 1995). Por otro lado, la inhibición del receptor D2 disminuye la conducta motivacional de los animales, lo que a su vez provoca una disminución de la ingesta de sacarosa (Robles & Johnson, 2017). Se ha demostrado que la activación por agonistas de los receptores D2 favorece la conducta motivacional de los animales, involucrándolos más en la búsqueda de recompensas (Galistu & D'Aquila, 2013). Estos estudios farmacológicos nos permiten conocer cómo la señalización dopaminérgica estaría afectando el consumo de sacarosa según el receptor al que se une (D'Aquila, 2010).

Cabe destacar que, si bien el receptor D2 puede promover o inhibir la ingesta de alimentos, no quiere decir que el receptor D1 solo tenga un efecto de inhibición per se sobre la conducta de alimentación. Ya que previamente hemos descrito cómo el consumo de alimentos que no sean nocivos y que generen recompensa es parte esencial de un proceso que permite la repetida ingesta de estos alimentos. Por lo tanto, la activación o inhibición del receptor D1 sobre la conducta de los animales sugiere mecanismos mucho más complejos. Se ha descrito que este efecto podría deberse a que la activación de este receptor en las neuronas del NAc señalizan a neuronas anorexigénicas del área hipotalámica lateral (Durst et al., 2019; O'Connor et al., 2015), responsables de consumir la ingesta de alimentos una vez que se ha alcanzado el requerimiento energético del organismo (Cheon et al., 2025; Rossi & Stuber, 2018). Es aquí donde proponemos de forma inicial cómo es que pudiese existir alguna alteración dentro del sistema dopaminérgico, lo cual estaría repercutiendo en la conducta de los animales, como hemos observado en el aumento de la preferencia, las alteraciones de la estructura de lamidas o las deficiencias asociativas de los alimentos.

En un estudio reciente, mediante el empleo de técnicas de optogenética, se encontraron roles importantes para las subpoblaciones de MSN que involucran directamente la conducta de alimentación de soluciones palatables. Guillaumin et al. en 2023, mostraron como la activación optogenética del canal ChR1 expresado sobre las neuronas D2-MSN, es la responsable de aumentar la cantidad de lamidas de una solución dulce de batido de leche, al igual que la cantidad de episodios de consumo; mientras que la activación del ChR1 sobre las D1-MSN no tiene efecto alguno sobre ninguno de estos parámetros. De esta manera, estaríamos teniendo el

primer acercamiento a las neuronas de interés en el NAc y su funcionamiento. De modo que es importante hacer mención que no se realizan mediciones del consumo total del alimento, por lo que estos datos estarían implicando que si bien existe una disminución de la conducta de lengüeteo (dado por una función inapropiada de las D2-MSN), el aumento de la preferencia podría estar dado por una mayor frecuencia de visitas a la botella con solución de sacarosa (datos no mostrados).

Reportes en la literatura por otros grupos de investigación empleando metodologías similares de optogenética han encontrado resultados que igualmente nos permiten conocer, en donde la activación de las D1-MSN se asocia a la disminución del consumo de sólidos, mientras que la activación de las D2-MSN disminuye considerablemente el consumo de sólidos y de agua simple (B. Tan et al., 2022). Esto sería una primera aproximación para entender por qué inicialmente nuestro modelo presenta una disminución global del consumo de alimentos, ya que la sacarosa, al ser un estímulo placentero, permitiría la liberación de DA sobre el receptor D1 sobre las D1-MSN, y este, en consecuencia, genera un efecto anorexigénico. Además de que la pérdida del balance de la señalización de estas neuronas en el NAc (D1 inhibido, D2 activado) puede conllevar el desarrollo de fenotipos de hiperfagia y aumento del peso y adiposidad en los animales (Walle et al., 2024). Sin embargo, cabe destacar que los estudios previamente descritos se realizan en modelos metabólicamente sanos y no en animales que han sido sometidos a estímulos por más de unos cuantos días o más de 3 semanas, contrario al caso de nuestro modelo. Por lo que podrían no reflejar claramente el estado de compensación o desgaste en un sistema que es enfrentado de forma crónica a estímulos.

Es importante mencionar que el consumo de alimentario no solo tiene un componente hedónico, sino también de tipo mnemónico (Bray, 2019), donde el sabor dulce puede jugar un rol importante en el aumento de la preferencia. Para esto fue que realizamos nuestro experimento del laberinto de Barnes, prueba ampliamente reconocida ya que inicialmente fue propuesta como un método para evaluar memoria espacial (Barnes & McNaughton, 1985; Rodríguez Peris et al., 2024). No obstante, cabe destacar que existen modificaciones que permiten cambiar su propósito para evaluar en los animales la capacidad de generar un aprendizaje asociativo apetitivo (Harloe et al., 2008; Tajti et al., 2023). Esta conducta está vinculada al componente

hedónico de los alimentos que permiten su ingesta frecuente, lo que se conoce como conducta motivada por recompensas (Domingues et al., 2023).

Nuestros resultados mostraron que, durante el primer día de entrenamiento, los animales con SMet tardaban más en escapar del laberinto, dado por los aumentos de la latencia primaria y la latencia total (Figura 12a-b). Estos indicadores muestran la capacidad del animal de localizar la caja de escape y de entrar a la caja de escape, respectivamente. En entrenamientos subsecuentes, las latencias y los errores disminuyen en el grupo con SMet de manera equiparable al control. En cuanto a los errores, podemos observar que el primer día de entrenamiento el grupo HCD comete más errores en la búsqueda de la caja de escape (Figura 12c, día 1), aunado al mayor empleo de estrategias de búsqueda aleatorias con respecto al grupo control (Figura 12d-e).

En días subsecuentes, los animales con SMet cometen menor cantidad de errores, comparable al control (Figura 12c, días 2-5). No obstante, cuando analizamos las estrategias de escape empleadas por el grupo con SMet, observamos lo siguiente: Los animales avanzaron al empleo de una estrategia de exploración más organizada, de tipo seriada y de tipo directa de los días 2 al 4 (Figura 12e). A pesar de ello, existió una regresión de mayor proporción con respecto al control del empleo de estrategias directas (Figura 12e), además de la cantidad de errores. Nuestros resultados están en concordancia con lo publicado por (Agrawal & Gomez-Pinilla, 2012), quienes demuestran cómo existe un retardo en el aprendizaje de los animales en el laberinto de Barnes tras 6 semanas de una dieta alta en fructosa.

El consumo de alimentos de elevada palatabilidad (incluyendo la sacarosa) incrementa los niveles de dopamina extracelular dentro del NAc de manera directamente proporcional a la concentración de sacarosa en solución (Berridge, 1996). Esta activación se presenta de dos maneras: primero, en el core del NAc, cuya activación se relaciona directamente con la motivación de la obtención del estímulo que cause recompensa (Oginsky & Ferrario, 2019; Roberts-Wolfe et al., 2018). Dichos efectos se han demostrado en animales que consumen dietas altamente palatables (Matikainen-Ankney et al., 2023). Como parte de una señal que requiere integrarse en distintos ámbitos, ocurre también un estímulo en la subregión Shell del NAc (Hajnal & Norgren, 2005), cuya activación de las MSN sobre esta región es responsable directa de la sensación de placer (Kelley & Swanson, 1997; O'Connor et al., 2015). Es así como esta

liberación fásica de dopamina confiere una prominencia incentivadora al estímulo alimentario (Berridge, 2007); es decir, permite al individuo centrar su atención en dicho estímulo que le causó recompensa, de modo que modifique su conducta para volver a conseguir este estímulo placentero.

A su vez, los reportes han mostrado el vínculo que tiene el NAc con el aprendizaje de estímulos condicionados (Day & Carelli, 2007; Hikida et al., 2016), como hemos descrito anteriormente al hablar sobre la neofobia y las adaptaciones de los animales a los alimentos novedosos. De modo que las deficiencias en realizar una asociación cognitiva con un reforzador positivo pueden ser indicativas de las afectaciones que sufre el NAc tras el establecimiento del SMet en el grupo experimental (Belujon & Grace, 2017; Shiflett & Balleine, 2010). De esta forma, el aumento de las latencias de escape, errores y el mayor empleo de estrategias poco organizadas son claros indicativos de una deficiencia en la flexibilidad cognitiva y de asociación, que es evidente el primer día de entrenamiento en los animales con SMet.

En un estudio de LeGates et al. en 2018, se demostró la importancia de la conexión entre el hipocampo (responsable de la formación de memorias) y el NAc. El aumento de la fuerza sináptica de la conexión entre hipocampo y NAc repercutió en la capacidad de los animales de consumir una mayor cantidad de alimento palatable, además de aumentar el tiempo que pasaban los animales en la zona de condicionamiento. Este estudio pone en evidencia cómo la capacidad de generar memorias asociativas facilita el consumo de alimentos palatables ya conocidos (Bray, 2019). Además del componente de ansiedad que se encuentra presente en los animales de SMet, que se ha demostrado que aumenta la locomoción y la exploración (Chou et al., 2024). Esto nos permitiría explicar dos cosas: primero, que debido a la naturaleza de inducción del modelo experimental, donde se tiene que proporcionar un alimento formulado principalmente con sacarosa, se presenta también el aumento de la preferencia en la SPT (Figura 11b). Y segundo, observar cómo tras el primer día de prueba donde comienza el aprendizaje en los animales, en el día dos parece ser como el grupo HCD escapa mucho más rápido que el control del laberinto (Figura 12a-b; $p > 0.05$).

En conjunto, los resultados nos permiten determinar que las conductas vinculadas a la integración de estímulos placenteros y la capacidad de generar asociaciones a los mismos, pueden ser reflejo de una alteración a nivel cerebral en el NAc, que es la zona neuroanatómica

involucrada en la integración y relevo de estos estímulos a las demás regiones cerebrales. Por ello nos dimos a la tarea de investigar si el desarrollo de SMet podría provocar alteraciones morfológicas o histológicas asociadas directamente a un daño patológico que estuviese repercutiendo directamente en los parámetros conductuales evaluados.

8.4. Alteraciones histológicas y celulares en el núcleo accumbens producto del síndrome metabólico.

El SNC es también afectado por la RI y complicaciones metabólicas derivadas. Deficiencias en la señalización de insulina a nivel central (Talbot et al., 2012), acúmulos de β -amiloide (Moloney et al., 2010) y declive cognitivo son tan solo algunos de los rasgos observados en estados de SMet y RI (Grillo et al., 2019; Gupta et al., 2023; Kang et al., 2023; Nguyen et al., 2020). La insulina tiene múltiples efectos en el cerebro no solo negativos, si no que induce señales homeostáticas (Y. Chen et al., 2019; Milstein & Ferris, 2021), donde el origen de las alteraciones en el SNC tienen una interacción ampliamente variada y multiorgánica (Rhea et al., 2022; Shelton & Miller, 2010), que representa una compleja interacción entre señales de la periferia (Van Dyken & Lacoste, 2018).

Para evaluar las posibles modificaciones neuroanatómicas del NAc, se procedió a evaluar la integridad estructural de la región de interés a través de técnicas histológicas de cribado. Se emplearon las técnicas histológicas de H&E para identificar cambios en la morfología celular y de azul de Luxol para evaluar la integridad estructural de la mielina (**Figura 13**). La técnica de H&E es una técnica de rutina empleada en laboratorios ya que permite conocer de forma indirecta los posibles procesos subyacentes en el tejido, a través de la identificación de cambios morfológicos (Fischer et al., 2008). De igual manera, la tinción de azul de Luxol es una técnica especializada que permite realizar un tamiz en cuanto a la integridad de la materia blanca mielinizada y su posible degeneración (Moszczynski et al., 2020).

La principal anomalía observada en el NAc fue la presencia de picnosis (**Figura 13a-b**), con aproximadamente 9 veces más células picnóticas en el grupo con SMet con respecto al grupo control (**Figura 13c**). La picnosis es descrita como la condensación y/o fragmentación del núcleo neuronal, dada por una tinción nuclear intensa (Diamantis et al., 2008), que es un fuerte sugerente de daño, y posible muerte neuronal cuando se presenta. Conocemos que uno de los principales rasgos del SMet es la presencia de la RI, así como otras alteraciones sistémicas

que involucran el metabolismo lipídico (Angelico et al., 2023). No obstante, se ha descrito que la fisiopatología que subyace a estos signos involucra procesos más complejos como la inflamación y el aumento del estrés oxidante (B. L. Tan & Norhaizan, 2019; Treviño & Diaz, 2023). De manera general, la RI por SMet originada en el tejido adiposo permite la liberación de citocinas proinflamatorias, que propician un estado de inflamación crónica de bajo grado (Hotamisligil, 2017; S. Russo et al., 2021), denominado metainflamación.

La metainflamación, resultado de la pérdida de la homeostasis adipocitaria se caracteriza por niveles incrementados de mediadores proinflamatorios como IL-1 β , IL-6 y TNF- α (Nieman et al., 1999; Shoelson et al., 2007), acumulación de células del sistema inmune innato en el tejido adiposo e hígado (Canello & Clément, 2006), lo que favorece estímulos proinflamatorios en múltiples órganos (Gregor & Hotamisligil, 2011). La presencia de estas citocinas en circulación sería también la responsable del aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Bruce-Keller et al., 2009), la expresión de quimiocinas y moléculas de adhesión en poca medida (Lo & Zeng, 2025; Vries et al., 1996), sin embargo, en el largo plazo, serían responsables de la infiltración de leucocitos activados provenientes de la periferia (de Aquino et al., 2019). Estos procesos inflamatorios afectan al cerebro y su desarrollo se ha reflejado también en picnosis de neuronas hipotalámicas (Manzoor et al., 2024).

El grupo de investigación ha reportado previamente el aumento de ROS y citocinas proinflamatorias en múltiples regiones de interés (Fuentes et al., 2023; Treviño et al., 2022), encontrado también la presencia de picnosis nuclear (Treviño et al., 2015). También múltiples reportes en la literatura han puesto en evidencia que el consumo de HCD y/o HFD puede producir activación microglial (Gutiérrez-Martos et al., 2018), aumento de citocinas proinflamatorias como IL-6 o TNF- α (Noronha et al., 2019; Patkar et al., 2021) y estrés oxidativo (Hirai et al., 2021; B. L. Tan & Norhaizan, 2019). Se ha descrito como estas complicaciones repercuten directamente al nivel del NAc (Gutiérrez-Martos et al., 2018), conllevando a alteraciones en los tiempos de inmovilidad (Décarie-Spain et al., 2018), provocando ansiedad en los animales tratados (Décarie-Spain et al., 2021; Noronha et al., 2019) o estableciendo estados de anhedonia (Dutheil et al., 2016) similar a los hallazgos que obtuvimos en nuestro trabajo. En estados depresivos se ha descrito también un componente inflamatorio (Dantzer et al., 2008; McLachlan et al., 2023; Raison et al., 2006) que puede tener

su origen en las alteraciones periféricas (McLachlan et al., 2023; Shelton & Miller, 2010) como también se suscitan en nuestro modelo.

Cabe recalcar que anteriormente en el grupo de investigación se ha demostrado como la administración de moléculas antioxidantes como resveratrol (Juarez et al., 2023) disminuye la cantidad de ROS y productos de lipoperoxidación. O en el caso de la curcumina, disminuir la inflamación y las ROS a través de la vía Nrf2 (Sarmiento-Ortega et al., 2025). De manera importante, en el trabajo de Manzoor et al. en 2024 de inducción de SMet por HFD, los animales mostraron un incremento en la concentración de citocinas proinflamatorias en el hipotálamo, y esto se correlaciona con el aumento de picnosis nuclear. Sin embargo, su trabajo no solo expone cómo el uso de niacina revierte la inflamación, sino que también revierte el estado de picnosis observado en el hipotálamo tras 8 semanas de administración.

No obstante, para reforzar la posible concepción de daño neuronal, realizamos el análisis de la tinción de azul de Luxol en el NAc. La tinción no muestra modificaciones estructurales sugerentes de deterioro estructural (**Figura 13d-e**). Se observa que incluso existe un aumento del porcentaje de área que es cubierto por la tinción (**Figura 13f**), sin cambios en la densidad integrada, que indica indirectamente la cantidad de mielina (**Figura 13g**), ni la intensidad de coloración promedio, que representaría la cantidad de mielina por área (**Figura 13h**). Si bien los resultados obtenidos en la tinción H&E indicarían que existe un proceso de picnosis neuronal o infiltración celular, los resultados de la tinción de azul de Luxol nos muestran que la estructura no presenta cambios sugerentes de neurodegeneración.

Existen modelos animales de daño severo en los que el sistema es capaz de llevar a cabo procesos remielinizantes, permitiendo recuperar la función neuronal, tal como es el caso de modelos de hipoperfusión cerebral por oclusión arterial (Srivastava et al., 2013; Tanaka et al., 2011). Se ha descrito incluso cómo la estimulación cerebral puede incrementar más de 6 veces la cantidad de células que se diferencian en nuevos oligodendrocitos, con respecto a las que no reciben estimulación neuronal. Lo anterior a través de la expresión de Olig2, en una temporalidad de tan solo tres horas postestimulación (Gibson et al., 2014). Reconocemos entonces el papel fundamental de la activación anormal de la glía y el exceso de estrés oxidante (Swardfager et al., 2017) en la degradación de mielina. Como hemos discutido, estos procesos se encuentran exacerbados en nuestro modelo, por lo que es crucial tener presente las vías por

las cuales el sistema puede recuperar su estructura. Vías como la Nrf2 han sido reconocidas en los últimos años. No solo por su efecto antioxidante que aminora las lesiones a la materia blanca, sino también por promover la fagocitosis de los restos de mielina dañada, ayudando a su renovación (Zhang et al. 2025).

Un reporte en animales con SMet que demostró la presencia de lesiones de mielina (J. Li et al., 2019). No obstante, se puso en evidencia cómo el sistema es capaz de compensar el daño a través de la intensificación de la expresión de Olig2 y Olig1. Estos factores de transcripción son mayormente conocidos, respectivamente, por ser los responsables del aumento de la diferenciación de precursores oligodendrocíticos (Küspert et al., 2011) y de la producción de proteínas que estabilizan la mielina, como la proteína básica de mielina (H. Li et al., 2007). Esto en conjunto permitiría adecuar la respuesta a la necesidad del ambiente, renovando la mielina y/o sintetizando proteínas que permitirían mantener su estabilidad estructural (Armada-Moreira et al., 2015).

Estudios recientes en humanos post mortem han demostrado que la pérdida de la compactación de la mielina tiene un componente inflamatorio, dado por el aumento de la glía M1 en múltiples regiones del cerebro (van den Bosch et al., 2023). Sin embargo, estos hallazgos se obtuvieron a través de técnicas de ultraestructura, ya que estas modificaciones de la mielina en el estudio no pudieron ser identificadas a través de una tinción rutinaria. Esto es importante, ya que a pesar del componente inflamatorio presente, los sujetos fueron clínicamente sanos durante el periodo de seguimiento clínico. En el trabajo de Trujillo-Villarreal et al. (2021) se encontró que tras el consumo de una dieta de cafetería, existe hipomielinización en el hipocampo, a la par de la presencia de modificaciones conductuales compatibles con estados depresivos, como en nuestro modelo.

Cabe hacer hincapié en el proceso de desarrollo experimental del trabajo de Trujillo-Villarreal. La inducción de su modelo comienza a las 3 semanas de edad de los animales, al proporcionar durante 5 semanas la dieta problema. Durante los días posnatales P50 – P60, el animal se encuentra aún en un estado de adolescencia (Juraska, 2024), etapa reconocida por poseer una plasticidad y remodelación neuronales muy marcadas. No es hasta la adultez (>P60) cuando se consolida la conectividad neuronal y la mielinización cerebral (Juraska & Drzewiecki, 2020). Ya que hemos descrito que el proceso de mielinización es altamente dinámico y flexible,

y que incluso tras procesos de daño agudo y severo, se puede recuperar el estado de mielinización y la función tisular (H. Zhang et al., 2025), estos resultados nos estarían indicando que existe un proceso de adecuación neuronal. Lo cual podría explicar por qué nuestros resultados contrastan con los de Trujillo-Villareal, ya que nuestros animales, al ser adultos jóvenes (\approx PD120), tendrían un sistema nervioso consolidado (Semple et al., 2013) a pesar del estímulo negativo ejercido por la dieta, posiblemente debido a procesos de compensación.

Dadas las anomalías morfológicas observadas en la histología del NAc, realizamos una tinción Golgi-Cox para identificar si esta morfología anormal puede tener implicaciones neuronales sobre la conectividad neuronal (Figura 14a-b, d-e). Los resultados nos demostraron un decremento de la longitud dendrítica, además de cambios negativos en la cantidad de espinas dendríticas por unidad de medida (Figura 14c, f). Estos resultados corresponden a lo reportado por Fuentes et al. (2023), en donde el consumo de HCD o HFD puede alterar la arborización dendrítica en regiones como el hipocampo, hipotálamo o corteza frontal. Además, en estudios de HFD (Sarfert et al., 2019) o de consumo de sacarosa en solución (Cope et al., 2018) se ha puesto en evidencia cómo su ingesta sostenida altera la morfología dendrítica, así como la densidad de espinas en múltiples subregiones del hipocampo. Entender la naturaleza de los estímulos por los cuales se inducen estos modelos y la subsecuente reorganización estructural de las neuronas es importante para comprender los mecanismos que subyacen a la neurobiología de la recompensa, el placer y la adicción.

Como ya hemos descrito en resultados anteriores (Sección 8.3), otros grupos de investigación han reportado que la conducta de tipo depresiva con SMet presenta patrones aberrantes de expresión de proteínas como BDNF, CREB y Δ FosB (Sharma & Fulton, 2013). Estos patrones de expresión proteica han sido ampliamente estudiados en la conducta de consumo de sustancias que son fuertes estimuladoras del sistema de recompensa, como lo son las sustancias de abuso (Briand & Blendy, 2010; Chao & Nestler, 2004). El estudio de las vías que convergen en la activación de CREB es el más estudiado (McPherson & Lawrence, 2007). Las elevaciones de CREB dentro del NAc producen signos conductuales de anhedonia (McPherson & Lawrence, 2007), tales como la disminución de la recompensa causada por sustancias como la cocaína y la sacarosa (Carlezon et al., 1998), así como aumentar los tiempos

de inmovilidad en pruebas análogas a la TST como es el caso de la prueba de nado forzado (Pliakas et al., 2001).

El mecanismo es sumamente amplio y con múltiples aristas conforme al tipo de estímulo, neurotransmisiones y péptidos; sin embargo, de forma general se presenta lo siguiente (Ilustración 2): Se puede dar por la activación de un factor neurotrófico o la unión de un GPCR a su ligando. En el caso de la estimulación constante de una sinapsis de recompensa, la activación permite el flujo de calcio, responsable de la activación de CREB mediante la vía de la proteína cinasa dependiente de calcio calmodulina IV (CaMKIV) (Aid et al., 2007). La activación de CREB permite su unión a los elementos de respuesta de Ca^{2+} /cAMP (CRE), donde destaca BDNF como blanco de esta vía de señalización (Aid et al., 2007). A su vez, la activación sostenida de CREB favorece la transcripción de una proteína clave en estos procesos de plasticidad aberrante: Δ FosB, una proteína truncada producto del splicing de FosB (Levine et al., 2005). Su síntesis se produce cuando este estímulo se da de forma repetida, y durante periodos extensos (Nestler et al., 1999). Su estabilidad es extraordinaria (días), además de que la fosforilación por la caseína cinasa II la vuelve mucho más estable.

La expresión de Δ FosB se da por la exposición repetida, principalmente por estímulos de placer, y se ha demostrado que favorece adaptaciones a largo plazo en el aprendizaje asociativo, así como en la plasticidad sináptica (Nestler et al., 1999). Sin embargo, en la literatura se ha señalado que Δ FosB es un factor de transcripción que es inducido por prácticamente cualquier estímulo o sustancia conocida que cause recompensa (Lardner et al., 2021; Lobo et al., 2013). Δ FosB permite entonces la transcripción de múltiples proteínas. Una de ellas es Cdk5, responsable de la regulación de la actividad de las proteínas Rho-GTPasas (McClung & Nestler, 2003) que se encargan de la remodelación del citoesqueleto y la formación de espinas dendríticas (Sung et al., 2008). Esta vía es la principal responsable de la formación de espinas dendríticas inmaduras delgadas (S. J. Russo et al., 2010) debido a la remodelación aberrante del citoesqueleto.

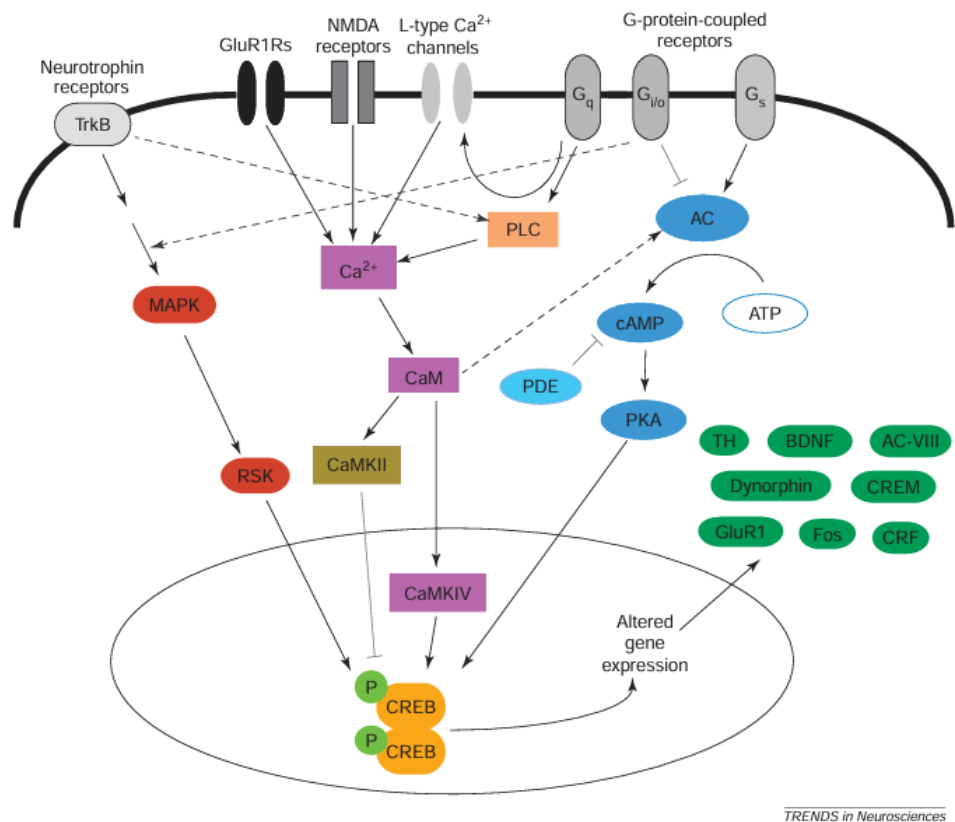


Ilustración 2. Eventos intracelulares implicados en la regulación de CREB. Neurotrofinas y receptores de neurotransmisores como TrkB, AMPA y NMDA, además de GPCRs, desencadenan señales de señalización celular que culminan en la fosforilación de CREB en Ser133, permitiendo su activación. Tomado de (Carlezonjr et al., 2005)

En el trabajo publicado por Tu et al. (2019), los hallazgos indican que la activación repetida por sustancias de abuso afecta directamente a las D1-MSN como las D2-MSN, modificando la morfología y cantidad de espinas. Estos estímulos regulan las vías de señalización intracelulares de Rac1 y Cdc42, las cuales están directamente implicadas en la dinámica del citoesqueleto y la morfología dendrítica, como ya mencionamos anteriormente. Al mismo tiempo se ha descrito el rol del sistema opioide dentro del NAc, responsable de modular los circuitos neuronales asociados al placer y la aversión (Tejeda et al., 2017). Este sistema es también regulado por el receptor κ -opioide mediante la liberación de dinorfina. Este mecanismo de liberación de dinorfina en el NAc es el responsable del feedback negativo y de la extinción de la señal placentera (Sedki et al., 2015). No obstante, cuando existe una activación persistente,

esta vía se desensibiliza, siendo la responsable de mostrar cambios sinápticos. Tal desregulación sería la responsable de mediar estados afectivos negativos, como el sobreconsumo por abstinencia (Hurd & Herkenham, 1993; Sedki et al., 2015). Efecto de una posible alteración en los mecanismos opioides de regulación negativa; esto también explicaría por qué a nivel conductual nuestro modelo presentó incrementos en la SPT.

Ya que estos mecanismos se asocian a la disminución de la excitabilidad neuronal por inserción de receptores AMPA de menor conductancia (Nestler et al., 2001), en el contexto de nuestro modelo inferimos que los cambios histológicos que hemos observado hasta el momento son producto de un sistema capaz de adecuarse a las necesidades del medio. Ya que la estimulación prolongada del NAc altera el equilibrio entre crecimiento y retracción dendrítica, el sistema se inclina a una reducción en la longitud de las dendritas y en la densidad de espinas, como mecanismo compensatorio frente a una sobreexcitación sináptica. Así, las neuronas posiblemente podrían estar incomunicadas para evitar la sobreexcitación que podría conllevar eventos fatales. Dicha propuesta es factible, dado que la principal neurotransmisión excitatoria en el NAc es la glutamatérgica (Sección 1.4.5), conocida por su toxicidad cuando se encuentra desregulada.

Hemos establecido que los cambios morfológicos en el NAc podrían estar relacionados con una estimulación continua de los circuitos de recompensa que inducen una reorganización estructural de las MSN como posible mecanismo de protección. Al encontrar cambios histológicos sugerentes de muerte celular (Elmore, 2007; Porter & Jänicke, 1999), sin cambios estructurales de mielina, decidimos evaluar si los hallazgos que hemos realizado hasta el momento son compatibles con muerte neuronal. Esta determinación la realizamos mediante la técnica de AO (Figura 15a-f).

El AO es una molécula fluorescente excitable en el espectro azul y que devuelve en el rango del verde en dilución (Stockert & Lisanti, 1972). No obstante, presenta un fenómeno de metacromasia que ha permitido su empleo para el estudio de la vitalidad celular: su unión a ADN permite su emisión ortocromática verde, mientras que la unión al ARNm muestra emisión metacromática en el espectro del rojo (Stockert & Blázquez-Castro, 2023). De este modo, la cuantificación de la fluorescencia en estos canales y el cálculo del índice rojo/verde permiten conocer si las células están en procesos de apoptosis. En primera instancia, observamos la

disminución del índice rojo/verde (Figura 15g). Por lo que consideramos que la caída de este índice sería por la disminución del color rojo, sin embargo, encontramos el escenario contrario: el canal rojo presentó la misma cantidad de fluorescencia emitida con respecto al control (Figura 15h), a diferencia del color verde que incrementó (Figura 15i). Es decir, con estos experimentos comprobamos que las células picnóticas observadas con la técnica de H&E no corresponden a procesos de muerte neuronal, y posiblemente dicha morfología se relaciona con procesos de retracción neuronal o infiltración de células de la microglía que actúen como una compensación al proceso sufrido, contribuyendo con procesos de mantenimiento celular.

Hasta el momento hemos descrito cómo la deposición ectópica de lípidos por exceso de AGL permite su captura a nivel central (Pan et al., 2024), induciendo lipotoxicidad. Su captura permite también la síntesis de ceramidas que someten a las mitocondrias a un estrés metabólico (Ding et al., 2024) e inhiben la Akt (Y. Sun et al., 2022). La Akt es una proteína central en vías de señalización de factores tróficos (Huang & Reichardt, 2001) como de la misma vía de señalización de la insulina (W. Chen et al., 2022; Lyn-Cook Jr. et al., 2009), por lo que las ceramidas podrían conllevar al proceso de neurodegeneración (Tong & de la Monte, 2009). Al mismo tiempo la pérdida del acople mitocondrial incrementa la producción de ROS lo que permite la oxidación de lipoproteínas a nivel central (Lane-Donovan et al., 2014), lo que sostiene la producción de mediadores inflamatorios, perpetuando el estado proinflamatorio a nivel cerebral (B. L. Tan & Norhaizan, 2019) que a su vez como ya describimos, favorecen la infiltración de células activadas.

La liberación de citocinas por el estado de metainflamación secunda la activación a nivel central del sistema inmune, a través de su señalización en órganos circunventriculares, así como por nervios aferentes como el vago (Dantzer et al., 2008). Además se ha descrito la importancia de la liberación de MCP-1 por glía activada, permitiendo la infiltración periférica de monocitos activados, incluso cuando la inflamación proviene de forma periférica (D’Mello et al., 2009). Esta activación central permitiría la activación de las células del sistema inmune residente, comenzando a cebar a la glía (Dantzer & Kelley, 2007).

Inicialmente pensamos que la disminución del índice se debería a la pérdida del color rojo provocada por la caída del contenido de ARNm. La pérdida de la fluorescencia de emisión en el canal rojo es la asociada a la pérdida de la actividad transcripcional de las células, signo

de muerte celular (Plemel et al., 2017). Al observar que la intensidad del color rojo se mantuvo, determinamos entonces que la picnosis no ocurre por muerte, sino que la compactación de la cromatina sería la que repercute en la morfología de las células en el NAc (Figura 13a-c). De forma contraria, el análisis del canal de fluorescencia verde es el incrementado. Estos datos en conjunto nos permiten inferir que la picnosis nuclear no refleja apoptosis en nuestro modelo, al mismo tiempo que la nula presencia de daño en la tinción azul de Luxol muestra cómo el sistema se encuentra histológicamente normal.

Las alteraciones que hemos descrito hasta el momento entonces podrían ser mediadas por el insulto metabólico que implica el consumo de HCD, por lo que los resultados en conjunto demuestran cómo el sistema es capaz de compensar el estrés metabólico recibido. Así, podemos determinar hasta el momento que el sistema no se encuentra degenerado; es funcional a pesar de las alteraciones conductuales e histológicas observadas. Estas modificaciones hasta el momento reflejan cómo el organismo se encuentra compensando biológicamente a partir de múltiples vías como hemos descrito, lo que permitiría que el sistema busque adecuarse a la presencia del estrés metabólico al que se encuentra sometido. De esta forma buscamos evaluar cómo los cambios histológicos influyen en la presencia de receptores dopaminérgicos en el NAc.

8.5. Modulación de la señalización dopaminérgica y la activación neuronal en el núcleo accumbens.

Ya hemos descrito que existen múltiples vías de adaptación como la señalización por PKA, que es particularmente importante en esta región (visto a continuación), procesos de espinogénesis, potenciación a largo plazo, depresión a largo plazo, y factores de transcripción como CREB o Δ FosB, responsables de regular una amplia variedad de genes asociados a la excitabilidad neuronal en el NAc (McClung & Nestler, 2003), buscamos evaluar como todos estos cambios histológicos y morfológicos podrían estar influenciando la presencia de receptores dopaminérgicos, que son los principales receptores en el NAc responsables de mediar la respuesta hedónica y la conducta motivacional en los animales (Walle et al., 2024).

Ya hemos mencionado cómo múltiples señales periféricas convergen en la activación de los núcleos cerebrales (NTS, PFC, VTA, amígdala), cuyas señales en conjunto convergen en el NAc (Secciones 1.3, 1.4, 8.1). La activación de nervios aferentes y de distintos núcleos de relevo

permite la señalización dependiente de glutamato sobre las MSN (Lüscher & Malenka, 2011). La activación de las MSN a través de la entrada de iones por receptores AMPA y NMDA, que es la responsable de aumentar la excitabilidad de las D1-MSN o D2-MSN ejerciendo un efecto de placer/búsqueda de la recompensa, o aversión/inhibición por el estímulo, respectivamente (Ilustración 3). De igual manera, las proyecciones dopaminérgicas sobre el NAc se originan desde el VTA. La dopamina es entonces clave, ya que es la encargada de modular la forma en que las MSN responderán a las señales glutamatérgicas, de modo que la activación del D1R excita a las MSN de la vía directa, mientras que los D2R inhiben la vía indirecta estriatopallidal (Albin et al., 1989). De esta forma, la activación dopaminérgica por GPCRs es la responsable de modular el tráfico celular de canales ionotrópicos y canales dependientes de voltaje (Surmeier et al., 2007).

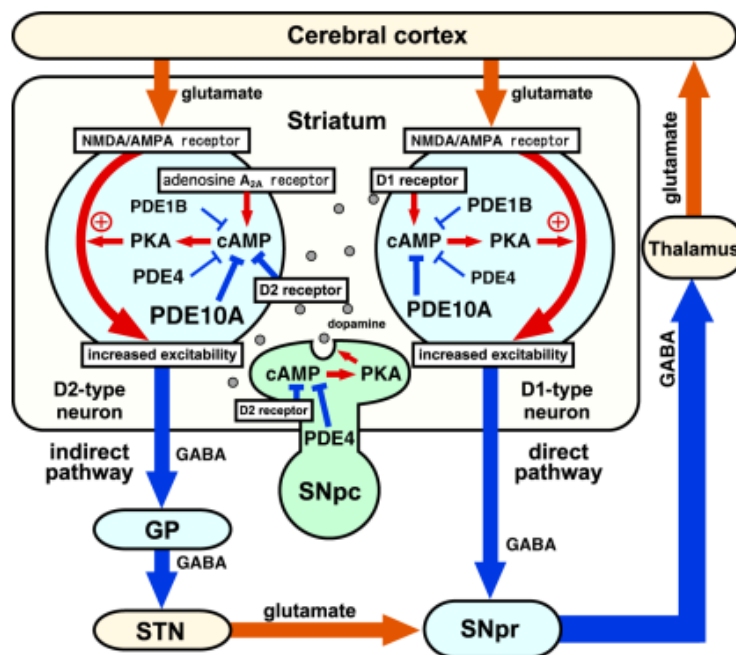


Ilustración 3. Las MSN del NAc tienen efectos opuestos: la activación de las D1-MSN en la vía directa resulta en la desinhibición del tálamo, favoreciendo las aferencias corticales. En contraste, las D2-MSN favorecen señales proinhibitorias en el tálamo, lo que aminora la llegada de señales a nivel cortical. Tomado de Nishi et al. (2011).

El balance de estos neurotransmisores permite la integración en el NAc, activando las neuronas de salida de forma selectiva o de forma sinérgica (Meredith, 1999). Así, la selección de acciones que repercuten sobre la conducta y el control de la ingesta de alimentos, son dadas por los patrones de excitabilidad de estas neuronas. Es entonces como el NAc actúa como un hub sensorial del ambiente que permite la ejecución de acciones en momentos seguros (como la alimentación), y desencadena el cese de conductas en respuesta a estímulos salientes positivos o negativos (Kelley et al., 2005), como hemos descrito a lo largo del trabajo. Para determinar entonces si los cambios metabólicos e histológicos que hemos encontrado repercutían sobre la señalización dopaminérgica debido a la activación constante, evaluamos la expresión de receptores dopaminérgicos D1R y D2R. Así, podríamos comprender si las alteraciones que observamos en las pruebas conductuales ante estímulos aversivos (TST y NSFT), hedónicos (SPT) o de asociación (Barnes) se relacionarían con la estimulación frecuente de la HCD que conocemos, es responsable de inducir un insulto metabólico en el organismo. De modo que los estados de alteración que hemos descrito podrían estar repercutiendo sobre el NAc, presentando cambios adaptativos conductuales como moleculares en los cambios de la presencia del receptor.

Realizamos la detección inmunofluorescente en las subregiones Core y Shell del NAc. Para el receptor D1 en NAc Core (Figura 16a-i) y NAc Shell (Figura 17a-i) observamos disminución de la IFP y la densidad integrada. Por otro lado, cuando analizamos el receptor D2 en Core (Figura 16j-r) y Shell (Figura 17j-r), encontramos un incremento del porcentaje de área, así como de la densidad integrada y la IFP tanto en Core como en Shell. Estos resultados indican que para el D1R, la disminución de la IFP y la densidad integrada representan una pérdida del receptor externalizado en ambas regiones.

Mientras que para el D2R ocurren dos escenarios: Primero, en el Core, los aumentos del área detectada y la densidad integrada mantienen al IFP sin cambios con respecto al control. Esto se interpretaría como el aumento del receptor en una mayor superficie de la membrana. Segundo, para el Shell, el mantenimiento del porcentaje de área con el aumento de la densidad integrada aumenta el índice de IFP. Este caso es en contraste distinto y se traduce de la siguiente forma: el mantenimiento del porcentaje de área sugiere que las mismas terminales neuronales son las que presentan al receptor. No obstante, el aumento de la densidad integrada está

indicándonos que existe una sobreexternalización de receptores en esta misma superficie, lo que demuestra entonces que existe una concentración de los receptores D2 en las terminales ya presentes.

El NAc se divide en dos subregiones: Core y Shell (Sección 1.4.1). Esta división no solo es neuroanatómica, sino también funcional. Estudios de electrofisiología y farmacología han demostrado también que la actividad del NAc core se vincula fuertemente al vigor de la búsqueda de alimentos (Cone et al., 2013). Además, la dopamina en el Core desempeña un papel importante en el seguimiento y búsqueda del valor motivacional de los alimentos cuando existe necesidad (Aitken et al., 2016). Es aquí donde las D1-MSN son necesarias para la motivación en la búsqueda de alimentos, el desarrollo de la obesidad inducida por la dieta (Matikainen-Ankney et al., 2023), el aumento de la actividad física de manera voluntaria, que correlaciona con la motivación del realizar esfuerzo para obtener alimentos palatables (Walle et al., 2024).

Estudios demuestran que la inhibición de las neuronas D2 durante procesos motivacionales promueve la búsqueda compulsiva e ineficiente en la obtención de recompensas (Lafferty et al., 2020). Las neuronas D2 no solo tienen una mera función antagónica de inhibición de las neuronas D1 o extinción de la motivación, sino que su función es mucho más fina: la activación de estas neuronas ocurre a la par y en la misma magnitud que las neuronas D1. Permite abolir señales ambientales irrelevantes y apoyar al sistema para que se concentre sus esfuerzos en las señales más prominentes (Reed et al., 2018). De esta manera, la activación de las neuronas D2 es sinérgica, ya que es la responsable de aumentar selectivamente la búsqueda productiva de recompensas.

Por otra parte, el Shell se asocia principalmente a la recompensa, la modulación emocional y el consumo de sustancias (Floresco, 2015), y recibe más proyecciones de tipo límbico en comparación al Core (McGlinchey et al., 2016) reforzando su papel en estas conductas. La actividad del NAc refleja directamente el valor gratificante de sustancias palatables, como las HFD (Alsiö et al., 2010) ya que desde estudios en décadas pasadas detectaron al NAc como un punto caliente hedónico debido a la activación tan marcada durante estudios de neuroimagen, al consumir sustancias que desencadenan placer (Castro & Berridge, 2014; Peciña & Berridge, 2005). En el Shell, la señalización dopaminérgica determina la

prominencia de las señales que desencadenan recompensa (Coss et al., 2022; Guillaumin et al., 2023) o aversión (De Jong et al., 2019).

Estudios farmacológicos han demostrado que la inhibición de la señalización excitatoria sobre el Shell induce un estado de alimentación intensa de alimentos palatables (Urstadt et al., 2013), debido a la conexión de las D1-MSN con las neuronas que modulan el hambre en el hipotálamo lateral (O'Connor et al., 2015), autorizando o cesando el consumo de alimentos. Su contraparte, las D2-MSN, median también la terminación de alimentos dulces a través de conexiones con circuitos supresores del apetito (Sandoval-Rodríguez et al., 2023). Sin embargo, esto es a través de mecanismos distintos que es necesario aclarar: Las D1-MSN son responsables de terminar la ingesta de alimentos debido a sus efectos anorexigénicos, mientras que las D2-MSN terminan la conducta alimentaria debido a una falta de sensación de placer, o incluso por aversión (Soares-Cunha et al., 2020).

Los D1R son GPCRs de tipo Gs (Sección 1.5) responsables de incrementar la actividad AC, modulando la actividad de receptores de glutamato, canales de K^+ , Na^+ y Ca^{2+} , a través la su fosforilación dependiente de PKA (Tritsch & Sabatini, 2012), y la transcripción de receptores glutamatérgicos mediante la fosforilación de CREB (Neve et al., 2004) regulando la excitabilidad neuronal. Estos efectos son mediados por DARPP-32, una proteína cascada abajo responsable de desencadenar la fosforilación de las subunidades glutamatérgicas NR1 responsables del aumento de respuestas mediadas por el receptor NMDA (Snyder et al., 1998). En contraste, los D2R representan una función antagonica (Ilustración 4), puesto que la activación de estas GPCR se acopla a subunidades Gi/Go responsables de inhibir la actividad de AC (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Así, la poca producción de cAMP no favorece la liberación de la subunidad catalítica de la PKA, responsable de la fosforilación de sustratos río abajo. Además, las subunidades $G\beta\gamma$ pueden unirse a canales de Ca^{2+} en la membrana, disminuyendo su conductancia (Hernandez-Lopez et al., 2000) o activar la vía PLC-DAG-IP3- Ca^{2+} -PKC, lo que controla corrientes de Na^+ (Surmeier et al., 1992) y promueve la apertura de canales de K^+ (Kotecha et al., 2002). También induce la inhibición de la tirosina hidroxilasa, la liberación de dopamina y la externalización del transportador de dopamina (Anzalone et al., 2012), lo que conlleva a la disminución de dopamina en la sinapsis (Benoit-Marand et al., 2011).

Estos mecanismos entonces permiten al D2R no solo inhibir la neurona postsináptica, sino también la presináptica mediante su efecto de autorreceptor.

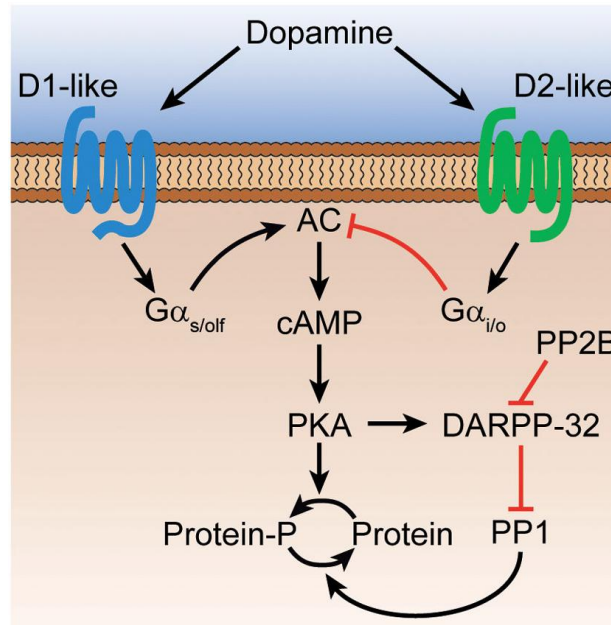


Ilustración 4. Vías de señalización de los receptores dopaminérgicos D1 o D2, responsables de regular la fosforilación de sustratos dependiente de la activación de la PKA. Las flechas negras y rojas representan activación e inhibición, respectivamente. Tomado de Tritsch & Sabatini (2012)

Hasta el momento hemos encontrado que existe un cambio en la cantidad de receptor presente en nuestros animales con SMet; es aquí donde el D1R vincula directamente a la dinámica de activación y subsecuente fosforilación de CREB por estímulos hedónicos. Uno de los principales genes de transcripción temprana dados por estas vías de estimulación con activación de CREB es el gen c-Fos. Este es un factor de transcripción codificado por el gen FOS, que pertenece a la superfamilia de genes tempranos inmediatos (IEG). Pertenece a la familia Fos, junto con FosB, FosL1 y FosL2 (Dobrazanski et al., 1991), responsables de heterodimerizar con otras proteínas de la familia Jun, para formar complejos de tipo AP-1. Los IEG son genes transcritos de forma muy rápida, en cuestión de minutos, en respuesta a estímulos variados (Morgan & Curran, 1995). Es por esto que históricamente se ha asociado su presencia en el cerebro a la capacidad de activación neuronal por diversos estímulos a través de lo que es conocido como “Fos mapping” (Lara Aparicio et al., 2022).

Los resultados nos muestran que el porcentaje de núcleos c-Fos⁺ disminuye en los animales con SMet (Figura 18). Este resultado es indicativo de que existe una menor capacidad de activación neuronal por el desarrollo de SMet. Trabajos han reportado que la cantidad de soluciones dulces ingeridas es directamente proporcional a la cantidad de neuronas D1R⁺ – c-Fos⁺, mientras que para las neuronas D2R no se encontró correlación alguna (Durst et al., 2019). De igual forma se ha demostrado que animales que consumen sacarosa 5% durante 15 días en la etapa juvenil (P30 – P45), los animales consumen menos cantidad de solución dulce con respecto al control, y esto correlaciona con una disminución de la presencia de c-Fos en el NAc, tanto en Core como en Shell (Naneix et al., 2016). Ya que en nuestro modelo el D1R se encuentra disminuido en los animales con SMet, es plausible que esta disminución de c-Fos se debiera a la pérdida de señalización por D1R que desencadena a través de la PKA la fosforilación de CREB.

Trabajos realizados con alimentación tipo HFD han demostrado que el mRNA del D1R se encuentra disminuido en animales que presentan obesidad tras 6 semanas de consumo (Alsiö et al., 2010) y que estos pueden retornar al nivel del control tras 3 semanas de retiro de la dieta obesogénica. No obstante, la presencia del mensajero está sujeta a múltiples controles transcripcionales (Lancaster et al., 2025) o metabólicos (Biffo et al., 2024), que no reflejan directamente la presencia de la proteína en la célula. El receptor históricamente más evaluado ha sido el receptor D2 (G. J. Wang et al., 2001), que se ha visto disminuido en estudios en humanos (Beeler et al., 2016; Volkow et al., 2008). En cambio, en modelos animales, el consumo de HFD también se ha asociado a la disminución del receptor D2 (Narayanaswami et al., 2013). En contraste con estos reportes, un estudio de Sharma & Fulton (2013) obtuvo resultados similares a los nuestros, en donde el receptor D2 se encontró aumentado. Las discrepancias encontradas pudieran ser debidas a que los trabajos de Beeler o Narayanaswami se realizaron mediante ensayos de unión, en donde la disponibilidad del receptor en el sitio isostérico determina la cuantificación del receptor. Ya que se ha demostrado que estos animales pueden incluso tener mucha más dopamina que los animales normopeso (Narayanaswami et al., 2013), esto podría ser un artefacto, producto de la limitación metodológica de los ensayos de unión por radioligando. Nuestro trabajo junto al publicado por Sharma se hace mediante anticuerpos específicos que nos permiten cuantificar de forma directa la cantidad de proteína.

De igual forma, el trabajo de Durst et al. (2019) mostró que dietas altas en grasa disminuyen la presencia de receptor D1R en Shell, pero no en Core. De igual forma, cuando emplean el agonista D1R, SKF-82958 en los animales, demuestran que se produce una disminución del consumo de soluciones dulces. Esto nos permitiría reforzar la propuesta de que la disminución de los receptores D1R como encontramos en nuestro modelo, es responsable de producir los aumentos de preferencia en la SPT, no porque los animales tengan un mayor deseo de placer por el consumo de soluciones dulces, si no por la pérdida de la señal implicada en producir placer e inducir el cese de alimentos. Cabe destacar que la neurotransmisión glutamatérgica se ha encontrado también alterada, con disminución de transportadores astrocitarios (Tsai et al., 2022) y aumento de subunidades AMPA de alta conductancia (Vialou et al., 2010), por lo que esta disminución del receptor D1 pudiera estar protegiendo a las MSN del NAc al disminuir su excitabilidad para disminuir la posibilidad de excitotoxicidad.

Un dato importante del trabajo de Sharma & Fulton es el aumento de la proteína fosforilada en Thr75 DARPP-32, aunado a la disminución del receptor D1. DARPP-32 es una proteína clave dentro de las MSN, responsable de modular la vía de señalización de la PKA en estas neuronas (Nishi et al., 2002), activada por la señalización de la dopamina a través de su receptor D1 (Jones-Tabah et al., 2022). La modulación de la PKA permite regular la activación de factores de transcripción río abajo, como en el caso de CREB (Steven et al., 2020). De esta forma, un alimento nuevo altamente palatable es suficiente para aumentar los niveles de DA y cAMP tras una hora de su consumo, permitiendo la fosforilación de DARPP-32 en Thr34, lo que permite la cascada de señalización de la PKA. No obstante, a tan solo tres horas posconsumo se presenta la fosforilación de DARPP-32 en Thr75 en el NAc (Rauggi et al., 2005), regulando mediante feedback negativo la vía de la PKA.

Es aquí donde CREB juega un papel importante, ya que hemos mencionado en secciones previas que su activación sostenida permite la transcripción de una isoforma de FosB producto del splicing alternativo de este gen: Δ FosB. Su síntesis es inducida prácticamente por cualquier estímulo que se presenta a los animales de forma constante. Es aquí donde se ha descrito que esta isoforma se puede encontrar en ambas subpoblaciones de MSN (Grueter et al., 2013). Por lo que en el NAc de animales con presencia de la proteína Δ FosB se ha observado que existe una activación de la Cdk5, responsable de fosforilar a DARPP-32 en Thr75 (Bibb et al., 2001).

Esta proteína pDARPP-32 (Thr75) es la responsable de atenuar la capacidad de la vía del receptor D1 de activar la PKA-CREB, disminuyendo la sensación de recompensa en circuitos que han sido estimulados de manera crónica (Alibhai et al., 2007).

Además, se ha reconocido que Δ FosB es un factor de transcripción que antagoniza la transcripción de la maquinaria regulada por CREB, de modo que la acumulación de Δ FosB podría ser la responsable de la disminución de la presencia de cFos, dada por la disminución de la excitabilidad neuronal. Δ FosB es un factor de transcripción que ejerce estos efectos de depresión al largo plazo, a través de la transcripción de múltiples proteínas responsables de mediar una respuesta adaptativa (Nestler et al., 1999, 2001; Robison & Nestler, 2022), siendo los más estudiados: CaMKIIa, responsable fosforilar a CREB en Ser142/Ser143, inhibiendo su capacidad de unión a CBP, regulando su capacidad transcripcional (Kornhauser et al., 2002; Robison et al., 2014); aumenta la síntesis de la subunidad GluA2 de los receptores AMPA, regulando plasticidad de las sinapsis (de León-López et al., 2025; Y. Zhang et al., 2014); y la regulación de múltiples receptores GPCR y canales iónicos dependientes de voltaje que permiten modular las corrientes excitatorias, o el silenciamiento de las sinapsis (McClung & Nestler, 2003) que se puede reflejar en la morfología celular (Sección 8.4).

Δ FosB no es solo una proteína responsable de inducir depresión (Y. Zhang et al., 2014) o adicción a sustancias adictivas que causen placer, sino que también es responsable de llevar a cabo adaptaciones de tipo antidepressivo o antiestrés (Vialou et al., 2010). Sus efectos negativos o positivos se vuelven mucho más complejos, donde el tipo de respuesta causada en el individuo se vincula conforme al tipo de estímulo recibido, su temporalidad y bajo qué tipo de paradigma se esté provocando (Nestler, 2015). Por lo que proponemos que nuestro sistema, al encontrarse sobreestimulado por el consumo crónico de carbohidratos, es capaz de llevar a cabo un proceso de regulación neuronal a nivel de receptores y transcripcional de la actividad sináptica, posiblemente debido a sus mecanismos implicados en el aumento del umbral de activación mediado por diferentes estímulos. De esta manera se evitaría que la estimulación frecuente por la alimentación causara eventos negativos para las neuronas del sistema.

Estos mecanismos moleculares nos hacen comprender que la regulación de la señalización D1R es un evento temporal y espacialmente regulado. Su activación sostenida no solo regula sustratos río abajo, sino que también repercute en mecanismos de sensibilidad

neuronal dados por su internalización mediada por arrestinas (Sección 1.5.3). Estos datos serían indicativos de que el consumo de dietas palatables altera no solo la disponibilidad del receptor en la membrana de las neuronas, sino también objetivos proteicos cascada abajo. Los estímulos hedónicos permiten la liberación en grandes cantidades de dopamina, que, como ya hemos mencionado, permiten que la concentración del neurotransmisor aumente en cantidad suficiente que permita alcanzar los valores de K_m necesarios para la activación del D1R por encima del D2R. Debido a que el sistema se ha encontrado en un periodo prolongado de estimulación exacerbada por la HCD, y los componentes inflamatorios que se han descrito en modelos similares por el establecimiento del SMet, es posible que de forma sumatoria los D1R hayan ido a la baja por distintos mecanismos de internalización como arrestinas, o incluso a nivel transcripcional la disminución del mRNA como se ha demostrado en modelos similares.

Hemos indicado previamente que en los reportes sobre la activación de los receptores D2 sobre las D2-MSN es responsable de permitir la búsqueda de recompensas, además de coordinarse de forma conjunta en la activación de las D1-MSN para permitir la integración hedónica. No obstante, ya que el D2R tienen un efecto de inhibición de la señalización dopaminérgica, es posible que este aumento se deba a un mecanismo de autorreceptor para contrarrestar el exceso de liberación al que ha estado expuesto el NAc durante los tres meses de consumo de HCD y por la posible síntesis aberrante que se encuentra presente en estos modelos de consumo de HCD. Debido a que D2R es responsable de promover la búsqueda de alimentos, los animales en nuestra prueba de Barnes muestran una deficiencia en la capacidad de aprender la asociación entre la búsqueda del agujero de escape y la presencia del reforzador presente en la caja de escape, al posiblemente no presentar una estimulación postsináptica de D2R. La disminución de la excitabilidad de las D1-MSN, por pérdida de la activación del D1R, posiblemente estaría contribuyendo a los aumentos de preferencia que observamos en nuestro modelo, ya que, como hemos tratado en resultados previos, son también responsables de extinguir la conducta de alimentación debido a su conexión con el hipotálamo lateral (Matikainen-Ankney et al., 2023).

De igual forma, la activación de la PKA por D1R es la responsable de la fosforilación de CREB; al encontrar esta vía disminuida por la pérdida de receptor, es como observamos una

disminución de nuestros resultados de núcleos positivos a c-Fos, reflejo de la discapacidad del sistema de estimular las vías responsables de señalar el componente hedónico de los alimentos.

Ensayos posteriores en donde se evalúen las isoformas del D2R, las posibles fosforilaciones de CREB involucradas en su regulación, además de la determinación de Δ FosB, nos permitirían dar luz a los mecanismos implicados. De esta manera podríamos generar un mejor entendimiento del proceso que implica el estado de resiliencia de los animales en nuestro modelo experimental, que posiblemente antecede al proceso del establecimiento de un estado depresivo, como se ha descrito en humanos con obesidad, alteraciones metabólicas o diabetes (Secciones 2, 3).

9. Conclusión.

1. El síndrome metabólico produce alteración en la conducta de respuesta ante estímulos aversivos y una respuesta hedónica de tipo compensatoria propensa a la pérdida del placer por sustancias dulces, disminuyendo la capacidad de aprendizaje por refuerzos positivos.
2. Las alteraciones metabólicas producto del consumo de una dieta alta en carbohidratos provocan cambios en la organización histológica del núcleo accumbens sin evidencia de neurodegeneración de la región, pero sí de adecuación celular.
3. Las subpoblaciones funcionales de neuronas del núcleo accumbens de animales con síndrome metabólico disminuyen la expresión de D1R e incrementan D2R.

10. Referencias.

- Abdul-Ghani, M. A., Matsuda, M., Balas, B., & DeFronzo, R. A. (2007). Muscle and Liver Insulin Resistance Indexes Derived From the Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes Care*, 30(1), 89-94. <https://doi.org/10.2337/dc06-1519>
- Admon, R., & Pizzagalli, D. A. (2015). Dysfunctional Reward Processing in Depression. *Current opinion in psychology*, 4, 114-118. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2014.12.011>
- Adolphs, R., & Anderson, D. J. (2018). *The Neuroscience of Emotion: A New Synthesis*. Princeton University Press. <https://doi.org/10.23943/9781400889914>
- Aguilera, J. M. (2019). The food matrix: Implications in processing, nutrition and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(22), 3612-3629. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1502743>

- Aid, T., Kazantseva, A., Piirsoo, M., Palm, K., & Timmusk, T. (2007). Mouse and rat BDNF gene structure and expression revisited. *Journal of Neuroscience Research*, *85*(3), 525-535. <https://doi.org/10.1002/jnr.21139>
- Aitken, T. J., Greenfield, V. Y., & Wassum, K. M. (2016). Nucleus accumbens core dopamine signaling tracks the need-based motivational value of food-paired cues. *Journal of Neurochemistry*, *136*(5), 1026-1036. <https://doi.org/10.1111/jnc.13494>
- Aklan, I., Sayar Atasoy, N., Yavuz, Y., Ates, T., Coban, I., Koksalar, F., Filiz, G., Topcu, I. C., Oncul, M., Dilsiz, P., Cebecioglu, U., Alp, M. I., Yilmaz, B., Davis, D. R., Hajdukiewicz, K., Saito, K., Konopka, W., Cui, H., & Atasoy, D. (2020). NTS Catecholamine Neurons Mediate Hypoglycemic Hunger via Medial Hypothalamic Feeding Pathways. *Cell Metabolism*, *31*(2), 313-326.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.11.016>
- Akter, S., Akhter, H., Chaudhury, H. S., Rahman, MD. H., Gorski, A., Hasan, M. N., Shin, Y., Rahman, Md. A., Nguyen, M. N., Choi, T. G., & Kim, S.-S. (2022). Dietary carbohydrates: Pathogenesis and potential therapeutic targets to obesity-associated metabolic syndrome. *BioFactors*, *48*(5), 1036-1059. <https://doi.org/10.1002/biof.1886>
- Alberti, K. G. M. M., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J.-C., James, W. P. T., Loria, C. M., & Smith, S. C. (2009). Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, *120*(16), 1640-1645. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
- Alberti, K. G., & Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, *15*(7), 539-553. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199807\)15:7%253C539::AID-DIA668%253E3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7%253C539::AID-DIA668%253E3.0.CO;2-S)
- Albin, R. L., Young, A. B., & Penney, J. B. (1989). The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in Neurosciences*, *12*(10), 366-375. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(89\)90074-X](https://doi.org/10.1016/0166-2236(89)90074-X)
- Al-Hasani, R., Wong, J.-M. T., Mabrouk, O. S., McCall, J. G., Schmitz, G. P., Porter-Stransky, K. A., Aragona, B. J., Kennedy, R. T., & Bruchas, M. R. (2018). In vivo detection of optically-evoked opioid peptide release. *eLife*, *7*, e36520. <https://doi.org/10.7554/eLife.36520>
- Alibhai, I. N., Green, T. A., Potashkin, J. A., & Nestler, E. J. (2007). Regulation of fosB and ΔfosB mRNA Expression: In Vivo and In Vitro Studies. *Brain research*, *1143*, 22-33. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.01.069>

- Almiron-Roig, E., Flores, S. Y., & Drewnowski, A. (2004). No difference in satiety or in subsequent energy intakes between a beverage and a solid food. *Physiology & Behavior*, *82*(4), 671-677. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.06.003>
- Alonso-Caraballo, Y., Fetterly, T. L., Jorgensen, E. T., Nieto, A. M., Brown, T. E., & Ferrario, C. R. (2021). Sex specific effects of “junk-food” diet on calcium permeable AMPA receptors and silent synapses in the nucleus accumbens core. *Neuropsychopharmacology*, *46*(3), 569-578. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-0781-1>
- Alsiö, J., Olszewski, P. K., Norbäck, A. H., Gunnarsson, Z. E. A., Levine, A. S., Pickering, C., & Schiöth, H. B. (2010). Dopamine D1 receptor gene expression decreases in the nucleus accumbens upon long-term exposure to palatable food and differs depending on diet-induced obesity phenotype in rats. *Neuroscience*, *171*(3), 779-787. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.09.046>
- Amato, M. C., Giordano, C., Galia, M., Criscimanna, A., Vitabile, S., Midiri, M., & Galluzzo, A. (2010). Visceral Adiposity Index. *Diabetes Care*, *33*(4), 920-922. <https://doi.org/10.2337/dc09-1825>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (5.^a ed.). American Psychiatric Publishing. doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596
- Angelico, F., Baratta, F., Coronati, M., Ferro, D., & Del Ben, M. (2023). Diet and metabolic syndrome: A narrative review. *Internal and Emergency Medicine*, *18*(4), 1007-1017. <https://doi.org/10.1007/s11739-023-03226-7>
- Anzalone, A., Lizardi-Ortiz, J. E., Ramos, M., De Mei, C., Hopf, F. W., Iaccarino, C., Halbout, B., Jacobsen, J., Kinoshita, C., Welter, M., Caron, M. G., Bonci, A., Sulzer, D., & Borrelli, E. (2012). Dual Control of Dopamine Synthesis and Release by Presynaptic and Postsynaptic Dopamine D2 Receptors. *Journal of Neuroscience*, *32*(26), 9023-9034. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0918-12.2012>
- Arandjelović, J., Ivanović, J., Batinić, B., Mirković, K., Matović, B. D., & Savić, M. M. (2024). Sucrose binge-eating and increased anxiety-like behavior in Sprague–Dawley rats exposed to repeated LPS administration followed by chronic mild unpredictable stress. *Scientific Reports*, *14*(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72450-8>
- Armada-Moreira, A., Ribeiro, F. F., Sebastião, A. M., & Xapelli, S. (2015). Neuroinflammatory modulators of oligodendrogenesis. *Neuroimmunology and Neuroinflammation*, *2*(0), 263-273. <https://doi.org/10.4103/2347-8659.167311>
- Arnold, S. E., Arvanitakis, Z., Macauley-Rambach, S. L., Koenig, A. M., Wang, H.-Y., Ahima, R. S., Craft, S., Gandy, S., Buettner, C., Stoeckel, L. E., Holtzman, D. M., & Nathan, D. M. (2018). Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: Concepts and conundrums. *Nature Reviews Neurology*, *14*(3), 168-181. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.185>

- Aslam, M., & Madhu, S. V. (2017). Development of metabolic syndrome in high-sucrose diet fed rats is not associated with decrease in adiponectin levels. *Endocrine*, *58*(1), 59-65. <https://doi.org/10.1007/s12020-017-1403-5>
- Aslani, S., Vieira, N., Marques, F., Costa, P. S., Sousa, N., & Palha, J. A. (2015). The effect of high-fat diet on rat's mood, feeding behavior and response to stress. *Translational Psychiatry*, *5*(11), e684. <https://doi.org/10.1038/tp.2015.178>
- Avruch, J. (2007). MAP kinase pathways: The first twenty years. *Biochimica et biophysica acta*, *1773*(8), 1150-1160. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.11.006>
- Bajaj, M., Suraamornkul, S., Romanelli, A., Cline, G. W., Mandarino, L. J., Shulman, G. I., & DeFronzo, R. A. (2005). Effect of a Sustained Reduction in Plasma Free Fatty Acid Concentration on Intramuscular Long-Chain Fatty Acyl-CoAs and Insulin Action in Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes*, *54*(11), 3148-3153. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.11.3148>
- Bale, T. L., Abel, T., Akil, H., Carlezon, W. A., Moghaddam, B., Nestler, E. J., Ressler, K. J., & Thompson, S. M. (2019). The critical importance of basic animal research for neuropsychiatric disorders. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *44*(8), 1349-1353. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0405-9>
- Barnes, C. A., & McNaughton, B. L. (1985). An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses. *Behavioral Neuroscience*, *99*(6), 1040-1048. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.99.6.1040>
- Barrachina, M. D., Martínez, V., Wang, L., Wei, J. Y., & Taché, Y. (1997). Synergistic interaction between leptin and cholecystokinin to reduce short-term food intake in lean mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *94*(19), 10455-10460. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.19.10455>
- Bastie, C. C., Nahlé, Z., McLoughlin, T., Esser, K., Zhang, W., Unterman, T., & Abumrad, N. A. (2005). FoxO1 stimulates fatty acid uptake and oxidation in muscle cells through CD36-dependent and -independent mechanisms. *The Journal of Biological Chemistry*, *280*(14), 14222-14229. <https://doi.org/10.1074/jbc.M413625200>
- Beaulieu, J.-M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. *Pharmacological Reviews*, *63*(1), 182-217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>
- Bednar, I., Carrer, H., Qureshi, G. A., & Södersten, P. (1995). Dopamine D1 or D2 antagonists enhance inhibition of consummatory ingestive behavior by CCK-8. *The American Journal of Physiology*, *269*(4 Pt 2), R896-903. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1995.269.4.R896>
- Beeler, J. A., Faust, R. P., Turkson, S., Ye, H., & Zhuang, X. (2016). Low Dopamine D2 Receptor Increases Vulnerability to Obesity Via Reduced Physical Activity, Not

- Increased Appetitive Motivation. *Biological Psychiatry*, 79(11), 887-897. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.009>
- Bekoff, M. (2000). Animal Emotions: Exploring Passionate Natures: Current interdisciplinary research provides compelling evidence that many animals experience such emotions as joy, fear, love, despair, and grief—we are not alone. *BioScience*, 50(10), 861-870. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2000\)050%255B0861:AEEP%255D2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2000)050%255B0861:AEEP%255D2.0.CO;2)
- Belujon, P., & Grace, A. A. (2017). Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(12), 1036-1046. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx056>
- Benoit-Marand, M., Ballion, B., Borrelli, E., Boraud, T., & Gonon, F. (2011). Inhibition of dopamine uptake by D2 antagonists: An in vivo study: D2 antagonists inhibit dopamine uptake. *Journal of Neurochemistry*, 116(3), 449-458. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07125.x>
- Berridge, K. C. (1996). Food reward: Brain substrates of wanting and liking. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 20(1), 1-25. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(95\)00033-b](https://doi.org/10.1016/0149-7634(95)00033-b)
- Berridge, K. C. (2007). The debate over dopamine's role in reward: The case for incentive salience. *Psychopharmacology*, 191(3), 391-431. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0578-x>
- Berridge, K. C., & Robinson, T. E. (2003). Parsing reward. *Trends in Neurosciences*, 26(9), 507-513. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(03\)00233-9](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(03)00233-9)
- Berio, J. P., & Kalliokoski, O. (2023). Rethinking data treatment: The sucrose preference threshold for anhedonia in stress-induced rat models of depression. *Journal of Neuroscience Methods*, 395, 109910. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2023.109910>
- Berry, M. P., Tanovic, E., Joormann, J., & Sanislow, C. A. (2019). Relation of Depression Symptoms to Sustained Reward and Loss Sensitivity. *Psychophysiology*, 56(7), e13364. <https://doi.org/10.1111/psyp.13364>
- Berton, O., McClung, C. A., Dileone, R. J., Krishnan, V., Renthal, W., Russo, S. J., Graham, D., Tsankova, N. M., Bolanos, C. A., Rios, M., Monteggia, L. M., Self, D. W., & Nestler, E. J. (2006). Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science (New York, N.Y.)*, 311(5762), 864-868. <https://doi.org/10.1126/science.1120972>
- Bezy, O., Tran, T. T., Pihlajamäki, J., Suzuki, R., Emanuelli, B., Winnay, J., Mori, M. A., Haas, J., Biddinger, S. B., Leitges, M., Goldfine, A. B., Patti, M. E., King, G. L., & Kahn, C. R. (2011). PKC δ regulates hepatic insulin sensitivity and hepatosteatosis in mice and humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(6), 2504-2517. <https://doi.org/10.1172/JCI46045>
- Bibb, J. A., Chen, J., Taylor, J. R., Svenningsson, P., Nishi, A., Snyder, G. L., Yan, Z., Sagawa, Z. K., Ouimet, C. C., Nairn, A. C., Nestler, E. J., & Greengard, P. (2001). Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5. *Nature*, 410(6826), 376-380. <https://doi.org/10.1038/35066591>

- Biffo, S., Ruggero, D., & Santoro, M. M. (2024). The crosstalk between metabolism and translation. *Cell Metabolism*, 36(9), 1945-1962. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.07.022>
- Bloom, D. E., Cafiero, E., Jané-Llopis, E., Abrahams-Gessel, S., Bloom, L. R., Fathima, S., Feigl, A. B., Gaziano, T., Hamandi, A., Mowafi, M., O'Farrell, D., Ozaltin, E., Pandya, A., Prettner, K., Rosenberg, L., Seligman, B., Stein, A. Z., Weinstein, C., & Weiss, J. (2012). The Global Economic Burden of Noncommunicable Diseases. *PGDA Working Papers*, Article 8712. <https://ideas.repec.org/p/gdm/wpaper/8712.html>
- Boden, G., & Shulman, G. I. (2002). Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: Defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. *European Journal of Clinical Investigation*, 32(s3), 14-23. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.32.s3.3.x>
- Borshchev, Y. Yu., Uspensky, Y. P., & Galagudza, M. M. (2019). Pathogenetic pathways of cognitive dysfunction and dementia in metabolic syndrome. *Life Sciences*, 237, 116932. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116932>
- Bovolini, A., Garcia, J., Andrade, M. A., & Duarte, J. A. (2021). Metabolic Syndrome Pathophysiology and Predisposing Factors. *International Journal of Sports Medicine*, 42(03), 199-214. <https://doi.org/10.1055/a-1263-0898>
- Boyko, M., Kutz, R., Grinshpun, J., Zvenigorodsky, V., Gruenbaum, B. F., Gruenbaum, S. E., Frenkel, A., Brotfain, E., Israel Melamed, Frank, D., Zeldetz, V., & Zlotnik, A. (2019). The effect of depressive-like behavior and antidepressant therapy on social behavior and hierarchy in rats. *Behavioural Brain Research*, 370, 111953. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.111953>
- Bray, N. (2019). When remembering is rewarding. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(2), 68-69. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0110-4>
- Briand, L. A., & Blendy, J. A. (2010). Molecular and Genetic Substrates Linking Stress and Addiction. *Brain research*, 1314C, 219. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.11.002>
- Bromberg-Martin, E. S., Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2010). Dopamine in motivational control: Rewarding, aversive, and alerting. *Neuron*, 68(5), 815-834. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.022>
- Bruce-Keller, A. J., Keller, J. N., & Morrison, C. D. (2009). Obesity and vulnerability of the CNS. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1792(5), 395-400. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.10.004>
- Brüning, J. C., Gautam, D., Burks, D. J., Gillette, J., Schubert, M., Orban, P. C., Klein, R., Krone, W., Müller-Wieland, D., & Kahn, C. R. (2000). Role of Brain Insulin Receptor in Control of Body Weight and Reproduction. *Science*, 289(5487), 2122-2125. <https://doi.org/10.1126/science.289.5487.2122>
- Buettner, C., Poci, A., Muse, E. D., Etgen, A. M., Myers, M. G., & Rossetti, L. (2006). Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions. *Cell metabolism*, 4(1), 49-60. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.04.014>

- 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), E1269-1276. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90207.2008>
- Cadoni, C., Solinas, M., & Di Chiara, G. (2000). Psychostimulant sensitization: Differential changes in accumbal shell and core dopamine. *European Journal of Pharmacology*, 388(1), 69-76. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00824-9](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00824-9)
- Canello, R., & Clément, K. (2006). Review article: Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 113(10), 1141-1147. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2006.01004.x>
- Caprio, S., Perry, R., & Kursawe, R. (2017). Adolescent Obesity and Insulin Resistance: Roles of Ectopic Fat Accumulation and Adipose Inflammation. *Gastroenterology*, 152(7), 1638-1646. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.12.051>
- Carlezon, W. A., Thome, J., Olson, V. G., Lane-Ladd, S. B., Brodtkin, E. S., Hiroi, N., Duman, R. S., Neve, R. L., & Nestler, E. J. (1998). Regulation of cocaine reward by CREB. *Science (New York, N.Y.)*, 282(5397), 2272-2275. <https://doi.org/10.1126/science.282.5397.2272>
- Carlezonjr, W., Duman, R., & Nestler, E. (2005). The many faces of CREB. *Trends in Neurosciences*, 28(8), 436-445. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.06.005>
- Carnethon, M. R., Loria, C. M., Hill, J. O., Sidney, S., Savage, P. J., & Liu, K. (2004). Risk Factors for the Metabolic Syndrome: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study, 1985–2001. *Diabetes Care*, 27(11), 2707-2715. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.11.2707>
- Castro, D. C., & Berridge, K. C. (2014). Opioid Hedonic Hotspot in Nucleus Accumbens Shell: Mu, Delta, and Kappa Maps for Enhancement of Sweetness “Liking” and “Wanting”. *Journal of Neuroscience*, 34(12), 4239-4250. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4458-13.2014>
- Chao, J., & Nestler, E. J. (2004). Molecular Neurobiology of Drug Addiction. *Annual Review of Medicine*, 55(Volume 55, 2004), 113-132. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.55.091902.103730>
- Chen, J. (2009). Food oral processing—A review. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 1-25. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.013>
- Chen, W., Cai, W., Hoover, B., & Kahn, C. R. (2022). Insulin action in the brain: Cell types, circuits, and diseases. *Trends in Neurosciences*, 45(5), 384-400. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2022.03.001>
- Chen, Y., Lin, Y.-C., Kuo, T.-W., & Knight, Z. A. (2015). Sensory detection of food rapidly modulates arcuate feeding circuits. *Cell*, 160(5), 829-841. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.033>

- Chen, Y., Yu, Q., & Gong, C.-X. (2019). Molecular Connection Between Diabetes and Dementia. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1128, 103-131. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3540-2_6
- Cheon, D.-H., Park, S., Park, J., Koo, M., Kim, H.-H., Han, S., & Choi, H. J. (2025). Lateral hypothalamus and eating: Cell types, molecular identity, anatomy, temporal dynamics and functional roles. *Experimental & Molecular Medicine*, 57(5), 925-937. <https://doi.org/10.1038/s12276-025-01451-y>
- Cherrington, A. D. (1999). Banting Lecture 1997. Control of glucose uptake and release by the liver in vivo. *Diabetes*, 48(5), 1198-1214. <https://doi.org/10.2337/diabetes.48.5.1198>
- Chiu, S.-L., Chen, C.-M., & Cline, H. T. (2008). Insulin receptor signaling regulates synapse number, dendritic plasticity, and circuit function in vivo. *Neuron*, 58(5), 708-719. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.04.014>
- Cho, D., Zheng, M., Min, C., Ma, L., Kurose, H., Park, J. H., & Kim, K.-M. (2010). Agonist-Induced Endocytosis and Receptor Phosphorylation Mediate Resensitization of Dopamine D2 Receptors. *Molecular Endocrinology*, 24(3), 574-586. <https://doi.org/10.1210/me.2009-0369>
- Cho, E.-Y., Cho, D.-I., Park, J. H., Kurose, H., Caron, M. G., & Kim, K.-M. (2007). Roles of Protein Kinase C and Actin-Binding Protein 280 in the Regulation of Intracellular Trafficking of Dopamine D3 Receptor. *Molecular Endocrinology*, 21(9), 2242-2254. <https://doi.org/10.1210/me.2007-0202>
- Chou, K.-P., Wilson, R. C., & Smith, R. (2024). The influence of anxiety on exploration: A review of computational modeling studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 167, 105940. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2024.105940>
- Chow, W.-S., Cheung, B. M. Y., Tso, A. W. K., Xu, A., Wat, N. M. S., Fong, C. H. Y., Ong, L. H. Y., Tam, S., Tan, K. C. B., Janus, E. D., Lam, T.-H., & Lam, K. S. L. (2007). Hypoadiponectinemia as a Predictor for the Development of Hypertension. *Hypertension*, 49(6), 1455-1461. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.086835>
- Chua, S. C., Chung, W. K., Wu-Peng, X. S., Zhang, Y., Liu, S. M., Tartaglia, L., & Leibel, R. L. (1996). Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science (New York, N.Y.)*, 271(5251), 994-996. <https://doi.org/10.1126/science.271.5251.994>
- Civelli, O., Bunzow, J. R., & Grandy, D. K. (1993). Molecular Diversity of the Dopamine Receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 33(Volume 33, 1993), 281-307. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.33.040193.001433>
- Coimbra, B., Soares-Cunha, C., Vasconcelos, N. A. P., Domingues, A. V., Borges, S., Sousa, N., & Rodrigues, A. J. (2019). Role of laterodorsal tegmentum projections to nucleus accumbens in reward-related behaviors. *Nature Communications*, 10(1), 4138. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11557-3>

- Commins, S. P., Watson, P. M., Padgett, M. A., Dudley, A., Argyropoulos, G., & Gettys, T. W. (1999). Induction of uncoupling protein expression in brown and white adipose tissue by leptin. *Endocrinology*, *140*(1), 292-300. <https://doi.org/10.1210/endo.140.1.6399>
- Cone, J. J., Chartoff, E. H., Potter, D. N., Ebner, S. R., & Roitman, M. F. (2013). Prolonged High Fat Diet Reduces Dopamine Reuptake without Altering DAT Gene Expression. *PLOS ONE*, *8*(3), e58251. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058251>
- Cope, E. C., LaMarca, E. A., Monari, P. K., Olson, L. B., Martinez, S., Zych, A. D., Katchur, N. J., & Gould, E. (2018). Microglia Play an Active Role in Obesity-Associated Cognitive Decline. *The Journal of Neuroscience*, *38*(41), 8889-8904. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0789-18.2018>
- Cornish, J. L., & Kalivas, P. W. (2000). Glutamate Transmission in the Nucleus Accumbens Mediates Relapse in Cocaine Addiction. *Journal of Neuroscience*, *20*(15), RC89-RC89. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-15-j0006.2000>
- Coss, A., Suaste, E., & Gutierrez, R. (2022). Lateral NAc Shell D1 and D2 Neuronal Ensembles Concurrently Predict Licking Behavior and Categorize Sucrose Concentrations in a Context-dependent Manner. *Neuroscience*, *493*, 81-98. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.04.022>
- Covey, D. P., Mateo, Y., Sulzer, D., Cheer, J. F., & Lovinger, D. M. (2017). Endocannabinoid modulation of dopamine neurotransmission. *Neuropharmacology*, *124*, 52-61. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.04.033>
- Covey, D. P., & Yocky, A. G. (2021). Endocannabinoid Modulation of Nucleus Accumbens Microcircuitry and Terminal Dopamine Release. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2021.734975>
- Creed, M., Pascoli, V. J., & Lüscher, C. (2015). Addiction therapy. Refining deep brain stimulation to emulate optogenetic treatment of synaptic pathology. *Science (New York, N.Y.)*, *347*(6222), 659-664. <https://doi.org/10.1126/science.1260776>
- Crombag, H. S., Gorny, G., Li, Y., Kolb, B., & Robinson, T. E. (2005). Opposite Effects of Amphetamine Self-administration Experience on Dendritic Spines in the Medial and Orbital Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*, *15*(3), 341-348. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh136>
- Cryan, J. F., Mombereau, C., & Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *29*(4-5), 571-625. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.009>
- Cuthbert, B. N., & Insel, T. R. (2013). Toward the future of psychiatric diagnosis: The seven pillars of RDoC. *BMC Medicine*, *11*(1), 126. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-126>
- Dakic, T., Jevdjovic, T., Lakic, I., Ruzicic, A., Jasic, N., Djurasevic, S., Djordjevic, J., & Vujovic, P. (2023). The Expression of Insulin in the Central Nervous System: What Have We Learned So Far? *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(7), 6586. <https://doi.org/10.3390/ijms24076586>

- Dal Toso, R., Sommer, B., Ewert, M., Herb, A., Pritchett, D. B., Bach, A., Shivers, B. D., & Seeburg, P. H. (1989). The dopamine D2 receptor: Two molecular forms generated by alternative splicing. *The EMBO journal*, *8*(13), 4025-4034.
- Dantzer, R., & Kelley, K. W. (2007). Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, *21*(2), 153-160. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2006.09.006>
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews. Neuroscience*, *9*(1), 46-56. <https://doi.org/10.1038/nrn2297>
- D'Aquila, P. S. (2010). Dopamine on D2-like receptors “reboots” dopamine D1-like receptor-mediated behavioural activation in rats licking for sucrose. *Neuropharmacology*, *58*(7), 1085-1096. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.01.017>
- D'Aquila, P. S., Rossi, R., Rizzi, A., & Galistu, A. (2012). Possible role of dopamine D1-like and D2-like receptors in behavioural activation and “contingent” reward evaluation in sodium-replete and sodium-depleted rats licking for NaCl solutions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *101*(1), 99-106. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2011.12.004>
- Day, J. J., & Carelli, R. M. (2007). The Nucleus Accumbens and Pavlovian Reward Learning. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, *13*(2), 148-159. <https://doi.org/10.1177/1073858406295854>
- de Aquino, C. C., Leitão, R. A., Oliveira Alves, L. A., Coelho-Santos, V., Guerrant, R. L., Ribeiro, C. F., Malva, J. O., Silva, A. P., & Oriá, R. B. (2019). Effect of Hypoproteic and High-Fat Diets on Hippocampal Blood-Brain Barrier Permeability and Oxidative Stress. *Frontiers in Nutrition*, *5*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00131>
- de Araujo, I. E., Schatzker, M., & Small, D. M. (2020). Rethinking Food Reward. *Annual Review of Psychology*, *71*, 139-164. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-122216-011643>
- De Jong, J. W., Afjei, S. A., Pollak Dorocic, I., Peck, J. R., Liu, C., Kim, C. K., Tian, L., Deisseroth, K., & Lammel, S. (2019). A Neural Circuit Mechanism for Encoding Aversive Stimuli in the Mesolimbic Dopamine System. *Neuron*, *101*(1), 133-151.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.11.005>
- de León-López, C. A. M., Carretero-Rey, M., & Khan, Z. U. (2025). AMPA Receptors in Synaptic Plasticity, Memory Function, and Brain Diseases. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *45*, 14. <https://doi.org/10.1007/s10571-024-01529-7>
- De Meyts, P. (2016). The Insulin Receptor and Its Signal Transduction Network. En K. R. Feingold, S. F. Ahmed, B. Anawalt, M. R. Blackman, A. Boyce, G. Chrousos, E. Corpas, W. W. de Herder, K. Dhatariya, K. Dungan, J. Hofland, S. Kalra, G. Kaltsas, N. Kapoor, C. Koch, P. Kopp, M. Korbonits, C. S. Kovacs, W. Kuohung, ... D. P. Wilson (Eds.), *Endotext*. MDText.com, Inc. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK378978/>
- Décarie-Spain, L., Hryhorczuk, C., Lau, D., Jacob-Brassard, É., Fiset, A., & Fulton, S. (2021). Prolonged saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding provokes

- anxiodepressive-like behaviors in female mice despite similar metabolic consequences. *Brain, Behavior, & Immunity - Health*, *16*, 100324. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2021.100324>
- Décarie-Spain, L., Sharma, S., Hryhorczuk, C., Issa-Garcia, V., Barker, P. A., Arbour, N., Alquier, T., & Fulton, S. (2018). Nucleus accumbens inflammation mediates anxiodepressive behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat. *Molecular Metabolism*, *10*, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.01.018>
- DeFronzo, R. A. (1988). The Triumvirate: β -Cell, Muscle, Liver: A Collusion Responsible for NIDDM. *Diabetes*, *37*(6), 667-687. <https://doi.org/10.2337/diab.37.6.667>
- DeFronzo, R. A. (2009). From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*, *58*(4), 773-795. <https://doi.org/10.2337/db09-9028>
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Hendler, R., Felig, P., & Wahren, J. (1983). Regulation of Splanchnic and Peripheral Glucose Uptake by Insulin and Hyperglycemia in Man. *Diabetes*, *32*(1), 35-45. <https://doi.org/10.2337/diab.32.1.35>
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., & Simonson, D. C. (1989). Fasting hyperglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus: Contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism*, *38*(4), 387-395. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(89\)90129-7](https://doi.org/10.1016/0026-0495(89)90129-7)
- Deng, C., & Yao, J. K. (2020). Editorial: Metabolic Disturbances in Mental Illness: Neuropathogenetic Mechanisms and Therapeutic Implications. *Frontiers in Neuroscience*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00021>
- Der-Avakian, A., & Markou, A. (2012). The neurobiology of anhedonia and other reward-related deficits. *Trends in Neurosciences*, *35*(1), 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.11.005>
- Di Ciano, P., & Everitt, B. J. (2001). Dissociable Effects of Antagonism of NMDA and AMPA/KA Receptors in the Nucleus Accumbens Core and Shell on Cocaine-seeking Behavior. *Neuropsychopharmacology*, *25*(3), 341-360. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00235-4](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00235-4)
- Diamantis, A., Magiorkinis, E., Sakorafas, G. H., & Androutsos, G. (2008). A Brief History of Apoptosis: From Ancient to Modern Times. *Oncology Research and Treatment*, *31*(12), 702-706. <https://doi.org/10.1159/000165071>
- Diaz, A., Escobedo, C., Treviño, S., Chávez, R., Lopez-Lopez, G., Moran, C., Guevara, J., Venegas, B., & Muñoz-Arenas, G. (2018). Metabolic Syndrome Exacerbates the Recognition Memory Impairment and Oxidative-Inflammatory Response in Rats with an Intrahippocampal Injection of Amyloid Beta 1–42. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2018*(1), 1358057. <https://doi.org/10.1155/2018/1358057>
- Diaz, A., Muñoz-Arenas, G., Caporal-Hernandez, K., Vázquez-Roque, R., Lopez-Lopez, G., Kozina, A., Espinosa, B., Flores, G., Treviño, S., & Guevara, J. (2021). Gallic acid improves recognition memory and decreases oxidative-inflammatory damage in the rat

- hippocampus with metabolic syndrome. *Synapse*, 75(2), e22186. <https://doi.org/10.1002/syn.22186>
- Díez, J. J., & Iglesias, P. (2003). The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *European Journal of Endocrinology*, 148(3), 293-300. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1480293>
- Dimitriadis, G. D., Maratou, E., Kountouri, A., Board, M., & Lambadiari, V. (2021). Regulation of Postabsorptive and Postprandial Glucose Metabolism by Insulin-Dependent and Insulin-Independent Mechanisms: An Integrative Approach. *Nutrients*, 13(1), 159. <https://doi.org/10.3390/nu13010159>
- Ding, S., Li, G., Fu, T., Zhang, T., Lu, X., Li, N., & Geng, Q. (2024). Ceramides and mitochondrial homeostasis. *Cellular Signalling*, 117, 111099. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2024.111099>
- Dingess, P. M., Darling, R. A., Derman, R. C., Wulff, S. S., Hunter, M. L., Ferrario, C. R., & Brown, T. E. (2017). Structural and Functional Plasticity within the Nucleus Accumbens and Prefrontal Cortex Associated with Time-Dependent Increases in Food Cue-Seeking Behavior. *Neuropsychopharmacology*, 42(12), 2354-2364. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.57>
- D'Mello, C., Le, T., & Swain, M. G. (2009). Cerebral Microglia Recruit Monocytes into the Brain in Response to Tumor Necrosis Factor α Signaling during Peripheral Organ Inflammation. *Journal of Neuroscience*, 29(7), 2089-2102. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3567-08.2009>
- Dobrazanski, P., Noguchi, T., Kovary, K., Rizzo, C. A., Lazo, P. S., & Bravo, R. (1991). Both products of the fosB gene, FosB and its short form, FosB/SF, are transcriptional activators in fibroblasts. *Molecular and Cellular Biology*, 11(11), 5470-5478. <https://doi.org/10.1128/mcb.11.11.5470-5478.1991>
- Domingues, A. V., Rodrigues, A. J., & Soares-Cunha, C. (2023). A novel perspective on the role of nucleus accumbens neurons in encoding associative learning. *FEBS Letters*, 597(21), 2601-2610. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14727>
- Dong, Y., Green, T., Saal, D., Marie, H., Neve, R., Nestler, E. J., & Malenka, R. C. (2006). CREB modulates excitability of nucleus accumbens neurons. *Nature Neuroscience*, 9(4), 475-477. <https://doi.org/10.1038/nn1661>
- Dong, Z., Huang, B., Jiang, C., Chen, J., Lin, H., Lian, Q., & Wu, B. (2021). The Adenosine A2A Receptor Activation in Nucleus Accumbens Suppress Cue-Induced Reinstatement of Propofol Self-administration in Rats. *Neurochemical Research*, 46(5), 1081-1091. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03238-9>
- Dorn, A., Ziegler, M., Bernstein, H.-G., Dietz, H., & Rinne, A. (1984). Concerning the presence of an insulin-related peptide in the human brain: An immunohistochemical reinvestigation by use of monoclonal insulin antibodies. *Acta Histochemica*, 74(1), 81-84. [https://doi.org/10.1016/S0065-1281\(84\)80032-X](https://doi.org/10.1016/S0065-1281(84)80032-X)

- Duca, F. A., Waise, T. M. Z., Peppler, W. T., & Lam, T. K. T. (2021). The metabolic impact of small intestinal nutrient sensing. *Nature Communications*, *12*(1), 903. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21235-y>
- Durst, M., Könczöl, K., Balázs, T., Eyre, M. D., & Tóth, Z. E. (2019). Reward-representing D1-type neurons in the medial shell of the accumbens nucleus regulate palatable food intake. *International Journal of Obesity*, *43*(4), 917-927. <https://doi.org/10.1038/s41366-018-0133-y>
- Dutheil, S., Ota, K. T., Wohleb, E. S., Rasmussen, K., & Duman, R. S. (2016). High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology*, *41*(7), 1874-1887. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.357>
- Dwyer, D. M. (2012). Licking and Liking: The Assessment of Hedonic Responses in Rodents. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, *65*(3), 371-394. <https://doi.org/10.1080/17470218.2011.652969>
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*, *35*(4), 495-516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Fahed, G., Aoun, L., Bou Zerdan, M., Allam, S., Bou Zerdan, M., Bouferraa, Y., & Assi, H. I. (2022). Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(2), 786. <https://doi.org/10.3390/ijms23020786>
- Fantuzzi, G. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *115*(5), 911-919. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.02.023>
- Farr, O. M., Gavrieli, A., & Mantzoros, C. S. (2015). Leptin applications in 2015: What have we learned about leptin and obesity? *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*, *22*(5), 353-359. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000184>
- Feingold, K. R. (2022). Lipid and Lipoprotein Metabolism. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, *51*(3), 437-458. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2022.02.008>
- Fernandez, A. M., Hernandez-Garzón, E., Perez-Domper, P., Perez-Alvarez, A., Mederos, S., Matsui, T., Santi, A., Trueba-Saiz, A., García-Guerra, L., Pose-Utrilla, J., Fielitz, J., Olson, E. N., Fernandez de la Rosa, R., Garcia Garcia, L., Pozo, M. A., Iglesias, T., Araque, A., Soya, H., Perea, G., ... Torres Aleman, I. (2016). Insulin Regulates Astrocytic Glucose Handling Through Cooperation With IGF-I. *Diabetes*, *66*(1), 64-74. <https://doi.org/10.2337/db16-0861>
- Ferrannini, E., & DeFronzo, R. A. (2015). Insulin actions in vivo: Glucose metabolism. En *International Textbook of Diabetes Mellitus* (pp. 211-233). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118387658.ch14>
- Fetterly, T. L., Catalfio, A. M., & Ferrario, C. R. (2024). Effects of junk-food on food-motivated behavior and nucleus accumbens glutamate plasticity; insights into the mechanism of calcium-permeable AMPA receptor recruitment. *Neuropharmacology*, *242*, 109772. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109772>

- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. (2008). Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH Protocols*, 2008, pdb.prot4986. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot4986>
- Floresco, S. B. (2015). The nucleus accumbens: An interface between cognition, emotion, and action. *Annual Review of Psychology*, 66, 25-52. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115159>
- Fordahl, S. C., & Jones, S. R. (2017). High-Fat-Diet-Induced Deficits in Dopamine Terminal Function Are Reversed by Restoring Insulin Signaling. *ACS Chemical Neuroscience*, 8(2), 290-299. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.6b00308>
- Francis, T. C., Chandra, R., Friend, D. M., Finkel, E., Dayrit, G., Miranda, J., Brooks, J. M., Iñiguez, S. D., O'Donnell, P., Kravitz, A., & Lobo, M. K. (2015). Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress. *Biological Psychiatry*, 77(3), 212-222. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.07.021>
- Frederich, R. C., Hamann, A., Anderson, S., Löllmann, B., Lowell, B. B., & Flier, J. S. (1995). Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nature Medicine*, 1(12), 1311-1314. <https://doi.org/10.1038/nm1295-1311>
- Fredholm, B. B., IJzerman, A. P., Jacobson, K. A., Linden, J., & Müller, C. E. (2011). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and classification of adenosine receptors—An update. *Pharmacological Reviews*, 63(1), 1-34. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003285>
- Frey, A.-L., Kaya, M. S., Adeniyi, I., & McCabe, C. (2023). Anhedonia in Relation to Reward and Effort Learning in Young People with Depression Symptoms. *Brain Sciences*, 13(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/brainsci13020341>
- 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 Neuroanatomy*, 129, 102237. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2023.102237>
- Gaisano, H. Y., Macdonald, P. E., & Vranic, M. (2012). Glucagon secretion and signaling in the development of diabetes. *Frontiers in Physiology*, 3, 349. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00349>
- Galistu, A., & D'Aquila, P. S. (2013). Dopamine on D2-like receptors “reboots” dopamine D1-like receptor-mediated behavioural activation in rats licking for a isotonic NaCl solution. *Psychopharmacology*, 229(2), 357-366. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3110-0>
- Galsgaard, K. D., Pedersen, J., Knop, F. K., Holst, J. J., & Wewer Albrechtsen, N. J. (2019). Glucagon Receptor Signaling and Lipid Metabolism. *Frontiers in Physiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00413>
- Gangarossa, G., Espallergues, J., De Kerchove d'Exaerde, A., El Mestikawy, S., Gerfen, C. R., Hervé, D., Girault, J.-A., & Valjent, E. (2013). Distribution and compartmental

- organization of GABAergic medium-sized spiny neurons in the mouse nucleus accumbens. *Frontiers in Neural Circuits*, 7. <https://doi.org/10.3389/fncir.2013.00022>
- García-Cáceres, C., Quarta, C., Varela, L., Gao, Y., Gruber, T., Legutko, B., Jastroch, M., Johansson, P., Ninkovic, J., Yi, C.-X., Thuc, O. L., Szigeti-Buck, K., Cai, W., Meyer, C. W., Pfluger, P. T., Fernandez, A. M., Luquet, S., Woods, S. C., Torres-Alemán, I., ... Tschöp, M. H. (2016). Astrocytic Insulin Signaling Couples Brain Glucose Uptake with Nutrient Availability. *Cell*, 166(4), 867-880. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.028>
- Gendelis, S., Inbar, D., & Kupchik, Y. M. (2021). The role of the nucleus accumbens and ventral pallidum in feeding and obesity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 111, 110394. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110394>
- Gerfen, C. R., & Surmeier, D. J. (2011). Modulation of Striatal Projection Systems by Dopamine. *Annual Review of Neuroscience*, 34(1), 441-466. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113641>
- Gero, D. (2020). Challenges in the interpretation and therapeutic manipulation of human ingestive microstructure. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 318(5), R886-R893. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00356.2019>
- Gibson, E. M., Purger, D., Mount, C. W., Goldstein, A. K., Lin, G. L., Wood, L. S., Inema, I., Miller, S. E., Bieri, G., Zuchero, J. B., Barres, B. A., Woo, P. J., Vogel, H., & Monje, M. (2014). Neuronal Activity Promotes Oligodendrogenesis and Adaptive Myelination in the Mammalian Brain. *Science*, 344(6183), 1252304. <https://doi.org/10.1126/science.1252304>
- Goldstein, B. J., Muller-Wieland, D., & Kahn, C. R. (1987). Variation in Insulin Receptor Messenger Ribonucleic Acid Expression in Human and Rodent Tissues. *Molecular Endocrinology*, 1(11), 759-766. <https://doi.org/10.1210/mend-1-11-759>
- Goldstein, J. L., DeBose-Boyd, R. A., & Brown, M. S. (2006). Protein sensors for membrane sterols. *Cell*, 124(1), 35-46. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.12.022>
- Gorwood, P. (2008). Neurobiological mechanisms of anhedonia. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 10(3), 291-299. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2008.10.3/pgorwood>
- Gregor, M. F., & Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annual Review of Immunology*, 29(1), 415-445. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322>
- Griffin, M. E., Marcucci, M. J., Cline, G. W., Bell, K., Barucci, N., Lee, D., Goodyear, L. J., Kraegen, E. W., White, M. F., & Shulman, G. I. (1999). Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes*, 48(6), 1270-1274. <https://doi.org/10.2337/diabetes.48.6.1270>
- Grillo, C. A., Woodruff, J. L., Macht, V. A., & Reagan, L. P. (2019). Insulin resistance and hippocampal dysfunction: Disentangling peripheral and brain causes from

- consequences. *Experimental Neurology*, 318, 71-77.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.04.012>
- GROOP, L. C., SALORANTA, C., SHANK, M., BONADONNA, R. C., FERRANNINI, E., & DEFONZO, R. A. (1991). The Role of Free Fatty Acid Metabolism in the Pathogenesis of Insulin Resistance in Obesity and Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 72(1), 96-107.
<https://doi.org/10.1210/jcem-72-1-96>
- Grueter, B. A., Robison, A. J., Neve, R. L., Nestler, E. J., & Malenka, R. C. (2013). Δ FosB differentially modulates nucleus accumbens direct and indirect pathway function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(5), 1923-1928. <https://doi.org/10.1073/pnas.1221742110>
- 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>
- Gupta, M., Pandey, S., Rumman, M., Singh, B., & Mahdi, A. A. (2023). Molecular mechanisms underlying hyperglycemia associated cognitive decline. *IBRO Neuroscience Reports*, 14, 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2022.12.006>
- Gururajan, A., Reif, A., Cryan, J. F., & Slattery, D. A. (2019). The future of rodent models in depression research. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(11), 686-701. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0221-6>
- Gutiérrez-Martos, M., Girard, B., Mendonça-Netto, S., Perroy, J., Valjent, E., Maldonado, R., & Martin, M. (2018). Cafeteria diet induces neuroplastic modifications in the nucleus accumbens mediated by microglia activation. *Addiction Biology*, 23(2), 735-749. <https://doi.org/10.1111/adb.12541>
- Hajnal, A., & Norgren, R. (2005). Taste pathways that mediate accumbens dopamine release by sapid sucrose. *Physiology & Behavior*, 84(3), 363-369. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.12.014>
- Halaas, J. L., Gajiwala, K. S., Maffei, M., Cohen, S. L., Chait, B. T., Rabinowitz, D., Lallone, R. L., Burley, S. K., & Friedman, J. M. (1995). Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science (New York, N.Y.)*, 269(5223), 543-546. <https://doi.org/10.1126/science.7624777>
- Hall, K. D., Ayuketah, A., Brychta, R., Cai, H., Cassimatis, T., Chen, K. Y., Chung, S. T., Costa, E., Courville, A., Darcey, V., Fletcher, L. A., Forde, C. G., Gharib, A. M., Guo, J., Howard, R., Joseph, P. V., McGehee, S., Ouwkerk, R., Raisingier, K., ... Zhou, M. (2019). Ultra-Processed Diets Cause Excess Calorie Intake and Weight Gain: An Inpatient Randomized Controlled Trial of Ad Libitum Food Intake. *Cell Metabolism*, 30(1), 67-77.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.05.008>
- Hamano, S., Sawada, M., Aihara, M., Sakurai, Y., Sekine, R., Usami, S., Kubota, N., & Yamauchi, T. (2024). Ultra-processed foods cause weight gain and increased energy intake associated with reduced chewing frequency: A randomized, open-label, crossover

- study. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 26(11), 5431-5443. <https://doi.org/10.1111/dom.15922>
- Han, X., Jing, M., Zhao, T., Wu, N., Song, R., & Li, J. (2017). Role of dopamine projections from ventral tegmental area to nucleus accumbens and medial prefrontal cortex in reinforcement behaviors assessed using optogenetic manipulation. *Metabolic Brain Disease*, 32(5), 1491-1502. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0023-3>
- Hao, Y., Ge, H., Sun, M., & Gao, Y. (2019). Selecting an Appropriate Animal Model of Depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4827. <https://doi.org/10.3390/ijms20194827>
- Harloe, J. P., Thorpe, A. J., & Lichtman, A. H. (2008). Differential endocannabinoid regulation of extinction in appetitive and aversive Barnes maze tasks. *Learning & Memory*, 15(11), 806-809. <https://doi.org/10.1101/lm.1113008>
- Harris, T. B., Visser, M., Everhart, J., Cauley, J., Tylavsky, F., Fuerst, T., Zamboni, M., Taaffe, D., Resnick, H. E., Scherzinger, A., & Nevitt, M. (2000). Waist circumference and sagittal diameter reflect total body fat better than visceral fat in older men and women. The Health, Aging and Body Composition Study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 904, 462-473. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06501.x>
- Harro, J. (2019). Animal models of depression: Pros and cons. *Cell and Tissue Research*, 377(1), 5-20. <https://doi.org/10.1007/s00441-018-2973-0>
- Harsay, H. A., Cohen, M. X., Oosterhof, N. N., Forstmann, B. U., Mars, R. B., & Ridderinkhof, K. R. (2011). Functional Connectivity of the Striatum Links Motivation to Action Control in Humans. *Journal of Neuroscience*, 31(29), 10701-10711. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5415-10.2011>
- Hart, A. S., Rutledge, R. B., Glimcher, P. W., & Phillips, P. E. M. (2014). Phasic Dopamine Release in the Rat Nucleus Accumbens Symmetrically Encodes a Reward Prediction Error Term. *Journal of Neuroscience*, 34(3), 698-704. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2489-13.2014>
- Hatting, M., Tavares, C. D. J., Sharabi, K., Rines, A. K., & Puigserver, P. (2018). Insulin regulation of gluconeogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1411(1), 21-35. <https://doi.org/10.1111/nyas.13435>
- Havrankova, J., Roth, J., & Brownstein, M. (1978). Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature*, 272(5656), 827-829. <https://doi.org/10.1038/272827a0>
- Havrankova, J., Schmechel, D., Roth, J., & Brownstein, M. (1978). Identification of insulin in rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(11), 5737-5741. <https://doi.org/10.1073/pnas.75.11.5737>
- Heimer, L., Zahm, D. S., Churchill, L., Kalivas, P. W., & Wohltmann, C. (1991). Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience*, 41(1), 89-125. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90202-y](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90202-y)

- Heisler, J. M., Morales, J., Donegan, J. J., Jett, J. D., Redus, L., & O'Connor, J. C. (2015). The attentional set shifting task: A measure of cognitive flexibility in mice. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, *96*, 51944. <https://doi.org/10.3791/51944>
- Herbert, B. M., & Pollatos, O. (2018). *The relevance of interoception for eating behavior and eating disorders* (Vol. 1). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198811930.003.0009>
- Herman, M. A., & Samuel, V. T. (2016). The sweet path to metabolic demise: Fructose and lipid synthesis. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, *27*(10), 719-730. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.06.005>
- Hernandez-Lopez, S., Tkatch, T., Perez-Garci, E., Galarraga, E., Bargas, J., Hamm, H., & Surmeier, D. J. (2000). D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca²⁺ currents and excitability via a novel PLC[β]-IP3-calcineurin-signaling cascade. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *20*(24), 8987-8995. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-24-08987.2000>
- Hikida, T., Morita, M., & Macpherson, T. (2016). Neural mechanisms of the nucleus accumbens circuit in reward and aversive learning. *Neuroscience Research*, *108*, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2016.01.004>
- Hirai, S., Miwa, H., Tanaka, T., Toriumi, K., Kunii, Y., Shimbo, H., Sakamoto, T., Hino, M., Izumi, R., Nagaoka, A., Yabe, H., Nakamachi, T., Shioda, S., Dan, T., Miyata, T., Nishito, Y., Suzuki, K., Miyashita, M., Tomoda, T., ... Okado, H. (2021). High-sucrose diets contribute to brain angiopathy with impaired glucose uptake and psychosis-related higher brain dysfunctions in mice. *Science Advances*, *7*(46), eabl6077. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abl6077>
- Holsen, L. M., Hoge, W. S., Lennerz, B. S., Cerit, H., Hye, T., Moondra, P., Goldstein, J. M., Ebbeling, C. B., & Ludwig, D. S. (2021). Diets Varying in Carbohydrate Content Differentially Alter Brain Activity in Homeostatic and Reward Regions in Adults. *The Journal of Nutrition*, *151*(8), 2465-2476. <https://doi.org/10.1093/jn/nxab090>
- Hotamisligil, G. S. (2017). Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*, *542*(7640), 177-185. <https://doi.org/10.1038/nature21363>
- Hotta, K., Funahashi, T., Arita, Y., Takahashi, M., Matsuda, M., Okamoto, Y., Iwahashi, H., Kuriyama, H., Ouchi, N., Maeda, K., Nishida, M., Kihara, S., Sakai, N., Nakajima, T., Hasegawa, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Nakamura, T., Yamashita, S., ... Matsuzawa, Y. (2000). Plasma Concentrations of a Novel, Adipose-Specific Protein, Adiponectin, in Type 2 Diabetic Patients. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *20*(6), 1595-1599. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.20.6.1595>
- Hou, G., Hao, M., Duan, J., & Han, M.-H. (2024). The Formation and Function of the VTA Dopamine System. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(7), 3875. <https://doi.org/10.3390/ijms25073875>

- Huang, E. J., & Reichardt, L. F. (2001). Neurotrophins: Roles in Neuronal Development and Function. *Annual review of neuroscience*, 24, 677-736. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.677>
- Hulsey, M. G., Lu, H., Wang, T., Martin, R. J., & Baile, C. A. (1998). Intracerebroventricular (i.c.v.) administration of mouse leptin in rats: Behavioral specificity and effects on meal patterns. *Physiology & Behavior*, 65(3), 445-455. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(98\)00180-2](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(98)00180-2)
- Hurd, Y. L., & Herkenham, M. (1993). Molecular alterations in the neostriatum of human cocaine addicts. *Synapse*, 13(4), 357-369. <https://doi.org/10.1002/syn.890130408>
- Hwa, J. J., Fawzi, A. B., Graziano, M. P., Ghibaudi, L., Williams, P., Van Heek, M., Davis, H., Rudinski, M., Sybertz, E., & Strader, C. D. (1997). Leptin increases energy expenditure and selectively promotes fat metabolism in ob/ob mice. *The American Journal of Physiology*, 272(4 Pt 2), R1204-1209. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.272.4.R1204>
- Hyman, S. E., Malenka, R. C., & Nestler, E. J. (2006). NEURAL MECHANISMS OF ADDICTION: The Role of Reward-Related Learning and Memory. *Annual Review of Neuroscience*, 29(Volume 29, 2006), 565-598. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.113009>
- Iacobini, C., Vitale, M., Haxhi, J., Menini, S., & Pugliese, G. (2024). Impaired Remodeling of White Adipose Tissue in Obesity and Aging: From Defective Adipogenesis to Adipose Organ Dysfunction. *Cells*, 13(9), 763. <https://doi.org/10.3390/cells13090763>
- Insel, T., Cuthbert, B., Garvey, M., Heinssen, R., Pine, D. S., Quinn, K., Sanislow, C., & Wang, P. (2010). Research domain criteria (RDoC): Toward a new classification framework for research on mental disorders. *The American Journal of Psychiatry*, 167(7), 748-751. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.09091379>
- Ioniță-Mîndrican, C.-B., Ziani, K., Mititelu, M., Oprea, E., Neacșu, S. M., Moroșan, E., Dumitrescu, D.-E., Roșca, A. C., Drăgănescu, D., & Negrei, C. (2022). Therapeutic Benefits and Dietary Restrictions of Fiber Intake: A State of the Art Review. *Nutrients*, 14(13), 2641. <https://doi.org/10.3390/nu14132641>
- Isakoff, S. J., Taha, C., Rose, E., Marcusohn, J., Klip, A., & Skolnik, E. Y. (1995). The inability of phosphatidylinositol 3-kinase activation to stimulate GLUT4 translocation indicates additional signaling pathways are required for insulin-stimulated glucose uptake. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(22), 10247-10251. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.22.10247>
- Jaiswal, N., Gavin, M. G., Quinn, W. J., Luongo, T. S., Gelfer, R. G., Baur, J. A., & Titchenell, P. M. (2019). The role of skeletal muscle Akt in the regulation of muscle mass and glucose homeostasis. *Molecular Metabolism*, 28, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.08.001>
- Jallut, D., Golay, A., Munger, R., Frascarolo, P., Schutz, Y., Jéquier, E., & Felber, J. P. (1990). Impaired glucose tolerance and diabetes in obesity: A 6-year follow-up study of glucose

- metabolism. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 39(10), 1068-1075. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(90\)90168-c](https://doi.org/10.1016/0026-0495(90)90168-c)
- Johnson, A. W. (2018). Characterizing ingestive behavior through licking microstructure: Underlying neurobiology and its use in the study of obesity in animal models. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 64(1), 38-47. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2017.06.012>
- Johnston, J. (1923). Further contributions to the study of the evolution of the forebrain. *Journal of Comparative Neurology*, 35(5), 337-481.
- Johnston, J. B. (1913). The morphology of the septum, hippocampus, and pallial commissures in reptiles and mammals. *Journal of Comparative Neurology*, 23(5), 371-478. <https://doi.org/10.1002/cne.900230502>
- Jones-Tabah, J., Mohammad, H., Paulus, E. G., Clarke, P. B. S., & Hébert, T. E. (2022). The Signaling and Pharmacology of the Dopamine D1 Receptor. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 15, 806618. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.806618>
- Juarez, D., Arteaga, I., Cortes, H., Vazquez-Roque, R., Lopez-Lopez, G., Flores, G., Treviño, S., Guevara, J., & Diaz, A. (2023). Chronic resveratrol administration reduces oxidative stress and brain cell loss and improves memory of recognition in old rats. *Synapse*, 77(4), e22271. <https://doi.org/10.1002/syn.22271>
- Jung, C. H., & Kim, M.-S. (2013). Molecular mechanisms of central leptin resistance in obesity. *Archives of Pharmacal Research*, 36(2), 201-207. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0020-y>
- Juraska, J. M. (2024). The last stage of development: The restructuring and plasticity of the cortex during adolescence especially at puberty. *Developmental Psychobiology*, 66(2), e22468. <https://doi.org/10.1002/dev.22468>
- Juraska, J. M., & Drzewiecki, C. M. (2020). Cortical reorganization during adolescence: What the rat can tell us about the cellular basis. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 45, 100857. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2020.100857>
- Juul, F., Martinez-Steele, E., Parekh, N., & Monteiro, C. A. (2025). The role of ultra-processed food in obesity. *Nature Reviews Endocrinology*. <https://doi.org/10.1038/s41574-025-01143-7>
- Kafkafi, N., Agassi, J., Chesler, E. J., Crabbe, J. C., Crusio, W. E., Eilam, D., Gerlai, R., Golani, I., Gomez-Marin, A., Heller, R., Iraqi, F., Jaljuli, I., Karp, N. A., Morgan, H., Nicholson, G., Pfaff, D. W., Richter, S. H., Stark, P. B., Stiedl, O., ... Benjamini, Y. (2018). Reproducibility and replicability of rodent phenotyping in preclinical studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 87, 218-232. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.01.003>
- Kahler, A., Geary, N., Eckel, L. A., Campfield, L. A., Smith, F. J., & Langhans, W. (1998). Chronic administration of OB protein decreases food intake by selectively reducing meal size in male rats. *The American Journal of Physiology*, 275(1), R180-185. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1998.275.1.R180>

- Kalueff, A. V., Wheaton, M., & Murphy, D. L. (2007). What's wrong with my mouse model? Advances and strategies in animal modeling of anxiety and depression. *Behavioural Brain Research*, *179*(1), 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.01.023>
- Kang, J., Park, M., Oh, C.-M., & Kim, T. (2023). High-fat diet-induced dopaminergic dysregulation induces REM sleep fragmentation and ADHD-like behaviors. *Psychiatry Research*, *327*, 115412. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2023.115412>
- Kappers, C. A., & Theunissen, W. (1908). *Die Phylognese des Rhinencephalons des Corpus striatum und der Vorderhirnkommissuren*. W. Klingkardt.
- Karelis, A. D., St-Pierre, D. H., Conus, F., Rabasa-Lhoret, R., & Poehlman, E. T. (2004). Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: What do we know? *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *89*(6), 2569-2575. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0165>
- Katona, I., & Freund, T. F. (2012). Multiple functions of endocannabinoid signaling in the brain. *Annual Review of Neuroscience*, *35*, 529-558. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150420>
- Katz, R. J. (1982). Animal model of depression: Pharmacological sensitivity of a hedonic deficit. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *16*(6), 965-968. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(82\)90053-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(82)90053-3)
- Kelley, A. E., Baldo, B. A., Pratt, W. E., & Will, M. J. (2005). Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: Integration of energy, action and reward. *Physiology & Behavior*, *86*(5), 773-795. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.066>
- Kelley, A. E., Smith-Roe, S. L., & Holahan, M. R. (1997). Response-reinforcement learning is dependent on N-methyl-d-aspartate receptor activation in the nucleus accumbens core. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *94*(22), 12174-12179. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.22.12174>
- Kelley, A. E., & Swanson, C. J. (1997). Feeding induced by blockade of AMPA and kainate receptors within the ventral striatum: A microinfusion mapping study. *Behavioural Brain Research*, *89*(1-2), 107-113. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(97\)00054-5](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(97)00054-5)
- Kim, K. M., Valenzano, K. J., Robinson, S. R., Yao, W. D., Barak, L. S., & Caron, M. G. (2001). Differential regulation of the dopamine D2 and D3 receptors by G protein-coupled receptor kinases and beta-arrestins. *The Journal of Biological Chemistry*, *276*(40), 37409-37414. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106728200>
- Kim, K.-M. (2023). Unveiling the Differences in Signaling and Regulatory Mechanisms between Dopamine D2 and D3 Receptors and Their Impact on Behavioral Sensitization. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(7), 6742. <https://doi.org/10.3390/ijms24076742>
- Kim, O.-J., Gardner, B. R., Williams, D. B., Marinec, P. S., Cabrera, D. M., Peters, J. D., Mak, C. C., Kim, K.-M., & Sibley, D. R. (2004). The Role of Phosphorylation in D1 Dopamine Receptor Desensitization: EVIDENCE FOR A NOVEL MECHANISM OF

- ARRESTIN ASSOCIATION *. *Journal of Biological Chemistry*, 279(9), 7999-8010. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308281200>
- Kim, S.-J., & Han, Y. (2005). Insulin inhibits AMPA-induced neuronal damage via stimulation of protein kinase B (Akt). *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 112(2), 179-191. <https://doi.org/10.1007/s00702-004-0163-6>
- Kindleysides, S., Beck, K. L., Walsh, D. C. I., Henderson, L., Jayasinghe, S. N., Golding, M., & Breier, B. H. (2017). Fat Sensation: Fatty Acid Taste and Olfaction Sensitivity and the Link with Disinhibited Eating Behaviour. *Nutrients*, 9(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/nu9080879>
- King, G. L., & Johnson, S. M. (1985). Receptor-Mediated Transport of Insulin Across Endothelial Cells. *Science*, 227(4694), 1583-1586. <https://doi.org/10.1126/science.3883490>
- Klenowski, P. M., Shariff, M. R., Belmer, A., Fogarty, M. J., Mu, E. W. H., Bellingham, M. C., & Bartlett, S. E. (2016). Prolonged Consumption of Sucrose in a Binge-Like Manner, Alters the Morphology of Medium Spiny Neurons in the Nucleus Accumbens Shell. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00054>
- Kobayashi, J., Miyashita, K., Nakajima, K., & Mabuchi, H. (2015). Hepatic Lipase: A Comprehensive View of its Role on Plasma Lipid and Lipoprotein Metabolism. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 22(10), 1001-1011. <https://doi.org/10.5551/jat.31617>
- Kohnomi, S., Ebihara, K., & Kobayashi, M. (2017). Suppressive regulation of lateral inhibition between medium spiny neurons via dopamine D1 receptors in the rat nucleus accumbens shell. *Neuroscience Letters*, 636, 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.10.049>
- Kornhauser, J. M., Cowan, C. W., Shaywitz, A. J., Dolmetsch, R. E., Griffith, E. C., Hu, L. S., Haddad, C., Xia, Z., & Greenberg, M. E. (2002). CREB Transcriptional Activity in Neurons Is Regulated by Multiple, Calcium-Specific Phosphorylation Events. *Neuron*, 34(2), 221-233. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00655-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00655-4)
- Kotecha, S. A., Oak, J. N., Jackson, M. F., Perez, Y., Orser, B. A., Van Tol, H. H. M., & MacDonald, J. F. (2002). A D2 class dopamine receptor transactivates a receptor tyrosine kinase to inhibit NMDA receptor transmission. *Neuron*, 35(6), 1111-1122. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00859-0](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00859-0)
- Kravitz, A. V., Tye, L. D., & Kreitzer, A. C. (2012). Distinct roles for direct and indirect pathway striatal neurons in reinforcement. *Nature neuroscience*, 15(6), 816-818. <https://doi.org/10.1038/nn.3100>
- Kubota, N., Yano, W., Kubota, T., Yamauchi, T., Itoh, S., Kumagai, H., Kozono, H., Takamoto, I., Okamoto, S., Shiuchi, T., Suzuki, R., Satoh, H., Tsuchida, A., Moroi, M., Sugi, K., Noda, T., Ebinuma, H., Ueta, Y., Kondo, T., ... Kadowaki, T. (2007). Adiponectin Stimulates AMP-Activated Protein Kinase in the Hypothalamus and Increases Food Intake. *Cell Metabolism*, 6(1), 55-68. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.06.003>

- Kullmann, S., Heni, M., Hallschmid, M., Fritsche, A., Preissl, H., & Häring, H.-U. (2016). Brain Insulin Resistance at the Crossroads of Metabolic and Cognitive Disorders in Humans. *Physiological Reviews*, *96*(4), 1169-1209. <https://doi.org/10.1152/physrev.00032.2015>
- Kumari, P., Srivastava, A., Banerjee, R., Ghosh, E., Gupta, P., Ranjan, R., Chen, X., Gupta, B., Gupta, C., Jaiman, D., & Shukla, A. K. (2016). Functional competence of a partially engaged GPCR- β -arrestin complex. *Nature Communications*, *7*(1), 13416. <https://doi.org/10.1038/ncomms13416>
- Kupchik, Y. M., & Kalivas, P. W. (2017). The Direct and Indirect Pathways of the Nucleus Accumbens are not What You Think. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *42*(1), 369-370. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.160>
- Küspert, M., Hammer, A., Bösl, M. R., & Wegner, M. (2011). Olig2 regulates Sox10 expression in oligodendrocyte precursors through an evolutionary conserved distal enhancer. *Nucleic Acids Research*, *39*(4), 1280-1293. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq951>
- Lafferty, C. K., Yang, A. K., Mendoza, J. A., & Britt, J. P. (2020). Nucleus Accumbens Cell Type- and Input-Specific Suppression of Unproductive Reward Seeking. *Cell Reports*, *30*(11), 3729-3742.e3. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.02.095>
- Lagace, T. A. (2014). PCSK9 and LDLR degradation: Regulatory mechanisms in circulation and in cells. *Current Opinion in Lipidology*, *25*(5), 387-393. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000114>
- Lammel, S., Ion, D. I., Roeper, J., & Malenka, R. C. (2011). Projection-specific modulation of dopamine neuron synapses by aversive and rewarding stimuli. *Neuron*, *70*(5), 855-862. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.03.025>
- Lammel, S., Lim, B. K., Ran, C., Huang, K. W., Betley, M. J., Tye, K. M., Deisseroth, K., & Malenka, R. C. (2012). Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature*, *491*(7423), 212-217. <https://doi.org/10.1038/nature11527>
- Lancaster, C. L., Moberg, K. H., & Corbett, A. H. (2025). Post-Transcriptional Regulation of Gene Expression and the Intricate Life of Eukaryotic mRNAs. *WIREs RNA*, *16*(2), e70007. <https://doi.org/10.1002/wrna.70007>
- Lanciego, J. L., Luquin, N., & Obeso, J. A. (2012). Functional Neuroanatomy of the Basal Ganglia. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *2*(12), a009621. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009621>
- Lane-Donovan, C., Philips, G. T., & Herz, J. (2014). More than Cholesterol Transporters: Lipoprotein Receptors in CNS Function and Neurodegeneration. *Neuron*, *83*(4), 771-787. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.005>
- Lara Aparicio, S. Y., Laureani Fierro, Á. de J., Aranda Abreu, G. E., Toledo Cárdenas, R., García Hernández, L. I., Coria Ávila, G. A., Rojas Durán, F., Aguilar, M. E. H., Manzo Denes, J., Chi-Castañeda, L. D., & Pérez Estudillo, C. A. (2022). Current Opinion on the Use of c-Fos in Neuroscience. *NeuroSci*, *3*(4), 687-702. <https://doi.org/10.3390/neurosci3040050>

- Lardner, C. K., van der Zee, Y., Estill, M. S., Kronman, H. G., Salery, M., Cunningham, A. M., Godino, A., Parise, E. M., Kim, J. H., Neve, R. L., Shen, L., Hamilton, P. J., & Nestler, E. J. (2021). Gene-targeted, CREB-mediated induction of Δ FosB controls distinct downstream transcriptional patterns within D1 and D2 medium spiny neurons. *Biological psychiatry*, *90*(8), 540-549. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2021.06.017>
- Lavie, C. J., De Schutter, A., & Milani, R. V. (2015). Healthy obese versus unhealthy lean: The obesity paradox. *Nature Reviews Endocrinology*, *11*(1), 55-62. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.165>
- Lee, H. J., Weitz, A. J., Bernal-Casas, D., Duffy, B. A., Choy, M., Kravitz, A. V., Kreitzer, A. C., & Lee, J. H. (2016). Activation of direct and indirect pathway medium spiny neurons drives distinct brain-wide responses. *Neuron*, *91*(2), 412-424. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.010>
- Lee, J., Miyazaki, M., Romeo, G. R., & Shoelson, S. E. (2014). Insulin Receptor Activation with Transmembrane Domain Ligands. *The Journal of Biological Chemistry*, *289*(28), 19769-19777. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.578641>
- Lee, Y., Berglund, E. D., Wang, M., Fu, X., Yu, X., Charron, M. J., Burgess, S. C., & Unger, R. H. (2012). Metabolic manifestations of insulin deficiency do not occur without glucagon action. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(37), 14972-14976. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205983109>
- LeGates, T. A., Kvarta, M. D., Tooley, J. R., Francis, T. C., Lobo, M. K., Creed, M. C., & Thompson, S. M. (2018). Reward behavior is regulated by the strength of hippocampus-nucleus accumbens synapses. *Nature*, *564*(7735), 258-262. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0740-8>
- Leloup, C., Arluison, M., Kassis, N., Lepetit, N., Cartier, N., Ferré, P., & Pénicaud, L. (1996). Discrete brain areas express the insulin-responsive glucose transporter GLUT4. *Molecular Brain Research*, *38*(1), 45-53. [https://doi.org/10.1016/0169-328X\(95\)00306-D](https://doi.org/10.1016/0169-328X(95)00306-D)
- Lema-Perez, L., Herrón-Bedoya, A., Paredes-Ángel, V., Hernández-Arango, A., Builes-Montaña, C. E., & Alvarez, H. (2023). Estimation of glucose rate of appearance in portal vein circulation using a phenomenological-based model. *PLOS ONE*, *18*(5), e0285849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285849>
- Lennerz, B. S., Alsop, D. C., Holsen, L. M., Stern, E., Rojas, R., Ebbeling, C. B., Goldstein, J. M., & Ludwig, D. S. (2013). Effects of dietary glycemic index on brain regions related to reward and craving in men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *98*(3), 641-647. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.064113>
- Leutner, M., Dervic, E., Bellach, L., Klimek, P., Thurner, S., & Kautzky, A. (2023). Obesity as pleiotropic risk state for metabolic and mental health throughout life. *Translational Psychiatry*, *13*, 175. <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02447-w>
- Levine, A. A., Guan, Z., Barco, A., Xu, S., Kandel, E. R., & Schwartz, J. H. (2005). CREB-binding protein controls response to cocaine by acetylating histones at the fosB promoter

- in the mouse striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(52), 19186-19191. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509735102>
- Lewis, R. G., Florio, E., Punzo, D., & Borrelli, E. (2021). The Brain's Reward System in Health and Disease. *Advances in experimental medicine and biology*, 1344, 57-69. https://doi.org/10.1007/978-3-030-81147-1_4
- Li, C., Hu, Y., Li, S., Yi, X., Shao, S., Yu, W., & Li, E. (2023). Biological factors controlling starch digestibility in human digestive system. *Food Science and Human Wellness*, 12(2), 351-358. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.07.037>
- Li, H., Lu, Y., Smith, H. K., & Richardson, W. D. (2007). Olig1 and Sox10 Interact Synergistically to Drive Myelin Basic Protein Transcription in Oligodendrocytes. *Journal of Neuroscience*, 27(52), 14375-14382. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4456-07.2007>
- Li, J., Guo, Y., Li, Q., Miao, K., Wang, C., Zhang, D., Tian, C., & Zhang, S. (2019). Presence of White Matter Lesions Associated with Diabetes-Associated Cognitive Decline in Male Rat Models of Pre-Type 2 Diabetes. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 25, 9679-9689. <https://doi.org/10.12659/MSM.918557>
- Li, M., Chi, X., Wang, Y., Setrerrahmane, S., Xie, W., & Xu, H. (2022). Trends in insulin resistance: Insights into mechanisms and therapeutic strategy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 216. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01073-0>
- Li, Y., Kolb, B., & Robinson, T. E. (2003). The Location of Persistent Amphetamine-Induced Changes in the Density of Dendritic Spines on Medium Spiny Neurons in the Nucleus Accumbens and Caudate-Putamen. *Neuropsychopharmacology*, 28(6), 1082-1085. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300115>
- Liu, G. Y., & Sabatini, D. M. (2020). mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(4), 183-203. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0199-y>
- Liu, W. W., & Bohórquez, D. V. (2022). The neural basis of sugar preference. *Nature Reviews Neuroscience*, 23(10), 584-595. <https://doi.org/10.1038/s41583-022-00613-5>
- Liu, Y.-S., Wu, Q.-J., Xia, Y., Zhang, J.-Y., Jiang, Y.-T., Chang, Q., & Zhao, Y.-H. (2019). Carbohydrate intake and risk of metabolic syndrome: A dose-response meta-analysis of observational studies. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 29(12), 1288-1298. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.09.003>
- Lo, C. H., & Zeng, J. (2025). TNF as a mediator of metabolic inflammation and body-brain interaction in obesity-driven neuroinflammation and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*, 112, 102891. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2025.102891>
- Lobo, M. K., Covington, H. E., Chaudhury, D., Friedman, A. K., Sun, H., Damez-Werno, D., Dietz, D. M., Zaman, S., Koo, J. W., Kennedy, P. J., Mouzon, E., Mogri, M., Neve, R. L., Deisseroth, K., Han, M.-H., & Nestler, E. J. (2010). Cell type-specific loss of BDNF

- signaling mimics optogenetic control of cocaine reward. *Science (New York, N.Y.)*, 330(6002), 385-390. <https://doi.org/10.1126/science.1188472>
- Lobo, M. K., Zaman, S., Damez-Werno, D. M., Koo, J. W., Bagot, R. C., DiNieri, J. A., Nugent, A., Finkel, E., Chaudhury, D., Chandra, R., Riberio, E., Rabkin, J., Mouzon, E., Cachope, R., Cheer, J. F., Han, M.-H., Dietz, D. M., Self, D. W., Hurd, Y. L., ... Nestler, E. J. (2013). Δ FosB Induction in Striatal Medium Spiny Neuron Subtypes in Response to Chronic Pharmacological, Emotional, and Optogenetic Stimuli. *The Journal of Neuroscience*, 33(47), 18381-18395. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1875-13.2013>
- Lotta, L. A., Gulati, P., Day, F. R., Payne, F., Ongen, H., van de Bunt, M., Gaulton, K. J., Eicher, J. D., Sharp, S. J., Luan, J., De Lucia Rolfe, E., Stewart, I. D., Wheeler, E., Willems, S. M., Adams, C., Yaghootkar, H., EPIC-InterAct Consortium, Cambridge FPLD1 Consortium, Forouhi, N. G., ... Scott, R. A. (2017). Integrative genomic analysis implicates limited peripheral adipose storage capacity in the pathogenesis of human insulin resistance. *Nature Genetics*, 49(1), 17-26. <https://doi.org/10.1038/ng.3714>
- Lüscher, C., & Malenka, R. C. (2011). Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: From molecular changes to circuit remodeling. *Neuron*, 69(4), 650-663. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.01.017>
- Lyn-Cook Jr., L. E., Lawton, M., Tong, M., Silbermann, E., Longato, L., Jiao, P., Mark, P., Wands, J. R., Xu, H., & de la Monte, S. M. (2009). Hepatic Ceramide May Mediate Brain Insulin Resistance and Neurodegeneration in Type 2 Diabetes and Non-alcoholic Steatohepatitis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 16(4), 715-729. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-0984>
- Ma, Y.-Y., Lee, B. R., Wang, X., Guo, C., Liu, L., Cui, R., Lan, Y., Balcita-Pedicino, J. J., Wolf, M. E., Sesack, S. R., Shaham, Y., Schlüter, O. M., Huang, Y. H., & Dong, Y. (2014). Bi-directional modulation of incubation of cocaine craving by silent synapse-based remodeling of prefrontal cortex to accumbens projections. *Neuron*, 83(6), 1453-1467. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.023>
- Machado, P. (2019). *Ultra-processed foods, diet quality, and health using the NOVA classification system*.
- Manzoor, N., Samad, N., Bhatti, S. A., Irfan, A., Ahmad, S., Shazly, G. A., & Bin Jordan, Y. A. (2024). Neuroprotective effect of niacin in a rat model of obesity induced by high-fat-rich diet. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1007/s00210-024-03687-3>
- Marcellino, D., Kehr, J., Agnati, L. F., & Fuxe, K. (2012). Increased affinity of dopamine for D2-like versus D1-like receptors. Relevance for volume transmission in interpreting PET findings. *Synapse*, 66(3), 196-203. <https://doi.org/10.1002/syn.21501>
- Marchette, R. C. N., Vendruscolo, L. F., & Koob, G. F. (2025). The Dynorphin/Opioid Receptor System at the Interface of Hyperalgesia/Hyperkatifeia and Addiction. *Current Addiction Reports*, 12(1), 11. <https://doi.org/10.1007/s40429-025-00618-x>

- Martínez-González, M. Á., & Martín-Calvo, N. (2013). The major European dietary patterns and metabolic syndrome. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, *14*(3), 265-271. <https://doi.org/10.1007/s11154-013-9264-6>
- Massa, L., Baltrusch, S., Okar, D. A., Lange, A. J., Lenzen, S., & Tiedge, M. (2004). Interaction of 6-Phosphofructo-2-Kinase/Fructose-2,6-Bisphosphatase (PFK-2/FBPase-2) With Glucokinase Activates Glucose Phosphorylation and Glucose Metabolism in Insulin-Producing Cells. *Diabetes*, *53*(4), 1020-1029. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.4.1020>
- Mateo, Y., Johnson, K. A., Covey, D. P., Atwood, B. K., Wang, H.-L., Zhang, S., Gildish, I., Cachope, R., Bellocchio, L., Guzmán, M., Morales, M., Cheer, J. F., & Lovinger, D. M. (2017). Endocannabinoid Actions on Cortical Terminals Orchestrate Local Modulation of Dopamine Release in the Nucleus Accumbens. *Neuron*, *96*(5), 1112-1126.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.11.012>
- Matikainen-Ankney, B. A., Legaria, A. A., Pan, Y., Vachez, Y. M., Murphy, C. A., Schaefer, R. F., McGrath, Q. J., Wang, J. G., Bluitt, M. N., Ankney, K. C., Norris, A. J., Creed, M. C., & Kravitz, A. V. (2023). Nucleus Accumbens D1 Receptor-Expressing Spiny Projection Neurons Control Food Motivation and Obesity. *Biological Psychiatry*, *93*(6), 512-523. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2022.10.003>
- McClung, C. A., & Nestler, E. J. (2003). Regulation of gene expression and cocaine reward by CREB and DeltaFosB. *Nature Neuroscience*, *6*(11), 1208-1215. <https://doi.org/10.1038/nn1143>
- McDevitt, D. S., & Graziane, N. M. (2018). Neuronal mechanisms mediating pathological reward-related behaviors: A focus on silent synapses in the nucleus accumbens. *Pharmacological Research*, *136*, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.08.025>
- McDoogle, M., Araujo, A. de, Singh, A., Yang, M., Braga, I., Paille, V., Mendez-Hernandez, R., Vergara, M., Woodie, L. N., Gour, A., Sharma, A., Urs, N., Warren, B., & Lartigue, G. de. (2024). Separate gut-brain circuits for fat and sugar reinforcement combine to promote overeating. *Cell Metabolism*, *36*(2), 393-407.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.12.014>
- McGlinchey, E. M., James, M. H., Mahler, S. V., Pantazis, C., & Aston-Jones, G. (2016). Prelimbic to Accumbens Core Pathway Is Recruited in a Dopamine-Dependent Manner to Drive Cued Reinstatement of Cocaine Seeking. *Journal of Neuroscience*, *36*(33), 8700-8711. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1291-15.2016>
- McKittrick, C. R., & Abercrombie, E. D. (2007). Catecholamine mapping within nucleus accumbens: Differences in basal and amphetamine-stimulated efflux of norepinephrine and dopamine in shell and core. *Journal of Neurochemistry*, *100*(5), 1247-1256. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04300.x>
- McLachlan, C., Shelton, R., & Li, L. (2023). Obesity, inflammation, and depression in adolescents. *Frontiers in Psychiatry*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1221709>

- McPherson, C. S., & Lawrence, A. J. (2007). The Nuclear Transcription Factor CREB: Involvement in Addiction, Deletion Models and Looking Forward. *Current Neuropharmacology*, 5(3), 202-212. <https://doi.org/10.2174/157015907781695937>
- Meredith, G. E. (1999). The Synaptic Framework for Chemical Signaling in Nucleus Accumbens. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877(1), 140-156. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09266.x>
- Milstein, J. L., & Ferris, H. A. (2021). The brain as an insulin-sensitive metabolic organ. *Molecular Metabolism*, 52, 101234. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101234>
- Min, C., Zheng, M., Zhang, X., Caron, M. G., & Kim, K. M. (2013). Novel roles for β -arrestins in the regulation of pharmacological sequestration to predict agonist-induced desensitization of dopamine D receptors. *British Journal of Pharmacology*, 170(5), 1112-1129. <https://doi.org/10.1111/bph.12357>
- Mishra, D., Zhang, X., & Chergui, K. (2012). Ethanol Disrupts the Mechanisms of Induction of Long-Term Potentiation in the Mouse Nucleus Accumbens. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 36(12), 2117-2125. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2012.01824.x>
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews*, 78(1), 189-225. <https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.1.189>
- Mistry, A. M., Swick, A. G., & Romsos, D. R. (1997). Leptin rapidly lowers food intake and elevates metabolic rates in lean and ob/ob mice. *The Journal of Nutrition*, 127(10), 2065-2072. <https://doi.org/10.1093/jn/127.10.2065>
- Mogenson, G. J., & Nielsen, M. (1984). A study of the contribution of hippocampal—Accumbens—Subpallidal projections to locomotor activity. *Behavioral and Neural Biology*, 42(1), 38-51. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(84\)90412-6](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(84)90412-6)
- Mohamed, S. M., Shalaby, M. A., El-Shiekh, R. A., El-Banna, H. A., Emam, S. R., & Bakr, A. F. (2023). Metabolic syndrome: Risk factors, diagnosis, pathogenesis, and management with natural approaches. *Food Chemistry Advances*, 3, 100335. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100335>
- Mohebi, A., Pettibone, J. R., Hamid, A. A., Wong, J.-M. T., Vinson, L. T., Patriarchi, T., Tian, L., Kennedy, R. T., & Berke, J. D. (2019). Dissociable dopamine dynamics for learning and motivation. *Nature*, 570(7759), 65-70. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1235-y>
- Moloney, A. M., Griffin, R. J., Timmons, S., O'Connor, R., Ravid, R., & O'Neill, C. (2010). Defects in IGF-1 receptor, insulin receptor and IRS-1/2 in Alzheimer's disease indicate possible resistance to IGF-1 and insulin signalling. *Neurobiology of Aging*, 31(2), 224-243. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.04.002>
- Monteiro, C. A., Cannon, G., Levy, R. B., Moubarac, J.-C., Louzada, M. L., Rauber, F., Khandpur, N., Cediel, G., Neri, D., Martinez-Steele, E., Baraldi, L. G., & Jaime, P. C. (2019). Ultra-processed foods: What they are and how to identify them. *Public Health Nutrition*, 22(5), 936-941. <https://doi.org/10.1017/S1368980018003762>

- Montmayeur, J. P., & Borrelli, E. (1991). Transcription mediated by a cAMP-responsive promoter element is reduced upon activation of dopamine D2 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(8), 3135-3139. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.8.3135>
- Moore, M. C., Satake, S., Lautz, M., Soleimanpour, S. A., Neal, D. W., Smith, M., & Cherrington, A. D. (2004). Nonesterified Fatty Acids and Hepatic Glucose Metabolism in the Conscious Dog. *Diabetes*, 53(1), 32-40. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.1.32>
- Moreno-Fernández, S., Garcés-Rimón, M., Vera, G., Astier, J., Landrier, J. F., & Miguel, M. (2018). High Fat/High Glucose Diet Induces Metabolic Syndrome in an Experimental Rat Model. *Nutrients*, 10(10), 1502. <https://doi.org/10.3390/nu10101502>
- Morgan, J. I., & Curran, T. (1995). Immediate-early genes: Ten years on. *Trends in Neurosciences*, 18(2), 66-67.
- Moritz, A. E., Madaras, N. S., Rankin, M. L., Inbody, L. R., & Sibley, D. R. (2023). Delineation of G Protein-Coupled Receptor Kinase Phosphorylation Sites within the D1 Dopamine Receptor and Their Roles in Modulating β -Arrestin Binding and Activation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6599. <https://doi.org/10.3390/ijms24076599>
- Moszczynski, A. J., Volkening, K., & Strong, M. J. (2020). Neurofilament Immunohistochemistry Followed by Luxol Fast Blue, for Staining Axons and Myelin in the Same Paraffin Section of Spinal Cord. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology: AIMM*, 28(7), 562-565. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000814>
- Moulton, C. D., Pickup, J. C., & Ismail, K. (2015). The link between depression and diabetes: The search for shared mechanisms. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 3(6), 461-471. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(15\)00134-5](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(15)00134-5)
- Muddapu, V. R., Dharshini, S. A. P., Chakravarthy, V. S., & Gromiha, M. M. (2020). Neurodegenerative Diseases – Is Metabolic Deficiency the Root Cause? *Frontiers in Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00213>
- Murakami, T., Michelagnoli, S., Longhi, R., Gianfranceschi, G., Pazzucconi, F., Calabresi, L., Sirtori, C. R., & Franceschini, G. (1995). Triglycerides are major determinants of cholesterol esterification/transfer and HDL remodeling in human plasma. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 15(11), 1819-1828. <https://doi.org/10.1161/01.atv.15.11.1819>
- Myers, M. G., Affinati, A. H., Richardson, N., & Schwartz, M. W. (2021). Central nervous system regulation of organismal energy and glucose homeostasis. *Nature Metabolism*, 3(6), 737-750. <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00408-5>
- Namkung, Y., Dipace, C., Javitch, J. A., & Sibley, D. R. (2009). G Protein-coupled Receptor Kinase-mediated Phosphorylation Regulates Post-endocytic Trafficking of the D2 Dopamine Receptor *. *Journal of Biological Chemistry*, 284(22), 15038-15051. <https://doi.org/10.1074/jbc.M900388200>

- Namkung, Y., & Sibley, D. R. (2004). Protein Kinase C Mediates Phosphorylation, Desensitization, and Trafficking of the D2 Dopamine Receptor *. *Journal of Biological Chemistry*, 279(47), 49533-49541. <https://doi.org/10.1074/jbc.M408319200>
- Naneix, F., Darlot, F., Coutureau, E., & Cador, M. (2016). Long-lasting deficits in hedonic and nucleus accumbens reactivity to sweet rewards by sugar overconsumption during adolescence. *European Journal of Neuroscience*, 43(5), 671-680. <https://doi.org/10.1111/ejn.13149>
- Narayanaswami, V., Thompson, A. C., Cassis, L. A., Bardo, M. T., & Dwoskin, L. P. (2013). Diet-induced obesity: Dopamine transporter function, impulsivity and motivation. *International Journal of Obesity*, 37(8), 1095-1103. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.178>
- 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), 1-22. <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00563-5>
- Nestler, E. J. (2015). Δ FosB: A transcriptional regulator of stress and antidepressant responses. *European Journal of Pharmacology*, 753, 66-72. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.10.034>
- Nestler, E. J., Barrot, M., & Self, D. W. (2001). Δ FosB: A sustained molecular switch for addiction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(20), 11042-11046. <https://doi.org/10.1073/pnas.191352698>
- Nestler, E. J., Kelz, M. B., & Chen, J. (1999). DeltaFosB: A molecular mediator of long-term neural and behavioral plasticity. *Brain Research*, 835(1), 10-17. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)01191-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)01191-3)
- Neto, L. L., Oliveira, E., Correia, F., & Ferreira, A. G. (2008). The human nucleus accumbens: Where is it? A stereotactic, anatomical and magnetic resonance imaging study. *Neuromodulation: Journal of the International Neuromodulation Society*, 11(1), 13-22. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1403.2007.00138.x>
- Neve, K. A., Seamans, J. K., & Trantham-Davidson, H. (2004). Dopamine Receptor Signaling. *Journal of Receptors and Signal Transduction*. <https://doi.org/10.1081/RRS-200029981>
- Nguyen, T. T., Ta, Q. T. H., Nguyen, T. T. D., Le, T. T., & Vo, V. G. (2020). Role of Insulin Resistance in the Alzheimer's Disease Progression. *Neurochemical Research*, 45(7), 1481-1491. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03031-0>
- Nieman, D. C., Henson, D. A., Nehlsen-Cannarella, S. L., Ekkens, M., Utter, A. C., Butterworth, D. E., & Fagoaga, O. R. (1999). Influence of Obesity on Immune Function. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(3), 294-299. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(99\)00077-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(99)00077-2)
- Nishi, A., Bibb, J. A., Matsuyama, S., Hamada, M., Higashi, H., Nairn, A. C., & Greengard, P. (2002). Regulation of DARPP-32 dephosphorylation at PKA- and Cdk5-sites by NMDA and AMPA receptors: Distinct roles of calcineurin and protein phosphatase-2A. *Journal of Neurochemistry*, 81(4), 832-841. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.00876.x>

- Nishi, A., Kuroiwa, M., & Shuto, T. (2011). Mechanisms for the Modulation of Dopamine D1 Receptor Signaling in Striatal Neurons. *Frontiers in Neuroanatomy*, 5. <https://doi.org/10.3389/fnana.2011.00043>
- Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Eto, K., Yamashita, H., Ohsugi, M., Otsu, M., Hara, K., Ueki, K., Sugiura, S., Yoshimura, K., Kadowaki, T., & Nagai, R. (2009). CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nature Medicine*, 15(8), 914-920. <https://doi.org/10.1038/nm.1964>
- Noronha, S. S. R., Lima, P. M., Campos, G. S. V., Chirico, M. T. T., Abreu, A. R., Figueiredo, A. B., Silva, F. C. S., Chianca, D. A., Lowry, C. A., & De Menezes, R. C. A. (2019). Association of high-fat diet with neuroinflammation, anxiety-like defensive behavioral responses, and altered thermoregulatory responses in male rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 80, 500-511. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.04.030>
- 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>
- Nouwen, A., Winkley, K., Twisk, J., Lloyd, C. E., Peyrot, M., Ismail, K., & Pouwer, F. (2010). Type 2 diabetes mellitus as a risk factor for the onset of depression: A systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*, 53(12), 2480-2486. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1874-x>
- Nuttall, F. Q. (2015). Body Mass Index: Obesity, BMI, and Health: A Critical Review. *Nutrition Today*, 50(3), 117-128. <https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000092>
- O'Connor, E. C., Kremer, Y., Lefort, S., Harada, M., Pascoli, V., Rohner, C., & Lüscher, C. (2015). Accumbal D1R Neurons Projecting to Lateral Hypothalamus Authorize Feeding. *Neuron*, 88(3), 553-564. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.038>
- Oginsky, M. F., & Ferrario, C. R. (2019). Eating “junk food” has opposite effects on intrinsic excitability of nucleus accumbens core neurons in obesity-susceptible versus -resistant rats. *Journal of Neurophysiology*, 122(3), 1264-1273. <https://doi.org/10.1152/jn.00361.2019>
- Oleson, E. B., Gentry, R. N., Chioma, V. C., & Cheer, J. F. (2012). Subsecond Dopamine Release in the Nucleus Accumbens Predicts Conditioned Punishment and Its Successful Avoidance. *Journal of Neuroscience*, 32(42), 14804-14808. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3087-12.2012>
- Omelchenko, N., & Sesack, S. R. (2009). Ultrastructural analysis of local collaterals of rat ventral tegmental area neurons: GABA phenotype and synapses onto dopamine and GABA cells. *Synapse*, 63(10), 895-906. <https://doi.org/10.1002/syn.20668>
- O'Neill, C. E., LeTendre, M. L., & Bachtell, R. K. (2012). Adenosine A2A receptors in the nucleus accumbens bi-directionally alter cocaine seeking in rats. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(5), 1245-1256. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.312>

- Oorschot, D. E. (2013). The percentage of interneurons in the dorsal striatum of the rat, cat, monkey and human: A critique of the evidence. *Basal Ganglia*, 3(1), 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.baga.2012.11.001>
- Oriol, L., Chao, M., Kollman, G. J., Dowlat, D. S., Singhal, S. M., Steinkellner, T., & Hnasko, T. S. (2025). Ventral tegmental area interneurons revisited: GABA and glutamate projection neurons make local synapses. *eLife*, 13, RP100085. <https://doi.org/10.7554/eLife.100085>
- Otis, J. M., Namboodiri, V. M., Matan, A. M., Voets, E. S., Mohorn, E. P., Kosyk, O., McHenry, J. A., Robinson, J. E., Resendez, S. L., Rossi, M. A., & others. (2017). Prefrontal cortex output circuits guide reward seeking through divergent cue encoding. *Nature*, 543(7643), 103-107.
- Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T., & Matsuzawa, Y. (1999). Novel modulator for endothelial adhesion molecules: Adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*, 100(25), 2473-2476. <https://doi.org/10.1161/01.cir.100.25.2473>
- Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Nishida, M., Matsuyama, A., Okamoto, Y., Ishigami, M., Kuriyama, H., Kishida, K., Nishizawa, H., Hotta, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Yamashita, S., Funahashi, T., & Matsuzawa, Y. (2001). Adipocyte-Derived Plasma Protein, Adiponectin, Suppresses Lipid Accumulation and Class A Scavenger Receptor Expression in Human Monocyte-Derived Macrophages. *Circulation*. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.103.8.1057>
- Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Okamoto, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T., & Matsuzawa, Y. (2000). Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*, 102(11), 1296-1301. <https://doi.org/10.1161/01.cir.102.11.1296>
- Pascoli, V., Terrier, J., Espallergues, J., Valjent, E., O'Connor, E. C., & Lüscher, C. (2014). Contrasting forms of cocaine-evoked plasticity control components of relapse. *Nature*, 509(7501), 459-464. <https://doi.org/10.1038/nature13257>
- Patel, J. C., Carr, K. D., & Rice, M. E. (2023). Actions and Consequences of Insulin in the Striatum. *Biomolecules*, 13(3), 518. <https://doi.org/10.3390/biom13030518>
- Patel, S., Roberts, J., Moorman, J., & Reavill, C. (1995). Localization of serotonin-4 receptors in the striatonigral pathway in rat brain. *Neuroscience*, 69(4), 1159-1167. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00314-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00314-9)
- Patkar, O. L., Mohamed, A. Z., Narayanan, A., Mardon, K., Cowin, G., Bhalla, R., Stimson, D. H. R., Kassiou, M., Beecher, K., Belmer, A., Alvarez Cooper, I., Morgan, M., Hume, D. A., Irvine, K. M., Bartlett, S. E., Nasrallah, F., & Cumming, P. (2021). A binge high sucrose diet provokes systemic and cerebral inflammation in rats without inducing obesity. *Scientific Reports*, 11, 11252. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90817-z>

- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Elsevier. <https://books.google.com.mx/books?id=Tp5QIAEACAAJ>
- Peciña, S., & Berridge, K. C. (2005). Hedonic Hot Spot in Nucleus Accumbens Shell: Where Do μ -Opioids Cause Increased Hedonic Impact of Sweetness? *Journal of Neuroscience*, 25(50), 11777-11786. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2329-05.2005>
- Penninx, B. W. J. H., & Lange, S. M. M. (2018). Metabolic syndrome in psychiatric patients: Overview, mechanisms, and implications. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 20(1), 63-73.
- Perakakis, N., Farr, O. M., & Mantzoros, C. S. (2021). Leptin in Leanness and Obesity. *JACC*, 77(6), 745-760. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.069>
- Perry, R. J., Camporez, J.-P. G., Kursawe, R., Titchenell, P. M., Zhang, D., Perry, C. J., Jurczak, M. J., Abudukadier, A., Han, M. S., Zhang, X.-M., Ruan, H.-B., Yang, X., Caprio, S., Kaech, S. M., Sul, H. S., Birnbaum, M. J., Davis, R. J., Cline, G. W., Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2015). Hepatic Acetyl CoA Links Adipose Tissue Inflammation to Hepatic Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Cell*, 160(4), 745-758. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.012>
- Petersen, K. F., Dufour, S., Savage, D. B., Bilz, S., Solomon, G., Yonemitsu, S., Cline, G. W., Befroy, D., Zeman, L., Kahn, B. B., Papademetris, X., Rothman, D. L., & Shulman, G. I. (2007). The role of skeletal muscle insulin resistance in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(31), 12587-12594. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705408104>
- Petersen, M. C., Smith, G. I., Palacios, H. H., Farabi, S. S., Yoshino, M., Yoshino, J., Cho, K., Davila-Roman, V. G., Shankaran, M., Barve, R. A., Yu, J., Stern, J. H., Patterson, B. W., Hellerstein, M. K., Shulman, G. I., Patti, G. J., & Klein, S. (2024). Cardiometabolic characteristics of people with metabolically healthy and unhealthy obesity. *Cell Metabolism*, 36(4), 745-761.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.03.002>
- Pickel, V. M., Chan, J., Kearn, C. S., & Mackie, K. (2006). Targeting dopamine D2 and cannabinoid-1 (CB1) receptors in rat nucleus accumbens. *The Journal of Comparative Neurology*, 495(3), 299-313. <https://doi.org/10.1002/cne.20881>
- Planchez, B., Surget, A., & Belzung, C. (2019). Animal models of major depression: Drawbacks and challenges. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 126(11), 1383-1408. <https://doi.org/10.1007/s00702-019-02084-y>
- Plemel, J. R., Caprariello, A. V., Keough, M. B., Henry, T. J., Tsutsui, S., Chu, T. H., Schenk, G. J., Klaver, R., Yong, V. W., & Stys, P. K. (2017). Unique spectral signatures of the nucleic acid dye acridine orange can distinguish cell death by apoptosis and necroptosis. *Journal of Cell Biology*, 216(4), 1163-1181. <https://doi.org/10.1083/jcb.201602028>
- Pliakas, A. M., Carlson, R. R., Neve, R. L., Konradi, C., Nestler, E. J., & Carlezon, W. A. (2001). Altered Responsiveness to Cocaine and Increased Immobility in the Forced Swim Test Associated with Elevated cAMP Response Element-Binding Protein

- Expression in Nucleus Accumbens. *Journal of Neuroscience*, 21(18), 7397-7403. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-18-07397.2001>
- Polimeni, L., Baratta, F., Pastori, D., Ben, M. D., & Angelico, F. (2017). Visceral fat evaluated by ultrasound is associated with insulin resistance and liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 27(1), e32. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2016.11.089>
- Porsolt, R. D., Le Pichon, M., & Jalfre, M. (1977). Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730-732. <https://doi.org/10.1038/266730a0>
- Porter, A. G., & Jänicke, R. U. (1999). Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death & Differentiation*, 6(2), 99-104. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400476>
- Postic, C., Dentin, R., Denechaud, P.-D., & Girard, J. (2007). ChREBP, a Transcriptional Regulator of Glucose and Lipid Metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 27([Volume 27, 2007, Volume 27,]), 179-192. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093618>
- Primo, M. J., Fonseca-Rodrigues, D., Almeida, A., Teixeira, P. M., & Pinto-Ribeiro, F. (2023). Sucrose preference test: A systematic review of protocols for the assessment of anhedonia in rodents. *European Neuropsychopharmacology*, 77, 80-92. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2023.08.496>
- Raison, C. L., Capuron, L., & Miller, A. H. (2006). Cytokines sing the blues: Inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends in Immunology*, 27(1), 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.11.006>
- Raizada, M. K. (1983). Localization of insulin-like immunoreactivity in the neurons from primary cultures of rat brain. *Experimental Cell Research*, 143(2), 351-357. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(83\)90061-7](https://doi.org/10.1016/0014-4827(83)90061-7)
- Rankin, M. L., & Sibley, D. R. (2010). Constitutive phosphorylation by protein kinase C regulates D1 dopamine receptor signaling. *Journal of Neurochemistry*, 115(6), 1655-1667. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07074.x>
- Rauggi, R., Scheggi, S., Cassanelli, A., De Montis, M. G., Tagliamonte, A., & Gambarana, C. (2005). The mesolimbic dopaminergic response to novel palatable food consumption increases dopamine-D1 receptor-mediated signalling with complex modifications of the DARPP-32 phosphorylation pattern. *Journal of Neurochemistry*, 92(4), 867-877. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02920.x>
- Rebrin, K., Steil, G. M., Mittelman, S. D., & Bergman, R. N. (1996). Causal linkage between insulin suppression of lipolysis and suppression of liver glucose output in dogs. *Journal of Clinical Investigation*, 98(3), 741-749. <https://doi.org/10.1172/JCI118846>
- Reed, S. J., Lafferty, C. K., Mendoza, J. A., Yang, A. K., Davidson, T. J., Grosenick, L., Deisseroth, K., & Britt, J. P. (2018). Coordinated Reductions in Excitatory Input to the Nucleus Accumbens Underlie Food Consumption. *Neuron*, 99(6), 1260-1273.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.051>

- Reilly, S. (2018). Taste neophobia: Neural substrates and palatability. En *Food Neophobia* (pp. 77-109). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101931-3.00005-7>
- Reimann, F., & Gribble, F. M. (2016). Mechanisms underlying glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 secretion. *Journal of Diabetes Investigation*, 7(Suppl 1), 13-19. <https://doi.org/10.1111/jdi.12478>
- Ren, X., Ferreira, J. G., Zhou, L., Shammah-Lagnado, S. J., Yeckel, C. W., & de Araujo, I. E. (2010). Nutrient selection in the absence of taste receptor signaling. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(23), 8012-8023. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5749-09.2010>
- Rex, E. B., Rankin, M. L., Ariano, M. A., & Sibley, D. R. (2008). Ethanol Regulation of D1 Dopamine Receptor Signaling is Mediated by Protein Kinase C in an Isozyme-Specific Manner. *Neuropsychopharmacology*, 33(12), 2900-2911. <https://doi.org/10.1038/npp.2008.16>
- Reyes-Barrera, J., Sainz-Escárrega, V. H., Medina-Urritia, A. X., Jorge-Galarza, E., Osorio-Alonso, H., Torres-Tamayo, M., Leal-Escobar, G., Posadas-Romero, C., Torre-Villalvazo, I., & Juárez-Rojas, J. G. (2021). Dysfunctional adiposity index as a marker of adipose tissue morpho-functional abnormalities and metabolic disorders in apparently healthy subjects. *Adipocyte*, 10(1), 142-152. <https://doi.org/10.1080/21623945.2021.1893452>
- Rhea, E. M., Banks, W. A., & Raber, J. (2022). Insulin Resistance in Peripheral Tissues and the Brain: A Tale of Two Sites. *Biomedicines*, 10(7), 1582. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10071582>
- Roberts-Wolfe, D., Bobadilla, A.-C., Heinsbroek, J. A., Neuhofer, D., & Kalivas, P. W. (2018). Drug Refraining and Seeking Potentiate Synapses on Distinct Populations of Accumbens Medium Spiny Neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 38(32), 7100-7107. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0791-18.2018>
- Robinson, T. E., & Kolb, B. (1999). Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. *European Journal of Neuroscience*, 11(5), 1598-1604. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00576.x>
- Robinson, T. E., & Kolb, B. (2004). Structural plasticity associated with exposure to drugs of abuse. *Neuropharmacology*, 47, 33-46. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.06.025>
- Robison, A. J., & Nestler, E. J. (2022). Δ FOSB: A Potentially Druggable Master Orchestrator of Activity-Dependent Gene Expression. *ACS Chemical Neuroscience*, 13(3), 296-307. <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.1c00723>
- Robison, A. J., Vialou, V., Sun, H.-S., Labonte, B., A Golden, S., Dias, C., Turecki, G., Tamminga, C., Russo, S., Mazei-Robison, M., & Nestler, E. J. (2014). Fluoxetine Epigenetically Alters the CaMKII α Promoter in Nucleus Accumbens to Regulate Δ FosB

- Binding and Antidepressant Effects. *Neuropsychopharmacology*, 39(5), 1178-1186. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.319>
- Robles, C. F., & Johnson, A. W. (2017). Disruptions in effort-based decision-making and consummatory behavior following antagonism of the dopamine D2 receptor. *Behavioural Brain Research*, 320, 431-439. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.10.043>
- Rodríguez Peris, L., Scheuber, M. I., Shan, H., Braun, M., & Schwab, M. E. (2024). Barnes maze test for spatial memory: A new, sensitive scoring system for mouse search strategies. *Behavioural Brain Research*, 458, 114730. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114730>
- Rodríguez-Correa, E., González-Pérez, I., Clavel-Pérez, P. I., Contreras-Vargas, Y., & Carvajal, K. (2020). Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: What is the best choice? *Nutrition & Diabetes*, 10(1), 24. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0127-4>
- Rodríguez-Monforte, M., Sánchez, E., Barrio, F., Costa, B., & Flores-Mateo, G. (2017). Metabolic syndrome and dietary patterns: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *European Journal of Nutrition*, 56(3), 925-947. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1305-y>
- Rogers, P. J., Vural, Y., Berridge-Burley, N., Butcher, C., Cawley, E., Gao, Z., Sutcliffe, A., Tinker, L., Zeng, X., Flynn, A. N., Brunstrom, J. M., & Brand-Miller, J. C. (2024). Evidence that carbohydrate-to-fat ratio and taste, but not energy density or NOVA level of processing, are determinants of food liking and food reward. *Appetite*, 193, 107124. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2023.107124>
- Rogers, P., & Webb, G. P. (1980). Estimation of body fat in normal and obese mice. *The British Journal of Nutrition*, 43(1), 83-86. <https://doi.org/10.1079/bjn19800066>
- Root, D. H., Mejias-Aponte, C. A., Qi, J., & Morales, M. (2014). Role of glutamatergic projections from ventral tegmental area to lateral habenula in aversive conditioning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(42), 13906-13910. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2029-14.2014>
- Rosenblum, K., Meiri, N., & Dudai, Y. (1993). Taste memory: The role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behavioral and Neural Biology*, 59(1), 49-56. [https://doi.org/10.1016/0163-1047\(93\)91145-D](https://doi.org/10.1016/0163-1047(93)91145-D)
- Rossi, M. A., & Stuber, G. D. (2018). Overlapping Brain Circuits for Homeostatic and Hedonic Feeding. *Cell Metabolism*, 27(1), 42-56. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.021>
- Ruderman, N. B., Berchtold, P., & Schneider, S. (1982). Obesity-associated disorders in normal-weight individuals: Some speculations. *International Journal of Obesity*, 6 Suppl 1, 151-157.
- Ruppert, P. M. M., & Kersten, S. (2024). Mechanisms of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis during fasting. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 35(2), 107-124. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.10.002>

- Russo, S. J., Dietz, D. M., Dumitriu, D., Malenka, R. C., & Nestler, E. J. (2010). The Addicted Synapse: Mechanisms of Synaptic and Structural Plasticity in Nucleus Accumbens. *Trends in neurosciences*, 33(6), 267-276. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.02.002>
- Russo, S. J., & Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Nature Reviews. Neuroscience*, 14(9), 609-625. <https://doi.org/10.1038/nrn3381>
- Russo, S., Kwiatkowski, M., Govorukhina, N., Bischoff, R., & Melgert, B. N. (2021). Meta-Inflammation and Metabolic Reprogramming of Macrophages in Diabetes and Obesity: The Importance of Metabolites. *Frontiers in Immunology*, 12, 746151. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.746151>
- Rysztak, L. G., & Jutkiewicz, E. M. (2022). The role of enkephalinergic systems in substance use disorders. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 16. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2022.932546>
- Salalha, R., Holzman, M., Cruciani, F., David, G. B., Amir, Y., Mawase, F., & Rosenblum, K. (2025). Licking microstructure behavior classifies a spectrum of emotional states in mice. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 19, 1623084. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2025.1623084>
- 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>
- Salles, J., Lacassagne, E., Benvegna, G., Berthoumieu, S. Ç., Franchitto, N., & Tauber, M. (2020). The RDoC approach for translational psychiatry: Could a genetic disorder with psychiatric symptoms help fill the matrix? the example of Prader–Willi syndrome. *Translational Psychiatry*, 10(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-00964-6>
- Samson, S. L., & Garber, A. J. (2014). Metabolic Syndrome. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 43(1), 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.09.009>
- Samuel, V. T. (2011). Fructose induced lipogenesis: From sugar to fat to insulin resistance. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 22(2), 60-65. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.10.003>
- Sandoval-Rodríguez, R., Parra-Reyes, J. A., Han, W., Rueda-Orozco, P. E., Perez, I. O., de Araujo, I. E., & Tellez, L. A. (2023). D1 and D2 neurons in the nucleus accumbens enable positive and negative control over sugar intake in mice. *Cell Reports*, 42(3), 112190. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112190>
- Santos, C. J., Ferreira, A. V. M., Oliveira, A. L., Oliveira, M. C., Gomes, J. S., & Aguiar, D. C. (2018). Carbohydrate-enriched diet predispose to anxiety and depression-like behavior after stress in mice. *Nutritional Neuroscience*, 21(1), 33-39. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2016.1213529>
- Sarfert, K. S., Knabe, M. L., Gunawansa, N. S., & Blythe, S. N. (2019). Western-style diet induces object recognition deficits and alters complexity of dendritic arborization in the hippocampus and entorhinal cortex of male rats. *Nutritional Neuroscience*, 22(5), 344-353. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2017.1388557>

- Sarmiento-Ortega, V. E., Moroni-González, D., Diaz, A., Brambila, E., & Treviño, S. (2025). Curcumin Treatment Ameliorates Hepatic Insulin Resistance Induced by Sub-chronic Oral Exposure to Cadmium LOAEL Dose via NF- κ B and Nrf2 Pathways. *Biological Trace Element Research*, 203(4), 2382-2393. <https://doi.org/10.1007/s12011-024-04314-1>
- Saunders, B. T., Richard, J. M., Margolis, E. B., & Janak, P. H. (2018). Dopamine neurons create Pavlovian conditioned stimuli with circuit-defined motivational properties. *Nature neuroscience*, 21(8), 1072-1083. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0191-4>
- Scheggi, S., De Montis, M. G., & Gambarana, C. (2018). Making Sense of Rodent Models of Anhedonia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 21(11), 1049-1065. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyy083>
- Scherer, T., Sakamoto, K., & Buettner, C. (2021). Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 17(8), 468-483. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00498-x>
- Schillaci, G., & Pirro, M. (2007). Hypoadiponectinemia: A Novel Link Between Obesity and Hypertension? *Hypertension*, 49(6), 1217-1219. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.088146>
- Schotanus, S. M., & Chergui, K. (2008a). Dopamine D1 receptors and group I metabotropic glutamate receptors contribute to the induction of long-term potentiation in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 54(5), 837-844. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.12.012>
- Schotanus, S. M., & Chergui, K. (2008b). Long-term potentiation in the nucleus accumbens requires both NR2A- and NR2B-containing N-methyl-d-aspartate receptors. *European Journal of Neuroscience*, 27(8), 1957-1964. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06173.x>
- Schulze, M. B., & Stefan, N. (2024). Metabolically healthy obesity: From epidemiology and mechanisms to clinical implications. *Nature Reviews Endocrinology*, 20(11), 633-646. <https://doi.org/10.1038/s41574-024-01008-5>
- Sclafani, A., Koepsell, H., & Ackroff, K. (2016). SGLT1 sugar transporter/sensor is required for post-oral glucose appetite. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 310(7), R631-639. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00432.2015>
- Scrinis, G., & Monteiro, C. (2022). From ultra-processed foods to ultra-processed dietary patterns. *Nature Food*, 3(9), 671-673. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00599-4>
- Sedaghat, K., & Tiberi, M. (2011). Cytoplasmic tail of D1 dopaminergic receptor differentially regulates desensitization and phosphorylation by G protein-coupled receptor kinase 2 and 3. *Cellular Signalling*, 23(1), 180-192. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2010.09.002>
- Sedki, F., Eigenmann, K., Gelinas, J., Schouela, N., Courchesne, S., & Shalev, U. (2015). A role for kappa-, but not mu-opioid, receptor activation in acute food deprivation-induced

- reinstatement of heroin seeking in rats. *Addiction Biology*, 20(3), 423-432. <https://doi.org/10.1111/adb.12133>
- Segura, B., Jurado, M. Á., Freixenet, N., Albuin, C., Muniesa, J., & Junqué, C. (2009). Mental slowness and executive dysfunctions in patients with metabolic syndrome. *Neuroscience Letters*, 462(1), 49-53. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.06.071>
- Simple, B. D., Blomgren, K., Gimlin, K., Ferriero, D. M., & Noble-Haesslein, L. J. (2013). Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Progress in neurobiology*, 0, 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.04.001>
- Shah, R. V., Murthy, V. L., Abbasi, S. A., Blankstein, R., Kwong, R. Y., Goldfine, A. B., Jerosch-Herold, M., Lima, J. A. C., Ding, J., & Allison, M. A. (2014). Visceral Adiposity and the Risk of Metabolic Syndrome Across Body Mass Index. *JACC. Cardiovascular imaging*, 7(12), 1221-1235. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2014.07.017>
- Sharma, S., & Fulton, S. (2013). Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *International Journal of Obesity*, 37(3), 382-389. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.48>
- Shelton, R. C., & Miller, A. H. (2010). Eating ourselves to death (and despair): The contribution of adiposity and inflammation to depression. *Progress in Neurobiology*, 91(4), 275-299. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.04.004>
- Shepherd, P. R., Withers, D. J., & Siddle, K. (1998). Phosphoinositide 3-kinase: The key switch mechanism in insulin signalling. *Biochemical Journal*, 333(Pt 3), 471-490.
- Shi, Z., Wen, K., Samudhin, N. H., LoRocco, N., & Zhuang, X. (2025). Erasing “bad memories”: Reversing aberrant synaptic plasticity as therapy for neurological and psychiatric disorders. *Molecular Psychiatry*, 30(7), 3209-3225. <https://doi.org/10.1038/s41380-025-03013-0>
- Shiflett, M. W., & Balleine, B. W. (2010). At the limbic–motor interface: Disconnection of basolateral amygdala from nucleus accumbens core and shell reveals dissociable components of incentive motivation. *European Journal of Neuroscience*, 32(10), 1735-1743. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07439.x>
- Shoelson, S. E., Herrero, L., & Naaz, A. (2007). Obesity, Inflammation, and Insulin Resistance. *Gastroenterology*, 132(6), 2169-2180. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.059>
- Shoemaker, C. T., Friedman, A. D., Lu, B., Jiang, Q., Kim, J., Li, S., Ruan, S., & Yin, H. H. (2025). A2A-Positive Neurons in the Nucleus Accumbens Core Regulate Effort Exertion. *Journal of Neuroscience*, 45(16). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1749-24.2025>
- Shulman, G. I., Rothman, D. L., Jue, T., Stein, P., DeFronzo, R. A., & Shulman, R. G. (1990). Quantitation of Muscle Glycogen Synthesis in Normal Subjects and Subjects with Non-Insulin-Dependent Diabetes by ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *New England Journal of Medicine*, 322(4), 223-228. <https://doi.org/10.1056/NEJM199001253220403>

- Sims, E. A. (2001). Are there persons who are obese, but metabolically healthy? *Metabolism: Clinical and Experimental*, 50(12), 1499-1504. <https://doi.org/10.1053/meta.2001.27213>
- Singh, A., Wirtz, M., Parker, N., Hogan, M., Strahler, J., Michailidis, G., Schmidt, S., Vidal-Puig, A., Diano, S., Andrews, P., Brand, M. D., & Friedman, J. (2009). Leptin-mediated changes in hepatic mitochondrial metabolism, structure, and protein levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 13100-13105. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903723106>
- Sjulson, L., Peyrache, A., Cumpelik, A., Cassataro, D., & Buzsáki, G. (2018). Cocaine place conditioning strengthens location-specific hippocampal coupling to the nucleus accumbens. *Neuron*, 98(5), 926-934.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.04.015>
- Slattery, D. A., & Cryan, J. F. (2017). Modelling depression in animals: At the interface of reward and stress pathways. *Psychopharmacology*, 234(9-10), 1451-1465. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4552-6>
- Snyder, G. L., Fienberg, A. A., Haganir, R. L., & Greengard, P. (1998). A Dopamine/D1 Receptor/Protein Kinase A/Dopamine- and cAMP-Regulated Phosphoprotein (Mr 32 kDa)/Protein Phosphatase-1 Pathway Regulates Dephosphorylation of the NMDA Receptor. *The Journal of Neuroscience*, 18(24), 10297-10303. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-24-10297.1998>
- Soares-Cunha, C., de Vasconcelos, N. A. P., Coimbra, B., Domingues, A. V., Silva, J. M., Loureiro-Campos, E., Gaspar, R., Sotiropoulos, I., Sousa, N., & Rodrigues, A. J. (2020). Nucleus accumbens medium spiny neurons subtypes signal both reward and aversion. *Molecular Psychiatry*, 25(12), 3241-3255. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0484-3>
- Söderlund, J., & Lindskog, M. (2018). Relevance of Rodent Models of Depression in Clinical Practice: Can We Overcome the Obstacles in Translational Neuropsychiatry? *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 21(7), 668-676. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyy037>
- Solinas, G., Borén, J., & Dulloo, A. G. (2015). De novo lipogenesis in metabolic homeostasis: More friend than foe? *Molecular Metabolism*, 4(5), 367-377. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.03.004>
- Spanagel, R., Herz, A., & Shippenberg, T. S. (1990). The Effects of Opioid Peptides on Dopamine Release in the Nucleus Accumbens: An In Vivo Microdialysis Study. *Journal of Neurochemistry*, 55(5), 1734-1740. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1990.tb04963.x>
- Speranza, L., di Porzio, U., Viggiano, D., de Donato, A., & Volpicelli, F. (2021). Dopamine: The Neuromodulator of Long-Term Synaptic Plasticity, Reward and Movement Control. *Cells*, 10(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/cells10040735>
- Srivastava, S., Alfieri, A., Siow, R. C. M., Mann, G. E., & Fraser, P. A. (2013). Temporal and spatial distribution of Nrf2 in rat brain following stroke: Quantification of nuclear to

- cytoplasmic Nrf2 content using a novel immunohistochemical technique. *The Journal of Physiology*, 591(14), 3525-3538. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.257964>
- Stefan, N., Kantartzis, K., Machann, J., Schick, F., Thamer, C., Rittig, K., Balletshofer, B., Machicao, F., Fritsche, A., & Häring, H.-U. (2008). Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Archives of Internal Medicine*, 168(15), 1609-1616. <https://doi.org/10.1001/archinte.168.15.1609>
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., & Simon, P. (1985). The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*, 85(3), 367-370. <https://doi.org/10.1007/BF00428203>
- Steven, A., Friedrich, M., Jank, P., Heimer, N., Budczies, J., Denkert, C., & Seliger, B. (2020). What turns CREB on? And off? And why does it matter? *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 77(20), 4049-4067. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03525-8>
- Stockert, J. C., & Blázquez-Castro, A. (2023). Updating Ortho- and Metachromatic Acridine Orange Fluorescence in Cytochemical Chromosome Staining: A Proposal for Understanding Its Differential Fluorescence on Double- and Single-Stranded Nucleic Acids Substrates Based on Intercalation. *Chemosensors*, 11(10), 540. <https://doi.org/10.3390/chemosensors11100540>
- Stockert, J. C., & Lisanti, J. A. (1972). Acridine-orange differential fluorescence of fast- and slow-reassociating chromosomal DNA after in situ DNA denaturation and reassociation. *Chromosoma*, 37(2), 117-130. <https://doi.org/10.1007/BF00284934>
- Strissel, K. J., Stancheva, Z., Miyoshi, H., Perfield, J. W., DeFuria, J., Jick, Z., Greenberg, A. S., & Obin, M. S. (2007). Adipocyte Death, Adipose Tissue Remodeling, and Obesity Complications. *Diabetes*, 56(12), 2910-2918. <https://doi.org/10.2337/db07-0767>
- Sun, N., & Kim, K.-M. (2021). Mechanistic diversity involved in the desensitization of G protein-coupled receptors. *Archives of Pharmacal Research*, 44(4), 342-353. <https://doi.org/10.1007/s12272-021-01320-y>
- Sun, Y., Koyama, Y., & Shimada, S. (2022). Inflammation From Peripheral Organs to the Brain: How Does Systemic Inflammation Cause Neuroinflammation? *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.903455>
- Sung, J. Y., Engmann, O., Teylan, M. A., Nairn, A. C., Greengard, P., & Kim, Y. (2008). WAVE1 controls neuronal activity-induced mitochondrial distribution in dendritic spines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(8), 3112-3116. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712180105>
- Surmeier, D. J., Ding, J., Day, M., Wang, Z., & Shen, W. (2007). D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends in Neurosciences*, 30(5), 228-235. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.008>
- Surmeier, D. J., Eberwine, J., Wilson, C. J., Cao, Y., Stefani, A., & Kitai, S. T. (1992). Dopamine receptor subtypes colocalize in rat striatonigral neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(21), 10178-10182. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.21.10178>

- Swardfager, W., Yu, D., Scola, G., Cogo-Moreira, H., Chan, P., Zou, Y., Herrmann, N., Lanctôt, K. L., Ramirez, J., Gao, F., Masellis, M., Swartz, R. H., Sahlas, D. J., Chan, P. C., Ojeda-Lopez, C., Milan-Tomas, A., Pettersen, J. A., Andreazza, A. C., & Black, S. E. (2017). Peripheral lipid oxidative stress markers are related to vascular risk factors and subcortical small vessel disease. *Neurobiology of Aging*, *59*, 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.06.029>
- Tajti, B. T., Yoon, O., Ernyey, A. J., Gáspár, A., Varga, B. T., & Gyertyán, I. (2023). Using Appetitive Motivation to Train Mice for Spatial Learning in the Barnes Maze. *BioMed Research International*, *2023*, 6625491. <https://doi.org/10.1155/2023/6625491>
- Talbot, K., Wang, H.-Y., Kazi, H., Han, L.-Y., Bakshi, K. P., Stucky, A., Fuino, R. L., Kawaguchi, K. R., Samoyedny, A. J., Wilson, R. S., Arvanitakis, Z., Schneider, J. A., Wolf, B. A., Bennett, D. A., Trojanowski, J. Q., & Arnold, S. E. (2012). Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *The Journal of Clinical Investigation*, *122*(4), 1316-1338. <https://doi.org/10.1172/JCI59903>
- Tan, B., Browne, C. J., Nöbauer, T., Vaziri, A., Friedman, J. M., & Nestler, E. J. (2024). Drugs of abuse hijack a mesolimbic pathway that processes homeostatic need. *Science*, *384*(6693), eadk6742. <https://doi.org/10.1126/science.adk6742>
- Tan, B. L., & Norhaizan, M. E. (2019). Effect of High-Fat Diets on Oxidative Stress, Cellular Inflammatory Response and Cognitive Function. *Nutrients*, *11*(11), 2579. <https://doi.org/10.3390/nu11112579>
- Tan, B., Nöbauer, T., Browne, C. J., Nestler, E. J., Vaziri, A., & Friedman, J. M. (2022). Dynamic processing of hunger and thirst by common mesolimbic neural ensembles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *119*(43), e2211688119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2211688119>
- Tanaka, N., Ikeda, Y., Ohta, Y., Deguchi, K., Tian, F., Shang, J., Matsuura, T., & Abe, K. (2011). Expression of Keap1–Nrf2 system and antioxidative proteins in mouse brain after transient middle cerebral artery occlusion. *Brain Research*, *1370*, 246-253. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.11.010>
- Taniguchi, C. M., Emanuelli, B., & Kahn, C. R. (2006). Critical nodes in signalling pathways: Insights into insulin action. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *7*(2), 85-96. <https://doi.org/10.1038/nrm1837>
- Tejeda, H. A., Wu, J., Kornspun, A. R., Pignatelli, M., Kashtelyan, V., Krashes, M. J., Lowell, B. B., Carlezon, W. A., & Bonci, A. (2017). Pathway- and Cell-Specific Kappa-Opioid Receptor Modulation of Excitation-Inhibition Balance Differentially Gates D1 and D2 Accumbens Neuron Activity. *Neuron*, *93*(1), 147-163. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.005>
- Terry, P., Gilbert, D. B., & Cooper, S. J. (1995). Dopamine receptor subtype agonists and feeding behavior. *Obesity Research*, *3 Suppl 4*, 515S-523S. <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1995.tb00221.x>

- Thierry, B., Steru, L., Chermat, R., & Simon, P. (1984). Searching—waiting strategy: A candidate for an evolutionary model of depression? *Behavioral and Neural Biology*, *41*(2), 180-189. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(84\)90555-7](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(84)90555-7)
- Thompson, S. M. (2023). Plasticity of synapses and reward circuit function in the genesis and treatment of depression. *Neuropsychopharmacology*, *48*(1), 90-103. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01422-1>
- Tong, M., & de la Monte, S. M. (2009). Mechanisms of Ceramide-Mediated Neurodegeneration. *Journal of Alzheimer's Disease*, *16*(4), 705-714. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-0983>
- Treviño, S., Aguilar-Alonso, P., Flores Hernandez, J. A., Brambila, E., Guevara, J., Flores, G., Lopez-Lopez, G., Muñoz-Arenas, G., Morales-Medina, J. C., Toxqui, V., Venegas, B., & Diaz, A. (2015). A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. *Synapse (New York, N.Y.)*, *69*(9), 421-433. <https://doi.org/10.1002/syn.21832>
- Treviño, S., & Diaz, A. (2023). Role of Heat Shock Proteins in Neurodegenerative Diseases Caused by Metabolic Syndrome and Diabetes. En *Heat Shock Proteins in Cellular Communication and Signaling* (1.^a ed., Vol. 1, p. 12). Scientific Scholar.
- Treviño, S., Díaz, A., González-López, G., & Guevara, J. (2022). Differential biochemical-inflammatory patterns in the astrocyte-neuron axis of the hippocampus and frontal cortex in Wistar rats with metabolic syndrome induced by high fat or carbohydrate diets. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *126*, 102186. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2022.102186>
- Treviño, S., Vázquez-Roque, R. A., López-López, G., Perez-Cruz, C., Moran, C., Handal-Silva, A., González-Vergara, E., Flores, G., Guevara, J., & Díaz, A. (2017). Metabolic syndrome causes recognition impairments and reduced hippocampal neuronal plasticity in rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *82*, 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2017.02.007>
- Tritsch, N. X., & Sabatini, B. L. (2012). Dopaminergic modulation of synaptic transmission in cortex and striatum. *Neuron*, *76*(1), 33-50. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.023>
- Trujillo-Villarreal, L. A., Romero-Díaz, V. J., Marino-Martínez, I. A., Fuentes-Mera, L., Ponce-Camacho, M. A., Devenyi, G. A., Mallar Chakravarty, M., Camacho-Morales, A., & Garza-Villarreal, E. E. (2021). Maternal cafeteria diet exposure primes depression-like behavior in the offspring evoking lower brain volume related to changes in synaptic terminals and gliosis. *Translational Psychiatry*, *11*(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01157-x>
- Tsai, S.-F., Hsu, P.-L., Chen, Y.-W., Hossain, M. S., Chen, P.-C., Tzeng, S.-F., Chen, P.-S., & Kuo, Y.-M. (2022). High-fat diet induces depression-like phenotype via astrocyte-mediated hyperactivation of ventral hippocampal glutamatergic afferents to the nucleus accumbens. *Molecular Psychiatry*, *27*(11), 4372-4384. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01787-1>

- Tu, G., Ying, L., Ye, L., Zhao, J., Liu, N., Li, J., Liu, Y., Zhu, M., Wu, Y., Xiao, B., Guo, H., Guo, F., Wang, H., Zhang, L., & Zhang, L. (2019). Dopamine D1 and D2 Receptors Differentially Regulate Rac1 and Cdc42 Signaling in the Nucleus Accumbens to Modulate Behavioral and Structural Plasticity After Repeated Methamphetamine Treatment. *Biological Psychiatry*, 86(11), 820-835. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.03.966>
- Tyree, S. M., & de Lecea, L. (2017). Lateral Hypothalamic Control of the Ventral Tegmental Area: Reward Evaluation and the Driving of Motivated Behavior. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2017.00050>
- Uemura, E., & Greenlee, H. W. (2006). Insulin regulates neuronal glucose uptake by promoting translocation of glucose transporter GLUT3. *Experimental Neurology*, 198(1), 48-53. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2005.10.035>
- Unal, G., & Canbeyli, R. (2019). Psychomotor retardation in depression: A critical measure of the forced swim test. *Behavioural Brain Research*, 372, 112047. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112047>
- Unger, R. H., & Zhou, Y. T. (2001). Lipotoxicity of beta-cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover. *Diabetes*, 50(suppl_1), S118. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.2007.S118>
- Urstadt, K. R., Kally, P., Zaidi, S. F., & Stanley, B. G. (2013). Ipsilateral feeding-specific circuits between the nucleus accumbens shell and the lateral hypothalamus: Regulation by glutamate and GABA receptor subtypes. *Neuropharmacology*, 67, 176-182. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.10.027>
- Vague, J. (1947). A Determinant Factor of the Forms of Obesity. *Obesity Research*, 4(2), 201-203. <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1996.tb00535.x>
- Vaisse, C., Halaas, J. L., Horvath, C. M., Darnell, J. E., Stoffel, M., & Friedman, J. M. (1996). Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice. *Nature Genetics*, 14(1), 95-97. <https://doi.org/10.1038/ng0996-95>
- van den Bosch, A. M. R., Hümmert, S., Steyer, A., Ruhwedel, T., Hamann, J., Smolders, J., Nave, K.-A., Stadelmann, C., Kole, M. H. P., Möbius, W., & Huitinga, I. (2023). Ultrastructural Axon–Myelin Unit Alterations in Multiple Sclerosis Correlate with Inflammation. *Annals of Neurology*, 93(4), 856-870. <https://doi.org/10.1002/ana.26585>
- van der Heide, L. P., Kamal, A., Artola, A., Gispen, W. H., & Ramakers, G. M. J. (2005). Insulin modulates hippocampal activity-dependent synaptic plasticity in a N-methyl-d-aspartate receptor and phosphatidylinositol-3-kinase-dependent manner. *Journal of Neurochemistry*, 94(4), 1158-1166. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03269.x>
- Van Dyken, P., & Lacoste, B. (2018). Impact of Metabolic Syndrome on Neuroinflammation and the Blood–Brain Barrier. *Frontiers in Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00930>
- Vernier, P., Cardinaud, B., Valdenaire, O., Philippe, H., & Vincent, J. D. (1995). An evolutionary view of drug-receptor interaction: The bioamine receptor family. *Trends in*

Pharmacological Sciences, 16(11), 375-381. [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(00\)89078-1](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)89078-1)

- Vialou, V., Robison, A. J., LaPlant, Q. C., Covington, H. E., Dietz, D. M., Ohnishi, Y. N., Mouzon, E., Rush, A. J., Watts, E. L., Wallace, D. L., Iñiguez, S. D., Ohnishi, Y. H., Steiner, M. A., Warren, B. L., Krishnan, V., Bolaños, C. A., Neve, R. L., Ghose, S., Berton, O., ... Nestler, E. J. (2010). Δ FosB in brain reward circuits mediates resilience to stress and antidepressant responses. *Nature Neuroscience*, 13(6), 745-752. <https://doi.org/10.1038/nn.2551>
- Volkow, N. D., & Baler, R. D. (2015). NOW vs LATER brain circuits: Implications for obesity and addiction. *Trends in Neurosciences*, 38(6), 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.04.002>
- Volkow, N. D., Michaelides, M., & Baler, R. (2019). The Neuroscience of Drug Reward and Addiction. *Physiological Reviews*, 99(4), 2115-2140. <https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2018>
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., & Baler, R. D. (2011). Reward, dopamine and the control of food intake: Implications for obesity. *Trends in cognitive sciences*, 15(1), 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2010.11.001>
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., Telang, F., Fowler, J. S., Thanos, P. K., Logan, J., Alexoff, D., Ding, Y.-S., Wong, C., Ma, Y., & Pradhan, K. (2008). Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: Possible contributing factors. *NeuroImage*, 42(4), 1537-1543. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.06.002>
- von Mücke-Heim, I.-A., Urbina-Treviño, L., Bordes, J., Ries, C., Schmidt, M. V., & Deussing, J. M. (2023). Introducing a depression-like syndrome for translational neuropsychiatry: A plea for taxonomical validity and improved comparability between humans and mice. *Molecular Psychiatry*, 28(1), 329-340. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01762-w>
- Vries, H. E. de, Blom-Roosemalen, M. C. M., Oosten, M. van, Boer, A. G. de, Berkel, T. J. C. van, Breimer, D. D., & Kuiper, J. (1996). The influence of cytokines on the integrity of the blood-brain barrier in vitro. *Journal of Neuroimmunology*, 64(1), 37-43. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(95\)00148-4](https://doi.org/10.1016/0165-5728(95)00148-4)
- Wali, J. A., Ni, D., Facey, H. J. W., Dodgson, T., Pulpitel, T. J., Senior, A. M., Raubenheimer, D., Macia, L., & Simpson, S. J. (2023). Determining the metabolic effects of dietary fat, sugars and fat-sugar interaction using nutritional geometry in a dietary challenge study with male mice. *Nature Communications*, 14(1), 4409. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40039-w>
- Wall, N. R., De La Parra, M., Callaway, E. M., & Kreitzer, A. C. (2013). Differential Innervation of Direct- and Indirect-Pathway Striatal Projection Neurons. *Neuron*, 79(2), 347-360. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.05.014>
- Walle, R., Petitbon, A., Fois, G. R., Varin, C., Montalban, E., Hardt, L., Contini, A., Angelo, M. F., Potier, M., Ortole, R., Oummadi, A., De Smedt-Peyrusse, V., Adan, R. A., Giros,

- B., Chaouloff, F., Ferreira, G., de Kerchove d'Exaerde, A., Ducrocq, F., Georges, F., & Trifilieff, P. (2024). Nucleus accumbens D1- and D2-expressing neurons control the balance between feeding and activity-mediated energy expenditure. *Nature Communications*, *15*(1), 2543. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46874-9>
- Wang, G. J., Volkow, N. D., Logan, J., Pappas, N. R., Wong, C. T., Zhu, W., Netusil, N., & Fowler, J. S. (2001). Brain dopamine and obesity. *Lancet (London, England)*, *357*(9253), 354-357. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(00\)03643-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)03643-6)
- Wang, Y., Kwon, H., Su, X., & Wondisford, F. E. (2020). Glycerol not lactate is the major net carbon source for gluconeogenesis in mice during both short and prolonged fasting. *Molecular Metabolism*, *31*, 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.11.005>
- Wang, Z. V., & Scherer, P. E. (2008). Adiponectin, Cardiovascular Function, and Hypertension. *Hypertension*. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.099424>
- Wernstedt Asterholm, I., Tao, C., Morley, T. S., Wang, Q. A., Delgado-Lopez, F., Wang, Z. V., & Scherer, P. E. (2014). Adipocyte Inflammation Is Essential for Healthy Adipose Tissue Expansion and Remodeling. *Cell Metabolism*, *20*(1), 103-118. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.05.005>
- West, D. B., Fey, D., & Woods, S. C. (1984). Cholecystokinin persistently suppresses meal size but not food intake in free-feeding rats. *The American Journal of Physiology*, *246*(5 Pt 2), R776-787. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1984.246.5.R776>
- Westrich, L., & Kuzhikandathil, E. V. (2007). The tolerance property of human D3 dopamine receptor is determined by specific amino acid residues in the second cytoplasmic loop. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1773*(12), 1747-1758. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2007.06.007>
- Weyhenmeyer, J. A., & Fellows, R. E. (1983). Presence of immunoreactive insulin in neurons cultured from fetal rat brain. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *3*(1), 81-86. <https://doi.org/10.1007/BF00735000>
- Wilbrink, J., Masclee, G., Klaassen, T., van Avesaat, M., Keszthelyi, D., & Masclee, A. (2021). Review on the Regional Effects of Gastrointestinal Luminal Stimulation on Appetite and Energy Intake: (Pre)clinical Observations. *Nutrients*, *13*(5), 1601. <https://doi.org/10.3390/nu13051601>
- Willner, P., Towell, A., Sampson, D., Sophokleous, S., & Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, *93*(3), 358-364. <https://doi.org/10.1007/BF00187257>
- Winters, B. D., Krüger, J. M., Huang, X., Gallaher, Z. R., Ishikawa, M., Czaja, K., Krueger, J. M., Huang, Y. H., Schlüter, O. M., & Dong, Y. (2012). Cannabinoid receptor 1-expressing neurons in the nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(40), E2717-E2725. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206303109>

- Wolf, M. E. (2025). Targeting Neuroplasticity in Substance Use Disorders: Implications for Therapeutics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 65(Volume 65, 2025), 259-280. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-061724-080548>
- Wolf, M. E., & Ferrario, C. R. (2010). AMPA receptor plasticity in the nucleus accumbens after repeated exposure to cocaine. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(2), 185-211. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.01.013>
- Wright, C., & Groenewegen, H. (1996). Patterns of overlap and segregation between insular cortical, intermediodorsal thalamic and basal amygdaloid afferents in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience*, 73(2), 359-373.
- Wright, K. N., & Wesson, D. W. (2021). The tubular striatum and nucleus accumbens distinctly represent reward-taking and reward-seeking. *Journal of Neurophysiology*, 125(1), 166-183. <https://doi.org/10.1152/jn.00495.2020>
- Wulster-Radcliffe, M. C., Ajuwon, K. M., Wang, J., Christian, J. A., & Spurlock, M. E. (2004). Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 316(3), 924-929. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.02.130>
- Wurtman, J., & Wurtman, R. (2018). The Trajectory from Mood to Obesity. *Current Obesity Reports*, 7(1), 1-5. <https://doi.org/10.1007/s13679-017-0291-6>
- Yager, L. M., Garcia, A. F., Wunsch, A. M., & Ferguson, S. M. (2015). The ins and outs of the striatum: Role in drug addiction. *Neuroscience*, 301, 529-541. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.033>
- Yagishita, S., Hayashi-Takagi, A., Ellis-Davies, G. C. R., Urakubo, H., Ishii, S., & Kasai, H. (2014). A critical time window for dopamine actions on the structural plasticity of dendritic spines. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6204), 1616-1620. <https://doi.org/10.1126/science.1255514>
- Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Yamashita, S., Noda, M., Kita, S., Ueki, K., Eto, K., Akanuma, Y., Froguel, P., Foufelle, F., Ferre, P., Carling, D., Kimura, S., Nagai, R., Kahn, B. B., & Kadowaki, T. (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine*, 8(11), 1288-1295. <https://doi.org/10.1038/nm788>
- Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Terauchi, Y., Kubota, N., Hara, K., Mori, Y., Ide, T., Murakami, K., Tsuboyama-Kasaoka, N., Ezaki, O., Akanuma, Y., Gavrilova, O., Vinson, C., Reitman, M. L., Kagechika, H., Shudo, K., Yoda, M., Nakano, Y., ... Kadowaki, T. (2001). The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nature Medicine*, 7(8), 941-946. <https://doi.org/10.1038/90984>
- Yates, K. F., Sweat, V., Yau, P. L., Turchiano, M. M., & Convit, A. (2012). Impact of Metabolic Syndrome on Cognition and Brain. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32(9), 2060-2067. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.252759>

- Ye, L., Wu, J., Liu, Z., Deng, D., Bai, S., Yang, L., Xuan, Y., Liu, Z., Shi, Y., Liu, Z., Zhang, R., & Zhao, J. (2023). Si-Ni-San alleviates early life stress-induced depression-like behaviors in adolescence via modulating Rac1 activity and associated spine plasticity in the nucleus accumbens. *Frontiers in Pharmacology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1274121>
- Yeragani, V. K., Tancer, M., Chokka, P., & Baker, G. B. (2010). Arvid Carlsson, and the story of dopamine. *Indian Journal of Psychiatry*, *52*(1), 87. <https://doi.org/10.4103/0019-5545.58907>
- Yin, H. H., Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2008). Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: The integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *European Journal of Neuroscience*, *28*(8), 1437-1448. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06422.x>
- Yu, C., Chen, Y., Cline, G. W., Zhang, D., Zong, H., Wang, Y., Bergeron, R., Kim, J. K., Cushman, S. W., Cooney, G. J., Atcheson, B., White, M. F., Kraegen, E. W., & Shulman, G. I. (2002). Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, *277*(52), 50230-50236. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200958200>
- Yuen, J., Goyal, A., Rusheen, A. E., Kouzani, A. Z., Berk, M., Kim, J. H., Tye, S. J., Blaha, C. D., Bennet, K. E., Jang, D.-P., Lee, K. H., Shin, H., & Oh, Y. (2021). Cocaine-Induced Changes in Tonic Dopamine Concentrations Measured Using Multiple-Cyclic Square Wave Voltammetry in vivo. *Frontiers in Pharmacology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.705254>
- Zaborszky, L., Alheid, G., Beinfeld, M., Eiden, L., Heimer, L., & Palkovits, M. (1985). Cholecystokinin innervation of the ventral striatum: A morphological and radioimmunological study. *Neuroscience*, *14*(2), 427-453.
- Zeng, W., Pirzgarska, R. M., Pereira, M. M. A., Kubasova, N., Barateiro, A., Seixas, E., Lu, Y.-H., Kozlova, A., Voss, H., Martins, G. G., Friedman, J. M., & Domingos, A. I. (2015). Sympathetic neuro-adipose connections mediate leptin-driven lipolysis. *Cell*, *163*(1), 84-94. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.055>
- Zhang, H., Yang, S., Lu, Y.-L., Zhou, L.-Q., Dong, M.-H., Chu, Y.-H., Pang, X.-W., Chen, L., Xu, L.-L., Zhang, L.-Y., Zhu, L.-F., Xu, T., Wang, W., Shang, K., Tian, D.-S., & Qin, C. (2025). Microglial Nrf2-mediated lipid and iron metabolism reprogramming promotes remyelination during white matter ischemia. *Redox Biology*, *79*, 103473. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103473>
- Zhang, X., Gao, T., Deng, S., Shang, L., Chen, X., Chen, K., Li, P., Cui, X., & Zeng, J. (2021). Fasting induces hepatic lipid accumulation by stimulating peroxisomal dicarboxylic acid oxidation. *The Journal of Biological Chemistry*, *296*, 100622. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100622>

- Zhang, X., Tsuboi, D., Funahashi, Y., Yamahashi, Y., Kaibuchi, K., & Nagai, T. (2022). Phosphorylation Signals Downstream of Dopamine Receptors in Emotional Behaviors: Association with Preference and Avoidance. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11643. <https://doi.org/10.3390/ijms231911643>
- Zhang, Y., Crofton, E. J., Li, D., Lobo, M. K., Fan, X., Nestler, E. J., & Green, T. A. (2014). Overexpression of DeltaFosB in nucleus accumbens mimics the protective addiction phenotype, but not the protective depression phenotype of environmental enrichment. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 297. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00297>
- Zhang, Y., Zhao, J., & Chu, Z. (2016). More Attention Should Be Paid to Monitoring of Abdominal Obesity among Children and Adolescents. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 69(3-4), 212-214. <https://doi.org/10.1159/000452961>
- Zhu, Y., Wang, K., Ma, T., Ji, Y., Lou, Y., Fu, X., Lu, Y., Liu, Y., Dang, W., Zhang, Q., Yin, F., Wang, K., Yu, B., Zhang, H., Lai, J., & Wang, Y. (2023). Nucleus accumbens D1/D2 circuits control opioid withdrawal symptoms in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 133(18). <https://doi.org/10.1172/JCI163266>
- Zhu, Y., Wienecke, C. F. R., Nachtrab, G., & Chen, X. (2016). A thalamic input to the nucleus accumbens mediates opiate dependence. *Nature*, 530(7589), 219-222. <https://doi.org/10.1038/nature16954>
- Ziehen, T. (1908). Das Zentralnervensystem der Monotremen und Marsupialier. II, 2. *Denkschr. d. med.-naturw. Ges. zu Jena*, 6.

11. Anexos.

11.1. Inmunofluorescencia para D1R.

1) Desparafinización y rehidratación

- a) 10 minutos en xiloles
- b) 5 minutos xilol/alcohol
- c) 2 minutos en el resto de las soluciones hasta PBS.

2) Recuperación antigénica

- a) Buffer: Tris/EDTA pH 9
- b) Temperatura: ~85–90 °C
- c) 30 minutos desde inicio de la ebullición

3) Bloqueo

- a) 60 minutos a temperatura ambiente
- b) PBS 1X + 1% BSA

4) Anticuerpo primario

- a) Anticuerpo: Anti-D1 Dopamine Receptor
- b) Host: Mouse
- c) Catálogo: NB110-60017
- d) Marca: Novusbio
- e) Dilución: 1:250
- f) Buffer de dilución: PBS 1X BSA 1%
- g) Incubar toda la noche (~16 horas) a 4 °C
 - i) Evitar que el coverplate se evapore.

5) Lavados post-primario

- a) Tres lavados con PBS 1X, 5 minutos cada uno

6) Anticuerpo secundario

- a) Nombre: Goat anti-Mouse conjugado con FITC
- b) Marca: Jackson ImmunoResearch
- c) Dilución: 1:400
- d) Buffer de dilución: PBS con BSA 1%
- e) Incubación: 1 hora a temperatura ambiente, en oscuridad

7) Lavados post-secundario

- a) 3 lavados con PBS 1X, 5 minutos cada uno

8) Montaje

- a) Con DAPI, dejar curar toda la noche a temperatura ambiente

11.2. Inmunofluorescencia para D2R.

1) Desparafinización y rehidratación

- a) 10 minutos en xiloles
- b) 5 minutos xilol/alcohol
- c) 2 minutos en el resto de las soluciones hasta PBS.

2) Recuperación antigénica

- a) Buffer: Tris/EDTA pH 9
- b) Temperatura: ~85–90 °C
- c) 30 minutos desde inicio de la ebullición

3) Bloqueo

- a) 60 minutos a temperatura ambiente
- b) PBS 1X + 1% BSA

4) Anticuerpo primario

- a) Anticuerpo: Anti-D2 Dopamine Receptor
- b) Host: Mouse
- c) Catálogo: sc-5303
- d) Marca: Santa Cruz Biotechnology
- e) Dilución: 1:300
- f) Buffer de dilución: PBS 1X BSA 1%
- g) Incubar toda la noche (~16 horas) a 4 °C
 - i) Evitar que el coverplate se evapore.

5) Lavados post-primario

- a) Tres lavados con PBS 1X, 5 minutos cada uno

6) Anticuerpo secundario

- a) Nombre: Goat anti-Mouse conjugado con FITC
- b) Marca: Jackson ImmunoResearch
- c) Dilución: 1:400
- d) Buffer de dilución: PBS con BSA 1%
- e) Incubación: 1 hora a temperatura ambiente, en oscuridad

7) Lavados post-secundario

a) 3 lavados con PBS 1X, 5 minutos cada uno

8) Montaje

a) Con DAPI, dejar curar toda la noche a temperatura ambiente

11.3. Inmunofluorescencia para c-Fos.

1) Desparafinización y rehidratación

- a) 30 minutos en Xilol 1
- b) 30 minutos en Xilol 2
- c) 10 minutos en mezcla Xilol:alcohol
- d) Resto de soluciones durante 2 minutos hasta PBS.

2) Recuperación antigénica

- a) Buffer de citrato (equipo ImmunoRetriever)
- b) A partir de que alcanza 80°C contabilizar 30 minutos a 80–85 °C
- c) Dejar enfriar a temperatura ambiente

3) Bloqueo

- a) 60 minutos a temperatura ambiente en buffer de bloqueo.
- b) PBS 1X, 2% BSA 0.3% Triton X-100

4) Anticuerpo primario

- a) c-Fos (9F6), Rabbit monoclonal
- b) Catálogo: #2250
- c) Marca: Cell Signaling Technology
- d) Host: Rabbit
- e) Dilución: 1:400
- f) Buffer de dilución: PBS 1X con 0.3% Triton X-100 (empezar con 0.2%)
- g) Incubar toda la noche (~16 horas) a 4 °C

5) Lavados post-primario

- a) 3 lavados en PBS 1X, 5 minutos cada uno

6) Anticuerpo secundario

- a) Goat anti-Rabbit conjugado con Rodamina
- b) Número de inventario: 8
- c) Marca: Jackson ImmunoResearch
- d) Dilución: 1:200 (más concentrado que lo recomendado).
- e) Buffer de dilución: PBS con albúmina
- f) Incubación: 1 hora a temperatura ambiente en oscuridad

7) Lavados post-secundario

- a) 3 lavados en PBS 1X, 5 minutos cada uno

8) Montaje

- a) Medio de montaje con DAPI (Santa Cruz Biotechnology)
- b) Dejar curar toda la noche a temperatura ambiente en oscuridad
- c) Almacenamiento posterior a 4 °C

11.4. Brightfield correction para imágenes de inmunofluorescencia.

Este protocolo describe el procedimiento para realizar la corrección de campo plano en el canal azul de una imagen RGB en **Fiji/ImageJ**. La finalidad es compensar variaciones de iluminación y obtener una imagen en escala de grises normalizada en 32-bit. Este paso constituye la base para un análisis posterior, ya que permite corregir el viñeteo o irregularidades de iluminación antes de aplicar umbralización u otros procesos de cuantificación.

Procedimiento

1. Abrir la imagen RGB en Fiji (*File > Open*).
2. Separar los canales mediante *Image > Color > Split Channels*.
3. Cerrar las ventanas correspondientes a los canales rojo y verde, conservar únicamente el canal azul.
4. Duplicar el canal azul desde *Image > Duplicate...* y renombrar la copia como **Background**.
5. Aplicar a **Background** un desenfoque gaussiano en *Process > Filters > Gaussian Blur...* con $\sigma = 50$.
6. Dividir la imagen azul original entre **Background** usando *Process > Image Calculator...* seleccionando la opción *Divide* y activando *Create 32-bit*.

Notas

- Este procedimiento se aplica de manera idéntica a los canales rojo y verde. Para realizarlo con el macro, únicamente debe reemplazarse la palabra “blue” por “red” o “green” según corresponda.
- El valor de sigma (50) puede ajustarse dependiendo del tamaño de las estructuras: debe ser mayor que los objetos de interés (probar valores entre 50 y 100).
- El resultado de este paso es una imagen en 32-bit, lista para continuar con umbralización para análisis cuantitativos.

Macro

```

// Blue Channel - Brightfield Correction

// Split channels
run("Split Channels");

// Capture window titles
n = nImages();
titles = newArray(n);
for (i = 0; i < n; i++) {
    selectImage(i + 1);
    titles[i] = getTitle();
}

// Identify blue channel and close red/green
for (i = 0; i < titles.length; i++) {
    if (indexOf(titles[i], "blue") != -1) {
        blueTitle = titles[i];
    } else {
        selectWindow(titles[i]);
        close();
    }
}

// Process blue channel - Brightfield correction
selectWindow(blueTitle);
run("Duplicate...", "title=Background");
selectWindow("Background");
run("Gaussian Blur...", "sigma=50");

selectWindow(blueTitle);
imageCalculator("Divide create 32-bit", blueTitle, "Background");

```

11.5. Umbralización para análisis cuantitativo de imágenes de fluorescencia.

Este protocolo indica cómo procesar la imagen en escala de grises de 32-bit obtenida tras la corrección de campo plano en el canal azul, para convertirla a 16-bit y aplicar un algoritmo de umbral automático (MinError dark). El objetivo es segmentar la señal de interés respecto al fondo, preparando la imagen para cuantificación de modo que aseguramos la uniformidad y reproducibilidad en la detección de estructuras biológicas.

Procedimiento

1. Partir de la imagen en 32-bit del canal azul (posterior al brightfield correction).
2. Convertir la imagen a 16-bit (*Image > Type > 16-bit*).
3. Definir y aplicar la ROI correspondiente y recortar el área de análisis si se desea.
4. Ejecutar el umbral automático *MinError dark* (*Image > Adjust > Auto Threshold*).
5. Configurar *Analyze > Set Measurements* para seleccionar parámetros de cuantificación (ej. *area_fraction*, *mean*, *integrated*).
6. Guardar la imagen umbralizada y proceder al análisis cuantitativo mediante *Analyze > Measure* para obtener valores de área fraccional, intensidad media o densidad integrada según lo configurado en *Set Measurements*.

Notas

- Este procedimiento se aplica de manera idéntica para los canales rojo y verde.
- En los macros, basta con sustituir la palabra “blue” por “red” o “green”.
- El algoritmo *MinError dark* es apropiado cuando el fondo es dominante.
- La conversión a 16-bit es indispensable antes de aplicar la mayoría de los métodos de umbralización de ImageJ.

Macro

```
// Blue Channel - Thresholding after Brightfield Correction  
  
// Assume current image is the result of brightfield correction in 32-bit  
title = getTitle();  
  
// Convert to 16-bit
```

```
run("16-bit");

// Optional: apply ROI and crop
makeRectangle(0, 54, 864, 594); // Ajuste según su área de interés
run("Crop");

// Apply automatic threshold
setAutoThreshold("MinError dark");
setOption("BlackBackground", true);

// Set measurements and measure
run("Set Measurements...", "area_fraction mean integrated limit display
decimal=3");
run("Measure");
```

11.6. Eliminación de artefactos de iluminación mediante recorte manual en ImageJ.

Siempre después de realizar un protocolo de brightfield, se deben abrir las imágenes y revisar en el menú de Thresholding que no existan bandas brillantes, y corroborar que no estén siendo detectadas como señal. Si llegan a ser detectadas, entonces es obligatorio proceder al recorte antes de continuar con las mediciones.

Este protocolo describe cómo manejar imágenes que presentan bandas brillantes o regiones sobreiluminadas que afectan la homogeneidad del campo visual y pueden sesgar el análisis cuantitativo (Mean, IntDen, %Area). La estrategia consiste en recortar la región afectada utilizando la herramienta de selección rectangular en ImageJ, eliminando únicamente la zona comprometida para conservar un área representativa y limpia del tejido.

Procedimiento

1. Identificación de la región afectada
 - a) Abrir la imagen en ImageJ.
 - b) Inspeccionar los bordes o cuadrantes en busca de bandas brillantes, sobreexposición o artefactos lineales que puedan interferir en el análisis.
 - c) Abrir el menú de Thresholding y corroborar que esas bandas no estén siendo detectadas como señal.
 - d) Si sí son detectadas → continuar con el recorte.
2. Selección del área a recortar
 - a) Seleccionar la herramienta de rectángulo en la barra de herramientas de ImageJ.
 - b) Dibujar un rectángulo que abarque la región afectada por la banda brillante.
 - c) Ajustar la selección para que el borde del rectángulo coincida con el inicio de la zona útil de tejido.
3. Recorte de la imagen
 - a) Una vez definido el rectángulo, presionar Ctrl+Shift+X (o usar Image > Crop).
 - b) La imagen se recorta, eliminando la zona de la banda brillante y dejando únicamente la región válida.

Notas

- Si se procesan múltiples imágenes, aplicar siempre el recorte de manera consistente (misma proporción, mismo borde) para mantener comparabilidad.
- El recorte reduce el área total analizada, pero evita que los artefactos distorsionen los histogramas y métricas (IntDen, Mean, %Area).
- En imágenes multicanal (verde, rojo, azul), el recorte debe hacerse exactamente igual en todos los canales correspondientes al mismo campo de visión, para evitar pérdida de información o desalineaciones al hacer merges. Se recomienda fuertemente usar un macro que replique el mismo recorte en cada canal.
- Evitar recortar más allá de lo necesario para no perder tejido relevante.
- Si la banda afecta varias imágenes de un lote, estandarizar la altura/ancho del recorte para que todas queden con el mismo tamaño final.
- Siempre corroborar las mediciones cuando se usa procesamiento por lotes o macros: verificar que las imágenes tratadas no requieran recorte adicional antes de aceptar los resultados.
- Una vez hecho el recorte de la banda que estaba siendo detectada en el umbral, realizar nuevamente la medición de la intensidad de píxeles del canal correspondiente. Esta será ya la medición real.

11.7. Aplicación de LUT para visualización de imágenes de fluorescencia.

Este protocolo establece los pasos para aplicar un Lookup Table (LUT) al canal azul de una imagen previamente procesada y convertida a 16-bit. El LUT es un mapeo visual que asigna colores a los valores de intensidad de los píxeles, facilitando la interpretación cualitativa de los resultados y la generación de figuras para presentación o publicación. Es importante destacar que la aplicación del LUT no modifica los valores de los píxeles, únicamente la visualización.

Procedimiento

1. Abrir la imagen de 16-bit del canal azul en Fiji.
2. Seleccionar la opción *Image > Lookup Tables > Blue*.
3. Visualizar la imagen con el LUT aplicado.
4. Guardar la imagen con el LUT únicamente si se requiere para presentaciones; para análisis cuantitativo conservar la versión en escala de grises.

Notas

- El procedimiento se aplica de la misma forma para los canales rojo y verde utilizando *Image > Lookup Tables > Red* o *Green*.
- Se recomienda no utilizar *Apply LUT* cuando se requiera análisis cuantitativo, ya que esta opción modifica los valores de los píxeles.
- El LUT debe emplearse únicamente como herramienta de visualización y no como parte del procesamiento de datos.

Macro

```
// Blue Channel - Apply LUT
// Assume current image is the 16-bit processed image
run("Blue");
// Optional: to visualize LUT applied but not alter pixel values
// run("Apply LUT"); // Not recommended for analysis
```

11.8. Procesamiento en línea de un canal de fluorescencia para su análisis cuantitativo.

El presente protocolo establece un flujo de trabajo sencillo y reproducible en Fiji/ImageJ, cuyo propósito es aislar el canal verde de una microfotografía RGB y normalizar su señal con el fin de obtener mediciones comparables entre muestras. El procedimiento se orienta a corregir las variaciones de iluminación inherentes a la captura, como el viñeteo, y a segmentar de manera reproducible la señal biológica.

Para tal fin, se genera un modelo del fondo mediante la aplicación de un desenfoque gaussiano sobre una copia de la imagen a tratar (en este caso, verde). Dicha copia difuminada representa la iluminación de fondo y, al dividirla entre la imagen original, se consigue una corrección uniforme. Posteriormente, la imagen se convierte a 16-bit con el propósito de trabajar en un rango estandarizado de intensidades y se aplica el umbral automático *MinError dark*, que permite separar el tejido marcado del ruido o fondo. Este flujo de trabajo se utiliza de manera rutinaria en estudios de fluorescencia y en análisis histológicos multicanal donde resulta necesario cuantificar con precisión la señal del canal verde y establecer comparaciones entre diferentes preparaciones.

Procedimiento

1. Abrir la imagen RGB en Fiji.
2. Ejecutar la opción *Image > Color > Split Channels* para separar los canales.
3. Cerrar los canales rojo y azul, conservando únicamente el canal verde.
4. Duplicar el canal verde y asignar el nombre **Background** a la copia generada.
5. Aplicar un desenfoque gaussiano con $\sigma = 50$ a la imagen **Background**.
6. En la imagen verde original, utilizar *Image Calculator > Divide* seleccionando “Background” y activando la opción *Create 32-bit*.
7. Convertir la imagen resultante a formato 16-bit.
8. Definir y aplicar la ROI correspondiente y ejecutar el recorte.
9. Aplicar el umbral automático *MinError dark* configurando el fondo como negro.

10. Ajustar la opción *Analyze > Set Measurements* para incluir los parámetros `area_fraction`, `mean` e `integrated`.
11. Ejecutar *Analyze > Measure* y registrar los resultados obtenidos.

Notas

- Ajustar el valor de sigma en función del tamaño de las estructuras de interés, procurando que sea mayor al diámetro de los objetos analizados.
- Mantener siempre la misma ROI para garantizar la comparabilidad entre imágenes.
- Realizar la división en 32-bit para obtener una corrección precisa de la iluminación y convertir posteriormente a 16-bit con el fin de estandarizar los datos.
- En caso de que los bordes de los objetos presenten baja intensidad, considerar el uso de umbrales locales como Phansalkar.
- El macro no aplica LUT; las mediciones se efectúan directamente sobre los valores de intensidad corregidos.

Macro

```
// Green Channel Image Processing - Stable version for one manually opened
RGB image

// Split channels
run("Split Channels");

// Capture window titles
n = nImages();
titles = newArray(n);
for (i = 0; i < n; i++) {
    selectImage(i + 1);
    titles[i] = getTitle();
}

// Identify green channel and close red/blue
for (i = 0; i < titles.length; i++) {
    if (indexOf(titles[i], "green") != -1) {
        greenTitle = titles[i];
    } else {
        selectWindow(titles[i]);
        close();
    }
}

// Process green channel
```

```

selectWindow(greenTitle);
run("Duplicate...", "title=Background");
selectWindow("Background");
run("Gaussian Blur...", "sigma=50");

selectWindow(greenTitle);
imageCalculator("Divide create 32-bit", greenTitle, "Background");

selectWindow("Result of " + greenTitle);
run("16-bit");
makeRectangle(0, 54, 864, 594); // Adjust your ROI if needed
run("Crop");
setAutoThreshold("MinError dark");
setOption("BlackBackground", true);

run("Set Measurements...", "area_fraction mean integrated limit display
decimal=3");
run("Measure");

```

Aplicación en otros canales.

El procedimiento descrito para el canal verde es igualmente aplicable al análisis del canal rojo o azul. La lógica de procesamiento es idéntica: separación de canales, duplicado y desenfocado de la copia como modelo de fondo, corrección por división, normalización del bit-depth, definición del ROI, umbralización y obtención de mediciones. La única diferencia radica en la identificación del canal correspondiente durante el paso inicial.

Macro para el canal rojo

```

// Red Channel Image Processing - Stable version for one manually opened
// RGB image

// Split channels
run("Split Channels");

// Capture window titles
n = nImages();
titles = newArray(n);
for (i = 0; i < n; i++) {
    selectImage(i + 1);
    titles[i] = getTitle();
}

// Identify red channel and close green/blue
for (i = 0; i < titles.length; i++) {
    if (indexOf(titles[i], "red") != -1) {
        redTitle = titles[i];
    } else {
        selectWindow(titles[i]);
        close();
    }
}

```

```
// Process red channel
selectWindow(redTitle);
run("Duplicate...", "title=Background");
selectWindow("Background");
run("Gaussian Blur...", "sigma=50");

selectWindow(redTitle);
imageCalculator("Divide create 32-bit", redTitle, "Background");

selectWindow("Result of " + redTitle);
run("16-bit");
makeRectangle(0, 54, 864, 594); // Ajuste su ROI si es necesario
run("Crop");
setAutoThreshold("MinError dark");
setOption("BlackBackground", true);

run("Set Measurements...", "area_fraction mean integrated limit display
decimal=3");
run("Measure");
```

11.9. Establecimiento de un rango de visualización uniforme para imágenes de fluorescencia.

El protocolo tiene como finalidad establecer un método simple y reproducible para estandarizar la visualización de imágenes de 16-bit en Fiji/ImageJ. Se aplica cuando se requiere comparar múltiples imágenes bajo las mismas condiciones asegurando que todas se observen dentro de un rango definido de intensidad.

La estandarización no modifica los valores reales de los píxeles, únicamente afecta la forma en que se muestran en pantalla mediante la asignación de un rango fijo de mínimo y máximo, de esta forma ésta técnica resulta útil en análisis cualitativos, en presentaciones o en la preparación de figuras para publicación, ya que garantiza que la percepción de la señal no dependa de ajustes manuales o arbitrarios en cada imagen si no se realicen de manera uniforme y normalizada en todas las imágenes procesadas.

Procedimiento

1. Abrir la imagen de interés en Fiji.
2. Verificar que la profundidad de bit sea de 16-bit (*Image > Type > 16-bit*).
3. Definir los valores del rango de visualización: mínimo = 25,000; máximo = 40,000.
4. Aplicar el rango fijo en todos los canales o imágenes abiertas.
5. Confirmar que el ajuste se limita a la visualización (LUT) y no altera los datos originales.

Notas

- El protocolo se limita a la visualización. Si se desea que los valores de píxel se ajusten de manera permanente, debe aplicarse la opción *Apply LUT* (no recomendado en la mayoría de los casos).
- El rango definido (25k–40k) puede ajustarse de acuerdo con la intensidad típica de la señal experimental.
- Es posible aplicar este ajuste a todas las imágenes abiertas de manera secuencial mediante un bucle, lo que garantiza uniformidad en análisis comparativos.

- Para asegurar precisión en el ajuste, se recomienda emplear el *Script Editor* o el *Macro Interpreter* de ImageJ en lugar de mover manualmente las barras de contraste, ya que estas suelen desplazarse de manera imprecisa al arrastrarlas con el ratón.

Macro

```
// Set a consistent display range on 16-bit images
// Min = 25,000 ; Max = 40,000 (applied to all channels if present)

macro "Set Display Range 25k-40k (16-bit)" {
    if (nImages()==0) {
        showMessage("No image open", "Open a 16-bit image first.");
        return;
    }
    if (bitDepth != 16) {
        showMessage("Wrong bit depth",
            "This macro expects a 16-bit image.\nCurrent: " + bitDepth + "-
bit.");
        return;
    }

    Stack.getDimensions(w, h, channels, slices, frames);

    minV = 25000;
    maxV = 40000;

    setBatchMode(true);
    if (channels > 1) {
        for (c = 1; c <= channels; c++) {
            Stack.setChannel(c);
            setMinAndMax(minV, maxV);
        }
    } else {
        setMinAndMax(minV, maxV);
    }
    setBatchMode(false);

    // Nota: Esto solo cambia la visualización (LUT). Para modificar
    // permanentemente los
    // valores de píxel, descomentar la siguiente línea (no recomendado):
    // run("Apply LUT");
}
```

11.10. Alineación de canales de fluorescencia empleando la herramienta StackReg en ImageJ.

Este procedimiento tiene como objetivo corregir el desalineamiento espacial entre dos imágenes monocanal obtenidas del mismo campo (por ejemplo, tinción con acridina naranja en canales verde y rojo). Dicho desalineamiento puede deberse a deriva mecánica del escáner, ligeros desfases temporales entre adquisiciones o aberraciones cromáticas. La corrección se logra mediante registro geométrico (registration), aplicando una transformación global al canal “móvil” para superponerlo con el canal de referencia.

El plugin StackReg implementa transformaciones de tipo traslación, cuerpo rígido o afín, y estima los parámetros óptimos para maximizar la coincidencia entre imágenes. De esta manera se preserva la cuantificación por píxel, minimizando re-muestreos y evitando artefactos en la superposición de canales.

Procedimiento

1. Abrir ambas imágenes crudas (canal verde y canal rojo).
2. Verificar que tengan el mismo tamaño en píxeles. En caso contrario, ajustar con *Image* → *Adjust* → *Size...* (sin modificar la relación de aspecto).
3. Colocar al frente la imagen que servirá como referencia (p. ej., canal verde).
4. Crear un stack de dos imágenes con *Image* → *Stacks* → *Images to Stack...* (aceptar valores por defecto). Resultado: Imagen 1 = referencia (verde); Imagen 2 = móvil (rojo).
5. Con el stack activo, ir a *Plugins* → *Registration* → *StackReg*.
6. Seleccionar el modelo de transformación:
 - **Translation**: solo corrimiento en X/Y.
7. Ejecutar. StackReg aplicará la transformación a la imagen 2 alineándolo con la imagen 1.
8. Separar el stack resultante: *Image* → *Stacks* → *Stack to Images*. Se obtendrán dos imágenes: la de referencia (sin cambios) y el canal móvil corregido.
9. Reconstruir la composición: *Image* → *Color* → *Merge Channels....* Asignar:

- **Red:** canal rojo corregido.
 - **Green:** canal verde original.
 - **Blue:** (vacío). Aceptar.
10. Verificar visualmente la coincidencia de estructuras alternando la visualización de los canales.
 11. (Opcional, control rápido): *Image* → *Calculator...* → *Subtract* (absoluto) entre el canal corregido y el de referencia para evaluar residuales. Valores bajos sugieren buena alineación. **Nota:** esto no equivale a colocalización biológica, solo a control geométrico.
 12. Guardar la imagen final compuesta y, de ser necesario, los canales corregidos por separado: *File* → *Save As* → *Tiff*.

Notas

- El procedimiento está indicado para canales rojo y verde para una tinción naranja de acridina.
- En caso de tratarse para una inmunofluorescencia, emplear como canal fijo el azul (DAPI).
- Emplear el protocolo previamente descrito para los canales que aplique según la técnica realizada.