



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE NEUROFISIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

“EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA ANSIOSA Y DE LA MORFOLOGÍA DE NEURONAS PIRAMIDALES DE LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL DE RATAS ZUCKER OBESAS (FA/FA) MACHOS ADULTOS”

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN BIÓLOGA**

**PRESENTA
VANESSA ABIGAIL UTRILLA RAMOS**

**DIRECTORA DE TESIS
DRA. ADRIANA BERENICE SILVA GÓMEZ**

**MATRÍCULA
201845338**

AGOSTO 2024



Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (fa/fa) machos adultos

Esto no hubiera sido posible sin mi familia, amigos y mi psicóloga, que me hizo darme cuenta de que poseo herramientas para poder seguir con las dificultades de la vida, de sobreponerme, ser resiliente y lograr lo que quiero en esta vida.

Le dedico este gran esfuerzo a mi madre, Julia Lidia Ramos López por apoyarme con cada paso, por aguantar mi desesperación, por hacerme recordar que todo estaría bien y que lo lograría.

A mi padre, Juan Gabriel Utrilla Cruz por apoyarme como solo él sabe, por presionarme para sacar el trabajo.

A mi hermano, Gabriel Raúl Utrilla Ramos por escucharme o simplemente hacerme reír en estos meses que me sentí muy estresada.

A mis abuelos Abel Ramos González y María Cecilia López Barranco por confiar en mis capacidades, por quererme y aceptar tal y como soy.

Agradecimientos

Le agradezco a la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP, por permitirme cursar mi carrera y así poder contribuir a la universidad con mi investigación.

Agradezco infinitamente al laboratorio de Neurofisiología Experimental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP y a la Dra. Adriana Berenice Silva Gómez, por aceptarme y guiarme, para poder aprender y que, si no hubiera experimentado lo que es hacer una tesis con ella, no hubiera descubierto lo extraordinaria que es la investigación, ya que la doctora es de las investigadoras y seres humanos más increíbles y comprometidos con la ciencia que he conocido, sin duda al realizar la tesis experimenté muchos cambios, crecí más como estudiante y como ser humano, aprendí demasiado, por eso y más valoro su paciencia, esfuerzo e interés en mi trabajo y en mi como alumna.

Agradezco al bioterio “Claude Bernand” de la BUAP por su apoyo en la obtención y cuidado de los modelos animales para la realización de este proyecto.

Agradezco al laboratorio de Neurofarmacología de la BUAP por abrir sus puertas para la realización de este proyecto.

Agradezco a mis sinodales, a la maestra Montserrat Vázquez Balbuena que me acompañó a lo largo de la carrera, una gran docente y científica que sin duda se convirtió en una mujer que me inspira a ser una gran científica y al doctor Ismael Juárez Díaz por su tiempo y dedicación a revisar cada una de las versiones de mi escrito.

Agradezco a mis amigos de siempre, Emilio y Carlos por hacerme la vida más bonita, por ayudarme a distraerme cuando era necesario, por darme su cariño y su tiempo, son seres humanos muy increíbles e importantes en mi vida.

A mis amiguitos de D&D, a Pedro por darme tanto cariño y experiencias que jamás olvidaré, a Mario por hacerme enojar o reír y también le agradezco por tenerme mucha paciencia y a Paco por compartir su comida tan deliciosa, se convirtieron en mi escape cuando más estresada me sentí, gracias por ayudar a revisar/criticar mi tesis (un poco), por su tiempo y su cariño que tanto valoro.

A mis compañeros y compañeras de laboratorio, Lesly que se volvió una amiga muy importante para mí, agradezco su tiempo, sus palabras de aliento y su cariño, a Ricardo por ayudarme a realizar pruebas, por su tiempo y cariño, a Leilani por su apoyo y comprensión, a Constelación y a Denice por su mano dura, por su preocupación y dedicación al enseñarme, son unas mujeres muy increíbles.

Le agradezco a la vida por ponerme en este camino, a mí misma por no rendirme y por último, pero no menos importante, a las ratas, los animales de laboratorio que son extremadamente importantes para nosotros los científicos y que respeto mucho.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (fa/fa) machos adultos

Índice

Glosario de abreviaturas	5
Resumen	7
1. Introducción	8
1.1 Corteza prefrontal medial (mPFC)	8
1.1.1 <i>Corteza prefrontal medial de roedores</i>	8
1.1.2 <i>Conectividad de la mPFC</i>	9
1.2 Neuronas piramidales	9
1.2.1 Espinas dendríticas	11
1.3 Ansiedad	12
1.3.1 <i>Circuito neuronal que regula la ansiedad</i>	13
1.4 Obesidad	17
1.4.1 <i>Relación entre obesidad y ansiedad</i>	19
1.4.2 <i>Fisiología de la conducta alimenticia</i>	19
1.5 Rata Zucker Diabetic Fatty (ZDF)	21
1.6 Leptina	22
1.6.1 <i>Mutación en el gen del receptor de la leptina (Ob-R)</i>	23
1.6.2 <i>Vía de señalización de la leptina</i>	23
2. Antecedentes	25
3. Justificación	26
4. Hipótesis	26
5. Objetivos	26
5.1 General	26
5.2 Específicos	27
6. Material y métodos	27
6.1 Material biológico	27
6.2 Esquema general de trabajo	28
6.3 Pruebas de conducta	29
6.3.1 <i>Campo abierto (CA)</i>	29
6.3.2 <i>Caja de luz-oscuridad (CLO)</i>	31
6.3.3 <i>Laberinto en cruz elevado (LCE)</i>	32
6.4 Morfología neuronal	33
6.4.1 <i>Sacrificio y tinción de Golgi-Cox</i>	33
6.4.2 <i>Análisis morfológico</i>	34
6.5 Análisis estadístico	35
7. Resultados	37
7.1 Pruebas de comportamiento	37
7.2 Fenotipo obeso	42
7.3 Concentración de macromoléculas en sangre	43
7.4 Morfología neuronal	45
8. Discusión	50
9. Conclusión	54
10. Literatura citada	55

Glosario de abreviaturas

- ACC: Corteza cingulada anterior
- Ad: Núcleo anterodorsal del BNST
- AHA: Área hipotalámica anterior
- Arc: Núcleo arcuato del hipotálamo
- BLA: Amígdala basolateral
- BNST: Núcleo del lecho de la estría terminal
- CA: Campo abierto
- CAMK1: Proteína quinasa tipo 1 dependiente de calcio/calmodulina
- CAMKK: Proteína quinasa tipo 2 dependiente de calcio/calmodulina
- CeA: Amígdala central
- CeL: Subdivisión lateral de la amígdala central
- CeM: Subdivisión centromedial de la amígdala
- CLO: Caja luz-oscuridad
- dACC: Corteza cingulada anterior dorsal
- dIPFC: Corteza prefrontal dorsolateral
- DM2: Diabetes mellitus tipo 2
- dmPFC: Corteza prefrontal dorsomedial
- DR: Núcleo dorsal del rafe
- DVC: Complejo vagal dorsal
- ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
- *Fa: Fatty*
- GABA: Ácido gamma-aminobutírico
- Gln: Glutamina
- HDL: Lipoproteínas de alta densidad
- HPC: Hipocampo
- Hyp: Hipotálamo
- IL: Corteza infralímbica
- IMC: Índice de masa corporal
- IP³: Inositol trifosfato
- IRM: Imágenes de resonancia magnética
- JAK: Janus cinasas
- LC: Locus coeruleus.
- LCE: Laberinto en cruz elevado
- LE: Long Evans
- LepR: Receptor de la leptina

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

- LH: Hipotálamo lateral
- LPL: Lipoproteína lipasa
- LS: Septum lateral
- LZC: Lean Zucker Control
- MAPK: Proteínas quinasas activadas por mitógenos
- mOFC: Corteza orbitofrontal medial
- mPFC: Corteza prefrontal medial
- MTG: Lóbulo temporal medial
- NAc: Núcleo accumbens
- NOM: Normas Oficiales Mexicanas
- Ob-R: Gen del receptor de la leptina
- Ov: Núcleo oval del BNST
- PAG: Sustancia gris periacueductal
- PB: Núcleo parabranchial
- PFC: Corteza prefrontal
- PL: Corteza prefrontal
- PN: Neuronas piramidales
- PrCm: Área precentral medial
- Pro: Prolina
- PSD: Densidad postsináptica
- PVH: Núcleo paraventricular del hipotálamo
- PVT: Núcleo paraventricular del tálamo
- SAGARPA: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
- STAT: Transductor de señal y activador de transcripción
- STG: Lóbulo temporal superior
- Thal: Tálamo
- TP: Polo temporal
- Tyr: Tirosina
- v: BNST ventral
- vHPC: Hipocampo ventral
- VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad
- vIPFC: Corteza prefrontal ventrolateral
- vmPFC: Corteza prefrontal ventromedial
- vPallidum: Pálido ventral
- VTA: Área tegmental ventral
- ZDF: Zucker Diabetic Fatty

Resumen

La corteza prefrontal medial (mPFC) es una estructura cerebral que es parte del circuito neuronal que se relaciona con la conducta de ansiedad. Este trastorno se ha relacionado con la obesidad, condición que es ampliamente prevalente a nivel mundial. Sin embargo, esta relación es controvertida porque los datos son inconsistentes. Con base en información de estudios con ratas propensas a la obesidad, se ha sugerido que el desarrollo de ansiedad en los individuos está relacionado con el aumento de peso y las alteraciones metabólicas causadas por esta condición. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo identificar si las ratas Zucker (*fa/fa*) macho, adultas, de seis meses de edad, muestran comportamientos relacionados con la ansiedad en la prueba de campo abierto, en la caja de luz oscuridad y en el laberinto de cruz elevado, además de las posibles alteraciones en la morfología de neuronas piramidales de la mPFC utilizando el método de Golgi-Cox y el análisis de Sholl. Las ratas Zucker macho obesas no mostraron un fenotipo ansioso, pero sí mostraron alto peso corporal y altas concentraciones de glucosa, triglicéridos y colesterol. Tampoco mostraron cambios en los niveles séricos de corticosterona. Sin embargo, las neuronas piramidales de la mPFC mostraron retracción dendrítica basilar a una distancia media del soma, así como una reducción en la longitud dendrítica basilar total, sin cambios en la densidad de las espinas dendríticas. Estos resultados apoyan reportes previos que mencionan que la ansiedad es un rasgo conductual que no se modifica con la obesidad, y que los cambios con respecto a la retracción dendrítica pueden ser resultado de la propia mutación del receptor de leptina (*LepR*) así como de la reducción en la arborización dendrítica que se ha observado en otras regiones del sistema nervioso central de las ratas.

1. Introducción

1.1 Corteza prefrontal medial (mPFC)

La corteza prefrontal (PFC) es un área de alta jerarquía cortical dedicada al procesamiento de funciones ejecutivas de orden superior (Hathaway, 2023), está involucrada en el control inhibitorio, una función ejecutiva central, que se encarga de controlar los impulsos automáticos que tienen los humanos, logrando que antes de reaccionar se haga una pausa para razonar y pensar en la respuesta más adecuada (Otterson, 2022). Se subdivide en tres regiones, la región orbital, la región lateral y la medial. La corteza prefrontal medial (mPFC) está involucrada en el comportamiento emocional (Fuster, 2001). Participa en diferentes procesos cerebrales, como la toma de decisiones, el control emocional, la motivación y la sociabilidad (Xu *et al.*, 2019). La mPFC está modulada por eventos motivacionales, tanto positivos como negativos (Euston *et al.*, 2012), y sus diferentes subregiones reciben entradas de una gran variedad de áreas cerebrales.

1.1.1 Corteza prefrontal medial de roedores

La mPFC está formada por cuatro subregiones anatómicas, el área precentral medial (PrCm), la corteza cingulada anterior (ACC), la corteza prelímbica (PL) y la corteza infralímbica (IL) (Hoover & Vertes, 2007). Tiene una organización laminar que se puede dividir en seis capas, la primera capa es la más superficial, caracterizada por tener poca densidad neuronal, pero muchas fibras (dendritas apicales y axones) provenientes de capas inferiores y de áreas cerebrales distales o proximales, además, sus células son inhibitorias, ya que contienen GABA (Muralidhar *et al.*, 2014). Las capas dos, tres, cinco y seis son habitadas por neuronas piramidales (PN) excitatorias (glutamatérgicas) y en menor cantidad por interneuronas inhibitorias GABAérgicas, mientras que la capa cuatro es poco definida y descrita (Figura 1).

Además, la mPFC de los roedores comparte funciones como la memoria de trabajo, el control de respuestas, la regulación de emociones y la sensibilidad a los factores estresantes con las regiones de la

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

corteza dorsolateral, medial y cingulada en humanos y monos, lo que hace que los roedores sean un organismo valioso para el estudio de esta región cerebral (Jacobs & Moghaddam, 2021).

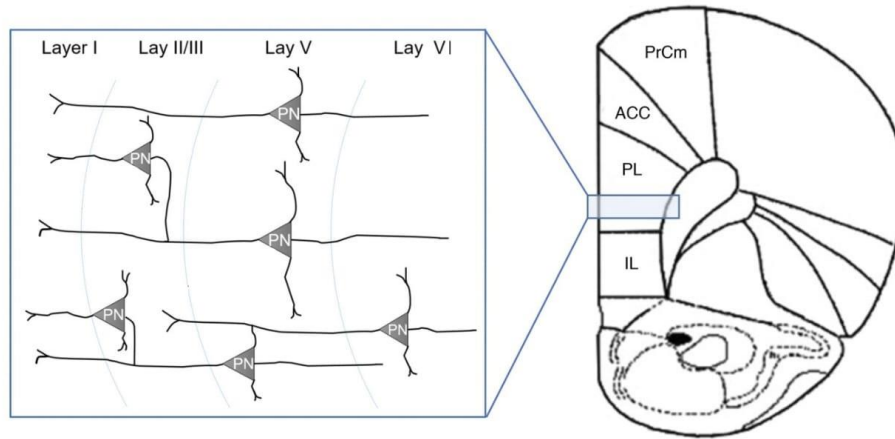


Figura 1. Esquema de las capas de la corteza prefrontal medial (mPFC) y las cuatro subregiones anatómicas en roedores. Tomado y modificado de Xu *et al.*, 2019.

1.1.2 Conectividad de la mPFC

La mPFC presenta una diferenciación en la entrada de información pues la región dorsal recibe información de regiones motoras y como resultado, genera acciones adaptativas, mientras que la región ventral de la mPFC (corteza PL e IL) recibe información de estructuras que se relacionan con las emociones, lo que da lugar a respuestas emocionales adaptativas y autonómicas (Euston *et al.*, 2012); específicamente, se establece comunicación entre las neuronas piramidales de la mPFC con la amígdala basolateral (BLA), el tálamo de la línea medial, el hipocampo ventral (vHPC), la parte contralateral de la mPFC (Xu *et al.*, 2019) así como con la habénula lateral, área que está involucrada con respuestas de dolor, estrés, ansiedad y recompensa (Hikosaka, 2010).

1.2 Neuronas piramidales

Las neuronas piramidales abundan en un 75 a un 80% aproximadamente en la corteza cerebral (Puig *et al.*, 2004), se ha observado que en la PFC, éstas son más ramificadas y espinosas que en los lóbulos occipital, parietal y temporal de humanos y de macacos, por tanto, se sugiere que le confieren a la PFC

1.2.1 Espinas dendríticas

Son pequeñas protuberancias que emergen de las dendritas de muchas neuronas; existen diferentes formas y tamaños, lo que les confiere una estructura heterogénea, el promedio para el tamaño de la cabeza que expresan es de $\sim 1 \mu\text{m}$ de diámetro con un cuello de $\sim 0.2 \mu\text{m}$ de diámetro (Yuste, 2010). Aparecen en forma de filopodio en etapas posnatales y posteriormente se modifican en cuatro tipos principales de espinas dendríticas de acuerdo con su morfología (Figura 3): espinas en hongo que presentan una cabeza grande y un cuello estrecho, generalmente son las estructuras estables; espinas delgadas que presentan una cabeza pequeña y un cuello estrecho, estas son menos estables; espinas achaparradas o “stubby” que carecen de cuello y las espinas ramificadas o en forma de copa, con dos cabezas unidas a un cuello estrecho, éstas tres últimas son menos estables que las espinas en hongo. Cabe mencionar que las neuronas piramidales tienen la característica de poseer la gran diversidad morfológica de espinas dendríticas antes mencionadas (Segura *et al.*, 2018; Chidambaram *et al.*, 2019).

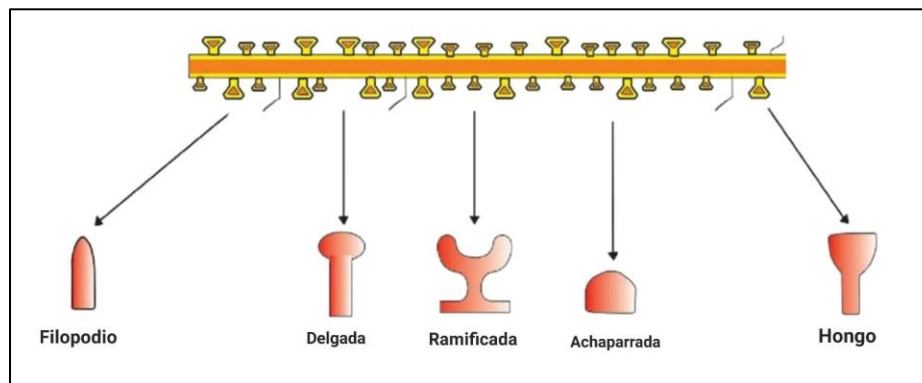


Figura 3. Esquema de los tipos de espinas dendríticas en las que los filopodios se pueden convertir, delgadas, ramificadas o en forma de copa, achaparradas o stubby y las que tienen forma de hongo. Tomado y modificado de Chidambaram *et al.*, 2019.

La arquitectura especializada y la capacidad de modificar la morfología de las espinas dendríticas (Figura 4) depende de la estructura del citoesqueleto y del citoplasma, el cual contiene microtúbulos y microfilamentos de actina que abarcan a la cabeza, el cuello y la periferia de la espina (Matus, 2000); y

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

se relaciona con altas concentraciones de actina que promueve cambios dinámicos en la forma de las células (Carrier & Pantaloni, 1997).

Las espinas dendríticas son estructuras postsinápticas que funcionan como el sitio para que se lleve a cabo la sinapsis en la región denominada densidad postsináptica (PSD, por sus siglas en inglés), es el punto de contacto de las terminales del axón, forman parte de la mayoría de las sinapsis excitatorias y se encargan de integrar las señales locales (Segura *et al.*, 2018).

El sitio PSD o DPS es un complejo de proteínas localizado en la superficie de la membrana postsináptica de las espinas dendríticas, sitio que está compuesto por receptores, canales y sistemas de señalización capaz de recibir señales excitatorias glutamatérgicas a través de los diferentes receptores de glutamato (Kennedy, 2000; Matus, 2000).

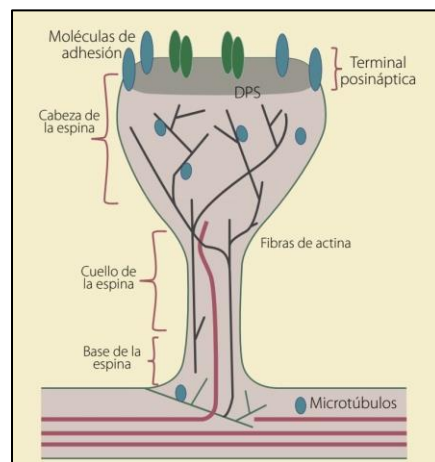


Figura 4. Esquema de una espina dendrítica. Se muestran las diferentes estructuras que conforman a las espinas dendríticas, cómo el sitio DPS (densidad postsináptica), los microtúbulos y las fibras de actina que le confieren flexibilidad a las espinas. Tomado y modificado de Segura *et al.*, 2018.

1.3 Ansiedad

La mPFC es una zona neuronal que se encarga de procesar información proveniente de diferentes áreas, tanto corticales como subcorticales, está relacionada con la regulación del comportamiento pues se ha observado que lesiones de esta área en ratas genera la expresión de comportamientos parecidos a la

ansiedad post-ictus (Déziel & Tasker, 2017). La ansiedad es una respuesta del organismo ante situaciones amenazantes o peligrosas que la mayoría de los humanos hemos experimentado al menos una vez en la vida. Puede interpretarse como una señal de alarma que nos prepara para enfrentar esas situaciones problemáticas. Según la Real Academia Española, el término ansiedad proviene del latín *anxietas* y lo define como un estado de agitación, de inquietud o de zozobra del ánimo; es una combinación de distintas manifestaciones físicas y mentales que no son debido a peligros reales pero que pueden manifestarse en forma de crisis o como un estado persistente y difuso, llegando al pánico (Sierra, Ortega & Zubeidat, 2003).

La ansiedad es el síntoma central de muchos trastornos psiquiátricos y, los trastornos de ansiedad son de las enfermedades psiquiátricas más comunes en la población; según la Organización Mundial de la Salud, en 2019, 301 millones de personas sufrían un trastorno de ansiedad. Estos se caracterizan por un miedo y una preocupación excesiva, y los síntomas son lo suficientemente graves como para provocar una angustia o una discapacidad funcional importante (World Health Organization: WHO, 2022).

1.3.1 Circuito neuronal que regula la ansiedad

La ansiedad *per se* no es un estado patológico, puede expresarse como una respuesta anticipada hacia amenazas o peligros que se nos presentan en el ambiente interno o externo, como un medio que el cerebro y los sistemas fisiológicos utilizan para promover nuestra supervivencia. A esta respuesta se le ha relacionado con diversas estructuras anatómicas que se han conservado evolutivamente para experimentar el miedo y la ansiedad (Kalin, 2020). Cabe mencionar que la ansiedad no es lo mismo que el miedo, ya que este último se define como una respuesta emocional a una amenaza real y la ansiedad es la anticipación de una amenaza futura (Daviu *et al.*, 2019).

La ansiedad es una emoción, resultado de la combinación de diferentes estímulos que son integrados por regiones límbicas del prosencéfalo, como estímulos que se procesan de diferente manera según su origen, pueden seguir vías subcorticales o corticales que resultarán en la activación y en la regulación de las emociones de un organismo ante los estímulos ambientales internos y/o externos (Figura 5) (Purves *et al.*, 2007).

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

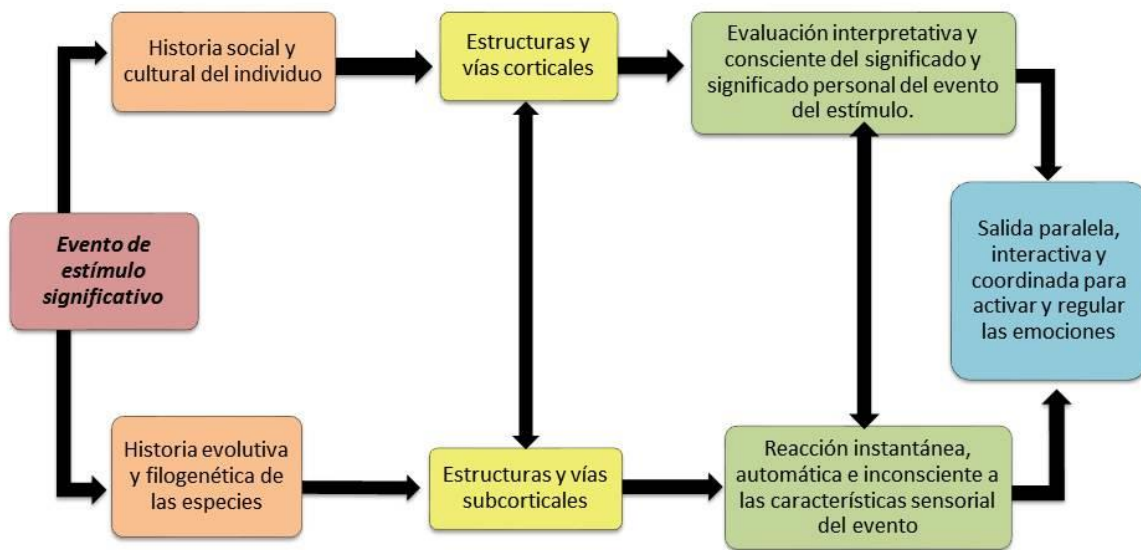


Figura 5. Esquema general de las vías emocionales. Tomado y modificado de Purves *et al.*, 2007.

Para poder interpretar una situación como amenazante y poder construir una respuesta reconocida como ansiedad, el organismo detecta estímulos ambientales con ayuda de los sistemas sensoriales; las regiones encargadas de procesar esta información a nivel de macrocircuito son la amígdala, el núcleo del lecho de la estría terminal (BNST), el hipocampo ventral (vHPC) y la PFC, estructuras altamente interconectadas con proyecciones recíprocas que generarán comportamientos de defensa y de vigilancia (Calhoon & Tye, 2015). Además de estas regiones, el hipotálamo y los núcleos del tallo cerebral se han identificado como áreas activas durante respuestas de ansiedad y estrés en humanos sanos (Daviu *et al.*, 2019).

Ante la presencia de un estímulo sensorial relevante, la amígdala, que recibe proyecciones de la corteza prefrontal (McDonald, 1998), se encarga de generar respuestas; en específico, la amígdala basolateral (BLA) es la estructura que le conferirá un valor emocional a los estímulos ambientales, capaz de determinar si son amenazantes. Las neuronas e interneuronas de la BLA reciben entradas sinápticas de la mPFC y el vHPC, que a su vez reciben proyecciones recíprocas de la BLA, resultando en la estimulación directa de una respuesta ansiosa y en la activación de la evaluación de amenazas, además; el vHPC tiene

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

el papel de conectar a la amígdala con la mPFC en situaciones amenazantes (Figura 6) (Calhoon & Tye, 2015).

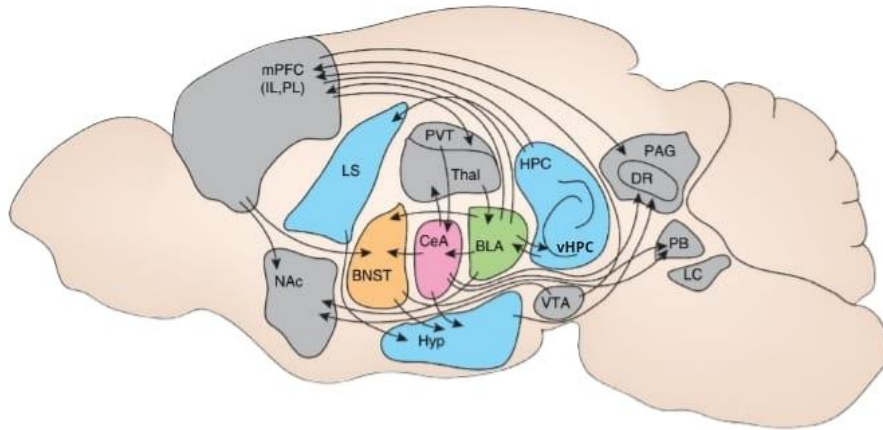


Figura 6. Circuito neuronal implicado en los comportamientos relacionados con la ansiedad en roedores. Se observan las áreas corticales y subcorticales que están involucradas en el procesamiento de la información en la ansiedad. LS, septum lateral; mPFC, corteza prefrontal medial; IL, corteza infralímbica; PL, corteza prelímbica; NAc, núcleo accumbens; BNST, núcleo del lecho de la estría terminal; CeA, amígdala central; PVT, núcleo paraventricular del tálamo; Thal, tálamo; BLA, amígdala basolateral; Hyp, hipotálamo; VTA, área tegmental ventral; HPC, hipocampo; vHPC, hipocampo ventral; PAG, sustancia gris periacueductal; DR, núcleo dorsal del rafe; PB, núcleo parabranquial; LC, locus coeruleus. Tomado y modificado de Calhoon & Tye, 2015.

La ansiedad puede incrementar la interpretación negativa de situaciones y de oraciones ambiguas, lo que sugiere un sesgo de valencia inducido por ansiedad (Daviu *et al.*, 2019). La valencia se define como el valor subjetivo que se le asigna a los estímulos sensoriales, puede ser de valor negativo o positivo, el cual puede generar un comportamiento a un estímulo sensorial, posicionando a la ansiedad con una valencia negativa (Pignatelli & Beyeler, 2019).

Calhoon y Tye (2015) propusieron un circuito para la ansiedad, considerando un modelo que abarca cuatro pasos para el procesamiento de un estímulo sensorial (Figura 7). Comienza con la detección del estímulo, que será filtrado por el tálamo, posteriormente es interpretado y evaluado con ayuda de estructuras corticales y subcorticales, para finalmente, iniciar con una respuesta a nivel de corteza motora o del tallo cerebral, con respuestas autonómicas observables.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

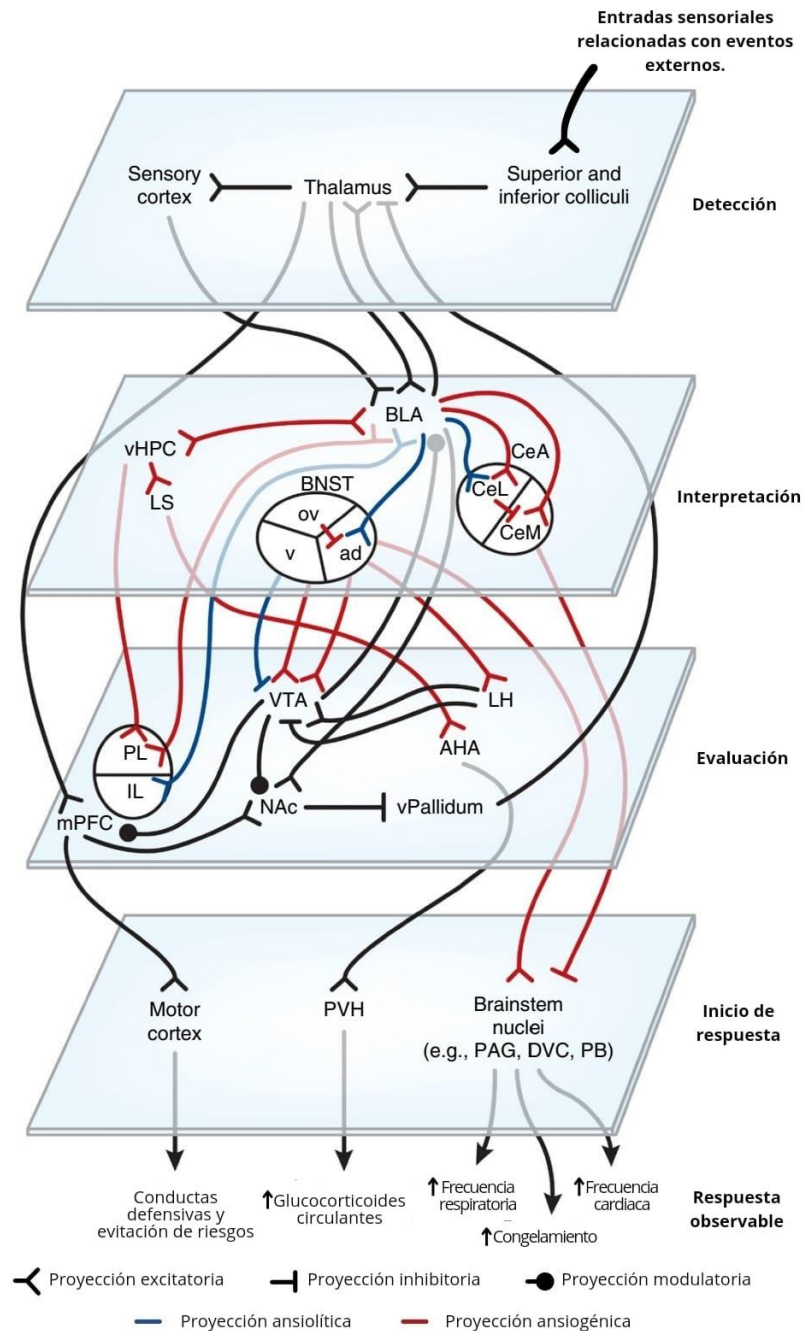


Figura 7. Circuito de la ansiedad. Se observan los cuatro pasos del modelo, detección, interpretación, evaluación y el inicio de la respuesta. vHPC, hipocampo ventral; LS, septum lateral; BLA, amígdala basolateral; BNST, núcleo del lecho de la estría terminal; ad, núcleo anterodorsal del BNST; ov, núcleo oval del BNST; v, BNST ventral; CeA, amígdala central; CeL, subdivisión lateral de la amígdala central; CeM, subdivisión centromedial de la amígdala; VTA, área tegmental ventral; LH, hipotálamo lateral; AHA, área hipotalámica anterior; PL, división prelímbica de la mPFC; IL, división infralímbica de la mPFC; NAc, núcleo accumbens; vPallidum, pálido ventral; PVH, núcleo paraventricular del hipotálamo; PAG, sustancia gris pericueductal; DVC, complejo vagal dorsal; PB, núcleo para branquial. Tomado y modificado de Calhoon & Tye, 2015.

1.4 Obesidad

La obesidad es un problema de salud pública que afecta a la población mundial; se define como una enfermedad crónica, compleja y multifactorial, caracterizada por un exceso de grasa corporal (Pérez-Herrera & Cruz-López, 2018). Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en México, en el 2018, la población adulta de 20 años y más tenían sobrepeso (39.1%) u obesidad (36.1%). La obesidad incrementa la posibilidad de desarrollar diabetes mellitus tipo 2, enfermedades vasculares, reduce la calidad de vida y entre las consecuencias de la obesidad, una de las menos reconocidas es el efecto que tiene sobre la función cognitiva (Bocarsly *et al.*, 2015), que se refiere al procesamiento de información mediante diferentes actividades complejas, como la atención, la memoria, las funciones ejecutivas, entre otras (Cognitive function in brief, 2023). La evidencia sugiere que los adultos mayores con sobrepeso tienen mayor riesgo de acelerar la atrofia cerebral, lo que resultaría en un volumen cerebral general reducido (Ward *et al.*, 2005).

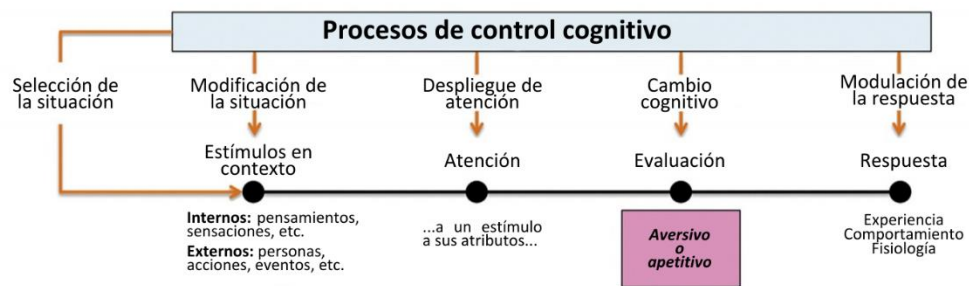
Pannacciulli *et al.* (2006), con ayuda de imágenes de resonancia magnética (IRM), realizaron un estudio para observar diferentes áreas cerebrales en humanos obesos, encontraron que varias estructuras cerebrales presentaron anormalidades en áreas relacionadas con la regulación del gusto, la recompensa y el procesamiento conductual, en específico, las áreas prefrontales. La mPFC es un área anatómica prefrontal que facilita la integración de la memoria de las señales alimenticias (*cue-food memory*) con la motivación alimenticia (Cole *et al.*, 2020); no obstante, se sabe que la PFC es un área que puede comprometerse funcionalmente en etapas de obesidad temprana (Bocarsly *et al.*, 2015). La literatura menciona que individuos con sobrepeso (IMC >25) (Houben *et al.*, 2013) presentan un desempeño deficiente en el control inhibitorio cuando se les somete a una prueba en la que se muestran imágenes con alimentos ricos en energía (Adams *et al.*, 2021); por tanto, se sugiere que un funcionamiento ineficiente del control inhibitorio puede incrementar el riesgo de desarrollar obesidad en la infancia, que es cuando las áreas prefrontales-parietales que están involucradas en el control inhibitorio se están desarrollando (Val-Laillet *et al.*, 2015).

Otra función cognitiva que puede alterar la ingesta de alimentos de un individuo es la reevaluación cognitiva, estrategia que regula las emociones modificando procesos cognitivos para cambiar la respuesta emotiva ante un estímulo (Ochsner *et al.*, 2012). Las regiones cerebrales que se encargan de

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

generar la reevaluación cognitiva es la corteza prefrontal, la corteza cingulada anterior dorsal y la corteza parietal inferior, áreas que modulan las respuestas emocionales generadas por la amígdala, el núcleo estriado ventral, la ínsula y la corteza prefrontal ventromedial (Val-Laillet *et al.*, 2015). Se ha demostrado que la reevaluación cognitiva modula las regiones involucradas en el control inhibitorio cuando se expone a los individuos a estímulos alimenticios palatables (Yokum & Stice, 2013), por lo que un funcionamiento deficiente de las áreas cerebrales relacionadas con los procesos de control cognitivo resultaría en individuos incapaces de regular su apetito (Figura 8) (Ochsner *et al.*, 2012).

A Estrategias y procesos



B Sistema neural

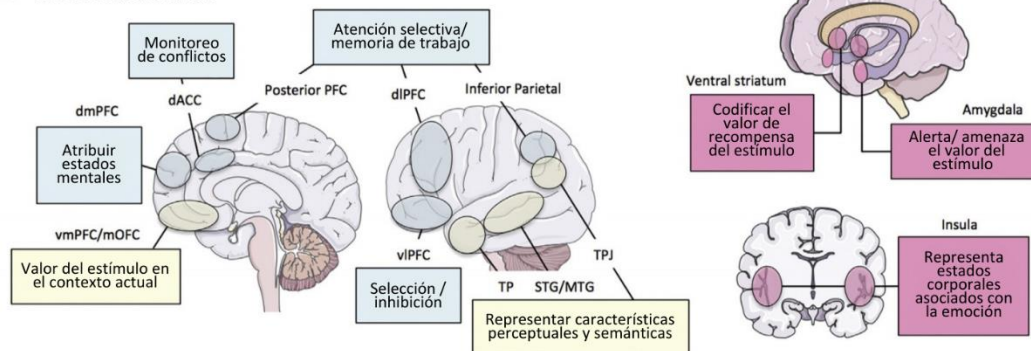


Figura 8. Modelo del control cognitivo de una emoción. A) Diagrama de las estrategias y pasos involucrados en los procesos de control cognitivo para generar una emoción. B) Sistema neural que regula los procesos de control cognitivo, como la regulación de las emociones (recuadros azules) y la generación de una respuesta (recuadros rosas). dmPFC, corteza prefrontal dorsomedial; dACC, corteza cingulada anterior dorsal; vmPFC, corteza prefrontal ventromedial; mOFC, corteza orbitofrontal medial; PFC, corteza prefrontal; dlPFC, corteza prefrontal dorsolateral; vlPFC, corteza prefrontal ventrolateral; TP, polo temporal; STG/MTG, lóbulo temporal superior/lóbulo temporal medial. Tomado y modificado de Ochsner *et al.*, 2012.

1.4.1 Relación entre obesidad y ansiedad

En la obesidad pueden presentarse problemas, tanto físicos, como sociales y psicológicos (Guajardo & Peña, 2017), por lo que varios estudios relacionan la obesidad con la ansiedad, el estrés y la depresión. Se ha observado que el sobrepeso y la obesidad (IMC >25 y >30 respectivamente) se relacionan con síntomas de ansiedad y de depresión (Zhao *et al.*, 2009), así mismo, las alteraciones metabólicas que caracterizan al síndrome metabólico (obesidad abdominal, hiperglicemia, hipertensión y triglicéridos elevados) aumentan las probabilidades de desarrollar ansiedad (Tang *et al.*, 2017). Además, se ha observado que una ingesta prolongada de grasas saturadas afecta la homeostasis energética, estimulando al tejido adiposo visceral y la inflamación en humanos; en el caso de roedores y humanos existen alteraciones en la señalización central de leptina e insulina (Frank-Podlech *et al.*, 2018), así como se ha reportado que hay una relación del consumo de dietas obesogénicas con el desarrollo de comportamientos similares a la ansiedad (Fulton *et al.*, 2022).

1.4.2 Fisiología de la conducta alimenticia

En los organismos, la alimentación puede determinar su supervivencia y su éxito reproductivo, hablando evolutivamente (Cox *et al.*, 2012). En los humanos, el fácil acceso a alimentos con gran cantidad de calorías determina que se pueda desarrollar obesidad. Para que existan decisiones alimenticias apropiadas, la información sensorial y las funciones cerebrales de alto rango deben trabajar en conjunto para procesar la información ambiental y las necesidades internas o fisiológicas que surjan a la hora de tener apetito o no (Hao *et al.*, 2020).

Hao *et al.*, (2020) mencionaron que el balance de nutrientes y las reservas de los mismos en el cuerpo, homeostasis alimentaria, se modula a través de circuitos cerebrales y a partir de cuatro fases. En la primera fase, el organismo detecta la deficiencia de energía, posteriormente surge la búsqueda de alimento, seguido por la ingesta de alimentos y finaliza con la última fase corresponde a la terminación de la ingesta de alimentos.

El tejido adiposo, el hígado, el páncreas, el tracto gastrointestinal, los músculos y huesos empiezan mandando señales moleculares que activan cascadas de información intracelular a partir de grelina e

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

insulina para informarle al cerebro, si existen cambios en la energía corporal lo que genera una disminución en los niveles de leptina (Hao *et al.*, 2020).

El hipotálamo es una estructura clave para mantener la homeostasis energética que se relaciona con los comportamientos alimenticios (Saper *et al.*, 2002; Jennings *et al.*, 2013; Hao *et al.*, 2020); en específico, al activarse las neuronas del núcleo arcuato del hipotálamo (Arc) se envían señales relacionadas con la escasez de energía al BNST y al PVH principalmente (Figura 9) (Hao *et al.*, 2020) para detectar niveles deficientes de grelina (Atasoy *et al.*, 2012) y de ese modo, se activa la búsqueda de alimento.

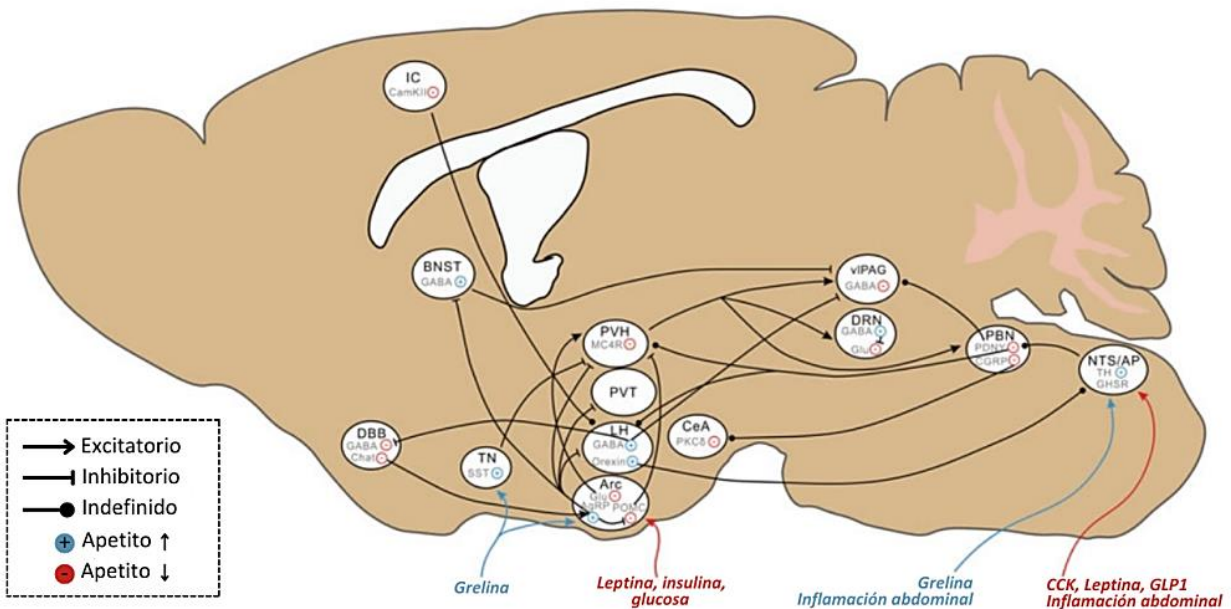


Figura 9. Circuito neuronal implicado en la alimentación homeostática en roedores. AP área postrema, Arc núcleo arcuato, BNST núcleo del lecho de la estría terminal, CeA núcleo amigdalóide central, DBB banda diagonal de Broca, DRN núcleo del rafe dorsal, IC corteza insular, LH hipotálamo lateral, NTS núcleo del tracto solitario, PBN núcleo parabrancuial, PVH núcleo paraventricular hipotalámico, PVT núcleo paraventricular del tálamo, TN núcleo tuberal, VIPAG sustancia gris periacueductal ventro-lateral. Tomado y modificado de Hao *et al.*, 2020.

1.5 Rata Zucker Diabetic Fatty (ZDF)

Las ratas Zucker Diabetic Fatty *fa/fa* (ZDF) macho frecuentemente son usadas como modelos animales para el estudio de enfermedades, como la obesidad o la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Dichas ratas expresan la mutación recesiva “fatty” (*fa*), descubierta en 1961 por Lois Zucker, que está presente en el gen del receptor de la leptina (*LepR*) y que se expresa en estado de homocigosis (*fa/fa*). Por la mutación, las ratas son infértiles por lo que se requiere de animales en estado heterocigoto (*fa/+*) para poder reproducir a la cepa ZDF, de ahí que, de ocho crías obtenidas de la cruce, solo un macho es homocigoto *fa/fa* (Yokoi *et al.*, 2013).

Las ratas Zucker presentan alteraciones que son resultado de la mutación “fatty” de carácter autosómico recesivo, como el desarrollo espontáneo de hiperglicemia y de obesidad en los primeros meses de vida, así como una reducción en la producción de insulina (Wang *et al.*, 2014; Jönssoon *et al.*, 2018), desarrollan obesidad mórbida (Figura 9), hipertrofia e hiperplasia de las células adiposas, aumento en la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL) del tejido adiposo, resistencia a la insulina, disminución del gasto energético (Johnson *et al.*, 1997) y exhiben hiperinsulinemia, hiperlipidemia e hiperfagia, convirtiéndolas en un modelo de obesidad genética espontánea (Oana *et al.*, 2005).

En cuanto a la obesidad, dicha condición se observa desde etapas tempranas del desarrollo postnatal, entre la tercera y la quinta semana de edad, y a las 14 semanas de vida el 40% de su peso corporal está compuesto de lípidos (Aleixandre & Miguel, 2008).



Figura 9. Rata Zucker Diabetic Fatty (*fa/fa*). Tomado de Charles River Laboratories.

1.6 Leptina

Es una hormona peptídica anorexigénica (supresora del apetito) constituida por 167 aminoácidos (Sousa *et al.*, 2009), que modula la ingesta de alimentos y el balance energético; es expresada en el sistema nervioso central y en el tejido adiposo blanco, se libera al torrente circulatorio y pasa a través de la barrera hematoencefálica (Uysal *et al.*, 2017) hasta alcanzar los órganos blanco. La cantidad de leptina que se libera es proporcional a la cantidad de lípidos almacenados, resultando en una disminución en la ingesta y el aumento del gasto energético (Aleixandre & Miguel, 2008; Van Zessen *et al.*, 2012).

Se ha observado en animales y en humanos que la falta del efecto de la leptina se relaciona con alteraciones en la organización neuroanatómica en el sistema nervioso central (Pannacciulli *et al.*, 2006). En ratones, una disfunción en la señalización de la leptina provoca obesidad espontánea *ob/ob* (Van Zessen *et al.*, 2012).

La leptina se une a los receptores transmembrana (LepR) de un solo paso, que se encuentran en el área tegmental ventral (VTA), en el hipocampo, en la amígdala y en la PFC (Ateş *et al.*, 2013). El VTA recibe información proveniente de diferentes áreas del hipotálamo (Figura 10), que son moduladas por la leptina o la grelina, y proyecta hacia el núcleo accumbens, a la amígdala y a la corteza prefrontal, señales que pueden suprimir o estimular el apetito (Van Zessen *et al.*, 2012).

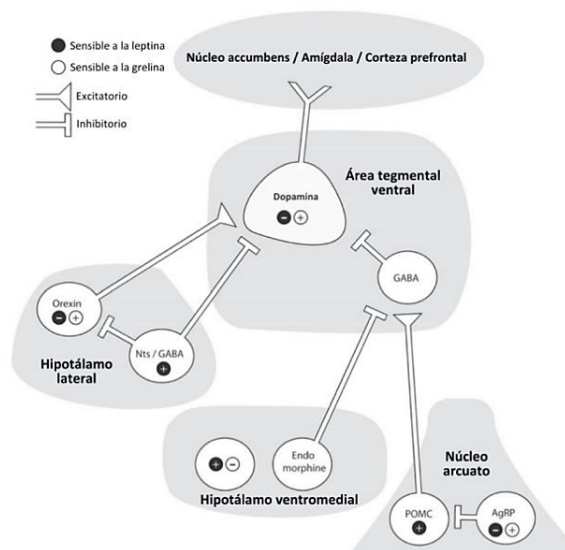


Figura 10. Esquema de las entradas del VTA provenientes del hipotálamo, moduladas por la leptina y la grelina. Tomado y modificado de Van Zessen *et al.*, 2012.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

1.6.1 Mutación en el gen del receptor de la leptina (*Ob-R*)

Es la condición responsable del fenotipo obeso en las ratas ZDF *fa/fa*, por la alteración en la señalización de la leptina, hace que las ratas se vuelvan obesas en su adolescencia (Thanos *et al.*, 2008). Es una mutación sin sentido de A a C en el gen *Lepr* en el cromosoma 5 (*Lepr^{fa}*) que produce la sustitución de un solo aminoácido de glutamina (Gln) por una prolina (Pro) (Johnson *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2014). La función de este receptor es modular la actividad de diferentes péptidos orexigénicos como son el neuropéptido Y, la galanina, las orexinas, la hormona concentradora de melanina y la grelina (Aleixandre & Miguel, 2008), que tienen la capacidad de aumentar el apetito y con ello el aumento en la ingesta.

1.6.2 Vía de señalización de la leptina

Un funcionamiento adecuado da lugar a que la leptina se una a su receptor nombrado como Ob-R, el cual es codificado por el gen *Lepr* que activa la vía de transducción de señales a través de las Janus-cinasas-transductores de la señal y activadores de la transcripción (JAK-STAT) (Figura 11). En ausencia de leptina, el receptor se encuentra como un monómero, pero en presencia de leptina (unión de la hormona en el dominio extracelular del receptor) dos monómeros se unen y forman un dímero funcional, que es capaz de estimular la autofosforilación de JAK2 y de residuos de tirosina del mismo receptor. En específico, la Tyr1138 media la dimerización y la translocación de STAT3 al núcleo para activar la transcripción genética y activar diferentes consecuencias a nivel fisiológico, como la proliferación y supervivencia celular (Sousa *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2014; Hales *et al.*, 2022).

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

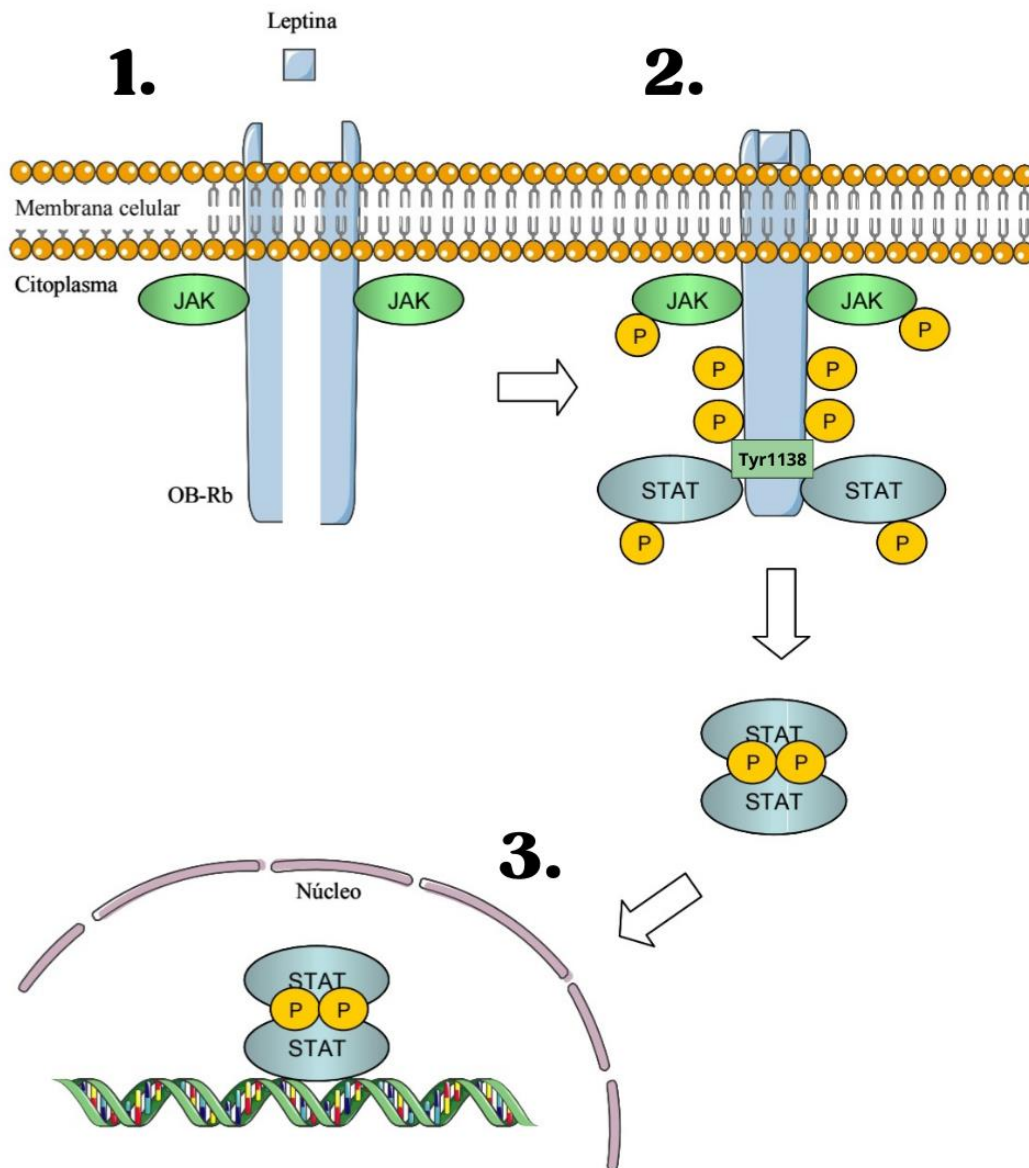


Figura 11. Vía de señalización mediada por leptina. 1) La hormona llega al sitio de unión extracelular del receptor Ob-R, en forma de monómero. 2) Formación de un dímero y autofosforilación de JAK3 y Tyr1138. 3) Translocación de STAT3 al núcleo. Tomado y modificado de Sousa *et al.*, 2009.

2. Antecedentes

El uso de animales de laboratorio como la rata ZDF permite el estudio de enfermedades como la DM2 y las posibles alteraciones de su sistema nervioso central. Se le considera un modelo que evalúa la influencia del síndrome metabólico en el cerebro y la correlación con los fenómenos degenerativos de la obesidad (Tomassoni *et al.*, 2013).

Se sabe que las ratas ZDF de 30 semanas, presentan mayores niveles de glucosa en sangre y de corticosterona en comparación con las ratas Zucker delgadas usadas como control (LZC) (Hwang *et al.*, 2010).

Se compararon ratas ZDF y LZC en la prueba de campo abierto para evaluar posibles comportamientos similares a la ansiedad en diferentes semanas de edad, con una lesión traumática leve, sin lesión y semanas después de la lesión en la placa ósea parietal izquierda o derecha, se encontró que ratas ZDF de 8 a 12 semanas de edad, mostraron comportamientos similares a la ansiedad en la prueba de campo abierto, en comparación con las ratas LZC (Grinberg & Zimering, 2023).

También se conoce que ratas con obesidad inducida por dieta alta en grasas expresan conductas relacionadas con ansiedad (De Noronha *et al.*, 2017).

Un estudio comparó cuatro cepas de ratas de ocho semanas de edad, entre ellas a la cepa ZDF (*fa/fa*), a la Sprague-Dawley, a la Obese Prone y a la Obese Resistant, se les sometió a pruebas de comportamiento: laberinto en cruz elevado y campo abierto. Encontraron que las ratas Zucker (*fa/fa*) tuvieron la menor actividad locomotora en el campo abierto y el menor número de entradas en los brazos abierto del laberinto en cruz elevado en comparación con las otras cepas, lo que indica que las ratas ZDF (*fa/fa*) expresaron más comportamientos similares a la ansiedad en la prueba de LCE (Vogel *et al.*, 2017), pero en la prueba de CA es posible que existan alteraciones motoras por su condición obesa, como lo encontrado por Pompeani *et al.*, (2014) al comparar el peso muscular de ratas Zucker obesas con controles delgados, esperaban adaptaciones compensatorias en la musculatura de las ratas obesas para soportar su peso corporal y por el contrario, encontraron que las ratas Zucker obesas presentaron una reducción significativa en el peso muscular en comparación con las ratas delgadas, condición que podría explicar la presencia de daño motor en estos organismos.

3. Justificación

La obesidad es un problema de salud multifactorial y mundial debido a la alta prevalencia que se tiene y a que se relaciona con el establecimiento de diversos trastornos como la diabetes mellitus tipo 2 y la hipertensión arterial. Asimismo, se ha mencionado una relación bidireccional entre obesidad y estrés, pues ante la presencia de obesidad, aumentan los niveles de glucocorticoides y al aumentar la liberación de dichas hormonas, se promueve una resistencia a la leptina y como consecuencia ganancia de peso debido a la condición (Foss & Dyrstad, 2011). Para el estudio de la obesidad se tienen diferentes modelos biológicos, entre ellos, se ha utilizado a las ratas ZDF obesas, debido a que presenta incremento de peso, de circunferencia abdominal, de glucosa, de triglicéridos y colesterol en sangre. Además, diversos estudios mencionan una hiper-reactividad del eje hipotálamo-hipofisiario- adrenal lo que sugiere posibles alteraciones psicológicas (Chaouloff, 1994) entre ellas, la ansiedad. Los estudios a la fecha mencionan que las ratas Zucker obesa no es ansiosa, no obstante, dichos estudios evaluaron la conducta en animales jóvenes. De acuerdo con esto, nos planteamos reconocer si la condición de obesidad genética en edad adulta promueve la expresión de comportamientos parecidos a la ansiedad y alteraciones en la arborización dendrítica de las neuronas piramidales de la mPFC que han sido implicadas en la expresión de dichas conductas.

4. Hipótesis

Las ratas macho Zucker obesas (*fa/fa*) adultas expresan ansiedad y presentan alteraciones en la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial.

5. Objetivos

5.1 General

Identificar si las ratas Zucker (*fa/fa*) macho de seis meses de edad muestran comportamientos relacionados con la ansiedad y alteraciones en la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial.

5.2 Específicos

- I. Comprobar el fenotipo obeso de ratas macho Zucker (*fa/fa*) adultas mediante parámetros zoométricos (peso corporal, talla, circunferencia abdominal y torácica) y el índice de Lee.
- II. Evaluar posibles comportamientos semejantes a ansiedad de ratas macho Zucker (*fa/fa*) adultas a través de la prueba de campo abierto, de la caja de luz–oscuridad y del laberinto en cruz elevado.
- III. Cuantificar la concentración de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona en plasma de ratas macho Zucker (*fa/fa*) adultas.
- IV. Analizar la arborización dendrítica apical y basilar de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas macho Zucker (*fa/fa*).
- V. Evaluar la densidad de espinas dendríticas de tercer orden de ramificación del árbol apical y basilar de neuronas piramidales de corteza prefrontal medial de ratas macho Zucker (*fa/fa*).

6. Material y métodos

6.1 Material biológico

Antes de obtener a los animales de experimentación, se aprobó el curso de manejo y vías de administración en rata de laboratorio por parte del Bioterio Claude Bernard, del cual se obtuvo un memorándum que abarcó el tiempo que se realizó el proyecto. Posteriormente se obtuvieron del Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), ocho ratas macho de la cepa Long Evans (LE) como grupo control y ocho ratas macho de la cepa Zucker (*fa/fa*) como grupo experimental de cuatro meses de edad, las cuales se monitorearon hasta los seis meses de edad. Todas las ratas se mantuvieron con un ciclo de luz-oscuridad de 12:12, temperatura de $21 \pm 1^\circ \text{C}$, humedad relativa del 55% y con acceso a alimento y agua *ad libitum*. Todos los procedimientos de este estudio se llevaron a cabo de acuerdo con las normas técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio de SAGARPA México (NOM 062 ZOO-1999) y del Comité Institucional para el Cuidado y Uso y de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla con número de oficio de aprobación VIEP/0357/2022. Los animales estuvieron bajo supervisión continua del Dr.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

Francisco Ramos Collazo y por parte del laboratorio de Neurofisiología Experimental desde los cuatro meses hasta los seis meses de edad postnatal de los organismos.

6.2 Esquema general de trabajo

Desde los cuatro meses, hasta los seis meses de edad, se manipuló tres veces por semana y se pesó una vez a la semana a los animales. Cuando cumplieron cinco meses de edad, se sometieron a las pruebas de campo abierto (CA), de la caja de luz-oscuridad (CLO) y del laberinto en cruz elevado (LCE), en el periodo de 8 – 12 horas por día y en un cuarto de conducta con condiciones óptimas para minimizar el ruido; cada prueba se grabó con una cámara Sony DSC-QX10 con ayuda de la aplicación Imaging Edge, los software Auto-Track (CA) y ANY-Maze (LCE) para su análisis posterior en Excel y GraphPad Prism 8. A los seis meses de edad, los animales fueron sometidos a anestesia profunda con una solución de xilacina (100 mg/kg) y ketamina (75 mg/kg) vía intraperitoneal (IP) para obtener al menos 2 ml de sangre en tubos para muestra de sangre con EDTA, posteriormente las muestras se llevaron a la centrífuga a 1500 rpm durante 15 minutos, se colocaron al menos 2 µL del sobrenadante en tubos Eppendorf de 1.5 ml rotulados para la cuantificación de concentraciones de glucosa, colesterol, triglicéridos y corticosterona, y se disecó el cerebro para llevar a cabo el análisis de arborización dendrítica y de espinas dendríticas (Figura 12).

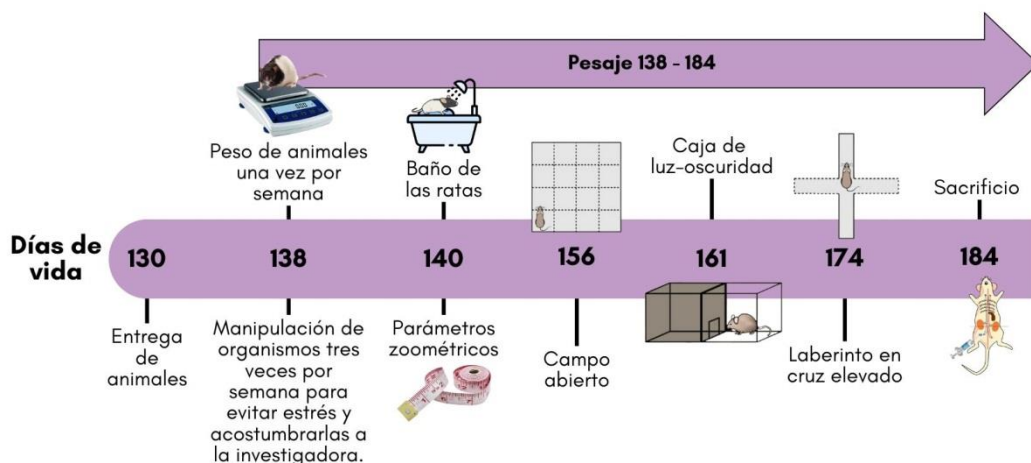


Figura 12. Diagrama de trabajo. Ratas macho Long Evans (grupo control) y ratas macho Zucker (*fa/fa*) (grupo de estudio).

6.3 Pruebas de conducta

6.3.1 Campo abierto (CA)

La prueba se basa en enfrentar a un roedor a una situación novedosa, en este caso para explorar un nuevo entorno y evitar áreas brillantes y/o expuestas (Sturman *et al.*, 2018). Generalmente, el campo abierto (CA) es un espacio cuadrado, rectangular o circular, rodeado de muros que impiden el escape de los roedores (Gould *et al.*, 2009), mide variables cómo la locomoción horizontal (número de cruces en las líneas marcadas en el suelo) y la frecuencia de los erguidos y el acicalamiento (Prut & Belzung, 2003).

Esta prueba se utilizó para evaluar los diferentes comportamientos de los roedores relacionados con la ansiedad y la locomoción; se pueden observar comportamientos cómo el incremento en la evaluación de riesgos, reducción de la exploración, búsqueda de refugio, escape y defecación (Bailey & Crawley, 2009).

Cuando las ratas LE y Zucker obesas cumplieron 156 días postnatales, se llevaron al cuarto de conducta iluminado con 100 luxes e insonoro y en el cual se tiene el campo abierto Opto Varimex Arena, de 44.5 x 24 cm de acrílico transparente (Figura 13). Con ayuda del software Auto-Track y de sensores infrarrojos colocados en los ejes X, Y y Z, se detectaron los movimientos y la posición de las ratas durante 15 minutos por sujeto ($n = 8$).

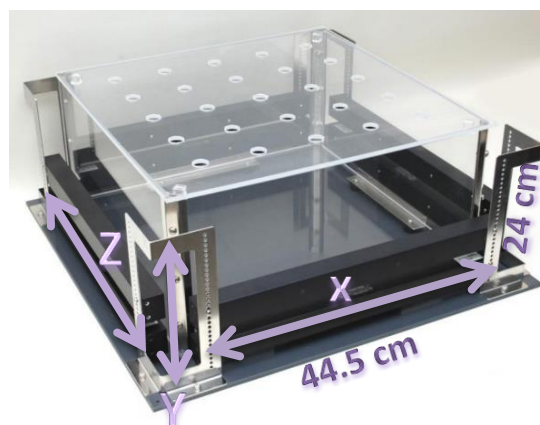


Figura 13. Opto Varimex Arena. Posición de los sensores infrarrojos y dimensiones del CA. Tomado de Columbus Instruments, Opto-Varimex Auto-Track user manual (2015).

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

Se usaron dos arenas para evaluar de forma simultánea a un individuo de cada grupo experimental. Cada arena está dividida en nueve cuadrantes y para iniciar la prueba se coloca a cada organismo en el cuadrante central de la arena. Entre las dos arenas se colocó una mica oscura para evitar el contacto visual entre las ratas (Figura 14). Al finalizar la prueba, los organismos se colocaron de regreso a su caja familiar y los campos abiertos se limpiaron con una solución de alcohol y agua (30:70).

Las variables que se registraron con el software Auto-Track fueron la distancia recorrida (cm), el tiempo total de deambulación (s), el número de erguidos, el tiempo total de permanencia en erguido (s), el número de entradas al cuadrante central, la permanencia en el cuadrante central (s), el número de entradas a las esquinas y la permanencia en las esquinas (s); en cuanto al tiempo de acicalamiento, se usó un cronómetro para medirlo manualmente y posteriormente analizarlas en Excel y en GraphPad Prism 8.



Figura 14. Prueba de campo abierto. En la figura se observan dos arenas Opto Varimex juntas para monitorear simultáneamente la actividad de una rata LE y una ZDF. En medio de las dos arenas se colocó una mica oscura para evitar el contacto visual entre las dos cepas.

6.3.2 Caja de luz-oscuridad (CLO)

Es una prueba que utiliza la aversión natural de los roedores por las áreas iluminadas y consiste de colocar a los organismos en una caja de dos compartimentos, uno oscuro y uno blanco. Los roedores prefieren el área oscura y evitan entrar al área iluminada (Bourin & Hascoët, 2003; Ardayfio & Kim, 2006).

A los 161 días postnatales se recogieron a las ratas del bioterio Claude Bernard y se llevaron al cuarto de conducta iluminado con 100 luxes e insonoro. La caja es de acrílico y tiene dimensiones de 100 (largo) x 55 (ancho) x 94 cm (altura); está dividida en dos compartimentos que tienen una dimensión de 50 x 50 cm, y los cuales se separan por una pared, no obstante, en la parte inferior central se ubica una puerta que comunica los dos compartimentos para permitir el libre desplazamiento de los animales de un lado a otro (Figura 15). Cada sesión se grabó con una cámara Sony DSC-QX10 con ayuda de la aplicación Imaging Edge y se registró el número de cruces de un compartimento a otro, que es cuando las cuatro patas del roedor se encontraban en el otro compartimento (Ardayfio & Kim, 2006), además, se midió el tiempo de permanencia en el compartimento oscuro (s) y en el compartimento iluminado (s) a lo largo de 10 minutos que dura la prueba para su posterior análisis en Excel y GraphPad Prism 8 ($n=8$).

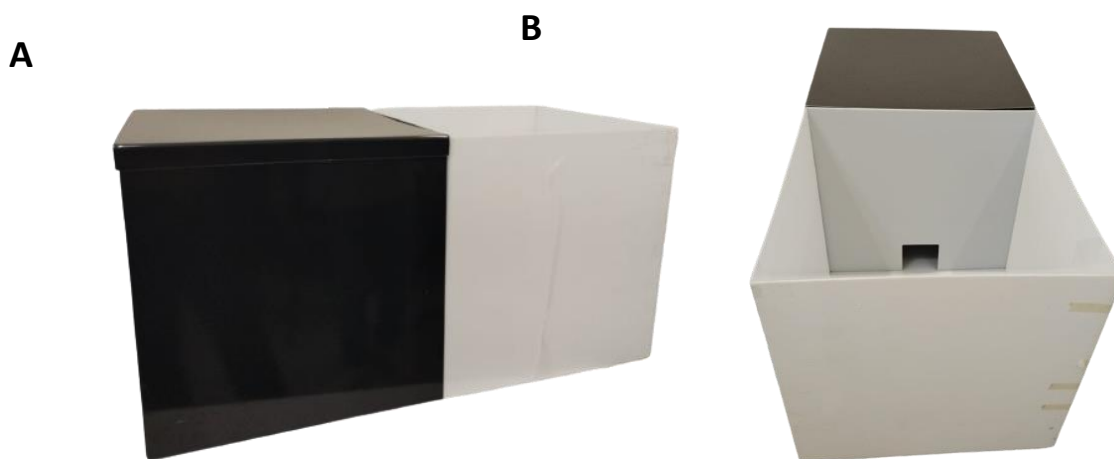


Figura 15. Caja de luz-oscuridad. A) Se observan los dos compartimentos, oscuro y claro y B) la puerta en la parte inferior para permitir el cruce de un compartimento a otro.

6.3.3 Laberinto en cruz elevado (LCE)

Esta prueba se basa en la aversión natural de los roedores a espacios abiertos y elevados, además de usar su curiosidad innata para explorar lugares nuevos. Es usada para medir comportamientos similares a la ansiedad en roedores (Yoshizaki *et al.*, 2020) y considera que los roedores con menos ansiedad visitan con más frecuencia los brazos abiertos y los que muestran más ansiedad visitan con más frecuencia los brazos cerrados (Kraeuter *et al.*, 2018).

A los 174 días postnatales se recogieron a las ratas LE y OZDF del bioterio Claude Bernard y se llevaron al cuarto de conducta iluminado con 100 luxes e insonoro. El aparato que se utilizó es de madera de 50 x 12 x 100 cm, está compuesto de cuatro brazos en forma de cruz, de los cuales dos no tienen paredes laterales por lo que se exponen como brazos abiertos, mientras que los otros dos están rodeados por paredes y se nombran como cerrados; dichos brazos intersectan en un centro de 12 x 12 cm (Figura 16).

Al inicio de cada prueba se colocó a cada organismo en el centro del aparato y con el software Any-maze se obtuvieron los datos del número de cruce de un brazo a otro, número de entradas a brazos abiertos y a brazos cerrados, así como el tiempo que permanecían en los brazos abiertos y cerrados durante 5 minutos que dura la prueba para su posterior análisis en Excel y GraphPad Prism 8 ($n = 8$).

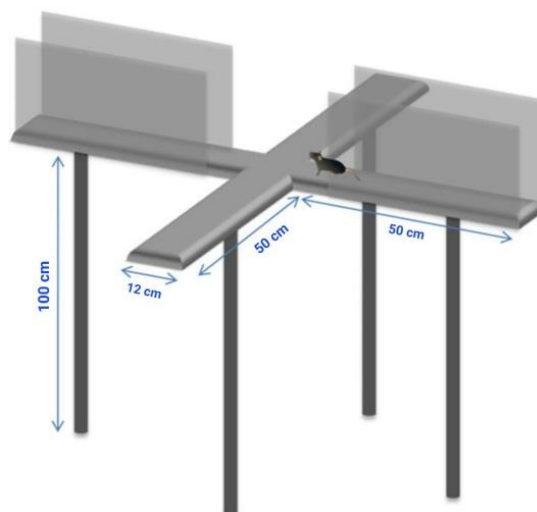


Figura 16. Esquema del aparato para la prueba de laberinto en cruz elevado con sus dimensiones. Tomado y modificado de Kraeuter *et al.*, 2018.

6.4 Morfología neuronal

6.4.1 Sacrificio y tinción de Golgi-Cox

A los seis meses de edad, los animales fueron anestesiados vía intraperitoneal con una solución de xilacina (100 mg/kg IP.) y ketamina (75 mg/kg IP.) tomando en cuenta la dosis de 0.20 ml/100 g de peso corporal vivo para provocar anestesia profunda y medir la talla (longitud naso-anal), la circunferencia abdominal y la circunferencia torácica. Los datos del peso y la talla se utilizaron para calcular el índice de Lee, el cual sugiere obesidad en un organismo si el porcentaje es mayor de 310% (Arika *et al.*, 2019), se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Lee \%} = \frac{\sqrt[3]{\text{Peso corporal (g)}}}{\text{Longitud naso - anal (cm)}} \times 1000$$

Inmediatamente se inició el proceso de extracción de sangre y del encéfalo. Primero se extrajeron aproximadamente 2 ml de sangre por medio de una punción cardíaca en tubos para muestras de sangre para centrifugar a 1500 rpm por 15 minutos y tomar 2 µL del sobrenadante en tubos Eppendorf de 1.5 ml para la cuantificación de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona con kits de la marca MEXLAB y Cayman Chemical, se mide la absorbancia en un espectrofotómetro a 505 nm para glucosa y colesterol, a 510 nm para triglicéridos y se realizan los cálculos para obtener su concentración, para la cuantificación de corticosterona se realizó un ELISA competitivo y se lee la absorbancia de la placa a 450 nm, posteriormente se les realizó una perfusión vía intracardiaca con solución salina al 0.9% y se procedió a decapitar a los organismos para extraer el encéfalo, el cual se colocó en una solución de Golgi-Cox por 14 días. Después de 15 días de sumergir el tejido en la solución de Golgi-Cox, el encéfalo se cambió por solución de sacarosa al 30% y se dejaron los cerebros en dicha solución por al menos tres días, para posteriormente obtener cortes coronales de 200 µm a nivel de la corteza prefrontal medial con ayuda de un vibratomo Leica VT1000S y de acuerdo con las coordenadas de 4.70 mm a 2.20 mm respecto a Bregma (Figura 17). Los cortes se colocaron en laminillas previamente gelatinizadas al 2% por toda una noche para posteriormente revelar la tinción.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

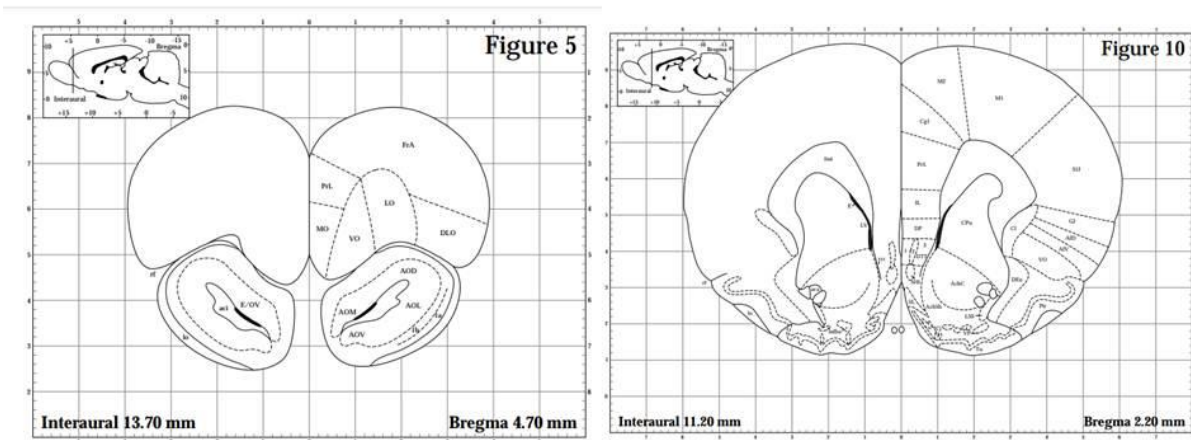


Figura 17. Ubicación de la mPFC según las coordenadas de Bregma. Tomado y modificado de Paxinos & Watson, 1982.

El proceso de revelado se realizó en un cuarto oscuro iluminado con luz roja, las laminillas se sumergieron en agua destilada por un minuto, posteriormente se incubaron por 30 minutos en hidróxido de amonio, pasados este tiempo, los cortes se volvieron a enjuagar con agua destilada por un minuto para sumergirlos otros 30 minutos en fijador rápido de Kodak; al finalizar el tiempo se enjuagaron en agua destilada por otro minuto para seguir con la deshidratación del tejido utilizando un tren de soluciones de alcohol, al 50%, seguido de al 70% y al 95% por un minuto en cada solución. Después se incubaron en dos baños de alcohol al 100% por cinco minutos cada uno, y xileno por 15 minutos. Pasado el tiempo se prendió la luz y se procedió a colocar resina Entellan en cada laminilla (Gibb & Kolb, 1998).

6.4.2 Análisis morfológico

Con ayuda del atlas de Paxinos y Watson (1982) se ubicó a la mPFC para dibujar en papel a las neuronas piramidales mediante una cámara lúcida (cámara de dibujo) adaptada a un microscopio óptico Leica DM1000 LED y a una amplificación de 400x. Se seleccionaron 10 neuronas por individuo, cinco del hemisferio izquierdo y cinco del derecho que mostraran su soma ubicado en la capa V, que tuvieran al menos tres ramificaciones dendríticas basales de primer orden, con una buena tinción (neurona negra en un fondo claro) y relativamente aislada para no confundir las dendritas de la neurona con las de otras neuronas aledañas.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

Con ayuda de una hoja de acetato se imprimió un patrón de círculos concéntricos equidistantes cuya distancia entre ellos representa 10 μm , para realizar el análisis de Sholl. Se colocó la hoja sobre el dibujo de la neurona, posicionando el primer círculo concéntrico (del centro) sobre el soma de la neurona piramidal (Figura 18) y se cuantificó el número de intersecciones dendríticas por cada círculo concéntrico. Con estos datos se calculó la arborización dendrítica, la longitud dendrítica total y la longitud dendrítica por orden de ramificación. Además, se dibujaron representaciones bidimensionales usando una ampliación de 1000x de segmentos dendríticos de tercer orden de ramificación de al menos 10 μm para calcular la densidad de espinas dendríticas (Silva-Gómez *et al.*, 2003). Los datos del árbol basilar fueron registrados de manera independiente a los datos del árbol apical.

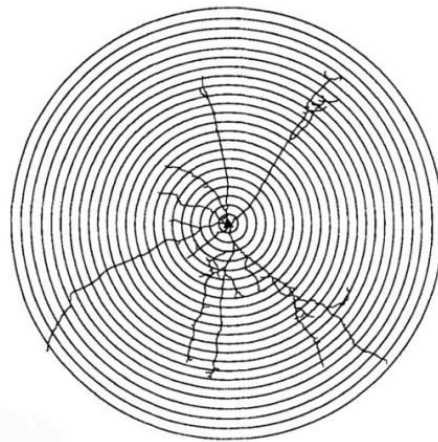


Figura 18. Diagrama del análisis de Sholl. Cada círculo concéntrico representa 10 μm . Tomado y modificado de Neale *et al.*, 1993.

6.5 Análisis estadístico

A todos los datos se les realizó una prueba de normalidad mediante el método de Shapiro-Wilk para conocer su distribución. Las variables dependientes de este trabajo son las medidas zoométricas, la concentración de las macromoléculas, la arborización dendrítica, la longitud dendrítica total, la densidad de espinas dendríticas y las variables medidas de las pruebas de conducta. La variable independiente es la cepa, el orden de ramificación y los círculos concéntricos.

En cuanto a los datos zoométricos que abarca la circunferencia abdominal, circunferencia torácica, la talla y el índice de Lee, éstos fueron analizados estadísticamente mediante una prueba de *t* de Student.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

El cambio en el peso corporal a lo largo de las semanas de monitoreo fue analizado mediante una ANOVA de 2 vías y una *post-hoc* de comparaciones múltiples de Šídák's (recomendado por el paquete estadístico). También, la concentración de las macromoléculas y las variables de las pruebas de conducta, se analizaron mediante la prueba de *t* de Student para los datos paramétricos y mediante la prueba de U de Mann-Whitney para los no paramétricos. Los datos de la morfología neuronal se analizaron mediante las pruebas de *t* de Student, la U de Mann-Whitney y una ANOVA de 2 vías y una *post-hoc* de comparaciones múltiples de Šídák's .

Para todos los resultados se consideró una diferencia significativa cuando $p < 0.05$; los análisis estadísticos se realizaron en el programa GraphPad Prism versión 10.

7. Resultados

7.1 Pruebas de comportamiento

- **Campo abierto (CA)**

7.1.1 Distancia total recorrida

En la prueba de campo abierto, las ratas macho Zucker obesas mostraron una disminución en la distancia total recorrida en comparación con las ratas LE (Figura 19A; $t_{(14)} = 5.427$, $P < 0.0001$).

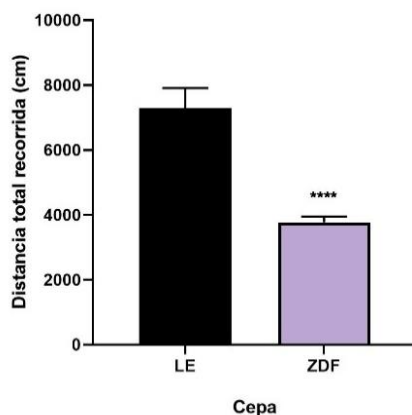


Figura 19. Distancia total recorrida de las ratas Zucker macho en la prueba de campo abierto. Se observa una disminución en la distancia recorrida de las ratas Zucker. **** $P < 0.0001$, ($n = 8$).

7.1.2 Tiempo total de deambulación

Las ratas Zucker obesas no mostraron diferencias significativas en el tiempo total de deambulación en la prueba de campo abierto respecto de las ratas LE (Figura 20; $t_{(14)} = 0.5068$, $P = 0.6202$).

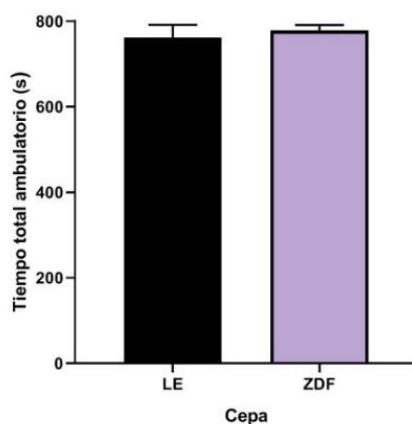


Figura 20. Tiempo total de deambulación de las ratas macho Zucker en la prueba de campo abierto. No se observan diferencias en el tiempo total ambulatorio ($n=8$).

7.1.3 Erguidos

Las ratas Zucker obesas no mostraron diferencias significativas en el número de erguidos (Figura 21A; $t_{(14)} = 0.4626$, $P = 0.6507$) ni en el tiempo total de erguidos (Figura 21B; $t_{(14)} = 1.027$, $P = 0.3220$) en la prueba de campo abierto respecto de las ratas LE.

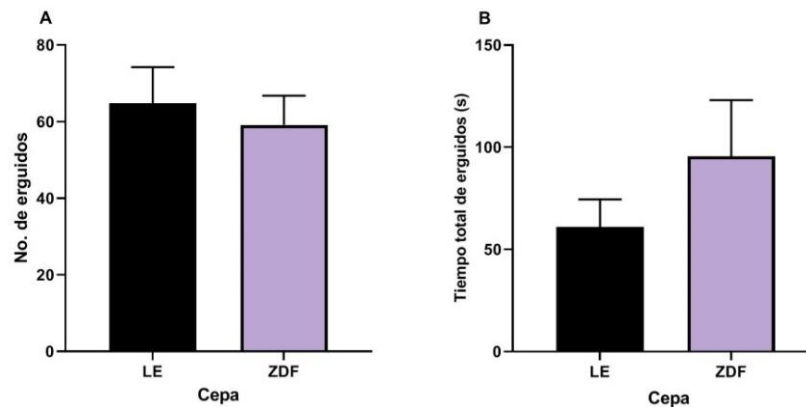


Figura 21. Erguidos de las ratas macho Zucker en la prueba de campo abierto. No se observan diferencias en el A) número de erguidos ni en el B) tiempo total; ($n=8$).

7.1.4 Entradas y permanencia al cuadrante central y a las esquinas

Las ratas Zucker obesas mostraron una disminución significativa en el número de entradas al cuadrante central en la prueba de campo abierto en comparación con las ratas LE (Figura 22A; $t_{(14)} = 3.813$, $P < 0.0019$), sin embargo, en cuanto al tiempo de permanencia en el cuadrante central, no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales (Figura 22B; $t_{(14)} = 0.1013$, $P = 0.9207$). En cuanto a las entradas a los cuadrantes de las esquinas, las ratas Zucker obesas mostraron una disminución significativa respecto de las ratas LE (Figura 22C; $P = 0.0002$, Prueba U-Mann Whitney) y no se observaron diferencias significativas en la permanencia en dichas esquinas (Figura 22D; $t_{(14)} = 1.106$, $P = 0.2874$).

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

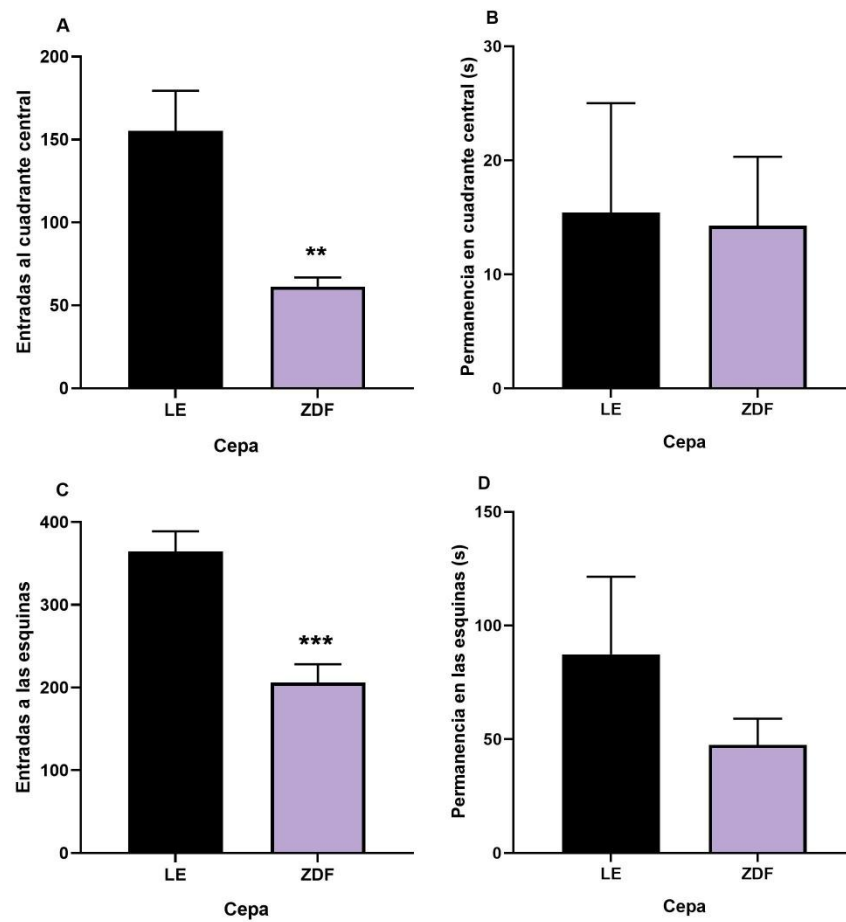


Figura 22. Visitas al cuadrante central y a las esquinas en la prueba de campo abierto. A) Se observa una disminución en el número de entradas al cuadrante central de las ratas Zucker obesas. B) No se observan diferencias en el tiempo de permanencia en el cuadrante central de las ratas Zucker obesas. C) Se observa una disminución en el número de entradas a las esquinas de las ratas Zucker. D) No se observan diferencias en el tiempo de permanencia en las esquinas ($n=8$). ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

7.1.5 Tiempo de acicalamiento

No se observaron diferencias significativas en el tiempo de acicalamiento entre las ratas Zucker obesas y las ratas LE (Figura 24A; $t_{(14)}= 2.104$, $P<0.0539$).

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

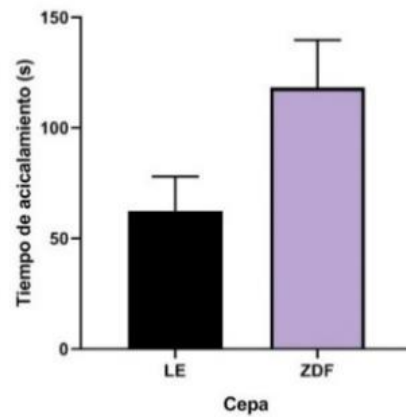


Figura 23. Tiempo de acicalamiento de las ratas Zucker macho en la prueba de campo abierto. No se observan diferencias en el tiempo de acicalamiento ($n = 8$).

- **Caja de luz-oscuridad (L/O)**

En la prueba de luz-oscuridad, las ratas Zucker obesas no mostraron diferencias significativas en el número de cruces de un compartimento a otro (Figura 24A; $t_{(14)} = 1.493$, $P = 0.1577$), en la permanencia en el compartimento oscuro (Figura 24B; $t_{(14)} = 1.188$, $P = 0.2545$) y en el compartimento iluminado (Figura 24C; $t_{(14)} = 1.228$, $P = 0.2398$).

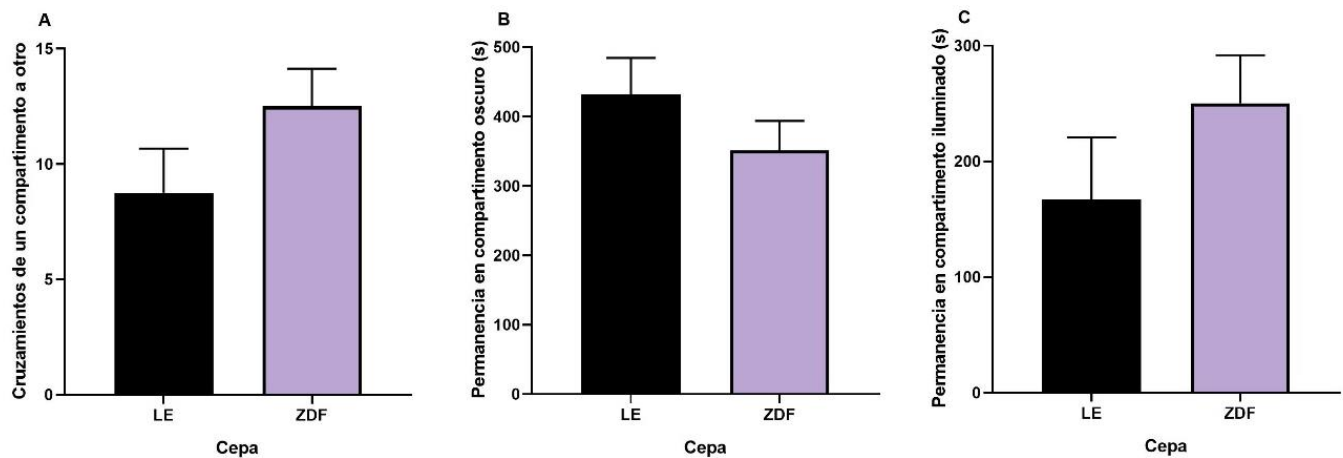


Figura 24. Prueba de luz-oscuridad. A) No se observan diferencias en el número de cruces de un compartimento a otro. B) No se observan diferencias significativas en el tiempo de permanencia en el compartimento oscuro. C) No se muestran diferencias significativas en la permanencia en el compartimento iluminado, ($n = 8$).

- **Laberinto en cruz elevado**

7.1.6 Entradas al centro

Las ratas Zucker mostraron una disminución significativa en las entradas al centro del laberinto en cruz elevado (Figura 25; $t_{(14)} = 2.642$, $P < 0.05$) respecto de las ratas LE.

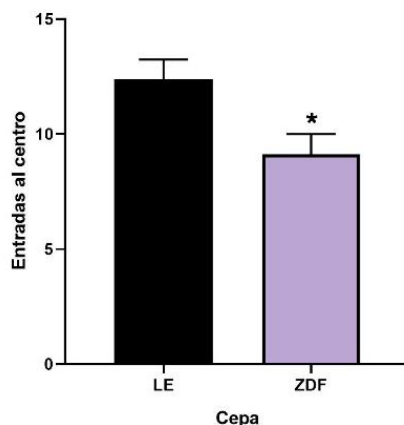


Figura 25. Entradas al centro del laberinto en cruz elevado de las ratas Zucker macho, se observa un aumento; * $P < 0.05$, ($n = 8$).

7.1.7 Entradas y tiempo en los brazos abiertos

Las ratas Zucker no mostraron diferencias significativas en el número de entradas a los brazos abiertos en la prueba del laberinto en cruz elevado (Figura 26A; $t_{(14)} = 1.100$, $P = 0.2897$), sin embargo, en cuanto al tiempo de permanencia en los brazos abiertos, las ratas con obesidad genética mostraron un aumento significativo respecto a las ratas LE (Figura 26B; $t_{(14)} = 2.361$, $P < 0.0332$).

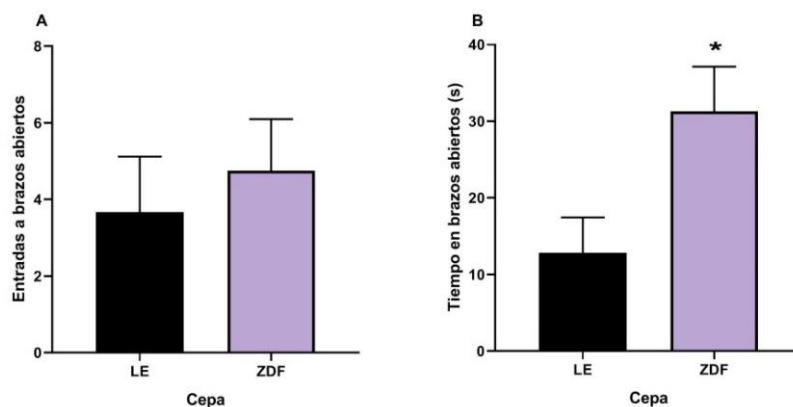


Figura 26. Número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado de las ratas macho Zucker. A) No se observan diferencias en el número de entradas a los brazos abiertos. B) Se observa un aumento en el tiempo que pasan las ratas Zucker en los brazos abiertos ($n = 8$). * $P < 0.05$.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

7.1.8 Entradas y tiempo en los brazos cerrados

No se observaron diferencias significativas en el número de entradas a los brazos cerrados (Figura 27A; $P = 0.7759$, Prueba U-Mann Whitney), ni en el tiempo de permanencia en dichos brazos (Figura 27B; $t_{(14)} = 0.3159$, $P = 0.7567$) en la prueba de laberinto en cruz elevado, entre ambos grupos de animales.

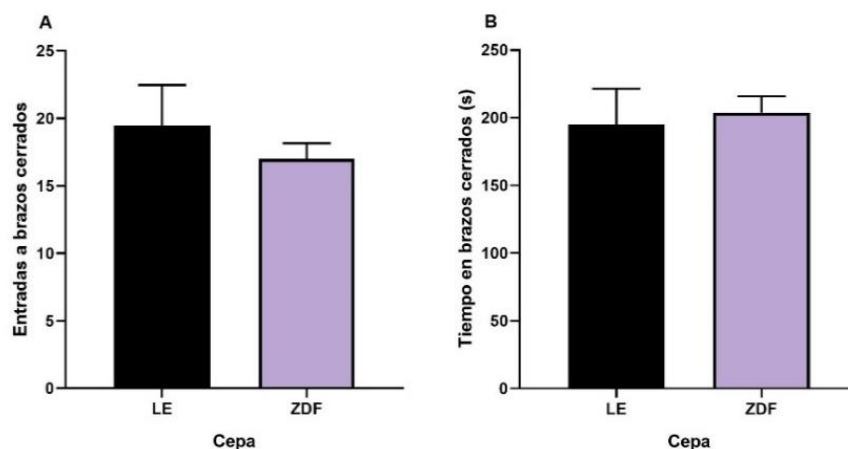


Figura 27. Entradas y tiempo en los brazos cerrados de las ratas macho Zucker, en la prueba de laberinto en cruz elevado. No se observan diferencias en A) el número de entradas a los brazos cerrados ni en B) el tiempo que pasan en los brazos cerrados ($n=8$).

7.2 Fenotipo obeso

Las ratas Zucker obesas mostraron un incremento significativo en el peso corporal respecto de las ratas LE durante el periodo de seis semanas que fueron monitoreadas (Figura 28A; $t_{(10)} = 11.42$, $P < 0.0001$). En cuanto a la talla, no se observaron diferencias significativas entre los grupos (Figura 28B; $t_{(14)} = 0.1489$, $P = 0.8838$). Sin embargo, en el índice de Lee se encontró un incremento significativo de las ratas Zucker obesas respecto de las ratas LE (Figura 28C; $t_{(14)} = 5.81$, $P < 0.0001$), lo que indica obesidad en las ratas macho Zucker. Para la circunferencia abdominal (Figura 28D; $t_{(14)} = 8.407$, $P < 0.0001$) y torácica (Figura 28E; $t_{(14)} = 7.849$, $P < 0.0001$) se encontró un incremento significativo de dichas variables en las ratas Zucker obesas respecto de las ratas LE, lo que indica un aumento en sus dimensiones corporales.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

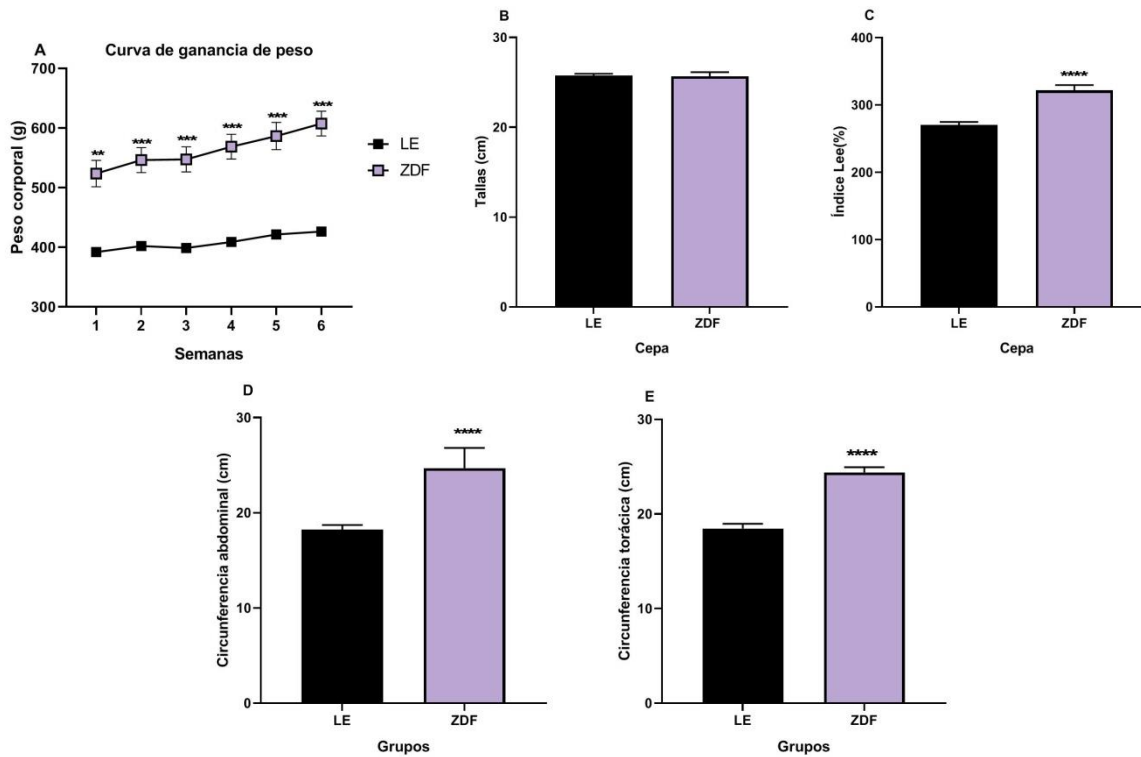


Figura 28. Fenotipo obeso de ratas Zucker macho de seis meses de edad. A) Se observa un incremento en el peso corporal entre las ratas Zucker a lo largo de seis semanas de monitoreo. B) No se observan diferencias en la talla. C) El índice de Lee fue significativamente mayor entre las ratas Zucker respecto de las ratas LE. D) La circunferencia abdominal y la E) circunferencia torácica muestran un incremento significativo en las ratas Zucker. ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$ ($n = 8$).

7.3 Concentración de macromoléculas en sangre

Las ratas Zucker obesas de seis meses de edad, mostraron un incremento significativo en los niveles de glucosa (Figura 29A; $t_{(12)} = 2.999$, $P < 0.0111$), de triglicéridos (Figura 29B; $t_{(13)} = 5.162$, $P = 0.0002$) y de colesterol en plasma (Figura 29C; $P = 0.0006$, Prueba U-Mann Whitney) respecto de las ratas LE.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

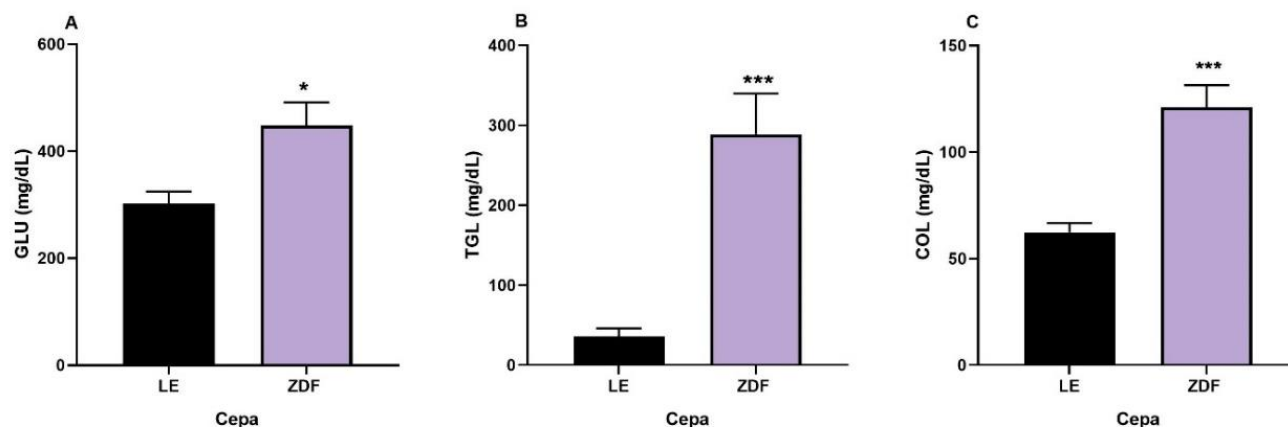


Figura 29. Concentración de macromoléculas en plasma de ratas Zucker macho de seis meses de edad. A) Se observa un incremento en los niveles de glucosa en las ratas Zucker ($n=7$). B) También se observa un aumento en los niveles de triglicéridos ($n=8$ LE, $n=7$ Zucker obesa). C) Los niveles de colesterol fueron mayores entre las ratas Zucker ($n=7$). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

7.3.1 Corticosterona

A los seis meses de edad, las ratas Zucker obesas no muestran cambios en los niveles de corticosterona en suero respecto de las ratas LE (Figura 30A; $t_{(6)} = 0.5361$, $P = 0.6112$).

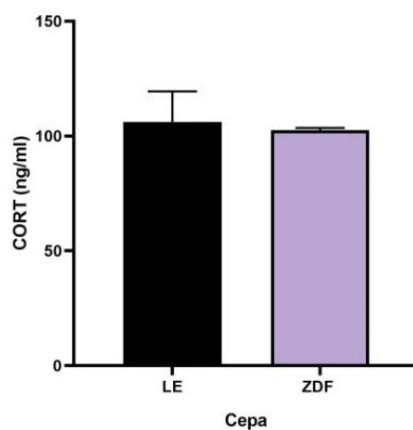


Figura 30. Corticosterona en suero de ratas Zucker macho de seis meses de edad. No se observaron diferencias entre los grupos experimentales. ($n = 4$).

7.4 Morfología neuronal

En la figura 31 se observan fotografías de neuronas piramidales de mPFC de A) rata LE y B) rata ZDF. Además, se observan segmentos dendríticos de ratas LE del árbol C) basilar, D) apical y de ratas Zucker E) basilar y F) apical.

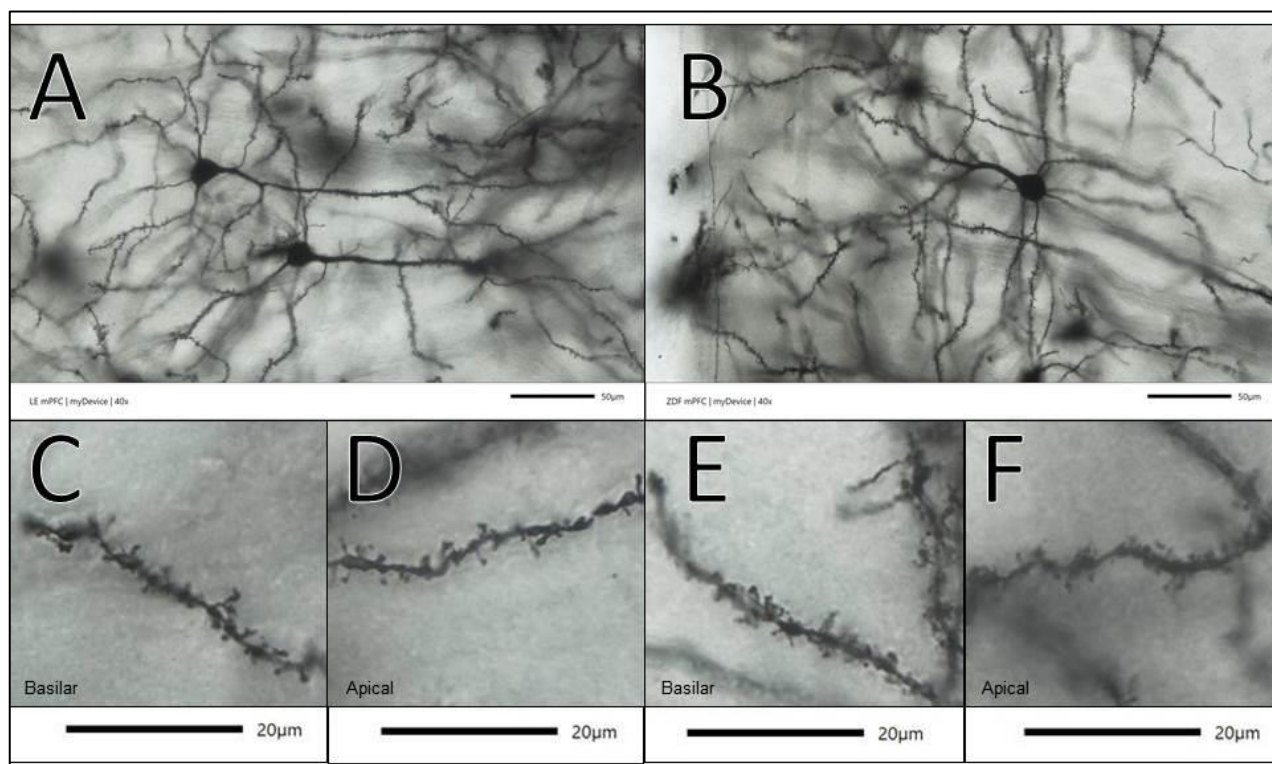


Figura 31. Neuronas piramidales de mPFC y segmentos dendríticos de tercer orden de ramificación para observar espinas dendríticas. A) Neurona de rata LE. B) Neurona de rata ZDF. C) Segmento dendrítico basilar y D) apical de rata LE. E) Segmento dendrítico basilar y F) apical de rata Zucker.

7.4.1 Arborización dendrítica

Las ratas Zucker obesas presentan una disminución significativa en la arborización dendrítica basilar de las neuronas de mPFC al nivel de los círculos concéntricos cuatro, cinco y seis en comparación con las ratas LE (Figura 32A; $P = 0.5685$, Prueba U-Mann Whitney). No se observaron diferencias significativas entre las ratas Zucker y las LE en la arborización dendrítica apical de dichas neuronas (Figura 32B; $P = 0.4115$, Prueba U-Mann Whitney).

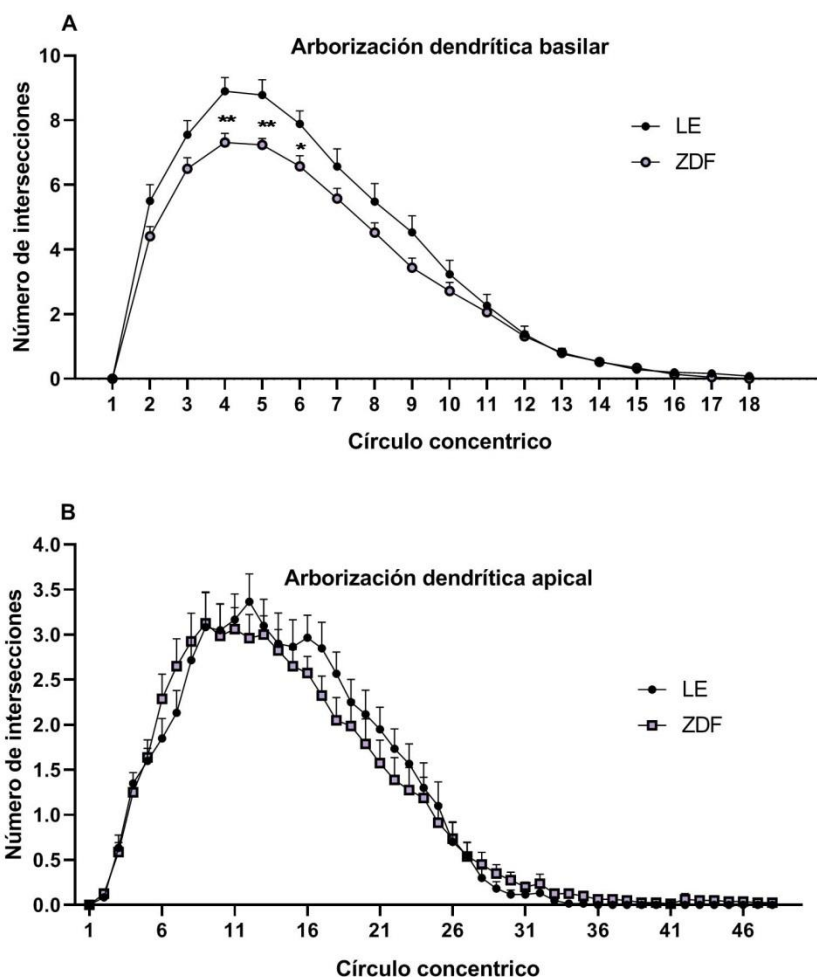


Figura 32. Arborización dendrítica de neuronas piramidales de la mPFC de las ratas macho Zucker de seis meses de edad. A) Se observa una disminución en el número de intersecciones dendríticas del árbol basilar al nivel de los círculos concéntricos cuatro, cinco y seis de las ratas Zucker. B) No se observan diferencias en dicha variable del árbol apical. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, ($n=6$ LE, $n=8$ Zucker obesa).

7.4.2 Longitud dendrítica total

Las ratas Zucker obesas mostraron una disminución significativa en la longitud dendrítica basilar total de las neuronas piramidales de mPFC en comparación con la ratas LE (Figura 33A; $t_{(12)} = 2.325$, $P < 0.0384$). En cuanto a la longitud dendrítica apical total, no se encontraron diferencias significativas (Figura 33B; $t_{(12)} = 0.3785$, $P = 0.7117$).

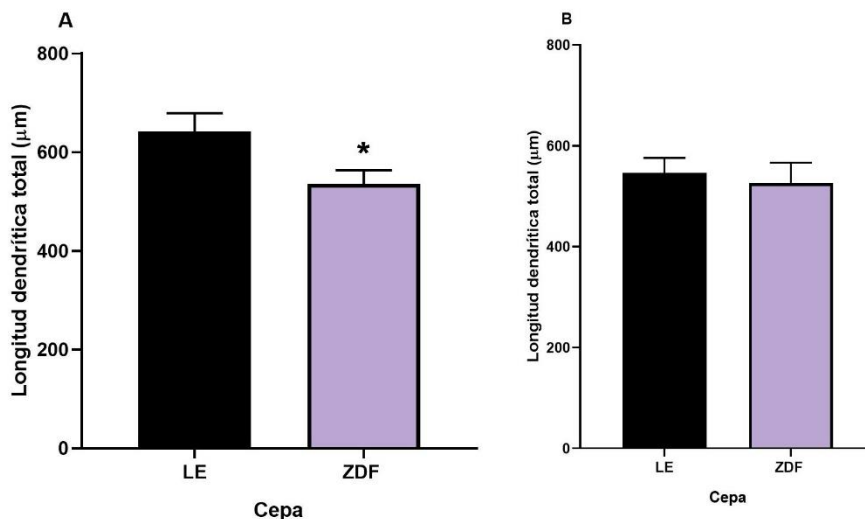


Figura 33. Longitud dendrítica total de neuronas piramidales de ratas macho Zucker de seis meses de edad. A) Se observa una disminución en la longitud dendrítica basilar total de las ratas Zucker. B) No se observan diferencias en la longitud dendrítica apical total. * $P < 0.05$, ($n = 6$ LE, $n = 8$ Zucker obesa).

7.4.3 Longitud dendrítica por orden de ramificación

Las ratas Zucker obesas mostraron una disminución significativa en la longitud dendrítica basilar de tercer orden de ramificación de las neuronas piramidales de la mPFC en comparación con las ratas LE (Figura 34A; Interacción: $F_{(6,84)} = 2.073$, $P = 0.0649$; Orden de ramificación: $F_{(6,84)} = 147.4$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1,84)} = 6.400$, $P = 0.0133$). En cuanto a la longitud dendrítica apical, no se observan diferencias (Figura 34B; $P = 0.7297$, Prueba U-Mann Whitney).

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

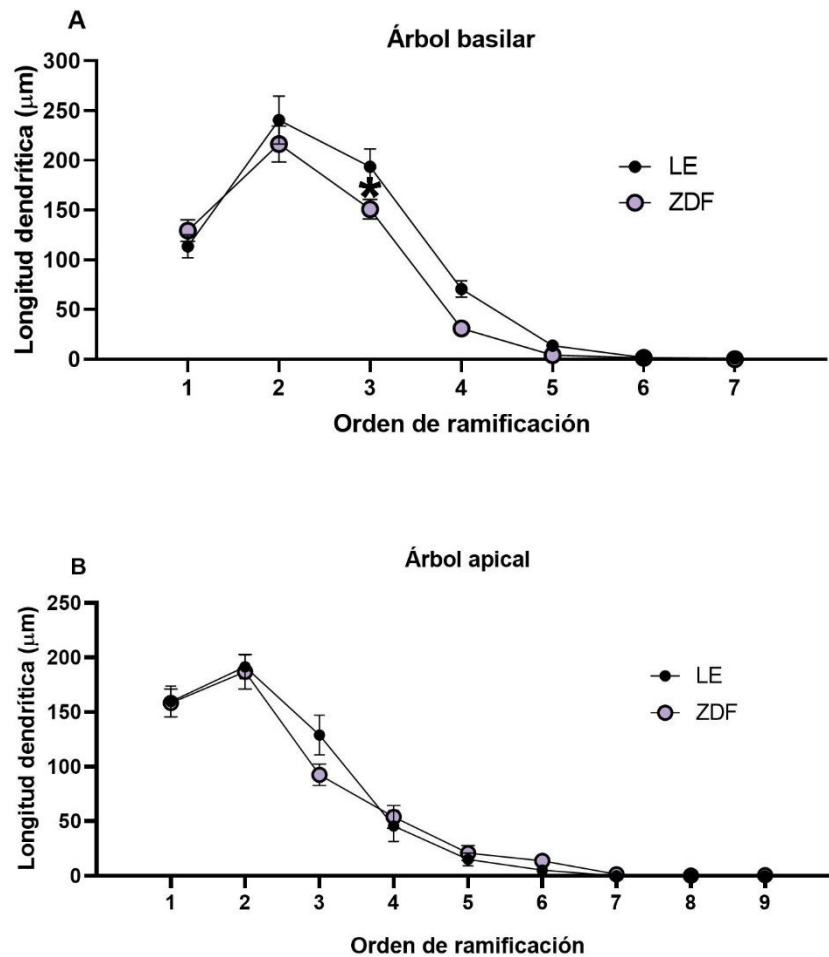


Figura 34. Longitud dendrítica por orden de ramificación de neuronas de mPFC de ratas macho Zucker de seis meses de edad. A) Se observa una disminución en la longitud dendrítica por orden de ramificación del árbol basilar de las neuronas de las ratas Zucker. B) No se observan diferencias en la longitud dendrítica por orden de ramificación del árbol apical total. * $P < 0.05$, ($n=6$ LE, $n=8$ Zucker obesa).

7.4.4 Densidad de espinas dendríticas

No se observaron diferencias significativas en la densidad de espinas dendríticas basilares (Figura 35A; $t_{(12)} = 0.3527$, $P = 0.7304$), ni apicales de las neuronas piramidales de mPFC (Figura 35B; $t_{(12)} = 11.42$, $P < 0.0001$) entre ambas cepas.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

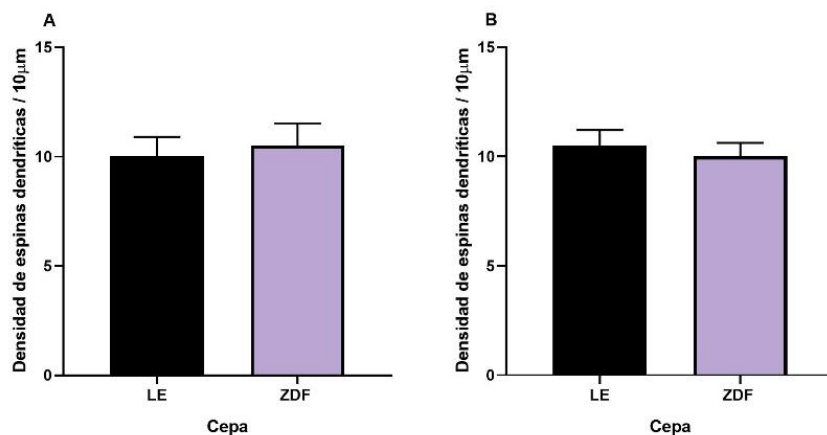


Figura 35. Densidad de espinas dendríticas de neuronas piramidales de mPFC de ratas Zucker macho de seis meses de edad. A) Árbol basilar. B) Árbol apical. No se observan diferencias significativas ($n = 6$ LE, $n=8$ Zucker obesa).

8. Discusión

Con el presente trabajo se observó que las ratas Zucker obesas muestran el característico fenotipo obeso, así como una disminución en la distancia recorrida y en el número de entradas al centro y a las esquinas en el campo abierto, en cuanto al laberinto en cruz elevado hubo un aumento en el tiempo de permanencia en los brazos abiertos y disminución en el número de entradas al centro. Además se observó una disminución en la arborización dendrítica basilar de las neuronas de mPFC.

Los resultados obtenidos en la prueba de campo abierto pueden estar relacionados con una disminución en la velocidad de las ratas ZDF para recorrer todos los cuadrantes del campo abierto, pues ambas cepas deambularon el mismo tiempo en el campo abierto. El número de veces que las ratas entraron al centro y a las esquinas del campo abierto sugiere que las ratas ZDF exhibieron thigmotaxis, un comportamiento tipo ansioso (Seibenhener & Wooten 2015), no obstante, Schiavo *et al.* (2023) argumentan que la prueba de campo abierto mide actividad locomotora y no ansiedad, por lo tanto, los resultados obtenidos en la prueba explicarían que las ratas ZDF al ser significativamente más pesadas y más lentas que las ratas LE, exhiban una reducción en la velocidad de exploración, tal y como lo reportó Bélanger *et al.* (2004). Sin embargo, no se descarta el uso de la prueba de campo abierto, ya que es considerada una de las pruebas más usadas para medir actividad locomotora y ansiedad (Lezak *et al.*, 2017).

El acicalamiento es considerado como un elemento importante en el repertorio de comportamiento de los roedores, ya que se pueden realizar análisis observacionales de la actividad de acicalamiento y sus microestructuras, que sirven como medidas de estrés y ansiedad tanto en animales silvestres como en animales de laboratorio (Smolinsky *et al.*, 2009), por lo que al no obtener diferencias significativas entre los grupos se tiene un dato más que apoya que las ratas ZDF no son ansiosas. Así mismo, no se observaron diferencias significativas en la conducta de erguidos entre los grupos, un comportamiento exploratorio que es medido a menudo en las pruebas de campo abierto, en el cual el animal se yergue temporalmente sobre sus patas traseras para reconocer el entorno (Sturman *et al.*, 2018) y que puede ser atenuado o potenciado por factores como el miedo y la ansiedad (Lever *et al.*, 2006).

La prueba de la caja de luz-oscuridad es una prueba de aproximación/evitación incondicionada, que mide comportamientos tipo ansiosos en roedores (Arrant *et al.*, 2013; Serchov *et al.*, 2016). Usa la aversión

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

natural de los roedores a las áreas iluminadas en comparación con áreas oscuras; sin embargo, en este estudio no se observaron diferencias significativas en las variables medidas (cruces de un compartimento a otro, permanencia en el área iluminada y permanencia en el área oscura). Los animales completaron la prueba sin problema alguno y los resultados indican que los organismos no presentan comportamientos tipo ansiosos. No obstante, se puede sugerir que se midan otras variables para evaluar si hay comportamientos similares al de ansiedad, como los evaluados por Arrant *et al.* (2013): la distancia recorrida en el compartimento de luz y en el de oscuridad, distancia total recorrida, el número de entradas dentro del compartimento iluminado, el número total de erguidos a través de ambos compartimentos, así como la latencia para emerger al compartimento de luz, e iniciar la prueba colocando a los roedores en el lado oscuro ya que se ha reportado que colocar a los roedores al inicio de la prueba en el lado iluminado proporciona datos falsos positivos, pues generalmente se cree que el aumento de las latencias para entrar en el compartimento oscuro refleja un efecto ansiolítico (Ardayfio & Kim, 2006) en pruebas con fármacos.

Por otro lado, el laberinto en cruz elevado representa un conflicto de aproximación y evitación incondicionado para el animal, ya que la novedad ambiental provoca simultáneamente miedo y curiosidad (Rodgers & Dalvi 1997). La aversión natural a los espacios abiertos causa que el animal los evite o reduzca el número de visitas o el tiempo que pasa en el espacio abierto (Kraeuter *et al.*, 2018). Por lo tanto, un incremento en el número de entradas y/o del tiempo que pasa en los brazos abiertos es interpretado como un comportamiento no ansioso (Walf & Frye, 2007). Sin embargo, se debe considerar que el número de entradas a los brazos abiertos no solo cuantifica la ansiedad, también la actividad locomotora y la mejor manera de evaluar esto último es considerando el número de entradas a los brazos cerrados, los cuales se encargan de evaluar la actividad locomotora (Rodgers & Dalvi, 1997). Los datos obtenidos en esta prueba en el presente estudio indican que las ratas ZDF no exhiben comportamiento de ansiedad y el aumento en el tiempo que pasaron en los brazos abiertos puede estar relacionado con su inhabilidad para moverse eficientemente en los brazos cerrados por su tamaño y no por factores relacionados con la ansiedad. Por lo tanto, sugerimos usar laberintos de mayor anchura para estudios con animales obesos.

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

Otro factor que hay que tomar en cuenta es la edad, pues se ha reportado que en ratas ZDF (*fa/fa*) de 8 a 12 semanas de edad, comparadas con ratas Zucker delgadas, expresan un incremento en los comportamientos similares a la ansiedad (Vogel *et al.*, 2017), mientras que a edades mayores se observa que los comportamientos similares a la ansiedad están significativamente reducidos en las ratas ZDF (*fa/fa*) probablemente debido a una modificación en los receptores de las ratas ZDF (*fa/fa*) relacionados con la mediación de comportamientos similares a la ansiedad (Grinberg & Zimering, 2023). Por lo que es posible considerar como medida más confiable de ansiedad la expresión de receptores, cómo los serotoninérgicos, los cuales están implicados en regular la ansiedad (Stein & Stahl, 2000; Zangrossi & Graeff, 2014).

En general, la ansiedad y sus respuestas fisiológicas asociadas son funciones adaptativas que han sido seleccionadas evolutivamente (Kenwood *et al.*, 2021), por lo que la mayoría de las especies exhiben comportamientos de lucha o huida mediados por la ansiedad (Seibenhener & Wooten 2015). Por lo tanto, los datos reportados previamente y nuestros resultados indican que este rasgo de comportamiento no está relacionado con la obesidad genética expresada por las ratas ZDF y que puede ser un mecanismo activado como una señal de peligro inminente y desconocido que prepara al cuerpo para responder de una manera que asegure la supervivencia. Sin embargo, si la ansiedad se vuelve patológica, se produce un efecto contrario, ya que interfiere con la capacidad de afrontar el conflicto (Steimer 2002).

El aumento del peso corporal y del perímetro abdominal observado en las ratas ZDF concuerda con informes anteriores (Sánchez *et al.*, 2022). Estos datos, junto con el índice de Lee obtenido, que es mayor de 310 (Arika *et al.*, 2019), nos permite confirmar que las ratas ZDF usadas en el presente estudio eran obesas. Además, los datos de las concentraciones de glucosa, colesterol y triglicéridos en plasma son consistentes con la hiperglicemia, hiperlipidemia y la hipercolesterolemia típicamente observada en las ratas Zucker obesas (Tomassoni *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2022).

Se sabe que en la rata Zucker obesa, los valores elevados de glucosa están relacionados con la resistencia a la insulina que presentan estas ratas, lo que a su vez provoca que esta molécula no pueda ingresar a las células para su degradación (Jönsson *et al.* 2018). Por tanto, los altos niveles de glucosa en sangre facilitan la síntesis de triglicéridos, ya que la glucosa provee las moléculas precursoras de glicerol-fosfato

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

para la síntesis de dichas macromoléculas (Guzzardi *et al.*, 2021). Además, se ha observado que un incremento en la concentración de triglicéridos se relaciona con una acumulación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), mientras que el aumento de la concentración de colesterol se asocia con un incremento de colesterol en las fracciones de VLDL y de lipoproteínas alta densidad (HDL), las cuales son sobre-producidas por el hígado (Aleixandre & Miguel, 2008). También se ha reportado que las ratas Zucker obesas muestran niveles altos de corticosterona (Plotsky *et al.* 1992), lo que no se observó en nuestros resultados, posiblemente debido a la diferencia de edad de los animales (entre 8 a 14 semanas de edad) utilizados en ambos estudios. Sin embargo, es posible que el no haber observado altos niveles de glucocorticoides, esté más relacionado con el incremento en la actividad de la 5- β reductasa que promueve un incremento en la excreción urinaria de glucocorticoides 5- β reducidos en la obesidad (Livingstone *et al.*, 2005).

En el caso de la reducción de la arborización y la longitud dendrítica basilar de las neuronas de la mPFC de las ratas Zucker obesas, se sugiere que es un posible efecto directo de la mutación del receptor de leptina, ya que diversos autores han observado una expresión del ARNm y del propio receptor de leptina en diferentes estructuras del SNC que incluye a la corteza prefrontal (PFC) (Uysal *et al.*, 2017; Ates *et al.*, 2014; Guo *et al.*, 2012).

La leptina es una hormona con diversas acciones centrales (Guo & Lu 2014): estimula la neurogénesis, la sinaptogénesis, el crecimiento y la morfología de los axones y las dendritas, inhibe las enzimas celulares apoptóticas, y aumenta la transmisión, la motilidad y la densidad sináptica del hipocampo (Uysal *et al.*, 2017). Así, cuando se expresa un receptor de leptina no funcional, se alteran diferentes vías de señalización, como la quinasa dependiente de calcio/calmodulina (CaMKK/CaMK1) (Dhar *et al.*, 2014), dependiente de IP₃ y MAPK, que a su vez provoca alteraciones en el citoesqueleto de actina (O'Malley *et al.*, 2007) y en el proceso de espinogénesis (Manuel-Sánchez *et al.*, 2022). A nivel nuclear se interrumpe la activación de la proteína CREB, lo que inhibe la expresión de genes relacionados con el desarrollo sináptico (Sahin *et al.*, 2020) y la eficiencia de la transmisión sináptica excitadora e inhibitoria (Pinto *et al.*, 2004).

La retracción dendrítica observada en este estudio también puede deberse a la disminución en la entrada de información desde el hipocampo dorsal, el cual exhibe retracción dendrítica en ratas Zucker obesas

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

(Manuel-Sánchez *et al.*, 2022) y envía proyecciones directas a regiones prelímbicas e infralímbicas de la corteza prefrontal medial (Ye *et al.*, 2016). Asimismo, la retracción dendrítica en el árbol basilar sin alteraciones evidentes en la arborización dendrítica apical de las neuronas de la mPFC puede deberse a que los árboles dendríticos reciben proyecciones de diferentes estructuras corticales y subcorticales y a una alta expresión de receptores como el AMPA en el árbol basilar (Cerqueira *et al.*, 2006).

Finalmente, el diseño experimental utilizado puede tener limitaciones debido al uso de ratas Long Evans como grupo control, ya que la rata Zucker delgada (LZC) se considera la cepa de control óptimo debido a la similitud genética con la rata Zucker obesa. Sin embargo, esta similitud abarca la expresión de diferentes metabolitos y por lo tanto se recomienda realizar una cuidadosa selección de ratas LZC para experimentos, así como una adecuada interpretación de los resultados al utilizar esta cepa (Melnik & Hakkak 2022).

9. Conclusión

Las ratas Zucker macho obesas no expresan conductas de ansiedad relacionadas con la obesidad, pero muestran retracción dendrítica en el eje basilar de las neuronas de la corteza prefrontal medial, lo que sugiere que los animales pueden presentar alteraciones en conductas o procesos no emocionales.

Perspectivas

- Adaptar y trabajar con aparatos adecuados al tamaño de las ratas ZDF (*fa/fa*) en las pruebas de conducta para observar su locomoción y conducta sin las limitaciones de las dimensiones.
- Analizar la arborización dendrítica del hipocampo ventral, la amígdala basolateral y del núcleo del lecho de la estría terminal, ya que son estructuras interconectadas con la mPFC y se relacionan con la conducta de la ansiedad.
- Realizar otras pruebas de conducta para evaluar la ansiedad en las ratas Zucker delgadas y comparar con los datos obtenidos.
- Analizar conducta de ansiedad y arborización dendrítica en ratas ZDF hembras.

Literatura citada

1. Adams, R. C., Button, K. S., Hickey, L., Morrison, S., Smith, A., Bolus, W. R., Coombs, E., Randolph, S., Hunt, R. P., Kim, D., Chambers, C. D., & Lawrence, N. (2021). Food-related inhibitory control training reduces food liking but not snacking frequency or weight in a large healthy adult sample. *Appetite*, 167, 105601. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105601>
2. Aleixandre, A., & Miguel, M. (2008). Ratas Zucker como modelo experimental para el estudio de diferentes enfermedades. *Endocrinología Y Nutrición*, 55(5), 217–222. [https://doi.org/10.1016/s1575-0922\(08\)70670-3](https://doi.org/10.1016/s1575-0922(08)70670-3)
3. Ardayfio, P., & Kim, K. (2006). Anxiogenic-like effect of chronic corticosterone in the light-dark emergence task in mice. *Behavioral Neuroscience*, 120(2), 249-256. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.2.249>
4. Arika, W. M., Kibiti, C. M., Njagi, J. M., & Ngugi, M. P. (2019). Anti-obesity effects of dichloromethane leaf extract of *Gnidia glauca* in high fat diet-induced obese rats. *Heliyon*, 5(11), e02800. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02800>
5. Arrant, A. E., Schramm-Sapyta, N. L., & Kuhn, C. M. (2013). Use of the light/dark test for anxiety in adult and adolescent male rats. *Behavioural Brain Research*, 256, 119-127. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.05.035>
6. Atasoy, D., Betley, J. N., Su, H. H., & Sternson, S. M. (2012). Deconstruction of a neural circuit for hunger. *Nature*, 488(7410), 172-177. <https://doi.org/10.1038/nature11270>
7. Ateş, M., Dayı, A., Kiray, M., Sisman, A., Agilkaya, S., Aksu, I., Uysal, N. (2014). El comportamiento similar a la ansiedad y la depresión se correlaciona con la leptina y la expresión del receptor de leptina en la corteza prefrontal de ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina. *Bioteconia e histoquímica*, 89 (3), 161-171. <https://doi.org/10.3109/10520295.2013.825319>
8. Ateş, M., Dayı, A., Kiray, M., Sisman, A., Ağilkaya, S., Aksu, I., Baykara, B., Büyük, E., Çetinkaya, C., Cingöz, S., & Uysal, N. (2013). Anxiety- and depression-like behavior are correlated with leptin and leptin receptor expression in prefrontal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 89(3), 161-171. <https://doi.org/10.3109/10520295.2013.825319>
9. Bailey, K. R., & Crawley, J. N. (2009). Anxiety-Related Behaviors in Mice. In J. J. Buccafusco (Ed.), *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. (2nd ed.). CRC Press/Taylor & Francis. Capítulo 5.
10. Bélanger, A., Lavoie, N., Trudeau, F., Massicotte, G., & Gagnon, S. (2004). Preserved LTP and water maze learning in hyperglycaemic–hyperinsulinemic ZDF rats. *Physiology & Behavior*, 83(3), 483-494. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.08.031>
11. Bocarsly, M. E., Fasolino, M., Kane, G. A., LaMarca, E. A., Kirschen, G. W., Karatsoreos, I. N., McEwen, B. S., & Gould, E. (2015). Obesity diminishes synaptic markers, alters microglial morphology, and impairs cognitive function. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 112(51), 15731-15736. <https://doi.org/10.1073/pnas.1511593112>
12. Bourin, M., & Hascoët, M. (2003). The mouse light/dark box test. *European Journal Of Pharmacology*, 463(1-3), 55-65. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(03\)01274-3](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01274-3)
13. Calhoon, G. G., & Tye, K. M. (2015). Resolving the neural circuits of anxiety. *Nature Neuroscience*, 18(10), 1394-1404. <https://doi.org/10.1038/nn.410>

14. Carlier, M., & Pantaloni, D. (1997). Control of actin dynamics in cell motility. *Journal Of Molecular Biology/Journal Of Molecular Biology*, 269(4), 459-467. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1062>
15. Cerqueira, J. J., Taipa, R., Uylings, H. B. M., Almeida, O. F. X., & Sousa, N. (2006). Specific Configuration of Dendritic Degeneration in Pyramidal Neurons of the Medial Prefrontal Cortex Induced by Differing Corticosteroid Regimens. *Cerebral Cortex*, 17(9), 1998-2006. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhl108>
16. Chaouloff F. (1994). Failure to find behavioural differences between lean and obese Zucker rats exposed to novel environments. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*, 18(11), 780–782.
17. Chidambaram, S. B., Rathipriya, A., Bolla, S. R., Bhat, A., Ray, B., Mahalakshmi, A. M., Manivasagam, T., Thenmozhi, A. J., Essa, M. M., Guillemain, G. J., Chandra, R., & Sakharkar, M. K. (2019). Dendritic spines: Revisiting the physiological role. *Progress In Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 92, 161-193. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.01.005>
18. Cognitive function in brief (2023). Linus Pauling Institute. <https://lpi.oregonstate.edu/mic/health-disease/cognitive-function-in-brief#:~:text=Cognition%20basically%20means%20using%20your,problem%20solving%2C%20a%20multitasking>
19. Cole, S., Keefer, S. E., Anderson, L. C., & Petrovich, G. D. (2020). Medial Prefrontal Cortex Neural Plasticity, Orexin Receptor 1 Signaling, and Connectivity with the Lateral Hypothalamus Are Necessary in Cue-Potentiated Feeding. *The Journal Of Neuroscience*, 40(8), 1744-1755. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.1803-19.2020>
20. Cox, P. G., Rayfield, E. J., Fagan, M. J., Herrel, A., Pataky, T. C., & Jeffery, N. (2012). Functional Evolution of the Feeding System in Rodents. *PloS One*, 7(4), e36299. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036299>
21. Daviu, N., Bruchas, M. R., Moghaddam, B., Sandi, C., & Beyeler, A. (2019). Neurobiological links between stress and anxiety. *Neurobiology of Stress*, 11, 100191. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100191>
22. De Noronha, S. R., Campos, G. V., Abreu, A. R., De Souza, A. A., Chianca, D. A., & De Menezes, R. C. (2017). High fat diet induced-obesity facilitates anxiety-like behaviors due to GABAergic impairment within the dorsomedial hypothalamus in rats. *Behavioural Brain Research*, 316, 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.08.042>
23. DeFelipe J, Fariñas I. (1992). The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Prog Neurobiol*. 39(6):563-607. doi: 10.1016/0301-0082(92)90015-7. PMID: 1410442.
24. Déziel, R., & Tasker, R. A. (2017). Bilateral ischaemic lesions of the medial prefrontal cortex are anxiogenic in the rat. *Acta Neuropsychiatrica*, 30(3), 181-186. <https://doi.org/10.1017/neu.2017.32>
25. Dhar, M., Wayman, G. A., Zhu, M., Lambert, T. J., Davare, M. A., & Appleyard, S. M. (2014). Leptin-Induced Spine Formation Requires TrpC Channels and the CaM Kinase Cascade in the Hippocampus. *The Journal Of Neuroscience*, 34(30), 10022-10033. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2868-13.2014>

26. Elston, G. N. (2003). Cortex, Cognition and the Cell: New Insights into the Pyramidal Neuron and Prefrontal Function. *Cerebral Cortex*, 13(11), 1124-1138. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhg093>
27. ENSANUT, 2018. https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensaut_2018_presentacion_resultados.pdf
28. Euston, D. R., Gruber, A. J., & McNaughton, B. L. (2012). The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*, 76(6), 1057-1070. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>
29. Foss, B., & Dyrstad, S. M. (2011). Stress in obesity: Cause or consequence? *Medical Hypotheses*, 77(1), 7-10. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2011.03.011>
30. Frank-Podlech, S., Von Schnurbein, J., Veit, R., Heni, M., Machann, J., Heinze, J. M., Kullmann, S., Manzoor, J., Mahmood, S., Häring, H., Preissl, H., Wabitsch, M., & Fritsche, A. (2018). Leptin Replacement Reestablishes Brain Insulin Action in the Hypothalamus in Congenital Leptin Deficiency. *Diabetes Care*, 41(4), 907-910. <https://doi.org/10.2337/dc17-1867>
31. Fulton, S., Décarie-Spain, L., Fioramonti, X., Guiard, B. P., & Nakajima, S. (2022). The menace of obesity to depression and anxiety prevalence. *Trends In Endocrinology and Metabolism*, 33(1), 18-35. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.10.005>
32. Fuster, J. M. (2001). The Prefrontal Cortex—An update. *Neuron*, 30(2), 319-333. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00285-9](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00285-9)
33. Gibb, R., & Kolb, B. (1998). A method for vibratome sectioning of Golgi–Cox stained whole rat brain. *Journal Of Neuroscience Methods*, 79(1), 1-4. [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(97\)00163-5](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(97)00163-5)
34. Gould, T.D., Dao, D.T., & Kovacsics, C.E. (2009). Mood and anxiety related phenotypes in mice. *Neuromethods*, 42, 1-20.
35. Grinberg, M., & Zimering, M. B. (2023). Reversal of Early Increased Anxiety-Like Behavior in the Zucker Fatty versus Lean Rat: Possible Role of Acquired Hormonal Factors. *Endocrinology, diabetes and metabolism journal*, 7(2), <https://doi.org/10.31038/edmj.2023724>
36. Guajardo, E. G. P., & Peña, C. M. (2017). Ansiedad, Estrés y Obesidad en una muestra de adolescentes de México Anxiety, Stress and Obesity in a sample of adolescents in Mexico. *Universitas Psychologica*, 16(3), 1. <https://doi.org/10.11144/javeriana.upsy16-3.aeom>
37. Guo, M., & Lu, X. (2014). Leptin receptor deficiency confers resistance to behavioral effects of fluoxetine and desipramine via separable substrates. *Translational Psychiatry*, 4(12), e486. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.126>
38. Guo, M., Lu, Y., Garza, J. C., Li, Y., Chua, S. C., Zhang, W., Lu, B., & Lu, X. (2012). Forebrain glutamatergic neurons mediate leptin action on depression-like behaviors and synaptic depression. *Translational Psychiatry*, 2(2), e83. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.9>
39. Guzzardi, M. A., Guiducci, L., Campani, D., La Rosa, F., Insilla, A. C., Bartoli, A., Cabiati, M., De Sena, V., Del Ry, S., Burchielli, S., Bonino, F., & Iozzo, P. (2021). Leptin resistance before and after obesity: evidence that tissue glucose uptake underlies adipocyte enlargement and liver steatosis/steatohepatitis in Zucker rats from early-life stages. *International Journal of Obesity*, 46(1), 50-58. <https://doi.org/10.1038/s41366-021-00941-z>

40. Hales, C., Burnet, L., Coombs, M., Collins, A., & Ferreira, D. M. (2022). Obesity, leptin and host defence of *Streptococcus pneumoniae*: the case for more human research. *European Respiratory Review*, 31(165), 220055. <https://doi.org/10.1183/16000617.0055-2022>
41. Hao, S., Yang, Y., Helmy, M. M., & Wang, H. (2020). Neural Regulation of Feeding Behavior. En *Advances in experimental medicine and biology* (pp. 23-33). https://doi.org/10.1007/978-981-15-7086-5_3
42. Hathaway, W. R. (2023). Neuroanatomy, prefrontal cortex. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499919/>
43. Hikosaka, O. (2010). The habenula: from stress evasion to value-based decision-making. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(7), 503-513. <https://doi.org/10.1038/nrn2866>
44. Hoover, W. B., & Vertes, R. P. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure & Function*, 212(2), 149-179. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0150-4>
45. Houben, K., Nederkoorn, C., & Jansen, A. (2013). Eating on impulse: The relation between overweight and food-specific inhibitory control. *Obesity*, 22(5). <https://doi.org/10.1002/oby.20670>
46. Hwang, I. K., Yi, S. S., Yoo, K., Park, O. K., Yan, B., Song, W., Won, M., Yoon, Y. S., & Seong, J. K. (2010). Effect of Treadmill Exercise on Blood Glucose, Serum Corticosterone Levels and Glucocorticoid Receptor Immunoreactivity in the Hippocampus in Chronic Diabetic Rats. *Neurochemical Research*, 36(2), 281-287. <https://doi.org/10.1007/s11064-010-0315-z>
47. Jacobs, D. S., & Moghaddam, B. (2021). Medial prefrontal cortex encoding of stress and anxiety. En *International Review of Neurobiology* (pp. 29-55). <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2020.11.014>
48. Jennings, J. H., Rizzi, G., Stamatakis, A. M., Ung, R. L., & Stuber, G. D. (2013). The Inhibitory Circuit Architecture of the Lateral Hypothalamus Orchestrates Feeding. *Science*, 341(6153), 1517-1521. <https://doi.org/10.1126/science.1241812>
49. Johnson PR, Stern JS, Horwitz BA, Harris RE Jr, Greene SF (1997). Longevity in obese and lean male and female rats of the Zucker strain: prevention of hyperphagia. *Am J Clin Nutr*. Oct; 66(4):890-903. doi: 10.1093/ajcn/66.4.890
50. Jönsson, J.J., Schäfer, H-L., Herling, A.W., Brönstrup, M. (2018). A metabolome-wide characterization of the diabetic phenotype in ZDF rats and its reversal by pioglitazone. *PLoS ONE* 13 (11): e0207210. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207210>
51. Kalin, N. H. (2020). Novel Insights into Pathological Anxiety and Anxiety-Related Disorders. *American Journal of Psychiatry*, 177(3), 187-189. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.20010057>
52. Kennedy, M. B. (2000). Signal-Processing Machines at the Postsynaptic Density. *Science*, 290(5492), 750-754. <https://doi.org/10.1126/science.290.5492.750>
53. Kenwood, M., Kalin, N. H., & Barbas, H. (2021). The prefrontal cortex, pathological anxiety, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, 47(1), 260-275. <https://doi.org/10.1038/s41386-021-01109-z>
54. Kraeuter, A. K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2018). The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. En *Methods in molecular biology* (pp. 69-74). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_4

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (fa/fa) machos adultos

55. Lever, C., Burton, S., & O'Keefe, J. (2006). Rearing on Hind Legs, Environmental Novelty, and the Hippocampal Formation. *Reviews In The Neurosciences*, 17(1-2). <https://doi.org/10.1515/revneuro.2006.17.1-2.111>
56. Lezak, K. R., Missig, G., & Carlezon, W. A., Jr (2017). Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Dialogues in clinical neuroscience*, 19(2), 181–191. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.2/wcarlezon>
57. Livingstone, D. E., McInnes, K. J., Walker, B. R., & Andrew, R. (2005). Increased A-ring Reduction of Glucocorticoids in Obese Zucker Rats: Effects of Insulin Sensitization. *Obesity Research*, 13(9), 1523-1526. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.186>
58. Manuel-Sánchez, D. M., Limón, D., & Silva-Gómez, A. B. (2022). Obese male Zucker rats exhibit dendritic remodeling in neurons of the hippocampal trisynaptic circuit as well as spatial memory deficits. *Hippocampus*, 32(11-12), 828-838. <https://doi.org/10.1002/hipo.23473>
59. Matus, A. (2000). Actin-Based Plasticity in Dendritic Spines. *Science*, 290(5492), 754-758. <https://doi.org/10.1126/science.290.5492.754>
60. McDonald, A. J. (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress In Neurobiology*, 55(3), 257-332. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(98\)00003-3](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(98)00003-3)
61. Melnyk, S., & Hakkak, R. (2022). Metabolic Status of Lean and Obese Zucker Rats Based on Untargeted and Targeted Metabolomics Analysis of Serum. *Biomedicines*, 10(1), 153. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10010153>
62. Muralidhar, S., Wang, Y., & Markram, H. (2014). Synaptic and cellular organization of layer 1 of the developing rat somatosensory cortex. *Frontiers in Neuroanatomy*, 7. <https://doi.org/10.3389/fnana.2013.00052>
63. Neale, E. A., Bowers, L. M., & Smith, T. G. (1993). Early dendrite development in spinal cord cell cultures: A quantitative study. *Journal Of Neuroscience Research*, 34(1), 54-66. <https://doi.org/10.1002/jnr.490340107>
64. O'Malley, D., MacDonald, N., Mizielinska, S., Connolly, C. N., Irving, A. J., & Harvey, J. (2007). Leptin promotes rapid dynamic changes in hippocampal dendritic morphology. *Molecular And Cellular Neurosciences*, 35(4), 559-572. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.05.001>
65. Oana, F., Takeda, H., Hayakawa, K., Matsuzawa, A., Akahane, S., Isaji, M., & Akahane, M. (2005). Physiological difference between obese (fa/fa) Zucker rats and lean Zucker rats concerning adiponectin. *Metabolism*, 54(8), 995–1001. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.02.016>
66. Ochsner, K. N., Silvers, J. A., & Buhle, J. T. (2012). Functional imaging studies of emotion regulation: a synthetic review and evolving model of the cognitive control of emotion. *Annals Of The New York Academy of Sciences*, 1251(1). <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06751.x>
67. Opto-Varimex-5 with Auto-Track | Life Science Products | Columbus Instruments. (n.d.). <https://www.colinst.com/products/opto-varimex-5-with-auto-track#wobj-16254-opto-varimex-5-auto-track-q>
68. Otterson, C. (2022). What is inhibitory control?: And how is it related to ADHD? Foothills Academy. <https://www.foothillsacademy.org/community/articles/inhibitory-control-adhd#:~:text=Inhibitory%20control%20is%20a%20core,to%20think%20before%20we%20react.>
69. Pannacciulli, N., Del Parigi, A., Chen, K., Le, D., Reiman, E. M., & Tataranni, P. A. (2006). Brain abnormalities in human obesity: A voxel-based morphometric study. *NeuroImage*, 31(4), 1419-1425. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.047>

70. Paxinos, G., & Watson, C. (1982). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. En Elsevier eBooks. <https://doi.org/10.1016/c2009-0-63235-9>
71. Pérez-Herrera, A., & Cruz-López, M. (2018). Situación actual de la obesidad infantil en México. *Nutrición Hospitalaria*. <https://doi.org/10.20960/nh.2116>
72. Pignatelli, M., & Beyeler, A. (2019). Valence coding in amygdala circuits. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 26, 97-106. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2018.10.010>
73. Pinto, S., Roseberry, A. G., Liu, H., Diano, S., Shanabrough, M., Cai, X., Friedman, J. M., & Horvath, T. L. (2004). Rapid Rewiring of Arcuate Nucleus Feeding Circuits by Leptin. *Science*, 304(5667), 110-115. <https://doi.org/10.1126/science.1089459>
74. Plotsky P M, Thrivikraman K V, Watts A G, Hauger R L (1992). Hypothalamic–pituitary–adrenal axis function in the Zucker obese rat. *Endocrinology* 130:1931–1941. <https://doi.org/10.1210/endo.130.4.1312431>
75. Pompeani, N., Rybalka, E., Latchman, H., Murphy, R. M., Croft, K., & Hayes, A. (2014). Skeletal muscle atrophy in sedentary Zucker obese rats is not caused by calpain-mediated muscle damage or lipid peroxidation induced by oxidative stress. *Journal of negative results in biomedicine*, 13, 19. <https://doi.org/10.1186/s12952-014-0019-z>
76. Prut L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 3–33. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(03\)01272-x](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01272-x)
77. Puig, M. V., Celada, P., & Artigas, F. R. (2004). Control serotoninérgico de la corteza prefrontal. *Revista de Neurología*, 39(06), 539. <https://doi.org/10.33588/rn.3906.2004433>
78. Purves, D. (2007). *Principles of Cognitive Neuroscience*.
79. REAL ACADEMIA ESPAÑOLA: Diccionario de la lengua española, 23.ª ed., [versión 23.7 en línea]. <https://dle.rae.es>
80. Rodgers, R., & Dalvi, A. (1997). Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews/Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21(6), 801-810. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(96\)00058-9](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(96)00058-9)
81. Sahin, G. S., Dhar, M., Dillon, C., Zhu, M., Shiina, H., Winters, B. D., Lambert, T. J., Impey, S., Appleyard, S. M., & Wayman, G. A. (2020). Leptin stimulates synaptogenesis in hippocampal neurons via KLF4 and SOCS3 inhibition of STAT3 signaling. *Molecular And Cellular Neurosciences*, 106, 103500. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2020.103500>
82. Saper, C. B., Chou, T., & Elmquist, J. K. (2002). The Need to Feed. *Neuron*, 36(2), 199-211. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00969-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00969-8)
83. Schiavo, A., Martins, L. A., Wearick-Silva, L. E., Orso, R., Xavier, L. L., & Mestriner, R. G. (2023). Can anxiety-like behavior and spatial memory predict the extremes of skilled walking performance in mice? An exploratory, preliminary study. *Frontiers In Behavioral Neuroscience*, 17. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2023.1059029>
84. Segura, R. K. V., Barenque, L. C., & Van Der Goes, T. I. F. (2018). Las espinas dendríticas, su función y algunas alteraciones. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 61(1), 46-55. <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2018/un181f.pdf>
85. Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal Of Visualized Experiments*, 96. <https://doi.org/10.3791/52434>

86. Serchov, T., Van Calker, D., & Biber, K. (2016). Light/Dark Transition Test to Assess Anxiety-like Behavior in Mice. *Bio-protocol*, 6(19). <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.1957>
87. Sierra, J. C., Ortega V., & Zubeidat I. (2003). Ansiedad, angustia y estrés: tres conceptos a diferenciar. *Revista Mal Estar e Subjetividade*, 3(1), 10-59. http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1518-61482003000100002&lng=pt&tlng=es.
88. Silva-Gómez, A. B., Rojas, D., Juárez, I., & Flores, G. (2003). Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical and hippocampal pyramidal neurons in postweaning social isolation rats. *Brain Research*, 983(1-2), 128-136. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(03\)03042-7](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)03042-7)
89. Smolinsky, A. N., Bergner, C. L., LaPorte, J. L., & Kalueff, A. V. (2009). Analysis of Grooming Behavior and Its Utility in Studying Animal Stress, Anxiety, and Depression. En *Neuromethods* (pp. 21-36). https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9_2
90. Sousa, M. M., Brás-Silva, C., & Leite-Moreira, A. (2009). [The role of leptin in the regulation of energy balance]. *PubMed*, 22(3), 291-298. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19686630>
91. Spruston, N. (2008). Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(3), 206-221. <https://doi.org/10.1038/nrn2286>
92. Steimer T., (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in clinical neuroscience* 4(3):231–249. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2002.4.3/tsteimer>
93. Stein, D. J., & Stahl, S. (2000). Serotonin and anxiety: current models. *International Clinical Psychopharmacology*, 15, S1-S6. <https://doi.org/10.1097/00004850-200008002-00002>
94. Sturman O, Germain P. L. & Bohacek J. (2018). Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field, *Stress*, 21:5, 443-452, DOI: 10.1080/10253890.2018.1438405
95. Tang, F., Wang, G., & Lian, Y. (2017). Association between anxiety and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Psychoneuroendocrinology*, 77, 112-121. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.11.025>
96. Thanos, P. K., Michaelides, M., Gispert, J., Pascau, J., Soto-Montenegro, M. L., Desco, M., Wang, R., Gj, W., & Volkow, N. D. (2008). Differences in response to food stimuli in a rat model of obesity: in-vivo assessment of brain glucose metabolism. *International Journal of Obesity*, 32(7), 1171–1179. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.50>
97. Tomassoni, D., Nwankwo, I. E., Gabrielli, M. G., Bhatt, S., Muhammad, A. B., Lokhandwala, M. F., Tayebati, S. K., & Amenta, F. (2013). Astrogliosis in the brain of obese Zucker rat: A model of metabolic syndrome. *Neuroscience Letters*, 543, 136-141. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.03.025>
98. Uysal, N., Ağılkaya, S., Şişman, A. R., Çamsari, U. M., Gençoğlu, C., Dayı, A., Aksu, İ., Baykara, B., Cingöz, S., & Kiray, M. (2017). Exercise increases leptin levels correlated with IGF-1 in hippocampus and prefrontal cortex of adolescent male and female rats. *Journal Of Chemical Neuroanatomy*, 81, 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2017.02.004>
99. Val-Laillet, D., Aarts, E., Weber, B., Ferrari, M., Quaresima, V., Stoeckel, L. E., Alonso-Alonso, M., Audette, M., Malbert, C. H., & Stice, E. (2015). Neuroimaging and neuromodulation approaches to study eating behavior and prevent and treat eating disorders and obesity. *NeuroImage. Clinical*, 8, 1-31. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.03.016>

Evaluación de la conducta ansiosa y de la morfología de neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial de ratas Zucker obesas (*fa/fa*) machos adultos

100. Van Zessen, R., Plasse, G., & Adan, R. A. (2012). Contribution of the mesolimbic dopamine system in mediating the effects of leptin and ghrelin on feeding. *Proceedings Of The Nutrition Society*, 71(4), 435-445. <https://doi.org/10.1017/s0029665112000614>
101. Vogel, H., Kraemer, M., Rabasa, C., Askevik, K., Adan, R. A., & Dickson, S. L. (2017). Genetic predisposition to obesity affects behavioural traits including food reward and anxiety-like behaviour in rats. *Behavioural Brain Research*, 328, 95-104. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.02.037>
102. Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, 2(2), 322-328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>
103. Wang, B., Chandrasekera, P. C., & Pippin, J. J. (2014). Leptin- and Leptin Receptor-Deficient Rodent Models: Relevance for Human Type 2 Diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 10(2), 131-145. <https://doi.org/10.2174/1573399810666140508121012>
104. Ward, M., Carlsson, C. M., Trivedi, M. A., Sager, M. A., & Johnson, S. C. (2005). The effect of body mass index on global brain volume in middle-aged adults: a cross sectional study. *BMC Neurology*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2377-5-23>
105. World Health Organization: WHO. (2022). Trastornos mentales. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders#:~:text=En%202019%2C%20301%20millones%20de,por%20trastornos%20del%20comportamiento%20conexos>
106. Xu, P., Ai, C., Li, Y., Xing, X., & Lü, H. (2019). Medial prefrontal cortex in neurological diseases. *Physiological Genomics*, 51(9), 432-442. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00006.2019>
107. Ye, X., Kapeller-Libermann, D., Travaglia, A., Inda, M. C., & Alberini, C. M. (2016). Direct dorsal hippocampal–prelimbic cortex connections strengthen fear memories. *Nature Neuroscience*, 20(1), 52-61. <https://doi.org/10.1038/nn.4443>
108. Yokoi, N., Hoshino, M., Hidaka, S., Yoshida, E., Beppu, M., Hoshikawa, R., Sudo, K., Kawada, A., & Takagi, S. (2013). A novel rat model of Type 2 diabetes: the Zucker fatty diabetes mellitus ZFDM rat. *Journal of Diabetes Research*, 2013, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/103731>
109. Yokum, S., & Stice, E. (2013). Cognitive regulation of food craving: effects of three cognitive reappraisal strategies on neural response to palatable foods. *International Journal Of Obesity*, 37(12), 1565-1570. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.39>
110. Yoshizaki, K., Asai, M., & Hara, T. (2020). High-Fat Diet Enhances Working Memory in the Y-Maze Test in Male C57BL/6J Mice with Less Anxiety in the Elevated Plus Maze Test. *Nutrients*, 12(7), 2036. <https://doi.org/10.3390/nu12072036>
111. Yuste, R. (2010). *Dendritic spines*. MIT Press.
112. Zangrossi, H., & Graeff, F. G. (2014). Serotonin in anxiety and panic: Contributions of the elevated T-maze. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews/Neuroscience And Biobehavioral Reviews*, 46, 397-406. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.03.007>
113. Zhao, G., Ford, E. S., Dhingra, S., Li, C., Strine, T. W., & Mokdad, A. H. (2009). Depression and anxiety among US adults: associations with body mass index. *International Journal Of Obesity*, 33(2), 257-266. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.268>



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A. C.

Otorga la siguiente

CONSTANCIA

a:

Utrilla Ramos Vanessa Abigail, Mendoza Valero Martha Denice, Sandoval Romero María Constelación, Ojeda Nani Valentina, Robles Soto Ricardo, Domínguez Juárez Lesly, Silva Gómez Adriana Berenice, por el trabajo presentado en el tema de *Las ratas macho Zucker obesas muestran comportamiento de ansiedad en el campo abierto y expresan una disminución en la arborización dendrítica basilar de neuronas de corteza medial prefrontal* en el tema de *Las ratas macho Zucker obesas muestran comportamiento de ansiedad en el campo abierto y expresan una disminución en la arborización dendrítica basilar de neuronas de corteza medial prefrontal* como parte del LXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.

Las ratas macho Zucker obesas muestran comportamiento de ansiedad en el campo abierto y expresan una disminución en la arborización dendrítica basilar de neuronas de corteza medial prefrontal

como parte del LXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.

17 al 21 de septiembre, 2023
Puebla, Pue.


Dra. Carmen Cortés
Presidenta








LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y EL LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA DE LA BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Otorgan la presente:

CONSTANCIA

a:

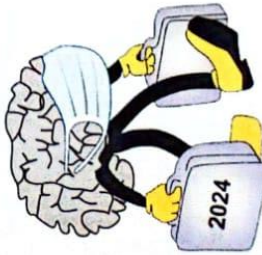
Vanessa A. Utrilla Ramos, Martha Denice Mendoza Valero, María Constelación Sandoval Ramero, Valentina Ojeda Nani, Ricardo Robles Soto, Lesly Domínguez Juárez, Adriana Berenice Silva Gómez e Ihuicamina Daniel Limán Pérez de León

Por la presentación del trabajo:

Las ratas macho adultas Zucker obesas (fa/fa) muestran comportamientos similares a la ansiedad en el campo abierto y expresan una disminución en la arborización dendrítica basilar de neuronas de corteza prefrontal medial

En el marco de la SEMANA INTERNACIONAL DEL CEREBRO 2024, llevada a cabo los días 11, 12 y 13 de marzo del 2024 en la Facultad de Ciencias Químicas-BUAP

Valor cumplido 10 Horas




Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director de la Facultad de Ciencias Químicas-BUAP

Dr. I. Daniel Limón Pérez de León
Jefe del laboratorio de Neurofarmacología-BUAP